Libro de Counicaciones

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Universidad
de Alcalá

© **Coordinador y Editor Científico:**
Comité Organizador del XIII Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica

© **De los textos:** sus autores.

Diseño, maquetación y corrección: Elisa Borsari y Ronda Vázquez Martí.

© De esta edición: Fundación General de la Universidad de Alcalá, 2017
Calle Imagen, 1 y 3. 28801, Alcalá de Henares (Madrid), España.
Página web: www.fgua.es

No está permitida la reproducción total o parcial de este libro, ni su tratamiento informático, ni la transmisión de ninguna forma o por cualquier medio, ya sea electrónico, mecánico, por fotocopia, por registro u otros métodos, ni su préstamo, alquiler o cualquier otra forma de cesión de uso del ejemplar, sin el permiso previo y por escrito de los titulares del *copyright*.

ISBN: 978-84-88754-54-7
Depósito Legal: M-2209-2017
Imprime: CIMAPRESS
Impreso en España / Printed in Spain

Bienvenida

En este hermoso lugar, la ciudad de Alcalá de Henares, declarado patrimonio de la humanidad en el año 1998, celebramos el **XIII Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica**, en la sede histórica de la Universidad de Alcalá, fundada por el Cardenal Cisneros en el año 1499.

Durante estos días y pretendiendo continuar con el espíritu innovador y de excelencia académica del fundador, compartiremos aspectos tecnológicos tanto a nivel de investigación como industrial, sin olvidar los docentes.

En nombre del Comité Organizador integrado por los profesores de la Unidad Docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Alcalá y profesores del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad Complutense de Madrid, deseo daros la bienvenida y mi gratitud por vuestra asistencia, esperando que disfrutéis de una grata y cálida estancia. Espero que este evento colme vuestras expectativas profesionales, culturales, sin olvidar las gastronómicas y las de ocio, que ofrece para disfrute esta bella ciudad que vio nacer a Miguel de Cervantes Saavedra.

La presidenta del Comité Organizador
Begoña Escalera Izquierdo

Bienvenida

Es un placer daros la bienvenida al Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica que en su decimotercera edición se celebra en Alcalá de Henares, ciudad patrimonio de la humanidad y sede de una de las universidades con más solera de España.

El congreso es el acontecimiento científico más relevante de nuestra Sociedad y, desde que se celebró por primera vez en Madrid 1992, entonces bajo la denominación de "I Reunión Científica de la Asociación de Docentes de Farmacia Galénica", reúne con periodicidad bianual a profesionales, docentes e investigadores que desarrollan su actividad en el ámbito de la Farmacia Industrial y Galénica. Constituye una excelente oportunidad para intercambiar conocimientos, establecer nuevas colaboraciones e impulsar la integración de conocimientos entre profesionales procedentes de la universidad, la industria y las agencias reguladoras, cumpliendo así uno de los objetivos que establecen nuestros estatutos.

El congreso bianual de la SEFIG tiene que ser un reflejo de la actividad que desarrollan los socios, actuando como herramienta útil para su divulgación y para la promoción de la Ciencia y la Tecnología Farmacéuticas. La Junta Directiva de la SEFIG es consciente de que la organización de un congreso supone un considerable esfuerzo, sobre todo en momentos en los que no resulta fácil conseguir apoyos económicos. Como no podía ser menos en Alcalá de Henares, el comité organizador y el comité científico han tenido muy presente que, como afirma el refrán que Cervantes pone en boca de Don Quijote, "donde una puerta se cierra, otra se abre", y superando todas las dificultades han logrado confeccionar un programa muy atractivo que, unido a los insuperables alicientes históricos, artísticos y culturales de la ciudad que nos acoge, hará inolvidable esta XIII edición del congreso de la SEFIG.

Francisco J. Otero Espinar
Presidente de SEFIG

Índice general

Comités Organizadores 9
Programa del Congreso 13
Índice de Comunicaciones 21
Conferencias Plenarias 33
Comunicaciones Orales 39
Comunicaciones Formato Póster 85
Índice de Autores 247

Comités Organizadores

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

COMITÉ DE HONOR

- Excma. Sra. D.ª Cristina Cifuentes Cuencas
  Presidenta de la Comunidad de Madrid
- Excmo. Sr. D. Javier Rodríguez Palacios
  Alcalde Alcalá de Henares
- Excmo. Sr. D. Rafael van Grieken Salvador
  Consejero de Educación, Juventud y Deporte
- Prof. Dr. D. Fernando Galván Reula
  Rector Magnífico de la Universidad de Alcalá
- Prof. Dr. D. Carlos Andradas Heranz
  Rector Magnífico de la Universidad Complutense de Madrid
- Prof. Dr. D. Fidel Ortega Ortiz-Apodaca
  Excmo. Sr. Decano Facultad Farmacia, Universidad de Alcalá
- Profa. Dra. Dña. Irene Iglesias Peinado
  Excma. Sra. Decana Facultad Farmacia, Universidad Complutense de Madrid
- Ilmo. Sr. D. Jesús Aguilar Santamaría
  Presidente Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos
- Ilmo. Sr. D. Luis J. González Díez
  Presidente Colegio Oficial de Farmacéuticos de Madrid
- Ilmo. Sr. D. Ignacio José Romeo Granados
  Presidente Colegio Oficial de Farmacéuticos de Guadalajara
  Presidente del Consejo de Colegios Oficiales de Farmacéuticos de Castilla-La Mancha
- Excmo. Sr. D. Eugenio Sellés Flores
  Miembro Real Academia Farmacia
  Profesor Emérito
- Excmo. Sr. D. Francisco Zaragozá García
  Miembro Real Academia Farmacia
  Director Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica
- Prof. Dr. D. Francisco Otero Espinar
  Profesor Departamento Farmacia y Tecnología Farmacéutica
  Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela
  Presidente de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica (SEFIG)
- Sra. D.ª Carmen García Carbonell
  Presidenta de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI)

COMITÉ CIENTÍFICO

Presidenta: Emilia María Barcia Hernández

Secretaria: Mª Rosario Aberturas Ramos

Vocales:

- Josep María Suñé Negre
- Cristina Balaguer Fernández
- María Francisca Galindo Anaya
- Luis Alberto del Río Álvarez
- Fernando Caro Cano
- Adolfina Ruíz Martínez
- José Fariña Espinosa
- María Isabel González Álvarez
- María José Blanco Prieto
- Rosa Hernández Martín
- José Martínez Lanao
- Ángel Joaquín Concheiro Nine
- Rosa Jiménez-Castellanos Ballesteros
- Amparo Nácher Alonso

COMITÉ ORGANIZADOR

Presidenta: Begoña Escalera Izquierdo
Secretaria: Mª Ángeles Peña Fernández
Tesorero: Guillermo Torrado Durán

Vocales:

- María Rosario Aberturas Ramos
- María José Fresno Contreras
- Manuel Guzmán Navarro
- Jesús Molpeceres García del Pozo
- Aurora Reíllo Martín
- Mª de la Paloma Ballesteros Papantonakis
- Emilia María Barcia Hernández
- Damián Córdoba Díaz
- Manuel Córdoba Díaz
- Ana María Fernández-Carballido
- María Sofía Elisa Negro Álvarez
- Dolores Remedios Serrano López
- Ana Isabel Torres Suárez
- María Dolores Veiga Ochoa

Programa del Congreso

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Lunes, 23 de enero de 2017

12.00 Entrega de documentación

12.30 **Sesión Inaugural**
Paraninfo de la Universidad de Alcalá

13.00 **Conferencia Plenaria I**
Moderador: Guillermo Torrado Durán

Nuevas tecnologías para la liberación prolongada de medicamentos: Desarrollo de una Risperidona de administración mensual

Lourdes Ochoa Díaz de Monasterioguren
Dra. en Farmacia. Departamento de I+D.
Laboratorios Farmacéuticos ROVI, S.A.

14.00 **Almuerzo**

15.30 **Comunicaciones orales**
Moderador: Ángel Concheiro Nine

O-01 *Técnicas de inteligencia artificial para el escalado de procesos de granulación*
Mariana Landín Pérez

O-02 *Predicción de la absorción de fármacos en colon de rata mediante el desarrollo de un modelo de perfusión in situ*
Isabel Lozoya-Agulló, Isabel González-Álvarez, Marta González-Álvarez, Matilde Merino-Sanjuán, Marival Bermejo

O-03 *Low-molecular-weight hialuronan as cryoprotectant for the cryopreservation of microencapsulated cells*
Haritz Gurruchaga, Jesús Ciriza, Laura Saenz del Burgo, Argia Acarregui, Rosa María Hernández, Gorka Orive, José Luis Pedraz

O-04 *Effect of Amphotericin B nanomedicine on red blood cells and Candida spp. in vitro activity*
Raquel Fernández-García, Liliana Bautista Chávez, Larry Statts, Aikaterini Lalatsa, M. Paloma Ballesteros, Dolores R. Serrano

O-05 *Engineering of sulfadimidine/4-aminoslicylic acid cocrystals and dissolution modelling through shadowgraph imaging*
Dolores R. Serrano, Tim Persoons, Deirdre M. D'Arcy, Carolina Galiana, María Auxiliadora Dea-Ayuela, Anne Marie Healy

16.30 **Entrega y presentación de premio de la SEFIG**

17.30 **Pausa-café. Sesión de póster**

18.30 **Comunicaciones orales**
Moderador: José Fariña Espinosa

O-07 *Preparación de membranas antifúngicas por electrohilado de poli (ciclodextrinas) y polimerización en plasma de HMDSO*
Alejandro Costoya, Florencia M. Ballarín, José Llovo, Ángel Concheiro, Gustavo A. Abraham, Carmen Álvarez-Lorenzo

O-23 *Percutaneous intramyocardial injection of microencapsulated FGF1 and NRG1 improves cardiac function in a preclinical model of ischemia-reperfusion*
Elisa Garbayo, Juan José Gavira, Manuel García de Yebenes, Beatriz Pelacho, Gloria Abizanda, Hugo Lana, Felipe Prósper, María Blanco-Prieto

19:15 **Actuación musical**

20.00 **Coctel bienvenida**

Martes 24 de enero

09.00 **Conferencia Plenaria II**
Moderadora: Emilia Barcia Hernández

Exploiting nanotechnology to develop differentiated medicines
Ijeoma Uchegbu
University College London (United Kingdom)

10.00 **Comunicaciones orales**
Moderadora: Rosa Hernández Martín

O-08 *Error de medicación por similitud ortográfica. Aproximación algorítmica*
Carlos De Figueiredo Escriba, Cecilia Fernández Lastra, Pilar Modamio Charles, Eduardo L. Mariño Hernández

O-09 *Comparación entre hidrogeles obtenidos por interacción de cargas*
Elizabeth Henao, Germán Quintana, Ezequiel Delgado

O-10 *Epalrestat-imprinted silicone hydrogels to address diabetic-eye complications*
Fernando Álvarez-Rivera, Ángel Concheiro, Carmen Álvarez-Lorenzo

O-11 *Nueva actividad docente para los alumnos, orientada hacia la comprensión de la comunicación científica publicada en medios escritos e internet*

Mª Jesús Lucero Muñoz, Mª Rosa Jiménez-Castellanos Ballesteros

O-12 *Estrategias para la vehiculización de cannabidiol en nanocápsulas lipídicas*

Juan Aparicio Blanco, Víctor Sebastián Cabeza, Giovanna Lollo, Guillaume Bastiat, Jean Pierre Benoit, Ana Isabel Torres Suárez

11.00 **Pausa-café. Sesión de póster**

12.00 **Visita a la Universidad y al centro histórico de la ciudad de Alcalá de Henares**

14.00 **Almuerzo**

15.30 **Conferencia Plenaria III**
Moderador: José Martínez Lanao

Medicamentos biosimilares

César Hernández García
Jefe de Medicamentos de Uso Humano de la AEMPS

16.30 **Comunicaciones orales**
Moderadora: Rosa Jiménez Castellanos

O-13 *Anti-PD-L1 tumor concentrations induce tumor-specific and nonspecific biomarkers in a melanoma mouse model*

Ana M. Contreras-Sandoval, María Merino, Marcos Vasquez, Iñaki F. Trocóniz, Pedro Berraondo, María J. Garrido

O-14 *Incertidumbre del método de análisis en la prueba de biosimilitud analítica*

Matías Llabres Oliva, Alexis Oliva Martínez

O-15 *Obtención de nanopartículas Magnetita/PEI y su aplicación en terapia génica y aislamiento celular*

Raúl Megias, Maialen Arco, Jesús Ciriza, Laura Sáenz Del Burgo, Gustavo Puras, José Luis Arias, Margarita López-Viota

O-16 *Desarrollo y control de calidad de una suspensión oral de dexametasona adecuada para pediatría*

Javier Suárez-González, Diego Dorta-Vera, Iris González-García, Nuria Teigell-Pérez, Ana Santoveña, José B. Fariña

O-17 *Diseño de interfaces coloidales para la administración oral de fármacos*

M.J. Santander-Ortega, M. Plaza-Oliver, E. Villar, L. Castro-Vázquez, V. Rodriguez, N. Villaseca, J. González-Fuentes, P. Marcos, M.V. Lozano, M.M. Arroyo

17.30 **Pausa-café. Sesión de póster**

18:15 **Asamblea**

21.30 **Cena del Congreso**

Miércoles 25 de enero

09.30 **Conferencia Plenaria IV**
Moderadora: Amparo Nácher Alonso

Modelos predictivos de sobresaturación y absorción intestinal
Mª del Val Bermejo Sanz
Universidad Miguel Hernández

10.30 **Comunicaciones orales**
Moderadora: Mª José Blanco Prieto

O-18 *A new biomaterial based on lactose-crosslinked fish gelatin for tissue engineering applications*
Edorta Santos, Claudia Vairo, Alaitz Etxabide, Pedro Guerrero, Koro De La Caba, José Luis Pedraz, Manoli Igartua, Rosa María Hernández

O-19 *Non–viral vectors based on chitosan, cationic lipid and magnetic nanoparticles for VEGF gene delivery to Central Nervous System cells*
Ilia Villate Beitia, Gustavo Puras Ochoa, Cristina Soto Sánchez, Eduardo Fernández Jover, José Luis Pedraz Muñoz

O-20 Data analitics *en el estudio retrospectivo de las infracciones de los criterios STOPP*
Silvia González-Munguía, Esther Sánchez, Obdulia Munguía, Matías Llabrés

O-21 *Folic acid-PEG-PLGA nanoconjugates can optimize the antitumour activity of 5-fluorouracil in colon and breast cancers*
Mazen M. El-Hammadi, Ángel V. Delgado, Consolación Melguizo, José C. Prados, Mª Adolfina Ruiz, José L. Arias

O-22 *Hyperthermia application of magnetic solid lipid nanoparticles*
María Muñoz de Escalona, Eva Sáez-Fernández, Ángel V. Delgado, José C. Prados, Mª Adolfina Ruiz, José L. Arias

11.30 **Pausa-café. Sesión de póster**

12:15 **Mesa Redonda sobre nuevos retos en docencia e investigación**
Moderador: Fidel Ortega Ortiz de Apodaca

- Alberto Lázaro Lafuente
  Director de Doctorado. Universidad de Alcalá
- Fidel Ortega Ortiz-Apodaca
  Decano Facultad Farmacia. Universidad de Alcalá
- Almudena Agüero
  Coordinadora Nacional de Horizonte 2020
- José Carlos Montilla
  Presidente Comisión Nacional Especialidad Farmacia Industrial y Galénica

13:15 **Acto Clausura**

Índice de Comunicaciones

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Conferencias Plenarias

Exploiting Nanotechnology to Develop Differentiated Medicines 35
Ijeoma F. UCHEGBU

Medicamentos biosimilares 36
César HERNÁNDEZ GARCÍA

Biopredictive media and methods: in vivo *Supersaturation* 37
María del Val BERMEJO SANZ

Comunicaciones orales

Técnicas de inteligencia artificial para el escalado de procesos de granulación 41
Mariana LANDIN PÉREZ

Predicción de la absorción de fármacos en colon de rata mediante el desarrollo de un modelo de perfusión in situ 43
Isabel LOZOYA-AGULLÓ, Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ,Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Matilde MERINO-SANJUÁN, Marival BERMEJO

Low-molecular-weight hialuronan as cryoprotectant for the cryopreservation of microencapsulated cells 45
Haritz GURRUCHAGA, Jesús CIRIZA, Laura SAENZ DEL BURGO, Argia ACARREGUI, Rosa María HERNÁNDEZ, Gorka ORIVE, José Luis PEDRAZ

Effect of Amphotericin B nanomedicine on red blood cells and Candida *spp.* in vitro *activity* 47
Raquel FERNÁNDEZ-GARCÍA, Liliana BAUTISTA CHÁVEZ, Larry STATTS, Aikaterini LALATSA, M. Paloma BALLESTEROS, Dolores R. SERRANO

Engineering of sulfadimidine/4-aminoslicylic acid cocrystals and dissolution modelling through shadowgraph imaging 49
Dolores R. SERRANO, Tim PERSOONS, Deirdre M. D'ARCY, Carolina GALIANA, María Auxiliadora DEA-AYUELA, Anne Marie HEALY

Preparación de membranas antifúngicas por electrohilado de poli(ciclodextrinas) y polimerización en plasma de HMDSO 51
Alejandro COSTOYA, Florencia M. BALLARÍN, José LLOVO, Ángel CONCHEIRO, Gustavo A. ABRAHAM, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

Error de medicación por similitud ortográfica. Aproximación algorítmica 53
Carlos de FIGUEIREDO ESCRIBA, Cecilia FERNÁNDEZ LASTRA, Pilar MODAMIO CHARLES, Eduardo L. MARIÑO HERNÁNDEZ

Comparación entre hidrogeles obtenidos por interacción de cargas. 55
Elizabeth HENAO, Germán QUINTANA, Ezequiel DELGADO

Epalrestat-imprinted silicone hydrogels to address diabetic-eye complications 57
Fernando ÁLVAREZ-RIVERA, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

Nueva actividad docente para los alumnos, orientada hacia la comprensión de la comunicación científica publicada en medios escritos e internet 59
Mª Jesús LUCERO MUÑOZ, Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS

Estrategias para la vehiculización de cannabidiol en nanocápsulas lipídicas 61
Juan APARICIO BLANCO, Víctor SEBASTIÁN CABEZA, Giovanna LOLLO, Guillaume BASTIAT, Jean Pierre BENOIT, Ana Isabel TORRES SUÁREZ

Anti-PD-L1 tumor concentrations induce tumor-specific and nonspecific biomarkers in a melanoma mouse model 63
María J. GARRIDO, Ana M. CONTRERAS-SANDOVAL, María MERINO, Marcos VASQUEZ, Iñaki F. TROCÓNIZ, Pedro BERRAONDO

Incertidumbre del método de análisis en la prueba de biosimilitud analítica 65
Matías LLABRÉS MARTÍNEZ, Alexis OLIVA MARTÍN

Obtención de nanopartículas Magnetita/PEI y su aplicación en terapia génica y aislamiento celular 67
Raúl MEGÍAS, Maialen ARCO, Jesús CIRIZA, Laura SAENZ DEL BURGO, Gustavo PURAS, José Luis ARIAS, Margarita LÓPEZ-VIOTA

Desarrollo y control de calidad de una suspensión oral de dexametasona adecuada para pediatría 69
Javier SUÁREZ-GONZÁLEZ, Diego DORTA-VERA, Iris GONZÁLEZ-GARCÍA, Nuria TEIGELL-PÉREZ, Ana SANTOVEÑA, José B. FARIÑA

Diseño de interfaces coloidales para la administración oral de fármacos. 71
M. J. SANTANDER-ORTEGA, M. PLAZA-OLIVER, E. VILLAR, L. CASTRO-VÁZQUEZ, V. RODRÍGUEZ, N. VILLASECA, J. GONZÁLEZ-FUENTES, P. MARCOS, M.V. LOZANO, M.M. ARROYO

A new biomaterial based on lactose-crosslinked fish gelatin for tissue engineering applications. 73
Edorta SANTOS, Claudia VAIRO, Alaitz ETXABIDE, Pedro GUERRERO, Koro DE LA CABA, José Luis PEDRAZ, Manoli IGARTUA, Rosa María HERNÁNDEZ

Non-viral vectors based on chitosan, cationic lipid and magnetic nanoparticles for VEGF gene delivery to Central Nervous System cells 75
Ilia VILLATE BEITIA, Gustavo PURAS OCHOA, Cristina SOTO SÁNCHEZ, Eduardo FERNÁNDEZ JOVER, José Luis PEDRAZ MUÑOZ

Data analitics *en el estudio retrospectivo de las infracciones de los criterios STOPP* . . .77
Silvia GONZÁLEZ-MUNGUÍA, Esther SÁNCHEZ, Obdulia MUNGUÍA, Matías LLABRÉS

Folic acid-PEG-PLGA nanoconjugates can optimize the antitumour activity of 5-fluorouracil in colon and breast cancers. 79
Mazen M. EL-HAMMADI, Ángel V. DELGADO, Consolación MELGUIZO, José C. PRADOS, Mª Adolfina RUIZ, José L. ARIAS

Hyperthermia application of magnetic solid lipid nanoparticles 81
María MUÑOZ DE ESCALONA, Eva SÁEZ-FERNÁNDEZ, Ángel V. DELGADO, José C. PRADOS, Mª Adolfina RUIZ, José L. ARIAS

Percutaneous intramyocardial injection of microencapsulated FGF1 and NRG1 improves cardiac function in a preclinical model of ischemia-reperfusion. 83
Elisa GARBAYO, Juan José GAVIRA, Manuel GARCÍA DE YÉBENES, Beatriz PELACHO, Gloria ABIZANDA, Hugo LANA, Felipe PRÓSPER, María BLANCO-PRIETO

Comunicaciones formato Póster

Hidrogeles de quitosán entrecruzados covalentemente con tetraquis(hidroximetil) fosfonio como sistemas para la liberación de fármacos 87
María Teresa MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, Guillermo RODRÍGUEZ BERNA, Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Virginia MERINO, Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Avelino CORMA, Marival BERMEJO

Enfermedades raras: tres experiencias de desarrollo de formulaciones galénicas en el entorno universitario. 89
Encarna GARCÍA MONTOYA, Laia MARCO, Ricard CANADELL, Francesc BONET, Anna NARDI, Marc SUÑÉ, Isaac NOFRERÍAS, Pilar PÉREZ, Montse MIÑARRO, Josep R. TICÓ, Josep Mª SUÑÉ NEGRE

Bioactividad de ciprofloxacino incorporado en cementos destinados para la fijación ósea 91
Javier MARTÍNEZ-MORENO, Virginia MERINO, Amparo NÁCHER, José Luis RODRIGO, Matilde MERINO-SANJUÁN

Aplicación de la plataforma Wikipedia en la asignatura de Legislación y Deontología Farmacéutica del Grado en Farmacia 93
Carmen GUTIÉRREZ MILLÁN, Mª José DE JESÚS VALLE, Aránzazu ZARZUELO CASTAÑEDA

Application of SeDeM Diagram as quality control tool: Reproducibility study of three Emcompress® batches 95
Isaac NOFRERIAS ROIG, Anna NARDI RICART, Marc SUÑÉ-POU, Josep Ramón TICÓ GRAU, Montserrat MIÑARRO CARMONA, Josep María SUÑÉ-NEGRE

Síntesis y caracterización de nanopartículas quitosano/albúmina funcionalizadas con fólico para la vehiculización de Doxorrubicina. 97
Nuria MONTERO PASTOR, Elena PÉREZ IZQUIERDO, Ana MARTÍNEZ RELIMPIO, César TEIJÓN LÓPEZ, Rosa OLMO LÓPEZ, Mª Dolores BLANCO GAITÁN

Empresas Farmacéuticas colaboran con la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona. 99
Eugènia PUJOL, Carmen ESCOLANO, Encarna GARCÍA-MONTOYA, Mercè PALLÀS, Santiago VÁZQUEZ

Análisis de la aplicabilidad de los criterios STOPP/START en pacientes mayores pluripatológicos ingresados en un hospital sociosanitario 101
Julia HERNÁNDEZ MARTÍN, Juan PERIS MARTÍ, Virginia MERINO, Matilde MERINO SANJUÁN

Identifying risk factors for progression, such as lenalidomide exposure, in multiple myeloma patients. 103
Beatriz GUGLIERI-LÓPEZ, Dirk Jan MOES, Alejandro PÉREZ-PITARCH, Begoña PORTA-OLTRA, Mónica CLIMENTE-MARTÍ, Matilde MERINO-SANJUÁN

Synthesis and characterization of folate-targeted albumin/alginate nanoparticles stabilized by amide bonds 105
Ana María MARTÍNEZ RELIMPIO, Marta BENITO MIGUEL, Susana MARTÍN HERNÁEZ, María Dolores BLANCO GAITÁN

Effect of Paracetamol on the Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Sunitinib to Brain, Liver and Kidney in Mice 107
Chii Chii CHEW, Teng Wai KOO, Pilar MODAMIO, Cecilia FERNÁNDEZ, Eduardo Luis MARIÑO, Ignacio SEGARRA

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic evaluation of amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, cefuroxime axetil and cefotaxime for pediatric acute otitis media in Spain: influence of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccination. 109
Maitane IBAR-BARIAIN, Andrés CANUT, Arantxa ISLA, Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN

Modificación en la absorción de antiepilépticos en giardiasis 111
Verónica VIVANCOS, Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Mª Auxiliadora DEA, Marival BERMEJO

Smart azo-responsive microsystems for colon drug delivery (Inflammatory Bowel Diseases treatment). 113
Adrián H. TERUEL, C. COLL, F. SANCENÓN, V. MERINO-SANJUÁN, M. GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, R. MARTÍNEZ-MAÑEZ

Modificación en la absorción Metoprolol en presencia de excipientes 115
Alejandro RUIZ-PICAZO, Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Marival BERMEJO

Efecto del fraccionamiento y la trituración sobre la velocidad de disolución de comprimidos osmóticos de nifedipino 117
Laura C. GARCÍA, Yesica RODRIGO, Mª del Rosario ABERTURAS, Jesús MOLPECERES

Efecto del fraccionamiento y la trituración de comprimidos matriciales de mesalazina sobre la velocidad de disolución 119
Yesica RODRIGO, Laura C. GARCÍA, Jesús MOLPECERES, Mª del Rosario ABERTURAS

Formación de Dispersiones Sólidas de Ebastina mediante Mezcla Simple 121
Marc SUÑÉ-POU, Anna NARDI RICART, Isaac NOFRERIAS ROIG, Encarna GARCÍA MONTOYA, Pilar PÉREZ LOZANO, Josep María SUÑÉ NEGRE

Funcionalización por plasma de implantes de titanio para anclaje de enzimas antibacterianas 123
Luis DÍAZ-GÓMEZ, Carme VENDRELL, Anna CORTINA, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

Optimización de la encapsulación de proteínas en microesferas biodegradables . . . 125
Alicia ARRANZ ROMERA, Sergio ESTEBAN PÉREZ, Irene MOLINA MARTÍNEZ, Rocío HERRERO VANRELL, Irene BRAVO OSUNA

Nanocápsulas a base de quitosano microencapsuladas para terapia génica por vía pulmonar 127
Estefanía FERNÁNDEZ-PAZ, Sonia AL-QADI, Noemi CSABA, Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ

Redes metal-orgánicas (MOF) microencapsuladas para administración pulmonar de compuestos activos. 129
Cristina FERNÁNDEZ-PAZ, Teresa SIMÓN-YARZA, Patricia HORCAJADA, Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ

Estudio comparativo de los perfiles IR y DRX de Ebastina en comprimidos recubiertos 131
Marc SUÑÉ-POU, Anna NARDI RICART, Isaac NOFRERIAS ROIG, Xavier ALCOBÉ OLLÉ, María Dolors PUJOL DILME, Josep María SUÑÉ NEGRE

Situación Actual del Diseño y Desarrollo de Medicamentos Antitumorales con Liposomas como Sistemas Transportadores 133
P. GÁLVEZ-MARTÍN, M. M. MEDINA PÉREZ, J. LÓPEZ-VIOTA, M. LÓPEZ-VIOTA

Diseño de partículas metálicas con aplicaciones biomédicas. 135
B. PARERA, J. LÓPEZ-VIOTA, MªA. RUIZ, A. DELGADO, M. LÓPEZ-VIOTA

Evaluation of polyurethane P539 matrix tablets *obtained by traditional and ultrasound-assisted compression* 137
Renata ABREU VILLELA, Ángela AGUILAR-DE-LEYVA, Isidoro CARABALLO

Dispersiones sólidas de indometacina y L-HPC: velocidad de disolución a pH=4,5 . . .139
Estefanía TASCÓN OTERO, Eva NAVARRO RUIZ, Paloma M. DE LA TORRE IGLESIAS, María Ángeles PEÑA FERNÁNDEZ, Covadonga ÁLVAREZ ÁLVAREZ

Caracterización in vitro *de formulaciones colónicas* 141
Eva NAVARRO RUIZ, Estefanía TASCÓN OTERO, Covadonga ÁLVAREZ ÁLVAREZ, Juan J. GARCÍA RODRÍGUEZ, Paloma M. DE LA TORRE IGLESIAS

Preformulation studies of two new biodegradable polyurethanes to be used as controlled release excipients by direct compression 143
María Dolores CAMPÍÑEZ, Elena BENITO, Lucía ROMERO-AZOGIL, Ángela AGUILAR-DE-LEYVA, María de Gracia GARCÍA-MARTÍN, Juan Antonio GALBIS, Isidoro CARABALLO

Estudios de Preformulación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas mediante Calorimetría Diferencial de Barrido 145
Helena ROUCO TABOADA, Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ, Mariana LANDÍN

Estudio comparado de la cinética de liberación de minicomprimidos de ibuprofeno de diferente composición y tamaño de partícula 147
Antonio RIVAS CORNEJO, Cristina MADERUELO MARTÍN, Aránzazu ZARZUELO CASTAÑEDA, José M. LANAO

Optimización de formulaciones de naproxeno con L-HPC 149
Carlos TORRADO SALMERÓN, Víctor GARCÍA HERRERO, Santiago TORRADO DURÁN

Influencia de surfactantes y superdisgregantes celulósicos en la recristalización de formas amorfas de naproxeno sódico 151
Víctor GARCÍA HERRERO, Carlos TORRADO SALMERÓN, Santiago TORRADO DURÁN

Predicción de la solubilidad del Celecoxib en mezclas codisolventes empleando el modelo de Jouyban-Gharamaleky 153
Begoña ESCALERA I., Norma Sofía TORRES P., Mª Ángeles PEÑA F.

Parámetros de solubilidad parciales del Probenecid 155
M.ª Ángeles PEÑA, Begoña ESCALERA, Fátima SANZ, Aurora REÍLLO, Antonio PEÑA-FERNÁNDEZ

Efecto de la concentración de NaCl en la capacidad de autoensamblaje de la poloxamina T1307 157
Sonia CABANA, Anita BAHADUR, Pratap BAHADUR, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

Elaboración de un Gel Plo (Pluronic Lecithin Organogel) con Almotriptán 159
S. FERRANDIS BELLVÍS, Mª SEBASTIÁN MORELLÓ, M. Araceli CALATAYUD PASCUAL, A. LÓPEZ CASTELLANO, C. BALAGUER FERNÁNDEZ

Estudio ADTRA-LIP: la adherencia al tratamiento de estatinas se mejora con la intervención del farmacéutico comunitario y médico de atención primaria 161
Ainhoa OÑATIBIA-ASTIBIA, Estíbaliz GOYENECHEA, Belén LARRAÑAGA, Miguel Ángel GASTELURRUTIA, Amaia MALET, Ángel GARAY, Begoña CALVO

Estudio comparativo de la penetración de antifúngicos a partir de lacas de naturaleza acuosa y orgánica 163
Elena CUTRÍN GÓMEZ, Barbara S. GREGORÍ VALDES, Soledad ANGUIANO IGEA, José Luis GÓMEZ AMOZA, João MOURA BORDADO, Helena MARGARIDA RIBEIRO, Francisco J. OTERO ESPINAR

Difusión de Ciclosporina-A a través de la piel mediante la utilización de liposomas ultraflexibles 165
Juan José CARRERAS, Willian E. TAPIA, Adrián SALA, Teresa Mª GARRIGUES, Ana MELERO

Estudio de la inmovilización de proteínas en Nanopartículas Lipídicas a base de ácido esteárico 167
José Víctor ÁLVAREZ GONZÁLEZ, Mari Luz PICO COUCE, José BLANCO, Asterio LUZARDO, Francisco OTERO ESPINAR

Evaluación de agentes lioprotectores en la estabilidad de nanopartículas de oro/chitosan liofilizadas 169
Luis Manuel OSORIO PADILLA, José MARTÍNEZ LANAO, Clara Isabel COLINO GANDARILLAS

Evaluación de micropartículas de Ropinirol en un modelo animal de Parkinson 171
E. BARCIA, L. BOEVA, K. SLOWING, A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO, S. NEGRO

Micropartículas biodegradables de gatifloxacino para el tratamiento de la tuberculosis pulmonar 173
P. MARCIANES, S. NEGRO, E. BARCIA, C. MONTEJO, A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO

Comprimidos matriciales de PAMgA para la liberación prolongada de metformina. 175
Rebeca SIMANCAS HERBADA, Ana FERNÁNDEZ CARBALLIDO, Ana Isabel TORRES-SUÁREZ

CO2 foaming preparation of porous bone scaffolds containing low molecular weight PLGA and autologous growth factors. 177
Luis DÍAZ-GÓMEZ, Carlos A. GARCÍA-GONZÁLEZ, Fang YANG, John A. JANSEN, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

El grado de cristalinidad como parámetro indicativo de calidad en la compactación por vía seca de ibuprofeno. 179
Antonio MATJI, Luis CARVAJAL, Fernando CONDE, María Ángeles PEÑA, Nicoletta DONATO, Juan TORRADO

Análisis de Riesgos en el desarrollo de una formulación de liberación controlada bajo el concepto de Calidad por Diseño (QbD) 181
Roberto ARÉVALO PÉREZ, Cristina MADERUELO MARTÍN, José M. LANAO

Terapia génica no viral para la enfermedad de Fabry: Nuevo vector basado en SLNs y Bemiparina 183
Paola S. APAOLAZA, Ana del POZO-RODRÍGUEZ, Mónica VICENTE-PASCUAL, Josune TORRECILLA, Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN, María Ángeles SOLINIS

Absorción percutánea de un polifenol lipídico desde nano-emulsiones y nanotransportadores sólidos lipídicos. 185
Elvira ESCRIBANO FERRER, Ferran ROIG ROIG, Rosa María LAMUELA RAVENTÓS, María José GARCÍA CELMA

Albusomes, a Green Pharmaceutical Vehicle for Itraconazol Formulation 187
Mª José DE JESÚS VALLE, Imanol DE PRADA ERRAZQUIN, Macarena GONZÁLEZ LÓPEZ, Ana Rita HENRIQUES ALMEIDA RODRIGUES, Amparo SÁNCHEZ NAVARRO

Encapsulación de ciprofloxacino en Albusomas: microesferas de albumina y liposomas 189
Mª José DE JESÚS VALLE, Juan José DUQUE AGUILAR, Sara VIRUEGA ENCINAS, Amparo SÁNCHEZ NAVARRO

Starch aerogel-loaded poly (ε-caprolactone) scaffolds for bone regeneration 191
Leticia GOIMIL GARCÍA, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ LORENZO, Carlos A. GARCÍA GONZÁLEZ

Gene delivery to the corneal surface: in vitro *and* ex vivo *evaluation of a solid lipid nanoparticle based vector*. 193
Ana DEL POZO RODRÍGUEZ, Luigi S, BATTAGLIA, Elisabetta MUNTONI, Federica FOGLIETTA, Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN, Maitane RUEDA, Mª Ángeles SOLINÍS

El hipo en la enfermedad de Parkinson. 195
Ana Carmen MARQUÍNEZ, Unax LERTXUNDI, Saioa DOMINGO ECHABURU, María Ángeles SOLINÍS, Begoña CALVO, Ana DEL POZO RODRÍGUEZ, Montserrat GARCÍA, Carmelo AGUIRRE, Arantxa ISLA

Análisis de la efectividad de ranibizumab en la DMAE 197
Javier ADÁN, Pilar MODAMIO, Alfredo ADÁN, M. Ángeles PIÑERO-LÓPEZ, Socorro ALFORJA, Eduardo L. MARIÑO

Fórmula Magistral de metilprednisolona oral para el tratamiento de los brotes de Esclerosis Múltiple: experiencia en un Hospital Universitario 199
Begoña ESCALERA IZQUIERDO, Ana Mª HORTA HERNÁNDEZ, Antonio YUSTA IZQUIERDO, Eva MARTÍN ALCALDE, Adriana ÁLVAREZ NONAY, María BLANCO CRESPO

Oleogel de aceite de orujo de oliva destinado al tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas de la piel. 201
Carla Andrea SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS, Mª Jesús LUCERO MUÑOZ

Evaluación de la citotoxicidad in-vitro *por MTT y citometría de flujo de una nueva formulación de micropartículas para el tratamiento de patologías en el segmento posterior del ojo*. 203
Javier RODRÍGUEZ VILLANUEVA, Irene BRAVO-OSUNA, Irene MOLINA MARTÍNEZ, Rocío HERRERO-VANRELL, Manuel GUZMÁN NAVARRO

Primer estudio sobre la evolución de los parámetros del sistema experto SeDEM según la teoría de la percolación 205
Marta CASAS DELGADO, Eduardo GALDÓN CABRERA, Isidoro CARABALLO RODRÍGUEZ

Estabilidad de membranas lipídicas aplicando la balanza de Langmuir 207
Nabila NAITLHO, Marcos VÁZQUEZ GONZÁLEZ, María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, María José CÓZAR BERNAL, Antonio María RABASCO ÁLVAREZ, Manuela RUEDA RUEDA, Francisco PRIETO DAPENA

Preparation and characterization of liposomes encapsulating levodopa-cyclodextrin complexes for the treatment of Parkinson's disease: preliminary studies 209
Elena GARCÍA ESTEBAN, María José CÓZAR BERNAL, Antonio María RABASCO ÁLVAREZ, María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Formulación de liposomas que incorporan complejos de inclusión HPβCD-acetazolamida. Estudios de integridad 211
Carmen Martina ARROYO GARCÍA, María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, Cayetano NAVAS ENAMORADO, María José CÓZAR BERNAL, Antonio María RABASCO ÁLVAREZ

Efecto de la naturaleza del vidrio en el aspecto de un liofilizado parenteral obtenido empleando solventes orgánicos volátiles 213
Elena MILLÁN RODERO, Pilar CALVO SALVE, Manuel GUZMÁN NAVARRO

Estudio farmacotécnico de nuevas formulaciones de anfotericina B. 215
Alicia LÓPEZ SÁNCHEZ, Santiago TORRADO DURÁN, Susana TORRADO DURÁN

Macrophage Targeted Drug Delivery Systems for Intracellular Parasitic Disease . . 217
Esther DE PABLO TOMERO, María Auxiliadora DEA-AYUELA, Francisco BOLÁS, Dolores R. SERRANO, Mª Paloma BALLESTEROS, Juan José TORRADO

*Optimization of a PLGA-*Aloe vera *nanofibrous dressing for wound healing* 219
Itxaso GARCÍA-ORUE, Garazi GAINZA, Patricia GARCÍA, Araceli DELGADO, Carmen EVORA, José Luis PEDRAZ, Rosa María HERNÁNDEZ, Manoli IGARTUA

Desarrollo de un modelo in vitro *alternativo de* Acanthamoeba castellanii *para la evaluación inicial del sabor de los medicamentos* 221
Ana SANTOVEÑA, María REYES-BATLLE, Inés SIFAOUI, Javier SUÁREZ-GONZÁLEZ, José E. PIÑERO, Basilio VALLADARES, Jacob LORENZO-MORALES, José BRUNO FARIÑA

Recubrimiento de formas farmacéuticas sólidas de Tenofovir basadas en partículas de oxicarburo de silicio para prevenir la transmisión sexual del VIH 223
Araceli MARTÍN ILLANA, Raúl CAZORLA LUNA, Fernando NOTARIO PÉREZ, Roberto RUIZ CARO, Aitana TAMAYO, María Dolores VEIGA OCHOA

Evaluación de la influencia de agentes estructurales y plastificantes en la liberación de Tenofovir formulado en films *vaginales basados en HPMC y Zeína* 225
Fernando NOTARIO PÉREZ, Raúl CAZORLA LUNA, Araceli MARTÍN ILLANA, Roberto RUIZ CARO, María Dolores VEIGA OCHOA

Estudio de polímeros naturales para el desarrollo de formulaciones vaginales mucoadhesivas 227
Raúl CAZORLA-LUNA, Araceli MARTÍN-ILLANA, Fernando NOTARIO-PÉREZ, Roberto RUIZ-CARO, María Dolores VEIGA-OCHOA

Desarrollo de comprimidos vaginales de Tenofovir para la prevención de la transmisión sexual del VIH 229
Fernando NOTARIO PÉREZ, Araceli MARTÍN ILLANA, Raúl CAZORLA LUNA, Roberto RUIZ CARO, Juan RUBIO, María Dolores VEIGA OCHOA

Human Serum Albumin (HSA) nanoparticles for the ocular delivery of suramin 231
Inés LUIS DE REDÍN, Carolina BOIERO, Maite AGÜEROS, Juan M. LLABOT, Juan M. IRACHE

El desarrollo profesional de especialistas sanitarios en Farmacia Industrial y Galénica. Balance desde el Dispositivo Docente de la Universidad CEU San Pablo 233
Carmen TRIVES LOMBARDERO, Luis Alberto DEL RÍO ÁLVAREZ

Los ensayos de funcionalidad según farmacopea para los cierres de goma cuando se emplean agujas de dispositivos de transferencia de soluciones i.v. 235
Luis Alberto DEL RÍO ÁLVAREZ, Ana M. PUGA, Nuria SALAZAR SÁNCHEZ

Influence of the composition of the encapsulating solutions in the structural properties of Alginate-Poly-L-Lysine-Alginate microcapsules 237
Ainhoa GONZÁLEZ-PUJANA, Edorta SANTOS, Gorka ORIVE, José Luis PEDRAZ, Rosa María HERNÁNDEZ

Topical Delivery of Amphotericin B for the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis . . 239
Liliana BAUTISTA CHÁVEZ, Dolores R. SERRANO, Larry STATTS,
María A. DEA-AYUELA, Aikaterini LALATSA

Platelet dynamics in patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin 241
Carlos PÉREZ-RUIXO, Belén VALENZUELA, José Esteban PERIS, Pedro BRETCHA-BOIX,
Vanesa ESCUDERO-ORTIZ, José FARRÉ-ALEGRE, Juan José PÉREZ-RUIXO

Nueva fórmula magistral de la solución oral de propranolol 243
Mª Jesús LUCERO MUÑOZ, Carla Andrea SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ,
Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS

Desarrollo de CBD-PLGA micropartículas para el tratamiento de cánceres ginecológicos 245
A.I. FRAGUAS-SÁNCHEZ, A. SATTA, M. FIGINI, A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO,
D. MEZZANZANICA, A.I. TORRES-SUÁREZ

Conferencias Plenarias

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Exploiting Nanotechnology to Develop Differentiated Medicines

Ijeoma F. UCHEGBU

UCL School of Pharmacy, 29 – 39 Brunswick Square, London WC1N 1AX
Nanomerics Ltd, Euro House, 1394 High Road, London N20 9YZ

Email de contacto: ijeoma.uchegbu@ucl.ac.uk

Abstract

Pharmaceutical nanotechnology involves the formation of drug loaded nanoparticles from polymers, lipids and surface active agents [1]. Such nanoparticles have been used to formulate approved drugs, which target a particular clinical problem, such as: avoiding cardiotoxicity in the case of Doxil and avoiding hypersensitivity reactions in the case of the excipient used in Abraxane [2, 3]. To gain approval and encourage prescribing, it is essential that nanomedicines are sufficiently differentiated from a clinical perspective and preclinical data should support such potential differentiation, prior to proceeding to expensive clinical testing. An increase in bioavailability, for example, is often an insufficient driver for clinical development.

Over the last two decades, we have designed a large variety of self assembling polymers [4-6] and peptides [7, 8] and used these to develop nanomedicines, which may be administered via the intravenous [7-9] oral [10-12] and intranasal [13] routes. Some of these preclinical stage nanomedicines have already demonstrated that they are well differentiated in a manner that is relevant to their clinical use. These nanomedicines will be discussed in the talk.

References

[1] UCHEGBU, I.F., SCHÄTZLEIN, A.G., CHEN, W.P. and LALATSA, A. *Fundamentals of pharmaceutical nanoscience*. (Springer, 2013).

[2] SLEEP, D., *Expert Opin Drug Deliv* 12: 793-812 (2015).

[3] GABIZON, A., SHMEEDA, H. and BARENHOLZ, Y., *Clin. Pharmacokinet.* 42: 419-436 (2003).

[4] WANG, W., MCCONAGHY, A.M., TETLEY, L. and UCHEGBU, I.F., *Langmuir* 17: 631-636 (2001).

[5] BROWN, M.D., SCHATZLEIN, A., BROWNLIE, A., JACK, V., WANG, W., TETLEY, L., GRAY, A.I. and UCHEGBU, I. F., *Bioconjug. Chem.* 11: 880-891 (2000).

[6] CHENG, W.P., GRAY, A.I., TETLEY, L., HANG, T. L.B., SCHATZLEIN, A.G. and UCHEGBU, I.F., *Biomacromolecules* 7: 1509-1520 (2006).

[7] MAZZA, M., NOTMAN, R., ANWAR, J., RODGER, A., HICKS, M., PARKINSON, G., MCCARTHY, D., DAVITER, T., MOGER, J., GARRETT, N., MEAD, T., BRIGGS, M., SCHATZLEIN, A.G. and UCHEGBU, I. F., *Acs Nano* 7: 1016-1026 (2013).

[8] LALATSA, A., SCHATZLEIN, A.G., GARRETT, N.L., MOGER, J., BRIGGS, M., GODFREY, L., IANNITELLI, A., FREEMAN, J. and UCHEGBU, I. F., *J Control Release* 197: 87-96 (2015).

[9] FISUSI, F.A., SIEW, A., CHOOI, K.W., OKUBANJO, O., GARRETT, N., LALATSA, K., SERRANO, D., SUMMERS, I., MOGER, J., STAPLETON, P., SATCHI-FAINARO, R., SCHATZLEIN, A.G. and UCHEGBU, I.F., *Pharm Res* 33: 1289-1303 (2016).

[10] SERRANO, D.R., LALATSA, A., DEA-AYUELA, M.A., BILBAO-RAMOS, P.E., GARRETT, N. L., MOGER, J., GUARRO, J., CAPILLA, J., BALLESTEROS, M.P., SCHATZLEIN, A.G., BOLAS, F., TORRADO, J.J. and UCHEGBU, I.F., *Mol Pharm* 12: 420-431 (2015).

[11] SIEW, A., LE, H., THIOVOLET, M., GELLERT, P., SCHATZLEIN, A. and UCHEGBU, I., *Molecular Pharmaceutics* 9: 14-28 (2012).

[12] SOUNDARARAJAN, R., SASAKI, K., GODFREY, L., ODUNZE, U., FEREIRA, N., SCHATZLEIN, A. and UCHEGBU, I., *Int J Pharm* 514: 121-132 (2016).

[13] GODFREY, L., GARRETT, N.L., LALATSA, A., SOUNDARARAJAN, R., A.,I., MOGER, J., SCHATZLEIN, A.G. and UCHEGBU, I.F., (Submitted).

Medicamentos biosimilares

César HERNÁNDEZ GARCÍA

Jefe de Dpto. de Medicamentos de Uso Humano
Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios

Email de contacto: smhaem@aemps.es

Todos los medicamentos, para ser autorizados, tienen que demostrar calidad, seguridad y eficacia. Cuando el medicamento es nuevo, ello exige un desarrollo completo. Cuando el medicamento es conocido, expirados los periodos de patente y protección de datos, el desarrollo puede apoyarse en los datos ya conocidos del medicamento innovador. Para los principios activos de síntesis química, estos medicamentos se llaman genéricos y para asumir que su eficacia y seguridad es la misma que el innovador tienen que demostrar bioequivalencia.

Para los medicamentos biológicos es distinto. Un medicamento biológico es un medicamento que contiene uno o más principios activos fabricados o derivados de una fuente biológica. Los principios activos de los medicamentos biológicos son más grandes y complejos. Tanto su complejidad como la forma en la que se fabrican dan como resultado un cierto grado de variabilidad en las moléculas de un mismo principio activo, especialmente en diferentes lotes de un mismo medicamento.

Un medicamento biosimilar es un medicamento biológico que se desarrolla para ser similar a otro medicamento biológico que ya está autorizado. Un biosimilar no es lo mismo que un genérico, ya que estos medicamentos tienen estructuras más simples y es fácil asegurar que son idénticas a las de los medicamentos de referencia. El principio activo de un biosimilar y su medicamento de referencia son la misma sustancia biológica, aunque puede haber diferencias menores por su propia variabilidad (tanto para medicamentos innovadores como para sus biosimilares).

Para que un biosimilar sea autorizado tiene que haber quedado probado que esta variabilidad y cualquier otra diferencia con el innovador no tienen efecto sobre la seguridad y eficacia del producto. Y esto lo garantizan las agencias de medicamentos. Obviamente, al tratarse de un desarrollo abreviado, el biosimilar puede salir a un precio más bajo que el innovador, y esta es su principal ventaja, la de permitir una competencia en precios. Como no hay diferencias en calidad, seguridad o eficacia, ambos son igualmente elegibles para iniciar un determinado tratamiento.

Sin embargo, los medicamentos biológicos están en la lista de medicamentos no sustituibles sin el conocimiento del prescriptor por un lógico principio de precaución. ¿Quiere ello decir que no se puede cambiar de uno a otro? No exactamente. De hecho, los médicos cambian de un medicamento biológico a otro sin que hasta la fecha se haya detectado mayores problemas asociados. Lo que ocurre es que esto hay que hacerlo caso a caso y siempre muy pegado al paciente. No hay experiencias ni datos de cuáles serían las consecuencias de cambios o sustituciones masivas de unos medicamentos biológicos por otros en cortos periodos de tiempo. En este punto debe imperar el sentido común y el trabajo en equipo dentro de los hospitales con el paciente como centro del sistema.

Biopredictive media and methods: *in vivo* Supersaturation

María del Val BERMEJO SANZ

Universidad Miguel Hernández, Elche, Spain

Email de contacto: mbermejo@goumh.umh.es

In vitro dissolution of immediate release oral drug products is one of the most relevant tools to ensure batch to batch quality and process performance. This test is an integral component of any new drug application worldwide. Nevertheless, the in vivo relevance of the Quality control dissolution tests depends on the drug substance and its biopharmaceutical properties as well as on the drug formulation characteristics. Ideally, the dissolution test conditions should discriminate product changes that may affect product performance. However, unless an IVIVR or and IVIVC exists for the product, variations in dissolution behavior may or may not reflect variations in performance. To determine if a dissolution method can discriminate the impact of product changes the method needs to be challenged against in vivo data. For drugs whose limiting step for intestinal absorption is in vivo dissolution it is essential to identify the critical variables affecting dissolution in the gastrointestinal environment. Due to the complexity of the gastrointestinal tract this task is not straightforward. In the past many efforts were devoted to the development of the so called "Biorelevant media" that were used in the pharmacopoeial apparatus with some degree of success. On the other hand, for drugs with weak acid or basic nature the pH change that the formulation faces during the transit on the GI system can be a major determinant of the dissolution rate. Nowadays, In vivo predictive dissolution (IPD, i.e dissolution media and apparatus able to predict in vivo performance) is considered as a valuable development and regulatory tool which could be able to reduce human BA/BE studies and to speed up marketing authorization. In this presentation an overview of different dissolution approaches (from QC dissolution through biorelevant media and gastrointestinal simulators) will be presented and the application to the study of the supersaturation phenomena will be discussed. Supersaturation of weak bases after gastric emptying in the small intestine has received recently attention as a potential formulation strategy to enhance oral fraction absorbed. The supersaturated state must be effectively induced ad maintained. For that reason, the availability of screening methods to test the development of supersaturable formulations is necessary and. Dissolution transfer systems al so known as Gastrointestinal Simulators (GIS) could serve to this purpose. An example of the use of a gastrointestinal transfer system to explain the performance of two drug formulations of a slow dissolving class I formulation will be presented to illustrate the added value of systems mimicking the intestinal transit.

Comunicaciones Orales

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Técnicas de inteligencia artificial para el escalado de procesos de granulación

Mariana LANDIN PÉREZ

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, A Coruña

Email de contacto: m.landin@usc.es

1. Introducción

El escalado de procesos de granulación vía húmeda es una etapa crítica en el desarrollo de formulaciones sólidas, que se aborda mediante experimentos en equipos de escala creciente diseñados para mantener similaridad geométrica, dinámica y cinética. El control de la velocidad del aspa y por ende, del consumo de potencia se relacionan directamente con los parámetros dinámicos y cinéticos [1].

En estudios previos se ha presentado un método de escalado basado en el consumo de potencia, mediante el cálculo parámetros adimensionales: Numero de potencia (NP) /Numero de Reynolds (NRe) /Numero de Froude (NFr), pero no se consiguió probar la universalidad del concepto para cualquier tipo, tamaño o diseño de mezclador [2].

Este trabajo aborda el reto del escalado del consumo de potencia en granuladores de alta velocidad de diferentes escalas, entre 25L y 600L, mediante el empleo de herramientas de inteligencia artificial [3] que permiten seleccionar las variables críticas del proceso, y facilitan la obtención de la ecuación matemática que las relaciona con el consumo de potencia del equipo. Este modelo debe ser útil para predecir el punto final del proceso en granuladores de gran tamaño.

2. Materiales y Métodos

2.1. Base de datos

Se generó una base de datos a partir de experimentos de granulación a velocidad variable en equipos Fielder PMA de 25, 100 y 600L, geométricamente similares y de 65L no similar a los anteriores. Se empleó la formulación: lactosa (80%), almidón de maíz, y almidón pregelatinizado (2%). La carga del equipo y la velocidad de cuchillas se mantuvieron constantes, 0.3 Kg/L y 1500 rpm.

Se adicionó agua en proporciones crecientes y se determinó para cada adición el consumo de potencia y la densidad (masa humectada correspondiente a un volumen conocido) y las propiedades reológicas de las masas humectadas generadas (reometría de torsión).

2.2. Modelización: Curvas de potencia

Se aplicó la metodología desarrollada por Landin y colaboradores [2] para la predicción del punto final del proceso en función de los parámetros: N_p, N_{Re} y N_{Fr}.

$N_p=\Delta Pg/\rho N^3D^5$; $N_{Re}=D^2N\rho/\eta$; $N_{Fr}=N^2D/g$.

Donde ΔP es la potencia del motor (Watts), N la velocidad del aspa (rps), D su diámetro (m), g (9.8 ms^{-2}), ρ la densidad (kg m^{-3}) y η (Nm) la consistencia de la masa humectada.

Se establecieron las funciones $N_p = fn\{N_{Re}, N_{Fr}, h, D\}$ para cada equipo. De la regresión ln/ln conjunta se obtuvo el modelo general:

$$N_p = 273.96\,[N_{Re} \times N_{Fr} \times h/D]^{-0.712} \qquad (1)$$

A partir de ella se calcularon los valores consumo de potencia predichos (Fig. 2B).

2.3. Modelización: Inteligencia Artificial

Se emplearon los software FormRules® v4.03 e INForm ® v5.01 (Intelligensys Ltd., UK) que implementan las técnicas de lógica difusa y “Gene Expression Programming” (GEP).

Para la modelización con lógica difusa, se seleccionaron como variables: volumen del equipo, diámetro y velocidad del aspa, porcentaje de líquido y densidad y consistencia de la masa humectada. Se modelizó el parámetro potencia del motor. Para la modelización con GEP se introdujeron como variables, las críticas previamente establecidas por la lógica difusa y se obtuvo la función matemática que las relaciona con la potencia del motor. La base de datos se dividió en aleatoriamente en tres grupos: 33 datos para entrenamiento de la red, 3 para evaluar el error y 5 para validación del modelo.

La evaluación de los modelos se realizó mediante el ANOVA y la determinación del parámetro R^2 definido como:

$$R^2 = \left(1 - \frac{\sum_{i=1}^{n}\left(y_i - y_i^{'}\right)^2}{\sum_{i=1}^{n}\left(y_i - y_i^{''}\right)^2}\right) \times 100\% \qquad (2)$$

Donde y es el valor experimental de la variable, y' es el valor predicho por el modelo y y'' es el valor medio de la variable.

Valores de R^2 entre 70 y 99.9 son indicativos de una buena predictibilidad.

3. Resultados y Discusión

El modelo establecido mediante lógica difusa permitió eliminar la variable volumen del equipo como parámetro determinante del consumo de potencia del mezclador. Sobre esta base, se llevó a cabo la modelización con GEP ($R^2_{entrenamiento}$= 97.93%, R^2_{test} = 86.78%, $R^2_{validación}$ = 89.48), cuya ecuación resultó ser la siguiente:

$$\Delta \mathbf{P\ (Watts)} = \rho \cdot D - 17.14 \cdot \rho \cdot D \cdot \eta^2 + \rho \cdot D^3 \cdot \eta \cdot N \cdot \%liq + 6.19 \cdot N \cdot \%liq + 0.28 \cdot N \cdot \%liq^2 - 6.19 \cdot \rho \cdot \eta - 0.28 \cdot \rho \cdot \eta \cdot \%liq$$

El modelo desarrollado mediante GEP para analizar datos del proceso de granulación vía húmeda en granuladores de alta velocidad, permite predecir el consumo de potencia en los equipos de diversos tamaños (entre 25L y 600L), sin necesidad del uso de complejos parámetros adimensionales (N_p, N_{Fr} N_{Re}) o asunciones físico-químicas. Además, la predicción es excelente tanto para granuladores geométricamente similares, como para los no geométricamente similares (Fig. 1A) y mejora sustancialmente la predicción respecto al modelo establecido mediante las curvas de potencia, que como puede observarse (Fig. 1B) predicen valores muy inferiores a los experimentales.

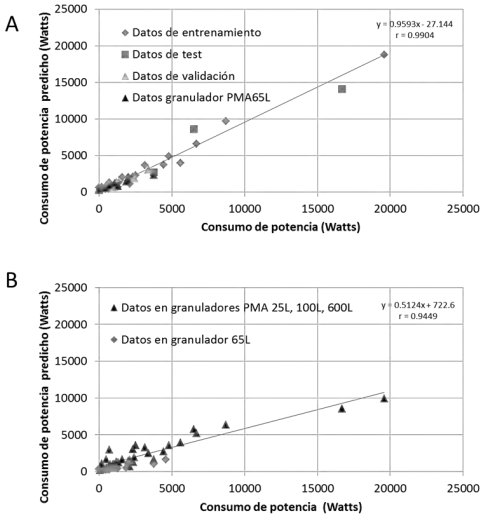


Fig. 1: Relación entre la potencia del motor experimental y la predicha calculada: A) por el modelo GEP para los conjuntos de datos de entrenamiento, test, validación y el granulador PMA 65L (sin similitud geométrica); y B) según el método desarrollado previamente por Landin et al. (1996).

4. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el IFPRI y en él han colaborado los Profs. P York y RC Rowe, el Dr. M.J. Cliff, y, Mr. A.J. Wigmore de Aromatic-Fielder Ltd. Se agradece la financiación del Gobierno de España (SAF 2012- 39878-C02-01).

Referencias

[1] Litster. Scale up of wet granulation processes: Science not art. Powder Technol. 130, 35-40, 2003.

[2] LANDIN *et al.*, Scale-up of a pharmaceutical granulation in fixed bowl mixer-granulators Int. J. Pharm.133: 127-131,1996.

[3] LANDIN y ROWE R.C. 2013 Artificial neural networks technology to model, understand and optimize drug formulations. In Aguilar J., editor, Formulation Tools for Pharmaceutical Development. Oxford: Woodhead Publishing Ltd, pp. 7-37, 2013.

Predicción de la absorción de fármacos en colon de rata mediante el desarrollo de un modelo de perfusión *in situ*

Isabel LOZOYA-AGULLÓ[1,2], Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[1], Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[1], Matilde MERINO-SANJUÁN[2,3], Marival BERMEJO[1]

1. Dpto. de Ingeniería. Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Miguel Hernández, Elche, España
2. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología. Universidad de Valencia, España
3. Centro de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM). Unidad Mixta Universidad Politécnica de Valencia-Universidad de Valencia, España

Email de contacto: isabel_lozoya@hotmail.com

1. Introducción

Tras la administración de un medicamento por vía oral, el intestino delgado es el lugar de absorción por excelencia debido a sus características anatómicas, fisiológicas y fisicoquímicas [1]; por tanto, la capacidad de absorción de xenobióticos por parte del colon suele considerarse menor. Sin embargo, el elevado tiempo de permanencia de los compuestos en este tramo, que puede llegar a superar las 24 h, contribuye a que la absorción se realice de forma completa. Este elevado tiempo de permanencia es de vital importancia para las fórmulas de liberación controlada, diseñadas para liberar el principio activo entre 12 y 24 h; por tanto, es necesario garantizar una correcta absorción en colon, sobre todo cuando el principio activo es de baja permeabilidad, para asegurar el éxito de una formulación con estas características [2].

Según las bases del Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS), la absorción oral de un fármaco está definida por su solubilidad acuosa y su permeabilidad intestinal [3]. En la literatura científica existen multitud de modelos para predecir la absorción en intestino delgado, pero no ocurre lo mismo para la predicción en el colon.

El objetivo de este estudio es desarrollar y validar un modelo de perfusión *in situ* en colon de rata útil para predecir la permeabilidad de nuevas moléculas en colon y comparar su utilidad con la de otros modelos, ya validados, obtenidos en intestino delgado y en cultivos celulares. Además, se estudiará la aplicación del BCS a los datos obtenidos en colon. Asimismo, se intentará aumentar la permeabilidad de un compuesto poco permeable mediante la formación de un par iónico.

2. Material y Métodos

Se seleccionaron 16 fármacos, pertenecientes a las cuatro clases del BCS, y se ensayó su permeabilidad mediante una técnica de perfusión *in situ*, basada en el método de Doluisio [4], en colon e intestino delgado de rata. También se estudió su permeabilidad usando una técnica *in vitro* en cultivos celulares Caco-2 [5].

Las muestras obtenidas *in situ* e *in vitro* se analizaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) con el método analítico, previamente validado, correspondiente para cada compuesto. Se calculó el valor de permeabilidad de cada fármaco y, para poder comprobar la capacidad de predicción de la absorción del modelo desarrollado en colon, se establecieron correlaciones entre los datos obtenidos en colon y en intestino delgado y, entre aquéllos obtenidos en colon y en monocapas celulares Caco-2. Además, se clasificaron los 16 compuestos según la permeabilidad en colon, atendiendo a los criterios del BCS.

Para finalizar, se escogió el atenolol como fármaco poco permeable en colon y se formuló un par iónico, usando azul brillante y azul de bromofenol como contra-iones, con el que se evaluó la permeabilidad en colon.

3. Resultados y Discusión

Las correlaciones obtenidas entre los resultados de permeabilidad en intestino delgado y en colon, y entre la permeabilidad en colon y Caco-2 son buenas ($R^2 > 0.9$ y $R^2 > 0.8$) (Fig. 1). Esto indica que los datos de permeabilidad en intestino delgado de rata y/o monocapas Caco-2 pueden usarse para predecir la absorción en colon, pues la clasificación de los compuestos en baja y alta permeabilidad es idéntica en todos los modelos experimentales.

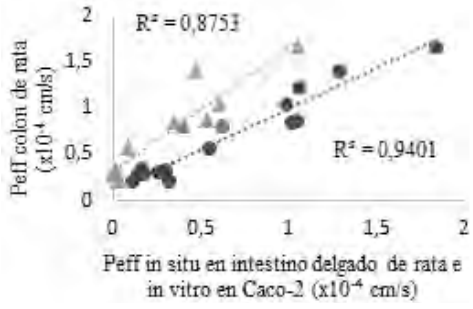


Fig. 1: Correlación entre permeabilidad in situ en intestino delgado (círculos) e in vitro en Caco-2 (triángulos) y colon de rata. El símbolo rojo corresponde al metoprolol.

En la Figura 2 se muestra el incremento de la permeabilidad en colon del atenolol tras la formación de los pares iónicos desarrollados. Como se aprecia, los dos colorantes de carácter ácido incrementan la permeabilidad del atenolol, probablemente por favorecer la formación de una molécula de mayor lipofilia debido a la diferencia de la carga iónica de ambas sustancias en las condiciones ensayadas.

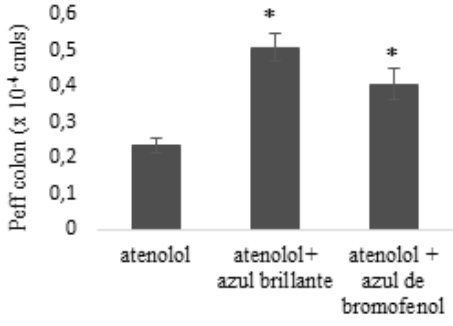


*Fig. 2: Permeabilidad del atenolol en colon de rata en ausencia y en presencia de contra-iones. * diferencias estadísticamente significativas (p<0.05).*

4. Conclusión

El modelo de perfusión *in situ* en colon de rata, validado en este trabajo, demuestra que la clasificación existente para fármacos en intestino delgado es aplicable a colon y sirve de cribado para el desarrollo de formulaciones de liberación controlada.

5. Agradecimientos

Las autoras agradecen al Ministerio de Educación, Cultura y Deporte por conceder a Isabel Lozoya-Agulló una beca del programa FPU. Y al Proyecto "Red Biofarma. DCI ALA/19.09.01/10/21526/245-297/ALFA 111(2010)29, financiado por la Comisión Europea.

Referencias

[1] Y. MASAOKA, Y. TANAKA, M. KATAOKA, S. SAKUMA, S. YAMASHITA. "Site of drug absorption after oral administration: assessment of membrane permeability and luminal concentration of drugs in each segment of gastrointestinal tract", European journal of pharmaceutical sciences, 29, 3-4, 240-50, 2006.

[2] C. TANNERGREN, A. BERGENDAL, H. LENNERNAS, B. ABRAHAMSSON. "Toward an increased understanding of the barriers to colonic drug absorption in humans: implications for early controlled release candidate assessment", Molecular pharmaceutics, 6, 1, 60-73, 2009.

[3] G.L. AMIDON, H. LENNERNAS, V.P. SHAH, J.R. CRISON. "A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability", Pharmaceutical research, 12, 3, 413-20, 1995.

[4] J.T. DOLUISIO, N.F. BILLUPS, L.W. DITTERT, E.T. SUGITA, J.V. SWINTOSKY. "Drug absorption. I. An in situ rat gut technique yielding realistic absorption rates", Journal of pharmaceutical sciences, 58,10, 1196-200, 1969.

[5] K.A. LENTZ, J. HAYASHI, L.J. LUCISANO, J.E. POLLI. "Development of a more rapid, reduced serum culture system for Caco-2 monolayers and application to the biopharmaceutics classification system", International Journal of Pharmaceutics, 200,1, 41-51, 2000.

Low-molecular-weight hialuronan as cryoprotectant for the cryopreservation of microencapsulated cells

Haritz GURRUCHAGA, Jesús CIRIZA, Laura SAENZ DEL BURGO, Argia ACARREGUI, Rosa María HERNÁNDEZ, Gorka ORIVE, José Luis PEDRAZ

NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain

Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain

Email de contacto: Haritz.gurruchaga@ehu.eus; Joseluis.pedraz@ehu.eus

1. Introduction

Cell encapsulation allows the immobilization of desired cell and its protection from the immune system. Moreover, it permits the exchange of nutrients between the environment and the core of the microcapsule containing the cells while allowing the release of therapeutic molecules produced by the entrapped cells. Thus, this technology is being studied both as drug and cell delivery system to treat different diseases such as diabetes, anemia, cancer, and hepatic diseases [1]. Cryopreservation would help to approach this technology to the clinic as it would reduce costs and facilitate the "on demand" access of patients to the treatment in a clinic far from the manufacturer. However, the establishment of optimized and standardized protocols for cryopreservation of microencapsulated cells is necessary in order to reach the desired goal.

Two different freezing methods are used to preserve encapsulated cells, with specific freezing rates and cryoprotectants (CPA): slow freezing protocols and vitrification. The most used method to cryopreserve encapsulated cells is the slow freezing protocol with 5-10% dimethyl sulfoxide (Me2SO). In a previous study, we showed that Me2SO at 10% is the best CPA solution for the cryopreservation of microencapsulated mesenchymal stem cells (MSC) following a slow freezing protocol [3]. But, although the cryopreservation with Me2SO showed good results, its toxicity can be harmful for some cell types.

On this regard, low-molecular-weight hyaluronan has shown protective effects in the preservation of human fibrotic monolayers [4]. Hyaluronan is a natural product present in diverse regions of the body whose protective effect could be explained by its high hydration capability and the inhibition of ice growth. Based on these properties, we are studying hyaluronan as a CPA agent in the cryopreservation of encapsulated cells.

2. Material and methods

2.1. Cell microencapsulation

Epo secreting D1MSCcells (D1MSC-Epo) and Epo secreting C2C12 myoblasts (C2C12-epo) cells were immobilized into 1.5% alginate microcapsules of 480µm of dimaeter using an electrostatic droplet generator (Nisco ®).

2.2. Cryopreservation

Three CPA solutions fresh prepared and diluted in the maintenance medium of each cell type were tested: 5% low-molecular-weight hyaluronan 25-50 kDa (HA 5%), Me2SO 10% and Cryostor® CS10 (CS10). Volumes of 200 µL of encapsulated cells were resuspended in cryovials with 1 mL of the different CPA solutions previously prepared. Cryovials were equilibrated in ice for 20 minutes, frozen at -80ºC for one day on Coolcell container and, later, stored on liquid N_2 tanks for 1 week before performing any assay. Cryovials were thawed quickly at 37ºC until no ice was observed in the solution.

2.3. Performed assays

Two assays were performed to evaluate the

viability of the cells inside the microcapsules: calcein/ethidium measured by microscope dye and CCK-8 assay.

3. Results and discussion

C2C12-epo cryopreserved microcapsules with 5% HA showed the highest metabolic activity among cryopreserved groups without statistical differences compared to the non cryopreserved (Control) group. In contrast, 10% Me2SO showed statistical differences compared to CN group (p>0,001). These results were corroborated in cells viability by means of the calcein/ethidium assay. CS10 and 5% HA groups stained similarly to the control group, whereas 10% Me_2SO showed a lower staining. On the other hand, there were no significant differences among the metabolic activity of D1MSC-epo cryopreserved microcapsules compared to the control group (p>0,001), confirming these data by the calcium/ethidium staining with high viability at all the groups studied.

Some studies have shown that low-molecular-weight HA could be internalized by endocytosis mediated by the CD44 and CD168 receptors [4]. On this regard, Ujihira *et al*. proposed two different protective effects for HA: an extracellular protective effect and an inhibition of ice creation within the cells mediated by the internalization of HA and its high hydration capacity. This two mechanisms would explain our different results in the metabolic activity of C2C12-epo and D1MSC-epo cells since the expression of the two receptors could not be similar and so the internalization of HA.

This preliminary study shows that HA could be a potential protective agent in the cryopreservation of microencapsulated cells but more assays are necessary in order to demonstrate that low-molecular-weight HA is an alternative to the conventional CPA agents in the slow freezing protocol. The expression of surface receptors should be determined to explain the protective mechanism from HA. Moreover, HA should be tested in more cell types in order to determine its cryoprotective effect.

Nowadays, we are studying if preliminary incubation with HA could enhance the viability of microencapsulated cells. Moreover, we are performing a more exhaustive study of encapsulated cell viability after cryopreservation with HA by means of apoptotic assays, membrane integrity assays and the quantification of the released molecules. Our goal is to understand better the HA effects in cryopreserved encapsulated cells and determine if HA could be used, by itself or in combination, as a protective agent in the cryopreservation of microencapsulated cells.

4. Acknowledgments

H.G thanks the University of the Basque Country UPV/EHU for the granted fellowship and Finantial support from University of the Basque Country UPV/EHU (UFI 11/32), the Basque Country Government and the Ministry of Science and Innovation. Authors also wish to thank the intellectual and technical assistance from the ICTS "NANBIOSIS", more specifically by the Drug Formulation Unit (U10) of the CIBER in Bioengineering, Biomaterials & Nanomedicine (CIBER-BBN) at the University of the Basque Country UPV/EHU.

References

[1] ORIVE, G., SANTOS, E., PEDRAZ, J.L., HERNANDEZD, R.M., *"Application of cell encapsulation for controlled delivery of biological therapeutics"*, Adv. Drug Deliv. Rev. 67-68, 3-14, 2013.

[2] GURRUCHAGA H., CIRIZA J., SAENZ DEL BURGO L, RODRIGUEZ-MADOZ J.R., SANTOS E., PROSPER F., HERNÁNDEZ R.M., ORIVE G., PEDRAZ J.L., "*Cryopreservation of microencapsulated murine mesenchymal stem cells genetically engineered to secrete erythropoietin*". Int J Pharm 15;485(1-2). 2015.

[3] UJIHIRA M., IWAMA A., AOKI M., AOKI K., OMAKI S., GOTO E., MABUCHI K. "Cryoprotective effect of low-molecular-weight hyaluronan on human dermal fibroblast monolayers". Cryo Letters 31(2):101-11. 2010.

[4] RACINE R, MUMMERT M.E., "Hyaluronan Endocytosis: Mechanisms of Uptake and Biological Functions", Molecular Regulation of Endocytosis. 2012.

Effect of Amphotericin B nanomedicine on red blood cells and *Candida* spp. *in vitro* activity

Raquel FERNÁNDEZ-GARCÍA[1], Liliana BAUTISTA CHÁVEZ[1], Larry STATTS[2], Aikaterini LALATSA[2], M. Paloma BALLESTEROS[1], Dolores R. SERRANO[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, Madrid, Spain
2. Department of Pharmacy and Biomedical Sciences, Faculty of Sciences, University of Portsmouth, St. Michael's Building, White Swan Road, Portsmouth, United Kingdom

Email de contacto: raqfer01@ucm.es

1. Introduction

Amphotericin B (AmB) is a macrolide with antifungal and anti-leishmanial activity. This drug joins ergosterol in fungal cells, including *Candida* spp., and some parasites, such as *Leishmania.*

Currently, marketed AmB formulations consists of micellar dispersions (Fungizone®), liposomes (AmBisome®) and other lipidic systems such as Abelcet® and Amphocil®. All formulations are intravenously administered. However, the development of transdermal formulations would be of interest to treat topical fungal infections as well as cutaneous leihsmaniasis and at the same time to limit the severe adverse effects associated with the intravenous administration of the drug such as infusion-related side effects, haemolysis and nephrotoxicity. Nanomedicines are elastic liposomes, which have shown a great potential in enhancing topical delivery of poorly soluble drugs. For this reason, the aim of this work was to develop AmB nanomedicines to test their haemolytic and anti-fungal *in vitro* activity.

2. Methods

2.1. AmB nanomedicines

AmB nanomedicines were prepared using the following process.

Lipids (Soy Bean dehydrogenated), AmB and sodium deoxycholate were dissolved in methanol. The solution was then rotaevaporated in order to elimite all the solvent. And afterwards, a mixture of PBS pH 7.4 and ethanol was added to reconstitute the formed film. Finally, the suspension was sonicated to ensure a nanometric particle size of the nanomedicines. Gels were prepared by addition of Carbopol EDT or Metolose directly onto the liquid nanomedicines.

2.2. *Ex vivo* red blood cells (RBCs) haemolysis assay [1]

Diluted RBCs to 4% concentration were added into a 96 well plate (180 µL/well). Formulations were diluted using deionised water. 20 µL of each sample was loaded into the well in triplícate. Three formulations were tested: AmB nanomedicines, placebo nanomedicines (unloaded) and AmB in DMSO. As positive control, a 20% solution of Triton X-100 (20µL) was added. As negative control, PBS at pH 7.4 (20 µL) was incorporated. Plates were incubated at 37 ºC for 1 h. Subsequently, plates were centrifuged and 50 µL of supernatant from each well were transferred into a clear, flat-bottomed 96-well plate. The absorbance of the supernatants was measured using a plate reader at 570 nm (Fig. 1).

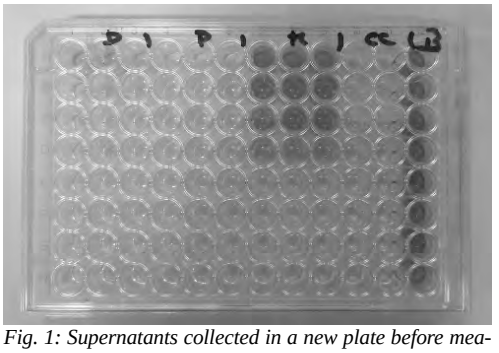


Fig. 1: Supernatants collected in a new plate before measurement of the absorbance at 570 nm.

The concentration that produces 50% of haemolysis at the tested conditions (HC_{50}) was calculated using Compusyn® software.

2.3. *Candida* spp. *in vitro* activity

Antifungal activity was tested against two different strains of *Candida* (*C. albicans* and *C. glabrata)* by agar diffusion assay, according to the European Pharmacopoeia [2] and according to Ruiz *et al*. [3]. First of all, yeast isolates were cultured on Sabouraud dextrose agar at 30ºC for 72 h. Antifungal sensitivity was assayed in Müeller Hinton agar (MHA) supplemented with glucose (2% w/v) and methylene blue (0.5 mg mL^{-1}). The MHA (200 ml) was sterilized at 121ºC and once attemperated, 3 mL of yeast suspension, prepared in sterile NaCl (0.9%) and adjusted to 0.1 Abs at 600 nm, were inoculated. The MHA with the inoculated *Candida* was placed onto petri dishes. Paper disks (6 mm) were embedded with 20 µL of each sample. The amount of drug inoculated per disk was 10 or 15 µg (equivalent to the amount of AmB and ketoconazole contained in neo-Sensitab® tablets respectively). Once the disks were dried and the agar solidified, the disks were placed onto the plates. Plates were kept at 5ºC for 2 h followed by 48 h at 30ºC and then the diameter of the growth inhibition halos was measured. To test the activity of the gels, a circular section of 6 mm was removed from the agar plate once solidified. The gels (50 ± 5 mg) were added into the cavity. Plates were kept for 48 h at 30ºC and then the diameter of the growth inhibition halo was measured.

3. Results

3.1. *Ex vivo* red blood cells (RBCs) haemolysis assay

The HC_{50} for AmB nanomedicines, placebo nanomedicines and AmB in DMSO were 160, 233 and 10.1 µg/mL respectively. AmB in DMSO is 16-fold more haemolytic than the AmB nanomedicines formulation.

3.2. *Candida* spp. *in vitro* activity

Inhibition halos for *C. albicans* were: 23.1 mm for 10 µg of AmB nanomedicines, 24.6 mm for AmB gel nanomedicines (500 µg/g), while the placebo both liquid and gel had no inhibition halo. AmB-DMSO gel (500 µg/g) had a 27.9 mm inhibition halo. The commercial neo-sensitabs tablets had the following halos: 22.9 mm for 10 µg of AmB, 29.1 mm for 10 µg of clotrimazole and 36.7 for 15 µg of ketoconazole.

Inhibition halos for *C. glabrata* were: 15.1 mm for 10 µg of AmB liquid nanomedicines, while the placebo liquid and gel nanomedicines had no effect. Two different AmB gels were tested: 21.8 mm for metolose gel and 22.9 mm for carbopol gel. The commercial tablets had the following inhibition halos: 12.9 mm for 10 µg of AmB, 21.35 mm for 15 µg of ketoconazole and 15.15 mm for 2% ketoconazole cream.

4. Conclusions

AmB nanomedicines can be a potential topical formulation to treat fungal infections and cutaneous leishmaniasis as the have reduced haemolytic toxicity while retain their in vitro activity. In all the cases, both liquid and gel nanomedicines exhibited a inhibition halo > 15 mm indicating that both strains were susceptible to the AmB [4].

References

[1] EVANS B.C., NELSON C.E., YU S.S., BEAVERS K.R., KIM A.J., LI H., NELSON H.M., GIORGIO T.D., DUVALL C.L., *"Ex vivo red blood cells haemolysis assay for the evaluation of pH-responsive endosomolytic agents for cytosolic delivery of biomacromolecular drugs"*, Journal of Visualised Experiments, 2013 Mar 9;(73):e50166. doi: 10.3791/50166.

[2] European Pharmacopoeia, 2009. The Council of Europe, sixth ed. European Pharmacopoeia, Strasburg. 5198-200.

[3] RUIZ H.K., SERRANO D.R., DEA-AYUELA M.A., BILBAO-RAMOS P.E., BOLAS-FERNANDEZ F., TORRADO J.J., *et al*. *"New amphotericin B-gamma cyclodextrin formulation for topical use with synergistic activity against diverse fungal species and Leishmania spp."*, International journal of pharmaceutics. 2014;473(1-2):148-57.

[4] JABEEN K., KUMAR H., FAROOQUI J., MEHBOOD R., BRANDT M.E., ZAFAR A., *"Agreement of direct antifungal susceptibility testing from positive blood culture bottles with the conventional method for Candida species"*, Journal of Clinical Microbioly. 2016 Feb; 54(2): 343-348.

Engineering of sulfadimidine/4-aminoslicylic acid cocrystals and dissolution modelling through shadowgraph imaging

Dolores R. SERRANO[1,2], Tim PERSOONS[3], Deirdre M. D'ARCY[1], Carolina GALIANA[4], María Auxiliadora DEA-AYUELA[4], Anne Marie HEALY[1]

1. School of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, Trinity College Dublin, Dublin 2, Ireland
2. School of Pharmacy, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, Spain
3. Department of Mechanical and Manufacturing Engineering, Trinity College Dublin, Ireland
4. Dpto. de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, Moncada, 46113 Valencia, Spain

Email de contacto: drserran@ucm.es

1. Purpose

Sulfadimidine (SDM) is a poorly-soluble anti-infective agent. Cocrystallization with suitable coformers, such as 4-aminosalicylic acid (4ASA), combined with changes in the crystal habit can favourably alter its physicochemical properties, such as dissolution, and also its *in vitro* activity. The aim of this work was to engineer SDM:4ASA cocrystals with different habits and polymorphic forms and to investigate the dissolution and *in vitro* activity. Shadowgraph imaging and molecular modelling were used to explain differences observed for different cocrystal habits.

2. Methods

Cocrystals were prepared in a 1:1 (SDM:4ASA) molar ratio. Polymorph I (PI) was obtained by liquid-assisted milling and polymorph II (PII) was produced by solvent evaporation using ethanol (PII-Habit I) or acetone (PII-Habit II), spray-drying (PII-Habit III) and solvent evaporation followed by grinding (PII-Habit IV) [1]. Solid state characterization was performed as well as shadowgraph imaging studies and antibacterial *in vitro* assays. Mercury® was used to predict the Bravais, Friedel, Donnay and Harker (BFDH) morphology and full interaction map to get an insight into the molecular arrangement on different crystal facets of the cocrystal.

3. Results & Discussion

Cocrystallisation via milling of SDM with 4ASA (1:1 molar ratio) led to small polyhedral crystals with a 2.3-fold higher drug release at 60 min and significantly higher antibacterial activity than SDM, due to the synergistic effect between drug and coformer; whereas cocrystallisation by solvent evaporation (ethanol, acetone) or spray drying led to flattened, plate-like or quasi-spherical cocrystals respectively with more hydrophobic surfaces and tendency to form aggregates in aqueous media, which limited both the dissolution rate and *in vitro* activity (Fig. 1).

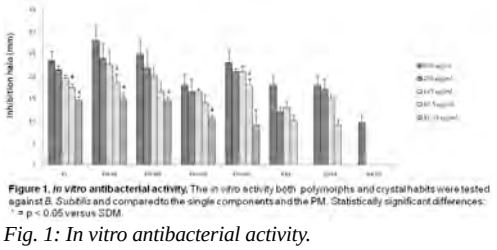


Figure 1. *In vitro* antibacterial activity. The in vitro activity both polymorphs and crystal habits were tested against *B. Subtilis* and compared to the single components and the PM. Statistically significant differences: * = p < 0.05 versus SDM.

Fig. 1: In vitro antibacterial activity.

Despite the fact that PII exhibited a higher aqueous solubility compared to PI, the crystal habit played a key role in the overall dissolution profile, as a consequence of the facets that were predominantly exposed to the dissolution media, which determine the capability of forming either H-bond or hydrophobic interactions with the environment (Fig. 2).

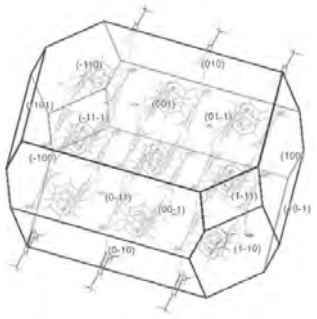


Fig. 2: Visualization of molecular surface and molecular interactions using Mercury® 3.5.1 software. Predicted BFDH crystal morphology of polymorph I.

A deeper understanding of the dissolution performance was critical, in terms of monitoring not only the amount of drug dissolved but also changes in particle size over the dissolution course [2]. The inexpensive laser-based optical technique of shadowgraph imaging has great potential to monitor drug dissolution by measuring real-time particle size (Fig. 3).

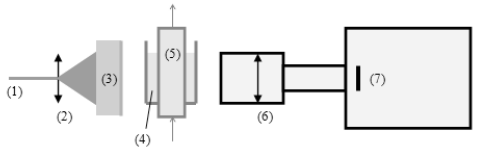


Fig. 3: Setup for shadowgraph imaging. Key: 1: laser beam, 2: beam expander, 3: rhodamine-B fluorescent dye diffuser, 4: water jacket, 5: test cell, 6: lens arrangement, 7: CMOS high speed camera.

PI and PII-Habit IV showed similar shadowgraph imaging patterns, characterised by deaggregation of bigger clusters into smaller particles in suspension, with higher velocity at earlier time points leading to faster dissolution rates.

In contrast, shadowgraph imaging studies of PII-Habit I, PII-Habit II and PII-Habit III showed patterns characterised by a slower deaggregation of big clusters into smaller particles and the appearance of a fourth population of bigger particle size (> 100 µm) as a result of aggregation over the dissolution time course, resulting in slower dissolution rates (Fig. 4).

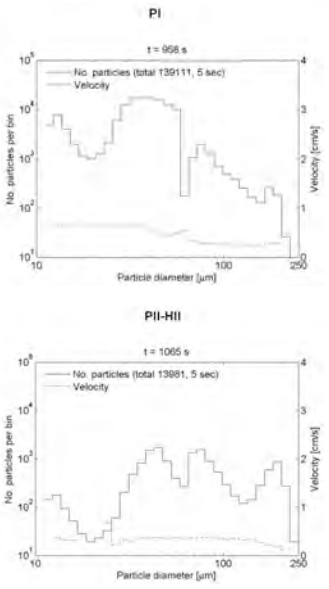


Fig. 4: Number of particle at each particle size range determined by the shadowgraph method along with corresponding particle velocity at 1000 s.

4. Conclusions

Crystal habits have a great influence on the physicochemical and biological properties of drugs. Even for cocrystals with poor pharmaceutical properties, a habit can be engineered which leads to a better dissolution profile and activity, if a suitable coformer and manufacturing process are selected.

5. Acknowledgements

This publication has emanated from research conducted with the financial support of Science Foundation Ireland under Grant Number SFI/12/RC/2275.

Referencias

[1] SERRANO, D.R., O'CONNELL, P., PALUCH, K.J., WALSH, D., HEALY, A.M., 2015b. Cocrystal habit engineering to improve drug dissolution and alter derived powder properties. J. Pharm. Pharmacol. 68(5):665-77, 2016.

[2] D'ARCY, D.M., PERSOONS, T., Mechanistic modelling and mechanistic monitoring: simulation and shadowgraph imaging of particulate dissolution in the flow-through apparatus. J. Pharm. Sci. 100, 1102-1115, 2011.

Preparación de membranas antifúngicas por electrohilado de poli(ciclodextrinas) y polimerización en plasma de HMDSO

Alejandro COSTOYA[1], Florencia M. BALLARÍN[2], José LLOVO[3], Ángel CONCHEIRO[1], Gustavo A. ABRAHAM[2], Carmen ÁLVAREZ-LORENZO[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia e IDIS, Universidade de Santiago de Compostela, 15872 Santiago de Compostela, España
2. Instituto de Investigaciones en Ciencia y Tecnología de Materiales, Universidad Nacional de Mar del Plata-CONICET, Mar del Plata, Argentina
3. Servicio de Microbiología y Parasitología, Complejo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

Email de contacto: alejandro.costoya@hotmail.com

1. Introducción

Las membranas electrohiladas resultan muy adecuadas como componentes de apósitos. Su estructura porosa asimétrica permite la absorción de exudados, protege de la penetración de microorganismos y permiten el intercambio de vapor de agua y oxígeno [1]. Además, se pueden cargar con sustancias activas para acelerar la cicatrización y prevenir las infecciones [2].

El electrohilado de ciclodextrinas (CDs) solas o con polímeros permite incorporar las sustancias activas como complejos de inclusión, que incrementan la estabilidad y regulan los perfiles de cesión [3].

El objetivo del trabajo fue implementar un procedimiento de preparación de apósitos a partir de polímeros de ciclodextrinas (poliCDs) para conseguir una cesión modulable y completa de fluconazol. Este antifúngico es activo frente a especies de *Candida* que forman biopelículas en las heridas, impidiendo la curación. Las fibras se prepararon por electrohilado de poliCDs con poli(ε-caprolactona) (PCL) o poli(N-vinilpirrolidona) (PVP). Como controles, se utilizaron fibras de PCL y de PVP con fluconazol pero sin poliCDs. Adicionalmente, las membranas se recubrieron por polimerización en plasma de HMDSO, para formar películas hidrofóbicas biocompatibles que aporten un mecanismo adicional al control de la cesión.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La poli-αCD y la poli-βCD se prepararon por reticulación con epiclorhidrina [4]. PCL (Mw 80 kDa), PVP (Mw 360 kDa), HMDSO y N, N-dimetilformamida (DMF) fueron de Sigma Aldrich (USA). Diclorometano (DCM) de Biopack (Argentina).

2.2. Preparación de los complejos de inclusión

A disoluciones de poliCD en agua (0.5 g en 3 mL) se incorporó fluconazol disuelto en etanol (0.07 g en 3 mL) para obtener una relación molar CD:fármaco 1:1. Los disolventes se eliminaron en rotavapor. Los complejos resultantes se designaron como (FLU-poli-αCD)-IC y (FLU-poli-βCD)-IC, y se caracterizaron por DSC y XRD.

2.3. Preparación de membranas electrohiladas

Se prepararon disoluciones de los complejos con PCL (40:60 p/p) en DMF/DCM 4:1 v/v (concentración de polímeros 15%), y de los complejos con PVP (50:50 p/p) etanol/agua 4:6 v/v (concentración de polímeros 20%). El electrohilado se llevó a cabo a 1 mL/h con una distancia boquilla-colector de 15 cm, y tensión aplicada de 12-17 kV. Las membranas se secaron a vacío, y se caracterizaron por SEM y DSC.

2.4. Tratamiento con plasma

Las mallas se expusieron a vapor de HMDSO en condiciones de plasma (FEMTO PCCE, Diener Electronic, Alemania; 13.56 MHz, 30W, 10 min) [4]. Se registró el ángulo de contacto y la composición elemental por EDX.

2.5. Cesión de fluconazol

Muestras de 40 mg se colocaron en viales con tampón fosfato pH 7.4 (5 mL; 37ºC; 100 osc/min) y a tiempos preestablecidos se registró la absorbancia del medio a 261 nm.

2.6. Test de actividad antifúngica

Se cortaron discos (9 mm diámetro) y se colocaron placas de agar inoculadas con *C. albicans* (ATCC 90028) que se incubaron a 35ºC.

3. Resultados y Discusión

3.1. Preparación de membranas electrohiladas

La formación de los complejos fluconazol: poliCD se confirmó por la ausencia de cristales del fármaco por DSC y XRD. Con los complejos no se obtuvieron estructuras fibrosas, por lo que fue necesario preparar mezclas con PCL o PVP (Fig. 1).

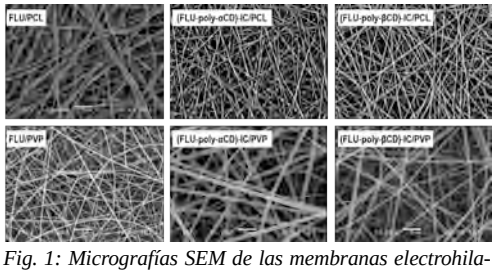


Fig. 1: Micrografías SEM de las membranas electrohiladas. Diámetro fibra 350-850 nm.

Las muestras no recubiertas cedieron el 85% de la carga en 15 min. El recubrimiento con HMDSO dio lugar a una barrera nanométrica hidrofóbica, que permitió controlar la cesión durante varias horas (Fig. 2).

Las membranas antes y después del recubrimiento mostraron una elevada actividad antifúngica (Fig. 3), lo que confirma que el recubrimiento no impide la cesión completa del fármaco [4].

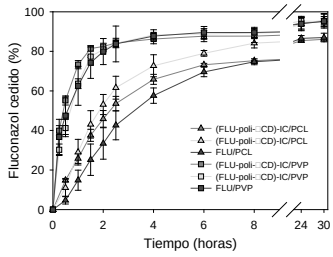


Fig. 2: Perfiles de cesión de fluconazol a partir de membranas recubiertas.

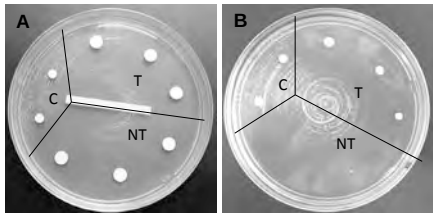


Fig. 3: Zonas de inhibición de C. albicans producidas por membranas de (A) PCL y (B) PVP (C: control sin fluconazol; T: tratadas con HMDSO; NT: no tratadas).

4. Conclusiones

El electrohilado de mezclas de poliCD formando complejos con fluconazol y PCL o PVP seguido de recubrimiento con HMDSO permite obtener membranas nanofibrosas capaces de proporcionar cesión sostenida del fármaco y de inhibir eficazmente el crecimiento de *C. albicans*.

5. Agradecimientos

Trabajo financiado por MINECO (SAF2014-52632-R) y FEDER España, y ANPCYT (PICT224) Argentina.

Referencias

[1] J.S. BOATENG, K.H. MATTHEWS, H.N.E. STEVENS, G.M. ECCLESTON, "*Wound healing dressings and drug delivery systems: A review*", J. Pharm. Sci. 97, 2892-2923, 2008.

[2] S. CHOU, D. CARSON, K.A. WOODROW, "*Current strategies for sustaining drug release from electrospun nanofibers*", J. Control. Release 220, 584-591, 2015.

[3] A. CELEBIOGLU, T. UYAR, "*Cyclodextrin nanofibers by electrospinning*", Chem. Commun. 46, 6857-7052, 2010.

[4] A. COSTOYA, F.M. BALLARIN, J. LLOVO, A. CONCHEIRO, G.A. ABRAHAM, C. ALVAREZ-LORENZO, "*HMDSO-plasma coated electrospun fibers of poly(cyclodextrin)s for antifungal dressings*", Int. J. Pharm. 513, 518-527, 2016.

Error de medicación por similitud ortográfica. Aproximación algorítmica

Carlos de FIGUEIREDO ESCRIBA, Cecilia FERNÁNDEZ LASTRA, Pilar MODAMIO CHARLES, Eduardo L. MARIÑO HERNÁNDEZ

Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Av. Joan XIII, 27-31. 08028 Barcelona

Email de contacto: ceciliafernandez@ub.edu

1. Introducción

En numerosos estudios se ha identificado la similitud de nombres de los medicamentos como una importante fuente de errores de medicación (EM) [1,2]. Esto ha hecho que diferentes grupos de investigación hayan trabajado y estén trabajando en la búsqueda de soluciones para minimizar el impacto de esta situación.

Así, diversos organismos oficiales responsables de la aprobación de los nuevos medicamentos y, por lo tanto, de sus nombres han establecido sistemas más o menos complejos para evaluar la similitud de un nuevo nombre propuesto en relación a los que ya existen en el mercado. Por ejemplo, la FDA ha establecido el Phonetic Orthographic Computer Analysis Software (POCA) para la revisión de los nombres comerciales de medicamentos [3]. Este sistema utiliza algoritmos complejos para identificar potenciales nombres similares, teniendo en cuenta aspectos tanto ortográficos como fonéticos, que ayudan a aprobar o no las propuestas de nombres comerciales de nuevos medicamentos presentadas [4,5].

No se conoce, sin embargo, ningún sistema similar al POCA de la FDA, ni se ha encontrado en la bibliografía ningún estudio sobre la situación de los nombres de los medicamentos en el mercado español utilizando algún tipo de aproximación algorítmica. Por ello, el objetivo principal del estudio ha sido establecer un grupo de algoritmos matemáticos, que ayuden a identificar y, en su caso, predecir potenciales confusiones en los nombres de los medicamentos comercializados en España.

2. Material y Métodos

2.1. Selección de la muestra

Los nombres de los medicamentos utilizados para el estudio se distribuyeron en dos grupos formados por 454 parejas de nombres. El primero estaba formado por aquellas consideradas como posible fuente de confusión [6,7], denominándose grupo similar. El segundo formado por parejas de nombres no incluidas en el primer grupo, constituyendo un grupo que se denominó control.

2.2. Algoritmos aplicados

Se identificaron en la bibliografía diferentes algoritmos, seleccionándose algunos que han sido utilizados en estudios similares [8,9,10], entre ellos los basados en la distancia de Edición (EDR y NED), los que utilizan la Fórmula de Dice (BIGRAM, BIGRAM1B, TRIGRAM y TRIGRAM2B) y los basados en la longitud de la subsecuencia común mayor entre las dos cadenas (LCSR1 y LCSR2).

2.3. Tratamiento estadístico de los datos

Para establecer la existencia o no de diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos se aplicó el test ji-cuadrado, calculándose la v de Cramèr para medir la intensidad de dicha asociación.

3. Resultados y Discusión

Tras la aplicación de los ocho algoritmos se pudo apreciar que existían diferencias en los resultados obtenidos para cada uno de los dos grupos analizados. En las Figs. 1 y 2 se muestran, a modo de ejemplo, los resultados obtenidos tras

la aplicación de los algoritmos EDR y LCSR1.

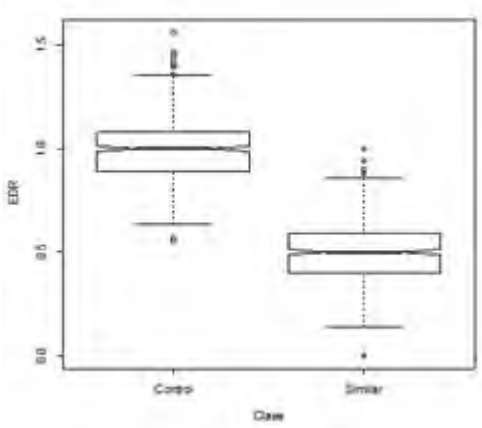


Fig. 1: Gráfico de cajas del algoritmo EDR.

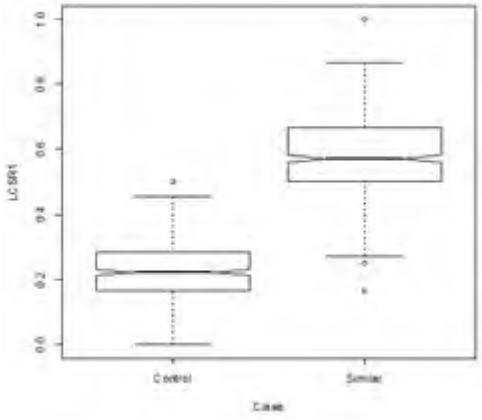


Fig. 2: Gráfico de cajas del algoritmo LCSR1.

Así mismo, los resultados de cada algoritmo al aplicar el test de ji-cuadrado demostraron que estas diferencias eran estadísticamente significativas entre los dos grupos, similar y control, con valores de p inferiores a 0,001 en todos los casos, como se aprecia en la Tabla 1:

Algoritmo	χ^2	p	V de Cramèr
EDR	742,626	<0,001	0,904
NED	714,966	<0,001	0,887
BIGRAM	521,890	<0,001	0,758
BIGRAM1B	669,216	<0,001	0,858
TRIGRAM	669,216	<0,001	0,858
TRIGRAM2B	685,260	<0,001	0,869
LCSR1	723,392	<0,001	0,893
LCSR2	726,192	<0,001	0,894

Tabla 1: Resultados del test ji-cuadradopor algoritmo.

4. Conclusiones

Los algoritmos utilizados en el presente estudio diferencian las parejas de nombres de medicamentos incluidas en el grupo de similares de las del grupo control, indicando que podrían ser una herramienta útil en la identificación de posibles confusiones entre nombres de medicamentos en el mercado español.

Referencias

[1] HICKS R., BECKER S., COUSINS D. 2008. Medmarx data report: A report on the relationship of drug names and medication errors in response to the institute of medicines call for action. US Pharmacopedia, Rockville, MD.

[2] CINA J.L., GANDHI T.K., CHURCHILL W., FANIKOS J., MCCREA M., MITTON P., ROTHSCHILD J.M., FEATHERSTONE E., KEOHANE C., BATES D.W., POON E.G. 2006. *How many hospital pharmacy medication dispensing errors go undetected.* Jt Comm J Qual Patient Saf. 32: 73-80.

[3] US Government. 2009. Phonetic Orthographic Computer Analysis Software Program for Review of Proprietary Drug and Biologic Names. General Register, Vol. 74 Num 30, Docket No FDA-2009-S-0002, 17/02/2009.

[4] Federal Drug Administration. *How FDA Reviews Proposed Drug Names.*[20/10/2016]. Disponible en: http://www.fda.gov/downloads/Drugs/DrugSafety/MedicationErrors/ucm080867.pdf.

[5] STOCKBRIDGE M.D., TAYLOR K. 2015. A Method of addressing proprietary name similarity for US prescription drugs. Ther Innov Regul Sci. 49: 524-527.

[6] ISMP. Lista de nombres similares de medicamentos que se prestan a confusión. 2014.[20/10/2016]. Disponible en: http://www.ismp-espana.org/nombres/listado/nombres_confusos.

[7] Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos.[20/10/2015]. Disponible en http://www.portalfarma.com/Profesionales/campanaspf/categorias/Paginas/resultadosusoseguro.aspx.

[8] LAMBERT B.L. 1997. *Predicting look-alike and sound-alike medication errors.* Am J Health Syst Pharm. 54, 1161-1171.

[9] KONDRAK G., DORR B. 2006. *Automatic identification of confusable drug names.* Artif Intell Med. 36: 29-42.

[10] KOLATCH E., TOYE J., DORR B., 2004. *Project Performance Corporation. Look Alike/ Sound Alike Algorithms for Assessing Drug Name Similarities.* [20/10/16] Disponibleen:http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.303.3215&rep=rep1&type=pdf.

Comparación entre hidrogeles obtenidos por interacción de cargas

Elizabeth HENAO[1], Germán QUINTANA[1], Ezequiel DELGADO[2]

1. Pulpa y Papel, Escuela de Ingenierías, Universidad Pontificia Bolivariana, Medellín, Colombia
2. Dpto. de Madera Celulosa y Papel, CUCEI, Universidad de Guadalajara, Jalisco, México

Email de contacto: elizabeth.henaom@upb.edu.co

1. Introducción

Los métodos de interacción de carga (complejo coacervado (CC) y gelación ionotrópica (GI)) han sido empleados en la formación de hidrogeles pero aún no están claros los efectos que cada método ocasiona en la formación del gel.

Por esta razón, el objetivo de este estudio fue obtener hidrogeles por ambos métodos de interacción de carga separados y combinados, empleando carboximetilcelulosa (CMC), y cloruro de calcio ($CaCl_2$) y quitosana (CS), para descubrir sus efectos en las morfologías.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La carboximetilcelulosa de sodio (CMC) y la quitosana (CS) (CAS (9004-32-4 y 9012-76-4) son productos de Sigma Aldrich, el cloruro de calcio dihidratado es un producto de Carlos Erba.

2.2. Formación de hidrogel

Se gotean 10 mL de CMC (2% w/v) a un vaso de precipitados que contiene 10 mL de solución catiónica, CaCl2 (1 o 4,9% w/v) o CS (0,01% w/v en ácido acético al 1% v/v), bajo agitación (600 rpm) durante 10 minutos a temperatura ambiente. La mezcla se agita durante otros 20 minutos y el hidrogel se mantuvo 24 horas a temperatura ambiente, la muestra se centrifuga a 3300 rpm durante 30 minutos, los geles se lavan con agua y se separan para finalmente almacenarlos hasta su observación. Para la combinación de GI y CC se solubiliza el $CaCl_2$ en la solución de CS, y después se gotea la CMC en esta mezcla.

2.3. Caracterización morfológica

Se observan los hidrogeles húmedos bajo un microscopio óptico (Leica DMREB, software LAS, versión 7.1. Cámara Leica DFC320) y los mismos liofilizados en un microscopio electrónico de barrido (SEM) HITACHI TM-1000(Hitachi High-Technologies Inc., Japón).

2.4. Caracterización por FTIR

Se toman espectros FTIR de los hidrogeles secos con un espectrómetro Perkin-Elmer FTIR, modelo Spectrum GX con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) y cristal de diamante, entre 4000 y 600 cm-1, con una resolución de 4,00 cm-1 y 16 barridos.

3. Resultados y discusiones

La Fig. 1 muestra las micrografías para los hidrogeles, en ellas se observan formas cónicas y espirales para la GI y una membrana aglomerada para el CC, mientras que la combinación de los métodos genera partículas alargadas, coincidiendo con Dhanaraju y otros [1] quienes encontraron diferencias en los hidrogeles variando la concentración de CMC y dejando fija la concentración de $CaCl_2$.

Las imágenes SEM de la Fig. 2 muestran membranas porosas, con menor espesor al aumentar la concentración de sal en la IG, Dhanaraju y otros [1] en su trabajo muestran membranas porosas y aseguran que el tamaño de los geles se incrementa con la concentración de CMC fijando la concentración de $CaCl_2$. Los hidrogeles obtenidos por CC tienen aspecto algodonoso y poseen pequeños poros, y la membrana se vuelve más densa y con poros más grandes al mezclar los métodos.

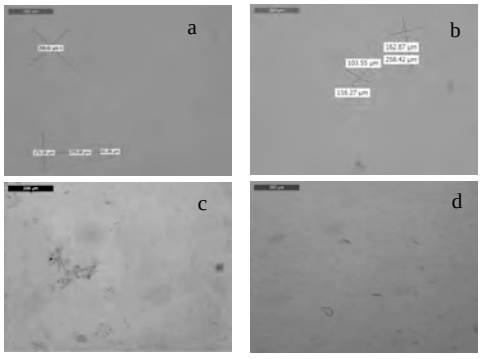


*Fig. 1: Micrografías de hidrogeles a) GI con CaCl2 1% w/v, b) GI con $CaCl_2$ 4,9% w/v, c) CC con CS 0,01% w/v y d) GI-CC (CaCl2 1% w/v). * Escala a, b) 200x, c, d) 100x.*

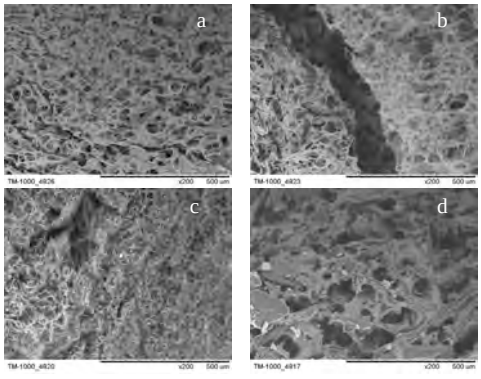


*Fig. 2: Imágenes SEM a) GI con CaCl2 1% w/v, b) GI con CaCl2 4,9% w/v, c) CC con CS 0,01% w/v y d) GI-CC (CaCl2 1% w/v). * Escala 200x.*

3.2. FTIR de los hidrogeles

Los espectros de FTIR (Fig. 3) muestran que todos los hidrogeles tienen las bandas características de CMC [2]. Para el IG la sal aumenta la banda en 3300 cm^{-1}, aparecen otras a 1490 y 1200 cm^{-1} y disminuye las bandas a 1300 y 1100 cm^{-1} [3]. El CC reduce la banda de 1620 cm^{-1}, define el pico a 1300 cm^{-1}, desaparece la banda a 1150 cm^{-1} y tiene atenuada la banda a 1050 cm^{-1}, también tiene una nueva banda en 1725 cm^{-1} debido al estiramiento de C=O, además el espectro muestra bandas características de quitosana en 1640, 1380, 1150 cm^{-1} [4]. La banda en 1040 cm^{-1} es más atenuada que la banda a 1030 cm^{-1}. Finalmente el gel CMC/CS/$CaCL_2$ muestra características de todos los compuestos.

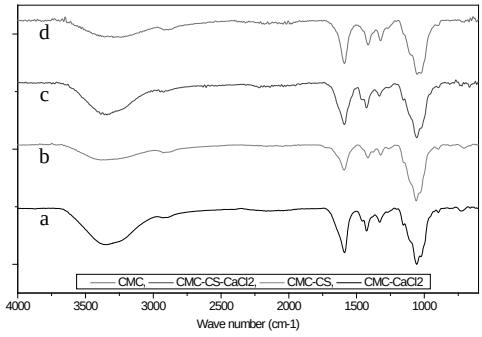


Fig. 3: Espectro FTIR a) GI (CaCl2 1% w/v), b) CC, d GI-CC (CaCl2 1% w/v) d) CMC.

5. Conclusiones

Todos los métodos producen hidrogeles. La sal produce hidrogeles con membrana porosa definida y los CC producen aglomeración. El FTIR muestra interacción entre todos los compuestos utilizados en la formación de gel.

6. Agradecimientos

Los autores agradecen a la Alianza del Pacífico México, Colciencias, y CIDI (UPB).

Referencias

[1] Magharla Dasaratha DHANARAJU, VD SUNDAR, Satyamoorthy NANDHAKUMAR, Kesavan BHASKAR REDDY, "*Development and Evaluation of Sustained Delivery of Diclofenac Sodium from Hydrophilic Polymeric Beads*", J Young Pharm, 1, 4, 301-304, 2009.

[2] Jing WANG, Ponisseril SOMASUNDARAN, "*Adsorption and conformation of carboxymethyl cellulose at solid-liquid interfaces using spectroscopic, AFM and allied techniques*", J Colloid Interface Sci, 291, 1, 75-83, 2005.

[3] Ah Ra CHO; Yong Gi CHUN; Bum Keun KIM; Dong June PARK; "*Preparation of alginate–CaCl2 microspheres as resveratrol carriers*", J Mater Sci, 49, 4612-4619, 2014.

[4] Suédina SILVA, Carla BRAGA, Marcus FOOK, Claudia RAPOSO, Laura CARVALHO, Eduardo L Canedo, «*Infrared Spectroscopy-Materials Science, Engineering and Technology*» (1, 2012).

Epalrestat-imprinted silicone hydrogels to address diabetic-eye complications

Fernando ÁLVAREZ-RIVERA, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO

Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, R+D Research Group (GI-1645), Facultad de Farmacia and Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Email de contacto: fer.alvarez.rivera@gmail.com

1. Introduction

Nearly 390 million people worldwide suffer diabetes mellitus and this number continues to increase [1]. Diabetes is a leading cause of vision loss; people living with diabetes have a 25-fold increased risk of blindness. High glucose blood levels lead to diabetic keratopathy, retinopathy, or cataracts. In addition to tools for precise control of glucose blood levels, there is an urgent need of developing ocular delivery systems that help to prevent or treat eye complications [2].

Eye complications occur through different biochemical mechanisms; but the two-step sorbitol pathway is considered one of the most important in diabetes complications pathology. When glucose is in excess, aldose reductase transforms glucose into sorbitol, which is further oxidized to fructose by sorbitol dehydrogenase, increasing the $NADH/NAD^+$ ratio and triggering a "pseudohypoxia" state, characterized by oxidative stress and inflammation which strongly damages the cells. Several aldose reductase inhibitors are available in oral products, although liver/renal toxicity raises concerns on the systemic use [3].

The aim of this work was to design silicone hydrogels with high affinity for epalrestat, through molecular imprinting technology, and to investigate their potential as components of contact lenses that could address diabetic-eye complications. Contact lenses may perform as sustained release platforms that overcome shortcomings of classical topical formulations [4].

2. Materials and methods

2.1. Synthesis of silicone hydrogels

Various sets of monomers mixtures (Table 1) containing 2-hydroxyethyl methacrylate (HEMA) and monomethacryloxypropyl-sym-polydimethylsiloxane hydroxypropyl terminated (MCS-MC12, silicone monomer) as structural monomers, and aminopropyl methacrylamide (APMA) as functional monomer were polymerized at 50 ºC for 12 h and then heated at 70 ºC for 24 h. Imprinted hydrogels were prepared including epalrestat in the reaction medium as a template. After polymerization, hydrogel sheets were placed in boiling water for 15 min and cut into discs (10 mm in diameter) to remove unreacted monomers.

Formulation	HEMA (mL)	MCS-MC12 (mL)	EGDMA (µL)	AIBN (mg)	APMA (mg)	Epalrestat (mg)
1ni	0	3	45.2	4.93	0	0
1i	0	3	45.2	4.93	0	19.2
2ni	0.5	2.5	45.2	4.93	0	0
2i	0.5	2.5	45.2	4.93	0	19.2
2Ani	0.5	2.5	45.2	4.93	21.45	0
2Ai	0.5	2.5	45.2	4.93	21.45	19.2
3ni	1.5	1.5	45.2	4.93	0	0
3i	1.5	1.5	45.2	4.93	0	19.2
3Ani	1.5	1.5	45.2	4.93	21.45	0
3Ai	1.5	1.5	45.2	4.93	21.45	19.2
4ni	2.5	0.5	45.2	4.93	0	0
4i	2.5	0.5	45.2	4.93	0	19.2
4Ani	2.5	0.5	45.2	4.93	21.45	0
4Ai	2.5	0.5	45.2	4.93	21.45	19.2
5ni	2.75	0.25	45.2	4.93	0	0
5i	2.75	0.25	45.2	4.93	0	19.2
5Ani	2.75	0.25	45.2	4.93	21.45	0
5Ai	2.75	0.25	45.2	4.93	21.45	19.2
6ni	3	0	45.2	4.93	0	0
6i	3	0	45.2	4.93	0	19.2
6Ani	3	0	45.2	4.93	21.45	0
6Ai	3	0	45.2	4.93	21.45	19.2

Table 1. Composition of the monomer mixtures used to synthesize silicone hydrogels.

2.2. Hydrogels characterization

Light transmission was measured in discs after swelling in simulated lachrymal fluid at 400 and 600 nm.

Swelling degree (%) was measured in water using the following equation:

$$\text{Swelling degree (\%)} = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100$$

where W_0 and W_t represent the initial and final weight at each time point, respectively.

2.3. HET-CAM test

Ocular irritation was evaluated on the chorioallantoic membrane (CAM) of fertilized hen eggs as an alternative to animal experimentation. CAM was exposed to formulations during 5 min and any sign of lysis, haemorrhage and coagulation was visually detected. Irritation score (IS) was calculated as follows:

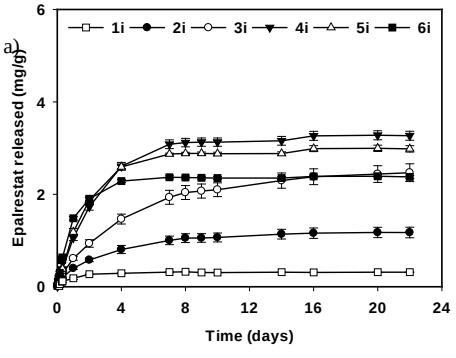
$$IS = \left(\frac{(301-T_h)}{300} \times 5\right) + \left(\frac{(301-T_l)}{300} \times 7\right) + \left(\frac{(301-T_c)}{300} \times 9\right)$$

2.4. Drug release

Dried discs (after boiling) were placed in 45 mL of 0.9% NaCl solution and kept under magnetic stirring (200 rpm) at room temperature and protected from light. At certain time intervals, absorbance of the medium was measured at 400 nm and the concentration of epalrestat quantified.

3. Results and discussion

Imprinted hydrogels showed light transmittance above 90% in the 400-600 nm range, despite the typical yellowish colour of epalrestat still remained after boiling. Hydrogels with more than 50% of MCS-MC12 content had moderate wettability (40-56%) and discs did not lead to lysis, haemorrhage or coagulation on the CAM. Additionally, silicone hydrogels were able to maintain a controlled release of epalrestat.



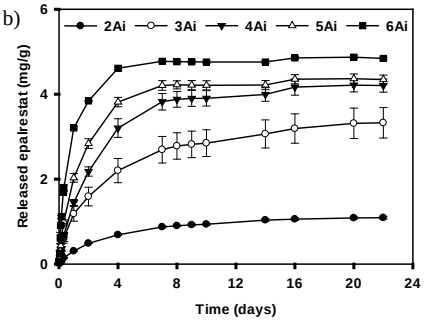


Fig. 1: Epalrestat release profiles from imprinted discs a) without APMA and b) with APMA in 0.9% NaCl (45 mL, magnetic stirring 200 rpm and room temperature, protected from light).

4. Conclusions

Imprinted silicone hydrogels with amounts of MCS-MC12 until 50% showed suitable properties to act as contact lenses due to their transparency, wettability, and lack of irritation. Furthermore, discs were able to control the release of epalrestat.

5. Acknowledgments

Work supported by the 2015 edition of the BBVA Foundation Grants for Researchers and Cultural Creators. The BBVA Foundation is not responsible for the opinions, comments and content included in the paper.

References

[1] IDF Diabetes Atlas, Sixth Edition. International Diabetes Federation website. https://www.idf.org/sites/default/files/Atlas-poster-2014_EN.pdf; October 2016.

[2] Kang ZHANG, Liangfang ZHANG, Robert N. WEINREB. *"Ophthalmic drug discovery: novel targets and mechanisms for retinal diseases and glaucoma"*. Nat Rev Drug Discov, 11, 541-559, 2012.

[3] Rosanna MACCARI, Rosaria OTTANA. "*Targeting aldose reductase for the treatment of diabetes complications and inflammatory diseases: new insights and future directions*". J Med Chem, 58, 2047-2067, 2014.

[4] Clara GONZÁLEZ-CHOMON, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ-LORENZO. *"Soft contact lenses for controlled ocular delivery: 50 years in the making"*. Ther Del, 4, 1141-1161, 2013.

Nueva actividad docente para los alumnos, orientada hacia la comprensión de la comunicación científica publicada en medios escritos e internet

Mª Jesús LUCERO MUÑOZ, Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Profesor González García 2, 41012 Sevilla

Email de contacto: mjlucero@us.es, mrosa@us.es

1. Introducción

El sistema educativo de los nuevos Planes de Estudios conlleva mejorar e implementar procesos de adquisición de competencias en nuestros alumnos. El objetivo es que este aprendizaje conduzca a una mejora en el desarrollo profesional del discente de forma que se garantice su futura inclusión en el mercado laboral. Además, se hace necesario la participación e implicación de un profesorado motivado, para poder avanzar en nuevas líneas de innovación. Para ello, es necesario el apoyo institucional a las nuevas metodologías como lo recogido en el II Plan Propio de Docencia de la Universidad de Sevilla. Su propósito es la posibilidad de proponer nuevas líneas de trabajo docente, no solo desde una perspectiva de mejora individual, sino también articulando redes interdisciplinares de colaboración docente y que creen un espacio de trabajo compartido. Surge así esta actividad extracurricular que utiliza como herramienta de trabajo una plataforma compartida de difusión: el blog creado por profesores *ad hoc* de las Universidades de Sevilla y Huelva (http://initiationinresearch.blogspot.com.es) que cuenta con cerca de 5000 visitas. Este medio *on line* nos permite la conversión del alumno en fuente divulgativa de la Ciencia, articulando además mecanismos de comunicación adecuados en función del interlocutor social al que se dirija.

2. Material y Métodos

La experiencia se ha desarrollado de forma voluntaria, entre los alumnos que cursan las asignaturas de Tecnología Farmacéutica I (grupo 1), y obligatoria para los matriculados en Dermofarmacia y Formulación Magistral. Para ello, se han creado equipos de trabajo constituidos por un número de alumnos que oscila entre 1 a 3 o 5, respectivamente.

- El objetivo es la búsqueda de noticias aparecidas recientemente en los medios de comunicación escritos u *on line* y relacionadas con Tecnología Farmacéutica o Dermofarmacia. Cada equipo de trabajo selecciona la que considere más interesante y sea adecuada a su formación académica y a su aspiración profesional. A continuación, han realizado una memoria en la que ha quedado detallado el fundamento científico de la noticia.

- Posteriormente, el equipo de trabajo ha elaborado un póster explicativo para la difusión de las principales bases científicas en las que se sustenta dicha noticia y que puedan ser comprendidas por el público ajeno a la especialidad. Dichos carteles se han publicado en el blog antes mencionado. Al ser de acceso libre, los alumnos podrán votar, el que a su criterio es el mejor trabajo, para posteriormente elegir la mejor presentación de cada especialidad. Se entregarán certificados de participación a todos los alumnos, así como a los mejores trabajos realizados.

- Por último, se han recogido los datos estadísticos de la participación. Con esta información, los profesores han realizado una reflexión sobre los intereses generales de sus estudiantes y de la capacidad de los mismos para expresar con claridad y nitidez conceptos científicos relacionados con las noticias publicadas en cualquier tipo de medio de comunicación.

3. Resultados y Discusión

3.1. Tecnología Farmacéutica I (grupo 1)

En esta asignatura participaron el 35,6% de los alumnos. Este porcentaje lo consideramos elevado, habida cuenta que el alumno tiene otras opciones con mejor rendimiento académico, como es el caso de obtener más créditos para el Grado. Se han constituido 18 grupos: 7 de 3 alumnos, 5 de 2 alumnos y 6 de forma individual.

El tiempo para la selección de la noticia, por parte del alumno y con el visto bueno del Profesor, ha sido de dos semanas. Se han abordado temáticas muy variadas, como, por ejemplo: a) mal uso de los conceptos farmacéuticos por parte de los periodistas, b) medicamentos genéricos y biosimilares, c) denuncias de FACUA y d) Tratado de Libre Comercio Transatlántico (TTIP). Con relación al primer tema, los alumnos han podido identificar, por ejemplo, el uso indiscriminado de los términos pastilla y droga. Respecto al medicamento genérico, su calidad y eficacia respecto al de referencia o los problemas para su puesta en el mercado, así como que los medicamentos biosimilares requieren un desarrollo más complejo y con mayor control de calidad. En otros casos, han analizado las denuncias que FACUA ha realizado sobre prospectos y la respuesta de la AEMPS, o las repercusiones sobre los medicamentos del acuerdo comercial TTIP.

3.2. Dermofarmacia

Han participado 77 alumnos de los 85 matriculados. Hay que tener en cuenta que la calificación obtenida en esta actividad supone un 15% de la nota final de la asignatura. Cada grupo y durante 2 semanas ha seleccionado una noticia de los medios de comunicación escritos y/o de páginas web, blogs, redes sociales, etc. En general, los alumnos han buscado titulares controvertidos que les permitan demostrar la importancia de la profesión farmacéutica en el campo de la Dermofarmacia. A partir de la discusión de la noticia, han establecido un plan de abordaje para hacer una crítica técnica constructiva, sin entrar en las opiniones personales. A continuación, han hecho un informe técnico y posteriormente han elaborado el poster.

A modo de ejemplo, un grupo ha seleccionado el titular recogido en el periódico “20 minutos” cuyo titular era “Una crema de tres euros repite como la mejor hidratante, según la OCU”. A partir de la noticia, visitaron la web www.ocu.org y buscaron la noticia completa que tenía como titular “OCU encuentra grandes diferencias de precios para una calidad similar” y como subtítulo “Analizadas 17 cremas hidratantes faciales de día”. Tras la lectura completa del artículo, han realizado una labor de campo buscando en los distintos establecimientos varias de las cremas que se citaban en el texto. De ellas, han seleccionado las que se indicaban que era mejor y peor. El informe técnico lo han realizado con los datos recogidos en el etiquetado de los productos, visitando las páginas web oficiales de los laboratorios, consultando la función de los ingredientes [1, 2] y basándose en el Reglamento Europeo 1223/2009 sobre productos cosméticos [3]. Finalmente, a través de la función de los ingredientes han podido formular las siguientes conclusiones:

- La OCU no indica cuales son los métodos utilizados para asegurar que la calidad de una crema es mejor o peor, por lo que no es una información fiable.

- Todos los productos cosméticos puestos en el mercado son seguros y su eficacia depende de los ingredientes que componen la formulación.

- El precio de venta público de una crema no sólo se debe a la marca del laboratorio y al tipo de acondicionamiento primario, sino también a los ingredientes que poseen. Su origen, el proceso de obtención, la concentración utilizada y el sistema fisicoquímico del producto cosmético acabado son críticos.

4. Agradecimientos

Proyecto de Innovación Docente concedido dentro del II Plan Propio de Docencia de la Universidad de Sevilla, 2016.

Referencias

[1] https://ec.europa.eu/growth/sectors/cosmetics/

[2] https://www.ulprospector.com/es/eu/

[3] Reglamento (CE) nº 1223/2009 del Parlamento Europeo y del Consejo de 30 de noviembre de 2009 sobre los productos cosméticos.

Estrategias para la vehiculización de cannabidiol en nanocápsulas lipídicas

Juan APARICIO BLANCO[1], Víctor SEBASTIÁN CABEZA[2], Giovanna LOLLO[3], Guillaume BASTIAT[4], Jean Pierre BENOIT[4], Ana Isabel TORRES SUÁREZ[1,5]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Madrid
2. Instituto Universitario de Investigación en Nanociencia de Aragón, Universidad de Zaragoza
3. ISPB, University Claude Bernard 1, LAGEP UMR CNRS 5007, Lyon, Francia
4. INSERM U 1066, Micro et Nanomédecines biomimétiques – MINT, Angers, Francia
5. Instituto Universitario de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid, Madrid

Email de contacto: juan.aparicio.blanco@ucm.es

1. Introducción

El potencial terapéutico de los cannabinoides en quimioterapia se ha visto diezmado en gran medida por su extremadamente baja solubilidad en agua [1]. En este sentido, la nanomedicina ofrece una alternativa para posibilitar la administración sistémica de cannabinoides sin necesidad de recurrir al empleo de disolventes orgánicos.

En concreto, las nanocápsulas lipídicas, constituidas por un núcleo oleoso y una cubierta de surfactantes, representan un transportador óptimo para cannabinoides, dada su naturaleza biocompatible y lipofílica. Además, el tamaño de estos transportadores puede modificarse en base a la proporción relativa de sus excipientes, con valores de polidispersión realmente bajos, lo que plantea su uso como vectores para favorecer la localización del fármaco a nivel celular.

En este contexto, en nuestro grupo de investigación hemos desarrollado nanocápsulas lipídicas de tres tamaños diferentes (20, 50 y 80 nanómetros) cargadas con cannabidiol, el principal fitocannabinoide no psicotrópico, siguiendo dos estrategias distintas. La primera estrategia persigue la localización del fármaco en el interior del nanotransportador, y la segunda persigue la localización del fármaco en la superficie [2, 3].

2. Material y métodos

2.1. Materiales

Labrafac WL 1349® (mezcla de triglicéridos de nacidos grasos de cadena intermedia) fue suministrado por Gatefossé S.A. Kollipor HS15® y Lipoïd S75® (surfactantes) fueron proporcionados por BASF y GmbH, respectivamente. Cannabidiol fue adquirido de THC Pharm.

2.2. Métodos

2.2.1. Elaboración de las nanocápsulas lipídicas

Las nanocápsulas se elaboraron siguiendo la técnica de inversión de fases (PIT, Fig. 1). [4]. La incorporación del cannabidiol se llevó a cabo siguiendo dos estrategias: una primera incorporando el fármaco en la base oleosa y una segunda incubando una solución del fármaco con nanocápsulas ya formadas.

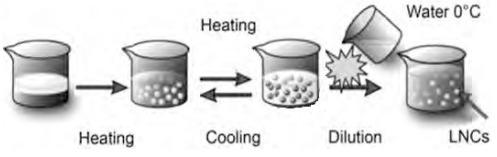


Fig. 1: Esquema de la técnica de inversión de fases.

2.2.2. Caracterización de las nanocápsulas lipídicas

Se ha efectuado una extensa caracterización in vitro de las distintas formulaciones de nanocápsulas

lipídicas en términos de tamaño, potencial zeta, eficacia de encapsulación y microscopía electrónica de transmisión. *Asimismo, se ha evaluado l*a eficacia antitumoral de las nanocápsulas cargadas con fármaco sobre la línea celular de glioma humano U373.

3. Resultados y discusión

Las nanocápsulas lipídicas obtenidas por adsorción del fármaco mostraron tamaños y perfiles de carga superficial diferentes.

3.1. Tamaño de partícula

La adsorción del fármaco exhibe una marcada correlación con un aumento de tamaño en todas las formulaciones (Fig. 2).

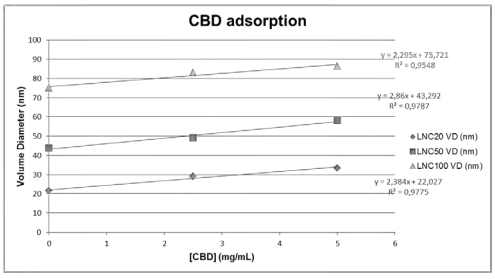


Fig. 2: Correlación entre fármaco adsorbido y tamaño de las nanocápsulas lipídicas.

3.2. Potencial zeta

La adsorción del fármaco modifica la distribución de potencial zeta de las nanocápsulas: éste pasa a ser mucho más uniforme y gaussiano, frente al perfil irregular atribuible al polietilenglicol que exhiben los nanotransportadores blancos o con el fármaco encapsulado en el núcleo oleoso (Fig. 3).

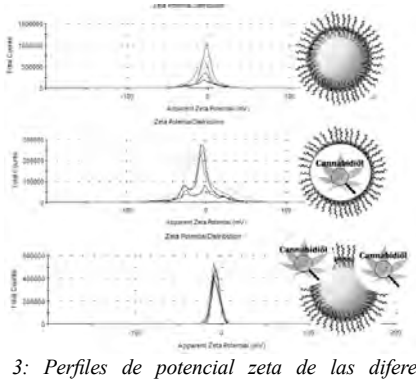


Fig. 3: Perfiles de potencial zeta de las diferentes formulaciones.

3.3. Microscopía electrónica de transmisión

Las imágenes tomadas por microscopía electrónica de transmisión apuntan nuevamente a un perfil mucho más uniforme y definido en las formulaciones con fármaco adsorbido (derecha, Fig. 4) que en las que lo albergan en su núcleo oleoso (izquierda, Fig. 4).

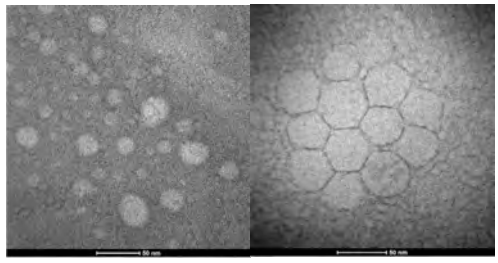


Fig. 4: Nanocápsulas lipídicas de 20 nanómetros visualizadas con microscopio electrónico de transmisión.

3.4. Evaluación de eficacia antitumoral

Para una misma concentración de fármaco, las nanocápsulas mostraron mayor actividad sobre la línea celular U373 que el fármaco libre en solución.

4. Conclusión

Diferentes estrategias de carga conducen a sistemas trasportadores que pueden explotar diferentes mecanismos para potenciar la eficacia antitumoral del CBD.

5. Agradecimientos

Juan Aparicio Blanco agradece al MECD su contrato FPU13/02325.

Referencias

[1] G. VELASCO, C. SÁNCHEZ, M. GUZMÁN, *"Towards the use of cannabinoids as antitumor agents"*, Nature Rev Cancer, 12, 436-444 (2012).

[2] J. APARICIO BLANCO, A. I. TORRES SUÁREZ, *"Managing CNS Tumors: The Nanomedicine Approach"* (In Tech, 2017, in press).

[3] J. APARICIO BLANCO, A. I. TORRES SUÁREZ, *"Glioblastoma Multiforme and Lipid Nanocapsules: A Review"*, J Biomed Nanotechnol, 11, 1283-1311, 2015.

[4] B. HEURTAULT, P. SAULNIER, B. PECH, J. E. PROUST, J. P. BENOIT, *"A Novel Phase Inversion-Based Process for the Preparation of Lipid Nanocarriers"*, Pharm Res, 19, 6, 875-880, 2002.

Anti-PD-L1 tumor concentrations induce tumor-specific and nonspecific biomarkers in a melanoma mouse model

María J. GARRIDO[1], Ana M. CONTRERAS-SANDOVAL[1], María MERINO[1], Marcos VASQUEZ[2], Iñaki F. TROCÓNIZ[1], Pedro BERRAONDO[2]

1. School of Pharmacy. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology. University of Navarra, 31008 Pamplona, Spain
2. Program of Immunology and Immunotherapy, Center for Applied Medical Research (CIMA), Navarra Institute for Health Research (IdiSNA), 31008 Pamplona, Spain

Email de contacto: mgarrido@unav.es

1. Introduction

Immune-checkpoint targeting represents a new therapeutic strategy in oncology. Programmed death-1 (PD-1) receptor and its ligand (PD-L1) is one of the axes able to up- or down regulate the immune response against tumors. When PD-1 engages PD-L1 transduces an inhibition to T-cells proliferation limiting their expansion and leading to tumor immunoresistance. Based on that, the PD-L1 blockade represents a therapeutic approach able to abolish this negative regulatory mechanism of T-cell activation and thereby promoting the antitumor immunity [1]. In several animal models, a relationship between high PD-L1 expression in tumors and T-cells inhibition, limiting the antitumor response, has been established; although this mechanism is not fully known [2]. Therefore, the objective in this work is to explore in a qualitative way, the anti-PD-L1 tumor kinetics as well as the expression of certain biomarkers associated with the immunomodulation induced by this antibody, in order to provide information about the mechanisms of anti-PD-L1 to attain antitumor response.

2. Material and Methods

2.1. Pharmacodynamics

2.1.1. Influence of the initial tumor size in the antitumor effect of anti-PD-L1

Female C57BL/6 mice (Harlam) weighting 20-25g, s.c. injected with $5x10^5$ cells/100 ml PBS in the right flank, were randomly divided into four groups: 1.- Control; 2.- Small Tumor Size (STS); 3.- Medium (MTS) and 4.- Large (LTS). These groups were according to the day for starting the treatment, 100 mg mAb/mouse i.v. (Q3Dx4 doses): STS, at day 3 post-cells injection, MTS at day 7 and LTS at day 11. Tumor size was measured every 2-3 days. This protocol was approved by the Ethic Committee of University of Navarra.

2.2. Pharmacokinetics

2.2.1. Time profiles of tumor biomarkers after anti-PD-L1 administration

Mice bearing B16-OVA cells were divided into 2 groups: Control (n=6) and Treated (n=21). At day 7, 100 mg of anti-PD-L1 was i.v. administered and after at different times, animals were sacrificed to collect tumor and blood. Antibody concentration and peripheral lymphocytes (PBL) were measured in serum, whereas tumor was processed and labelled with different antibodies: iTAg™ MHC Class I Murine Tetramer – SA-PE [1:100, v/v] and with a mix of (FITC)-conjugated anti-mouse CD8α [1:200, v/v] and APC anti-mouse CD279 [1:500, v/v], to quantify several biomarkers. Data from tumor were acquired on a BD FACSCalibur™ flow cytometer and analyzed using FlowJo software (TreeStar - USA).

2.2.2. Time profiles of anti-PD-L1 concentration in tumor

In a parallel study mice (n=21) injected with anti-PD-L1 (100 mg/mouse) at day 7, were sacrificed at different times to collect the tumor and measure the antibody levels by ELISA.

2.3. Statistical analysis

Statistical analysis was performed using a two-way ANOVA followed by Bonferroni test. The significance level was set at $P<0.05$.

3. Results

3.1. No influence of the initial tumor size in the antitumor effect of anti-PD-L1

Anti-PD-L1 exerted similar efficacy with independence of the stage of the disease, as is observed in Figure 1. Response showed high heterogeneity observing three populations in each group: responders (RES), with total tumor regression, non-responders (NRES), and a group with a delayed response (Delayed).

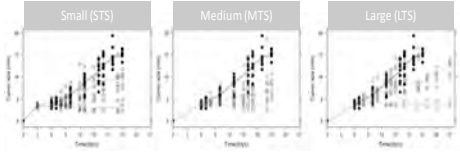


Fig. 1: Individual time profiles of tumor growth in control and treated groups: small (STS), medium (MTS) and large (LTS). Symbols correspond to observations, and lines the mean tendency of the three populations.

3.2. Tumor specific and nonspecific biomarkers correlate with tumor antibody concentrations

Anti-PD-L1 concentrations in tumor provide a specific response characterized by an increment in tumor infiltrates lymphocytes (OVA-CD8+), as is observed in Figure 2 (left panel). At the same time, peripheral lymphocytes (PBL) followed similar profile to specific infiltrates (right panel), suggesting a correlation between both types of lymphocytes.

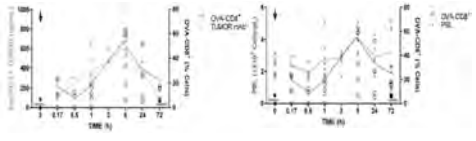


Fig. 2: Time profiles of OVA-CD8+ vs. mAb tumor concentrations (upper panel) and PBL vs. OVA-CD8+ (lower panel) throughout 72h post-dosing. Symbols represent experimental data and solid lines the tendency.

4. Discussion

Anti-PD-L1 triggers tumor shrinkage in mice. This activity seemed not to be influenced by the state of the disease because in each group, total tumor regression was found in approx. 20% of mice, with a durable response > 40 days. The tree types of populations, RES, NRES and Delayed were similar to those found in clinical trials for these immune-modulators [3,4]. Therefore, the aim is to identify biomarkers associated with the disease evolution [5], in order to predict the individual biology of the immune system, and the optimal dosage. Here, tumor anti-PD-L1 concentrations led to a rapid tumor infiltration characterized by an increment of OVA-CD8+ lymphocytes, demonstrating that ligand blockade triggered this immune response. In this way, PBLs in blood seemed to reflect the kinetics of OVA-CD8+ in tumor.

5. Conclusion

Anti-PD-L1 antitumor effect was supported by the correlation between antibody tumor concentrations and specific infiltrating lymphocytes found in B16-OVA tumor bearing mice. This mechanism was also reflected by the PBL modulation at peripheral blood, establishing a possible relationship between PBL and anti-PD-L1 levels in the target.

6. Financial support

AM Contreras-Sandoval & P Berraondo were supported by ADA program fellowship (University of Navarra) & a Miguel Servet II (CPII15/00004) contract from Instituto de Salud Carlos III, respectively. This work was supported by PIUNA program (University of Navarra), IdiSNA institute (Government of Navarra) & grant PI13/00207 (FIS) financed by the FEDER program of EU.

References

[1] J. JOHNSON, Ch. PENG, J.A. SOSMAN. Nivolumab in melanoma: latest evidence and clinical potential. *Ther Adv Med Oncol.* 7(2): 97-106, 2015.

[2] J.M. TAUBE, A. KLEIN, J.R. BRAHMER, *et al.* Association of PD-1, PD-1 ligands and other features of the tumor immune microenvironment with response to anti-PD-1 therapy. *Clin Cancer Res.* 20(19): 5064-74, 2014.

[3] J. BRAHMER, S.S. TYKODI, L.Q. CHOW, *et al.* Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med.* 366 (26): 2455-65, 2012.

[4] J. BRAHMER, L. KAREN, K.L. RECKAMP, *et al.* Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 373:123-35, 2015.

[5] A. LADÁNYI. Prognostic and predictive significance of immune cells infiltrating cutaneous melanoma. Pigment Cell Melanoma Res. 28:490-500, 2015.

Incertidumbre del método de análisis en la prueba de biosimilitud analítica

Matías LLABRÉS MARTÍNEZ, Alexis OLIVA MARTÍN

Dpto. de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica. Universidad de La Laguna.
38200 La Laguna, Tenerife

Email de contacto: mllabres@ull.es

1. Introducción

Los ensayos para probar la biosimilitud publicados por la FDA [1] están estructurados en tres etapas que deben superarse sucesivamente: similitud analítica, similitud funcional y similitud clínica. La etapa de similitud analítica incluye las pruebas de equivalencia basadas en las propiedades físico-químicas y otros atributos críticos de la calidad utilizados para controlar el proceso de manufactura y el aseguramiento de la calidad. Para el análisis de los datos se proponen a su vez tres métodos según el riesgo para la calidad del parámetro analizado: prueba de equivalencia (nivel 1, el más exigente), intervalo de calidad (nivel 2) y métodos gráficos (nivel 3, menos exigente).

Los fundamentos estadísticos y criterios utilizados para establecer las pruebas estadísticas de los niveles 1 y 2 fueron expuestos por Tsong y cols. [2]. Chow y cols. [3, 4] han realizado un análisis crítico de los métodos estadísticos propuestos, pero en ninguna de estas publicaciones se hace referencia a la influencia de la incertidumbre del método analítico.

En esta comunicación se analiza brevemente la razón por la que no se hace referencia a la incertidumbre del método analítico propuesto por el FDA [1, 2]; y se propone interpretar los datos del producto de referencia mediante un modelo longitudinal para estimar la varianza entre-lotes mediante el método de maximización de la verisimilitud. Los cálculos se ha realizado con la aplicación R [4].

2. Métodos de evaluación de la similitud analítica

La recomendación del FDA para el ensayo de similitud analítica nivel 1 se basa en probar la hipótesis nula de no similitud,

$$H_0: \mu_T - \mu_R \leq -\delta \quad \text{o} \quad \mu_T - \mu_R \geq \delta$$

El producto ensayado se declara "biosimilar" si se rechaza la hipótesis H_0 para $\alpha = 0{,}05$,o lo que es operacionalmente equivalente, el intervalo de confianza de la diferencia de promedios está comprendido en el intervalo $[-\delta, \delta]$. Las particularidades de este método son: (i) sólo se analiza una muestra por lote; (ii) el intervalo de aceptabilidad es relativo a la desviación típica del producto de referencia (entre-lotes), es decir, $\delta = C \cdot \sigma_R$, proponiéndose además C = 1,5; (iii) la potencia del ensayo debe ser no inferior a 0,80 cuando $|\mu_T - \mu_R| = \sigma_R / 8$.

3. Modelo estadístico

El modelo estadístico propuesto para estimar σ_R es un modelo longitudinal que toma forma

$$x_{ij} = \mu_R + L_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde $L_i \sim N(0, \sigma_L^2)$ es el efecto aleatorio del lote i (i = 1…, m), y $\varepsilon_{ij} \sim N(0, \sigma^2)$ es el error asociado a la determinación j del lote i (i = 1…, n_i); obsérvese que en [1] j = 1. Para la estimación de los parámetros del modelo, μ_R, σ_L y σ, se utilizó la librería nlme de R [5]. El script R puede solicitarse a los autores.

4. Experimental

En este estudio se incluyeron 47 muestras de tres lotes de un producto comercial de bezacizumab (18, 25 y 4 ensayos respectivamente), analizadas entre mayo de 2013 y mayo de 2015. El parámetro analizado fue la masa molecular; el método de determinación está descrito con detalle en [6]

5. Resultados y discusión

La Figura 1 muestra los resultados obtenidos. Obsérvese que, por la forma de diseñar la toma de datos, la variabilidad es atribuible a la incertidumbre del método analítico, y que este se muestra estable durante los dos años que abarca el estudio. Las estimadas y sus intervalos de confianza 95% fueron: =148,874 kDa [148,525 - 149,224]; [0,981 , 1,46]; = ; el intervalo de confianza de está indefinido al incluir el valor 0. En la figura 1 se han incluido las líneas para , para K = 2 y K = 3 (K = 3, criterio de similitud analítica nivel 2).

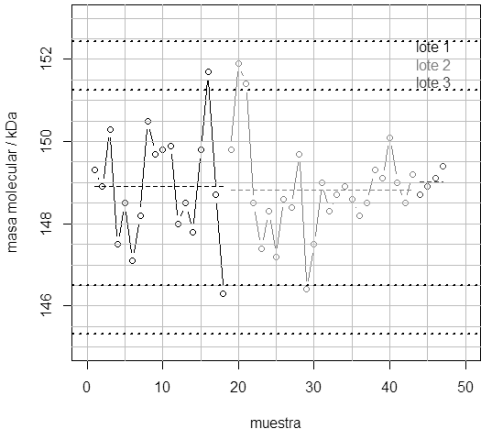


Fig. 1: Masas moleculares obtenidas para los tres lotes ensayados e incertidumbre expandida del método analítico.

Del modelo estadístico se deduce,

$$E[\overline{x}_i]=\mu_R$$

$$VAR[\overline{x}_i]=\sigma_R^2=\sigma_L^2+\frac{\sigma^2}{n_i}$$

Es bien conocido que la estimada muestral de σ_R^2 es sesgada, razón por la que la guía del FDA fija $n_i = 1$ para todos los lotes, de forma que $\sigma_R^2=\sigma_L^2+\sigma^2$. Esta decisión plantea el problema de determinar cuál de las dos varianzas es dominante. Para los atributos de calidad muy variables debido a la variabilidad natural del proceso de producción, $\sigma_L^2 > \sigma^2$, y fijar $\delta=1{,}5\sigma_R^2$ parece razonable. Sin embargo, si $\sigma_L^2 < \sigma^2$, no tiene sentido fijar el criterio de similitud en función de la incertidumbre del método analítico, ya que entre otras consecuencias, desincentivaría al promotor del ensayo a utilizar un método con baja incertidumbre.

Los resultados presentados muestran que la hipótesis implícita en el método descrito en [1], $\sigma_L^2 > \sigma^2$, no es generalizable, y deben identificarse los atributos de calidad para los cuales esta hipótesis es razonable.

Referencias

[1] FDA. *Guidance on scientific considerations in demostrating biosimilarity to a reference product*. US FDA 2015.

[2] Yi TSONG, Xiaoyu DONG, Meiyu SHEN, *Development of statistical methods for analytical similarity assessment*. J. Biopharn. Stat.2015 doi:10. 1080/10546406.2015.1092038.

[3] Shein-Ching CHOW, Fuyu SONG, He BAI, analytical similarity assessment in biosimilar studies. The AAPS Journal 18, 3, 670, 2016.

[4] R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/.

[5] PINHEIRO J., BATES D., DEBROY S., SARKAR D. and R Core Team (2016). _nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models_. R package version 3.1-128.

[6] Alexis OLIVA, José B. FARIÑA, Matías LLABRÉS *Pre-study and in-study validation of a size-exclusion chromatography method with different detection model for the analysis of monoclonal antibody aggregates*. J. Chromatogram. B 1032, 206, 2016.

Obtención de nanopartículas Magnetita/PEI y su aplicación en terapia génica y aislamiento celular

Raúl MEGÍAS[1], Maialen ARCO[4], Jesús CIRIZA[4], Laura SAENZ DEL BURGO[4], Gustavo PURAS[4], José Luis ARIAS[1,2,3], Margarita LÓPEZ-VIOTA[1]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Granada, Spain
2. Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), University of Granada, Granada, Spain
3. Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), Andalusian Health Service (SAS) – University of Granada, Granada, Spain
4. NanoBioCel Group, University of the Basque Country, Vitoria-Gasteiz, Spain
5. Networking Research Center of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain

Email de contacto: gcetern@correo.ugr.es

1. Introducción

La irrupción de la nanotecnología en la tecnología ha abierto en los últimos años un amplio y prometedor campo de desarrollo. Asociado a ello el desarrollo de nanosistemas funcionales se ha convertido en una necesidad para poder aplicar dicha nanotecnología. En biomedicina se exigen sistemas biocompatibles y con diferentes propiedades que los hagan útiles bien en diagnóstico, tratamiento o prevención de la enfermedad. Por ello, materiales como la magnetita o la polietilenimina (PEI) se han convertido en referencias dentro de sus campos de aplicación. El presente trabajo muestra como obtener un híbrido de ambos materiales con aplicaciones propias de cada uno: terapia génica, donde la PEI es considerada referente, y aislamiento celular, en el que la magnetita brilla debido a su biocompatibilidad y la capacidad de respuesta a un gradiente de campo magnético externo [1].

2. Materiales y métodos

Todos los productos utilizados son grado reactivo. La PEI 25kD y todos los reactivos fueron adquiridos en Sigma-Aldrich (Madrid, España). Todos los procesos de síntesis fueron llevados a cabo con agua ultrapura desionizada (Mili-Q).

2.1. Síntesis de Nanopartículas Magnetita/PEI

Para la obtención de los núcleos de magnetita se llevó a cabo una coprecipitación en medio básico de dos soluciones de $FeCl_3$ y $FeCl_2$. Posteriormente se estabilizaron gracias a la adición de citrato sódico y se recubrieron de PEI por adición de una solución al 5% (m/m) del citado polímero. El tamaño y carga eléctrica superficial de las nanopartículas se llevo a cabo por PCS y DLS, respecticamente, empleando un Zatasizer Nano ZS. Las microfotografías SEM, STEM y EDX se llevaron a cabo en un microscopio Zeiss SUPRA40VP.

2.2. Ensayos de transfección

Los ensayos de transfección se realizaron sobre células HEK-293 cultivadas en monocapa en medio mínimo esencial. Para ello se añadieron 150.000 células en 24 pozillos diferentes y se dejaron crecer durante 24 hs en medio sin antibiótico. Posteriormente este medio es retirado y añadido 1.25 ug de pmaxGFP pDNA acomplejado con a diferentes ratios con las nanopartículas Magnetita/PEI. La expresión cualitativa de GFP fue determinada utilizando un microscopio invertido con epi-fluorescencia y contraste de fase. La expresión cuantitativa se llevó a cabo por citometría de flujo.

3. Resultados y discusión

3.1. Tamaño y carga eléctrica superficial

Ambos parámetros respaldan la hipótesis del recubrimiento y estabilización de los núcleos de magnetita por el citrato sódico, se puede observar una disminución de su tamaño hidrodinámico y el viraje de la carga eléctrica superficial como consecuencia de este hecho. Finalmente, la adición de polímero provoca un recubrimiento de los núcleos de magnetita con el consecuente aumento del sistema y la aparición de la carga eléctrica superficial típica del polímero cómo la propia del sistema.

	Pot Z	SD	Tama	SD
Mg	29,9	8,6	126,7	6,7
Mg+Ca	-40,1	3,7	33,1	5,5
Mg+Ca+Pei	66,8	2,1	110,1	8,6

Fig. 1: Evolución del tamaño de partícula y carga eléctrica superficial del sistema a lo largo de las diferentes etapas del proceso de síntesis.

3.2. Morfología y composición

Para poner de manifiesto la morfología del sistema Magnetita/PEI y reforzar los datos del ensayo anterior se tomaron diversas microfotografías SEM, STEM y EDX. Como puede verse los núcleos de magnetita se presentan como pequeñas manchas oscuras que aparecen siempre en el interior de la matriz polimérica y nunca en su superficie, que es lisa y carente de imperfecciones. El EDX pone de manifiesto la presencia de Fe en dichas manchas y la ausencia del mismo en otros puntos por lo que queda aún más reforzada dicha teoría.

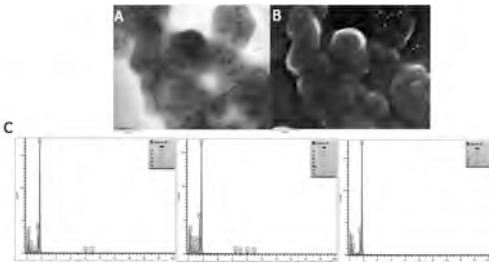


Fig. 2: Microfotografías SEM, STEM y EDX del mismo campo en las que puede apreciarse cómo los núcleos de magnetita, se encuentran dentro de la matriz polimérica.

3.3. Eficacia de transfección

Para determinar la eficacia de transfección y cómo la cantidad de PEI podía influir en dicha aplicación se llevó a cabo un análisis cuantitativo. La cantidad de PEI es un parámetro que influye en la eficacia de transfección y los mejores valores obtenidos rondan el 4.5% de eficacia.

4. Conclusiones

El presente trabajo muestra un procedimiento eficaz y reproducible de un nanosistema compuesto por magnetita y PEI con aplicación en terapia génica. Son necesarios más ensayos para optimizar la eficacia de transfección y conocer mejor el proceso en su conjunto.

Referencias

[1] R.H. MULLER *et al.* "Cytotoxicity of magnetite-loaded polylactide/glycolide particles and solid lipid nanoparticles", Int. J. Pharm., 138, 85-94.

[2] U. LUNGWITZ *et al.* "Polyethylenimine-based non-viral gene delivery systems. Eur. J. Pharm. Biopharm., 60, 247-266.

Desarrollo y control de calidad de una suspensión oral de dexametasona adecuada para pediatría

Javier SUÁREZ-GONZÁLEZ[1,2], Diego DORTA-VERA[1], Iris GONZÁLEZ-GARCÍA[1], Nuria TEIGELL-PÉREZ[3], Ana SANTOVEÑA[1,3], José B. FARIÑA[1,3]

1. Dpto. de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Laguna (ULL), Campus de Anchieta, 38203 La Laguna, Tenerife
2. Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Laguna (ULL), Campus de Anchieta, 38203 La Laguna, Tenerife
3. Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias (IUETSPC), Universidad de La Laguna (ULL), Campus de Anchieta, 38203 La Laguna, Tenerife

Email de contacto: jsuarezg@ull.es

1. Introducción

Los medicamentos comercializados de dexametasona (DEX) para su administración oral y parenteral, no cubren todas las necesidades del paciente pediátrico. Por ello, es una práctica habitual en clínica elaborar fórmulas orales partiendo del principio activo o de una fórmula farmacéutica. En este último caso, esta se utiliza como materia prima incorporando a la formulación excipientes complejos no apropiados para los niños. Además, el uso de comprimidos con este fin puede dar lugar a preparados inestables o con una mala dispersión del principio activo con los consiguientes problemas de heterogeneidad de dosis.

Se han utilizado viales para administración parenteral de DEX fosfato, donde el principio activo ya se encuentra solubilizado, para la elaboración de suspensiones orales, con la incoherencia que ello supone. Es más, se estaría empleando por una vía diferente a la autorizada con los problemas de biodisponibilidad que esto produce [1]. Por todo ello, se necesita la elaboración de suspensiones de DEX adaptadas a pediatría que sean: seguras, estables y eficaces.

2. Objetivo

Elaboración de una suspensión de DEX, adaptada a pediatría, con una estabilidad fisicoquímica y microbiológica apropiada y que asegure la administración de una dosis homogénea.

3. Material y método

Se validó un método de cromografía líquida de ultra alta presión que nos permite cuantificar la DEX y seguir su degradación. Se llevó a cabo un estudio de la estabilidad química de la molécula sometiéndola a 60±0,1ºC y diferentes pHs (2-8). Seguidamente, se elaboraron dos suspensiones de DEX (1 mg/ml), ver Tabla 1.

Formulación	F1	F2
Tampón cítrico/citrato	-	20 ml
Diluyente (csp. 100 ml)	Jarabe Simple	Jarabe Simple
pH	7,06±0.05	4,43±0.01

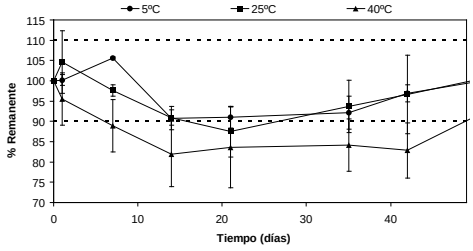
Tabla. 1: Composición de las suspensiones de DEX. pH se expresa como la media±SD. SD (desviación estándar).

Para comprobar la homogeneidad de la dosis se realizó el ensayo de uniformidad de masa, según los criterios de la Farmacopea Europea (FE) para los envases multidosis [2], y de contenido, expresado como % sobre el valor declarado siguiendo un ensayo de elaboración propia [3]. Se hizo uso de las normas ICH para conocer la estabilidad química de las formulaciones [4-5]. También se evaluó la calidad microbiológica, simulando condiciones de uso, siguiendo los criterios de la FE para el ensayo de productos no estériles [6]. Además, se realizaron estudios reológicos y de sedimentación. Para este último se vertió el contenido de las formulaciones en probetas graduadas y se almacenaron a 5±0,1ºC. Tras 30 días se analizan los contenidos de las muestras obtenidas de diferentes alturas de la probeta antes y después de agitar.

4. Resultados

La DEX es más estable a pH ácido que neutro. Tanto F1 como F2 superaron el test de uniformidad de masa y contenido siendo F2 aquella en la cual la DEX se encuentra más uniformemente distribuida.

a)



b)

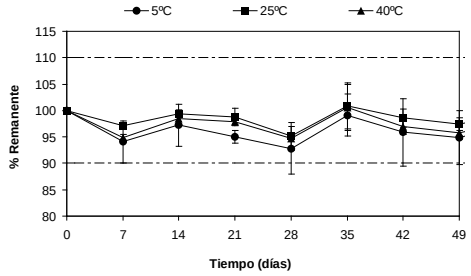


Fig. 1: Porcentaje de DEX remanente en F1 a) y F2 b) después de 49 días almacenado a 5, 25 y 40ºC. Las líneas discontinuas son los límites superior e inferior (100±10%) establecidos con respecto al valor declarado

En cuanto a la estabilidad química el % remanente de F2 se mantiene siempre dentro de los límites establecidos a diferencia de F1, ver Figura 1. Ambas cumplen los requisitos de calidad microbiológica hasta los 15 días de almacenamiento. En cuanto a la estabilidad física ambas formulaciones siguen un comportamiento newtoniano siendo F2 la que genera un sedimento más fácilmente redispersable.

5. Conclusión

La formulación a base de jarabe simple y tampón citrato (F2) asegura la homogeneidad de dosis y su estabilidad fisicoquímica y biológica almacenada a 5-25ºC durante 15 días.

6. Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de las Farmacias: Feria y Finca España, Instituto Tecnológico del Medicamento Individualizado y la Comisión Nacional de Unificación de Criterios en Formulación Pediátrica. El presente estudio fue financiado por la Fundación Caja Canarias: proyecto de investigación BIO27 y contrato (2016_28).

Referencias

[1] A. TOLEDO, C.S. AMATO, N. CLARKE, *et al.* *"Injectable dexamethasone sodium phosphate administered orally? A Pharmacokinetic analysis of a common emergency department practice"*. J Pediatr Pharmacol Ther.20:105-111. 2015.

[2] Uniformidad de masa de las preparaciones presentadas en multidosis. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Real Farmacopea Española tercera edición, Madrid. 01/2005, 20901. 2005.

[3] José B. FARIÑA: Ana SANTOVEÑA; Javier SUÁREZ-GONZÁLEZ. *"Análisis de la homogeneidad de las dosis en fórmulas magistrales líquidas orales de uso pediátrico para el aseguramiento de su calidad"*. Formula + Acofar. 48: 1-4. 2016. Disponible en: http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/7319-7f49213b0de8f045ad0f2a99df495571989a9d20/main/files/Sep_Oct_2016.pdf.

[4] ICH, The International Conference of Harmonization: Q1A R2. Disponible en: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1A_R2/Step4/Q1A_R2__Guideline.pdf.

[5] ICH, The International Conference of Harmonization: Q1B. Disponible en: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q1B/Step4/Q1B_Guideline.pdf.

[6] Calidad microbiológica de productos no estériles y sustancias de uso farmacéutico. Ministerio de Sanidad Servicios Sociales e Igualdad, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, editor. Real Farmacopea Española, Quinta edición, Madrid 01/2011, 50104. 2014.

Diseño de interfaces coloidales para la administración oral de fármacos

M. J. SANTANDER-ORTEGA, M. PLAZA-OLIVER, E. VILLAR, L. CASTRO-VÁZQUEZ, V. RODRÍGUEZ, N. VILLASECA, J. GONZÁLEZ-FUENTES, P. MARCOS, M.V. LOZANO, M.M. ARROYO

Neurobiología celular y química molecular del sistema nervioso central. Facultad de Farmacia, Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete

Centro regional de investigaciones biomédicas (CRIB), Universidad de Castilla-La Mancha, Albacete

Email de contacto: mvictoria.lozano@uclm.es

1. Introducción

Conseguir niveles terapéuticos de moléculas bioactivas a nivel sistémico tras su administración oral está altamente condicionado por el paso a través de la mucosa intestinal [1]. En este sentido, diferentes tipos de nanoestructuras (micelas, micro y nanoemulsiones, emulsiones, nanopartículas, …) han conseguido aumentar la biodisponibilidad de diferentes moléculas bioactivas tras su administración oral. Estos resultados son especialmente relevantes debido a la idoneidad de la vía oral para el tratamiento de patologías crónicas [1]. Entre las diferentes alternativas que presenta la nanotecnología una de las más prometedoras se sustenta en el uso de *nanopartículas mucodifusivas*, las cuales facilitan la difusión del sistema a través de la barrera mucosa intestinal tras su administración oral [2].

Recientemente se ha demostrado el potencial del surfactante Pluronic® F127 para la formulación de sistemas mucodifusivos tras adsorberse en la superficie de los mismos [2]. Estas formulaciones son capaces de difundir de manera eficiente a través de la mucosa intestinal y de esta forma mejorar la absorción del principio activo asociado [2]. No obstante, en dichos estudios se ha trabajado únicamente con dos tipos principales de nanopartículas, poliestireno y PLGA.

Basándonos en estas premisas, en este trabajo nos planteamos sí las excelentes propiedades mostradas por este surfactante para la formulación de sistemas coloidales para la administración oral de fármacos pueden ser explotadas con otros sistemas coloidales o han de ceñirse a este tipo de nanopartículas. Dicho de otro modo, en este trabajo tratamos de clarificar que propiedades fisicoquímicas ha de presentar una determinada nanopartícula para poder aprovechar el potencial de este surfactante para la vía oral.

2. Material y Métodos

En este trabajo se han estudiado tres tipos diferentes de nanoemulsiones formuladas enteramente con materiales GRAS. Concretamente se han formulado nanoemulsiones con núcleos oleosos de aceite de coco (semisolido), aceite de palma (solido) o mezcla 0,34/0,66 aceite de palma:vitamina E (liquido). Todos los sistemas fueron recubiertos con el surfactante no iónico Pluronic® F127.

Para determinar el efecto del núcleo lipídico en la estructuración del surfactante en su superficie se estudió la estabilidad coloidal de los sistemas en fluidos gastrointestinales simulados (con y sin enzimas), su resistencia a la degradación enzimática, así como su capacidad para difundir a través de la mucosa intestinal mediante la técnica de *particle tracking* en moco intestinal de cerdo.

3. Resultados y discusión

Independientemente de su composición todos los sistemas presentaron un tamaño comprendido entre los 150-250 nm y una baja polidispersión. Estudios de estabilidad coloidal en función de la salinidad del medio mostraron que tanto el aceite de coco como el de palma favorecían la formación de una cubierta de Pluronic® F127 capaz de estabilizar estéricamente los sistemas. No

obstante, tras la adición de enzimas al medio se observó como el sistema formulado con aceite de coco se volvía más instable. Estos resultados se confirmaron al estudiar la degradación enzimática de los mismos mediante un ensayo de lipolisis. En este caso el sistema formulado con aceite de coco presento una degradación de la matriz superior al 40%, mientras que el de aceite de palma apenas superó el 20% tras una hora de incubación en medio intestinal simulado.

Una de las principales diferencias fisicoquímicas entre ambos aceites radica en su diferente carácter hidrófobo, lo cual se confirmó realizando medidas de ángulo de contacto de una gota de agua depositada sobre ambos sustratos. Donde el aceite de coco presentó un ángulo de contacto $\alpha \sim 20º$ y para el aceite de palma un $\alpha \sim 30º$. Estas diferencias indican claramente, que aunque ambos sustratos presentan unas buenas propiedades fisicoquímicas para la formulación del sistemas coloidales estabilizados estéricamente por el Pluronic® F127, la menor hidrofobicidad del aceite de coco favorece que este surfactante sea desplazado de la superficie de la partículas por moléculas tensioactivas con mayor afinidad por la interfase o/a, tales como las enzimas, co-enzimas y sales biliares presentes en el intestino delgado.

Una vez en el intestino delgado, la capacidad del sistema para difundir a través de la mucosa intestinal dependerá de la densidad de recubrimiento de la gotícula de aceite. Bajo esta premisa se analizó *in vitro* mediante la técnica de microscopía de *particle tracking* la difusión del sistema formulado con aceite de palma a través de moco intestinal de cerdo. Curiosamente, pese a que el recubrimiento de Pluronic® F127 había mostrado que podía estabilizar estérimacemente al sistema así como minimizar su interacción con las enzimas intestinales, este ensayo mostró que las partículas se quedaron totalmente bloqueadas en el moco intestinal (coeficiente de difusión en moco $\sim 10^{-4}$ μm^2/seg). Lo cual sería indicativo de que este núcleo oleoso no era lo suficientemente hidrófobo cómo para promover la formación de una capa suficientemente densa de Pluronic® F127 [3,4].

En función de estos resultados se decidió modificar la matriz de las nanoemulsiones de aceite de palma con vitamina E ($\alpha \sim 54º$). Interesantemente esta modificación mejoró de manera clara la capacidad del sistema para difundir a través de la mucosa intestinal. Presentando un coeficiente de difusión medio de 0,03 μm^2/seg.

4. Conclusiones

Numerosos estudios se han centrado en determinar las propiedades fisicoquímicas clave de surfactantes no ionicos a la hora de obtener sistemas coloidales capaces de atravesar el tracto gastrointestinal y difundir a través de la mucosa intestinal. No obstante, nuestros resultados muestran que la efectividad de dicho recubrimiento no dependerá únicamente del surfactante, sino también de la matriz sobre la que se adsorberá. En este sentido nuestros estudios muestran que será necesario formular sistemas con un cierto carácter hidrófobo si se pretende obtener un recubrimiento eficiente de Pluronic® F127.

Referencias

[1] M. J. ALONSO & N. S. CSABA. Nanostructured Biomaterials for Overcoming Biological Barriers (RSC, 2012).

[2] L. M. ENSIGN, R. CONE & J. HANES. Oral drug delivery with polymeric nanoparticles: The gastrointestinal mucus barriers. Advanced Drug Delivery Reviews (2012).

[3] M. PLAZA-OLIVER, *et al*. Design of the interface of edible nanoemulsions to modulate the bioaccessibility of neuroprotective antioxidants. International Journal of Pharmaceutics (2015).

[4] M.J. SANTANDER-ORTEGA, D. BASTOS-GONZÁLEZ, J.L. ORTEGA-VINUESA. Electrophoretic mobility and colloidal stability of PLGA particles coated with IgG. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (2007).

A new biomaterial based on lactose-crosslinked fish gelatin for tissue engineering applications

Edorta SANTOS[1], Claudia VAIRO[1], Alaitz ETXABIDE[3], Pedro GUERRERO[3], Koro DE LA CABA[3], José Luis PEDRAZ[1,2], Manoli IGARTUA[1,2], Rosa María HERNÁNDEZ[1,2]

1. NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain
2. Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain
3. BIOMAT Research Group, Chemical and Environmental Engineering Department, Engineering College of Gipuzkoa, University of the Basque Country (UPV/EHU), San Sebastián, Spain

Email de contacto: edorta.santos@ehu.eus

1. Introduction

Gelatin can be considered an ideal candidate for hydrogels formation since it possess an excellent film forming capacity [1] and it has been recognized as a "Generally Recognized As Safe" (GRAS) material by the FDA, with excellent biocompatibility and biodegradability [2].

However, gelatin has poor mechanical properties and thus, the use of crosslinkers is required to minimize this problem. Among them, glutaraldehyde (GTA) has been widely used, although its cytotoxicity has been largely demonstrated. More recently, genipin (GP) is receiving increasing attention given that it is less toxic than aldehydes, but further studies must be developed in the search of a crosslinker which does not cause any toxic effect. In this regard, the use of sugars, such as lactose (Lac), is particularly attractive, due to their ability to interact spontaneously with gelatin through a process called Maillard reaction [3].

Thus, the aim of this work was to develop and characterize a novel hydro-film type scaffold (≈50 µm thickness) based on lactose-crosslinked fish gelatin, which swells in the presence of fluids, while preserving its structure and integrity. This may have considerable potential for tissue engineering applications such as wound healing.

2. Material and methods

Hydro-films were prepared by a simple casting process. Gelatin was dissolved in distilled water, glycerol was added as plasticizer and the pH was adjusted to 10 with NaOH. Then, the crosslinker (GTA, GP or Lac) was added and finally, the hydro-films forming solution was poured into each Petri dish and left to dry at room temperature for 48 h.

In order to test the hydrolytic stability, gelatin hydro-films were immersed in a phosphate-buffered saline (PBS) solution at pH 7 at 25 and 37 ºC for 3 days. The compounds released from the hydro-films were identified by Fourier transform infrared (FTIR); the surface analysis was performed using X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), scanning electron microscopy (SEM) and atomic force microscopy (AFM). Also, swelling, occlusion and degradation studies were performed.

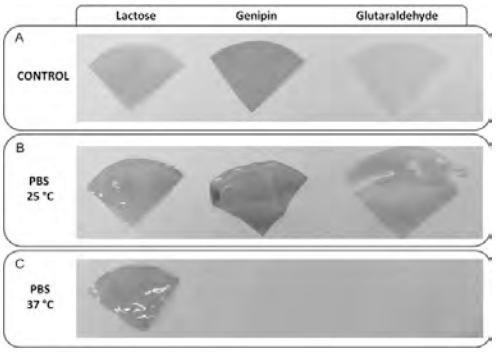


Fig. 1: Hydro-films crosslinked with Lac, GP and GTA (a) before immersion in PBS buffer and after immersion in PBS buffer (b) at 25 ºC and (c) at 37 ºC.

The hydro-film biocompatibility was carried out

following the ISO 10993-5:2009 guidelines by direct cell (L-929 fibroblasts) contact with the material, or by exposing the cells to the extraction fluid. Moreover, adhesion, spreading, proliferation and infiltration assays were performed using a TC20™ Automated Cell Counter and an Olympus Fluoview FV500 confocal microscope. Image analysis was carried out by means of Image J software. GraphPad Prism 6 (La Jolla, California, USA) was used for statistical analysis.

3. Results and discussion

Compared to GTA or GP, Lac-mediated crosslinking resulted in the only viable alternative to produce hydro-films that are stable against hydrolytic degradation with such a narrow thickness (≈50 µm) (Fig. 1).

FTIR showed that glycerol and non-reacted Lac were the main compounds released from hydro-films. There was no release of new compounds formed during crosslinking. XPS, SEM and AFM confirmed the crosslinking efficiency after Maillard reaction and showed the highly ordered nano-scaled structure of the hydro-film. Swelling assay suggested that the hydro-films can nearly increase its weight twice in just 5 minutes, thereby demonstrating its high hydrophilicity and suitability for cell-based therapies. Furthermore, the mild occlusivity showed by the occlusion test emphasized the excellent properties of this system to be used as a wound-dressing material.

In the degradation studies it was found that hydro-films withstand either hydrolysis or cell-mediated degradation, but not enzymatic digestion, which would ensure a desirable duration/degradation profile for the dual purpose of cell-loading and drug delivery.

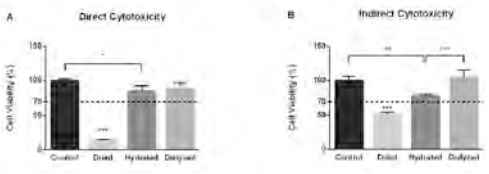


*Fig. 2: (a) Direct and (b) indirect cytotoxicity assays. ***p<0.001 comparing dried group with all the others.*

The results obtained from cytotoxicity tests (Fig. 2) demonstrated a high cytocompatibility with practically undetectable negative effects. The adhesion assay values (Fig. 3 a) were comparable to those observed onto polystyrene plates, whereas cell spreading (Fig. 3 b-c) resulted to be even significantly higher, thus confirming the high affinity of the cells for these surfaces. Indeed, both control or hydro-film groups showed a similar proliferation rates. Finally, the infiltration study demonstrated that cells were not able to invade the hydrogel surface.

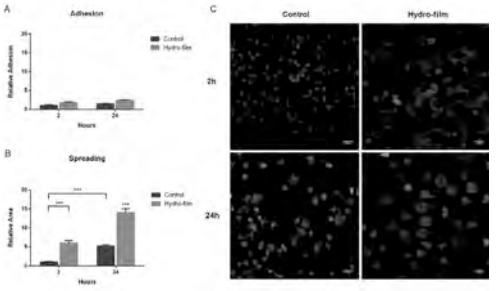


*Fig. 3: Adhesion and spreading assays. ***p<0.001 comparing two groups in both time-points. (scale bars = 50 µm)*

4. Conclusions

This study demonstrates that Lac-mediated crosslinking is able to produce gelatin hydro-films with reduced thickness and suitable properties for tissue engineering applications, such as wound healing.

References

[1] J. URANGA, *et al., "Cross-linking of fish gelatins to develop sustainable films with enhanced properties"*, Eur Polym J, 78, 5, 82-90, 2016.

[2] A.O. ELZOGHBY, *et al., "Protein-based nanocarriers as promising drug and gene delivery systems"*, J Control Release, 161, 38-49, 2012.

[3] A. ETXABIDE, *et al., "Effects of cross-linking in nanostructure and physicochemical properties of fish gelatins for bio-applications"*, React Funct Polym 94, 9, 55-62, 2015.

Non-viral vectors based on chitosan, cationic lipid and magnetic nanoparticles for VEGF gene delivery to Central Nervous System cells

Ilia VILLATE BEITIA[1,3], Gustavo PURAS OCHOA[1,3], Cristina SOTO SÁNCHEZ[2,3], Eduardo FERNÁNDEZ JOVER[2,3], José Luis PEDRAZ MUÑOZ[1,3]

1. Pharmacy and Pharmaceutical Science's Department, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Paseo de la Universidad, 7. 01006 Vitoria-Gasteiz, Spain
2. Bioengineering Institute, Miguel Hernández University (MHU). Edificio Vinalopo, Avenida de la Universidad s/n. 03202 Elche, Alicante, Spain
3. Centro de Investigación Biomédica en Red (CIBER) in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN)

Email de contacto: joseluis.pedraz@ehu.eus

1. Introduction

Recent advances in the fields of biomaterials and nanotechnologies, together with a better knowledge various genome editing strategies, have prompted the evolution of biocompatible nanomaterials for gene delivery purposes [1].

Non-viral vectors are characterized by their potential to overcome many of the limitations of viral vectors, especially those related with their safety and production.

Cells in Central Nervous System (CNS) are particularly challenging to transfect for both viral and non-viral gene delivery systems. In fact, the finding of effective strategies to face the variety of neurodegenerative disorders remains a big dare. In the case of Alzheimer's Disease (AD), it has been shown that administration of VEGF in animal models of AD increases vascularisation and reduces neuronal loss and Aβ deposits in brain [2].

Based on these considerations, we present three different non-viral vector formulations based on chitosan, cationic lipid and magnetite nanoparticles to deliver VEGF coding plasmid into CNS cells.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of nanoplexes

Polyplexes based on chitosans were prepared by the self-assembly method. Lipoplexes were prepared by mixing gently Lipofectamine 2000 solution and the plasmid solution at appropriate volumes. Magnetoplexes were prepared by mixing gently NeuroMag solution and plasmid solution at appropriate volumes.

2.2. Nanoformulation characterization

The hydrodynamic diameter and the zeta potential of nanoparticles and their corresponding nanoplexes were determined by Dynamic Light Scattering and by Lasser Doppler Velocimetry, respectively, using a Zetasizer Nano ZS. Morphology of nanoparticles was evaluated by both TEM microscopy. The capacity to condense, protect and release the plasmid was analyzed by electrophoresis en agarose gels.

2.2. Cell culture and *in vitro* assays

HEK293 and C6 cells were maintained in complete medium. Nanoplexes were added to the corresponding ratios in serum free medium. After 4 h of incubation, the nanoplexes were removed and cells were allowed to grow 48 h for analysis of transfection efficiency, cell viability, mean fluorescent intensity (MFI), VEGF production and VEGF bioactivity in HUVEC cells.

3. Results and Discussion

3.1. Nanoformulation characterization

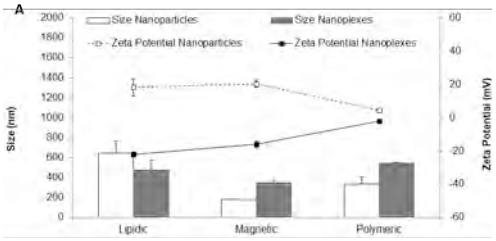


Fig. 1: Particle size and zeta potential.

All formulations presented suitable physico-chemical properties for gene delivery: nanometric scale with positive zeta potential values at the ratios tested. PDI values were higher in lipid formulations, corresponding with a more heteregoneous morphology under TEM examination.

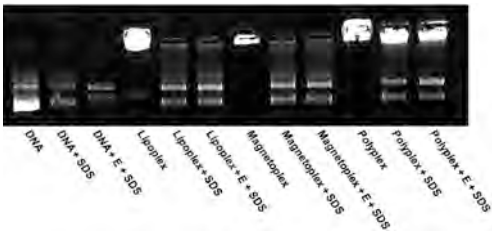


Fig. 2: Agarose gel electrophoresis assay.

All formulations condensed and protected DNA. However, only lipoplexes and magnetoplexes released DNA upon SDS addition.

3.2. Transfection efficiency

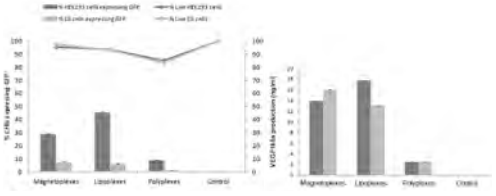


Fig. 3: In vitro transfection results.

As observed in Fig. 3, all formulations were well tolerated by cells, since the percentage of live cells was higher than 90%. Percentage of GFP expressing cells and MFI values were higher in HEK-293 than in C6. However, VEGF production was similar in both cell lines and strong correlation between VEGF production and GFP expression percentage was found, suggesting adequate production of the desired factor in both cell lines.

3.3. VEGF bioactivity in HUVEC cells

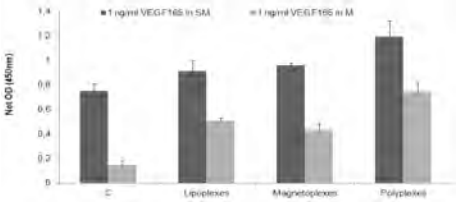


Fig. 4: VEGF bioactivity assay.

The supernatant of C6 transfected cells was used to evaluate the bioactivity of secreted VEGF. As observed in fig.5, HUVEC cells proliferated more than control cells, especially in medium without supplement.

4. Conclusion

Our study shows that non-viral vectors based on chitosan, cationic lipid and magnetic nanoparticles were able to transfect efficiently Central Nervous System cells. Additionally, the supernatant obtained from transfected cells was biologically active, since HUVEC cells proliferated under exposition of secreted VEGF. These results could be relevant for the treatment of brain disorders such as Alzheimer diseases, were neovascularization is a desired condition.

5. Acknowledgements

This project was supported by UPV/EHU (UFI 11/32), the Basque Government (Grant PRE_2015_2_015) and the Spanish Ministry of Education (Grants CTQ2010-20541, CTQ2010-14897). Technical and human support provided by SGIker (UPV/EHU) is gratefully acknowledged. Authors also wish to thank the intellectual and technical assistance from the ICTS "NANBIOSIS", more specifically by the U10 of the CIBER-BBN at the UPV/EHU.

References

[1] Erhan KELES *et al.* "*Recent progress in nanomaterials for gene delivery applications*", Biomater Sci., 16;4(9):1291-309, 2016.

[2] Enara HERRAN *et al.* "*VEGF-releasing biodegradable nanospheres administered by craniotomy: a novel therapeutic approach in the APP/Ps1 mouse model of Alzheimer's disease*", J Control Release, 28;170(1):111-9, 2013.

Data analitics en el estudio retrospectivo de las infracciones de los criterios STOPP

Silvia GONZÁLEZ-MUNGUÍA, Esther SÁNCHEZ, Obdulia MUNGUÍA, Matías LLABRÉS

Dpto. de Ingeniería Química y Tecnologia Farmacéutica. Universidad de La Laguna, 38203 La Laguna, Tenerife

Email de contacto: mllabres@ull.es

1. Introducción

Una prescripción es inadecuada cuando el riesgo de sufrir efectos adversos es superior al beneficio clínico, especialmente cuando hay evidencia de la existencia de alternativas terapéuticas más seguras y eficaces [1]. Durante las últimas décadas se han desarrollado diferentes herramientas que facilitan la identificación de una PI en los pacientes mayores. Entre las más utilizadas se encuentran los criterios STOPP-START (*Screening Tool of Older Person's Prescriptions - Screening Tool to Alert doctors to Right Treatment*) [2]. Los criterios STOPP comprenden 65 indicadores de prescripciones potencialmente inadecuadas: interacciones fármaco-fármaco, fármaco - situación clínica, duplicidad terapéutica, medicamentos que incrementan el riesgo de deterioro cognitivo, y caídas en las personas mayores. Los criterios START incorporan 22 indicadores que representan los casos más comunes de medicamentos omitidos que pueden ser potencialmente beneficiosos [1].

No es de esperar que la incidencia de prescripciones inadecuadas sea elevada, por lo que es necesario analizar un número elevado de prescripciones para poder obtener una información precisa sobre la incidencia y sus causas. En esta comunicación se describe un procedimiento de análisis de prescripciones para el estudio retrospectivo de las infracciones de los criterios STOPP.

2. Metodología

El sistema de análisis de datos desarrollado opera sobre las tablas MS Excel generadas por el sistema de receta electrónica implantado por el Servicio Canario de la Salud. Las tablas contienen 23 campos con los datos de las prescripciones y datos demográficos (edad en el momento de la prescripción y sexo). La identificación del paciente se sustituyó en origen por un código seguro.

Para el desarrollo de los algoritmos de construcción de tablas y cribado de datos se utilizó el lenguaje de programación estadística ***R*** [3].

2.1. Codificación de los fármacos

Para identificar los fármacos de forma inequívoca se eligió el código DCSA [4] por las siguientes razones: es un código utilizado internacionalmente; está disponible en el nomenclátor de la AEMPS en el fichero **DICCIONARIO_DCSA.xml**; identifica las combinaciones fijas de fármacos; y se actualiza periódicamente. Esta base de datos contiene dos campos, el código DCSA y la denominación DCSA. Para su lectura se utilizó `xmlParse( )` de la librería `XML`. Además, del fichero **PRESCRIPCION.xml** de la AEMPS, se obtuvo el código nacional para generar una Tabla que combinara dicho código con su correspondiente código y denominación DCSA, identificada con la etiqueta **cn2dcsa**, en la Figura 1.

2.2. Base de datos criterios STOPP

Utilizando el código DCSA y la denominación común internacional (DCI) de los fármacos incluidos en los criterios STOPP, se construyó una tabla con 1.730 combinaciones de los fármacos incluidos, tomados de dos en dos. La tabla contiene 5 campos: DCI y DCSA para cada fármaco y el tipo de incumplimiento. La tabla generada se identifica en la Figura 1 con la etiqueta **stoppF1**.

2.3. Codificación del medicamento prescrito

La base de datos con las prescripciones identifica

el medicamento a través del código nacional de la presentación comercial y se denomina **tabla de análisis**, para incluir el código DCSA se combinó con la tabla **cn2dcsa**.

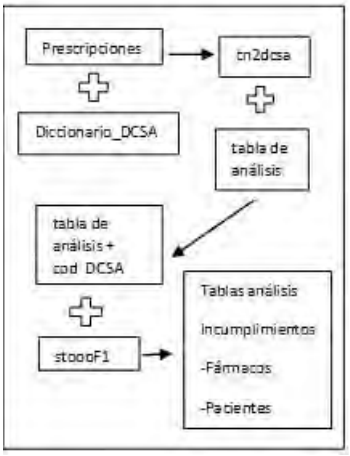


Fig. 1: Estructura del método de análisis de datos para identificar errores de prescripción conforme a los criterios STOPP.

2.4. Algoritmo de búsqueda

El algoritmo de búsqueda ha sido desarrollado en el lenguaje R. Al enfrentar la tabla **stoppF1** con los datos de las prescripciones en las que se han incluido los códigos DCSA (identificada como **tabla análisis + cod DCSA** en la Figura 1) se extrae: lista de los principios activos prescritos, lista clasificada por grupos de los principios activos prescritos incluidos en los criterios STOPP, y tratamiento por pacientes, incluyendo las fechas de dispensación, inicio y final del tratamiento. Puede obtenerse el algoritmo solicitándolo a los autores de la comunicación.

3. Datos de prescripciones

La base de datos actual contiene 241.127 prescripciones dispensadas en dos oficinas de farmacia durante los años 2012, 2013 y 2014.

4. Resultados y discusión

Las prescripciones para los pacientes de 65 años o más, contenían 654 fármacos diferentes, de los cuales 148 (22,6%) están incluidos en alguna de las listas de los criterios STOPP.

El algoritmo desarrollado permite total flexibilidad a la hora de analizar la información por paciente. A modo de ejemplo, se presenta el caso de uno de los pacientes, un varón de 71 años de edad, al que le fueron prescritos y dispensados los siguientes fármacos (Fecha_ini y Fecha_fin, fechas de inicio y final del tratamiento):

```
Fecha_ini Fecha_fin DCSA
2012-05-30 2012-07-25 7947003
2012-05-02 2012-07-25 108551001
2012-05-02 2012-07-25 109081006
2012-05-30 2012-07-25 96304005
2012-05-02 2012-07-25 108564000
2012-02-22 2012-05-16 108547003
2011-12-08 2012-02-02 398727008
2011-12-08 2012-02-02 140751000140108
2011-12-08 2012-02-02 7947003
2012-02-22 2012-05-16 398727008
```

El número de pacientes de 65 años o más fueron 2.298, de los cuales 343 (14,9%) recibieron a lo largo del tiempo dos o más fármacos que incumplen los criterios STOPP.

En un futuro inmediato, abordaremos el estudio de las posibles causas de las infracciones de los criterios STOPP.

Referencias

[1] DELGADO SILVEIRA E., MONTERO ERRASQUÍN B., MUÑOZ GARCÍA M., VÉLEZ-DÍAZ-PALLARÉS M., LOZANO MONTOYA I., SÁNCHEZ-CASTELLANO C., *et al.* Improving drug prescribing in the elderly: a new edition of STOPP/START criteria. Rev Esp Geriatr Gerontol. 2015;50(2):89-96.

[2] O'MAHONY D., O'SULLIVAN D., BYRNE S., O'CONNOR M.N., RYAN C., GALLAGHER P. STOPP/START criteria for potentially inappropriate prescribing in older people: version 2. Age Ageing. 2015;44(2):213-8.

[3] R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. https://www.r-project.org/.

[4] International Health Terminology Standards Development Organization. www.ihtsdo.org.

Folic acid-PEG-PLGA nanoconjugates can optimize the antitumour activity of 5-fluorouracil in colon and breast cancers

Mazen M. EL-HAMMADI[1,2], Ángel V. DELGADO[3], Consolación MELGUIZO[4,5], José C. PRADOS[4,5], Mª Adolfina RUIZ[1], José L. ARIAS[1,4,5]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Spain
2. Department of Pharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Damascus, Syria
3. Department of Applied Physics, Faculty of Sciences, University of Granada, Spain
4. Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), University of Granada, Spain
5. Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), Andalusian Health Service (SAS) – University of Granada, Spain

Email de contacto: jlarias@ugr.es

1. Introduction

5-fluorouracil (5-FU) is a broad spectrum cytotoxic agent that it is widely used in chemotherapy. However, 5-FU shows a number of limitations such as short half-life, non-selective biodistribution, and the development of drug resistance by tumour cells [1]. It this work we sought to synthesize a FOL-PEG-PLGA conjugate and use it to fabricate targeted NPs loaded with 5-FU for the treatment of colon and breast cancers.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Chemicals were of analytical quality and were obtained from Sigma-Aldrich Co., VWR, and Panreac. Deionized and filtered water was used in all the experiments.

2.2. Methods

2.2.1. Synthesis of the conjugate

The FOL-PEG-PLGA conjugate was synthesized in a 4-step process as previously described in the literature [2] but with some modifications [3].

2.2.2. Formulation of the NPs

NPs were produced by dissolving PLGA, PEG-PLGA, or FOL-PEG-PLGA in acetone followed by nanoprecipitation in water [3]. To select the optimal formulation, several polyvinyl alcohol (PVA) concentrations and solvent ratios were tested. Sonication conditions were also studied.

Mean particle size and zeta potential were determined using a Malvern Zetasizer (Nano-ZS, Malvern Instruments Ltd., UK). Drug loading capacity was evaluated by UV-Vis spectrophotometry (266 nm). Drug release experiments were performed at pH 7.4 (dialysis bag method).

2.2.3. In vitro proliferation studies

Cytotoxicity of blank (5-FU unloaded) NPs was investigated not only in normal human CCD-18 colon fibroblast and MCF-10A breast epithelial cells, but also in human tumour HT-29 colonic adenocarcinoma and MCF-7 breast adenocarcinoma cell lines. Quadruplicate cultures were evaluated by the MTT proliferation assay. The MTT assay was further used to define the cytotoxicity of free 5-FU and 5-FU-loaded nanoformulations against HT-29 and MCF-7 cells.

3. Results and discussion

3.1. Characterization of the NPs

Findings coming from the complete physicochemical characterization of the NPs [3] allowed

identifying the parameters for the optimal formulation of PLGA NPs (mean size: ≈180 nm). These conditions were also used to obtain PEG-PLGA NPs and FOL-PEG-PLGA NPs, being they characterized by a particle size of ≈145 nm and ≈150 nm, respectively.

3.2. Drug loading and *in vitro* drug release

As the drug amount used in the preparation of PLGA NPs was increased, the entrapment efficiency (EE) values increased up to ≈8.5% to reach a plateau at higher drug amounts. Also, the drug loading (DL) increased linearly with the amount of the drug and the maximum drug loading achieved was ≈5.5%. Similar drug incorporation results were obtained when preparing PEG-PLGA NPs and FOL-PEG-PLGA NPs.

Finally, PLGA NPs, PEG-PLGA NPs, and FOL-PEG-PLGA NPs exhibited a similar drug release profile; an initial burst release, with ≈25-30% of the drug released after 1 h, followed by a sustained, linear release over the 7-day experiment.

3.3. *In vitro* cytotoxicity experiments

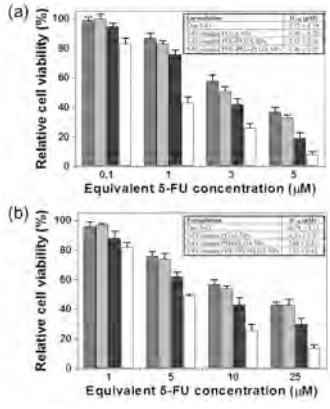


Fig. 1: Cytotoxicity of free 5-FU (grey column), 5-FU-loaded PLGA NPs (light grey column), 5-FU-loaded PEG-PLGA NPs (black column), and 5-FU-loaded FOL-PEG-PLGA NPs (white column) in HT-29 cells (a) and (b) MCF-7 cells.

Blank NPs exhibited negligible cytotoxicity in the normal and tumour cell lines at the dilutions corresponding to that of drug-loaded NPs. Regarding the cytotoxic effect of free 5-FU, and 5-FU-loaded NPs in HT-29 and MCF-7 cells (Fig. 1), they inhibited cell proliferation in a dose-dependent manner. In both cell lines, the half maximal inhibitory concentration (IC_{50}) values of 5-FU-loaded PEG-PLGA NPs and 5-FU-loaded FOL-PEG-PLGA NPs were ≈2-fold and ≈4-fold, respectively, less than that of the 5-FU-loaded PLGA NPs ($p < 0.05$), whereas the IC_{50} of 5-FU-loaded PLGA NPs was found to be similar to that of the free drug.

Cytotoxicity of 5-FU was additionally increased with the FOL-PEG-PLGA NPs. These results may be associated to an enhanced cellular uptake via folate receptor mediated endocytosis, thus avoiding 5-FU efflux by P-glycoprotein and leading to a significantly augmented effect against the folate receptor-overexpressed HT-29 and MCF-7 cells [4].

4. Conclusions

It has been reported for the first time the use of FOL-PEG-PLGA NPs as a targeted delivery system of 5-FU against colon and breast cancers. Our findings imply that the FOL-decorated and PEGylated PLGA NPs may facilitate targeted delivery of 5-FU to these malignancies.

5. Acknowledgements and funding

Financial support of the Erasmus Mundus – JOSYLEEM Program is acknowledged as is the post-doctoral fellowship to Dr. El-Hammadi. Authors gratefully acknowledge the assistance of Dr. Conejo-García (University of Granada, Spain) in the chemical syntheses of the conjugates. Research leading to these results has received funding from FEDER, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+i), Instituto de Salud Carlos III (FIS, Spain): projects PI11/01862 and PI11/02571; and from Junta de Andalucía (Spain, project PE-2012-FQM-694).

References

[1] D.B. LONGLEY *et al*. 5-fluorouracil: mechanisms of action and clinical strategies. Nat. Rev. Cancer 3, 330-338, 2003.

[2] J. CHEN *et al*. Folic acid and cell-penetrating peptide conjugated PLGA-PEG bifunctional nanoparticles for vincristine sulfate delivery. Eur. J. Pharm. Sci. 47, 430-443, 2012.

[3] M.M. EL-HAMMADI *et al*. Folic acid-decorated and PEGylated PLGA nanoparticles for improving the antitumour activity of 5-fluorouracil. Int. J. Pharm. 2016, doi: 10.1016/j.ijpharm.2016.11.012.

[4] Y. WANG *et al*. Targeted delivery of 5-fluorouracil to HT-29 cells using high efficient folic acid-conjugated nanoparticles. Drug Deliv. 22, 191-198, 2015.

Hyperthermia application of magnetic solid lipid nanoparticles

María MUÑOZ DE ESCALONA[1], Eva SÁEZ-FERNÁNDEZ[1], Ángel V. DELGADO[2], José C. PRADOS[3,4], Mª Adolfina RUIZ[1], José L. ARIAS[1,3,4]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of Granada, Spain
2. Department of Applied Physics, Faculty of Sciences, University of Granada, Spain
3. Institute of Biopathology and Regenerative Medicine (IBIMER), University of Granada, Spain
4. Biosanitary Institute of Granada (ibs.GRANADA), Andalusian Health Service (SAS) – University of Granada, Spain

Email de contacto: jlarias@ugr.es

1. Introduction

Talking about hyperthermia against cancer, nanoparticulate-based systems can help in definitively localizing the heating source, e.g. iron oxides, within the tumour tissue, while heating it by applying a high frequency alternating magnetic field [1]. Magnetic solid lipid nanoparticles (MSLNs) have been postulated in drug delivery [2] and as magnetic resonance imaging contrast agents [3], or even as theranostic agents [4]. Unfortunately, to the best of our knowledge it cannot be found a clear move toward the introduction of MSLNs in the hyperthermia arena. In this work we describe a reproducible methodology to prepare MSLNs as a versatile nanotool for hyperthermia against colon cancer.

2. Materials and methods

2.1. Materials

All chemicals were of analytical quality from Panreac, and Sigma-Aldrich Co. Water was deionized and filtered with a Milli-Q® System (Merck Millipore Co.).

2.2. Methods

2.2.1. Formulation of MSLNs

Colloidal magnetite (Fe_3O_4) was prepared by chemical co-precipitation, while SLNs were formulated by water-in-oil-in-water double emulsion/solvent evaporation. Preparation procedure of MSLNs was equal to the one used in the formulation of pure SLNs, except that the inner aqueous phase of the double emulsion contained the Fe_3O_4 nanocores (0.5%, w/v) [5].

2.2.2. Characterization methods

Mean particle size was measured by photon correlation spectroscopy (PCS). To confirm the results, the NPs were observed by environmental scanning electron microscopy (ESEM) and by high resolution transmission electron microscopy (HRTEM). Surface electrical properties of the nanosystems were investigated by electrophoresis, and a surface thermodynamic analysis of the colloids was also performed.

2.2.3. Magnetic responsive behaviour and in vitro magnetic fluid hyperthermia experiments

Magnetic properties of the MSLNs were determined at 25 ºC (Manics DSM-8 vibrating magnetometer, France). The *in vitro* heating behaviour of an aqueous dispersion of MSLNs was investigated in triplicate, using a high frequency alternating magnetic field (AMF, magnetic field frequency and intensity: 250 kHz and 4 kA/m, respectively). Finally, *in vitro* hyperthermic efficiency tests on the human HT29 colon adenocarcinoma cell line were done. Cell viability was evaluated by the MTT-based colorimetric assay [5].

3. Results and discussion

3.1. Characterization of the MSLNs

MSLNs were found to be spherical particles with mean size of ≈180 nm. Fe_3O_4 cores were found to be completely embedded into the solid lipid matrix, being the shape and surface of the MSLNs identical to that of the SLNs.

Electrokinetic data proved how similar were the electrophoretic characteristics of the SLNs and the MSLNs, and how different from that of Fe_3O_4. The investigation of the surface free energy components of the NPs allowed verifying the nature of the solid lipid shell onto the iron oxide cores. The thermodynamic analysis further demonstrated how the hydrophilic nature of the Fe_3O_4 was modified, becoming hydrophobic just like the SLNs, when covered by the solid lipid shell.

3.2. Magnetic responsiveness / hyperthermia

The magnetic responsiveness (and soft magnetic character) of the MSLNs was fully defined by their hysteresis cycle.

The *in vitro* heating behaviour of the magnetofluid is depicted in Fig. 1a. The temperature rose from 25 ºC to the minimum hyperthermia temperature (≈41 ºC, in 20 min). Then, the maximum temperature reached ≈46 ºC, that it was stabilized until the end of the experiment (1 h).

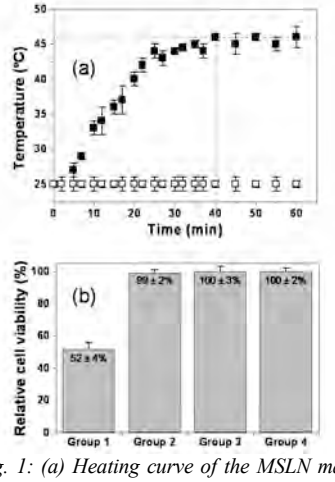


Fig. 1: (a) Heating curve of the MSLN magnetofluid (10 mg/mL, ■) exposed to a high frequency oscillating electromagnetic gradient. Data from a control formulation (i.e. aqueous medium without NPs, □) have been incorporated for comparison. (b) Hyperthermic efficacy of MSLNs on HT29 cell viability (%). Groups: 1) cells incubated in the presence of MSLNs with application of an AMF; 2) cells incubated in the presence of MSLNs without application of an AMF (control); 3) cells incubated in the absence of MSLNs with application of an AMF (control); and, 4) cells incubated in the absence of MSLNs without application of an AMF (control).

Finally, the hyperthermic efficacy of the MSLNs was investigated *in vitro* on HT29 cells (Fig. 1b). Compared to controls, results satisfactorily demonstrated that the application of the high frequency AMF to the HT29 culture incubated with the MSLNs generates a significant reduction in cell viability (up to ≈52%). Remarkably, no cytotoxic effect was observed either when the MSLNs were used alone (group *2*) or when the AMF was used alone (group *3*).

4. Conclusions

It has been developed a reproducible formulation procedure to obtain MSLNs made of Fe_3O_4 cores embedded within a glyceryl trimyristate solid matrix. They may constitute a potential candidate for therapeutic applications, i.e. hyperthermia activity into the tumour mass.

5. Acknowledgements and funding

Financial support from FEDER, Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica (I+D+i), Instituto de Salud Carlos III (FIS, Spain): projects PI11/01862 and PI11/02571; and from Junta de Andalucía (Spain, project PE-2012-FQM-694).

References

[1] S. DUTZ, R. HERGT. Magnetic particle hyperthermia – a promising tumour therapy? Nanotechnology 25, 452001, 2014.

[2] S. ZHAO *et al*. Preparation and characterization of cisplatin magnetic solid lipid nanoparticles (MSLNs): effects of loading procedures of Fe3O4 nanoparticles. Pharm. Res. 32, 482-491, 2015.

[3] E. PEIRA *et al*. In vitro and in vivo study of solid lipid nanoparticles loaded with superparamagnetic iron oxide. J. Drug Target. 11, 19-24, 2003.

[4] J. ALBUQUERQUE *et al*. Solid lipid nanoparticles: a potential multifunctional approach towards rheumatoid arthritis theranostics. Molecules 20, 11103-11118, 2015.

[5] M. MUÑOZ DE ESCALONA *et al*. Magnetic solid lipid nanoparticles in hyperthermia against colon cancer. Int. J. Pharm. 504, 11-19, 2016.

Percutaneous intramyocardial injection of microencapsulated FGF1 and NRG1 improves cardiac function in a preclinical model of ischemia-reperfusion

Elisa GARBAYO[1,2], Juan José GAVIRA[2,3], Manuel GARCÍA DE YÉBENES[2,3], Beatriz PELACHO[2,3], Gloria ABIZANDA[2,3], Hugo LANA[1,2], Felipe PRÓSPER[2,3], María BLANCO-PRIETO[1,2]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, University of Navarra, Irunlarrea s/n, Pamplona, Spain
2. Instituto de Investigación Sanitaria de Navarra (IDISNA), Irunlarrea 3, Pamplona, Spain
3. Department of Hematology, Cardiology and Cell Therapy, Clinica Universidad de Navarra and Foundation for Applied Medical Research, University of Navarra, Pio XII 36, Pamplona, Spain

Email de contacto: mjblanco@unav.es

1. Introduction

Neuregulin (NRG1) and acidic-fibroblast growth factor (FGF1) are cardiovascular proteins that require new formulation strategies for the sustained bioavailability of the drug in the infarcted myocardium [1, 2]. However, there is no FDA-approved injectable protein delivery platform due to translational concerns about biomaterial administration through cardiac catheters. The objective of this work is to evaluate the efficacy of percutaneous intramyocardial injection of poly(-lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microparticles (MPs) loaded with NRG1 and FGF1 using the NOGA Myostar injection catheter in a porcine model of ischemia-reperfusion [2].

2. Materials and Methods

NRG1 and FGF1-loaded MPs were prepared by multiple emulsion solvent-evaporation method using the Total Recirculation One-Machine System (TROMS) [2]. Particle size and size distribution were measured by laser diffractometry. FGF1/NRG1 encapsulation efficiency was quantified by western blot. Bioactivity of MP-released FGF1/NRG1 was evaluated by determining H9c2 cardiomyocyte proliferative capacity following growth factor treatment. Efficacy of NRG1-MP and FGF1-MP were investigated in a preclinical model of chronic myocardial infarction (MI) [2]. Animal experiments were approved by the Institutional Animal Care and Use Committee of the University of Navarra and performed according to the EU legislation. Ischemia-reperfusion was induced in 17 Gottingen minipigs as previously described [3]. Infarcted pigs were treated 1 week after MI with MPs containing NRG1 (200 µg), FGF1 (200 µg) or non-loaded MPs delivered via percutaneous transendocardial-injection. Cardiac function was analyzed by NOGA and echocardiography 3 months post-treatment. Animals were then sacrificed to characterize the effect of the treatment on heart tissue revascularization. Vasculogenesis was evaluated by quantifying the number and area occupied by smooth muscle-covered vessels in the infarct and peri-infarct areas using an anti-αSMA antibody.

3. Results

FGF1 and NRG1 were successfully entrapped in 7 µm PLGA MPs reaching values of encapsulation efficiency of 84 % for FGF1 and 83.5% for NRG1. Both cytokines remained bioactive after microencapsulation demonstrating that MPs allowed the maintenance of protein stability during manufacturing and release. The injection of NRG1 and FGF1-MPs was associated with a statistically significant benefit in cardiac contractility 3 months post-treatment as shown by higher fractional shortening (FS) *vs*. the control (FGF-MPs: 28.2 ± 6.1, NRG1-MPs: 27.9 ± 6.1 and Control-MPs: 19.1 ± 2.1) (Fig. 1A).

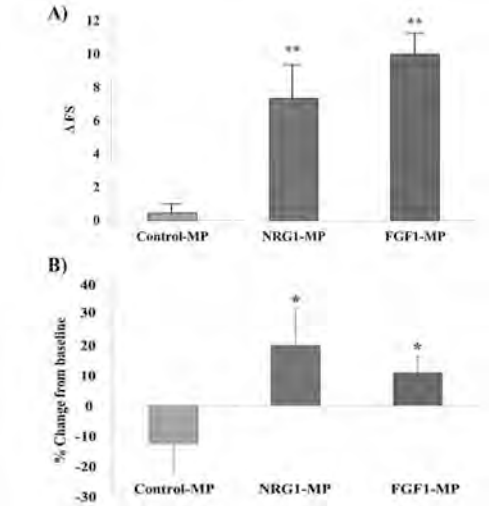


Fig. 1: FGF1 and NRG1-MPs improves cardiac function after MI in minipigs. A) Improvement in systolic function 3 months after FGF1 and NRG1 loaded MP injection measured by echocardiography. B) Bipolar changes in comparison with baseline values.

Bipolar voltage measurements at time of injection and after 3 months of treatment revealed a reduction of -12.5 ± 9.9% from baseline values in control pigs and a significant increase in NRG1-MPs (+19.8 ± 12.3 %) and FGF1-MPs (+10.7 ± 5.2 %) treated animals (Fig. 1B). Representative bipolar map changes of a NRG1-MP treated animal at baseline and before sacrifice are shown in Fig. 2.

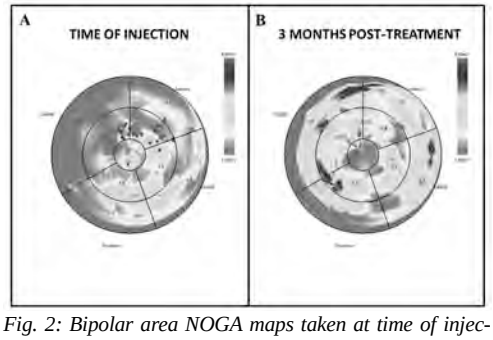


Fig. 2: Bipolar area NOGA maps taken at time of injection (A) and euthanasia (B) of a NRG1-MP treated animal. Dark dots in A represent the injection sites.

Moreover, a significant increase in vascularization was detected in the ischemic area at the arteriolar/arteries level after treatment with the microencapsulated proteins (Fig. 3). These results suggest that the developed formulations may contribute to cardiac function improvement by increasing the vasculogenesis of the infarcted tissue.

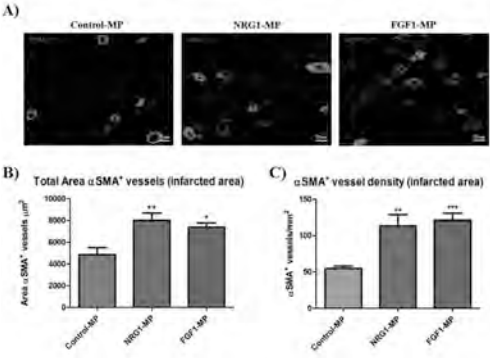


Fig. 3: FGF1 and NRG1-MPs promote heart revascularization 3 months post-treatment. (A) Representative images of the infarcted/peri-infarcted area stained with α-SMA⁺. Quantification of α-SMA total area (B) and vessel density (C) in infarcted and peri-infarcted zones.

4. Conclusions

The percutaneous intramyocardial injection of microencapsulated FGF1 and NRG1 is clinically feasible and has a therapeutic effect in a clinically relevant animal model of MI, indicating that catheter delivery of MPs might pave the way towards clinical translation of cardiac regenerative medicine for MI.

5. Acknowledgments

Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2013-42528-R), the Instituto de Salud Carlos III ISCIII-RETIC RD12/0019/0031 and the “UTE project CIMA”.

References

[1] S. PASCUAL-GIL *et al.*, “*Heart regeneration after myocardial infarction using synthetic biomaterials*” J. Control. Release, 203, 23-28, 2015.

[2] E. GARBAYO *et al.*, “*Catheter-based Intramyocardial Injection of FGF1 or NRG1-loaded MPs Improves Cardiac Function in a Preclinical Model of Ischemia-Reperfusion*” Sci. Rep. 6, 2016.

[3] J.J. GAVIRA *et al.*, “*Repeated implantation of skeletal myoblast in a swine model of chronic myocardial infarction*” Eur. Heart J. 31, 1013-21, 2010.

Comunicaciones
Formato Póster

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

Hidrogeles de quitosán entrecruzados covalentemente con tetraquis(hidroximetil)fosfonio como sistemas para la liberación de fármacos

María Teresa MARTÍNEZ-MARTÍNEZ[1], Guillermo RODRÍGUEZ BERNA[2], Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[3], Virginia MERINO[1], Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[3], Avelino CORMA[2], Marival BERMEJO[3]

1. Instituto Interuniversitario de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico, Universidad Politécnica de Valencia, Universitat de València. Dpto. Farmacia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia. Universidad de Valencia. Facultad de Farmacia. Vicente Andrés Estelles s/n, Burjassot, Valencia, España
2. Instituto Mixto de Tecnología Química. Universidad Politécnica de Valencia-Consejo Superior de Investigaciones Científicas (UPV-CSIC). Avda. de los Naranjos s/n, 46006 Valencia, España
3. Dpto. de Ingeniería. Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Miguel Hernández. Carretera Alicante-Valencia km. 87, 03550 San Juan, Alicante, España

Email de contacto: marta.gonzalez@umh.es

1. Introducción

Los hidrogeles son redes poliméricas tridimensionales capaces de captar agua e hincharse hasta el equilibrio. Pueden estar formados por polímeros naturales o sintéticos, y entrecruzarse por enlaces químicos (covalentes) o físicos. Los hidrogeles covalentes ofrecen mejores propiedades mecánicas. Se han usado distintas moléculas bifuncionales para entrecruzar los polímeros, (dialdehídos, diacrilatos diglicidil-éteres, diisocianatos, etc). Sin embargo, la mayoría son relativamente tóxicos o con un coste elevado [1].

El clorhidrato de tetraquis (hidroximetil)fosfonio (THPC), es un compuesto organofosforado hidrosoluble y relativamente económico compuesto por cuatro grupos hidroximetilos unidos a un átomo de fósforo electronegativo. Esta molécula se ha estudiado como agente entrecruzante para materiales basados en proteínas [2]. El THPC puede formar reacciones de condensación Mannich en condiciones suaves con compuestos que contienen aminas primarias y secundarias; además, debido a la tetrafuncionalización del THPC, su alta reactividad en medio acuoso y su citocompatibilidad se consideró la posibilidad de realizar la gelificación de polímeros aminados en presencia de fármacos (que no presenten aminas primarias ni secundarias en su estructura) obteniendo hidrogeles con alto grado de reticulación y alta capacidad de encapsulación de fármacos.

2. Materiales y métodos

2.1. Obtención y caracterización de los hidrogeles

Se preparó una solución de quitosán al 2% en ácido acético 0.5%, a continuación se añadieron distintos volúmenes de THPC en agitación continua del polímero a temperatura ambiente para obtener hidrogeles con distinto grado de entrecruzamiento (24, 40, 80 y 160% moles de THPC por moles de unidades repetitivas de quitosán). Se realizó la encapsulación de Camptotecina mediante la adición de dicho fármaco disuelto en *N*-metilpirrolidona a la solución del polímero y gelificación posterior por la adición de THPC a la mezcla.

Los hidrogeles se caracterizaron por análisis termogravimétrico y difracción de rayos X.

2.2. Estudio de liberación del fármaco

Se realizaron estudios de liberación de la Camptotecina en un medio con variación de pH de 1.2 (1.5 h), 4.5 (0.25 h), 6.8 (2.75 h) y 7.5 (hasta 48 h) en un agitador oscilante a 100 rpm y 37 ºC.

3. Resultados y discusión

En la Figura 1 se muestra la reacción de Mannich de los grupos hidroximetilo del THPC con las aminas del quitosán para formar el hidrogel.

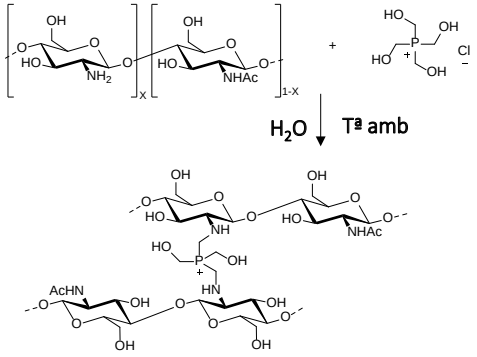


Fig. 1: Reacción de formación del hidrogel.

El análisis termogravimétrico, Figura 2 de DTG, muestra que la temperatura de máxima degradación térmica es menor cuanto mayor es el porcentaje de entrecruzamiento, por lo que se concluye que la reticulación del hidrogel disminuye la termoestabilidad.

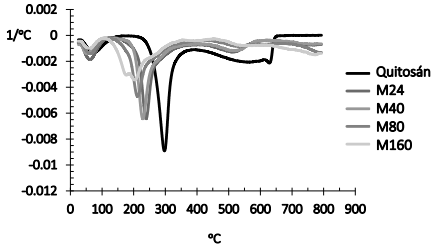


Fig. 2: DTG del quitosán y los hidrogeles.

En el difractograma de rayos X (Fig. 3) se observa una disminución de la cristalinidad del quitosán (MPM) al entrecruzar el polímero con THPC (M24 y M160) ya que aumenta el grado de amorfización en el polímero; la adición de la camptotecina (NM160-CPT) no modifica la cristalinidad del polímero entrecruzado con THPC.

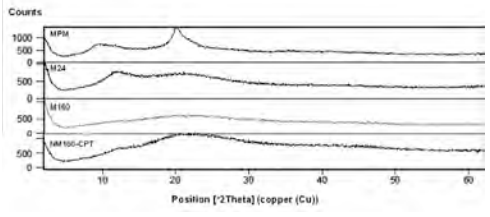


Fig. 3: Difractograma de rayos X.

En cuanto a la liberación del fármaco (Fig. 4), ésta es mayor cuanto menor es el porcentaje de entrecruzamiento del hidrogel; tras 1.5 horas a pH ácido queda un 70% de fármaco susceptible de liberación a lo largo del intestino.

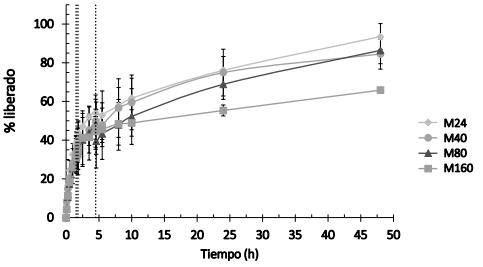


Fig. 4: Liberación de Camptotecina.

4. Conclusiones

Se ha propuesto un nuevo sistema de liberación modificada de fármacos basado en un hidrogel compuesto por quitosán y THPC; el método de formación es simple, rápido y económico. Este sistema presenta una liberación modificada del fármaco capaz de suministrar el activo terapéutico al menos durante 48 horas.

5. Agradecimientos

Beca FPU del MECD, becaria Mª Teresa Martínez Martínez.

Referencias

[1] N. BHATTARAI, J. GUNN, M. ZHANG, *"Chitosan-based hydrogels for controlled, localized drug delivery"*. Advanced Drug Delivery Reviews,62, 1, 83-99, 2010.

[2] C. CHUNG, K.J. LAMPE, S.C. HEILSHORN, *"Tetrakis(hydroxymethyl) phosphonium chloride as a covalent cross-linking agent for cell encapsulation within protein-based hydrogels"*. Biomacromolecules, 13, 12, 3912-3916, 2012.

Enfermedades raras: tres experiencias de desarrollo de formulaciones galénicas en el entorno universitario

Encarna GARCÍA MONTOYA[1,3], Laia MARCO[2], Ricard CANADELL[1], Francesc BONET[1], Anna NARDI[1], Marc SUÑÉ[1], Isaac NOFRERÍAS[1], Pilar PÉREZ[1,3], Montse MIÑARRO[1,3], Josep R. TICÓ[1,3], Josep Mª SUÑÉ NEGRE[1,3]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Físico y Química, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Avda. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona
2. Institut Josep LLuís Sert. Camí Ral de València, s/n, 08860 Castelldefells, Barcelona
3. Grupo de investigación "Farmacoterapia, Farmacogenética y Tecnología Farmacéutica" IDIBELL (UB). Avinguda Granvia, 199-203, 08908 L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona

Email de contacto: encarnagarcia@ub.edu

1. Introducción

Las enfermedades raras, también denominadas de baja prevalencia, se encuentran en el grupo de enfermedades cuyos tratamientos farmacológicos no han sido promocionados en por la industria farmacéutica por su escaso retorno económico. Debido a esta circunstancia, este vacío se presenta como un punto de interés para la Universidad en el desarrollo de nuevas líneas de investigación, con posterior comunicación a la sociedad de soluciones que ayuden en la mejora de las condiciones de vida de aquellos grupos de enfermos afectados.

Desde la Facultad de Farmacia y ciencias de la Alimentación (UB) se dispone de la ventaja de contar con el equipo humano y las instalaciones del Servicio de Desarrollo del Medicamento (SDM), una planta piloto de tecnología farmacéutica, que ofrece servicios de investigación y desarrollo de medicamentos y próximamente también se dispondrá de una planta certificada en GMP (Farmatec-UB), para la elaboración de medicamentos a pequeña escala y lotes clínicos, lo que posibilita la realización de proyectos comunes (GITER, SDM, Farmatec-UB) donde se elaborarán medicamentos a pequeña escala y biolotes para ensayos clínicos.

Por otra parte, la Facultad cuenta con un grupo de trabajo sobre investigación terapéutica de enfermedades raras (GITER). La realización de proyectos en común (GITER, Farmatec-UB, SDM) propiciará en un futuro próximo un mayor éxito en la investigación y desarrollo de medicamentos para el tratamiento de este grupo de enfermedades.

2. Materiales y métodos

Se presentan tres proyectos relacionados con los medicamentos huérfanos que se han llevado a cabo desde la Facultad de Farmacia.

3. Resultados

La Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona acumula una larga trayectoria en el ámbito de las enfermedades raras, puesto que ya en el año 2000 empezó a colaborar en el campo de los medicamentos huérfanos con el Instituto de Salud Carlos III y con la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria mediante los investigadores del grupo GITER. Esta colaboración se materializó en una página web sobre "Legislación vigente sobre medicamentos huérfanos" y además en una base de datos sobre este tipo de medicamentos. También se colaboró en estudios sobre prevalencia mediante la participación en la Red Epidemiológica para la Investigación de Enfermedades Raras (REpIER) del Instituto de Salud Carlos III y paralelamente en el proyecto europeo *EuOrphan- Service for the support of the European Orphan medicines market*. Algunos laboratorios farmacéuticos han contado con el conocimiento del grupo GITER sobre medicamentos huérfanos. Diferentes estudiantes del Grado de Farmacia han colaborado con el grupo GITER mediante estudios específicos sobre determinadas

enfermedades, así como alumnos de postgrado para la realización de tesis doctorales.

Los proyectos llevados a cabo en el SDM han sido:

1. La formulación de una suspensión de ácido ursodesoxicólico para la fibrosis quística,

2. Comprimidos para el síndrome de Rett

3. Una solución inyectable para el tratamiento de la enfermedad de Joseph Machado.

Los tres proyectos llevados a cabo se han centrado en el desarrollo de una fórmula farmacéutica y se han puesto a disposición de la industria farmacéutica, para que ésta complete las fases clínicas y el posterior registro del medicamento.

Por otra parte, el SDM ha desarrollado más de 270 proyectos y más de 300 servicios para el sector químico farmacéutico y también del sector hospitalario en diferentes aspectos relacionados con la elaboración de medicamentos:

- Desarrollo galénico: capacidad para desarrollar proyectos galénicos de investigación completos o llevar a cabo servicios concretos, disponiendo de equipos para realizar cualquier forma farmacéutica.

- Control de calidad.

Además, el SDM ofrece servicios relacionados con el registro de medicamentos tales como la preparación de la documentación e informes de experto.

Próximamente, la Facultad de Farmacia y ciencias de la Alimentación (UB) dispondrá de un centro GMP, autorizado para la fabricación de biolotes para ensayos clínicos que se integrará en la cartera de servicios actuales.

4. Conclusiones

Desde la universidad se trabaja e investiga en proyectos que generan conocimiento y un retorno a la sociedad que los gestiona. El objetivo es ampliarlo progresivamente en el futuro próximo y encontrar partners que se involucren en el proyecto.

Las dificultades más importantes de los medicamentos para enfermedades raras están relacionadas con la accesibilidad y los costes de los principios activos, los ensayos de calidad que se requieren para que el producto llegue a ser un medicamento y la limitada prevalencia de la enfermedad que hace poco rentable su abordaje por parte de la industria farmacéutica convencional.

Referencias

[1] Encarna GARCIA MONTOYA, Nuria CIVIT, Josep María SUÑÉ NEGRE, Francesc BONET CLOLS, Elvira BEL PRIETO, Pilar PEREZ LOZANO, JRamon TICO, Montse MIÑARRO. Comunicación póster. *"Drugs and rare diseases: could they be developed at universities?"*. XXXIV Congreso de la Sociedad Española de Farmacología - San Pedro del Pinatar (Murcia) 2013.

[2] Encarna GARCÍA MONTOYA, Ricard CANADELL, Manel ROIG, Francesc BONET, Elvira BEL, Josep María SUÑÉ NEGRE. Comunicación póster. *"Desarrollo de medicamentos para enfermedades raras de baja prevalencia y perspectivas de futuro"*. 35 SYMPOSIUM AEFI. Barcelona. 2015.

Bioactividad de ciprofloxacino incorporado en cementos destinados para la fijación ósea

Javier MARTÍNEZ-MORENO[1,2,3], Virginia MERINO[1,2], Amparo NÁCHER[1,2], José Luis RODRIGO[3], Matilde MERINO-SANJUÁN[1,2]

1. Instituto Interuniversitario de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico, Universidad Politécnica de Valencia, Universitat de València
2. Departament de Farmacia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Universitat de Valencia Avda Vicente Andrés Estelles s/n, 46100 Burjassot, Valencia
3. Hospital Universitario Doctor Peset de Valencia, Spain

Email de contacto: javigarvi@gmail.com

1. Introducción

El cemento óseo destinado a la fijación de prótesis articulares cargado con antibiótico, es una alternativa terapéutica bien establecida en la práctica asistencial para la profilaxis o el tratamiento de las infecciones periprotésicas. En la actualidad, únicamente se dispone de combinaciones comerciales de cemento óseo con los antibióticos gentamicina y clindamicina. Este hecho limita las alternativas de tratamiento, ya que más del 50% de las infecciones periprotésicas son causadas por microorganismos Gram-positivos, en general de sensibilidad limitada a estos antibióticos. Ciprofloxacino, es una fluoroquinolona sintética que se puede administrar con seguridad y eficacia para el tratamiento de la mayoría de los aislados asociados con la infección periprotésica y osteomielitis crónica.

Los objetivos de este estudio fueron caracterizar la liberación de ciprofloxacino *in vitro* incorporado a cementos óseos en proporciones utilizadas para la profilaxis y el tratamiento de infecciones periprotésicas y analizar la bioactividad *in vitro* e *in silico*.

2. Material y métodos

Se prepararon mezclas del cemento poliacrílico Palacos® con ciprofloxacino en las proporciones utilizadas para la profilaxis antibiótica (40:1) y para el tratamiento de infecciones periprotésicas diagnosticadas (40:4). Los estudios de liberación del antibiótico se realizaron en tampón fosfatos (pH=7,4) durante 48 horas a 37ºC, manteniendo las muestras en celdas sometidas a flujo continuo. La determinación de ciprofloxacino se realizó por HPLC con detector UV(λ=254nm).

La Figura 1 muestra el modelo farmacocinético utilizado para simular las concentraciones de antibiótico en la zona del implante en 1000 pacientes utilizando NONMEM VII. Las concentraciones liberadas simuladas a los tiempos seleccionados se utilizaron para evaluar la bioactividad *in silico* utilizando como referencia valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de los microorganismos *S. aureus, S. epidermidis, P. aeruginosa* y *E. Coli.*

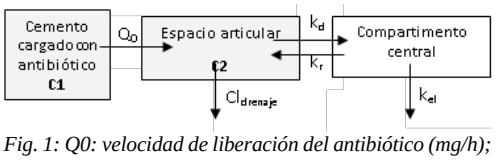


Fig. 1: Q0: velocidad de liberación del antibiótico (mg/h); Cl drenaje: aclaramiento local de antibiótico debido al drenaje de la herida (mL/h); kd (h-1): constante de velocidad de distribución desde el espacio articular al compartimento central; kr (h-1): constante de velocidad de retorno del antibiótico desde el compartimento central al espacio articular; Kel (h-1): constante de eliminación corporal del antibiótico.

Para evaluar la bioactividad de las mezclas *in vitro* se utilizó el método del recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) y la medición del halo de inhibición. Las dos pruebas se han ensayado con los microrganismos indicados en el cálculo de la bioactividad *in silico*.

3. Resultados

La cantidad de ciprofloxacino liberado transcurridas 48 horas desde el inicio del ensayo a partir de las mezclas que contienen la proporción (40:4) es un 568% superior a la cantidad de antibiótico liberada a partir de las mezclas de proporción (40:1) ($p<0,05$).

La Figura 2 muestra las concentraciones de antibiótico en el lugar del implante, obtenidas en el ejercicio de simulación farmacocinética (96 horas post intervención quirúrgica).

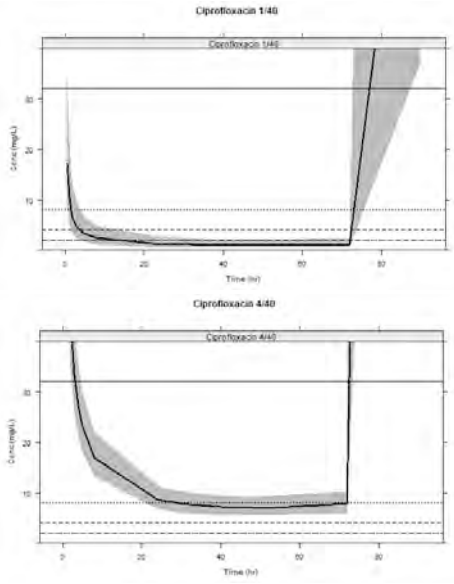


Fig. 2: Concentración de ciprofloxacino simulada en el espacio articular (línea continua) e intervalo de confianza del 90% (zona sombreada). Las líneas horizontales muestran los valores de la CMI (S. aureus=32mg/L, S.epidermidis=8mg/L, E. Coli=2mg/L y P. aeruginosa=4mg/L).

En la Tabla 1 se muestra el halo de inhibición producido por los microorganismos.

Proporción 40:1			**Bacteria**	**Proporción 40:4**		
Halo de inhibición (mm)				Halo de inhibición (mm)		
D:1	D:2	D:3		D:1	D:2	D:3
36	35	30	S. aureus	44	39	31
24	15	R	S. epidermidis	34	30	26
50	46	42	E. coli	60	50	45
45	35	38	Ps. aeruginosa	53	40	39

Tabla 1: Resultados del halo de inhibición expresado en milímetros (mm.). D: día.

En el estudio de bioactividad *in vitro* únicamente hubo crecimiento de colonias en el cultivo de *P. aeruginosa* (100.000 y 10.000 UFC proliferaron cuando se utilizaron las muestras que contenían ciprofloxacino en las proporciones 40:1 y 40:4) y *S epidermidis* (10.000 UFC proliferaron con la mezcla 40:1).

4. Discusión

El ejercicio de simulación indica que la menor concentración de ciprofloxacino se obtendría a las 72 horas post-cirugía; a partir de este momento, el 100% de pacientes presentaría concentraciones en espacio articular superiores a la CMI de los microorganismos considerados.

El recuento de UFC y el resultado de los halos de inhibición, mostraron algunas diferencias. Ciprofloxacino no fue activo contra *P. aeruginosa* cuando se evaluó mediante el método de inmersión, pero sí lo fue cuando se evaluó mediante la prueba del halo de inhibición (dimensión del halo entre 35 y 53 mm; Tabla 1). Este hecho podría ser debido a la capacidad del microorganismo *P. aeruginosa* de crear películas adheridas a la superficie (*biofilms*), gracias a la cápsula de alginato que posee [1, 2]. En medio líquido la bacteria podría desarrollar esta película durante las primeras horas de contacto y los poros del cemento quedarían tapizados, limitando la elución del antibiótico y facilitando la resistencia del microorganismo evaluada mediante el método de UFC.

5. Conclusiones

La bioactividad durante las primeras 72 horas post-cirugía, es dependiente de la sensibilidad del microorganismo, aumentando sustancialmente tras la retirada del drenaje. Es posible que la formación de biopelículas por *P. aeruginosa* sea la causa que limite la actividad antimicrobiana del ciprofloxacino para este microorganismo.

Referencias

[1] KIRISITS M.J., PROST L., STARKEY M., PARSEK M.R. Characterization of colony morphology variants isolated from Pseudomonas aeruginosa biofilms. Applied and environmental microbiology. 2005;71(8): 4809-21.

[2] NEUT D., HENDRIKS J.G., VAN HORN J.R., VAN DER MEI H.C., BUSSCHER H.J. Pseudomonas aeruginosa biofilm formation and slime excretion on antibiotic-loaded bone cement. Acta Orthop. 2005;76(1): 109-14.

Aplicación de la plataforma Wikipedia en la asignatura de Legislación y Deontología Farmacéutica del Grado en Farmacia

Carmen GUTIÉRREZ MILLÁN, Mª José DE JESÚS VALLE, Aránzazu ZARZUELO CASTAÑEDA

Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Dpto. de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca. Licenciado Méndez s/n, 37007 Salamanca

Email de contacto: carmengutierrez@usal.es

1. Introducción

En el marco actual de la docencia universitaria, el Espacio Europeo de Educación Superior exige poner un mayor énfasis en el trabajo autónomo del alumno que en el modelo anterior. Esto ha llevado al profesorado, en los últimos años, a buscar nuevas metodologías más enfocadas en la labor del alumno dentro del proceso de enseñanza-aprendizaje y a explorar estrategias que permitan implementar de una manera diferente y más atractiva estas actividades, que de otra manera pueden ser percibidas por el alumno como un exceso de carga de trabajo. Con este objetivo se han aplicado diversas herramientas, entre ellas aquéllas basadas en la denominada Web 2.0, en la que el usuario no es un mero receptor de información si no que adopta un papel activo en la generación de la misma. Las ventajas que nos ofrecen las características de este nuevo concepto 2.0 se han aplicado en diversas experiencias educativas [1]. De entre las más usadas se encuentran las herramientas tipo Wiki, en las que el propio usuario participa en la construcción de contenidos de forma colaborativa [2]. En este caso, se ha elegido Wikipedia por ser sin duda las más popular, extendida y accesible de las herramientas tipo wiki.

2. Material y métodos

La actividad se ha realizado con alumnos voluntarios de la asignatura de *Legislación y Deontología Farmacéutica* desde el curso 2012-13 al curso 2015-16. Se ha realizado con los alumnos un trabajo práctico consistente en la edición de contenidos en Wikipedia de aspectos relacionados con el marco regulatorio de los medicamentos. Se les permitió escoger el tema del artículo de Wikipedia a crear o mejorar y se les impartieron talleres prácticos de aprendizaje de código wiki para conocer cómo editar los contenidos. Para la evaluación de la actividad se tuvo en cuenta tanto los resultados de aprendizaje de los alumnos participantes como la información obtenida a partir de una encuesta inicial acerca de sus conocimientos previos sobre Wikipedia y expectativas de la actividad, y de una encuesta final de satisfacción.

3. Resultados y discusión

Una vez finalizada la actividad, en función de los resultados obtenidos por los alumnos, se ha observado una mayor motivación en la asignatura por parte de aquellos alumnos participantes en la actividad, que a su vez consiguieron mejores resultados en la calificación de la misma. Desde el punto de vista del alumnado, las encuestas arrojan una visión bastante satisfactoria, ya que los resultados de las encuestas en las sucesivas ediciones han sido positivos, tal y como se refleja en la Figura 1. Teniendo en cuenta que el valor 5 corresponde a *Completamente de acuerdo* con la afirmación del ítem correspondiente de la encuesta, se observa una predominancia de valoraciones positivas, ya que la media de sus valoraciones a lo largo de los años es 3.9, siendo especialmente alta en los ítems relacionados con el atractivo de la actividad ("*Encuentro positiva la utilización de actividades innovadoras distintas a la forma clásica para el aprendizaje de contenidos relacionados con la asignatura*" y "*Me ha gustado participar como iguales en un proyecto global a gran escala como es Wikipedia*").

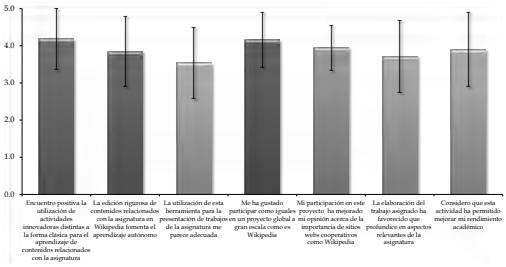


Fig. 1: Valores medios y desviación estándar de la valoración de los distintos ítems de la encuesta de satisfacción con la actividad.

Otro aspecto especialmente positivo de este tipo de actividades es el hecho de que el resultado del trabajo de los alumnos no se reduce al aula, sino que redunda en toda la sociedad, ya que queda a disposición de todo aquél que consulte la plataforma en el futuro.

Respecto a esto, hay que tener en cuenta que a pesar de las múltiples bondades que se esgrimen acerca de la creación colaborativa del conocimiento en Wikipedia, una de sus mayores debilidades es el hecho de cualquiera puede editar los contenidos, lo que conlleva un importante riesgo de que éstos sean erróneos o incompletos [3]. Es por ello que la edición de contenidos por parte de estudiantes conocedores del tema y a su vez supervisados por un profesor, resulta especialmente ventajoso, tanto desde el punto de vista de los participantes en la actividad (alumnos y profesores que evalúan la adquisición de competencias) como de la sociedad, que recibe información fiable de fuentes contrastadas.

4. Conclusiones

La actividad en su conjunto ha resultado positiva y satisfactoria tanto para profesores como para alumnos. Los resultados obtenidos revelan el interés de implementar nuevas actividades en las diversas asignaturas, en vista de los resultados de aprendizaje observados por el profesorado, así como la buena aceptación que ha tenido la actividad entre los estudiantes.

Por otro lado, desde el punto de vista de la comunidad, también resulta muy positivo, ya que las sucesivas ediciones de esta actividad están permitiendo crear una serie de contenidos acerca de distintos aspectos de la asignatura *Legislación y Deontología Farmacéutica*, de manera que Wikipedia constituya una fuente de información contrastada y fiable en lo relacionado con la normativa reguladora del medicamento.

5. Agradecimientos

Esta actividad ha sido llevada a cabo con la financiación de la Universidad de Salamanca en sucesivas ediciones de sus planes de innovación y mejora docente (Proyectos ID2012/317, ID2013/241, ID2014/0289 e ID2015/0256).

Referencias

[1] Maged N. KAMEL BOULOS, Inocencio MARAMBA, Steve WHEELER, *Wikis, blogs and podcasts: a new generation of Web-based tools for virtual collaborative clinical practice and education*, BMC Medical Education, 6, 41, 2006.

[2] April D. MILLER, LeAnn B. NORRIS, P. BRANDON BOOKSTAVER, *Use of wikis in pharmacy hybrid elective courses*, Currents in Pharmacy Teaching and Learning, 4, 256, 2012.

[3] Stacey M. LAVSA, Shelby L. CORMAN, Colleen M. CULLEY, Tara L. PUMMER, *Reliability of Wikipedia as a medication information source for pharmacy students*, Currents in Pharmacy Teaching and Learning, 3, 154, 2011.

Application of SeDeM Diagram as quality control tool: Reproducibility study of three Emcompress® batches

Isaac NOFRERIAS ROIG[1], Anna NARDI RICART[1], Marc SUÑÉ-POU[1], Josep Ramón TICÓ GRAU[1,2], Montserrat MIÑARRO CARMONA[1,2], Josep María SUÑÉ-NEGRE[1,2]

1. Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physical Chemistry Department, Faculty of Pharmacy, University of Barcelona, Joan XXIII 27-32, 08028 Barcelona, Spain
2. Pharmacotherapy, Pharmacogenetics and Pharmaceutical Technology Research Group, IDIBELL-UB, Duran i Reynals Hospital, 3a level, Gran Via de l'Hospitalet 199, 08908 Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain

Email de contacto: isaac.roig@gmail.com

1. Introduction

The SeDeM Methodology is a galenic method applicable in tablet-formulation studies. It characterizes and provides information about powdery substances, excipients as well as principle actives. This characterization indicates the suitability to which substances can be successfully compressed by direct-compression technology. In this study, the SeDeM Method is applied to study the reproducibility of a powder manufacturing process [1-4].

Emcompress® are calcium phosphates manufactured by JRS Pharma. Calcium phosphates are water insoluble fillers excipients for wet granulation and direct compression [5,6]. As filler, it tends to be in high amounts in the formulations, therefore a not reproducible manufacturing could have critical consequences in the final formula behavior.

The aim of this study is to characterize three different batches of Emcompress® with SeDeM methodology and determine, statistically, their Confidence Intervals in order to know if the manufacturing technique is reproducible.

2. Material and Methods

2.1. Materials

Three Emcompress® manufactured by JRS Pharma, batches: 15B-063, 15C-093 and 15D-108.

2.2. Methods

The SeDeM methodology was performed to evaluate and compare the three batches of Emcompress®. The average of each incidence mean and index was calculated as well as its standard deviation and its Coeficient of Variation. The Mean and the Confidence Intervals were calculated for each parameter.

3. Results and discussion

The Incidence means values obtained for each batch, their average and their standard deviations are shown in Table 1. The SeDeM diagrams obtained are illustrated in Figure 1. The mean obtained for each parameter and their Confidence Intervals are shown in Table 2.

	INCIDENCE MEANS					INDEXs		
Batch	Dimensions	Compresibility	Flow ability	Estability/ Lubricity	Dosage/ Lubricity	PI	IFP	IGC
15B-063	10	3,65	7,80	7,42	8,23	0,75	7,08	6,74
15C-093	9,96	3,52	7,98	7,22	6,64	0,67	6,84	6,51
15D-108	9,96	3,91	7,95	6,86	6,54	0,67	6,86	6,53
Mean	**9,97**	**3,69**	**7,91**	**7,17**	**7,14**	**0,70**	**6,93**	**6,59**
SD	0,02	0,20	0,10	0,28	0,95	0,05	0,13	0,13
CV	0,23	5,38	1,22	3,96	13,29	6,63	1,92	1,93

Table 1: Means values for each batch, their averages, SDs and CVs

Emcompress® average diagram (see Fig. 1) indicates it is a really suitable excipient to be compressed by means of direct compression.

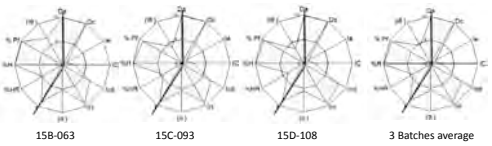


Fig. 1: SeDeM Diagrams

It displays an Index of Good Compression (IGC) of 6.60 and a Parametric Index (PI) of 0.67. It has excellent dimensions (9.99). It stands out with the Flowabilty value (7.91) because it displays an excellent value for Flow time (9.02) and Hausner Index (9.29). Besides, the values obtained for the Lubricity/Stability and Dosage/Lubricity means are also good (7.17 and 7.04 respectively). Its compressibility is the unique incidence mean which does not reach the acceptable value of 5.00. Although it shows a good cohesion (7.54), its Carr's Index and its Airiness Index are deficient. However, this deficiency is easily solvable in combination of another filler binder which displays good compressibility.

If we have a look at the Standard Deviations obtained for each incidence mean (see Table 1), we can see that the greatest standard deviation is smaller than 0.3, except the standard deviation for "Lubricity/dosage" (0.95). The greatest deviation is observed in the Homogeneity Index. Actually, if a powder is not homogenous, the sample taken to analyze its homogeneity has not always the same composition. That is to say, no homogenous sample has more dissimilar results for Homogeneity Index than homogenous one.

Parameter	Mean (Confidence Interval 95%)	Standard deviation (Confidence Interval 95%)
Bulk Density (g/cm³)	0.9975 ± 0.01283	[0.0076;0.0299]
Tapped Density (g/cm³)	1.1405 ± 0.0224	[0.0133;0.0522]
Airiness Index	0.1257 ± 0.0143	[0.0030;0.0363]
Carr's Index (%)	12.5556± 1.6005	[0.3355;4.0491]
Cohesion Index (N)	146.000± 13.539	[17.8992;38.5572]
Hausner's Index	1.4333 ± 0.0207	[0.0043;0.0523]
Repose Angle (º)	22.8812± 1.2400	[0.7376;2.8980]
Flow Time (s)	1.9622 ± 0.1282	[0.1127;0.3195]
Relative Humidity (%)	5.6528 ± 0.7689	[0.4573;1.7970]
Hygroscopicity (%)	0.0237 ± 0.0809	[0.0170;0.2048]
Fine Particles (%)	2.0783 ± 3.8991	[-1.8208;5.9774]
Homogeneity Index	0.0094 ± 0.0081	[0.0012;0.0175]

Table 2: Parameter's means and CIs.

The Confidence Intervals obtained for each parameter (see Table 2), indicates, in a 95% of cases, the differences between the batches have no critical influences on the powder characteristics. In this way, the manufacturing technique applied by JRS Pharma in Emcompress® manufacturing is reproducible and produces no critical differences between batches.

4. Conclusions

Regarding the results obtained we can conclude the next statements:

- Emcompress is a really suitable excipient for direct compression although its compressibility is improvable.
- JRS Pharma manufacturing technique for Emcompress® is reliable and reproducible and it has been demonstrate statistically with 95% of confidence.
- SeDeM diagram can be used accurately as a Quality Control tool for pharmaceutical excipients.

5. Acknowledgements

JRS Pharma supplied the three batches of Emcompress®. However, the author declares that there is no conflict of interests.

References

[1] SUÑÉ NEGRE J.M., ROIG CARRERAS M., FUSTER GARCÍA R., HERNÁNDEZ PÉREZ C., RUHÍ ROURA R., GARCÍA MONTOYA E., *et al*. Nueva metodología de preformulación galénica para la caracterización de sustancias en relación a su viabilidad para la compresión: Diagrama SeDeM. Cienc tecnol pharm. 2005: 125-36.

[2] PÉREZ P., SUÑÉ-NEGRE J.M., MIÑARRO M., ROIG M., FUSTER R., GARCÍA-MONTOYA E., *et al.* A new expert systems (SeDeM Diagram) for control batch powder formulation and preformulation drug products. Eur J Pharm Biopharm. 2006;64(3):351-9.

[3] AGUILAR J.E., MONTOYA E.G., LOZANO P.P., NEGRE J.M.S., CARMONA M.M., GRAU J.R.T. 6 - New SeDeM-ODT expert system: an expert system for formulation of orodispersible tablets obtained by direct compression. Formulation Tools for Pharmaceutical Development. 2013; 137-154 p.

[4] SUÑÉ-NEGRE J.M., ROIG M., FUSTER R., HERNÁNDEZ C., RUHÍ R., GARCÍA-MONTOYA E., *et al*. New classification of directly compressible (DC) excipients in function of the SeDeM Diagarm Expert System. Int J Pharm. 2014 Aug 15;470 (1-2):15-27.

[5] ROWE R.C., SHESKEY P.J., QUINN M.E. Handbook of Pharmaceutical Excipients. 6 th editi. London: The Pharmaceutical Press; 2009.

[6] JRS Pharma. JRS PHARMA FAMILY[Internet].[cited 2016 Jul 16]. Available from: http://www.jrspharma.com/pharma_en/productsservices/excipients/binders.php.

Síntesis y caracterización de nanopartículas quitosano/albúmina funcionalizadas con fólico para la vehiculización de Doxorrubicina

Nuria MONTERO PASTOR[1], Elena PÉREZ IZQUIERDO[2], Ana MARTÍNEZ RELIMPIO[3], César TEIJÓN LÓPEZ[4], Rosa OLMO LÓPEZ[1], Mª Dolores BLANCO GAITÁN[1]

1. Dpto. Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, UCM, Madrid, España
2. Dpto. Faramacia y Biotecnología, Facultad Ciencias Biomédicas, Universidad Europea, Madrid, España
3. Dpto. de Farmacia, Facultad de CC. Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid, España
4. Dpto. Enfermería, Facultad de Enfermería, UCM, Madrid, España

Email de contacto: nmpastor@estumail.ucm.es

1. Introducción

El cáncer es una de las principales causas de muerte en la actualidad. A día de hoy existen diversos tratamientos siendo la quimioterapia la forma de tratamiento más extendida. El tratamiento quimioterapéutico convencional presenta diversos efectos adversos [1] que pueden ser minimizados con el empleo de un tratamiento más eficaz, basado en el uso de sistemas de liberación controlada, capaces de encapsular fármacos antineoplásicos, como la Doxorrubicina, y aumentar su biodisponibilidad.

La evolución de la nanomedicina ha hecho posible el diseño de nuevos sistemas a escala nanométrica capaces de llegar a su diana de acción y quedar retenidos gracias al efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR) característica de los tumores sólidos. Las nanopartículas basadas en polímeros naturales, como el quitosano y la albúmina, son una estrategia prometedora debido a su biocompatibilidad y capacidad de biodegradación.

Adicionalmente, la unión de ligandos específicos, como el ácido fólico, a la superficie de las partículas permite la vehiculización activa del fármaco y, por tanto, reducir la dosis del tratamiento [3]

2. Materiales y métodos

Se sintetizaron tres composiciones de nanopartículas diferentes (Tabla 1) variando la composición de quitosano (C) (2% m/v en HCl 0.5 M) y albúmina (A) (1% m/v en HCl 0.5 M). La síntesis se realizó mediante entrecruzamiento iónico de ambos compuestos, empleando el tripolifosfato sódico (TPP) como entrecruzante.

Composición	Porcentaje quitosano (2% m/v)	Porcentaje albúmina (1% m/v)
C20/A80	20	80
C50/A50	50	50
C80/A20	80	20

Tabla 1: Cantidad de quitosano y albúmina empleadas en la síntesis de los nanosistemas

Tras la síntesis se realizó la unión del fólico dos pasos: la activación del ácido fólico mediante la formación de un enlace éster (NHS-fólico) y la conjugación del ácido fólico a las partículas.

El tamaño y la morfología de las nanopartículas se estudiaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). Además, se evaluó el diámetro de las nanopartículas por Dispersión de Luz Quasielástica (DLS) y el potencial Z.

La estabilidad térmica de estos sistemas se evaluó mediante termogravimetría (TGA).

La cuantificación de la DOX incorporada en las nanopartículas se realizó mediante espectroscopía de absorción (λ=470 nm). La liberación del fármaco se llevó a cabo en tampón PBS a pH 7,4 a 37ºC en oscuridad. El fármaco se cuantificó por fluorescencia.

Se realizaron dos estudios de viabilidad celular tanto de las nanopartículas funcionalizadas con fólico como sin funcionalizar en tres líneas celulares diferentes (MCF7, HeLa y T47D). En el primer estudio de viabilidad celular se realizó una curva dosis-respuesta de las diferentes composiciones de los sistemas después de 24 horas de incubación. El segundo estudio consistió en la evaluación de la viabilidad celular variando el tiempo de incubación.

3. Resultados y discusión

Los resultados obtenidos por TEM mostraron para todas las composiciones una morfología esférica y un tamaño nanométrico comprendido entre 8,9 ± 1,8 nm y 34,6 ± 5,4 nm (Fig. 1) Tanto la morfología como el tamaño son características que les convierten en buenos sistemas de liberación controlada.

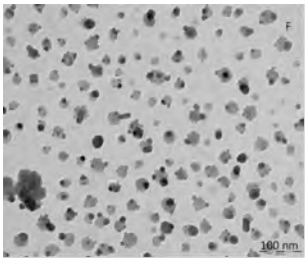


Fig. 1: Imágenes obtenidas mediante microscopía de transmisión electrónica de las nanopartículas C50/A50-DOX

Los valores de potencial Z son positivos y decrecen con la inclusión del fármaco.

Las curvas de degradación térmica de los materiales modificados y las nanopartículas, confirmaron su estabilidad térmica a elevadas temperaturas y, por tanto, a temperaturas fisiológicas. La presencia del fármaco no modificó el perfil termogravimétrico de estas nanopartículas. Los perfiles de degradación térmica fueron diferentes a los de los materiales de partida.

La eficiencia de encapsulación del fármaco en las nanopartículas estaba comprendida entre un 34 % (5.2 ± 1.8 µg DOX/mg NP) y un 81 % (12.11 ± 0.99 µg DOX/mg NP), donde el máximo de incorporación de fármaco correspondía a la composición C50/A50-fólico y el mínimo a la composición C20/A80 sin funcionalizar.

Los ensayos de liberación *in vitro* mostraron la presencia de un efecto *burst* en los primeros 25 minutos, con un máximo de liberación de 50,32% en la composición C50/A50-fol-DOX. La liberación del contenido total del fármaco se produjo entre las 22,5 horas y las 47 horas.

Por último, los ensayos de viabilidad celular demostraron que las nanopartículas sin fármaco C20/A80 y C50/A50 eran biocompatibles, incluso a elevadas concentraciones, no así la composición C80/A20. En todas las composiciones se observó que el fármaco incorporado en las nanopartículas tenía el mismo efecto que el fármaco en disolución, comprobándose la efectividad de las nanopartículas que encapsulan el fármaco.

4. Conclusiones

Las nanopartículas sintetizadas en este trabajo mostraron características físico-químicas adecuadas para su empleo como sistemas de liberación controlada, una morfología esférica y un tamaño nanométrico que permiten su extravasación en los tumores, además de la capacidad de incorporar DOX como fármaco antineoplásico y su liberación a lo largo del tiempo.

5. Agradecimientos

Proyecto Grupo consolidado UCM 920613 (Ref GR3/14).

Referencias

[1] https://www.aecc.es.

[2] N. GRIMALDI, F. ANDRADE, N. SEGOVIA, L. FERRER-TASIES, S. SALA, J. VECIANA, N. VENTOSA, *"Lipid-based nanovesicles for nanomedicine"*, Chemical Society Reviews, 2016.

[3] A. MARTÍNEZ, M. BENITO-MIGUEL, I. IGLESIAS,1 J. M. TEIJÓN, M. D. BLANCO, *"Tamoxifen-loaded thiolated alginate-albumin nanoparticles as antitumoral drug delivery systems"*, Journal of Biomedical Materials Research Part A, vol. 100, n. 6, pp. 1467-1476, 2012.

Empresas Farmacéuticas colaboran con la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona

Eugènia PUJOL, Carmen ESCOLANO, Encarna GARCÍA-MONTOYA, Mercè PALLÀS, Santiago VÁZQUEZ

Decanato Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, 08028 Barcelona

Email de contacto: encarnagarcia@ub.edu

1. Introducción

El Grado de Farmacia goza de una gran demanda por parte de los estudiantes debido a que implica a una formación de amplio espectro. Esta vasta formación permite al estudiante del Grado de Farmacia poder acceder a sectores que van desde el ámbito asistencial, en caso de profesionales de oficinas de farmacia y hospitales, el desarrollo de la profesión en empresas del sector químico-farmacéutico, el área docente en enseñanza media o universitaria, la investigación en centros públicos y privados, etc.

La inquietud por hacer que el grado esté actualizado en conocimientos es uno de los ejes que comparten los profesores de la Facultad de Farmacia.

En este marco, la necesidad de realizar acciones dentro del Grado de Farmacia que acerquen el mundo profesional a los estudiantes ha hecho que, desde el año 2012, se hayan formalizado una serie de actividades orientadas a satisfacer tal fin.

Así, se han celebrado una serie de work-shops en los que profesionales de empresas químico-farmacéuticas visitan la Facultad y realizan exposiciones en las que explican a los estudiantes las actividades profesionales que desarrollan en sus empresas.

2. Material y métodos

Tratamiento estadístico de los datos recogidos, mediante el programa Google Drive, de la encuesta de satisfacción voluntaria a 85 asistentes de los 181 al work-shop Galenicum-University Joins Industry de mayo de 2016.

Programa de la tercera edición

Pharma Presentation (Galenicum Health), Research and Development (Uriach), Project Management (Almirall), Tech Transfer (Synthon), Regulatory Affairs (Galenicum Health), Quality Assurance (Laboratorios Salvat), Business Development (Galenicum Health), Clinical Trials/ Drug Safety (Esteve), Intellectual Property (Grupo Ferrer) y Manufacturing (Kern).

Fig. 1: Cartel de difusión.

3. Resultados y discusión

Datos representativos obtenidos del estudio

La mayoría de los estudiantes que asisten al work-shop (88%) se encuentran en tercer y cuarto curso del Grado de Farmacia.

- El canal por el que los estudiantes han recibido la información del work-shop es mayoritariamente a

través del Fórum de los estudiantes de la Facultad.

- El 58% de los estudiantes han asistido a un número elevado de sesiones (7-11), lo cual es indicativo del interés de la sesión para los estudiantes.

- Las sesiones que despertaron más interés entre los asistentes fueron Bussiness Development, Project Management y Research and Development.

- Los encuestados consideran en un elevado porcentaje 56% que la actividad es muy interesante y en un 40% que es interesante.

- El 94% opina que la información recibida en el work-shop es útil o muy útil para su futuro profesional.

- El 88% de los asistentes opinan que la duración de las sesiones es adecuada.

- Las encuestas revelan que el 88% creen que la organización del work-shop ha sido buena o muy buena.

4. Conclusión

La actividad está muy bien valorada a distintos niveles por los asistentes como indican los resultados de la encuesta de satisfacción. Los profesionales de la industria están muy satisfechos con su contribución a la formación de los futuros graduados en Farmacia y el equipo decanal considera como prioritaria dentro de sus actividades de ocupabilidad la sesión Galenicum-University Joints Industry.

5. Agradecimientos

La iniciativa de los laboratorios Galenicum y el patrocinio de los diferentes work-shops en la Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona se agradecen por parte del equipo decanal y personas implicadas en la acción de ocupabilidad de la Facultad de Farmacia.

Referencias

[1] Carmen ESCOLANO, Encarna GARCÍA, Mercè PALLÀS, Montserrat MIÑARRO, Santiago VÁZQUEZ, Anna MARQUÉS, Anna LLUCH. *Passport to a profession in the degree of Pharmacy: How to integrate university students into the real world of work.* University Industry Innovation Network, Good Practice Series, 2014, 59-74. ISBN: 978-94-91901-07.

[2] Carmen ESCOLANO, Encarna GARCÍA, Mercè PALLÀS, Montserrat MIÑARRO, Santiago VÁZQUEZ, Anna MARQUÉS, Anna Lluch. *Pasaporte a la profesión en el grado de Farmacia.* REIRE Revista d'innovació i recerca en Innovació, 2015, Vol. 8. No. 1, 1-16. doi:10.1344/reire.

[3] Nombre de la página web o fuente en internet, https://www.ub.edu/portal/web/farmacia/graus/-/ensenyament/detallEnsenyament/483731/25. Creada y actualizada por los autores.

Análisis de la aplicabilidad de los criterios STOPP/START en pacientes mayores pluripatológicos ingresados en un hospital sociosanitario

Julia HERNÁNDEZ MARTÍN[1], Juan PERIS MARTÍ[2], Virginia MERINO[3], Matilde MERINO SANJUÁN[3]

1. Servicio de Farmacia. Hospital San José. Teruel, España
2. RPMD La Cañada. Valencia, España
3. Instituto Interuniversitario Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología de la Universidad de Valencia. Valencia, España

Email de contacto: Matilde.Merino@uv.es

1. Introducción

Las personas de edad avanzada son proclives a sufrir prescripciones potencialmente inadecuadas (PPI) [1]. Para reducirlas existen diversas herramientas. Entre ellas, los criterios STOPP/START [2], un listado de 65 tratamientos potencialmente inadecuados (STOPP) y otro con medicamentos que deberían iniciarse (START).

Por otra parte, se ha visto que las actuaciones farmacéuticas ayudan a disminuir el número de PPI [3].

El objetivo de este trabajo es analizar la aplicabilidad de los criterios STOPP/START como herramienta para la identificación de pacientes con PPI durante la validación farmacéutica con el fin de disponer de información que ayude a optimizar, de acuerdo con la situación clínica del paciente, el tratamiento farmacoterapéutico que está recibiendo.

2. Material y métodos

Estudio de intervención, prospectivo y longitudinal, realizado durante 6 meses en el hospital sociosanitario San José de Teruel.

Se incluyeron todos los pacientes ingresados mayores de 65 años y pluripatológicos [4] que aceptaron su inclusión en el estudio.

Este estudio obtuvo la aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón (CEICA).

Al ingreso, el farmacéutico realizó una valoración integral del tratamiento prescrito al paciente utilizando las herramientas habituales de validación farmacéutica de la prescripción médica en el hospital y los criterios STOPP/START. Las PPI identificadas se comunicaron al médico, con la correspondiente recomendación farmacoterapéutica, a excepción de las identificadas por los criterios START en pacientes con deterioro funcional importante o esperanza de vida limitada.

El grado de aplicabilidad de los criterios STOPP/START se valoró a través de los indicadores I_1, I_2e I_3:

I_1: número y porcentaje de PPI identificadas con los criterios STOPP/START y con las herramientas habituales de trabajo frente al total de PPI identificadas.

$I_{2:}$ número y porcentaje de PPI identificadas con los criterios STOPP/START y con las herramientas habituales de trabajo que conllevaron actuación farmacéutica frente al total de PPI identificadas con cada una de las herramientas.

$I_{3:}$ número y porcentaje de PPI identificadas con cada herramienta que fueron modificadas tras la actuación farmacéutica frente al total de PPI identificadas con cada herramienta que conllevaron actuación farmacéutica.

3. Resultados

Se incluyeron 112 pacientes. En 86 de ellos, se

identificó alguna PPI, con un total de 170.

Se realizaron 87 actuaciones farmacéuticas. La aceptación global de las mismas por parte del médico fue del 74,7%.

El grado de aplicabilidad evaluado a partir de los indicadores I_1, I_2, I_3 se indica en la Tabla 1.

INDICADOR	STOPP	START	H.H
I_1	40 (23,5%)	96 (56,5%)	34 (20%)
I_2	38 (95,0%)	15 (15,6%)	34 (100%)
I_3	29 (76,3%)	8 (53,3%)	28 (82,5%)

H.H: Herramientas habituales

Tabla 1: resultados de los indicadores I_1, I_2, I_3.

4. Discusión

Durante el ingreso hospitalario es frecuente la presencia de PPI en pacientes con edad avanzada [5], como sucede en este estudio.

Los criterios STOPP identifican un número elevado de PPI en el ingreso hospitalario y prácticamente todas conllevan actuación farmacéutica. El grado de aceptación del prescriptor de las recomendaciones efectuadas por el farmacéutico es alto (76,3%), puesto que se trata de actuaciones encaminadas a la suspensión de fármacos en una población frágil y polimedicada. Por el contrario, la mayoría de las PPI identificadas con los criterios START no conllevan actuación farmacéutica (84,4%), ya que ésta no llegó a realizarse en pacientes con esperanza de vida limitada. De hecho, en diferentes foros de debate se ha resaltado que en pacientes mayores con multimorbilidad, y especialmente en los más mayores, la utilización de métodos que valoran la infraprescripción es controvertida [6].

Las herramientas habituales utilizadas durante la fase de validación farmacéutica de la prescripción permiten detectar un tipo de PPI diferentes a las detectadas por los criterios STOPP/START. Las actuaciones farmacéuticas orientadas a resolver los incidentes detectados con estas herramientas se aceptaron en un porcentaje elevado (82,5%), pues en general, los problemas detectados con las herramientas habituales no suponen añadir ni suspender medicamentos, sino que están orientadas a realizar una adaptación del tratamiento farmacoterapéutico que no requiere por parte del prescriptor una valoración compleja (por ejemplo, ajuste de dosis debido a disfunción renal).

5. Conclusiones

Los resultados obtenidos indican que en el ingreso hospitalario de pacientes pluripatológicos de edad avanzada los criterios STOPP complementan el uso de las herramientas habituales en el proceso de validación de la prescripción médica y permiten mayor detección de PPI. Sin embargo, la aplicabilidad de los criterios START en estos pacientes (pluripatológicos de edad avanzada) es limitada.

Referencias

[1] Enrique GAVILÁN MORAL E. *et al. Concepto y factores determinantes de la polimedicación. En: Polimedicación y Salud: estrategias para la adecuación terapéutica.* (2011).

[2] Paul GALLAGHER *et al. "STOPP (Screening Tool of Older Person'sPrescriptions) and START (Screening Tool to Alert doctors to Right Treatment). Consensus validation.*Int J ClinPharmacolTher, 46, 72-83, 2008.

[3] Gotaro KOJIMA *et al. Reducing cost by reducing polypharmacy: the polypharmacy outcomes project.* J Am MedDirAssoc, 13, 818.e11-5, 2012.

[4] Manuel OLLERO BATURONE *et al. Atención al paciente pluripatológico. Proceso asistencial integrado.* http://www.juntadeandalucia.es/salud/export/sites/csalud/galerias/documentos/p_3_p_3_procesos_asistenciales_integrados/pacientes_pluripatologicos/03_definicion_global_pluri.pdf.

[5] Eva DELGADO SILVEIRA *et al. Impacto de la intervención farmacéutica en el tratamiento del paciente mayor pluripatológico.* Farm Hosp, 39, 192-202, 2015.

[6] Martin WILSON. *Prescribing to fit the needs of older people - the NHS Scotland Polypharmacy Guidance*, 2nd edition. J R Coll Physicians Edinb 45(2), 108-113, 2015.

Identifying risk factors for progression, such as lenalidomide exposure, in multiple myeloma patients

Beatriz GUGLIERI-LÓPEZ[1], Dirk Jan MOES[2], Alejandro PÉREZ-PITARCH[1], Begoña PORTA-OLTRA[3], Mónica CLIMENTE-MARTÍ[3], Matilde MERINO-SANJUÁN[1]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology. Faculty of Pharmacy. University of Valencia. Vicent Andrés Estellés Avenue, 46100 Burjassot, Valencia, Spain
2. Department of Clinical Pharmacy and Toxicology, Leiden University Medical Center. Albinusdreef 2, 2333 ZA Leiden, The Netherlands
3. Pharmacy Department. Doctor Peset University Hospital of Valencia. Gaspar Aguilar Avenue, 90. 46017 Valencia, Spain

Mail: guglieri_bea@gva.es

1. Introduction

The aim of this study was to perform a systematic analysis using a parametric survival model to describe the time to progression in multiple myeloma (MM) patients treated by lenalidomide and to identify potential risk factors for disease progression, such as lenalidomide exposure. This approach has advantages compared to non-parametric and semi-parametric analyses, since it enables inclusion of time-varying covariates and allows simulation based on the final model.

2. Methods

MM diagnosed adult patients (≥18 years) treated by lenalidomide (Revlimid®, Celgene Europe Ltd, Uxbridge, United Kingdom) were included in the analysis. Patients were treated with 25 mg/day of lenalidomide on days 1-21 of a 28-day cycle and 40 mg/day of dexamethasone on days 1-4, 9-12, and 17-20 of each cycle, until progressive disease. The criteria for progressive disease used in this study were the defined by the International Myeloma Working Group [1]. Dose reductions of lenalidomide were permitted in the event of treatment-related toxicity or renal impairment following the recommendations of the manufacturer. No dose increase was performed in the event of lack of response.

2.1. Bioanalytics

Individual pharmacokinetic data were not available for all patients included in the study. Thus, lenalidomide exposure (area under the curve (AUC_{0-24}) and maximum plasma concentration (C_{max})) were derived using a previously developed lenalidomide population pharmacokinetic model (under review for publication) taking into account the dose history and demographic characteristics of each patient included in the study.

2.2. Model development

The time at which disease progression during lenalidomide treatment occurred was recorded. Patients who had not experienced an event by the end of the follow-up period or patients that stopped treatment for other reasons (adverse events, intolerance to lenalidomide) were right-censored. The time to progression was analyzed using a parametric survival model. The model was developed using a time-to-event model with a two-step approach: first a base model without any explanatory factor was built; thereafter the base model was used to explore potential covariates as risk factors. Covariate relationships were evaluated by forward inclusion and backward deletion procedure.

2.3. Software

Nonlinear mixed effect modelling was used. NONMEM v7.3 (Icon Development Solutions, Ellicott City, MD, USA) [2] was used for modelling, using PsN toolkit 3.4.2 and Pirana version 2.8.0 as modelling environment. Results were

analysed using statistical software package R (v2.15.2) and RStudio (v0.97.248; Boston, MA, USA).

2.4. Model evaluation

Model selection was based on the likelihood ratio test, as represented in the differences of the NONMEM objective functions between the competing models. A graphical assessment of goodness of fit was also performed. The final model was evaluated on the basis of nonparametric bootstrap analysis using 500 bootstrap datasets.

3. Results

Clinical data from 54 patients were available for the analysis. A total of 26 events (24 progressions and 2 deaths due to progression) were recorded. The maximum follow-up of the study was set to 1,000 days. Five patients discontinued lenalidomide treatment due to adverse events.

The time to progression was best described by the log-normal function. The retained final survival model included lenalidomide $AUC_{0\text{-}24}$, type of monoclonal protein (MP), β-2-microglobullin (B2MG) and stem cell transplantation previous to lenalidomide treatment (SCT) as statistically significant predictors of the hazard (HR) of disease progression:

$$h(t) = h_0 \cdot e^{[\beta_1 \cdot AUC_{0-24} + \beta_2 \cdot MP + \beta_3 \cdot B2MG + \beta_4 \cdot SCT}$$

where h_0 is the baseline hazard and β_i are the regression coefficients describing the effect of each covariate. The risk of disease progression during lenalidomide treatment increased by 2% per each 10 µg·h/L increase of lenalidomide $AUC_{0\text{-}24}$ (HR=1.02 95%CI 1.01-1.03) and was more than 2-fold the baseline hazard per each 1 µg/mL increase in β-2-microglobullin (HR=2.44 95%CI 1.95-3.81). In addition, the risk of disease progression during lenalidomide treatment was higher in patients with immunoglobulin A, light chain or non-secretor type of MM compared to patients with immunoglobulin G (HR=3.97 95%CI 2.02-14.67). Moreover, patients who received hematopoietic stem cell transplantation previous to lenalidomide treatment had a higher risk of progression compared to patients who did not receive a transplantation (HR=3.56 95%CI 1.65-18.73).

4. Discussion

To our knowledge, no previous studies have been conducted to assess the relationship between lenalidomide exposure and risk of disease progression in MM patients. The results of this study show that patients with lenalidomide $AUC_{0\text{-}24}$ above 1110 µg·h/L had an increased risk of disease progression of 2% with every 10 µg·h/L increase of $AUC_{0\text{-}24}$. This increased risk of disease progression might be a result of an increased rate of lenalidomide resistance [3]. Our findings support the theory of progressively decrease dosage according to tumour response and, as an exposure target of the drug related with response has been found in this study, therapeutic drug monitoring of lenalidomide could be used in order to decrease the risk of disease progression. In addition, although the association of B2MG, type of MP and SCT with the risk of progression has already been identified, it has not been quantified yet using a statistical approach.

5. Conclusion

Time-to-progression as an efficacy outcome of lenalidomide treatment in MM patients was significantly influenced by several risk factors, such as β-2-microglobulin levels, type of monoclonal protein, SCT previous to lenalidomide treatment and the longitudinal exposure to lenalidomide. This work advocates the avoidance of unnecessarily high lenalidomide dosing and puts forward new arguments for lenalidomide therapeutic drug monitoring.

References

[1] BGM DURIE, *et al*. International uniform response criteria for multiple myeloma. Leukemia. 2006; 20(9): 1467-73.

[2] Stuart BEAL *et al*. NONMEM users guide. Ellicott City: Icon Development Solutions; 1989-2006.

[3] Cassandra WILLYARD. Cancer therapy: an evolved approach. Nature. England; 2016: 166-8.

Synthesis and characterization of folate-targeted albumin/ alginate nanoparticles stabilized by amide bonds

Ana María MARTÍNEZ RELIMPIO[1], Marta BENITO MIGUEL[2], Susana MARTÍN HERNÁEZ[1] , María Dolores BLANCO GAITÁN[3]

1. Dpto. de Farmacia, Facultad de CC. Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, Madrid, Spain
2. Centro de Ciencias de la Salud (Enfermería y Fisioterapia), Centro Universitario San Rafael-Nebrija, Madrid, Spain
3. Dpto. de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, Spain

Email de contacto: am.martinez.prof@ufv.es

1. Introduction

Nanotechnology has challenged and has changed the basis of diagnosis and therapy, especially in cancer [1]. There are several reasons why nanotechnology could transform cancer research and clinical approaches to cancer care. Most biological processes leading to cancer occur at the nanoscale, and nanotechnology offers new tools to monitor and manipulate these processes with therapeutic and diagnostic purposes [2]. Conventional cancer management frequently leads to the development of serious side effects of chemotherapeutics and does not provide accurate tools for detection of early tumours. Nanoparticle-based drug-delivery systems have improved the delivery of chemotherapeutic agents during the last two decades, overcoming resistance and toxicity problems of conventional therapies. Nanoparticles can reach tumour sites through two ways, namely passive and active targeting. Passive targeting allows for the efficient localization of nanoparticles based on the physiological characteristics of tumour microenvironment. Active targeting facilitates the selective uptake of nanoparticles by the tumour cells themselves [3]. Cancer cells, in general, over-express folate receptors on their surface and this characteristic property has been commonly used to direct nanoparticles toward tumours by attaching folic acid as a ligand on the surface of nanoparticles [4]. The use of natural polymers to design folate-conjugated nanoparticles combines biocompatibility and biodegradability with the enhanced uptake of the systems mediated by folate-targeting.

In this study, folate-targeted nanoparticles based on bovine serum albumin (BSA) and alginate (ALG) mixtures have been prepared and stabilized by amide bonds. Several studies have been performed for their *in vitro* characterization in order to evaluate them further as anticancer drug delivery systems.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of Nanoparticles

Briefly, BSA 5% (w/v) and ALG 1% (w/v) aqueous solutions were prepared in the presence of EDAC 50 mM. Then, several blends of BSA/ALG were obtained by mixing different volumes of the solutions prepared previously (Table 1).

Name of composition (w/w ratio)	Percentage of BSA-EDAC solution added to the blend (%, v/v)	Percentage of ALG-EDAC solution added to the blend (%, v/v)
2BSA:1ALG	70	30
3BSA:1ALG	40	60
5BSA:1ALG	50	50

Table 1: Percentages (v/v) of BSA and ALG solutions added to each blend.

Ethylenediamine (ED) was added to each blend according to 2:1 ratio (polymer: ED, w/w) under intense stirring conditions, and pH was then adjusted to 3 with HCl to get amide bond formation. Stirring was maintained during 2h and blends were finally centrifuged (10000 rpm, 5min). Pellets were freeze dried for 24 h at -110 ºC.

The conjugation of folate to nanoparticles was carried out via a carbodimiide reaction with NHS-folate. FOL-2BSA:1ALG, FOL-3BSA:1ALG and FOL-5BSA:1ALG were obtained.

2.2. Characterization of Nanoparticles

Nanoparticles were characterized in terms of composition, thermal behaviour, size, zeta potential, morphology and folate-content.

3. Results and discussion

Composition studies did not show a direct relationship between the percentage of polymer initially included in the mixture and the polymer finally incorporated to NP. In fact, samples showed different ratios of BSA/ALG incorporated to each composition: 1/1, 0.25/1 and 0.5/1 for 2BSA:1ALG, 3BSA:1ALG and 5BSA:1ALG, respectively. Consequently, BSA incorporated better in 2BSA:1ALG composition. Thermal stability of 2BSA:1ALG, 3BSA:1ALG and 5BSA:1ALG nanoparticles was studied and compared to raw materials behaviour. All compositions were stable at common working temperature conditions. Differences between the thermal behaviour of nanoparticles and raw materials were observed, which could be produced due to chemical modification carried out through the formation of amide bonds between both polymers. Additionally, TGA results confirmed the highest BSA incorporation in 2BSA:1ALG composition, whereas the presence of ALG was more detectable in the case of 3BSA:1ALG and 5BSA:1ALG. Morphology nanoparticles before and after being freeze-dried was analysed by TEM. TEM micrographs of nanoparticles (Fig. 1) showed individual particles of small size, most of them being nanometric. Pictures showed particles with spherical tendency, smooth surface without pores and polydisperse size distribution. 30 ± 2, 9 ± 2 and 26 ± 2 µmol folate/g NP were determined for FOL-2BSA:1ALG, FOL-3BSA:1ALG and FOL-5BSA:1ALG, respectively. The amount of folate conjugated to FOL-3BSA:1ALG was significantly lower than that bound to FOL-2BSA:1ALG and FOL-5BSA:1ALG. This result could be expected since FOL-3BSA:1ALG was the composition with the lowest incorporation of BSA in NP. Size and zeta potential of 2BSA:1ALG, 5BSA:1ALG, FOL-2BSA:1ALG and FOL-5BSA:1ALG nanoparticles were studied. Nanoparticles with mean size ranged between 169-268 nm and negative zeta potential values were obtained. In conclusion, these nanoparticles have adequate physic-chemical properties in order to be used as possible vehicles of anticancer drugs.

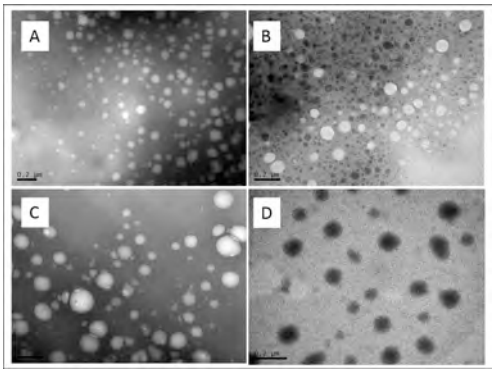


Fig. 1: Sample of TEM pictures obtained of 3BSA:1ALG (A & B) and 5BSA:1ALG (C & D) nanoparticles before (A & C) and after (B & D) freeze-drying process.

4. Acknowledgements

This project has been carried out with the financial support of Universidad Francisco de Vitoria.

References

[1] National Cancer Institute. NCI alliance for nanotechnology in cancer. Cancer nanotechnology plan, www.nano. cancer.gov.

[2] HERRMANN I.K., ROSSLEIN M. *Personalized medicine: the enabling role of nanotechnology*. Nanomedicine, 11(1):1-3, 2016.

[3] BAZAK R., HOURI M., EL ACHY S., KAMEL S., REFAAT T. *Cancer active targeting by nanoparticles: a comprehensive review of literature*, Journal of Cancer Research and Clinical Oncology, 141, (5): 769-784, 2015.

[4] Y. ZHONG, F. MENG, C. DENG, Z. ZHONG *Ligand-directed active tumor-targeting polymeric nanoparticles for cancer chemotherapy*, Biomacromolecules, 15 (6): 1955-1969, 2014.

Effect of Paracetamol on the Pharmacokinetics and Tissue Distribution of Sunitinib to Brain, Liver and Kidney in Mice

Chii Chii CHEW[1], Teng Wai KOO[1], Pilar MODAMIO[2], Cecilia FERNÁNDEZ[2], Eduardo Luis MARIÑO[2], Ignacio SEGARRA[1,2]

1. Department of Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, International Medical University, Jalan 19/155b, Bukit Jalil, 57000 Kuala Lumpur, Malaysia
2. Clinical Pharmacy and Pharmacotherapy Unit, Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Avda. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona, Spain

Contact Email: isegarra@ub.edu

1. Introduction

Tyrosine kinase inhibitor sunitinib (Fig. 1) is used to treat gastrointestinal stromal tumor (GIST), intolerance to imatinib GIST, renal cell carcinoma (RCC), metastatic RCC and pancreatic neuroendrine tumors (pNET) due to its versatility to inhibit multiple targets involved in tumor progression [1].

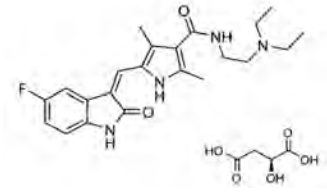


Fig. 1: Sunitinib malate.

Sunitinib undergoes P450s (3A4, 1A2, 2D6, 2C9) mediated metabolism to an active N-desethyl metabolite and it is substrate of OATP1B1, OATP1B3, ABCB1 and ABCG2 transporters. In general, it is well tolerated and its toxicity may include changes in liver and renal functions, gastrointestinal toxicity, cardiotoxicity, hemotoxicity amongst others.

We assessed the effect of paracetamol, used to treat cancer pain, on the pharmacokinetics and tissue distribution of sunitinib in mice.

2. Material and methods

Ethical approval was obtained from the IMU IRB. ICR male mice, 8-12 weeks old, 21 g average weight, housed at 20±2ºC, 12-h light cycle and provided food and water *ad libitum* were used. Mice were fasted (12 h) and paracetamol 200 mg/kg (study group) or vehicle (control group) was administered PO followed 30 min later by 60 mg/kg sunitinib PO. Mice (n=4 per time point) were euthanized at predetermine time points and its concentration measured with a validated HPLC method in plasma, kidney, liver and brain [2]. Non-compartmental analysis was used to estimate pharmacokinetic parameters.

3. Results

Paracetamol reduced 29% sunitinib plasma $AUC_{0\rightarrow\infty}$: 17.46±3.25 µg·h/ml (control) and 12.32±1.68 µg·h/ml (study), $p<0.05$; C_{MAX} and T_{MAX} were unchanged. The $t_{1/2}$ was 52% shorter (2.3 h) and MRT 50% lower; Cl/F increased 41% and V/F was 37% lower (Fig. 2).

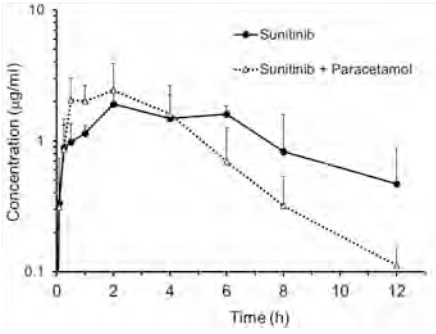


Fig. 2: Plasma pharmacokinetic profiles.

Paracetamol coadministration decreased 15% sunitinib $AUC_{0\rightarrow\infty}$ in liver ($p<0.001$) and 20% in

kidney ($p<0.001$). In addition, C_{MAX}, T_{MAX} and MRT in liver and kidney remained similar (Fig. 3 and 4).

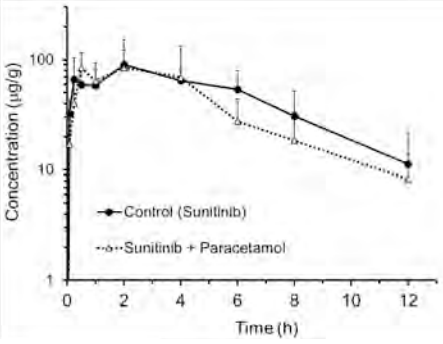


Fig. 3: Liver pharmacokinetic profiles.

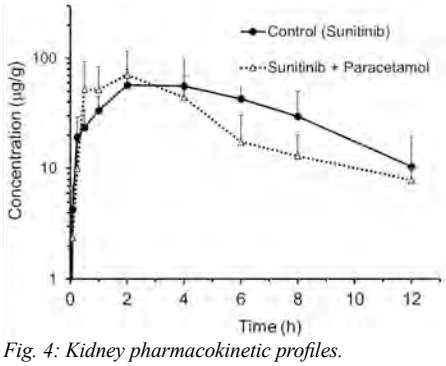


Fig. 4: Kidney pharmacokinetic profiles.

In brain, sunitinib exposure was halved ($p<0.001$), C_{MAX} reduced 36% at an earlier T_{MAX}. Elution $t_{1/2}$ and MRT were 35% and 26% shorter (Fig. 5).

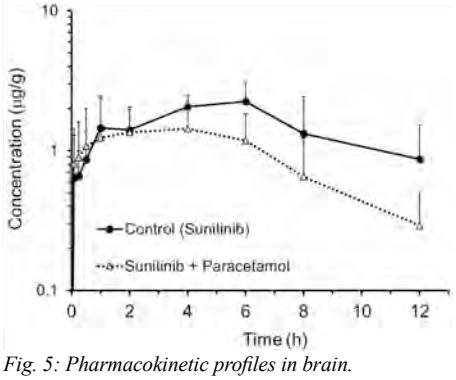


Fig. 5: Pharmacokinetic profiles in brain.

4. Discussion

Sunitinib presents large variability in plasma concentrations and therapeutic outcomes [3]. In addition, paracetamol affects its toxicity in tissues of clinical interest [4]. Our study shows a pharmacokinetic interaction with paracetamol decreasing sunitinib exposure in plasma and tissues. Paracetamol does not affect tissue uptake efficiency: The tissue-to-plasma AUC ratio slightly increased in liver and kidney and decreased in brain, suggesting that changes in tissue exposure parallel changes in plasma exposure (Fig. 6).

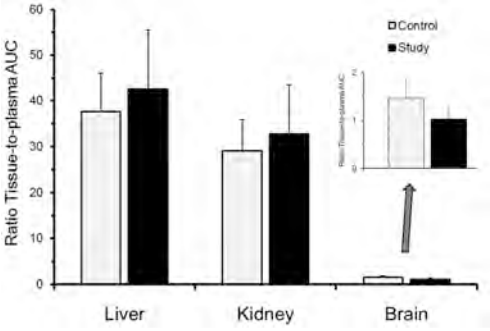


Fig. 6: Tissue-to-plasma $AUC_{0\to\infty}$ ratios.

5. Conclusions

Paracetamol reduced sunitinib exposure in plasma and tissues which may have clinical relevance for the effective treatment of RCC, mRCC and brain tumor.

6. Acknowledgements

IMU grant B1/06-Res(08)2009

References

[1] Georgios S. PAPAETIS, Kostas N. SYRIGOS, *"Sunitinib: a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor in the era of molecular cancer therapies"*, BioDrugs 23, 377-389 (2009).

[2] Evelyn CHEE, Adeline LIM, Pilar MODAMIO, Cecilia FERNANDEZ, Ignacio SEGARRA, *"Sunitinib tissue distribution changes after coadministration with ketoconazole in Mice"*. Eur J Drug Met Pharmacokin 41:309-319 (2016).

[3] Nienke A.G. LANKHEET, Lotte M. KNAPEN, Jan H.M. SCHELLENS, Jan H. BEIJNEN, Neeltje STEEGHS, Alwin D.R. HUITEMA, *"Plasma concentrations of tyrosine kinase inhibitors imatinib, erlotinib, and sunitinib in routine clinical outpatient cancer care"*, Ther Drug Monit 36:326-334 (2014).

[4] Adeline LIM, Ignacio SEGARRA, Srikumar CHAKRAVARTHI, Sufyan AKRAM, John P. JUDSON, *"Histopathology and biochemistry analysis of the interaction between sunitinib and paracetamol in mice"*, BMC Pharmacol, 10, 14 (2010).

Pharmacokinetic/Pharmacodynamic evaluation of amoxicillin, amoxicillin/clavulanate, cefuroxime axetil and cefotaxime for pediatric acute otitis media in Spain: influence of the heptavalent pneumococcal conjugate vaccination

Maitane IBAR-BARIAIN[1], Andrés CANUT[2], Arantxa ISLA[3], Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN[3]

1. Servicio de Farmacia. Hospital Universitario de Álava (HUA)
2. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario de Álava (HUA)
3. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco (UPV/EHU)

Email de contacto: alicia.rodriguez@ehu.eus

1. Introduction

Changes in antibiotic susceptibility of non-typeable *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*, as well as changes in the serotype distribution of *S. pneumoniae* have been reported among pediatric middle ear fluid (MEF) isolates after the implementation of Heptavalent Pneumococcal Conjugate Vacination (PCV7) [1]. The aim of the current study was to evaluate, by pharmacokinetic/ pharmacodynamic (PK/PD) analysis, if the change in antibiotic susceptibility due to the implementation of the PCV-7 in Spain has influence on the usefulness of the empirical treatment of pediatric acute otitis media (AOM).

2. Material y methods

The most used antibiotics for the treatment of children's AOM in Spain were evaluated: oral amoxicillin alone and associated with clavulanate, cefuroxime axetil and intravenous cefotaxime. Pharmacokinetic parameters (PK) were obtained from bibliography, as well as data of susceptibility of non-typeable *H. influenzae* and *S. pneumoniae* (including all isolates, isolates of the serotype 19A and the serotype 3) [1,2,3]. Monte Carlo simulation was used to estimate the cumulative fraction of response (CFR), defined as the expected population probability of target attainment for a specific drug dose and a specific population of microorganisms [4]. CFR is understood as the expected probability of success of the therapy. A 10.000-subject simulation was used with Oracle® Crystal Ball. For amoxicillin and amoxicillin-clavulanate, the target was antibiotic free concentration remaining above the minimum inhibitory concentration (MIC) for ≥50% of the dosing interval (*f*T>MIC≥50%), for cefuroxime and cefotaxime, *f*T>MIC≥60%. CFR values ≥90% were considered successful.

3. Results and discussion

Table 1 shows the CFR values of *S. pneumoniae* pre- and post-PCV7. When all serotypes of *S. pneumoniae* are considered, amoxicillin and cefotaxime resulted to achieve a high probability of success (CFR≥90%), and difference before and after vaccination was scarce. However, for serotype 19A, CFR values decreased in the post-vaccination period, and only with the highest doses of amoxicillin, the probability of success was ≥90%. As it can be seen in table 1, serotype 3 is fully susceptible to all antimicrobial agents, and vaccination did not affect the probability of success of the antibiotic therapy when this serotype is the responsible for the infection. These results are due to changes in the serotype distribution and antibiotic susceptibility of pediatric *S. pneumoniae* isolates. A significant increase in the prevalence of non-PCV7, mainly the serotype 19A, has been detected in the post-vaccination period, and this serotype has decreased susceptibility to amoxicillin, cefotaxime and cefuroxime axetil.

	All serotypes		Serotype 3		Serotype 19A	
Amoxicillin	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**
20 mg/kg q12	85	80	100	100	96	63
40 mg/kg q12	93	90	100	100	98	83
45 mg/kg q12	94	92	100	100	98	86
50 mg/kg q12	94	93	100	100	99	88
13 mg/kg q8	88	83	100	100	97	69
27 mg/kg q8	95	94	100	100	96	89
30 mg/kg q8	96	95	100	100	99	91
33 mg/kg q8	96	96	100	100	99	93
Cefotaxime	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**
33 mg/kg q8	92	83	100	100	98	70
50 mg/kg q8	95	90	100	100	99	81
66 mg/kg q8	97	93	100	100	99	86
Cefuroxime	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**	**Pre**	**Post**
10 mg/kg q12	49	47	100	100	73	11
15 mg/kg q12	54	49	100	100	80	12

Table 1: CFR values for S. pneumoniae pre- and post-PCV7. Grey shading indicates CFR≥90%.

Table 2 shows the CFR values obtained for *H. influenzae*. The implementation of the vaccine hardly affected the probability of success of the therapy. As expected, CFR values were higher with amoxicillin-clavulanate than with amoxicillin, and cefuroxime axetil resulted in a very low probability of success. Cefotaxime led to a high probability of success at any dose, both before and after the implementation of the vaccine.

Amoxicillin	**Pre**	**Post**	**Amoxicillin-clavulanate**	**Pre**	**Post**
20 mg/kg q12	77	82	20 mg/kg q12	89	93
40 mg/kg q12	86	86	40 mg/kg q12	96	98
45 mg/kg q12	87	86	45 mg/kg q12	96	98
50 mg/kg q12	88	86	50 mg/kg q12	97	98
13 mg/kg q8	79	85	13 mg/kg q8	93	97
27 mg/kg q8	89	87	27 mg/kg q8	98	99
30 mg/kg q8	90	87	30 mg/kg q8	99	100
33 mg/kg q8	91	87	33 mg/kg q8	99	100
Cefotaxime	**Pre**	**Post**	**Cefuroxime**	**Pre**	**Post**
33 mg/kg q8	97	100	10 mg/kg q12	38	46
50 mg/kg q8	98	100	15 mg/kg q12	59	67
66 mg/kg q8	99	100			

Table 2: CFR values for H. influenzae pre- and post-PCV7. Grey shading indicates CFR≥90%.

4. Conclusions

The implementation of the PCV7 vaccination has led to a decrease of the probability of success of the therapy when the AOM is due to *S. pneumoniae* serotype 19A. When other serotypes or *H. influenzae* are involved, the vaccination hardly induced changes.

5. Acknowledgements

This work was supported by the Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco (IT341-10).

References

[1] FENOLL A., *et al.* BMC Infect Dis. 2011;11:239.

[2] GARCIA-COBOS S., *et al.* J ANTIMICROB CHEMOTHER. 2014; 69:2394-9.

[3] GlaxoSmithKline, S.A. Susceptibility to antimicrobials agents used in the community in Spain. (Data on file).

[4] CANUT A. *et al*. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2015;33:48-57.

Modificación en la absorción de antiepilépticos en giardiasis

Verónica VIVANCOS[1], Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[1], Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[1], Mª Auxiliadora DEA[2], Marival BERMEJO[1]

1. Dpto. de Ingeniería. Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Miguel Hernández, Elche
2. Dpto. de parasitología. Universidad Cardenal Herrera CEU, Valencia

Email de contacto: verovivancos@hotmail.es

1. Introducción

Giardia intestinalis es el agente causal de la giardiosis, una de las patologías intestinales de transmisión fecal-oral más común en el mundo. Es un protozoo flagelado capaz de colonizar el intestino delgado de diversos vertebrados, incluidos los humanos. Una de las manifestaciones más graves de la giardiosis es la malabsorción de nutrientes. En niños es especialmente importante ya que las diarreas y la malabsorción son responsables de anemia, retraso en el crecimiento y retraso cognitivo. Tras la infección, los trofozoitos de *Giardia* quedan adheridos a las microvellosidades del intestino delgado (principalmente en el duodeno) por medio de los discos suctorios, y del movimiento del segundo y tercer par de flagelos.

Existe gran controversia respecto a la patogenia de *Giardia intestinalis*. Diversos mecanismos de infección podrían estar implicados, entre los que destacan la alteración de las uniones intercelulares y la apoptosis de las células del hospedador. Tras esto se observa daño en enterocitos, pérdida del borde en cepillo del intestino, acortamiento de las microvellosidades y deterioro de la función de barrera epitelial, reflejado en cambios en la resistencia eléctrica transepitelial, la permeabilidad y la absorción.

La epilepsia es una de las patologías neurológicas más comunes en la población pediátrica, siendo el evento paroxístico más frecuente en la infancia. La epilepsia se puede controlar de manera sencilla con tratamiento crónico. Sin embargo, algunos de los fármacos que se utilizan son de estrecho margen terapéutico, siendo necesario ajustar las dosis correctamente. En estos casos es especialmente preocupante que se produzcan modificaciones en la absorción del fármaco. Dosis toxicas darían lugar a efectos indeseados a nivel de sistema nervioso central y dosis subterapéuticas llevarían al fracaso del tratamiento. Por tanto el objetivo de este trabajo fue evaluar cómo afecta la infección por *G.intestinalis* a la absorción de fármacos antiepilépticos.

2. Material y métodos

2.1. Compuestos ensayados

se seleccionaron tres antiepilépticos Carbamazepina, Fenobarbital y Diazepam, a una concentración de 100µM, por ser empleados en la población pediátrica, ser sustrato de glicoproteína-P y los dos primeros por tener estrecho margen terapéutico.

2.2. Ensayo *in vitro*

En ese estudio se utiliza una línea celular de carcinoma de colon humano (Caco-2), la cual presentan diferenciación de forma espontánea y crecen formando monocapas celulares que muestran características morfológicas, bioquímicas y funcionales similares a las de los enterocitos diferenciados. También presentan enzimas de borde en cepillo y buena correlación in vitro-in vivo. Además, diversos estudios avalan que el modelo de incubación G. intestinalis-Caco-2 parece ser un método simple y útil para el estudio de Giardia in vitro. El ensayo se lleva a cabo generando sobre la membrana de policarbonato una monocapa de células Caco-2 hasta su diferenciación a los 21 días. En los platos que se adiciona Giardia será 2 horas antes al experimento y a una concentración

de 450.000 Giardias/pocillo. La integridad de la monocapa se evalúa midiendo la resistencia eléctrica transepitelial antes y después del experimento. Una vez se administró el fármaco, se tomaron cuatro muestras durante 120 minutos. Los estudios de transporte se realizaron en ambas direcciones: desde la cámara apical hacia la basolateral y desde la cámara basolateral hacia la apical.

Posteriormente se analizaron las muestras mediante HPLC.

3. Resultados y discusión

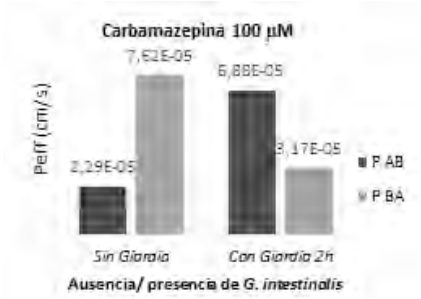


Fig. 1: Coeficientes de permeabilidad de Carbamazepina en monocapas celulares Caco-2 en ausencia, y en presencia de G. intestinalis sembrada 2 horas antes del experimento.

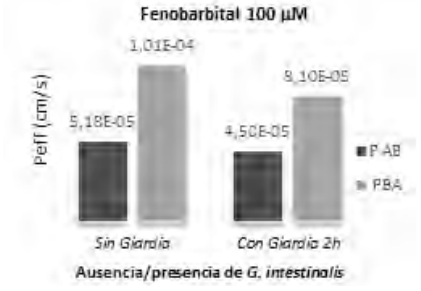


Fig. 2: Coeficientes de permeabilidad de Fenobarbital en monocapas celulares Caco-2 en ausencia y en presencia de G. intestinalis sembrada 2 horas antes del experimento.

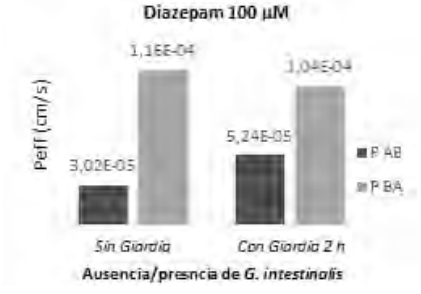


Fig. 3: Coeficientes de permeabilidad de Diazepam en monocapas celulares Caco-2 en ausencia y en presencia de G. intestinalis sembrada 2 horas antes del experimento.

El estudio de permeabilidad indica que Carbamazepina y Diazepam son sustratos de transportadores de secreción. En presencia del parásito ven incrementada su absorción. Este aumento podría deberse tanto al incremento de permeabilidad de la membrana lipídica por una fluidificación de la misma, como respuesta a la infección o a un incremento de la permeabilidad paracelular por estar afectadas las uniones intercelulares. Otra hipótesis sería que la infección produce una capa sobre la membrana intestinal que impide que estos fármacos, sustratos de glicoproteína-P, accedan al punto de unión sustrato-transportador, por lo tanto el transporte de secreción quedaría inactivado. El mecanismo de absorción de Fenobarbital combina difusión pasiva y transporte activo de absorción y secreción. La infección por el parásito produce una disminución, no estadísticamente significativa, de la permeabilidad, pudiéndose deber a que la inhibición de los transportadores en ambos sentidos tiene un efecto compensatorio.

4. Conclusiones

Por lo tanto, la administración de Carbamazepina y Diazepam, en pacientes con giardiasis, podría llevar a dosis tóxicas, sobre todo en el caso de la Carbamazepina pues es un fármaco de estrecho margen terapéutico. Por el contrario, la administración de Fenobarbital parece segura, no obstante, al ser un fármaco de estrecho margen terapéutico convendría monitorizar los niveles de fármaco durante el tratamiento.

Referencias

[1] Luciana L.A. VENTURA y col. “Impact of protein malnutrition on histological parameters of experimentally infected animals with Giardia lamblia”, Parasitol. 133(4): 391-5,2013.

[2] Cindy OBRINGER y col. “Suitability of the in vitro caco-2 assay to predict the oral absorption of aromatic amine hair dyes” Toxicol in vitro. 32: 1-7, 2015.

[3] PALENCIA. “Prevalence and incidence of epilepsy in childhood” Rev. Neurol. 30: S1-4, 2000.

Smart azo-responsive microsystems for colon drug delivery (Inflammatory Bowel Diseases treatment)

Adrián H. TERUEL[1,2,3], C. COLL[1,2,3], F. SANCENÓN[1,2,3], V. MERINO-SANJUÁN[1,4], M. GONZÁLEZ-ÁLVAREZ[5], R. MARTÍNEZ-MAÑEZ[1,2,3]

1. Instituto Interuniversitario de Investigación de Reconocimiento Molecular y Desarrollo Tecnológico (IDM). Unidad Mixta Universidad Politécnica de Valencia - Universidad de Valencia. Camí de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain
2. Chemical Department, Universidad Politécnica de Valencia, Camí de Vera s/n, 46022 Valencia, Spain
3. CIBER of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Carlos III Health Institute, Madrid, Spain
4. Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Parasitology, University of Valencia, 46100 Valencia, Spain
5. Engineering Department. Pharmacy and Pharmaceutical Technology Section, Miguel Hernandez University, 03550 Alicante, Spain

Email de contacto: marta.gonzalez@umh.es

1. Introduction

Even if great efforts have been made to develop tools to treat Inflammatory Bowel Diseases (IBD), there is no a definitive solution in the market to heal them. IBD is a group of autoimmune, chronic inflammatory conditions of the colon and small intestine, being ulcerative colitis and Crohn's disease the main manifestations of these diseases. One of the most important pitfalls is to target ileum and colon efficiently. That is, drug delivery only in the specific areas where wounds are present.

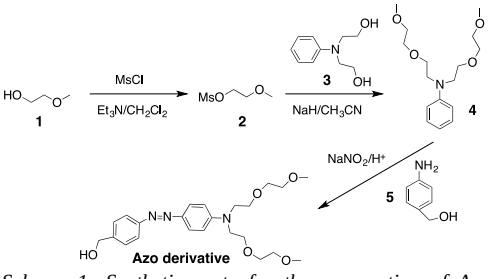
Mesoporous silica supports are broadly accepted as advantageous drug delivery systems. Since they are able to encapsulate several molecules inside their pores as well as anchor (bio)molecules in its external surface, acting these lasts as molecular gates which respond to external stimulus, releasing their cargo under accurate conditions.

Here, it is described, an innovative system combining an enzymatic responsive molecular gate with a magnetic mesoporous silica material MCM-41. The system should respond to azoreductor agents, since azoreductase enzymes are produced by colon-resident bacterial enzyme [1]. The magnetic character will be useful to retain the particles in the part of interest of the intestinal tract (ileum and colon) to treat IBD. Increasing the time of residence of the particles will allow major drug delivery on target sites.

2. Results and Discussion

2.1. Design and synthesis of materials

To develop an azo-responsive magnetic material it is necessary: a) The synthesis of a microscopic mesoporous material able to host Fe nanoparticles in its matrix which will attribute magnetic properties to the final solid (S0). b) To obtain an azo derivative molecule (Scheme 1) able to cap the pores of the stated material when it is anchored onto the solid surface.



Scheme 1: Synthetic route for the preparation of Azo derivative.

The solid S0 was loaded with safranin O dye, then the Azo derivative gate was anchored to its surface, leading the final material S1.

2.2. Characterization of materials

The prepared materials were characterized by standard techniques. Figure 1 shows the transmission electron microscopy (TEM) images of the solid S0. It confirmed the presence of the mesoporous structure in the calcined sample and the iron nanoparticles like little dark dots randomly organized.

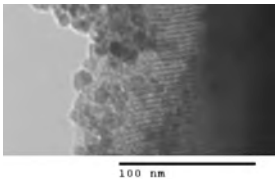


Fig. 1: TEM image of micro MCM-41 containing magnetite nanoparticles.

With the purpose of knowing the distribution of magnetic nanoparticles in the material, images with scanning transmission electron microscopy (STEM) were taken as well.

To confirm the mesoporous structure and the presence of Fe in the matrix of the synthesized material, X-ray diffraction (XRD) patterns were analyzed.

To study the magnetic properties of S0 the field dependent magnetization curves measured at 298 K were obtained.

2.3. Delivery studies

Some in vitro release experiments were carried out to prove that the azo derivative gate would cap the pores avoiding the cargo release unless the action of an azoreductor (ex: sodium dithionite). In a typical experiment, solid S1 (2 mg) was suspended in water (2 mL) at pH=7.4 in presence of sodium dithionite (57.4 mM) or in its absence for the control experiment (Fig. 2).

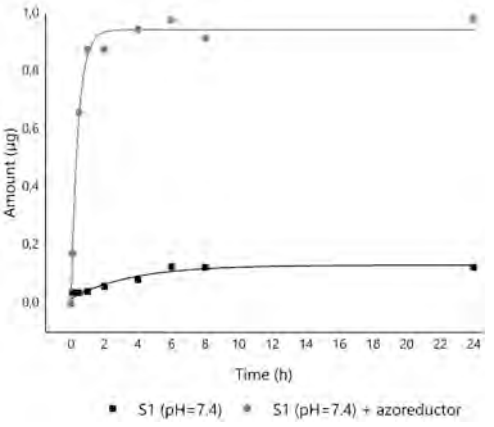


Fig. 2: Safranin O release from magnetic MCM-41 microparticles functionalized with an azo derivative molecule as molecular gate (S1).

The zero release in the absence of azoreductor agent indicates that the Safranin O cargo remains in the S1 material. Meanwhile in presence of azoreductor agent there is an increase in the dye emission intensity in the solution.

3. Conclusions

- New hybrid system has been obtained from an organic azo derivative molecule anchored by means of a carbamate bond to an inorganic support (magnetic and micro MCM-41).

- Release studies highlight specific release when the azoreductor is present. This suggests that following this approach in future studies we could get carriers with promising results to treat IBD.

4. Acknowledgements

We thank the Spanish Government (projects MAT2015-64139-C4-1-R and AGL2015-70235-C2-2-R (MINECO/FEDER)) and the Generalitat Valenciana (project PROMETEOII/2014/047) for support. AHT thanks to the Spanish MEC for his FPU grant. The authors also thank the Electron Microscopy Service at the UPV for support.

References

[1] R. J. MRNSY. J. CONTROL. Release, 1992, 22, 15-34.

Modificación en la absorción Metoprolol en presencia de excipientes

Alejandro RUIZ-PICAZO, Isabel GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Marta GONZÁLEZ-ÁLVAREZ, Marival BERMEJO

Dpto. de Ingeniería. Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Miguel Hernández, Elche

Email de contacto: isabel.gonzalez@umh.es

1. Introducción

En general, se ha considerado que los excipientes son sustancias inertes y por tanto no afectan la biodisponibilidad de los fármacos, no obstante, en los últimos años se han llevado a cabo investigaciones que sustentan que ciertos excipientes pueden afectar la absorción. Estudios de bioequivalencia en humanos, en los que se compara una formulación genérica (test) con la formulación de referencia muestran que los valores de AUC (área bajo la curva) y Cmax (concentración plasmática máxima) obtenidos con la formulación test son distintos a los obtenidos con la formulación de referencia.

Para explicar el comportamiento observado en humanos se planteó el estudio del efecto de los excipientes sobre la permeabilidad utilizando un modelo *in situ* sin recirculación en rata Wistar.

2. Material y métodos

2.1. Compuestos ensayados

Se seleccionó el Metoprolol como fármaco patrón para estudiar el efecto de los excipientes.

2.2. Ensayo *in situ*

Se determinó el efecto de algunos excipientes sobre la absorción intestinal de distintos fármacos. Para ello se realizó la técnica de Doluisio utilizando ratas macho Wistar de peso comprendido entre 220-240 gramos. Las constantes de velocidad de absorción aparentes de primer orden en cada condición se obtuvieron por ajustado de la ecuación monoexponencial a las concentraciones remanentes en lumen a cada tiempo

3. Resultados y discusión

Se ha estudiado en efecto de los excipientes en la permeabilidad de fármacos patrón utilizando como modelo experimental el modelo de intestino delgado de rata Wistar. Esta metodología ha sido ampliamente utilizada y mantiene las características propias de la realidad fisiológica en el animal completo, como puede ser la capa de mucus, la presencia de los movimientos peristálticos o de las secreciones intestinales.

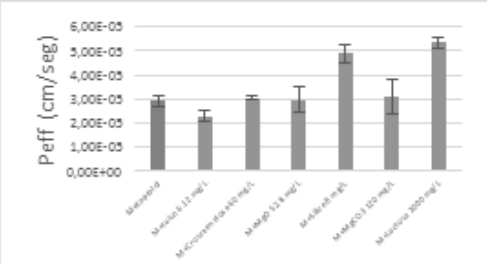


Fig. 1: Coeficientes de permeabilidad de metoprolol en presencia y ausencia de excipientes en intestino delgado de rata Wistar.

El estudio de permeabilidad indica que se determinó que como afectan los excipientes a la permeabilidad del fármaco y se obtuvieron distintos resultados según el excipiente ensayado (Fig. 1). Existen diferencias significativas cuando se administra en presencia de Sílice Coloidal y Lactosa llegando casi a duplicarse el valor de permeabilidad obtenido.

4. Conclusiones

Los excipientes no son sustancias inertes que acompañan al principio activos, sino que alguno de ellos puede modificar el transporte del fármaco a través de la barrera intestinal y por lo tanto habría que tenerlos en cuenta y hacer

estudios de permeabilidad de la formulación final (medicamento).

Referencias

[1] Qi SHEN, Yulian LIN, Takahiro HANDA, Masamichi DOI, Masami SUIE, Kana WAKAYAMA, Noaki OKADA, Takuya FUJITA, Akira YAMAMOTO. Modulation of intestinal P-glucoprotein function by polyethylene glycols and their derivatives by in vitro transport and in situ absorption studies. Int J Pharm (2006); 313; 49-56.

[2] Ravikiran PANAKANTI, Ajit S. NARANG. Impact of excipient interactions on drug bioavailability from solid dosage forms. Pharm Res (2012); 29; 2639-59

[3] Yusuke TAKIZAWA, Hisanao ISHIMOTO, Minami NAKAGAWA, Nasa SAKAMOTO, Yoshifusa TOBE, Takahito FURUYA, Mikio TOMITA, Masahiro HAYASHI. Effects of pharmaceutical excipients on membrane permeability in rat small intestine. Int J Pharm (2013); 453; 363-70.

Efecto del fraccionamiento y la trituración sobre la velocidad de disolución de comprimidos osmóticos de nifedipino

Laura C. GARCÍA, Yesica RODRIGO, Mª del Rosario ABERTURAS, Jesús MOLPECERES

Unidad docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Dpto. de Ciencias Biomédicas. Facultad de Farmacia. Campus externo. Universidad de Alcalá. Ctra A-2, Km 33,600, 28871 Alcalá de Henares, Madrid

Email de contacto: jesus.molpeceres@uah.es

1. Introducción

El envejecimiento poblacional y el mayor acceso a los servicios de salud han supuesto un incremento en el consumo de medicamentos [1].

Según diversos estudios de mercado, las formas de liberación modificada representan un 20-25% de las ventas de medicamentos, de los que más del 50% corresponde a formas de administración por vía oral [2].

Los diseños de las formas sólidas orales de liberación modificada generalmente conllevan una dosis mayor para proporcionar cobertura terapéutica durante un tiempo más largo y excipientes y estructuras específicas para modificar la liberación. Todo ello da lugar a formas farmacéuticas de mayor tamaño y complejidad en las que, siguiendo las pautas de administración del fabricante, se deben evitar manipulaciones previas a su administración.

Sin embargo, existen situaciones en la práctica clínica en las que los pacientes o el personal sanitario encargado de su cuidado, se ven obligados a manipular los medicamentos para poderlos administrar [3].

Este trabajo evalúa el efecto que el fraccionamiento o la trituración de comprimidos OROS de nifedipino tiene sobre la velocidad de liberación del principio activo.

2. Materiales y Métodos

El estudio de disolución se ha realizado empleando comprimidos Adalat® Oros 60 mg y Adalat® cápsulas blandas 10 mg, según el ensayo 6 de la USP, con un aparato de cestillos semiautomático (Pharmatest Type PTW S III) recubierto con papel celofán rojo para evitar la fotodegradación del fármaco. Como medio de disolución se emplea fluido gástrico simulado (SGF) sin enzimas, con laurilsulfato sódico al 0,5% a 37,0 ± 0,5 ºC. La cuantificación del nifedipino disuelto a lo largo de 24h se realiza a 330 y 450 nm, frente a una solución patrón [4] y se calculan los TMD y las velocidades de disolución. El análisis estadístico de los resultados se lleva a cabo mediante ANOVA con el programa Statgraphics v 5.1.

3. Resultados

3.1. Ensayo 0: cápsulas blandas Adalat® 10 mg

La Figura 1A muestra el porcentaje medio de nifedipino liberado y la 1B la velocidad de disolución, en función del tiempo (min). El TMD calculado para el intervalo de tiempo 0-50 min, al tratarse de una forma de liberación inmediata, fue de 11,72±0,12 min.

3.2. Ensayos 1, 2 y 3: comprimidos osmóticos Adalat® 60 mg

La Figura 2 muestra el porcentaje medio de nifedipino liberado y la 3 las velocidades de disolución, en función del tiempo (min) para los comprimidos osmóticos enteros, fraccionados y triturados.

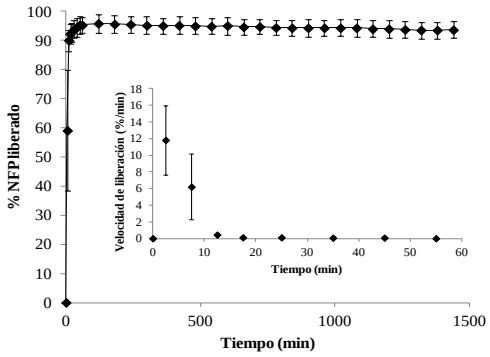


Fig. 1: Adalat® cápsulas 10mg: A) Curva de disolución acumulativa B) Velocidad de liberación (media ± d.e.; n=6).

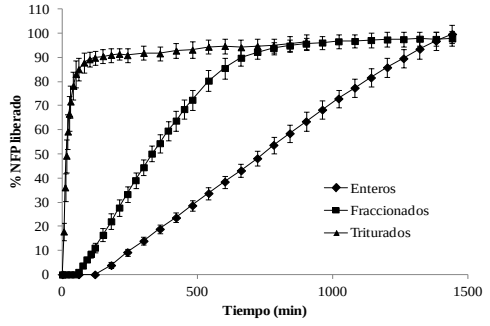


Fig. 2: Adalat® OROS 60mg: Curvas de disolución acumulativas (media ± d.e.; n=6).

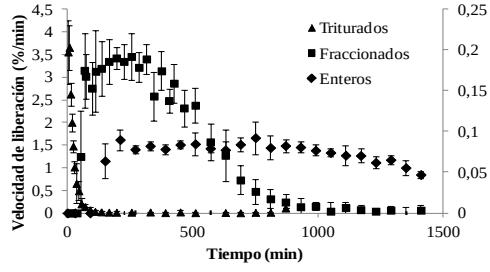


Fig. 3: Adalat® OROS 60mg: Curvas de velocidad de liberación (media ± d.e.; n=6) (valores ■ y ♦ corresponden al eje secundario).

4. Discusión

Los resultados del ensayo con cápsulas de liberación inmediata demuestran que el fármaco no sufre fotodegradación durante el estudio de disolución por lo que el recubrimiento del equipo con papel celofán resulta adecuado y valida su utilización para los estudios con los comprimidos osmóticos.

En el ensayo realizado con comprimidos intactos se observa un perfil de disolución de orden cero a partir de la activación del sistema (2h). El nifedipino se disuelve a una velocidad promedio constante de 0,08%/min equivalente a 3 mg/h (CV< 4%). El TMD calculado en estas condiciones es de 998,86 min. En los comprimidos fraccionados, el valor de TMD se reduce a 522,54 min. Se observa que el proceso de liberación sigue una cinética de orden cero desde 60 min hasta 400 min con velocidades entre 0,15 y 0,2 %/min, alcanzándose el total de disolución a los 800 min frente a las 24 h del comprimido intacto (CV~5%). La trituración de los comprimidos provoca la desaparición del periodo de activación y una rápida liberación (en menos de 2h) con velocidades máximas de 3,5 %/min en los 10 primeros minutos y una mayor variabilidad (CV hasta 7%) en los valores correspondientes a los primeros 30 min. El valor de TMD calculado es 47,01±0,76 min. En esta situación, la práctica totalidad de la dosis se podría absorber en el duodeno y el hecho de no modular la liberación de una dosis 6 veces mayor a la de las formas de liberación inmediata podría conducir a una vasodilatación muy acusada provocando un shock en el paciente.

Por tanto, los resultados de este trabajo ponen de manifiesto que las manipulaciones de un medicamento de liberación modificada como Adalat® OROS pueden conducir a una situación de riesgo para el paciente, especialmente cuando el producto es triturado antes de la administración.

Referencias

[1] F.J. MORALES-OLIVAS, "Investigación en envejecimiento. Aspectos relacionados con el uso de medicamentos", Rev. Esp. Geriatr. Gerontol. 36, 31-32, 2001.

[2] C. GANGLOFF, "The growing demand for drug delivery products", en blog. marketresearch.com.

[3] S. STEGEMANN, M. GOSCH, J. BREITKREUTZ, "Swallowing dysfunction and dysphagia is an unrecognized challenge for oral drug therapy", Int. J. Pharm., 430, 197-206, 2012.

[4] "USP-NF 39-34". Online. 2016.

Efecto del fraccionamiento y la trituración de comprimidos matriciales de mesalazina sobre la velocidad de disolución

Yesica RODRIGO, Laura C. GARCÍA, Jesús MOLPECERES, Mª del Rosario ABERTURAS

Unidad docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Dpto. de Ciencias Biomédicas. Facultad de Farmacia. Campus externo. Universidad de Alcalá. Ctra A-2, Km 33,600, 28871 Alcalá de Henares, Madrid

Email de contacto: mrosario.aberturas@uah.es

1. Introducción

El envejecimiento poblacional y el mayor acceso a los servicios de salud han supuesto un incremento en el consumo de medicamentos [1].

Según diversos estudios de mercado, las formas de liberación modificada representan un 20-25% de las ventas de medicamentos, de los que más del 50% corresponde a formas de administración por vía oral [2].

Los diseños de las formas sólidas orales de liberación modificada generalmente conllevan una dosis mayor para proporcionar cobertura terapéutica durante un tiempo más largo y excipientes y estructuras específicas para modificar la liberación. Todo ello da lugar a formas farmacéuticas de mayor tamaño y complejidad en las que, siguiendo las pautas de administración del fabricante, se deben evitar manipulaciones previas a su administración.

Sin embargo, existen situaciones en la práctica clínica en las que los pacientes o el personal sanitario encargado de su cuidado, se ven obligados a manipular los medicamentos para poderlos administrar [3].

Este trabajo evalúa el efecto del fraccionamiento o la trituración de comprimidos MMX de mesalazina sobre la velocidad de liberación del principio activo.

2. Materiales y Métodos

El estudio de disolución se ha realizado empleando comprimidos Mezavant® 1,2 g según especificaciones de la USP [4], con un aparato de cestillos semiautomático (Pharmatest Type PTW S III) recubierto con papel celofán ámbar para evitar la potencial fotodegradación del fármaco. El estudio se ha llevado a cabo en un gradiente de pH, a 37,0 ± 0,5 ºC y 100 rpm (Tabla 1).

Condiciones	Etapa ácida	Etapa tampón 1	Etapa tampón 2
pH/tiempo (h)	1/2	6,4/1	7,2/10
Medio disolución	750 mL, 0,1 M HCl	950 mL, tampón fosfato	960 mL, tampón fosfato

Tabla 1: Condiciones del ensayo de disolución.

La cuantificación de la mesalazina disuelta a lo largo de 12h se realiza a 302nm (etapa ácida) y 330 nm (pH 6,4 y 7,2) frente a una solución patrón y se calculan los TMD y las velocidades de disolución. El análisis estadístico de los resultados se lleva a cabo mediante ANOVA con el programa Statgraphics v 5.1.

3. Resultados

La Figura 1 muestra el porcentaje medio de mesalazina liberada y la 2 la velocidad de disolución, en función del tiempo (min). La Tabla 2 recoge los tiempos medios de disolución (TMD) y las pérdidas por manipulación en cada condición experimental.

Condiciones	Enteros	Fraccionados	Triturados
TMD (min)	444,98 (7,54)	373,40 (3,92)	23,53 (0,19)
Pérdidas (%)	-	1,58 (2,36)	1,66 (0.32)

Tabla 2: TMD y pérdidas

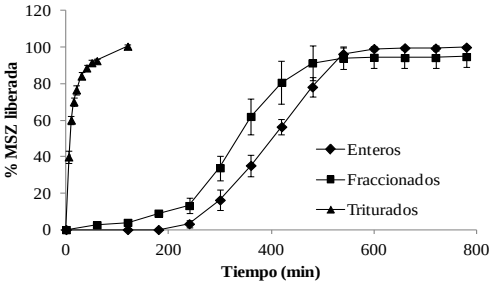


Fig.1: Curvas de disolución de comprimidos Mezavant® MMX intactos y manipulados (media ± d.e.; n=6).

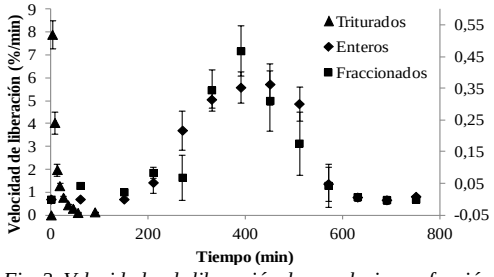


Fig. 2: Velocidades de liberación de mesalazina en función del tiempo (media ± d.e.; n=6) (valores ■ y ♦ corresponden al eje secundario).

4. Discusión

En los comprimidos intactos, debido a su recubrimiento y matriz MMX, la liberación del principio activo no se produce hasta pasadas las 3 primeras horas cuando llega al intestino a un pH de 7,2, lugar de acción del fármaco (colon). El tiempo medio de disolución es de 7,4 horas y se libera la totalidad de la dosis en 9 horas. En cuanto al control de la liberación, la mesalazina se disuelve siguiendo un proceso de liberación de orden cero a pH 7,2 entre la quinta y la octava hora con una velocidad promedio entre 0,2 y 0,5%/min (CV 4-5%).

La manipulación de comprimidos provoca pérdidas de peso si bien éstas no son muy significativas.

En el caso de los comprimidos fraccionados, la liberación comienza ya en la primera hora a pH ácido. El tiempo medio de disolución es de 6,2 horas disolviéndose toda la dosis en 8 horas. Por tanto, se produce una modificación en el perfil de disolución, cuantitativamente no muy importante. La cantidad disuelta a pH ácido es aproximadamente un 4%, que aumenta en promedio hasta el 9% a pH 6,4. Es decir, aproximadamente un 10% del fármaco es liberado en las primeras horas. Por tanto, la cubierta todavía ejerce una acción protectora e impide una liberación inmediata, de manera que el 90% restante llegaría a su lugar de acción en el colon, La velocidad de liberación entre la cuarta y la novena hora sufre variaciones que oscilan entre 0,1 y 0,5%/min (CV~10% entre la sexta y la octava hora).

Lo más significativo se observa cuando el ensayo se realiza con comprimidos triturados que carecen de la protección de la cubierta. La disolución comienza a partir de los primeros 5 minutos del ensayo y es prácticamente completa a las 2 horas cuando el fármaco sigue en medio ácido. El tiempo medio de disolución es de 20 minutos aproximadamente. En esta situación, la práctica totalidad de la dosis se absorbería en el duodeno y sería metabolizada a nivel intestinal y hepático sin conseguir la vectorización colónica para la que el comprimido ha sido diseñado, lo que conduciría a una biodisponibilidad terapéutica prácticamente nula.

Los resultados de este trabajo ponen de manifiesto que las manipulaciones de un medicamento de liberación modificada como Mezavant®, pueden conducir a una situación de no adherencia involuntaria al tratamiento, especialmente cuando el producto es triturado antes de la administración.

Referencias

[1] F.J. MORALES-OLIVAS, "Investigación en envejecimiento. Aspectos relacionados con el uso de medicamentos", Rev. Esp. Geriatr. Gerontol. 36, 31-32, 2001.

[2] C. GANGLOFF, "The growing demand for drug delivery products", en blog.marketresearch.com.

[3] S. STEGEMANN, M. GOSCH, J. BREITKREUTZ, "Swallowing dysfunction and dysphagia is an unrecognized challenge for oral drug therapy", Int. J. Pharm., 430, 197-206, 2012.

[4] "USP-NF 39-34". Online. 2016.

Formación de Dispersiones Sólidas de Ebastina mediante Mezcla Simple

Marc SUÑÉ-POU[1], Anna NARDI RICART[1], Isaac NOFRERIAS ROIG[1], Encarna GARCÍA MONTOYA[1,2], Pilar PÉREZ LOZANO[1,2], Josep María SUÑÉ NEGRE[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Físico-química, Facultad de Farmacia, Universidad de Barcelona, Avda. Joan XXIII 27-31, Barcelona
2. Grupo de investigación "Farmacoterapia, Farmacogenética y Tecnología Farmacéutica" del IDIBELL de la Universidad de Barcelona

Email de contacto: msunepou@gmail.com

1. Introducción

Cuando la solubilidad del fármaco es un problema para lograr una correcta biodisponibilidad y la limitación se encuentra, precisamente, en la disolución del mismo, se necesitan procedimientos encaminados a mejorar la velocidad de disolución [1]. Una de las estrategias son las dispersiones sólidas, que dan lugar a dispersiones moleculares y/o coloidales del principio activo en una matriz polimérica, cuyo resultado es la mejora de la solubilidad y de la consecuente biodisponibilidad de los principios activos. Para efectuar dispersiones sólidas se recurre a procesos tecnológicos complejos como la fusión, el amasado, la extrusión en caliente o la evaporación de disolvente [2]. En este trabajo se pretende demostrar que mediante un proceso tecnológico sencillo, como es la mezcla simple, también se puede dar lugar a la formación de una dispersión sólida de un principio activo poco soluble en agua, como es la ebastina.

2. Material y Métodos

- Ebastina pura, principio activo. Infar, SA. Lote IN-010/05.
- Gelucire 50/13, excipiente. Gattefosse. Lote 152118.
- DSC Mettler Toledo con software STARe SW V9.30
- Mezcladora bicónica Glatt
- Mezcladora de alta velocidad (*High Speed Mixer*) Glatt MAV5.

En cuanto a los métodos, se han hecho mezclas ebastina/gelucire 1:1 con diferentes tratamientos:

A1) Mezcladora bicónica durante 15 min

A2) Mezcladora bicónica durante 30 min

B1) *High speed mixer* durante 2.5 min

B2) *High speed mixer* durante 5.0 min

Aplicación Análisis Térmico realizado utilizando Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Se pesaron entre 2.0-2.5 mg de ebastina o gelucire, y en el caso de las mezclas, se pesaron entre 3.5-4.5 mg. Los análisis DSC se han realizado con el siguiente método: Crisol de aluminio (40 µl) con tapa sellada herméticamente, rango de temperatura de 0 ºC hasta 105 ºC, velocidad de calentamiento 10 ºC/min y una atmósfera corriente de nitrógeno de 50 ml/min.

3. Resultados y Discusión

Se ha realizado un análisis DSC por cada tipo de muestra (Fig. 1). En la Tabla 1 se recogen los parámetros térmicos obtenidos en cada caso. Se han definido dos zonas de temperatura: zona 1, (la de más baja temperatura), que corresponde a la fusión del gelucire y la zona 2 que corresponde a la fusión del principio activo. En la Figura 1 se puede observar que la fusión correspondiente al gelucire transcurre en un amplio rango de temperatura. Los gelucires son moléculas ambifílicas, lo que queda reflejado en la fusión, observándose varios picos solapados. Por este motivo se ha optado por no reportar un valor de temperatura de fusión, pero sí un valor para la entalpía total

del proceso (Tabla 1). Por el contrario, la ebastina presenta un pico de fusión típico de un producto orgánico puro. En este caso sí que se puede establecer un valor de T_{peak} como referencia para la temperatura de fusión. Dichos valores servirán como referencia para determinar si los distintos tratamientos tienen influencia en el comportamiento de las muestras suministradas.

		Zona 1 (Gelucire)	Zona 2 (Ebastina)	
Muestra	**Tratamiento**	**ΔH**	**ΔH**	**T_{peak}**
Gelucire	-----	-146.1		
Ebastina	-----	------	-85.9	87.1
Ebastina/ Gelucire	A1	**-70.7**	**-45.0**	79.4
	A2	-100.4	-27.8	75.9
	B1	-98.8	-29.1	73.4
	B2	-104.6	-24.1	73.0

Tabla 1: Parámetros térmicos de las curvas DSC.

A continuación se comparan las mezclas sometidas a diferentes tratamientos preparadas con ebastina (Fig. 1, Tabla 1). En todas ellas la proporción de ebastina y gelucire es 1:1. Para una mezcla física (ningún tipo de interacción entre los componentes), se espera que los valores de entalpía se correspondan con los valores proporcionales de los componentes en la mezcla. Es decir, que para una mezcla física preparada en proporción 1:1, se espera que los valores de entalpía sean la mitad en comparación con los compuestos puros. Para el tratamiento A1 se han obtenido valores de entalpia cercanos a los teóricos (-70.7 J/g (48%) para gelucire y -45.0 J/g (52%) para ebastina). La posición y la forma de los principales picos de fusión del gelucire se corresponden con los del patrón. No ocurre lo mismo con el pico de ebastina, que se ha ensanchado y desplazado aproximadamente 8ºC. Este efecto podría producirse por la presencia de gelucire fundido. Tanto en los tratamientos A2, B1 y B2 se observó un aumento entre el 22% y el 18 % del valor de la entalpía de fusión respecto a su valor teórico en la zona 1. En la zona de fusión de la ebastina se observó una disminución alrededor del 22%-16% del valor teórico. La forma de los principales picos de fusión del gelucire se ven algo alterados en las curvas DSC de los tratamientos B1 y B2 y bastante modificados en comparación con A2. Los picos de fusión de la ebastina también se ven alterados en los 3 casos. En comparación con el tratamiento A1, el pico se ha ensanchado y la temperatura del pico disminuyó alrededor de 3-6ºC.

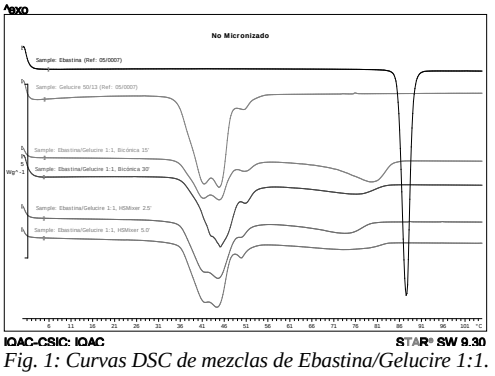


Fig. 1: Curvas DSC de mezclas de Ebastina/Gelucire 1:1.

4. Conclusiones

- El tratamiento A1 se comporta como una mezcla física, con una buena correlación entre los valores de entalpía experimentales y teóricos. Además, la posición y forma de los picos correspondientes al gelucire no se encuentran alteradas.

- Los tratamientos A2, B1 y B2 muestran diferencias en las curvas DSC en comparación con las curvas DSC del tratamiento A1. Como consecuencia de todo ello se puede concluir que los tratamientos dados a las mezclas influyen en los parámetros térmicos y posiblemente en sus propiedades como resultado de algún tipo de interacción.

- La interacción que se produce por mezcla simple de gelucire:ebastina en los procesos aplicados A2, B1 y B2 son compatibles con la formación de una dispersión sólida entre ambos componentes.

Referencias

[1] GONZÁLEZ I., CASABÓ V.G., BERMEJO M. Tecnologías para conocer la posibilidad de mejorar la biodisponibilidad oral. Ind Farm, 2007; XXII (134): 58-64.

[2] VEIGA OCHOA M.D., GIL ALEGRE M.E., TORRADO DURÁN J. Preformulación. En Vila Jato JL: Tecnología Farmacéutica. Editorial Síntesis. Madrid, 1997; 1: 27-73.

Funcionalización por plasma de implantes de titanio para anclaje de enzimas antibacterianas

Luis DÍAZ-GÓMEZ[1], Carme VENDRELL[2], Anna CORTINA[2], Ángel CONCHEIRO[1], Carmen ÁLVAREZ-LORENZO[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia e IDIS, Universidade de Santiago de Compostela, 15872 Santiago de Compostela, Spain
2. AVINENT Implant Systems, Pol. Ind. Santa Anna 1, 08251 Santpedor, Barcelona, España

Email de contacto: carmen.alvarez.lorenzo@usc.es

1. Introducción

Los implantes dentales se suelen preparar a partir de aleaciones de titanio [1] que se someten a tratamientos en superficie para facilitar su osteointegración [2,3]. El fracaso de un implante dental durante la fase de cicatrización o en etapas avanzadas está con frecuencia asociado a la colonización del implante por bacterias de la cavidad oral [4].

La administración sistémica de antibióticos para la prevención y/o tratamiento de la peri-implantitis (proceso inflamatorio que afecta a los tejidos que rodean el implante y causa una pérdida de masa ósea alveolar) entraña el riesgo de que se produzcan sobreinfecciones con bacterias oportunistas que exacerban la progresión de la enfermedad [5]. Para dotar a los implantes de superficies de capacidad para inhibir la adhesión y la proliferación de microorganismos, resultan especialmente atractivas las estrategias que utilizan enzimas que degradan la pared bacteriana o las señales de comunicación entre las bacterias, sin desencadenar resistencias [6].

El objetivo de este estudio fue funcionalizar discos de titanio grado 5 (Ti6Al4V) lisos y de titanio BAS (Biomimetic Advanced Surface) [2,3] con lisozima. Para funcionalizar los discos, se aplicó un proceso en cuatro etapas: 1) recubrimiento de los discos con hexametildisiloxano (HMDSO) mediante polimerización por plasma; 2) inmersión de los discos recubiertos en una disolución acuosa de aminopropil trietoxisiloxano (APTES); 3) inmersión en una disolución acuosa de genipina, que actúa como agente reticulante de grupos amino; y 4) inmersión en una disolución de lisozima para fijarla sobre la superficie de los discos por reacción de los grupos amino de la proteína con los grupos carboxilato de la genipina.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Discos de titanio grado 5 (Ti6Al4V) lisos (Ti) y funcionalizados (Ti-BAS) de Avinent; HMDSO, APTES, PBS (tampón fosfato salino, pH 7.4), lisozima y *Micrococcus lysodeikticus* (ATCC 4698) de Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, USA); genipina de CBC (Taiwan); kit BCA de Pierce (Thermo Scientific, USA).

2.2. Funcionalización del titanio

Los discos se funcionalizaron como se esquematiza en la Fig. 1.

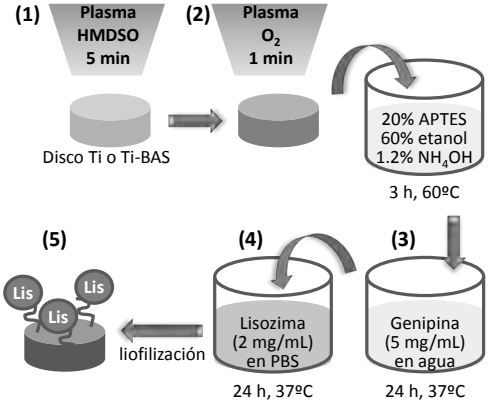


Fig. 1: Etapas del proceso de funcionalización de discos de titanio lisos (Ti) y con superficie biomimética (Ti-BAS).

2.3. Caracterización de la superficie

Se registraron los espectros de FTIR-ATR en un equipo Varian 670-IR (USA). Se midió el ángulo de contacto del agua utilizando un goniómetro Phoenix 300 plus (SEO, Korea). Se tomaron microfotografías utilizando un microscopio electrónico de barrido (SEM; Zeiss Ultra Plus, Alemania) y se analizó la composición elemental mediante un EDX.

2.4. Evaluación de la actividad enzimática

Los discos se colocaron en placas de 24 pocillos a los que se incorporó 1,5 mL de dispersión de *M. lysodeikticus*. A tiempos preestablecidos, se midió la absorbancia a 450 nm (Agilent 8453, Alemania). La actividad de la lisozima se expresó en unidades de actividad enzimática. Como blanco se utilizaron discos sin tratar.

3. Resultados y Discusión

Los espectros de FTIR y los resultados de análisis elemental confirmaron los cambios de composición superficial experimentados por los discos tras las distintas etapas del proceso de funcionalización (Fig. 2).

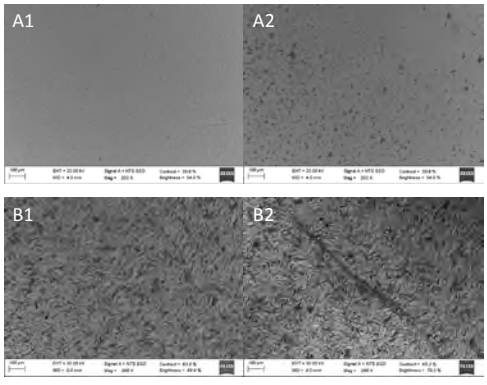


Fig. 2: Fotografías SEM de discos de titanio lisos (Ti; A1 y A2) y con superficie biomimética (Ti-BAS; B1 y B2), antes (1) y después del anclaje de lisozima (2).

Los resultados del ensayo de actividad enzimática se muestran en la Figura 3. Los discos funcionalizados con lisozima presentaron una elevada actividad enzimática frente a *M. lysodeikticus*. La lisozima actúa sobre los enlaces entre el ácido N-acetilmurámico y la N-acetilglucosamina, que forman parte de la pared de las bacterias Gram-positivas, destruyéndola.

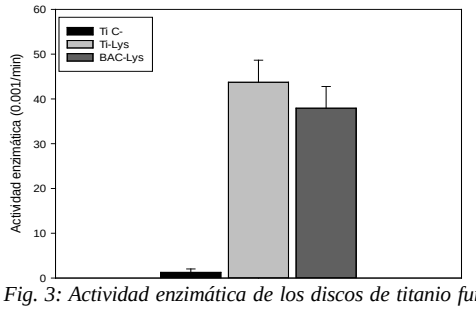


Fig. 3: Actividad enzimática de los discos de titanio funcionalizados con lisozima (Ti-Lys y BAC-Lys) frente a M. lysodeikticus.

4. Conclusiones

El procedimiento desarrollado permite anclar lisozima en la superficie del titanio, manteniendo su actividad y en cantidad suficiente para actuar como agente antimicrobiano.

5. Agradecimientos

Trabajo financiado por MINECO (SAF2014-52632-R), FEDER España y AVINENT.

Referencias

[1] F.A. SHAH, M TROBOS, P. THOMSEN, A. PALMQUIST, "Commercially pure titanium (cp-Ti) versus titanium alloy (Ti6Al4V) materials as bone anchored implants - Is one truly better than the other?", Mater. Sci. Engin. C 62, 960-966, 2016.

[2] AVINENT, Biomimetic Advanced Surface, http://www.avinent.com/es/producte/implantes-dentales/biomimetic-advanced-surface.

[3] A. MESTRE VINARDELL, *"Caracterización química y biológica de la superficie Biomimetic Advanced Surface"*, R. Int. Prot. Estomat. 10, 293-298, 2008.

[4] N.A. VALENTE, S. ANDREANA, *"Peri-implant disease: what we know and what we need to know"*, J. Period. Implant Sci. 46, 136-151, 2016.

[5] C. VERDUGO, T. LAKSMANA, A. URIBARRI, "*Systemic antibiotics and the risk of superinfection in peri-implantitis*", Arch. Oral Biol. 64, 39-50, 2016.

[6] B THALLINGER, E.N. PRASETYO, GS NYANHONGO, G.M. GUEBITZ, "*Antimicrobial enzymes: An emerging strategy to fight microbes and microbial biofilms*", Biotechnol. J. 8, 97-109, 2013.

Optimización de la encapsulación de proteínas en microesferas biodegradables

Alicia ARRANZ ROMERA[1,2], Sergio ESTEBAN PÉREZ[1,2], Irene MOLINA MARTÍNEZ[1,2], Rocío HERRERO VANRELL[1,2], Irene BRAVO OSUNA[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
2. Instituto de Investigación Sanitaria del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC)

Email de contacto: ibravo@farm.ucm.es

1. Introducción

La microencapsulación de proteínas es uno de los principales retos dentro de la tecnología farmacéutica [1]. Las mayores limitaciones residen en el tamaño y la complejidad estructural que presentan las proteínas. En el presente trabajo se ha evaluado, mediante un diseño factorial 2^3 no rotacional, la influencia de ciertos parámetros tecnológicos en la eficacia de encapsulación de una proteína modelo en sistemas microparticulares.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Albúmina sérica bovina conjugada con isocianato de fluoresceína (ASB-FITC) suministrado por Sigma-Aldrich (St Louis, Missouri, USA), ácido poli-láctico-co-glicólico Resomer® 505 (54.000 – 69.000 g/mol; L:G 50:50 PLGA) comercializado por Boehringer Ingelheim (Pharma Co., Alemania), vitamina E (α-tocoferol acetato) distribuido por Sigma-Aldrich (St Louis, Missouri, USA), y alcohol polivinílico (PVA 72.000 g/mol) suministrado por Merck KGaA (Darmstadt, Alemania).

2.2. Métodos

2.2.1. Diseño factorial a dos niveles

Se ha empleado un diseño factorial 2^3 no rotacional para la optimización de la encapsulación de la proteína modelo en las microesferas (Ms) elaboradas. Las formulaciones se prepararon por duplicado en orden aleatorio con un total 16 experimentos. Las variables seleccionadas fueron la concentración de polímero (X_1), la velocidad de emulsificación (X_2) y la combinación de disolventes orgánicos (X_3) (Tabla 1).

Niveles de variación	Variables independientes		
	PLGA505 (X_1)	RPM (X_2)	CH_2Cl_2:ACN (X_3)
+1	500	8000	65:35
-1	200	5500	100:0
Variable dependiente			
Y: Eficacia de encapsulación (EE%)			

Tabla 1: Diseño experimental.

2.2.2. Elaboración de las microesferas

La elaboración de las Ms se llevó a cabo mediante la técnica de emulsión-evaporación del disolvente (O/A) incorporándose la proteína al estado sólido en forma de suspensión. 20µg de ASB-FITC fueron suspendidos en 20 µL de Vitamina E con ayuda de sonicación (30s) y mezclados con una disolución polimérica de PLGA (200 o 500 mg) en 1 mL de diclorometano (CH_2Cl_2) o diclorometano:acetonitrilo (CH_2Cl_2:ACN). Seguidamente se adicionó la fase externa (5 mL de PVA 2%) y se realizó la emulsificación en Polytron® (5500 u 8000 rpm,1 min). El proceso de maduración se llevó a cabo en 100 mL PVA (0,1%) a Tª ambiente durante 3h. Finalmente, las microesferas se separaron por tamices en fracciones granulométricas, se liofizaron y conservaron a 4 ºC.

2.2.3. Caracterización de las microesferas

2.2.3.1. Determinación de la eficacia de encapsulación

El contenido de proteína en las Ms de la fracción de interés (38-20µm) se cuantificó por

espectroscopia de fluorescencia, previa extracción líquido-líquido.

2.2.3.2. Morfología externa de las microesferas y distribución de la proteína encapsulada en la matriz polimérica

El estudio morfológico de las microesferas se realizó mediante microscopía electrónica de barrido (SEM; Jeol;JSM-6335-F, Tokio, Japón). La distribución proteica dentro de la matriz polimérica se evaluó por microscopía confocal (microscopio láser, confocal y multifotón, Leica sp-2 aobs).

3. Resultados y Discusión

La eficacia de encapsulación para las distintas formulaciones estuvo comprendida entre 49,80 – 90,22%.

La ecuación del modelo ajustado (p-valor<0,01) para la eficacia de encapsulación (EE%) fue la siguiente:

$$EE\ (\%) = 66{,}6081 + 11{,}6606\ X_1 + 2{,}84188\ X_3 + 3{,}18437\ X_1X_3 + 4{,}14063\ X_1X_2X_3$$

Dado que la ecuación se compone de cuatro dimensiones, para su representación se tomó como premisa la codificación de las variables y el tratamiento por partes de la misma. Para la obtención de la superficie respuesta, se consideraron los cuatro primeros términos, adoptándose la siguiente codificación:

- Variable $X_1 \rightarrow X$
- Variable $X_3 \rightarrow Y$
- $X_1X_3 \rightarrow XY$

Eficacia de encapsulación (%) = 66,6081 + 11,6606 X + 2,84188 Y + 3,18437 XY

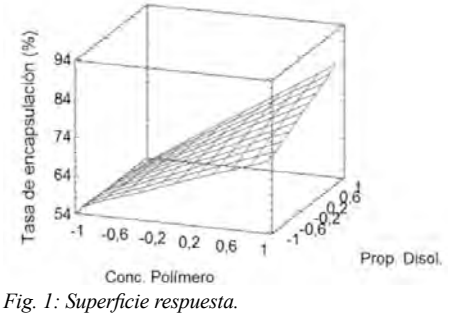


Fig. 1: Superficie respuesta.

La superficie respuesta obtenida muestra una relación lineal y positiva de las variables "concentración de polímero" (X_1) y "combinación de disolventes" (X_3). Estos resultados se pueden asociar a la viscosidad de la fase interna que aumenta con la concentración del polímero. Del mismo modo, la presencia de un disolvente polar (acetonitrilo) que difunde rápidamente en contacto con el medio acuoso contribuye a la creación de glóbulos de fase interna más densos.

El estudio morfológico mostró una superficie porosa y una distribución homogénea de la proteína en el interior de la matriz polimérica.

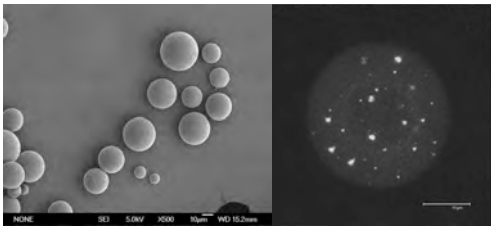


Fig. 2: Estudio morfológico.

4. Conclusiones

Por medio del Diseño Experimental propuesto, se obtuvo una ecuación fundamental que posibilita predecir la eficacia de encapsulación para la proteína modelo dentro del rango estudiado. La concentración del polímero utilizado (Resomer® 505) y la combinación de disolventes CH_2Cl_2:ACN, influye positivamente en la eficacia de encapsulación de la proteína modelo (ASB-FITC).

5. Agradecimientos

Grupo de investigación UCM 920415 (GR3/14).
MAT2013-43127-R.
ETIC (Oftared) RD12/0034/0003

Referencias

[1] CHECA-CASALENGUA P., JIANG C., BRAVO-OSUNA I., TUCKER B.A., MOLINA-MARTÍNEZ I.T., YOUNG M.J., HERRERO-VANRELL R. J. Control Release. 2011 Nov 30;156(1):92-100.

Nanocápsulas a base de quitosano microencapsuladas para terapia génica por vía pulmonar

Estefanía FERNÁNDEZ-PAZ[1], Sonia AL-QADI[1], Noemi CSABA[1,2], Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ[1]

1. Grupo NanoBiofar, Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela
2. Centro de Investigación en Medicina Molecular y Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidad de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela

Email de contacto: estefania.fernandez.paz@rai.usc.es

1. Introducción

Las nanocápsulas (NCs) de quitosano (CS) son nanoestructuras constituidas por una cubierta de quitosano, un lípido (lecitina) y un núcleo oleoso (Mygliol® 212) que revisten gran interés para el transporte de moléculas lipofílicas por vías mucosas como la oral [1].

En este trabajo proponemos, para facilitar la administración de las NCs por vía pulmonar, su inclusión en microsferas (MS) de manitol de características morfológicas y aero-dinámicas adecuadas. Además, para mejorar sus propiedades de transfección, incorpora-mos ácido hialurónico (HA) [2] en su composición.

2. Material

Quitosano ultrapuro en forma de sal hidrocloruro (CS, Protasan® UP CL 113, grado de deacetilación 75-90%, peso molecular < 150 KDa); lecitina [Epikuron® 145 V]; Mygliol® (812); ácido hialurónico (HA, peso molecular ~166 kDa); pCMV-βGal (10 µg/µL); D-Manitol (Peso molecular: 182.17 g/mol); acetona grado HPLC; etanol grado HPLC y agua ultrapura (MilliQ plus, Millipore Ibérica, España).

3. Métodos

3.1. Preparación y caracterización de NCs

La preparación de las NCs CS se llevó a cabo por un procedimiento de desplazamiento del disolvente [3]. Una fase oleosa compuesta de lecitina, etanol, Mygliol y acetona fue añadida sobre una fase acuosa de CS, bajo agitación magnética horizontal [CIMAREC i Multipoint, Fisher Scientific, España] a 2000 r.p.m., y los disolventes orgánicos fueron eliminados por rotaevaporación. Las NCs CS/HA se prepararon del mismo modo pero añadiendo una solución de HA antes de la rotaevaporación. Para la encapsulación de plásmido, éste fue incorporado a la solución de CS, antes de la preparación de las NCs.

Las NCs fueron caracterizadas morfológicamente mediante Microscopía Electrónica de Transmisión [TEM, Jem-2010 Electron Microscope, a 120 KV], tras su tinción con ácido fosfotúngstico al 2%, en rejilla de carbono. Sus tamaños, índices de polidispersión y potenciales zeta fueron determinados utilizando un Zetasizer® [Zetasizer Nano – ZS, Malvern Instruments, Malvern, Reino Unido].

3.2. Preparación y caracterización de las NCs microencapsuladas

Para la preparación de NCs micro-encapsuladas en MS de Manitol se empleó un equipo de atomización Buchi [Büchi® Mini Spray Dryer B-290, Suiza]. El rendimiento del proceso de atomización fue determinado por gravimetría. Se prepararon también MS control (sin NCs).

La caracterización morfológica de las MS fue realizada mediante Microscopía Electrónica de Barrido [SEM, FESEM ULTRA-PLUS, Zeiss] tras su recubrimiento con oro.

3.3. Liberación de las NCs a partir de las MS y caracterización

Porciones de 20 mg de polvo fueron incubadas en volúmenes de 5 mL de agua MilliQ, mediante agitación magnética [CIMAREC i Multipoint, Fisher Scientific, España; 300 r.p.m.] a temperatura ambiente. A distintos tiempos (30 min., 1 h, 2 h y 4 h) se tomaron muestras del medio de liberación y se caracterizaron las NCs liberadas en cuanto a morfología, tamaño y potencial Z, según los procedimientos descritos anteriormente.

3.4. Asociación del plásmido a las NCs

Fue determinada por electroforesis en gel de agarosa (agarosa al 1%).

3.5. Estudios de transfección "in vivo" tras administración pulmonar de las NCs en ratas

Se realizó una evaluación preliminar cualitativa de transfección "in vivo" de las NCs en ratas. Para ello, se les administraron por vía intratraqueal los "polvos" conteniendo NCs cargadas de plásmido utilizando un inhalador Harvard® [Harvard Apparatus].

La expresión genética fue estudiada 72 horas después de la administración, por histoquímica de 5 bromo-4cloro-3-indolil-β-D-galactopiranosido (X-gal) [4]. Los pulmones fueron observados macroscópica-mente para comprobar si hubo indicios de transfección o no.

4. Resultados y discusión

Mediante un procedimiento de atomización de suspensiones de NCs Cs y NCs CS/HA en manitol se obtuvieron MS de tamaño adecuado (2-3 µm) para administración pulmonar (Fig. 1).

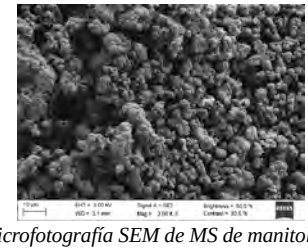


Fig. 1: Microfotografía SEM de MS de manitol conteniendo NCs CS.

Las NCs son fácilmente recuperadas de las MS en medio acuoso. La comparación de la microfotografía TEM de las NCs sin atomizar con la de las NCs liberadas a partir de las MS en medio acuoso, sugiere que la atomización de las NCs con manitol permite preservar sus características morfológicas originales (Fig. 2).

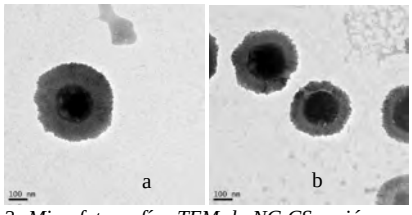


Fig. 2: Microfotografías TEM de NC CS recién preparadas (a) y liberadas a partir de las MS (b).

Las NCs se formaron adecuadamente con el plásmido asociado (< 200 nm, potencial zeta en torno a +30 mV). Los ensayos de electroforesis indicaron alta eficacia de asociación. Los ensayos preliminares "in vivo" mostraron la capacidad del vehículo para inducir expresión genética en el tejido pulmonar.

5. Conclusiones

Hemos microencapsulado NCs CS y NCs CS/HA en MS de manitol. Las MS liberan fácilmente las NCs. Esta plataforma resulta prometedora para terapia génica por vía pulmonar.

6. Agradecimientos

Financiación: ISCIII (Acción Estratégica de Salud, PS09/00816) y Xunta de Galicia (Grupos de Referencia Competitiva - Fondos FEDER, Ref. 2014/043).

Referencias

[1] Cecilia PREGO, Dolores TORRES y col., *"The potential of chitosan for the oral administration of peptides"*, Expert Opinion on Drug Delivery, 2(5), 843-54, 2005.

[2] María DE LA FUENTE, Begoña SEIJO y col., *"Bioadhesive hyaluronan chitosan nanoparticles can transport genes across the ocular mucosa and transfect ocular tissue"*, Gene Therapy, 15,668-676, 2008.

[3] Cecilia PREGO, Marcos GARCÍA y col., *"Transmucosal macromolecular drug delivery"*, Journal of Controlled Release, 101, 151-162, 2005.

[4] Magnus KOPING-HOGGARD, I TUBULEKAS y col., *"Chitosan as a nonviral gene delivery system. Structure-property relationships and characteristics compared with polyethylen-imine in vitro and after lung administration in vivo"*, Gene Therapy, 8, 1108-1121, 2001.

Redes metal-orgánicas (MOF) microencapsuladas para administración pulmonar de compuestos activos

Cristina FERNÁNDEZ-PAZ[1], Teresa SIMÓN-YARZA[2], Patricia HORCAJADA[2,3], Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ[1]

1. Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela
2. Institut Lavoisier, Université de Versailles St. Quentin, 78035 Versailles Cedex-París
3. Unidad de Materiales Porosos Avanzados, Fundación IMDEA Energía, Parque Tecnológico de Móstoles, 28935 Móstoles, Madrid

Email de contacto: cristina.fernandez.paz@rai.usc.es

1. Introducción

Las redes metal-orgánicas (MOF) son nanomateriales híbridos cristalinos porosos, constituidos por sub-unidades inorgánicas (metales) y ligandos o enlazadores orgánicos poli-complejantes (carboxilatos, azolatos…), de gran potencial para la liberación de fármacos y teranosis [1]. La vía pulmonar presenta ventajas para la administración de fármacos; por ejemplo, una gran superficie para la absorción y no genera efecto de primer paso hepático [2 y 3]. En este trabajo se propone una nueva plataforma para la liberación de compuestos activos que consiste en microencapsular MOF en microsferas de sacáridos (manitol, dextrano y ciclodextrina α) que faciliten su administración por vía pulmonar, empleando un procedimiento de atomización.

2. Materiales

MOF MIL-100 (Fe) (en suspensión en etanol absoluto) fueron preparadas mediante síntesis hidrotermal por microondas [4] y donadas por P. Horcajada y T. Simon-Yarza del Instituto Lavoisier de Versalles [Université de Versailles St. Quentin, Francia]. D-Manitol (PM: 182.17 g/mol), dextrano D-1390 (PM: 72200 g/mol), ciclodextrina α 778788 (P.M: 972.84 g/mol) y tampón fosfato salino (PBS, pH = 7.4) fueron adquiridos a Sigma-Aldrich (España).

3. Métodos

3.1. Caracterización morfológica y físico-química de las MOF

Las MOF fueron lavadas con agua para eliminar el etanol. Su tamaño medio, índice de polidispersión y potencial zeta fueron determinados mediante Espectroscopía de Correlación fotónica (PCS) y Anemometría Láser Doppler (LDA), respectivamente, en un Zetasizer® [Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments]. Las cualidades morfológicas de las MOF fueron obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) [Jem-2010 Electron Microscope, 120 KV] previa tinción con ácido fosfotúngstico al 2% (aplicación durante 2 minutos) y fijación en rejilla de carbono. Se caracterizaron las MOF antes de ser incorporadas a las microsferas y tras ser liberadas de las mismas.

3.2. Microencapsulación de las MOF mediante atomización

Las MOF fueron resuspendidas en soluciones acuosas de manitol (al 3.2%, 3.4%, 8% (p/p)), dextrano (al 1.7% (p/p)) y ciclodextrina α (al 3.4% (p/p)), a temperatura ambiente. Seguidamente, las dispersiones de MOF en manitol [relaciones de MOF:Ma de 1:5, 1:10 y 1:100], dextrano [relación 1:10] y ciclodextrina α [relación 1:10] fueron atomizadas utilizando un atomizador Buchi® [Mini Spray Dryer B-290, Buchi®, Suiza]. Las condiciones empleadas fueron: $T_{entrada}$ = 154 y 170 ºC, aspiración = 70-100%, velocidad

de flujo 2 mL/min, limpiador de la boquilla de atomización = 5 y T_{salida} = 96-101 ºC. Se prepararon también microsferas control (sin nanopartículas). El rendimiento de producción (R.P.) fue calculado por gravimetría, utilizando la fórmula:

$$R.P.(\%) = \frac{\text{Peso microsferas}}{\text{Peso sólidos teóricos (MOF+excipiente)}} \times 100$$

3.3. Caracterización morfológica de las MOF microencapsuladas

Muestras de microsferas, montadas sobre placas metálicas usando un adhesivo de doble cara, fueron recubiertas con oro o iridio. La caracterización morfológica fue realizada mediante Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) empleando un microscopio ULTRA PLUS [ZEISS, FESEM ULTRA-PLUS, Easa comercial].

3.4. Estudios de liberación de las MOF a partir de las microsferas

Muestras de 20 mg de microsferas fueron incubadas en agua o PBS (5 mL) a T ambiente y 37 ºC, respectivamente, mediante agitación magnética (300 rpm) [CIMAREC i Multipoint, Fisher Scientific, España]. A distintos tiempos (30 minutos, 1 hora, 2 horas y 4 horas) se tomaron muestras del medio de liberación para la medida de tamaño, índice de polidispersión y potencial zeta en un Zetasizer® [Zetasizer Nano-ZS, Malvern Instruments].

4. Resultados y Discusión

Las MOF redispersadas en agua Milli-Q (Fig. 1a) y tras su liberación a partir de microsferas de manitol (Fig. 1b) presentan un aspecto cristalino.

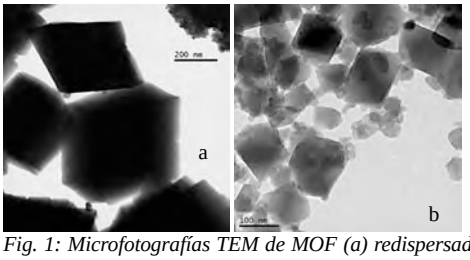


Fig. 1: Microfotografías TEM de MOF (a) redispersadas en agua Milli-Q y (b) liberadas a partir de las microsferas.

Las MOF fueron microencapsuladas en microsferas de sacáridos utilizando una técnica de atomización (tamaños ~ 3 µm). Las imágenes SEM de las microsferas de manitol conteniendo MOF (1:10) (Fig. 2) demuestran que las microsferas son esféricas, porosas y huecas.

Fig. 2: Microfotografías SEM de las microsferas MOFs:-Ma (1:10) (relación teórica MOF:manitol = 1:10, conc. manitol = 3.4% (p/p), contenido sólidos totales = 3.7% (p/p).

5. Conclusiones

Las MOF fueron microencapsuladas en microsferas de sacáridos utilizando una técnica de atomización. Las MOF pueden ser fácilmente liberadas de las microsferas. La atomización es una técnica que mejora la redispersión de las MOF.

6. Agradecimientos

Financiación del ISCIII (Acción Estratégica de Salud, PS09/00816) y de la Xunta de Galicia (Grupos de Referencia Competitiva-Fondos FEDER, Ref.2014/043).

Referencias

[1] Patricia HORCAJADA, Tamim. CHALATI y col., *"Porous metal–organic framework nanoscale carriers as a potential platform for drug delivery and imaging"*, Nature Materials, 9, 172-178, 2010.

[2] Ana GRENHA, Dayami CARRIÓN-RECIO y col., *"Nano and microparticulate carriers for pulmonary drug delivery, en Handbook of Particulate Drug Delivery"*, American Scientific Publishers, 2, 2, 165-192, 2008.

[3] John S. PATTON, Robert M. PLATZ, *"Pulmonary delivery of peptides and proteins for systemic action"*, Adv. Drug Deliv. Rev., 8, 179-196, 1992.

[4] Alfonso GARCÍA MÁRQUEZ, Aude DEMESSENCE y col., *"Green Microwave Synthesis of MIL-100 (Al, Cr, Fe) Nanoparticles for Thin-Film Elaboration"*, European journal of inorganic chemistry, 2012, 32, 5165-5174, 2012.

Estudio comparativo de los perfiles IR y DRX de Ebastina en comprimidos recubiertos

Marc SUÑÉ-POU[1], Anna NARDI RICART[1], Isaac NOFRERIAS ROIG[1], Xavier ALCOBÉ OLLÉ[2], María Dolors PUJOL DILME[3], Josep María SUÑÉ NEGRE[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Físico-Química, Facultad de Farmacia y Ciencias de los Alimentos, Universidad de Barcelona, Avda. Joan XXIII 27-31, Barcelona
2. Unidad de Difracción de Rayos X. Centros Científicos y Tecnológicos. Universidad de Barcelona
3. Dpto. de Farmacología, Toxicología y Química Terapéutica. Facultad de Farmacia y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Barcelona, Avda. Joan XXIII 27-31, Barcelona

Email de contacto: msunepou@gmail.com

1. Introducción

La ebastina es un compuesto antihistamínico de amplio uso. Para la preparación de formas farmacéuticas de administración oral, dicho compuesto presenta como inconveniente su carácter predominantemente hidrofóbico que provoca una baja solubilidad en agua y, en consecuencia, reduce su biodisponibilidad. Para obviar esta problemática, se necesitan procedimientos encaminados a mejorar la velocidad de disolución [1-2], siendo los fundamentales la reducción del tamaño de partícula, la formación de complejos fármaco-excipiente o la formación de dispersiones sólidas, entre otros, que aumente el coeficiente de solubilidad del fármaco. Nuestro grupo investigó en su momento la formación de una dispersión sólida de ebastina que pudiera dar lugar a su correcta biodisponibilidad, cuyos resultados fueron motivo de la patente española ES-2-380-229-T3, donde "*se describen composiciones en forma de matrices que consisten en dispersiones sólidas de ebastina en tensioactivos no iónicos que poseen un HLB entre 10 y 20 y un punto de fusión entre 30ºC y 70ºC, así como formas farmacéuticas orales solidas de ebastina que comprenden dichas matrices, particularmente comprimidos que presentan buenas propiedades en cuanto a solubilidad y biodisponibilidad, y una estabilidad mejorada*". En este trabajo, se pretenden estudiar las características de la ebastina existente en dos comprimidos del mercado, siendo uno de ellos el que aplica la invención de la patente indicada (Ebastina Stada 20 mg comprimidos recubiertos), y declarando el otro la misma composición cualitativa (Ebastina Aristo 20 mg comprimidos recubiertos), con el fin de comprobar la similitud entre ambas ebastinas, independientemente del proceso de obtención de la dispersión sólida utilizado (fusión, amasado, extrusión en caliente, evaporación de disolvente, mezcla simple) [3]. Si existiera dicha similitud, indicaría que en ambos comprimidos se tiene la misma disposición matricial, pudiéndose afirmar que en ambos, a igualdad de composición cualitativa, existe la misma dispersión sólida.

2. Material

Ebastina pura, principio activo. Infar SA Lote IN-020/16.

Ebastina Stada 20 mg comprimidos recubiertos. Lote 5BN115A. Cad. 02/2019.

Ebastina Aristo 20 mg comprimidos recubiertos. Lote 31111G1. Cad. 11/2017.

3. Métodos

Espectroscopia de infrarrojo (IR), según método general 2.2.24 de Ph Eur [4]. El equipo empleado es un FTIR Perkin Elmer modelo 1600.

Difración de rayos X, mediante el método del polvo. Se introduce parte del material en polvo en capilares de vidrio Lindemann de 0,7 mm de diámetro. Se ha utilizado el equipo Difractómetro PAnalytical X'Pert PRO MPD con goniómetro θ/θ de 240 milímetros de radio, configuración de

haz convergente con espejo elíptico y geometría de transmisión con portamuestras para capilares spinner, con las siguientes condiciones:

4. Resultados y Discusión

Se adjuntan los espectros IR realizados (Fig. 1) sobre los dos comprimidos motivo de estudio, resultando ser idénticos entre ellos. Ello implica la presencia en ambos comprimidos de ebastina con las mismas características en cuanto a pureza y composición química.

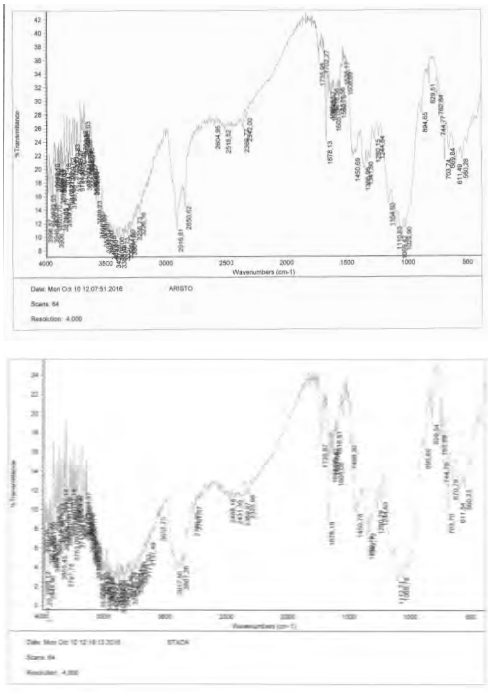


Fig. 1: IR de los dos comprimidos estudiados.

En la Figura 2 se muestran los difractogramas de rayos X obtenidos para los dos comprimidos y para ebastina materia prima, observándose que en todos los casos se tiene ebastina. Los difractogramas obtenidos a partir de los comprimidos son idénticos entre ellos. Por lo tanto, si en los comprimidos Ebastina Stada 20 mg resulta existir la dispersión sólida indicada en la patente comentada y los perfiles del IR y del difractograma de rayos X son idénticos a los obtenidos en los comprimidos Ebastina Aristo 20 mg, cabe concluir que en ambos comprimidos se tiene la misma dispersión sólida de ebastina.

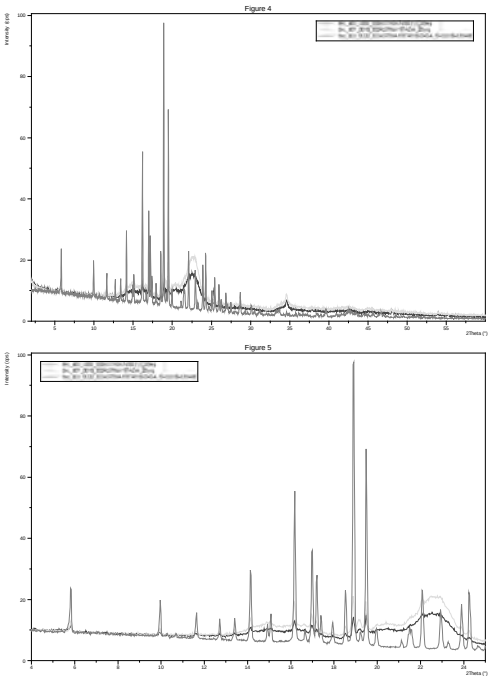


Fig. 2: DRX de los dos comprimidos estudiados.

5. Conclusiones

Dado que Ebastina Stada 20 mg comprimidos recubiertos aplica la patente española ES-2-380-229-T3, consistente en la formación de una dispersión sólida de ebastina y dado que Ebastina Aristo 20 mg comprimidos recubiertos declara la misma composición cualitativa que Ebastina Stada 20 mg comprimidos recubiertos, al obtenerse idénticos perfiles IR y DRX, debe concluirse que en los comprimidos de Ebastina Aristo 20 mg la ebastina también se encuentra formando una dispersión sólida de idénticas características

Referencias

[1] GONZÁLEZ I., CASABÓ V.G., BERMEJO M. Tecnologías para conocer la posibilidad de mejorar la biodisponibilidad oral. Ind Farm, 2007; XXII (134): 58-64.

[2] GARCÍA SÁNCHEZ M.J., DOMÍNGUEZ-GIL HURLÉ A. Preformulación de medicamentos. En Faulí Trillo C: Tratado de Farmacia Galénica. Editorial Luzán 5 SA. Madrid, 1993: 77-103.

[3] European Pharmacopoeia, 8th edition (2015). Http://online6.adqm.eu.sire.ub/ep807. Consultada en septiembre de 2016.

Situación Actual del Diseño y Desarrollo de Medicamentos Antitumorales con Liposomas como Sistemas Transportadores

P. GÁLVEZ-MARTÍN[1], M. M. MEDINA PÉREZ[1], J. LÓPEZ-VIOTA[2], M. LÓPEZ-VIOTA[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Campus Universitario de Cartuja, s/n. Universidad de Granada, 18071 Granada
2. Vircell Microbiologists, Granada, Spain

Email de contacto: mlvg@ugr.es

1. Introducción

La vehiculización de fármacos antitumorales en formulaciones basadas en el uso de liposomas es actualmente una de las principales estrategias en el diseño y desarrollo de nuevos fármacos y terapias oncológicas. La vehiculización de fármacos a través de liposomas representa una ventaja, ya que las terapias actuales presentan muchos inconvenientes derivados de la falta de selectividad de los fármacos por los tejidos tumorales. El uso de liposomas conlleva una mejora de la eficacia y una disminución de los efectos secundarios del fármaco libre debido a la especificidad en la diana [1,2].

El objetivo del presente trabajo es describir los medicamentos basados en liposomas que hay disponibles en la actualidad para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer.

2. Material y métodos

Para la realización de este trabajo se realizó una búsqueda en MEDLINE, PUBMED y clinicaltrials.gov de los principales fármacos antitumorales actualmente comercializados que incorporan liposomas como sistemas trasportadores.

3. Resultados

El número de medicamentos autorizados basados en el uso de liposomas es muy limitado. Muchos de ellos, se basan en el uso de liposomas conjugados con *polietilenglicol* (PEG). El primer "nanomedicamento" aprobado por la FDA fue la Doxorrubicina Liposomal Pegilada (PLD) con el nombre comercial Doxil®, mas adelante otros cuatro medicamentos fueron comercializados (Tabla 1), y 9 se encuentran en fase de estudio clínico, de los cuales 3 se encuentra en Fase I; 2 en Fase II; 5 en Fase I/II y 1 en Fase III.

Fármaco	Enfermedad	Tipo de liposoma	Nombre comercial
Vincristina	Linfoma no-Hodgkin	Convencional	Marqibo®
Daunorubicin	Leucemia y tumores sólidos	Convencional	Daunoxome®
Doxorubicina	Leucemia, cáncer de mama, cáncer ovarios y sarcoma Kaposi	Pegilado	Doxil® (Myocet®)
Citarabina	Meningitis neoplásica	Convencional	Depocyt®
Doxorubicina y bortezomib	Mieloma múltiple recidivante y resistente	Pegilado	

Tabla. 1: Medicamentos antineoplásicos comercializados actualmente basados en liposomas.

4. Discusión

De las diferentes estrategias que se han usado, el recubrimiento con PEG es una de las más comunes ya que representa una mejora significativa y contrastada de la permanencia en el organismo, por ello la mayoría de medicamentos basados en liposomas comercializados en la actualidad o en fases de ensayos clínicos son liposomas pegilados. A pesar de ello, parece no ser suficiente, por lo que van surgiendo a lo largo de los años, diferentes estrategias para mejorar la permanencia en el organismo y la selectividad. Una de estas

estrategias es el uso de inmunoliposomas, los cuales se dirigen a la célula diana por interacciones ligando-receptor [4.] Como los ligandos suelen ser anticuerpos monoclonales, los liposomas de este tipo pueden activar el sistema inmune, por lo que las investigaciones en este campo se centran en minimizar el poder inmunógeno, mediante el uso de fragmentos de anticuerpos. Otras estrategias, como el uso de liposomas sensibles a temperatura también están siendo objeto de muchos estudios, en los que se va modificando la composición de los liposomas con diferentes lípidos o combinaciones de ellos, para que la liberación del fármaco sea óptima. Otras estrategias son aún muy novedosas y aún no hay muchos datos acerca de ellas, por ejemplo, el uso de liposomas para el teranóstico.

5. Conclusiones

Actualmente son numerosos los estudios en fase experimental preclínica y clínica que se están llevando cabo siendo aun limitado el número de medicamentos antineoplásicos comercializados. Son numerosas las limitaciones que deben salvar los fármacos antitumorales y los sistemas de vehiculización con liposomas se presentan como una prometedora alternativa.

Referencias

[1] HYODO K., YAMAMOTO E., SUZUKI T., KIKUCHI H., ASANO M., ISHIHARA H. "*Development of Liposomal Anticancer Drugs*". Biol Pharm Bull, 36 (5): 703-7, 2013.

[2] MARTÍNEZ-SOLER G.I., PÉREZ-ARTACHO B., SÁEZ-FERNÁNDEZ E., GALLARDO V., ARIAS J.L. "*Drug delivery strategies based on the enhanced permeation and retention effect*". Ars Pharm, 51(3): 113-116, 2010.

[3] NING Y.M., HE K., DAGHER R., SRIDHARA R., FARRELL A.T., JUSTICE R., PAZDUR R. «*Liposomal doxorubicin in combination with bortezomib for relapsed or refractory multiple myeloma*». Oncology (Williston Park),21(12): 1503-8, 2007.

[4] ZHU L., TORCHILIN V.P. "*Stimulus-responsive nanopreparations for tumor targeting*". Integr Biol (Camb), 5(1): 96-107, 2013.

Diseño de partículas metálicas con aplicaciones biomédicas

B. PARERA[1], J. LÓPEZ-VIOTA[2], MªA. RUIZ[1], A. DELGADO[3], M. LÓPEZ-VIOTA[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus de Cartuja s/n. 18071 Granada, España
2. Vircell Microbiologists, Granada, Spain
3. Department of Applied Physics, Faculty of Sciences, University of Granada, Spain

Email de contacto: mlvg@ugr.es

1. Introducción

En comparación con las enzimas naturales, las nanopartículas metálicas capaces de ser adecuadas a un gran número de aplicaciones biológicas y biomédicas presentan la clara ventaja de que se pueden preparar a grandes escalas y bajo coste [2]. En especial, las de óxido metálicas, consideradas como sistemas inertes desde el punto de vista biológico, pueden funcionalizarse con polímeros o biomoléculas para conseguir una nueva forma de nanodiagnóstico puede aplicarse para varias enfermedades. El presente trabajo muestra cómo diseñar y caracterizar partículas metálicas de tamaño nanométrico, mediante un método de coprecipitación química [1], para fines biomédicos, como es el diagnóstico de enfermedades infecciosas.

2. Material y métodos

Todos los reactivos utilizados fueron adquiridos en Sigma – Aldrich (Madrid, España) y todos los procesos de síntesis fueron llevados a cabo con agua ultrapura desionizada (Mili – Q).

El objetivo propuesto se inicia con la síntesis de un núcleo metálico. Posteriormente se realiza un recubrimiento con diferentes polímeros y se estudia el efecto de la concentración de tensioactivo, para ver la influencia que tiene sobre el tamaño. Se realiza un estudio de las propiedades eléctricas superficiales en función del pH y por último se completa el estudio conjugando las nanopartículas sintetizadas con una suspensión de nanopartículas de cobre.

3. Resultados

3.1. Tamaño de las nanopartículas de látex magnético

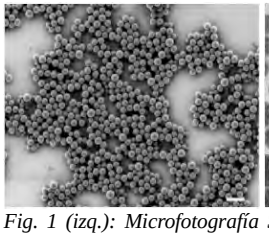
Como se puede apreciar, en la Tabla 1 el aumento de la concentración de SDS en el caso de las partículas sintetizadas con ácido metacrílico disminuye su tamaño, sin embargo, para las partículas sintetizadas con poliestireno sulfato sódico, a mayor concentración de SDS, mayor es el tamaño de las partículas obtenidas.

CONCENTRACIÓN DE SDS	TAMAÑO MEDIO DE PARTÍCULA (Ácido metacrílico)	TAMAÑO MEDIO DE PARTÍCULA (Poliestireno sulfato sódico)
0,1M	124,0±16,7nm	350,5±113,4nm
0,02M	185,0±23,8nm	302,1±53,5nm

Tabla 1: Tamaño medio de nanopartículas sintetizadas obtenido a diferentes concentraciones de SDS.

3.2. Morfología de las nanopartículas de látex magnético

Como puede apreciarse (Fig. 1 y Fig. 2) las partículas magnéticas que se encuentran en el interior, dan un contraste distinto.



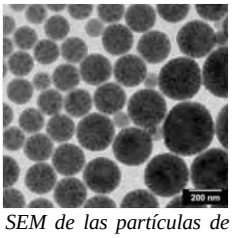
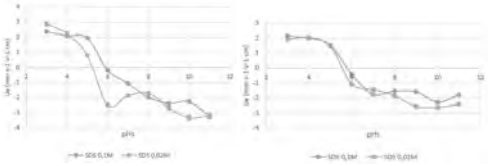


Fig. 1 (izq.): Microfotografía SEM de las partículas de látex magnético sintetizadas. Barra de error 500nm.
Fig. 2 (dcha.): Microfotografía TEM de las partículas de látex magnético sintetizadas.

3.3. Carga eléctrica superficial de las nanopartículas de látex magnético

En las gráficas 1 y 2 como se puede apreciar, todas las partículas muestran un punto isoeléctrico entre valores de pH comprendidos entre 5 y 6. Para valores de pH más básicos la carga eléctrica superficial es negativa, y esta aumenta en valor absoluto cuando más básico es el pH del medio.



Gráfica 1 (izq.): Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las partículas de ácido metacrílico sintetizadas con SDS 0,1M y 0,02M.
Gráfica 2 (dcha.): Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las partículas de poliestireno sulfato sódico sintetizadas con SDS 0,1M y 0,02M.

3.4. Tamaño de las nanopartículas de látex magnético con cubierta de cobre

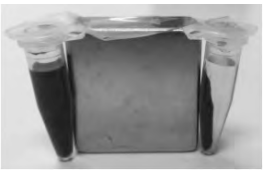
Como se puede apreciar, en la Tabla 2 se muestra que para ambos sistemas, el tamaño es similar.

TIPO DE PARTÍCULA	TAMAÑO DE PARTÍCULA (nm)
ÓXIDO DE COBRE	8,0±2,0nm
LÁTEX MAGNÉTICO Y COBRE (Ácido metacrílico)	230,5±55,1nm
LÁTEX MAGNÉTICO Y COBRE (Poliestireno sulfato sódico)	247,3±71,7nm

Tabla. 2: Medidas de tamaño medio de nanopartículas conjugadas con óxido de cobre.

3.5. Morfología de las nanopartículas de látex magnético con cubierta de cobre

Las partículas de cobre se adsorben sobre la superficie de las partículas de látex tal y como se muestra en la Fig. 3 y 4 obtenida por microscopía electrónica.



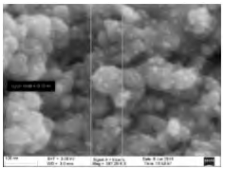
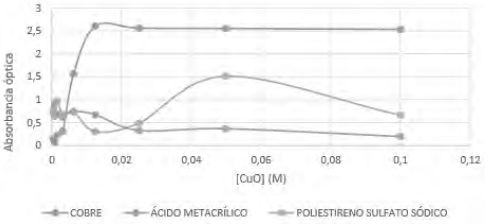


Fig. 3 (izq.): Comparación del efecto magnético adquirido de la solución inicial de óxido de cobre (izquierda) tras la conjugación con las nanopartículas de látex magnético (derecha).
Fig. 4 (dcha.): Microscopía electrónica de barrido (SEM) de las nanopartículas de látex magnético (de ácido metacrílico) recubierta con óxido de cobre.

3.6. Absorbancia óptica de las nanopartículas de látex magnético con cubierta de cobre

En la gráfica 3 se aprecia adsorción de las partículas de cobre. A simple vista se observa que para las concentraciones más altas de partículas de cobre, una vez han estado en contacto con las suspensiones de látex, el color resultante en el sobrenadante de las suspensiones se atenúa, y por tanto la absorbancia registrada disminuye.



Gráfica 3: Medidas de absorbancia óptica de la suspensión original de partículas de cobre y del sobrenadante resultante tras ponerlas en contacto con las partículas de látex sintetizadas. Medidas realizadas a λ285nm.

4. Discusión

Tras evidenciar los resultados, las propiedades finales que poseen las nanopartículas sintetizadas conceden la posibilidad de utilizarlas, por un lado, como transporte (bien de fármacos, bien de proteínas, o bien de aquella sustancia que sea capaz de adsorberse a la superficie de estas nanopartículas) a un objetivo diana gracias al efecto magnético del núcleo, y por otro lado como antimicrobianas y otras diversas funciones que son propiedades innatas que posee el cobre.

5. Conclusiones

El diseño propuesto y llevado a cabo recientemente, proporciona unos resultados adecuados para su posterior utilización en el campo biomédico.

Referencias

[1] GAO, L. *et al.*, “Intrinsic peroxidase-like activity of ferromagnetic nanoparticles. Nat Tech, 2: 577-583 (2007).

[2] R. MASSART, “Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media”, IEEE Transactions Magnetics, Vol. 17, 2, 1247-1248, (1981).

Evaluation of polyurethane P539 matrix tablets obtained by traditional and ultrasound-assisted compression

Renata ABREU VILLELA, Ángela AGUILAR-DE-LEYVA, Isidoro CARABALLO

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Sevilla, c/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla, España

Email de contacto: caraballo@us.es

1. Introduction

Polyurethane is a unique material that offers the elasticity of rubber combined with the toughness and durability of metal [1]. Thermoplastic Polyurethanes (TPU) consists of alternating hard segments (HS) in a continuous phase of soft segments (SS): HS contribute to the polymers' strength due to the formation of intermolecular hydrogen bonds between urethane structures and SS fraction provides the polymer elasticity [2,3]. The use of polyurethanes as carrier for the production of sustained release formulations is favorable due to their highly elastomeric character, superior tensile strength, crack resistance and inherent lubricity. They have been successfully used for many years as drug release controlling polymers in vaginal rings, stents, coatings, implants and medical tubing [3].

Ultrasound energy has been used for several years to mold plastic materials. Some polymeric excipients and drugs that are thermoplastic or show a thermoplastic behavior, undergo a sintering process when subjected to ultrasound-assisted compression [4].

The aim of this study is to compare the release behavior of binary matrix systems with different ratios of theophylline and TPU539, prepared employing an US-assisted press and an eccentric machine.

2. Materials and Methods

Matrix tablets were manufactured using theophylline (Acofarma, España) as model drug and Pearlbond polyurethane (P539) (Lubrizol Company, Spain). The TPU was nonmedical grade with HS composed of methylene diphenyl diisocyanate and SS composed of polycaprolactone (SS/HS ratio: 150, molecular mass: 67500 Da, melting point: 56 ºC). Commercial TPU539 is supplied as spherical white granules of high strength so it has been transformed into a particulate solid suitable for compression by solubilization with acetone and posterior addition of isopropyl alcohol in continuous agitation and evaporation. Particles under 850µm have been selected.

Rheological evaluation of the polymer has been carried out based in the SeDeM Expert system which provides information about the ability of a powder for direct compression [5].

Powder mixtures containing 20, 30 and 40% w/w of TPU539 have been blended for 5 minutes in a Turbula mixer (Willy A. Bachofen, Switzerland). Lots of 50 matrix tablets of 250 mg were prepared using both an eccentric tableting machine (Bonals A-300, Spain) and an US-assisted tableting machine (IMA, Italy) employing 14-mm punches and 850J US energy.

Dissolution studies have been performed in a dissolution apparatus II (Sotax AT7 smart, Switzerland), using 900 ml of distilled water at 37 ± 0.5 ºC and 50 rpm. 5 ml samples were withdrawn at each time period during 8 h and measured in a UV/VIS spectrophotometer (Agilent 8453, California, USA) at 272 nm. The assay was performed in six replicates. The theophylline content was calculated using a previously determined calibration curve.

3. Results and discussion

The results of the rheological studies were expressed in form of a SeDeM diagram (see Fig. 1). The Parametric Profile (IPP=5.69) and the Good Compression Index (IGC= 5.32) predict that the polymer has adequate flow properties, being

suitable for direct compression without adding flow agents.

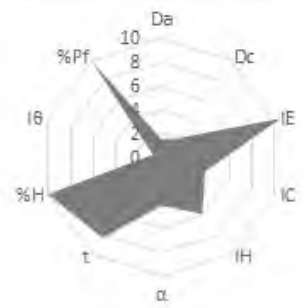


Fig. 1: SeDeM diagram for TPU539.

Figures 2 and 3 show the dissolution profiles of the tablets studied. It can be observed that TPU539 shows a good ability to control the drug release since traditional tablets containing above 30% of polymer release 90% of theophillyne after 6 h.

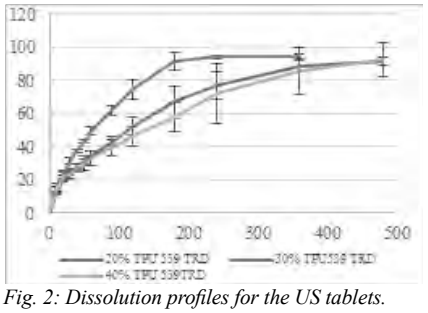


Fig. 2: Dissolution profiles for the US tablets.

A higher control of the drug release is achieved in the case of US compacted tablets, since tablets containing above 30% of polymer only release around 70% of theophylline after 8 h.

The existence of a TPU539 percolation threshold can be appreciated between 20 and 30% (w/w) of polymer for the two manufacture methods.

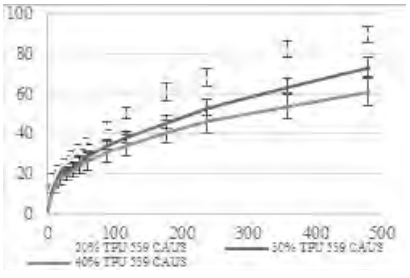


Fig. 3: Dissolution profiles for the US tablets.

4. Conclusions

It can be concluded that TPU539 shows good compactability properties and ability of controlling drug release, which is improved in batches prepared employing the US-assisted tableting machine. The TPU539 percolation threshold is situated between 20 and 30% of polymer.

5. Acknowledgements

Financial support by *Coordenação* de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (*Capes*).

References

1. J. NJUGUNA, K., PIELICHOWSKI, *Recent developments in polyurethane-based conducting composites.* Journal of Materials Science. 39, 4081-4094, 2004.
2. U. BRAUN, E. LORENZ, C. WEIMANN, H. STURM, I. KARIMOV, J. ETTL, R. MEIER, W.A. WOHLGEMUTH, H. BERGER, M. WILDGRUBER. *Mechanic and surface properties of central-venous port catheters after removal: A comparison of polyurethane and silicon rubber materials*. J. Mech. Behav. Biomed. Mater., 64, 281-91, 2016.
3. B. CLAEYS, A. VERVAECK, X.K.D. HILLEWAERE, S. POSSEMIERS, L. HANSEN, T. BEER, J.P. REMON, C. VERVAET. *Thermoplastic polyurethanes for the manufacturing of highly dosed oral sustained release matrices via hot melt extrusion and injection molding*. Eur. J. Pharm. Biopharm, 90, 44-52, 2015.
4. L. RODRIGUEZ, M. CINI, C. CAVALLARI, N. PASSERINI, M. FABRIZIO SAETTONE, A. FINI, O. CAPUTO. *Evaluation of theophylline tablets compacted by means of a novel ultrasound-assisted apparatus*. Int. J. Pharm., 170, 201-208, 1998.
5. M.D. CAMPIÑEZ, C. FERRIS, M. V. de PAZ, A. AGUILAR-DE-LEYVA, J. GALBIS, I. CARABALLO. *A new biodegradable polythiourethane as controlled release matrix polymer.* Int. J. Pharm., 480, 63-72, 2015.

Dispersiones sólidas de indometacina y L-HPC: velocidad de disolución a pH=4,5

Estefanía TASCÓN OTERO[1], Eva NAVARRO RUIZ[1], Paloma M. DE LA TORRE IGLESIAS[1,2], María Ángeles PEÑA FERNÁNDEZ[3], Covadonga ÁLVAREZ ÁLVAREZ[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España
2. Instituto de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España
3. Dpto. Ciencias Biomédicas, Unidad Docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid, España

Email de contacto: etascon@ucm.es

1. Introducción

La indometacina es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo que inhibe la ciclooxigenasa, con el fin de reducir los precursores de las prostaglandinas y tromboxanos. [1]

Este fármaco pertenece a la clase II según la clasificación biofarmacéutica, es decir, presenta una alta permeabilidad y una baja solubilidad. [1]

El objetivo es de este trabajo es aumentar la solubilidad de la indometacina con el fin de reducir el daño gastrointestinal que puede provocar. Para conseguirlo, se preparan cinco diferentes dispersiones sólidas [2,3] (en adelante DS) de indometacina:L-HPC, utilizando L-HPC como vehículo, (1:0; 1:1; 1:5; 1:10; 1:20). Posteriormente, se realizan estudios de velocidad de disolución a pH=4,5 (condiciones sink), para comparar el perfil de disolución con la materia prima a este mismo pH y elegir las formulaciones con mejores velocidades de disolución.

2. Material y métodos

2.1. Preparación de las dispersiones sólidas

Se preparan cinco DS con diferentes proporciones de indometacina: LHPC (1:0; 1:1; 1:5; 1:10; 1:20). [4]

Para ello, primero se disuelven 20 mg de indometacina en 20 mL de tampón a pH=8,4 con laurilsulfato sódico (2,5 mg por formulación) y se mantiene bajo agitación magnética 4 horas.

Una vez disuelta la sustancia activa, se dispersan diferentes cantidades de L-HPC.

Posteriormente, todas las formulaciones se liofilizan y finalmente se realiza una tamización (125-500 µm), con el fin de homogeneizar el tamaño de partícula de las mismas.

2.2. Ensayos de velocidad de disolución

Para estudiar los perfiles de disolución de las distintas DS se realizan varios estudios de velocidad de disolución a pH=4,5 (condiciones sink).

El equivalente de 10 mg de indometacina se pone en contacto con 900 mL de tampón a pH=4,5 en el Aparato 2 (paletas) a 50 rpm. Se realiza toma de muestras a diferentes tiempos, filtrando a través de una membrana de 0,45 µm (Millipore®), y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 266 nm.

3. Resultados y discusión

La Figura 1 muestra las principales diferencias entre los perfiles de disolución de la indometacina materia prima (MP) y las diferentes DS a

pH=4,5.

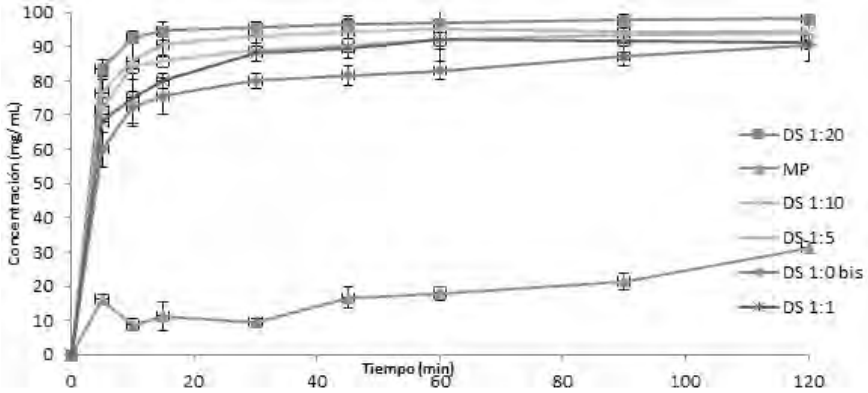


Fig. 1: Perfiles de disolución de las DS de indometacina a pH=4,5.

Como se observa en la Figura 1 las dispersiones sólidas de indometacina presentan más de un 90% de principio activo disuelto a los 5 minutos. Sin embargo, la indometacina materia prima tan sólo presenta disuelto un 29,97 % de su contenido a los 5 minutos.

Esto puede ser debido al cambio de estado que experimenta la materia prima, de cristalino a amorfo por el proceso de liofilización [5].

Asimismo se observa cómo incrementos en la cantidad de L-HPC aumentan la velocidad de indometacina, probablemente debido a una disminución en el grado de cristalinidad de la sustancia activa [6].

4. Conclusiones

A la vista de los resultados obtenidos se puede concluir que todas las DS mejoran la velocidad de disolución de la indometacina materia prima. Por otra parte, al incrementar la cantidad de L-HPC se incrementa la velocidad de disolución del fármaco.

En estudios futuros se realizarán caracterización de las distintas DS con otras técnicas analíticas (DSC y XRD) para corroborar los resultados obtenidos. Así mismo, se seleccionará el granulado con las mejores características de liberación in vitro y se realizarán ensayos in vivo para estudiar su disminución de toxicidad gástrica.

Referencias

[1] Agencia española de Medicamentos y Productos Sanitarios. MSC Madrid. 2006. Inacid®. www.aemps.gob.es/cima/.

[2] M.B., DELGADO CHARRO, F.J., OTERO ESPINAR, J., BLANCO MÉNDEZ, "Tecnología Farmacéutica". (1999).

[3] A. MUÑOZ-RUIZ, M.V. VELASCO-ANTEQUERA, M.C. MONEDERO-PERALES, M.R. JIMÉNEZ-CASTELLANOS, "Tecnología Farmacéutica". (1999).

[4] M. EL-BADRY, G., FETIH, M., FATHY, "Improvement of solubility and dissolution rate of indomethacin by solid dispersions in Gelucire 50/13 and PEG4000". Saudi Pharmaceutical Journal, 7, 217-225, 2009.

[5] J.J. GARCÍA-RODRIGUEZ, P.M. de la TORRE-IGLESIAS, M. Carmen VEGAS-SÁNCHEZ, S. TORRADO-DURÁN, F. BOLÁS-FERNÁNDEZ, S TORRADO-SANTIAGO. "Changed crystallinity of mebendazole solid dispersion: Improved anthelmintic activity". International Journal of Pharmaceutics 403, 23-28, 2011.

[6] Paloma M. de la TORRE-IGLESIAS, J.J. GARCÍA-RODRIGUEZ, G. TORRADO-DURÁN, S. TORRADO-DURÁN, S. TORRADO-SANTIAGO F. BOLÁS-FERNÁNDEZ. "Enhanced bioavailability and anthelmintic efficacy of mebendazole in redispersible microparticles with low-substituted hydroxypropylcellulose". Drug Design, Development and Therapy 8, 1467-1479, 2014.

Caracterización *in vitro* de formulaciones colónicas

Eva NAVARRO RUIZ[1], Estefanía TASCÓN OTERO[1,], Covadonga ÁLVAREZ ÁLVAREZ[1,2], Juan J. GARCÍA RODRÍGUEZ[3,], Paloma M. DE LA TORRE IGLESIAS[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España
2. Instituto de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España
3. Dpto. de Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España

Email de contacto: eva.navarro.ruiz@gmail.com

1. Introducción

El Meloxicam (MLX) es un antiinflamatorio no esteroidico (AINE) de la familia Oxicam [1-8]. Este grupo de AINEs se ha utilizado frecuentemente en el tratamiento de la artritis reumática y las inflamaciones postoperatorias; además se le conocen buenas propiedades antioxidantes. Recientemente, se ha visto que tienen utilidad en la quimioprevención, quimiosupresión y protección UV. El MLX es un inhibidor selectivo de la COX – 2 [3, 4, 7, 8-11], con gran selectividad y menores efectos adversos gastrointestinales. Debido a que este fármaco se absorbe bien en la región colónica, se están estudiando sus propiedades contra el cáncer de colon y enfermedades de esta zona, por lo que es interesante investigar nuevas formulaciones de liberación colónica de esta sustancia [1, 3, 4, 10-13].

2. Materiales y métodos

Materiales: Meloxicam (MLX, Fagron, Barcelona, España); Methylcellulose (MC, Metolose® 90 SH 100, Shin-Etsu Chemical Co., Ltd., Tokyo, Japón); dispersión acuosa de un copolímero de acrilato de etilo y metacrilato de metilo (EUDRAGIT ® RS 30D, EUDRAGIT ® FS 30D y Eudragit® NM 30D, regalo de Evonik Röhm, Alemania); alfa-lactosa monohidrato (L, Fagron , Barcelona, España). Todos los productos de grado farmacéutico o superior.

Preparación de formulaciones: El MLX a estudio se granuló con lactosa y Eudragit®. Se emplearon tres tipos diferentes de Eudragit®: RS, FS y NM; algunos granulados contenían el 5% de celulosa (Metolose® 90 SH 100). Se prepararon distintos granulados [Tabla 1] con distintas proporciones de todos estos componentes y se seleccionaron aquellos gránulos con diámetro comprendido entre 0,5 y 1,41 mm.

FORMULACIONES	MLX (%)	L (%)	MC (%)	EUDRAGIT ® RS	EUDRAGIT ® FS	EUDRAGIT ® NM
RS	17,5	53,0	0	30,0	0	0
FS	17,5	53,0	0	0	30,0	0
NM	17,5	53,0	0	0	0	30,0
RS+FS	17,5	53,0	0	15,0	15,0	0
NM+FS	17,5	53,0	0	0	15,0	15,0
CRS	17,5	48,0	5,0	30,0	0	0
CFS	17,5	48,0	5,0	0	30,0	0
CNM	17,5	48,0	5,0	0	0	30,0
CRS+CFS	17,5	48,0	5,0	15,0	15,0	0
CNM+CFS	17,5	48,0	5,0	0	15,0	15,0

Tabla 1: Composición de las formulaciones.

Liberación *in vitro*: Los granulados se sometieron a una prueba de velocidad de disolución en un aparato de disolución que contenía en sus cestillos 10 mg de MLX o su equivalente en granulado con 500 ml de pH 1,2, a 37ºC y 50 rpm, durante 2h, tras las cuales el medio fue completado con 167 ml de tampón hasta alcanzar pH 6,8, 37ºC y 50 rpm durante 3 horas, después, se añadieron 5 ml de NaOH 2M para obtener pH 7,4, 37ºC y 50 rpm. El experimento duró 24 horas. Se tomaron alícuotas cada hora las primeras dos horas y cada media hora hasta las 8 horas, tomando una última

muestra a las 24h. Las muestras se midieron sin diluir en el espectrofotómetro a 364nm de longitud de onda. Cada determinación fue realizada por triplicado a cada tiempo y la desviación estándar se representó con barras de error en la gráfica de resultados.

3. Resultados y Discusión

El ensayo de velocidad de disolución [Fig. 1] mostró que el granulado que mejores resultados obtuvo fue CNM, que contenía Eudragit® NM y un 5% de celulosa, liberando el 94,52% del principio activo a las 8h, resultando un perfil de cesión más equilibrado. El granulado FS resultó ser el más lento, cediendo solo el 24,52% de MLX a las 8h.

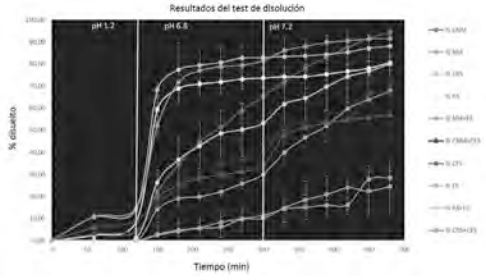


Fig. 1: Perfiles de liberación a 37 ºC de varios productos en SCF: CNM (-•-); NM (-•-); CRS (-•-); RS (-•-); NM+ FS (-•-); CNM+CFS (-•-); FS (-•-); CFS (-•-); RS+FS (-•-); y CRS+CFS (-•-).

Como granulado intermedio se selecciona el CFS, que libera un 56,69% tras 8h. Se observa que, tras añadir celulosa (Metolose® 90 SH 100), el coeficiente de solubilidad se incrementa porque facilita la desintegración de la formulación.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado una nueva formulación multiparticular de MLX de liberación colónica, fácil y económica de producir industrialmente. Para estudios sucesivos se seleccionarán el granulado con mayor porcentaje de liberación a las 8h (CNM), el de menor porcentaje (FS) y el granulado de resultado intermedio (CFS) y se realizarán ensayos *in vivo* y otros estudios con otras técnicas analíticas para corroborar los resultados obtenidos.

Referencias

[1] R. SRIVASTAVA, D. KUMAR y K. PATHAK. "Colonic luminal surface retention of meloxicam microsponges delivered by erosion based colon-targeted matrix tablet". International Journal of Pharmaceutics 427: 153-62. 2012.

[2] R. KUMAR SHUKLA y A. TIWARI. "Carbohydrate Polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon". Carbohydrate Polymers 88: 399-416 2012.

[3] M.M. PATEL y A.F. AMIN. "Formulation and development of release modulated colon targeted system of meloxicam for potential application in the prophylaxis of colorectal cancer". Drug Deliv 18: 281-93. 2011.

[4] M. TSUJII. "COX-2 inhibitor and colon cancer". Gan to Kagaku Ryoho 28: 1799-805. 2001.

[5] C. GAO, J. HUANG, Y. JIAO, L. SHAN, Y. LIU *et al.* "In vitro release an in vivo absorption in Beagle dogs of Meloxicam from Eudragit FS 30 D-coated pellets". Int J Pharm 322: 104-12. 2006.

[6] D.M. MISHRA y S.G. VIJAYA KUMAR. "Preparation, characterization and in vitro dissolution studies of solid dispersion of meloxicam with PEG 6000" Yakugazu Zasski 127: 495-8. 2006.

[7] C. BAUER, P. FROST y S. KISCHNER. "Pharmacokinetics of 3 formulations of meloxicam in cynomolgus macaques (Macaca fascicularis)". J Am Assoc Lab Anim Sci 53: 502-11. 2014.

[8] M.E. GRUEN, E. GRIFFITH, A. THOMSON, W. SIMPSON y BDX LASCELLES. "Detection of clinical relevant pain relief in cats with degenerative joint disease associated pain". J Vet Inter Med 28: 346-50. 2014.

[9] C.T. SENGEL-TÜRK, C. HASÇIÇEK, A.L. DOGAN, ESENDAGLI, D. GUC y N. GÖNUL. "Preparation and in vitro evaluation of meloxicam-loaded PLGA nanoparticles on HT-29 human colon adenocarcinoma cells". Drug Dev Ind Pharm. 38: 1107-16. 2012.

[10] A.P. GOLDMAN, C.S. WILLIAMS, H. SHENG, L.W. LAMPS, V.P. WILLIAMS *et al.* "Meloxicam inhibits the growth of colorectal cancer cells". Carcinogenesis 19: 2195-9. 1998.

[11] Y. TSUBOUCHI, S. MUKAI, Y. KAWAHITO, R. YAMADA, M. KOHNO *et al.* "Meloxicam inhibits the growth of non-small cell lung cancer". Anticancer Res 20: 2867-72. 2000.

[12] V. JAIN y R. SINGH. "Development and characterization of Eudragit RS100 loaded microsponges and its colonic delivery using natural polysaccharides". Acta Pol. Pharm: Drug Res. 67: 407-15. 2010.

[13] L. PALUGAN, M. CEREA, L. ZEMA, A. GAZZANIGA, A. MARONI "Coated pellets for oral colon delivery", J Drug Del Sci Tech 25: 1-15. 2015.

Preformulation studies of two new biodegradable polyurethanes to be used as controlled release excipients by direct compression

María Dolores CAMPÍÑEZ[1], Elena BENITO[2], Lucía ROMERO-AZOGIL[2], Ángela AGUILAR-DE-LEYVA[1], María de Gracia GARCÍA-MARTÍN[2], Juan Antonio GALBIS[2], Isidoro CARABALLO[1]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Seville, Profesor García González 2, 41012 Seville, Spain
2. Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry, University of Seville, Profesor García González 2, 41012 Seville, Spain

Email de contacto: mcampinez@us.es

1. Introduction

The rational design of polymers for the development of novel biomedical applications is being a hot topic in the synthesis of new materials. In the last years, a wide range of natural and synthetic polymers with particular biomedical applications, capable of undergoing degradation by hydrolytic or enzymatic mechanism, have been synthesized [1]. Among the synthetic materials used in biomedicine, polyurethanes (PUs) are being widely investigated due to their low toxicity, potential biodegradability, biocompatibility, and versatile structures.

Preformulation studies of the polymers employed in the manufacture of matrix tablets are essential to estimate the suitability of the excipients for direct compression. In this sense, Suñé Negre *et al*. [2] have developed an expert system called SeDeM that provides information about the ability of active ingredients and excipients to be processed by direct compression.

The SeDeM expert system evaluates the attributes having an impact on the quality of the final product, making possible the improvement of the formulation from a science based perspective, in agreement with the principles of Quality by Design (QbD), described in the guidelines of the International Conference on Harmonisation (ICH Q8) [3-4].

2. Materials and Methods

2.1. Materials

Theophylline anhydrous and the new polymers PU(Dithiodiethanol-DTDI) **(PU1)** and PU[(IPr) Man-DTDI] **(PU2)** were used. The API was purchased from Acofarma (Barcelona, Spain) and the polymers were synthesizedat the Department of Organic and Pharmaceutical Chemistry, University of Seville.

2.2. Methods

SeDeM expert systemwas used to carry out the preformulation studies of the polymers employed. This method is based on the experimental measurement of a number of rheological parameters of the powder, followed by classification in different groups depending on the property that they are measuring (dimension, compressibility, flowability/powder flow, lubricity/stability and lubricity/dosage).

The polymers were subjected to rheological studies and the obtained results were normalised, using a scale from 0 to 10.

The normalised values, also called radius values (r), were then plotted in the SeDeM Diagram and connected with lineal segments.

Additionally, to determine whether the product is suitable for direct compression, the Parametric

index (IP), Parametric profile index (IPP) and Good compression index (IGC) were calculated based on SeDeM Diagram.

3. Results and Discussion

The obtained values were normalized and represented as radius values in the diagram shown in Figure 1 for **PU1** and Figure 2 for **PU2**. This provides intuitive and valuable information about the type of substances that would be adequate for obtaining a direct compression powder blend containing these excipients.

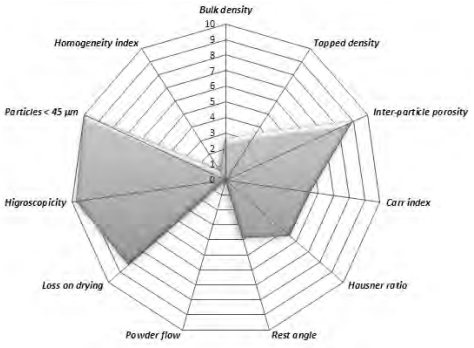


Fig.1: SeDeM Diagram for PU1.

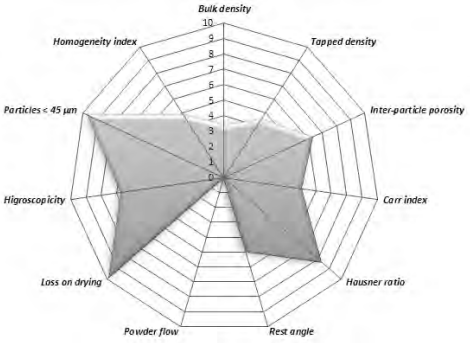


Fig.2: SeDeM Diagram for PU2.

The results of the Parametric Profile (mean radius) (5.31 for **PU1** and 5.78 for **PU2**) and the Good Compression Index (5.00 for **PU1** and 5.45 for **PU2**), are higher than 5, therefore they are considered as adequate for direct compression without adding a flow agent. The obtained values are better than those reported for other polyurethane studied previously [5] and even higher than the value reported for hydroxypropylmethyl cellulose (HPMC) [6], one of the most used excipient for prolonged release.

4. Conclusions

According to the SeDeM method, these new biodegradable polymers show adequate rheological properties to be used as matrix forming excipient by direct compression, even without addition of flow agents. Furthermore, using the SeDeM diagram, the strong and the weak aspectsof the rheology of these polymers can be easily appreciated, providing a rational basis for the design of a solid dosage forms, contributing to build up a database that improves the formulation and helping to correct the weak points of a substance with other components of the formulation.

5. Acknowledgements

The authors would like to express their gratitude to the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness and FEDER Funds (European Union), projects MAT2012-38044-C03-01 and MAT2012-38044-C03-02 and the Regional Government of Andalusia, project P12-FQM-1553, for funding this research.

References

[1] NAIR, L.S., LAURENCIN, C.T., 2007. Biodegradable polymers as biomaterials. Prog. Polym. Sci. 32, 762-798.

[2] SUÑÉ NEGRÉ, J.M., ROIG CARRERAS, M., GARCÍA, R.F., MONTOYA, E.G., LOZANO, P.P., AGUILAR, J.E., CARMONA, M.M., TICÓ GRAU, J.R., 2013. SeDeM Diagram: an expert system for preformation, characterization and optimization of tablets obtained by direct compression, in: Formulation Tools for Pharmaceutical Development. pp. 109-135.

[3] EMEA, 2004. Guideline on ICH Topic Q8, Note for Guidance on Pharmaceutical Development., n.d.

[4] GALDÓN E., CASAS M., GAYANGO M, CARABALLO I., 2016. First study of the evolution of the SeDeM Expert System parameters based on percolation theory: Monitoring of their critical behavior. *In press.*

[5] CAMPIÑEZ, M.D., FERRIS, C., DE PAZ, M.V., AGUILAR-DE-LEYVA, A., GALBIS, J., CARABALLO, I., 2015. A new biodegradable polythiourethane as controlled release matrix polymer. Int. J. Pharm. 480, 63-72.

[6] SAURÍ, J., MILLÁN, D., SUÑÉ-NEGRE, J.M., PÉREZ-LOZANO, P., SARRATE, R., FÀBREGAS, a., CARRILLO, C., MIÑARRO, M., TICÓ, J.R., GARCÍA-MONTOYA, E., 2014. The use of the SeDeM diagram expert system for the formulation of Captopril SR matrix tablets by direct compression. Int. J. Pharm. 461, 38-45.

Estudios de Preformulación de Nanopartículas Lipídicas Sólidas mediante Calorimetría Diferencial de Barrido

Helena ROUCO TABOADA, Carmen REMUÑÁN-LÓPEZ, Mariana LANDÍN

Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela, Praza Seminario de Estudos Galegos, s/n, Santiago de Compostela

Email de contacto: helena.rouco@rai.usc.es

1. Introducción

Las Nanopartículas Lipídicas Sólidas (SLN) son sistemas coloidales preparados con lípidos sólidos a temperatura ambiente y corporal y, con surfactantes generalmente reconocidos como seguros, que se emplean para estabilizar los nanotransportadores evitando su agregación [1].

Uno de los métodos empleados en el desarrollo de SLN es la homogeneización a alta cizalla en caliente, que permite obtener nanopartículas de forma sencilla, evitando el uso de excipientes orgánicos [2]. La incorporación del fármaco en este procedimiento se realiza mediante su adición al lípido fundido [2], lo que hace conveniente la realización de estudios preliminares, para establecer potenciales interacciones entre el fármaco y el lípido y/o estudiar la solubilización del fármaco en el lípido fundido.

La Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) permite evaluar, de forma rápida y sencilla, las interacciones entre los componentes de una formulación mediante el análisis de sus mezclas. Así, el proceso de disolución del fármaco en el lípido se pone claramente de manifiesto mediante la reducción de la entalpía de fusión característica del fármaco [3].

Este trabajo se centra en explorar las interacciones fármaco-lípido como etapa previa en el desarrollo de SLN.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Gliceril dibehenato [(GDB) Gattefossé, Francia], gliceril tristearato [(GDT) Sigma Aldrich, EEUU], rifabutina [(RFB) Carbosynth Limited, UK], clofazimina [(CLZ) Santa Cruz Biotechnology, EEUU], claritromicina [(CLT) Tokyo Chemical Industry, India).

2.2. Métodos

Se prepararon y homogeneizaron en mortero, mezclas binarias de lípido (GDB o GDT) con un 5 o un 10% de los fármacos estudiados (claritromicina, clofazimina o rifabutina).

Se evaluaron mediante DSC de temperatura modulada (DSC Q100, TA Instruments, New Castle, DE) muestras de las materias primas y sus mezclas (1-3mg) acondicionadas en cápsulas de aluminio no herméticamente cerradas. Las muestras se calentaron a una velocidad de 5 ºC/min entre 25 y 300 ºC.

3. Resultados y Discusión

En la Figura 1 se presentan los termogramas de DSC de las materias primas y, a modo de ejemplo, los correspondientes a las mezclas de los fármacos con gliceril dibehenato. En ellos se señalan los eventos endotérmicos asociados a la fusión de los diferentes fármacos y/o lípidos.

Los resultados corroboran las temperaturas de fusión nominales de los lípidos que fueron de 70 y 73 ºC para el gliceril dibehenato y el gliceril tristearato, respectivamente.

En la misma línea, los termogramas obtenidos para los diferentes fármacos están acordes con los descritos en la bibliografía para los diferentes fármacos. Así, la claritromicina y la clofazimina (Fig. 1A) presentan un único evento endotérmico a 227 y 220 ºC respectivamente que corresponde con su temperatura de fusión.

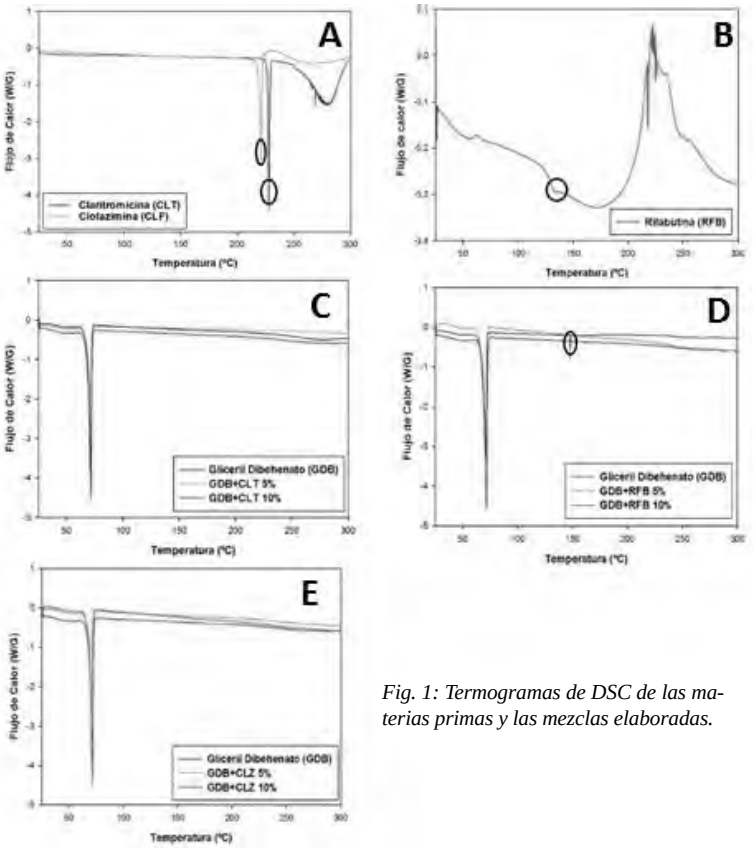


Fig. 1: Termogramas de DSC de las materias primas y las mezclas elaboradas.

El termograma para la RFB (Fig. 1B) presenta un evento a 149ºC que ha sido relacionado con la endoterma de fusión del fármaco [2].

Las mezclas fármaco-lípido muestran en todos los casos el evento relacionado con la fusión del lípido, sin variaciones significativas en la posición ni en la entalpía asociada al pico. Por el contrario, se produce la desaparición de los eventos correspondientes a la fusión de los fármacos, lo que es indicativo de que se produce su disolución completa en el lípido fundido (Fig. 1C y E). Este comportamiento presenta la excepción de la mezcla correspondiente al porcentaje más alto de RFB en el lípido GDB, para la que se mantiene un evento a 150ºC que sugiere la disolución incompleta del fármaco cuando se incorpora en esta proporción (Fig. 1D).

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la utilidad de la técnica de DSC para el estudio de las interacciones de los fármacos empleados, de naturaleza lipofílica con lípidos base para la elaboración de SLN y sugieren la conveniencia del empleo del GDT para la incorporación de todos los fármacos en la proporción más elevada, o bien GDB con porcentajes más reducidos de RBT.

4. Agradecimientos

Trabajo financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad del Gobierno de España (SAF 2012-39878-C02-01) y ISCIII (Acción Estratégica de Salud, PS09/00816).

Referencias

[1] DAS y CHAUDHURY *"Recent advances in lipid nanoparticles formulations with solid matrix for oral drug delivery"*, AAPS Pharm. Sci. Tech. 12, 1, 62-76, 2011.

[2] GASPAR *et al*. *"Rifabutin-loaded solid lipid nanoparticles for inhaled antitubercular therapy: physicochemical and in vitro studies"*, Int. J. Pharm. 497, 1-2, 199-209, 2016.

[3] CLAS *et al*., *"Differential scanning calorimetry: applications in drug development"*, Pharm. Sci. Tech. Today, 2, 8, 311-320, 1999.

Estudio comparado de la cinética de liberación de minicomprimidos de ibuprofeno de diferente composición y tamaño de partícula

Antonio RIVAS CORNEJO[1], Cristina MADERUELO MARTÍN[1], Aránzazu ZARZUELO CASTAÑEDA[1], José M. LANAO[1,2]

1. Dpto. de Ciencias Farmacéuticas-Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Salamanca
2. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

Email de contacto: antoniorivas@usal.es

1. Introducción

Los minicomprimidos son una forma farmacéutica en auge en los últimos años. El tamaño de partícula del fármaco y el polímero empleado en la elaboración de minicomprimidos son aspectos críticos en la liberación de fármacos desde sistemas matriciales [1]. El objetivo de este estudio es comparar los perfiles de disolución de minicomprimidos matriciales de ibuprofeno de dos tamaños de partícula y distinta composición.

2. Material y métodos

2.1. Preparación de los minicomprimidos

Se elaboraron minicomprimidos de liberación sostenida de ibuprofeno de tamaño de partícula de 60-130 µm (TP1) y de 20-35 µm (TP2). Los minicomprimidos fueron obtenidos mediante compresión directa utilizando punzones de 2 mm de diámetro. Como excipientes poliméricos se emplearon Polyox® WSR-303 LEO NF, Lubritab® NF, Viscarin® GP-209 NF y Gelcarin® GP-379 NF. Como diluyentes se utilizaron Comprecel® PH 102, Avicel® DG NF y Anhydrous Emcompress®. Como agentes antifricción se emplearon Aerosil® 200 Pharma, Kemilub® EM-F y Compritol® 888 ATO. En la Tabla 1 se recogen las formulaciones estudiadas.

2.2. Reología de las mezclas

Sobre cada mezcla homogénea, previo a la compresión, se determinaron las características reológicas (índices de Carr y Hausner y fluidez) según monografías de la Real Farmacopea Española [2].

Componentes	% p/p			
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	Lote 4
Ibuprofeno TP1/TP2*	24,69	24,69	24,69	24,69
Polyox®	57,05	-	-	-
Lubritab®	-	57,05	-	-
Viscarin®	-	-	57,05	-
Gelcarin®	-	-	-	57,05
Comprecel®	-	-	16,30	16,30
Avicel®	16,30	-	-	-
Emcompress®	-	16,30	-	-
Aerosil®	0,98	0,98	0,98	0,98
Kemilub®	0,98	-	-	-
Compritol®	-	0,98	0,98	0,98

**TP1 (tamaño de partícula 60-130 µm); TP2 (20-35 µm).*
Tabla 1: Composición (% p/p) de las mezclas a comprimir.

2.3. Caracterización de los minicomprimidos

Sobre los minicomprimidos se realizaron los ensayos de apariencia, uniformidad de masa, resistencia a la rotura, diámetro, espesor y perfil de disolución. El perfil de disolución se determinó utilizando el aparato 2 de la Real Farmacopea Española [2] a 50 rpm, en 900 ml de tampón fosfato pH 6,8, a 37,0º±0,5. Se tomaron muestras a tiempos predeterminados durante 24 horas y se analizaron espectrofotométricamente a una longitud de onda de 221 nm (paso óptico 1 mm).

3. Resultados y discusión

Los resultados de las mezclas muestran que, en general, los lotes elaborados a base de carragenanos presentan un peor comportamiento reológico. Asimismo, se observan mejores resultados para los índices de Carr y de Hausner, así como para

el ensayo de fluidez en las mezclas elaboradas con el ibuprofeno de mayor tamaño de partícula (Tabla 2).

Ensayo	TP	**L1**	**L2**	**L3**	**L4**
Índice de Carr (%)	1	16,89	14,52	24,28	22,22
	2	18,51	16,67	19,35	29,33
Índice de Hausner	1	1,20	1,17	1,32	1,28
	2	1,23	1,20	1,29	1,41
Fluidez (s/100g)	1	9,70	7,20	9,47	7,97
	2	10,40	11,17	11,60	8,57

Tabla 2: Reología de las mezclas estudiadas.

Los minicomprimidos obtenidos presentaron pesos entre 7-10 mg y valores de resistencia a la rotura entre 3-13 N.

El estudio de los perfiles de disolución pone de manifiesto que en los minicomprimidos elaborados con Lubritab® se consigue sostener la liberación del fármaco en ambos tamaños de partícula. Los minicomprimidos elaborados a base de Polyox® presentan perfiles de liberación sostenida pero con una mayor tasa de liberación del fármaco que los de Lubritab®. El lambda carragenano (Viscarin®) no resulta útil en el control de la liberación del ibuprofeno, mientras que los comprimidos de iota carragenano (Gelcarin®) presentan un perfil de liberación más lento en la formulación con ibuprofeno de menor tamaño de partícula (Fig. 1). Ambos carragenanos presentan alta viscosidad, con la diferencia de que el lambda carragenano no forma gel con la entrada de agua en la matriz y el iota carragenano si [3], lo que podría explicar las diferencias en sus perfiles.

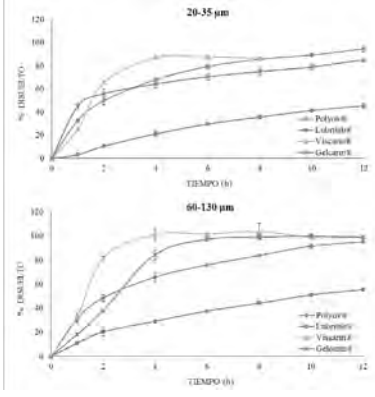


Fig. 1: Perfiles de disolución para los distintos polímeros estudiados.

Con respecto al tamaño de partícula, como queda recogido en la Figura 2, éste afecta a las formulaciones a base de Lubritab® y Gelcarin®, donde los lotes de tamaño de partícula pequeño liberan más lentamente el fármaco.

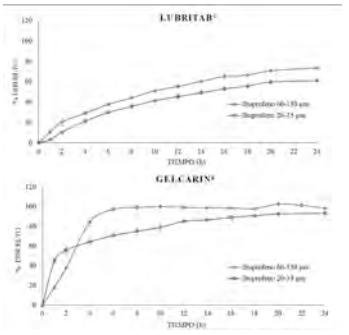


Fig. 2: Comparativa de los perfiles de disolución vs tamaño de partícula.

Algunos autores consideran que el tamaño de partícula del fármaco es crítico en el perfil de liberación únicamente cuando el porcentaje de polímero es pequeño [4]. En las formulaciones con Polyox® y Viscarin® el % de polímero empleado sería suficiente para evitar un impacto del tamaño de partícula en la liberación del ibuprofeno. Asimismo, tamaños de partícula pequeños están relacionados con tasas de liberación más lentas, por favorecer una mayor tortuosidad del sistema [1].

4. Conclusiones

1. Es posible sostener la velocidad de liberación de ibuprofeno en sistemas matriciales en minicomprimidos de 2 mm de diámetro. 2. Lubritab® consigue perfiles de disolución más lentos que Gelcarin®, Viscarin® y Polyox®. 3. El tamaño de partícula del fármaco influye en los sistemas a base de Gelcarin® y Lubritab®.

Referencias

[1] C. MADERUELO, A. ZARZUELO, José M. LANAO, *"Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices"*, J Control Release, 154, 1, 2-19, 2011.

[2] *"Real Farmacopea Española"* (5ª Ed., MSC. Madrid, 2015).

[3] J. NERURKAR, H.W. JUN, J.C. PRICE, M.O. PARK, *"Controlled-Release Tablet Matrices from Carrageenans: Compression and Dissolution Studies"*, Eur J Pharm Biopharm, 61, 1-2, 56-68, 2005.

[4] C.L. LI, L.G. MARTINI, J.L. FORD, M. ROBERTS, *"The use of hypromellose in oral drug delivery"*, J. Pharm. Pharmacol., 57, 5, 533-546, 2005.

Optimización de formulaciones de naproxeno con L-HPC

Carlos TORRADO SALMERÓN[1], Víctor GARCÍA HERRERO[1], Santiago TORRADO DURÁN[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
2. Instituto de Farmacia Industrial y Galénica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid

Email de contacto: ctorrado@ucm.es

1. Introducción

El naproxeno es un fármaco muy utilizado en ataques agudos de migraña. La disminución de la cristalinidad del Np base (Np base) o sódico (Np Na) permitirá mejorar su velocidad de disolución, facilitando una acción más rápida.

La disminución de la cristalinidad mediante procesos por secado a vacío es necesario incorporar excipientes como agentes estabilizantes de las formulaciones obtenidas.

En este estudio se evalúa, mediante técnicas de caracterización y de velocidad de disolución, la acción estabilizante de la hidroxipropil metil celulosa de bajo peso molecular (L-HPC) en las formulaciones.

2. Materiales y métodos

2.1. Ensayos de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Para el ensayo de DSC se utilizó un calorímetro diferencial de barrido de tipo Mettler® Toledo de modelo DSC 3 Star system (Schwerzenbach, Switzerland), con una corriente de nitrógeno. La temperatura de calibración utilizada en estos estudios según el estándar de referencia del elemento químico indio (In) es de 156,60 ºC.

Para los ensayos de cada formulación se utilizaron cápsulas de aluminio conteniendo el equivalente a 2 mg de naproxeno y se analizaron en un rango de temperaturas entre 25 a 300 ºC. La velocidad de calentamiento es de 10 ºC/min y con un flujo de nitrógeno constante de 30 ml/min. [1,2]

2.2. Ensayos de difracción de rayos X

Este ensayo se realizó en un difractómetro Philips® X'Pert (Almelo, Netherlands). Las muestras se introdujeron en un portamuestras y se sometieron a una radiación Ka de cobre con ángulos entre 5º y 40º. El voltaje utilizado será de 40 mV y la intensidad de 55 mA. [1,3]

2.3. Ensayos de velocidad de disolución

Este ensayo se realizó en un aparato de velocidad de disolución Erweka® DT80 (Heusemstamm, Germany) con las siguientes características: 900 ml de un medio de disolución de pH 1,2 (ácido hidroclorídrico 0,1 M), empleando un sistema de agitación de paletas(tipo II) a 50 r.p.m y una temperatura del medio de 37±0,5 ºC.

Los ensayos se realizaron cumpliendo condiciones SINK, empleando en cada formulación el equivalente a 20 mg de Np base. Se realizó una toma de muestras de 5 ml sin reposición, a tiempos de 5; 10; 15; 20; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180 minutos y 24 h. Las muestras se filtraron por 45 µm, Pall® Acrodisc GF (Ann Arbor, USA) analizándose en un espectrofotómetro Shimadzu UV-1700 (Tokyo, Japan) a 270 nm, representándose la media de 4 determinaciones. [4]

3. Resultados y discusión

Mediante DSC y difracción de rayos X se realiza la caracterización de las distintas formulaciones. Las formulaciones seleccionadas se someten a estudios de velocidad de disolución.

3.1. Ensayos de DSC

La Figura 1 muestra los barridos calorimétricos para las distintas formulaciones secadas a vacío con L-HPC. La acción estabilizante de este derivado celulósico da lugar a un descenso en las entalpias y temperaturas de fusión de las distintas dispersiones sólidas con L-HPC.

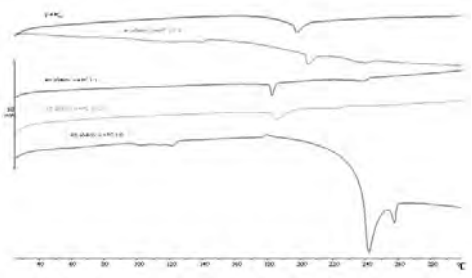


Fig. 1: Resultados DSC de L-HPC (negro) y Np Na secado a vacío con L-HPC 1:0,5 (rojo); 1:1 (morado); 1:1,5 (naranja); 1:0 (azul).

3.2. Ensayos de rayos X

En la Figura 2, las formulaciones de Np Na secado a vacío junto con L-HPC en proporción 1:0,5 1:1 y 1:1,5 presentan el Np en una forma mayoritariamente amorfa, observándose además el halo amorfo del derivado celulósico (L-HPC).

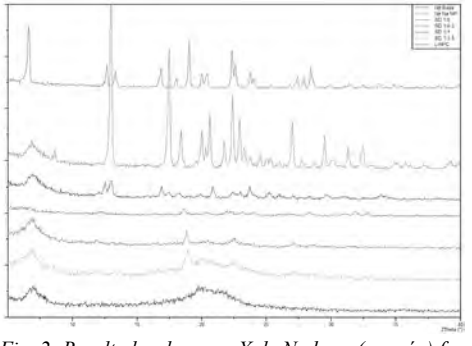


Fig. 2: Resultados de rayos X de Np base (marrón) frente a Np Na materia prima (verde), Np Na secado a vacío con distintas proporciones de L-HPC 1:0 (azul); 1:0,5 (rojo); 1:1 (morado) y 1:1,5 (naranja) y L-HPC (negro).

3.3. Ensayos de velocidad de disolución

En la Figura 3 se observa como en la formulación Np Na:L-HPC 1:0,5 presenta una velocidad de disolución similar a la formulación de Np Na secada a vacío (1:0) con menores desviaciones estándar. Las dispersiones sólidas con mayores proporciones de L-HPC (1:1 y 1:1,5) presentan un retraso significativo en sus perfiles de disolución.

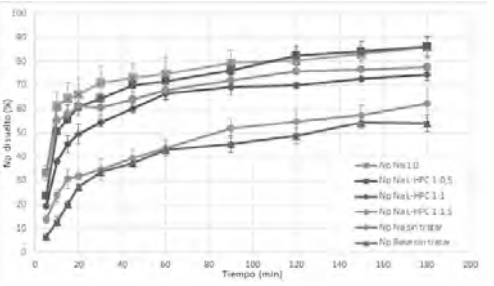


Fig. 3: Resultados del ensayo de velocidad de disolución de Np Na secado a vacío con diferentes proporciones de L-HPC 1:0 (azul); 1:0,5 (rojo); 1:1 (morado) y 1:1,5 (naranja) frente a Np Na (verde) y Np base (marrón) sin tratar.

4. Conclusiones

El Np Na presenta una mejor velocidad de disolución que el naproxeno base.

La mayor velocidad de disolución del naproxeno sódico tras un tratamiento mediante congelación y secado a vacío se debe a una forma mayoritariamente amorfa.

La utilización de L-HPC en bajas proporciones (Np Na:L-HPC 1:0,5) como agente estabilizante da lugar a una forma más amorfa del Np Na con una elevada velocidad de disolución.

Referencias

[1] MARTINO P., BARTHÉLÉMY C., PALMIERI G. F., MARTELLI S. "*Physical characterization of naproxen sodium hydrate and anhydrate forms*". European journal of pharmaceutical sciences, 14 (4), 293-300. 2001.

[2] SOVAGO I., WANG W., QIU D., RAIJADA D., RANTANEN J., GROHGANZ H., RADES T., BOND A.D., LÖBMANN K. "*Properties of the Sodium Naproxen-Lactose-Tetrahydrate Co-Crystal upon Processing and Storage*". Molecules, 21 (4), 11-13. 2016.

[3] KUMAR S., BURGESS D.J. "*Wet milling induced physical and chemical instabilities of naproxen nanocrystalline suspensions*". International journal of pharmaceutics, 466 (1), 223-232. 2014.

[4] BHISE K. S., DHUMAL R. S., PARADKAR A. R., KADAM S. S. "*Effect of drying methods on swelling, erosion and drug release from chitosan-naproxen sodium complexes*". AAPS PharmSciTech, 9 (1), 1-12. 2008.

Influencia de surfactantes y superdisgregantes celulósicos en la recristalización de formas amorfas de naproxeno sódico

Víctor GARCÍA HERRERO[1], Carlos TORRADO SALMERÓN[1], Santiago TORRADO DURÁN[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
2. Instituto de Farmacia Industrial y Galénica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid

Email de contacto: victor08@ucm.es

1. Introducción

En estudios previos se estudia la elaboración de dispersiones sólidas de Naproxeno sódico con Hidroxipropil metil celulosa de bajo peso molecular, seleccionando la proporción Np Na secado a vacío: L-HPC (1:0,5) por su importante mejora en su velocidad de disolución.

En este trabajo se estudia el empleo del Kolliphor RH 40 o croscarmelosa sódica como nuevos agentes estabilizantes de la formulación sólida de Np Na secado a vacío:L-HPC (1:0,5). Los estudios de caracterización por DSC, Difracción de rayos X y velocidad de disolución nos permiten evaluar cómo influye la forma amorfa de estas dispersiones sólidas en la velocidad de disolución del Np Na.

2. Materiales y métodos

2.1. Ensayos de calorimetría diferencial de barrido (DSC)

En el ensayo de DSC se utilizó un calorímetro diferencial de barrido DSC 3 Star System, Mettler® Toledo (Schwerzenbach, Switzerland), empleando indio (In) con una temperatura de 156,60 ºC como estándar de referencia.

En cada cápsula de aluminio sellada, se pesó el equivalente a 2 mg de Np Na analizándose entre 25 y 300 ºC. La velocidad de calentamiento fue de 10 ºC/min con un flujo de nitrógeno constante de 30ml/min [1, 2,3].

2.2. Ensayos de difracción de rayos X

Para la realización de este estudio se utilizó el método de barrido de superficie en un difractómetro Philips® X'Pert (Almelo, Netherlands).

Las muestras se colocaron en un portamuestras y se irradió con radiación Ka de cobre, a 40mV, 55mA con unos ángulos de incidencia entre 5-40º 2θ y con un paso de 0,04 2θ [1, 3, 4].

2.3. Ensayos de velocidad de disolución

Los ensayos de velocidad de disolución se realizaron en un equipo de velocidad de disolución Erweka® DT80 (Heusemstamm, Germany) en las siguientes condiciones: medio de disolución de 900ml de HCl 0,1M, a una temperatura 37±0,5 ºC, con un sistema de agitación por paletas (tipo 2) a 50 r.p.m.

Para la realización de estos ensayos de velocidad de disolución en condiciones SINK, se utilizaron muestras proporcionales a 20mg de naproxeno sódico, para evitar la saturación en el medio de disolución. Los resultados son la media de 4 determinaciones, realizando la toma de muestras a: 5; 10; 15; 20; 30; 45; 60; 90; 120; 150; 180 minutos y 24 horas. A cada tiempo se tomó una alícuota de 5ml sin reposición y filtrándose mediante un filtro GHP Acrodisc GF, GF/0,45µm, 25 mm de la marca Pall® (Ann Arbor, USA) [2]. Las muestras se analizaron en un espectrofotómetro Shimadzu UV- 1700 (Tokyo, Japan) a una longitud de onda de 270nm.

3. Resultados y discusión

Mediante los estudios de DSC y rayos X se procede a la caracterización de las formulaciones. Los estudios de velocidad de disolución nos permitirán conocer la formulación más adecuada de todas.

3.1. Ensayos de DSC

En la Figura 1 se observa como es necesaria la adición tanto del tensioactivo como del superdisgregante para la obtención de una forma mayoritariamente amorfa de Np sódico secado a vacío más estable.

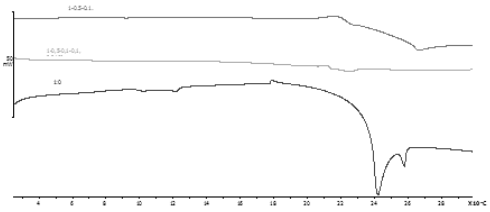


Fig. 1: Resultados DSC. Np sódico secado a vacío 1:0 (azul) y formulaciones secadas a vacío de Np Na:L-HP-C:Kolliphor:Croscarmelosa 1:0,5:0,1:0 (verde) y 1:0,5:0,1:0,1 (naranja).

3.2. Ensayos de rayos X

La Figura 2 muestra que la adición de croscarmelosa a las formulaciones secadas a vacio da lugar a una mayor forma amorfa del naproxeno y por tanto podría dar lugar a una mayor velocidad de disolución.

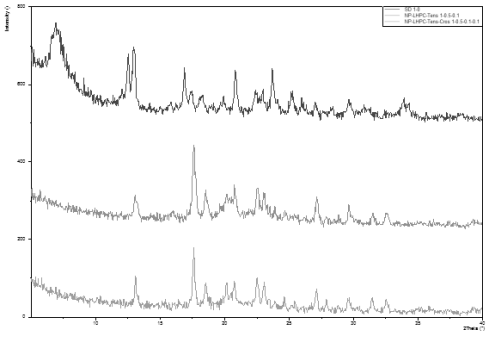


Fig. 2: Resultados rayos X. Np Na secado a vacío; 1:0 (azul), formulaciones secadas a vacío de Np Na:L-HP-C:Kolliphor:Croscarmelosa 1:0,5:0,1:0 (verde) y 1:0,5:0,1:0,1 (naranja).

3.3. Ensayos de velocidad de disolución

Como se aprecia en la Figura 3 la adición de surfactante a la formulación da un perfil de liberación similar al que presenta el Np sódico secado a vacío (1:0), mientras que la combinación de un agente surfactante con un superdisgregante acelera el proceso de velocidad de disolución.

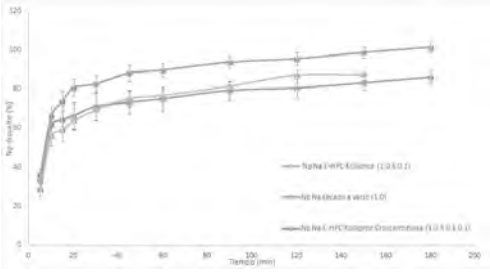


Fig. 3: Resultados velocidad de disolución. Np sódico secado a vacío; 1:0 (azul) y formulaciones secadas a vacío de Np Na:L-HPC:Kolliphor:Croscarmelosa 1:0,5:0,1:0 (verde) y 1:0,5:0,1:0,1 (naranja).

4. Conclusiones

El empleo de agentes surfactantes como el Kolliphor facilita las formas amorfas del Np sódico, pero no consigue mejoras apreciables en sus perfiles de velocidad de disolución.

Sin embargo la utilización de manera conjunta de un surfactante y un superdisgregante permite obtener formas amorfas de Np Na con una mejora importante en su velocidad de disolución (82,63 ± 4,80% a los 30 min.) frente a la formulación secada a vacio sin excipientes (69,18 ± 3,10% a los 30 min.).

Referencias

[1] KUMAR S., BURGESS D.J. *"Wet milling induced physical and chemical instabilities of naproxen nanocrystalline suspensions"*. International journal of pharmaceutics, 466 (1), pp. 223-232. 2014.

[2] MOSQUERA-GIRALDO L.I., TRASI N.S., TAYLOR L.S. *"Impact of surfactants on the crystal growth of amorphous celecoxib"*. Int J Pharm;461(1):251-257. 2014.

[3] MARTINO P., BARTHÉLÉMY C., PALMIERI G. F., MARTELLI S. *"Physical characterization of naproxen sodium hydrate and anhydrate forms"*. European journal of pharmaceutical sciences, 14 (4), pp. 293-300. 2001.

[4] JOIRIS E., DI MARTINO P., MALAJ L., CENSI R., BARTHÉLÉMY C., ODOU P. *"Influence of crystal hydration on the mechanical properties of sodium naproxen"*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics;70(1):345-356. 2008.

Predicción de la solubilidad del Celecoxib en mezclas codisolventes empleando el modelo de Jouyban-Gharamaleky

Begoña ESCALERA I., Norma Sofía TORRES P., Mª Ángeles PEÑA F.

Dpto. de Ciencias Biomédicas, Unidad Docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid

Email de contacto: angeles.pena@uah.es

1. Introducción

Los estudios para la estimación de la solubilidad son de gran utilidad y constituyen un factor determinante a la hora de optimizar y desarrollar los procesos tecnológicos durante las etapas de preformulación. La mayoría de los principios activos son de naturaleza semipolar o no polar, por lo que se disolverán mejor en disolventes o mezclas de disolventes de polaridad media. Los modelos de predicción de solubilidad resultan muy valiosos para el diseñador farmacéutico en las fases previas al desarrollo de medicamentos[1]. En la literatura se han descrito diferentes modelos [2-4]. Uno de ellos es el modelo de Jouyban-Gharamaleky (1997) [5] que corresponde a una aproximación de la ecuación de Bustamante [4].

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

CLX (Normon), agua bidestilada miliQ, etanol 96% (Panreac), acetato de etilo (Merck).

2.2. Métodos

- Preparación de suspensiones de CLX en mezclas disolventes de agua-etanol y etanol-acetato de etilo.

- Determinación experimental espectrofotométrica de la solubilidad a 25ºC en baño termostatizado ($\lambda_{máx}$ = 253 nm).

$$\ln X_m = f_a \ln X_a + f_b \ln X_b + f_c \ln X_c + B_1 f_a f_b + B_2 f_a f_b + B_3 f_c f_b + B_4 f_c f_b \quad Ec \ldots 1$$

X_m, es la fracción molar de soluto, f_a, f_b y f_c, son las fracciones en volumen de los disolventes a, b, y c respectivamente, $\ln X_a$, $\ln X_b$ y $\ln X_c$, las solubilidades de los disolventes puros y B_1-B_4, son las constantes del modelo que representan las interacciones disolvente-disolvente y soluto-disolvente a nivel molecular.

El Celecoxib (CLX) es un inhibidor selectivo de la cicloxigenasa-2 (COX-2), de muy baja solubilidad [6], por tanto, es trascendental mejorar su solubilidad para facilitar el proceso de desarrollo de sus formulaciones y su biodisponibilidad (fig. 1).

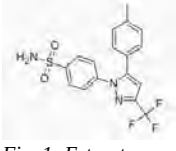


Fig. 1: Estructura molecular Celecoxib.

- Determinación de la densidad con picnómetros calibrados para expresar la solubilidad en fracción molar, X_m.

3. Resultados y Discusión

La solubilidad experimental (lnX) con los tres disolventes puros a 25ºC se muestra en la Tabla 1. Estos valores son los empleados para predecir la solubilidad utilizando el modelo de Jouyban-Gharamaleky (1997) [5].

$\ln X_a$	-17,4185
$\ln X_b$	-4,3787
$\ln X_c$	-3,9235

Tabla 1: Solubilidad del CLX en agua(a), etanol(b) y acetato de etilo(c).

Inicialmente el modelo [5] se utilizó con fármacos

con dos máximos de solubilidad, pero su aplicación se extendió a fármacos con perfiles con un único máximo de solubilidad, como ocurre con el CLX[7]. En la Tabla 2 se relacionan los valores de solubilidad experimental obtenidos en las dos mezclas disolventes seleccionadas.

fa	fb	fc	X_2experimental	X_2calculada
1	0	0	2,72E-08	2,07E-08
0,9	0,1	0	7,00E-08	1,11E-07
0,8	0,2	0	8,17E-07	6,42E-07
0,7	0,3	0	2,26E-06	3,79E-06
0,6	0,4	0	2,95E-05	2,16E-05
0,5	0,5	0	0,0002	0,0001
0,4	0,6	0	0,0005	0,0005
0,3	0,7	0	0,0015	0,0017
0,2	0,8	0	0,0036	0,0047
0,1	0,9	0	0,0085	0,0091
0	1	0	0,0125	0,0119
0	0,9	0,1	0,0211	0,0183
0	0,8	0,2	0,0273	0,0253
0	0,7	0,3	0,0296	0,0316
0	0,6	0,4	0,0337	0,0362
0	0,5	0,5	0,0379	0,0383
0	0,4	0,6	0,0364	0,0377
0	0,3	0,7	0,0354	0,0349
0	0,2	0,8	0,0325	0,0306
0	0,1	0,9	0,0270	0,0257
0	0	1	0,0198	0,0209

Tabla 2: Parámetros Modelo Jouyban-Gharamaleky para CLX.

Como se puede observar en la Figura 2, este modelo de predicción permite conseguir una perfecta reproducibilidad del perfil de solubilidad. Los resultados han sido significativos y muy satisfactorios ($r^2 > 0,997$) lo que pone de manifiesto su utilidad en la predicción de solubilidad de este principio activo. La aplicación de este modelo a otros principios activos supondría un ahorro significativo de tiempo y recursos económicos en el diseño de formulaciones líquidas, por la disminución en el número de experimentos.

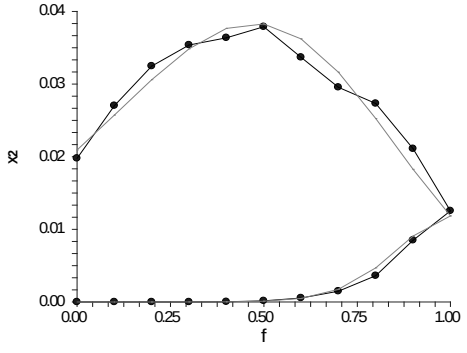


Fig. 2: Solubilidad experimental (X_2) (negro) y calculada (roja) para el Celecoxib.

4. Conclusión

El modelo de Jouyban-Gharamaleky (1997) es sencillo de aplicar y permite predecir la solubilidad del Celecoxib a 25ºC, mostrando una excelente correlación con respecto a los valores experimentales. Se puede proponer este modelo predictivo ya que resulta muy útil cuando contamos con una cantidad escasa de fármaco o para evitar el consumo de tiempo a la vez supone un ahorro de esfuerzo práctico en la preparación y desarrollo de las experimentaciones.

Se concluye que este modelo presenta una gran precisión y predictibilidad.

Referencias

[1] A. JOUYBAN, A. SHAYANFAR, V. PANAHI-AZAR, J. SOLEYMANI, B. H. YOUSEFI, W. E. ACREE, P. YORK, "*Solubility Prediction of Drugs in Mixed Solvents using Partial Solubility Parameters*". J. Pharm. Sci., 100, 4368-4382, 2011.

[2] E. VARGAS, A. SOSNIK, F. MARTÍNEZ, *"Application of the Jouyban-Acree Model for Estimating the Solubility of Naproxen in Ethanol + Water Cosolvent Mixtures"*. Lat. Am. J. Pharm., 27, 654-660, 2008.

[3] M. GANTIVA, A. YURQUINA, F. MARTÍNEZ, *"Performance of the Yalkowsky & Roseman and Jouyban & Acree Models Estimating the Solubility of Ketoprofen in Ethanol + Water Cosolvent Mixtures"*. Vitae, 16, 361-368, 2009.

[4] B. ESCALERA, P. BUSTAMANTE, S. MUELA, M.A PEÑA, *"Solubility Prediction of Mebendazole in Solvent Mixtures"*. Ars Pharm., 51, 763-770, 2010.

[5] A. JOUYBAN-GHARAMALEKY, *"Cha-maleonic Effect and some Models for Predicting Drug Solubility in Solvent Mixtures"*. Chem. Pharm. Bull., 45, 1383-1384, 1997.

[6] A. HOMAYOUNI, F. SADEGHI, A. NOKHOD-CHI, J. VARSHOSAZ, H. A. GAREKANI, *"Preparation and Characterization of Celecoxib Dispersions in Soluplus®: Comparison of Spray Drying and Conventional Methods"*. Iran. J. Pharm. Res. 14, 35-50, 2015.

[7] B. ESCALERA, N. S. TORRES, E. CRESPO, M. Á. PEÑA, *"Caracterización De Celecoxib"*. (XXXII Congreso Internacional de la SFML), 103, 2016.

Parámetros de solubilidad parciales del Probenecid

M.ª Ángeles PEÑA, Begoña ESCALERA, Fátima SANZ, Aurora REÍLLO, Antonio PEÑA-FERNÁNDEZ

Dpto. Ciencias Biomédicas. Unidad Docente de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares, Madrid

Email de contacto: angeles.pena@uah.es

1. Introducción

La determinación de los parámetros de solubilidad parciales utilizando el modelo ampliado de Martin *et al*., [1] se realiza a partir de la relación de la variable dependiente lnα2/U con los parámetros de solubilidad parciales. α es el coeficiente de actividad del fármaco, definido como la relación entre la solubilidad ideal (X2i) y la experimental (X2). U se calcula a partir del volumen molar del fármaco y la fracción de volumen del disolvente. Nuestro grupo de investigación sustituyó esa variable dependiente por lnX2 (método de Bustamante *et al*. [2,3]). Con anterioridad, ambos métodos fueron utilizados para determinar parámetros de solubilidad de diferentes compuestos, tales fueron fármacos como el naproxeno y diclofencaco sódico [4] o piroxicam y ácido niflúmico [5], excipientes como la lactosa, manitol o sacarosa [6] o derivados salinos como el benzoato sódico o el ibuprofeno sódico [7]. Tanto el método de Martin como el de Bustamante [1-7] incluyen el modelo de tres parámetros (dispersión, dipolar, enlace de hidrógeno) y el de cuatro parámetros de solubilidad (dispersión, dipolar, ácido y básico). A continuación, se indican las ecuaciones utilizadas con el modelo de tres y cuatro parámetros:

Variable dependiente = $C_o + C_1\delta_{1d}^2 + C_2\delta_{1d} + C_3\delta_{1p}^2 + C_4\delta_{1p} + C_5\delta_{1h}^2 + C_6\delta_{1h}$ Ec.1

Variable dependiente = $C_o + C_1\delta_{1d}^2 + C_2\delta_{1d} + C_3\delta_{1p}^2 + C_4\delta_{1p} + C_5\delta_{1a} + C_6\delta_{1b} + C_7\delta_{1a}\delta_{1b}$ Ec. 2

Los parámetros de solubilidad parciales (δ_{2d}, δ_{2p}, δ_{2h}, δ_{2a},, δ_{2b}) se obtienen utilizando los coeficientes de regresión de las Ecs. 1 y 2:

Ec.1: $\delta_{2d}=-(C_2/2C_1)$; $\delta_{2p}=-(C_4/2C_3)$; $\delta_{2h}=-C_6/2C_5)$

Ec. 2: $\delta_{2d}=-(C_2/2C_1)$; $\delta_{2p}=-(C_4/2C_3)$; $\delta_{2a}=-(C_6/C_7)$; $\delta_{2b}=-(C_5/C_7)$

2. Materiales y métodos

- Probenecid (ácido 4-(dipropilsulfamoil) benzoico). Agente uricosúrico que aumenta la excreción del ácido úrico por la orina, por lo que se indica fundamentalmente para el tratamiento de la gota y la hiperuricemia.

- Se seleccionaron 18 disolventes de diferentes clases químicas y amplio intervalo de polaridad; desde 14,93 $MPa^{1/2}$ (hexano) hasta el más polar, 47,8 $MPa^{1/2}$ (agua) (Tabla 1). Se prepararon suspensiones con cada uno de los disolventes puros seleccionados y se saturaron a 25ºC en un baño termostatizado provisto de agitación hasta alcanzar el equilibrio de solubilidad (cuatro días). La concentración de la fase disuelta previamente filtrada, con filtros compatibles con los disolventes puros utilizados, se midió espectrofotométricamente a la longitud de onda de máxima absorción elegida (242 nm).

3. Resultados y discusión

La solubilidad ideal obtenida a partir de los datos calorimétricos de temperatura de fusión y calor molar de fusión fue de X_2^i = 0,00694. Este valor se utilizó para calcular la variable dependiente, $\ln\alpha_2/U$. Se han analizado los resultados obtenidos para las variables dependientes $\ln\alpha_2/U$ y $\ln X_2$ y ambos modelos (Ecs. 1 y 2). La Tabla 1 incluye los disolventes seleccionados y las solubilidades experimentales del probenecid expresadas en fracción molar, X_2. Los mejores resultados son los encontrados al utilizar la variable dependiente de Bustamante *et al.* [2,3] con coeficientes de regresión estadísticamente significativos. La modificación propuesta asume que la actividad

del soluto es constante, es decir, no varían las propiedades de la fase sólida en equilibrio con la fase disuelta y si se producen cambios en la fase sólida, éstos no afectan a la actividad termodinámica del fármaco. Con los dos modelos se fijó un peso de 0,001 para aquellos disolventes que no se ajustaban convenientemente y se asignó la unidad para el resto de disolventes.

Disolventes	X_2
Etanol	0,0050
Agua	$1,2871\ 10^{-6}$
Acetato etilo	0,0066
Dioxano	0,0188
Acético glacial	0,0042
Hexano	$2,3853\ 10^{-5}$
Pentanol	0,0055
Heptano	$4,4837\ 10^{-5}$
Ácido propiónico	0,0057
1,2-Propanodiol	0,0022
NN-DMF	0,0032
Etilenglicol	0,0004
Butanodiol	0,0036
Benceno	0,0147
Clorobenceno	0,0088
Formamida	0,0025
Triclorometano	0,0077
Octanol	0,0067

Tabla 1: Solubilidad experimental probenecid.

En la Tabla 2 se recogen los valores de los parámetros de solubilidad calculados con la variable dependiente de Bustamante *et al.* y los dos modelos estudiados. Con el modelo de tres parámetros algunos coeficientes fueron no significativos. La separación del parámetro de enlace de hidrógeno en los parámetros parciales ácido y básico produce mejores resultados y permite una mejor descripción del comportamiento del fármaco [8].

Método	δ_d	δ_p	δ_h	δ_a	δ_b	δ_T
Modelo tres parámetros						
ln X_2	16	9,53	14,16			23,37
Modelo cuatro parámetros						
ln X_2	17,6	10,79	8,74	8,78	4,35	22,42

Tabla 2: Parámetros de solubilidad parciales

Los parámetros de solubilidad obtenidos son concordantes con la estructura química del probenecid, dando como resultado un parámetro de solubilidad total de 23,37 $MPa^{1/2}$ 22,42 $MPa^{1/2}$ muy próximos al encontrado al aplicar el método teórico de Fedors (23,45 $MPa^{1/2}$) [9]. Se puede observar que los parámetros de dispersión obtenidos, δ_d = 16 y 17,6 $MPa^{1/2}$, son muy similares entre sí y también respecto a los obtenidos para fármacos estudiados anteriormente [4,5]. Es debido a que este parámetro representa las fuerzas de dispersión de London, una clase de interacción que es común para moléculas polares y no-polares).

La solubilidad del probenecid es más elevada en disolventes básicos como el dioxano (0,0188), lo cual concuerda con la estructura y comportamiento en disolución del probenecid. Los valores más bajos se han encontrado en los disolventes menos polares, como hexano y heptano.

Referencias

[1] A. MARTIN, P.L. WU, A. BEERBOWER, "Expanded solubility parameter approach II: p-hydroxybenzoic acid and methyl p-hydroxybenzoate in individual solvents", J. Pharm. Sci. 73, 188, 1984.

[2] P. BUSTAMANTE, D.V. HINKLEY, A. MARTIN, S. SHI. "Statistical analysis of the extended Hansen method using the Bootstrap technique", J. Pharm. Sci. 80, 971, 1991.

[3] P. BUSTAMANTE, A. MARTIN, M.A. GONZÁLEZ-GUISANDEZ, "Partial solubility parameters and solvatochromic parameters for predicting the solubility of single and multiple drugs in individual solvents", J. Pharm. Sci., 82, 635, 1993.

[4] P. BUSTAMANTE, M.A. PEÑA, J. BARRA, "Partial solubility parameters of naproxen and sodium diclofenac", J. Pharm. Pharmacol. 50, 975, 1998.

[5] P. BUSTAMANTE, M.A. PEÑA, J. BARRA, "*Partial solubility parameters of piroxicam and niflumic acid*", Int. J. Pharm. 174, 141, 1998.

[6] M.A. PEÑA, Y. DAALI, J. BARRA, P. BUSTAMANTE, "Partial solubility parameters of lactose, mannitol and saccharose using the modified extended Hansen method and Evaporation Ligth Scattering Detection", Chem. Pharm. Bull. 48, 179, 2000.

[7] P. BUSTAMANTE, M.A. PEÑA, J. BARRA, "The modified extended Hansen method to determine partial solubility parameters of sodium derivatives of drugs containing a single hydrogen bonding group and their sodium derivatives: benzoic acid/Na and ibuprofen/Na", Int. J. Pharm. 194, 117, 2000.

[8] B.L. KARGER, L. R. SNYDER, C. EON, "An expanded solubility parameter treatment for classification and use of chromatographic solvents and adsorbents. Parameters for dispersion, dipole and hydrogen bonding interactions" J Chromatography, 125, 71, 1976.

[9] R.F. FEDORS, "A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids", Polym Eng Sci, 14, 147, 1974

Efecto de la concentración de NaCl en la capacidad de autoensamblaje de la poloxamina T1307

Sonia CABANA[1], Anita BAHADUR[2], Pratap BAHADUR[2], Ángel CONCHEIRO[1], Carmen ÁLVAREZ-LORENZO[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España
2. Chemistry Department, V N South Gujarat University, Surat-395007, Gujarat, India

Email de contacto: sonia.cabana@usc.es

1. Introducción

Las poloxaminas son copolímeros anfifílicos tribloque ramificados formados por un grupo central etilendiamina del que parten cuatro cadenas con bloques hidrofóbicos de poli(óxido de propileno) (PPO) e hidrofílicos de poli(óxido de etileno) (PEO) [1]. Estos copolímeros tienen la capacidad de autoensamblarse en medio acuoso en forma de micelas poliméricas adecuadas para alojar fármacos poco solubles en agua [2]. La presencia de iones en medio acuoso, modifica la hidratación de los bloques de PPO y PEO, afectando al proceso de formación de las micelas. En general, un incremento en la fuerza iónica del medio da lugar a un descenso en la concentración y la temperatura micelar críticas, favoreciendo la encapsulación de fármacos insolubles en medio biológico.

El objetivo de este trabajo fue evaluar la influencia de la concentración de NaCl sobre el autoensamblaje y consiguiente micelización de Tetronic T1307 y su repercusión sobre la solubilización de quercetina y curcumina [3]. Estas dos sustancias activas de origen vegetal encierran un notable potencial en el tratamiento de tumores pero plantean dificultades de formulación debido a su baja hidrosolubilidad.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Curcumina y quercetina (Sigma Aldrich, St. Louis MO, USA), poloxamina Tetronic 1307 (T1307; BASF Corporation, Alemania), NaCl (VWR, Bélgica) y agua purificada (MilliQ, Waters, USA).

2.2. Estudio de solubilidad

Alícuotas (5 mL) de dispersiones de Tetronic T1307 (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1, 2, 5 y 10% p/p) en agua y en disolución acuosa de NaCl 0.154, 0.5, 1.0 y 2.0 M se transfirieron a viales con 5 mg de quercetina o curcumina. Los viales se mantuvieron en un agitador orbital a 200 rpm a 20ºC durante 72 h. Los viales se centrifugaron, el sobrenadante se diluyó con etanol/agua 50:50 v/v y se midió la absorbancia a 260 nm (curcumina) o a 256 nm (quercetina) [3].

2.3. Caracterización micelar

Disoluciones de pireno en acetona (50 µL, 0.1 µg/mL) se transfirieron a viales y el disolvente se dejó evaporar. Se prepararon dispersiones de Tetronic T1307 (0.001-1.2 % p/p) en agua y en disolución acuosa de NaCl 0.154, 0.5, 1.0 y 2.0 M de NaCl. Alícuotas (2.5 mL) de cada una de estas disoluciones se añadieron a los viales y se mantuvieron a 20ºC durante 12 horas. Posteriormente se midió la fluorescencia con una longitud de onda de excitación de 336 nm y se recogió en un intervalo de emisión de 350-450 nm [3].

3. Resultados y discusión

La solubilidad de quercetina y curcumina se incrementó de forma muy significativa con la incorporación de Tetronic T1307 al medio acuoso (Fig. 1). Por otra parte, un aumento en la concentración de NaCl en el medio incrementó la solubilidad tanto de la quercetina como de la curcumina.

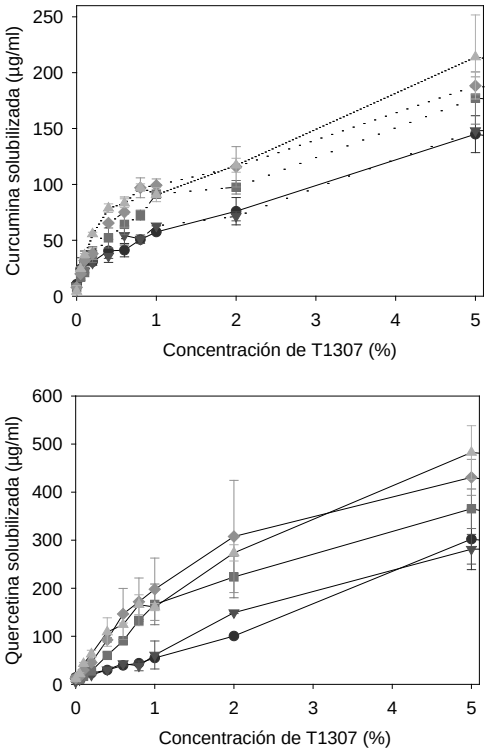


Fig. 1: Solubilidad de curcumina y quercetina en dispersiones de Tetronic T1307 preparadas en agua (circulo negro) y en disoluciones de NaCl 0.154 M (triángulo hacia abajo), 0.5 M (cuadrado), 1.0 M (rombo) y 2.0 M (triángulo hacia arriba).

El efecto deshidratante (salting-out) que produce la presencia de sales en el medio favorece la agregación hidrofóbica de los bloques poliméricos, permitiendo disminuir la concentración crítica micelar (CMC) en dicho medio en comparación con el agua. Los estudios de fluorescencia de pireno (Fig. 2) pusieron de manifiesto que el NaCl causa modificaciones muy marcadas tanto en la CMC como en la polaridad del núcleo micelar [3]. No se observaron diferencias significativas entre los valores registrados en agua y en NaCl 0,154 M, pero un aumento de la concentración de NaCl provoca una disminución de la concentración de copolímero a partir de la que la relación I_1/I_3 comienza a disminuir, indicando la solubilización de pireno en un entorno hidrófobo.

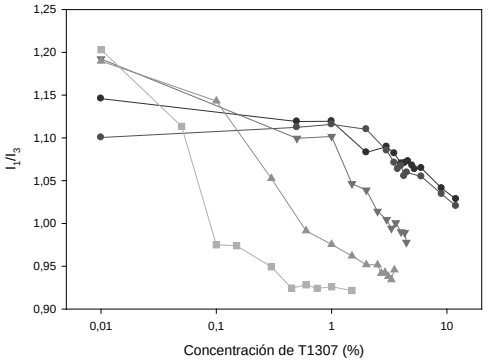


Fig. 2: Cambio en la intensidad de fluorescencia en función de la concentración de T1307 en agua (círculo negro) y en disoluciones de NaCl 0.154 M (círculo gris), 0.5 M (triángulo hacia abajo), 1.0 M (triángulo hacia arriba) y 2.0 M (cuadrado).

4. Conclusión

La incorporación de NaCl, dentro de los límites de compatibilidad fisiológica, permite reducir la CMC de las poloxaminas y puede servir como herramienta para incrementar la capacidad solubilizante de las micelas.

5. Agradecimientos

MICINN (SAF2014-52632-R), Programa de Excelencia Investigadora PEIN (A. Bahadur) y Xunta de Galicia (S. Cabana).

Referencias

[1] C. ALVAREZ-LORENZO, A. REY-RICO, A. SOSNIK, P. TABOADA, A. CONCHEIRO, *"Poloxamine-based nanomaterials for drug delivery"*, Frontiers Bioscience, 424, 2010.

[2] J. GONZALEZ-LOPEZ, C. ALVAREZ-LORENZO, P. TABOADA, A. SOSNIK, I. SANDEZ-MACHO, A. CONCHEIRO, *"Self-associative behavior and drug-solubilizing ability of poloxamine (Tetronic) block copolymers"*, Langmuir, 24, 10688, 2008.

[3] A. BAHADUR, S. CABANA-MONTENEGRO, V.K. ASWAL, E.V. LAGE, I. SANDEZ-MACHO, A. CONCHEIRO, C. ALVAREZ-LORENZO, P. BAHADUR, *"NaCl-triggered self-assembly of hydrophilic poloxamine block copolymers"*, Int J Pharm, 494, 453-462, 2015.

Elaboración de un Gel Plo (Pluronic Lecithin Organogel) con Almotriptán

Salvador FERRANDIS BELLVÍS, María SEBASTIÁN MORELLÓ, M. Araceli CALATAYUD PASCUAL, Alicia LÓPEZ CASTELLANO, Cristina BALAGUER FERNÁNDEZ

Instituto de Ciencias Biomédicas. Dpto. de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, Avda. Seminario s/n, Moncada, Valencia

Email de contacto: cbalaguer@uch.ceu.es

1. Introducción

La migraña es una patología crónica que se caracteriza por un intenso dolor de cabeza con carácter unilateral, generalmente asociado a la pérdida de apetito, aparición de foto/fonofobia e incluso a náuseas y vómitos.

Según la frecuencia e intensidad de las crisis migrañosas, se recomienda el empleo de fármacos para su prevención o una terapia específica para el tratamiento sintomático con fármacos como son los agonistas de receptores 5-HT_1 de la serotonina (triptanes).

El almotriptán, por su tolerancia y eficacia es un triptán cada vez más utilizado en el tratamiento sintomático de la migraña [1]. Éste se administra vía oral, pero su biodisponibilidad es baja, lo que hace relevante el desarrollo de nuevas formas de administración del fármaco que puedan mejorar el tratamiento de esta enfermedad.

En este sentido, vías de administración de medicamentos como la transdérmica, son susceptibles de ser empleadas en la administración de principios activos como pueden ser los triptanes. Además, la vía transdérmica ha demostrado ser una opción válida frente a otras vías de administración de fármacos, como la oral o la parenteral.

Entre las formulaciones transdérmicas destacan los geles, concretamente, el gel Pluronic Lecithin Organogel (gel PLO), vehículo de administración transdérmica que permite a los fármacos atravesar la barrera lipídica del estrato córneo alcanzando la circulación sistémica [2].

El trabajo que se presenta propone elaborar un gel PLO con almotriptán en su composición, así como caracterizar el gel obtenido, determinando su pH, sus características organolépticas y su extensibilidad.

2. Material y métodos

Se prepararon geles PLO sin y con almotriptán en su composición (Tabla 1).

GEL PLO	COMPONENTE	%
Sin ALM	Pluronic F127®	20
	Palmitato de isopropilo	10
	Lecitina de soja	5
	H_2O	c.s.p 100 mL
Con ALM	Almotriptán (Malato)	1
	Pluronic F127®	20
	Palmitato de isopropilo	10
	Lecitina de soja	5
	H_2O	c.s.p 100 mL

Tabla 1: Componentes empleados en la elaboración de los geles PLO y cantidades utilizadas (%). ALM: Almotriptán.

Con objeto de obtener las formulaciones, en primer lugar se procedió a dispersar mediante agitación el Pluronic 127® en el agua purificada requerida. En el caso del gel con almotriptán en su composición, este se disolvió previamente en el agua a emplear. A continuación, se mantuvo la mezcla durante 7 horas a 4ºC, realizando agitaciones para favorecer la disolución del Pluronic 127®.

Por otra parte, se procedió a disolver la cantidad necesaria de lecitina de soja en la cantidad apropiada de palmitato de isopropilo. Posteriormente, se añadió a dicha disolución la solución

previamente elaborada de Pluronic 127®, agitando hasta que la mezcla alcanzó la temperatura ambiente.

A partir de los geles PLO obtenidos se determinaron:
- Características organolépticas: Color, olor, consistencia y presencia de exudado.
- pH.
- Extensibilidad. Según el procedimiento descrito en el Formulario Nacional (PN/L/CP/003/00) [3].

Dicha caracterización se realizó tras el almacenamiento de los geles a distintas temperaturas (22ºC, 32ºC y 44ºC), transcurridos 1, 15, 30 y 45 días de su elaboración.

3. Resultados y discusión

Se han formulado geles PLO sin y con almotriptán en su composición.

Ambos geles presentan características organolépticas similares, siendo su color beis, su olor neutro y su consistencia untuosa.

Los datos obtenidos muestran como las características evaluadas permanecen inalteradas a lo largo del tiempo para los geles almacenados a las temperaturas de 22º y 32º, a excepción de la formulación preparada con almotriptán, para la cual se aprecia la presencia de exudado a la temperatura de almacenamiento de 44ºC.

En referencia al pH de los geles elaborados, el gel PLO con almotriptán presenta un valor de pH inferior al obtenido con el gel elaborado sin el fármaco (Tabla 2). La formulación con almotriptán presenta un carácter ácido, con un pH similar al de la piel (pH 5-6).

GEL	TEMPERATURA		
	22ºC	32ºC	44ºC
Sin ALM	6.77 ± 0.06	6.83 ± 0.06	6.17 ± 0.05
Con ALM	5.50 ± 0.10	6.03 ± 0.12	*

*Tabla 2: Valores de pH obtenidos a partir de los geles. Media ± Desviación estándar de la media. ALM: Almotriptán. *Formulación con exudado.*

En lo que respecta a la extensibilidad de las formulaciones se observa como la incorporación del fármaco en la preparación no influye en capacidad de extensión de los mismos.

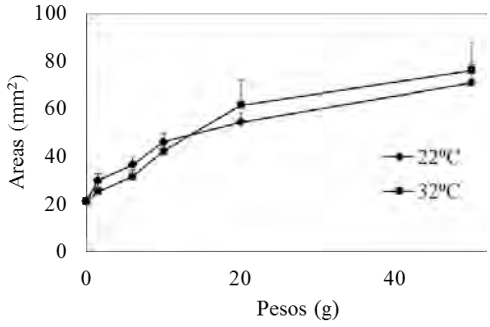


Fig. 1: Valores de áreas obtenidas en función de los pesos aplicados. Media ± Desviación estándar de la media.

5. Conclusiones

Es posible obtener un gel PLO con almotriptán en su composición. El gel obtenido es de color beis, de olor neutro, consistencia untuosa y un pH ácido similar al que presenta la piel.

La correcta extensibilidad del gel PLO con el fármaco proporciona a la formulación una correcta aplicabilidad cutánea.

Los resultados obtenidos demuestran la estabilidad de la formulación con almotriptán a la temperatura de 22º y 32º.

La absorción transdérmica del fármaco a partir de la formulación desarrollada será estudiada en ensayos ex vivo a fin de evaluar su posible uso en el tratamiento de la migraña.

6. Agradecimientos

Conselleria d'Educació, Investigació, Cultura i Esport. Generalitat Valenciana. Proyecto I+D para Grupos de Investigación Emergentes (GV/2015/080).

Referencias

[1] F. ANTONACI, N. GHIOTTO, S. WU, E. PUCCI, Alfredo COSTA. "*Recent advances in migraine therapy*". Springerplus. 5, 637, 2016.

[2] M. SUDAXSHINA. *"A review of pluronic lecithin organogel as a topical and transdermal drug delivery system"*. Hospital Pharmacist, 12, 267-270, 2016.

[3] Formulario Nacional. (Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid, 2007).

Estudio ADTRA-LIP: la adherencia al tratamiento de estatinas se mejora con la intervención del farmacéutico comunitario y médico de atención primaria

Ainhoa OÑATIBIA-ASTIBIA[1], Estíbaliz GOYENECHEA[1], Belén LARRAÑAGA[1], Miguel Ángel GASTELURRUTIA[1], Amaia MALET[1], Ángel GARAY[1], Begoña CALVO[2]

1. Colegio Oficial de Farmacéuticos de Gipuzkoa, c/ Prim 2-1º, 20.006 Donostia/San Sebastián, Gipuzkoa
2. Area de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad del País Vasco, Paseo de la Universidad 7, 01006 Vitoria-Gasteiz, Alava

Email de contacto: b.calvo@ehu.es

1. Introducción

La hipercolesterolemia es una enfermedad metabólica crónica que se caracteriza por un aumento de colesterol total (CT) en sangre y es uno de los factores de riesgo más importantes en el desarrollo de Enfermedades Cardiovasculares (ECV) que a su vez son la primera causa de muerte de la población española [1,2].

La falta de adherencia al tratamiento es un problema prevalente en la práctica clínica donde se estima que en enfermedades crónicas supera el 50% [3].

Las acciones dirigidas a aumentar la adherencia al tratamiento han demostrado mejorar el control de la enfermedad [4,5].

Por ello, el objetivo del estudio es evaluar el efecto de la intervención del farmacéutico comunitario (FC) y del médico de atención primaria (MAP) en el control de la adherencia al tratamiento con estatinas en pacientes con hiper-colesterolemia y cuantificar el impacto en los niveles de CT.

2. Métodos

Estudio multicéntrico controlado que reclutó 268 pacientes con hipercoles-terolemia diagnosticada y en tratamiento con estatinas.

Los pacientes incluidos se someten al test de Morisky-Green-Levine para valorar la adherencia y conforme al resultado obtenido se forman tres grupos de participantes (Fig. 1):

- Grupo Cumplidor (GC) (n=106): Seguimiento durante los 6 meses según práctica clínica habitual.
- Grupo Incumplidor Sin Intervención (GISI) (n=83): Seguimiento durante los 6 meses según práctica clínica habitual.
- Grupo Incumplidor Con Intervención (GICI) (n=79): Seguimiento exhaustivo y se proponen estrategias de intervención dependiendo de la causa de no adherencia, con el objetivo de que el paciente se convierta en cumplidor.

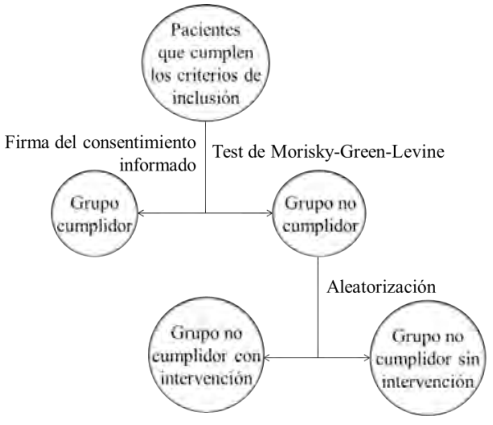


Fig. 1: Representación gráfica de los tres brazos del estudio y proceso de formación de los grupos.

La variable principal del estudio es el grado de

adherencia al tratamiento que se evalúa mediante el test de Morisky-Green-Levine comparando al inicio y al final del estudio. Como variable clínica se estudia el colesterol total (CT) al inicio y al final (6 meses) del estudio.

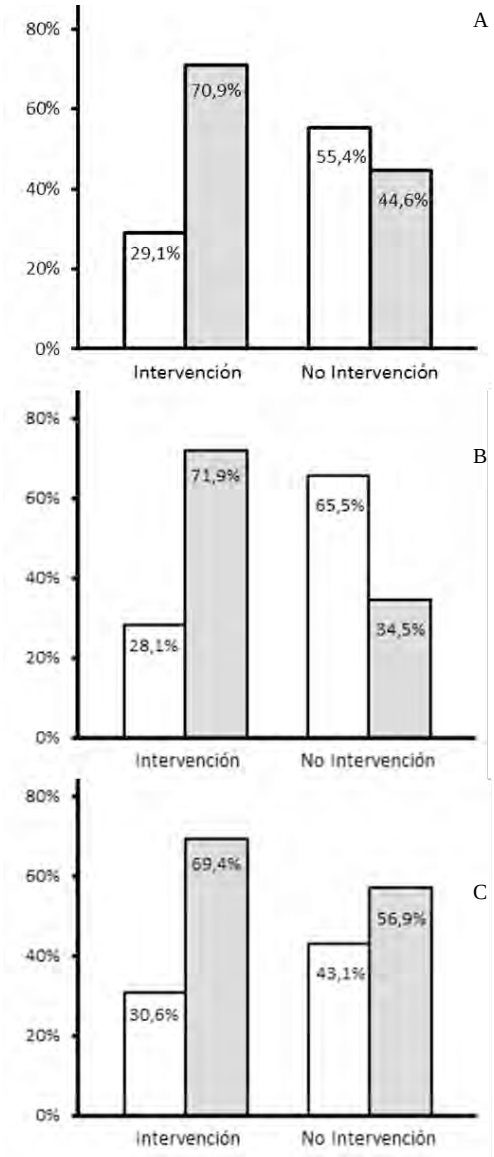


Fig. 2: Porcentaje de pacientes no adherentes al inicio del estudio (blanco) y su evolución a adherentes o no adherentes al final del estudio (gris) en las intervenciones de A) FC+MAP, B) FC y C) MAP. (FC: Farmacéutico comunitario, MAP: Médico de atención primaria).

3. Resultados

El 70,9% de los pacientes que recibieron intervención profesional para mejorar el control de la adherencia pasaron a ser adherentes transcurridos los 6 meses de estudio (χ^2: 272,64; p<0,001). El control de la adherencia mejoró en 5 veces tras la intervención del FC (Odds ratio (OR)=4,95; IC95% 1,62-15,16; p=0,005) y en 2,4 veces tras la intervención del MAP (OR=2,35; IC95% 1,05-5,26; p=0,038) (Fig. 2).

Los niveles de colesterol total no se redujeron de forma significativa en ninguno de los grupos estudiados (p>0,05).

4. Conclusiones

La intervención del FC y del MAP mejora el control de la adherencia al tratamiento con estatinas en pacientes con hiper-colesterolemia, aunque no se acompaña de una reducción significativa en los niveles de colesterol total.

5. Agradecimientos

El estudio has sido patrocinado por TEVA PHARMA S.L.

Referencias

[1] Stephanie OUNPUU, Abdissa NEGASSA, Salim YUFUS. "*INTER-HEART: A global study of risk factors for acute myocardial infarction*." Am Heart J, 2001,141:711-21.

[2] INE (Instituto Nacional de Estadística). *Defunciones según la Causa de Muerte*. 2014. Disponible en: www.ine.es.

[3] World Health Organization (WHO). "*Adherence to long-term therapies. Evidence for action*", 2003. Disponible en: apps.who.int/medicinedocs/pdf/s483e/s4883e.pdf.

[4] Organización Mundial de la Salud (OMS). "*Adherencia a los tratamientos a largo plazo. Pruebas para la acción*", 2004. Disponible en: www.paho.org/Spanish/ AD/DPC/NC/adherencia-largoplazo.

[5] Pedro CONTHE, Emilio MÁRQUEZ-CONTRERAS. *Documento de Consenso Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI). Una proximación multidisciplinar al problema de la adherencia terapéutica en las enfermedades crónicas: estado de la situación y perspectivas de futuro*, 2012. Disponible en: www.fesemi.org.

Estudio comparativo de la penetración de antifúngicos a partir de lacas de naturaleza acuosa y orgánica

Elena CUTRÍN GÓMEZ[1], Barbara S. GREGORÍ VALDES[2,3], Soledad ANGUIANO IGEA[1], José Luis GÓMEZ AMOZA[1], João MOURA BORDADO[3], Helena MARGARIDA RIBEIRO[2], Francisco J. OTERO ESPINAR[1]

1. Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultada de Farmacia e Instituto de Farmacia Industrial. Universidad de Santiago de Compostela, España
2. Research Institute for Medicine and Pharmaceutical Science (iMed.UL), Faculty of Pharmacy, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal
3. Centre for Natural Resources and the Environment (Cerena), Instituto Superior Técnico, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

Email de contacto: francisco.otero@usc.es

1. Introducción

La onicomicosis es una enfermedad ungueal muy frecuente. A pesar de que tiene un importante impacto social y económico, los tratamientos tópicos existentes presentan un alto índice de fracaso debido a la baja permeabilidad de la uña. Actualmente están siendo investigadas numerosas estrategias de administración entre las que destaca el uso de nuevos vehículos que mejoren la penetración. El objetivo del trabajo es analizar el potencial de diferentes vehículos para promocionar la penetración de dos antifúngicos, la terbinafinaHCL (Uquifa) y ciclopirox base y olamina (Fagron), en la uña.

2. Materiales y métodos

Las pezuñas fueron obtenidas del matadero local y las muestras de uñas de las manos y pies de voluntarios sanos.

2.1. Elaboración de la lacas

Las lacas de base acuosas (LBA MCD/P407) se preparan dispersando 10% (p/v) de metil-Ciclodextrina (Crismeb® Roquette)y 5% de Pluronic F-127 (Merck),1% el Lauril sulfato sódico en una disolución alcohol-agua 50:50. Los fármacos se imcorporan a saturación para lo que se añade en exceso, se mantienen en agitación durante 24 horas y se filtran a través de membranas de nylon de 0.45 µm[1].

Las lacas orgánicas se elaboraron de acuerdo con la Tabla 1 disolviendo un 1% de poliuretano 19 (sintetizado en el laboratorio IST, Portugal) en etanol y añadiendo posteriormente el acetato de butilo y de etilo (Carlo Erba) y el principio activo [2].

	PU19 -10% 1 % Terbinafina	PU 19-10% 1%Ciclopirox
PU 19	10	--
Terbinafina HCl	1.0	
Ciclopirox	-	1.0
Acetato de etilo	7.8	17.8
Acetato de butilo	10	-
Etanol	71.2	71.2

2.2. Porosimetría de intrusión de mercurio

Las pezuñas o uñas, se sumergieron en las lacasdurante 24 horas, se congelaron en nitrógeno líquido, se liofilizaron y se midieron en un porosímetro Micrometrics 9305 (Norcross GA, USA).

2.3. Difusión y penetración

Los ensayos se realizaron en células verticales de Franz (Vidrafoc, Barcelona), utilizando pezuñas o uñas humanas como membrana entre compartimentos. El medio receptor para ciclopirox es tampón fosfato salino con 0.003% de azida sódica y en la terbinafina agua tagatal 5% (PEG-60 Hydrogenated Castor Oil, Evonik).

La cantidad de ciclopirox o terbinafina que penetró en las pezuñas o en las uñas se determinó

extrayendo los fármacos mediante incubación de las muestras durante seis días a 25ºC en tampón o agua tagat al 5% de metanol.

La cuantificación se realizó mediante espectrofotómetria UV(HP 8452A).

En todos los estudios se ha empleado Onytec como referencia, una laca comercial de nueva generación que contiene ciclopirox

3. Resultados

En la Figura 1 se muestra la porosidad de las uñas después de permanecer sumergidas en las lacas durante 24 horas. La incubación de las uñas con agua o la mezcla agua etanol, produce un incremento significativo de su porosidad, debido a un proceso de hinchamiento de la placa. Sin embargo, el tratamiento de las uñas con las tres lacas proporciona una menor porosidad, similar en el caso de la laca de referencia, a la obtenidas con las uñas sin tratar. La presencia de los polímeros y demás sustancias disueltas producen un incremento en la viscosidad y probablemente formen una película sobre las uñas que dificulte tanto la penetración de los disolventes como del propio mercurio.

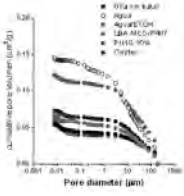


Fig. 1: Curvas acumuladas de los de datos de intrusión de mercurio para uñas tratadas con lacas acuosas y orgánicas.

Las pezuñas y uñas sometidas a la laca orgánica presentan un perfil de difusión (Fig. 2) constante a partir del quinto día, a diferencia de las tratadas con la laca acuosa en las que el paso del fármaco se produce de manera progresiva y continuada durante todos los días de ensayo.

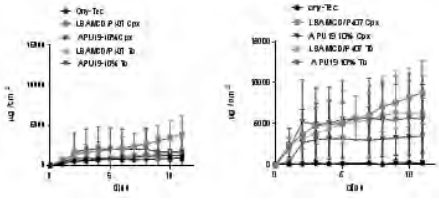


Fig. 2: Cantidades difundidas acumuladas de ciclopirox y de terbinafina en pezuñas (izquierda) y en uñas (derecha).

Los resultados obtenidos con ambas lacas son mejores que los obtenidos con la de referencia.

Los valores de antifungico penetrado en uña y pezuña al cabo de once días (Fig. 3) son similares para ambas lacas y no se aprecian diferencias significativas con respecto al Onytec.

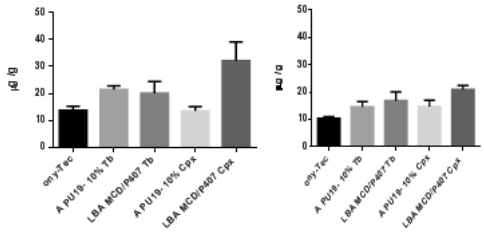


Fig. 3: Cantidades de ciclopirox y terbinafina retenidos en las pezuñas (izquierda) y uña (derecha).

4. Conclusión

Los estudios realizados indican que se produce una mejora en la difusión de ciclopirox a través de la uña y pezuña a partir de las lacas diseñadas, en relación a la laca de referencia.

La difusión obtenida para terbinafina en las lacas fue similar al ciclopirox, observándose en ambos que la difusión se produce de manera más progresiva en las lacas acuosas.

5. Agradecimientos

Elena Cutrín Gómez agradece a la “Xunta de Galicia” su beca predoctoral. Barbara S. Gregorí Valdes agradece a FCT- Fundação para a Ciência e Tecnologia SFRH/BD/78962/2011

Referencias

[1] L. NOGUEIRAS-NIETO, M.B DELGADO-CHARRO, F.J. OTERO ESPINAR, Thermogelling hydrogels of ciclodextrin poloxamerpolypseudorotaxanes and aqueous-based nail lacquers : Application to the delivery of triamcinolone acetonide and cilopiroxolamine, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics 83 (3) (2012) 370-377.

[2] GUELCHER S.A., GALLAGHER K.M., DIDIER J.E., KLINEDINST D.B., DOCTOR J.S., GOLDSTEIN A.S., *et al.* Synthesis of biocompatible segmented polyurethanes from aliphatic diisocyanates and diurea diol chain extenders. Acta Biomater. 2005 Jul;1(4):471-84.

Difusión de Ciclosporina-A a través de la piel mediante la utilización de liposomas ultraflexibles

Juan José CARRERAS, Willian E. TAPIA, Adrián SALA, Teresa Mª GARRIGUES, Ana MELERO

Dpto. de Farmacia, Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Avenida Vicente Andrés Estellés, Burjassot, Valencia

Email de contacto: teresa.garrigues@uv.es, ana.melero@uv.es

1. Introducción

Las enfermedades inflamatorias de la piel, como la psoriasis y la dermatitis atópica, afectan a un gran porcentaje de la población. Uno de los fármacos más efectivos para el tratamiento de estas enfermedades es la Ciclosporina-A, aunque su uso está restringido a una segunda línea de tratamiento, debido a sus efectos adversos sistémicos [1]. La administración tópica de la Ciclosporina-A está limitada debido a la incapacidad de esta para atravesar la epidermis y llegar a la dermis de forma pasiva, debido a su elevado peso molecular. Por ello, en el presente trabajo se han desarrollado liposomas ultraflexibles de ciclosporina A para facilitar la difusión del fármaco [2,3]. Además, ha sido evaluada la capacidad de difusión a través de epidermis humana separada por calor.

2. Materiales y métodos

Se han desarrollado dos tipos de liposomas ultraflexibles: dos transfersomas, con tween 20 y tween 80 y un etosoma. Los transfersomas fueron preparados por el método de la película seguido de extrusión o sonicación para reducir el tamaño de las vesículas [4] y los etosomas se prepararon por el método de Touitoui [5] seguido de extrusión.

Los ensayos de permeabilidad se llevaron a cabo utilizando células estáticas de difusión de tipo Franz y epidermis separada por calor [6] obtenida de piel humana abdominal, tras la obtención del informe de consentimiento del paciente y autorización del Comité Ético de la Universidad de Valencia [7]. Se evaluó la permeabilidad de cuatro diferentes formulaciones de liposomas ultraflexibles y se comparó con liposomas convencionales. Además, se evaluó la permeabilidad de soluciones formadas por los componentes de los liposomas junto con el fármaco.

3. Resultados y Discusión

A pesar de que tanto los liposomas convencionales como los componentes en solución aumentan la solubilidad de Ciclosporina-A en medio acuoso, estos no facilitaron la difusión de fármaco a través de la epidermis después de 48 horas. En cambio, los liposomas ultraflexibles **sí** que facilitaron la difusión de fármaco a través de la epidermis humana separada por calor. Los perfiles muestran acceso al compartimento receptor, alcanzándose el estado estacionario para las cuatro formulaciones entre 1,5 y 4 horas, siendo mayor el acceso de fármaco facilitado por los etosomas, seguido de los transfersomas preparados con tween 80, y tween 20 ambos extruidos, y por último, los transfersomas sonicados.

En base a estos resultados queda demostrada la difusión del activo a través de la epidermis cuando se utilizan liposomas ultraflexibles. Sin embargo, para poder demostrar una actividad tópica, y no sistémica, se deberá realizar ensayos complementarios.

4. Conclusiones

Estos resultados predicen la capacidad que presentan estos liposomas ultraflexibles para facilitar la penetración de Ciclosporina-A a través del estrato corneo y llegar al tejido diana sin necesidad de administrarla por vía oral.

5. Agradecimientos

Los autores desean agradecer a la Consellería Valenciana de Educación por la financiación del

estudio a través del proyecto GV2015-054 y a la empresa Phospholipon® por la donación del fosfolípido empleado.

Referencias

[1] ROSMARIN D.M., *et al*. Cyclosporine and psoriasis: 2008 National Psoriasis Foundation-Consensus Conference. J Am Acad Dermatol. 2010 May;62(5):838-53.

[2] EL MAGHRABY G.M., BARRY B.W., WILLIAMS A.C. Liposomes and skin: from drug delivery to model membranes. Eur J Pharm Sci Off J Eur Fed Pharm Sci. 2008 Aug 7;34(4-5):203-22.

[3] EL MAGHRABY GM, WILLIAMS AC, BARRY BW. Oestradiol skin delivery from ultradeformable liposomes: refinement of surfactant concentration. Int J Pharm. 2000 Feb 25;196(1):63-74.

[4] YAMAGUCHI T., *et al*. Effects of frequency and power of ultrasound on the size reduction of liposome. Chem Phys Lipids. 2009 Jul;160(1):58-62.

[5] TOUITOU E., *et al*. Ethosomes — novel vesicular carriers for enhanced delivery: characterization and skin penetration properties. J Controlled Release. 2000 Apr 3;65(3):403-18.

[6] KLIGMAN A.M., CHRISTOPHERS E. PREPARATION OF ISOLATED SHEETS OF HUMAN STRATUM CORNEUM. Arch Dermatol. 1963 Dec;88:702-5.

[7] NG, S.-F., *et al*. Validation of a Static Franz Diffusion Cell System for In Vitro Permeation Studies. AAPS PharmSciTech. 2010 Sep 15;11(3):1432-41.

Estudio de la inmovilización de proteínas en Nanopartículas Lipídicas a base de ácido esteárico

José Víctor ÁLVAREZ GONZÁLEZ[1], Mari Luz PICO COUCE[2], José BLANCO[1], Asterio LUZARDO[1], Francisco OTERO ESPINAR[1]

1. Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnologia Farmacéutica y, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela
2. Área de Pediatría, Facultad de Medicina e Odontoloxia, Universidad de Santiago de Compostela

Email de contacto: jvictor_alvarez@hotmail.com

1. Introducción

La encapsulación de proteínas en sistemas micro y nanoparticulares puede contribuir a su estabilización, permitir su liberación de forma controlada, o su vehiculización hacia zonas del organismo a las que, por sí solas, no lograrían alcanzar en concentración adecuada.

Las nanopartículas sólidas lipídicas (NSL) son sistemas de transporte de fármaco alternativos a las nanopartículas poliméricas o a los liposomas que presentan propiedades comunes a ambos sistemas. Una de las ventajas es que pueden alcanzar el interior celular con relativa facilidad permitiendo la vehiculización de sustancias a este nivel. Por el contrario, uno de sus inconvenientes es que, dada su naturaleza lipídica, es difícil la incorporación de moléculas polares, como son péptidos y proteínas, en cantidades adecuadas.

2. Objetivos

En este trabajo se pretende diseñar NSL de tamaño y carga superficial adecuada que permita inmovilizar proteínas en cantidades significativas.

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

Proteína modelo PFTP-2648, lecitina de soja fluida (acofarma®), acido esteárico (Fagron), diclorometano (VWR), solutol (BASF), kolliphor® (Pluronic®) P188 (Sigma). Los demás reactivos son grado analítico.

3.2. Métodos

Para la elaboración de las nanocápsulas conteniendo proteínas se ha adaptado el método de doble emulsión propuesto por Rui Yang y col [1].

Con el objetivo de determinar la composición y condiciones óptimas de preparación, se empleó un diseño de Plackett-Burman incluyendo como factores a estudio: cantidad de ácido esteárico, de enzima, concentración de kolliphor P188, de fosfolípido y de solutol así como la temperatura y energía aportada mediante ultrasonidos (Bandelin Sonoplus) durante la homogenización. Se obtuvieron un total de 14 formulaciones.

Como variables dependientes se empleó el tamaño, el potencial ZETA (Zetasizer Nano ZS 6.0) y la cantidad de proteína activa inmovilizada (método colorimétrico).

El análisis estadístico del modelo se realizó empleando paquete estadístico Statgraphic Centurión XVI.

4. Resultados

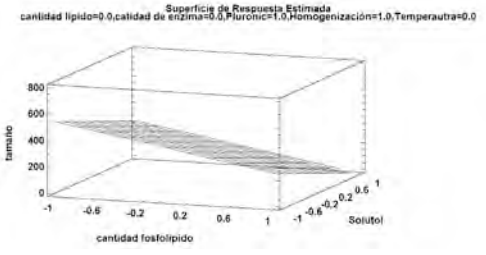


Fig. 1: Superficie de respuesta obtenida para la variable tamaño de NSL.

El análisis de los resultados mostró que la cantidad de lípido y de enzima influyen de manera significativa en el tamaño de las NPL observarse la tendencia en la superficie de respuesta representada en la. Fig. 1. El solutol y kolliphor P188 incorporado permiten la obtención de NSL con tamaños más homogéneos, observándose una disminución en el índice de polidispersión a medida que se incrementa su concentración (Fig. 2).

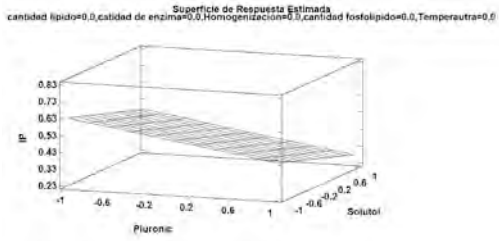


Fig. 2: Superficie de respuesta obtenida para la polidispersión

En cuanto a la carga de proteína, sólo ha sido significativo la cantidad empleada durante la elaboración, incrementándose al aumentar la proteína añadida. Sin embargo, en varios casos aún que se observa incremento en la carga, se detecta un peor porcentaje de inmovilización.

Todas las NPL presentaron potencial ZETA negativo en el intervalo de -15 a -30 mV (Fig. 3, como consecuencia de la presencia de cargas procedentes de la ionización del ácido esteárico y de la lecitina. La intensidad de carga superficial obtenida sugiere la formación de sistemas floculados.

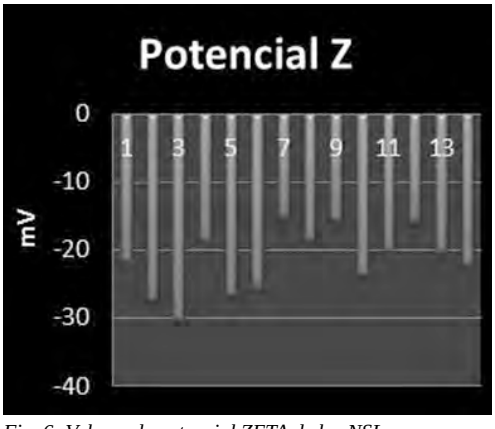


Fig. 6: Valores de potencial ZETA de las NSL.

Mediante el proceso de la optimización estadística de la respuesta con el objetivo de minimizar el tamaño y la polidispersión y maximizar la carga de enzima, empleando Statgraphic Centurión XVI, se identificaron la formulación 11 elaborada con los niveles más altos de ácido esteárico, enzima, kolliphor P188 fosfolípido y solutol y la temperatura y energía de homogenización menor.

5. Conclusiones

Se ha logrado inmovilizar la proteína modelo PFTP-2648 en cantidades significativas en NSL empleando ácido esteárico como lípido base.

Los resultados derivados del análisis del diseño de Plackett-Burman nos ha permitido identificar las variables con mayor influencia en el proceso de elaboración y definir las condiciones óptimas para la obtención de las NSL.

4. Agradecimientos

El autor agradece a Biomarin por la contribución económica para poder desarrollar este proyecto.

Referencias

[1] Rui YANG, Ren-Chao GAO, Cui-Fang CAI, Hui XU, Fang LI, Hai-Bing HE, and Xing TANG. Preparation of Gel-Core-Solid Lipid Nanoparticle: A Novel Way to Improve the Encapsulation of Protein and Peptide. Chem. Pharm. Bull; 58, 9, 1195-1202, 2010.

Evaluación de agentes lioprotectores en la estabilidad de nanopartículas de oro/chitosan liofilizadas

Luis Manuel OSORIO PADILLA, José MARTÍNEZ LANAO, Clara Isabel COLINO GANDARILLAS

Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Dpto. de Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, c/ Ldo. Méndez Nieto, s/n, 37007 Salamanca

Email de contacto: ganda@usal.es

1. Introducción

Las nanopartículas de oro (AuNPs) han generado mucho interés recientemente por sus propiedades. [1,2,3] Para su aplicación terapéutica y biomédica, su estabilidad de las es un requisito fundamental. La liofilización es una estrategia muy utilizada para mejorar la estabilidad de sistemas coloidales lábiles y para su transformación en productos sólidos. No obstante, este proceso de liofilización también puede inducir la agregación de las nanopartículas.

El objetivo de este trabajo ha sido evaluar la idoneidad de distintos agentes lioprotectores para su utilización en la liofilización de AuNPs preparadas con chitosan.

2. Material y métodos

2.1. Preparación de las nanopartículas

Para la preparación de las NP se utilizó chitosan de bajo peso molecular (Sigma) y sal de oro HAuCl4 (Sigma).

Se hicieron estudios preliminares con diferentes temperaturas (30ºC-150ºC) y concentraciones de chitosan de 0,2%, 0,4%, 0,6% y 0,8% en ácido acético 0,1M.

En todos los casos se incorporaron a 15 mL de la disolución de chitosán, 300 µL de sal de oro (4g/L) y se mantuvo la mezcla en agitación. El cambio de color de la solución, de incoloro a rosa-violeta, indicó la formación de las nanopartículas. La solución de NPs obtenida, se centrifugó (20 minutos, 16.000 r.p.m, 20±3ºC). Posteriormente, se eliminó el sobrenadante y se redisolvió el precipitado con agua.

2.2. Caracterización de las nanopartículas

Las AuNPs se han caracterizado mediante un barrido en espectrofotómetro UV, (400-650 nm), determinándose el máximo de absorbancia de la solución, que está relacionado con el tamaño de las AuNPs.

Se estableció una recta patrón con AuNPs-citrato comerciales (nanoComposix) de distintos tamaños, que se validó con muestras comerciales con distintos ligandos: AuNPs-PEG y AuNPs-BPEI (40 nm nanoComposix).

2.3. Liofilización de las nanopartículas

Para la liofilización de las AuNPs preparadas, se incorporó a 1ml de la solución de NPs 0,13g del agente lioprotector. Se congelaron a -20ºC durante 12 horas y posteriormente se liofilizaron durante 24 horas (–25ºC y p<0,001mmHg). Se ensayaron como agentes lioprotectores: sacarosa, trealosa y manitol. Se realizó también el proceso sin agente estabilizante.

2.5. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los resultados obtenidos se llevó a cabo con el programa SPSS utilizando un test t para muestras apareadas.

3. Resultados

El tiempo necesario para sintetizar las nanopartículas fue inversamente proporcional a la temperatura, oscilando entre 6 horas a 30ºC hasta 1 hora a 150ºC. En cuanto a las concentraciones de chitosán utilizadas, la de 0,2% generó AuNPs inestables que se agregaron en un período de 5-7 días. Las AuNPs obtenidas a partir

de concentraciones de chitosán de 0,6% y 0,8% precipitan difícilmente por centrifugación, lo que complica su separación y lavado.

Por ello, se eligió la concentración de chitosán de 0,4%, la cual permite conseguir una solución estable de AuNPs, que precipitan bien tras ser centrifugadas. La temperatura seleccionada fue de 150ºC y el tiempo 1 hora.

A partir de la recta patrón elaborada, se estimó el tamaño de las NP de oro funcionalizadas con PEG y BPEI con un error inferior al 5,3%. El tamaño estimado de las NPs de AuNPs-chitosan sintetizadas durante el estudio, fue de 41,11±2,94nm.

Tras la liofilización, los lotes sin agente crioprotector presentaron un aspecto inadecuado, además resultó imposible redisolverlos en agua. Por el contrario, para los lotes con los tres agentes lioprotectores se obtuvieron liofilizados con buena presentación, y fácil redisolución.

Los resultados obtenidos tras el barrido en el espectrofotómetro de las solución de AuNP-chitosan antes y después de la liofilización, con los distintos agentes lioprotectores, se muestran en la Figura 1.

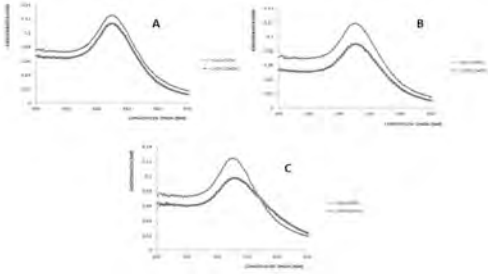


Fig. 1: Resultados del barrido de las AuNPs-chitosan antes y después de liofilizar. A trehalosa, B sacarosa y C manitol.

En el análisis estadístico de las longitudes de onda de máxima absorbancia de las soluciones antes y después de liofilizar, se encontró que no había diferencias estadísticamente significativas, cuando se utilizó sacarosa (p=0,84) o trehalosa (p=0,32) como lioprotector. Sin embargo, sí se encontraron diferencias significativas cuando se utilizó manitol (p=0,03).

4. Discusión

El método utilizado permite preparar AuNPs con chitosan en una hora utilizando una temperatura de 150ºC y una relación chitosan/sal de oro de 50 w/w. Esta cantidad de chitosan necesaria para evitar la agregación es similar a la descrita por otros autores. [2]

El proceso de liofilización produce la agregación de las AuNPs-chitosan, por lo que se hace necesario el uso de agentes lioprotectores. Tanto la sacarosa como la trealosa generaron liofilizados con buena presentación y resultaron adecuadas para preservar la estabilidad de las NPs durante el proceso. Sin embargo, el manitol generó un liofilizado con aspecto adecuado, pero tener una baja capacidad protectora del manitol, que ha sido puesta de manifiesto por otros autores, y se ha atribuido a su menor capacidad de formación de puentes de hidrógeno. [3]

5. Conclusiones

La trealosa y la sacarosa han sido efectivos como agentes lioprotectores evitando la agregación de las NPs durante el proceso de liofilización. Sin embargo, el manitol no parece ser adecuado como estabilizante en la liofilización de AuNP con chitosan.

Referencias

[1] POTARA M., MANIU D., ASTILEAN S. *The synthesis of biocompatible and SERS-active gold nanoparticles using chitosan*. Nanotechnology. 20(31), 315602 (7pp), 2009.

[2] BHUMKAR D., JOSHI H., SASTRY M., POKHARKAR V. Chitosan Reduced Gold Nanoparticles as Novel Carriers for Transmucosal Delivery of Insulin. Pharm Res. 24(8), 1415-1426, 2007.

[3] ALKILANY A., ABULATEEFEH S., MILLS K., BANI YASEEN A., HAMALY M., ALKHATIB H., *et al. Colloidal Stability of Citrate and Mercaptoacetic Acid Capped Gold Nanoparticles upon Lyophilization: Effect of Capping Ligand Attachment and Type of Cryoprotectants*. Langmuir. 30(46), 13799-13808, 2014.

Evaluación de micropartículas de Ropinirol en un modelo animal de Parkinson

E. BARCIA[1,2], L. BOEVA[2], K. SLOWING[3], A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO[1,2], S. NEGRO[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, UCM, Madrid
2. Instituto Universitario de Farmacia Industrial, UCM, Madrid
3. Dpto. de Farmacología, UCM, Madrid

Email de contacto: ebarcia@ucm.es

1. Introducción

La enfermedad de Parkinson (EP) es un proceso degenerativo que afecta a más del 2% de la población, y que se caracteriza principalmente por una pérdida de neuronas dopaminérgicas del cuerpo estriado [1]. Ropinirol (RP) es un agonista específico de receptores dopaminérgicos D2 y D3, indicado para el tratamiento de la EP, tanto en monoterapia como en combinación con levodopa en las etapas avanzadas de la enfermedad. Por otra parte, el RP también es eficaz en la enfermedad avanzada en pacientes que experimentan complicaciones motoras debido al tratamiento con levodopa a largo plazo [2]. En este trabajo se desarrolla un nuevo sistema de liberación controlada de ropinirol, consistente en microesferas biodegradables, y cuya eficacia se evalúa en un modelo animal de Parkinson.

2. Materiales y métodos

2.1. Elaboración de las microesferas

Se han preparado microesferas cargadas con RP por la técnica de evaporación del disolvente a partir de una emulsión O/A, usando como polímero el ácido poli-láctico –co-glicólico (PLGA 50:50, Resomer 502®). La relación principio activo: polímero empleada fue de 40 mg/400 mg.

2.1. Estudio in vivo

Las microesferas elaboradas fueron ensayadas en un modelo animal de Parkinson (ratas Wistar), utilizando como neurotoxina rotenona (RT).

Los animales de experimentación fueron divididos en 5 grupos:

- Grupo 1 (G1): Grupo control.

- Grupo 2 (G2): Animales que recibieron rotenona (2 mg/kg/día) durante 45 días.

- Grupo 3 (G3): Animales que recibieron rotenona (2 mg/kg/día) durante 45 días y microesferas de RP (cantidad de microesferas equivalente a 15 mg de RP administradas cada 15 días).

- Grupo 4 (G4): Animales que recibieron rotenona (2 mg/kg/día) durante 45 días y microesferas de RP (cantidad de microesferas equivalente a 7,5 mg de RP administradas cada 15 días).

- Grupo 5 (G5): Animales que recibieron rotenona (2 mg/kg/día) durante 45 días y microesferas de RP en suero salino (1 mg/Kg/día) durante 45 días.

Todos los tratamientos fueron administrados por vía intraperitoneal.

Los ensayos de comportamiento [3] realizados han sido: catalepsia (barra horizontal y rejilla vertical), pruebas de coordinación utilizando el rotarod, aquinesia y natación. Estos ensayos se han realizado a los siguientes tiempos: 0, 15, 30 y 45 días. Asimismo, se han realizado controles periódicos de peso durante los 45 días.

3. Resultados y discusión

Los animales tratados con RT (G2) mostraron una clara disminución en el peso entre los días 13 y 25, que puede estar relacionada con el desarrollo

de la neurodegeneración. La misma evolución se observa durante los primeros 15-20 días en todos los otros grupos de animales tratados con RT (G3, G4 y G5), ya que en estos grupos de animales el tratamiento con RP (microesferas o solución) se inició el día 15. Una vez que se inició el tratamiento con RP se observó una clara mejoría en la evolución del peso en estos tres grupos de animales.

En cuanto a las pruebas de comportamiento, se obtuvieron diferencias significativas en el ensayo de catalepsia ($p < 0,05$) en los animales tratados con RT (G2), y en comparación con el grupo control (G1). Además, se observa una clara disminución de la latencia en las pruebas de catalepsia para los dos grupos tratados con microesferas (G3 y G4) y en los que recibieron la solución de ropinirol. Al final de la prueba (45 días), los mejores resultados se lograron en el grupo G3, que recibió la dosis más alta de micropartículas de RP.

La administración crónica de RT prolongó significativamente la latencia en la prueba de aquinesia (G2 vs. G1). Además, se ha observado una disminución significativa de la latencia a los 45 días en todos los grupos de animales que recibieron RP (G3, G4 y G5). Estos resultados fueron independientes del tipo de formulación y/o dosis administrada.

La prueba de comportamiento empleando el rotarod empeoró significativamente en el grupo que recibió RT y en comparación con el grupo control (G1). Los resultados evidenciaron un déficit neurológico en el grupo G2. En todos los grupos que recibieron RP se observó un mejoría en esta prueba a los 30 y 45 días. A los 30 días, los mejores resultados se obtienen en el grupo G3 (animales que recibieron microesferas cargadas con ropinirol a la dosis más alta), no observándose diferencias significativa con el grupo control (G1).

En el ensayo de natación la animales con déficit neurológícos (G2) muestran una clara reducción en su habilidad para nadar ($p > 0,05$) (G2 vs G1). Los animales que recibieron RP (G3, G4 y G5) mostraron mejores habilidades en este ensayo. Para los grupos G3 y G4 en las puntuaciones (rango de 0-3) mejoraron claramente al final del experimento (45 días), obteniéndose puntaciones medias de 2,7 para ambos grupos, mientras que en el grupo G5 la punción media al final del ensayo fue de 1,8.

3. Conclusiones

El tratamiento de la enfermedad de Parkinson empleando microesferas de ropinirol mejora los síntomas motores en un modelo animal.

4. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por un proyecto de la Fundación Mutua Madrileña (FMM-2012) y la UCM (grupo de investigación 910939).

Referencias

[1] R. DENYER, M.R. DOUGLAS, “Gene therapy for Parkinson’s disease”. Parkinson’s Dis. 65, 1-13. 2012.

[2] A.J.MATHESON, C.M. SPENCER, “ Ropinirole: a review of its use in the management of Parkinson’s disease”. Drugs 60, 115-137. 2000.

[2] M. FERNÁNDEZ, S. NEGRO, K. SLOWING, A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO, E. BARCIA, “An effective novel delivery strategy of rasagiline for Parkinson’s disease”. Int. J. Pharm. 41, 271-280. 2011.

Micropartículas biodegradables de gatifloxacino para el tratamiento de la tuberculosis pulmonar

P. MARCIANES[1], S. NEGRO[1,2], E. BARCIA[1,2],
C. MONTEJO[3], A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, UCM, Madrid
2. Instituto Universitario de Farmacia Industrial, UCM, Madrid
3. Dpto. de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud, Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo

Email de contacto: afernad@ucm.es

1. Introducción

La tuberculosis (TB) es una enfermedad infecciosa causada por el bacilo *Mycobaterium tuberculosis.* Este bacilo tiene la capacidad de sobrevivir y replicarse en los macrófagos alveolares, evadiendo así los mecanismos de defensas del hospedador y desarrollando una enfermedad latente. Por este motivo, el desarrollo de formulaciones que se puedan dirigir a los macrófagos pulmonares, supone una alternativa prometedora para el tratamiento de esta enfermedad.

El gatifloxacino (GAT) es una quinolona de última generación, que posee un amplio espectro de acción y puede ser utilizada para el tratamiento de la tuberculosis resistente a fármacos de primera línea.

El objetivo de este trabajo es desarrollar una formulación de microesferas biodegradables de gatifloxacino, para ser administradas por vía pulmonar, capaz de acceder a los macrófagos, actuando directamente en el reservorio del *Mycobacterium tuberculosis*. Con esta formulación se pretende reducir las resistencias, acortar la duración del tratamiento y disminuir las dosis.

2. Materiales y métodos

2.1. Elaboración y caracterización de microesferas de gatifloxacino

- Para la elaboración de las micropartículas (MPs) de GAT se emplea el polímero PLGA 502 (MPG) y PLGA 502H. (MPG-H) y la técnica de evaporación-extracción del solvente a partir de una emulsión O/A.

Las microesferas de GAT fueron caracterizadas determinando: Tamaño de partícula (difracción de rayos láser), aspecto (SEM), rendimiento del proceso; eficacia de encapsulación (HPLC) y cesión *in vitro* de GAT.

2.2. Estudios de fagocitosis

Para los estudios de fagocitosis *in vitro* se elaboraron micropartículas utilizando un agente fluorescente (fluoresceína) y los polímeros PLGA 502 (MPF-1) y PLGA 502H (MPF-2). La línea celular empleada fue RAW264.7 de macrófagos de ratón. Las células conjuntamente con la MPs se incubaron a diferentes tiempos: 3, 5 y 24 horas. Para este estudio se determinó la intensidad de fluorescencia y la complejidad granulométrica, mediante citometría de flujo, y se observó la captación de MPs por microscopía confocal.

3. Resultados y discusión

Las micropartículas cargadas con GAT presentan una superficie rugosa no homogénea, probablemente debido a la presencia del principio activo adsorbido en la superficie.

Formulación	MPG	MPG-H
Rendimiento del proceso (%)	45,6±2,5	63,5±3,1
Eficacia de encapsulación (%)	7,2±0,1	57,9±4
Diámetro (μm)	4,9 ±2,6	3,9 ±0,4

Tabla 1: Resultados obtenidos para el rendimiento medio del proceso de elaboración, eficacia de encapsulación y tamaño de partícula de las formulaciones elaboradas.

Los valores medios de rendimiento del proceso de elaboración, de eficacia de encapsulación y de

tamaño de partícula de las micropartículas cargadas con GAT se muestran en la Tabla 1.

El tamaño de las partículas es un factor determinante en el reconocimiento de las mismas por parte de los macrófagos. Tamaños comprendidos entre 1-6 micras presentan mayor captación en comparación con aquellas partículas de tamaños menores; partículas demasiado grandes y/o demasiado pequeñas no son reconocidas por los macrófagos [3]. Por tanto, el tamaño de partícula de ambas formulaciones resultó adecuado para lograr el objetivo planteado (Tabla 1).

A la vista de los resultados obtenidos se observa que al emplear el polímero 502H, más hidrófilo, aumenta la eficacia de encapsulación.

Los perfiles de cesión de las micropartículas de GAT fueron bifásicos, con una rápida liberación durante 48 primeras horas seguida de cesión lenta al menos 5 días.

Los tamaños medios de partícula de las formulaciones elaboradas con fluoresceína fueron de 4,4±2,2 y 3,5±1,7 para las formulaciones preparadas con los polímeros PLGA 502 y PLGA 502H, respectivamente.

En los estudios de citometría de flujo los valores de intensidad de fluorescencia más elevados se obtuvieron con las micropartículas elaboradas con el polímero PLGA 502H (MPF-2).

Para confirmar los resultados obtenidos mediante citometría de flujo, se estudió la captación de las MPs mediante microscopia confocal. Las micropartículas elaboradas con el polímero 502 fueron fagocitadas a todos los tiempos de muestreo, sin embargo las preparadas con el 502H (MPF-2) no fueron fagocitadas, ni a las 3 ni a las 5 horas de incubación, aunque sí a las 24 horas. Estas micropartículas, a tiempos cortos, se encuentran adheridas a la superficie de los macrófagos, probablemente debido a la mayor hidrofilia que presentan en su superficie. Por lo que se confirma que valores de intensidad de fluorescencia obtenidos para esta formulación a las 3 y 5 h. se deben, en gran medida, a su adhesión a la superficie de los macrófagos y no a la fagocitosis.

3. Conclusiones

Las micropartículas elaboradas con el polímero 502H, aunque son fagocitadas más lentamente, presentan una mayor cantidad de gatifloxacino para ser liberado en el interior del macrófago. Por ello son las más adecuadas para reducir dosis y mejorar la eficacia de los tratamientos.

4. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la UCM (grupo de investigación 910939).

Referencias

[1] J.D. ERNEST. "*The immunological life cycle of tuberculosis*". Nature, 12, 581-593, 2012.

[2] C.S. MERLE *et al*. " A four-month gatifloxacin containing regimen for treating *Tuberculosis*", N. Engl. J. Med., 17, 1588-1598, 2014.

[3] V. GUPTA *et al*.," Liposomal fasudil, a rho-kinase inhibitor, for prolonged pulmonary preferential vasodilation in pulmonary arterial hypertension", J. Control. Release, 167, 189-199, 2013.

Comprimidos matriciales de PAMgA para la liberación prolongada de metformina

Rebeca SIMANCAS HERBADA[1], Ana FERNÁNDEZ CARBALLIDO[1,2], Ana Isabel TORRES-SUÁREZ[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
2. Instituto Universitario de Farmacia Industrial. Universidad Complutense de Madrid

Email de contacto: rebecasimancas@ucm.es

1. Introducción

La metformina es un antidiabético de administración oral muy usado para el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. Su acción consiste en disminuir los niveles basales y post-prandiales de glucosa plasmática, y la dosis diaria recomendada varía entre 500 – 1000 mg dependiendo del estado del paciente. El objetivo de este trabajo es determinar la utilidad de un nuevo polímero hinchable derivado del ácido acrílico (PAMgA) [1] para elaborar comprimidos matriciales de liberación prolongada de fármacos hidrosolubles, utilizándose como modelo la metformina. Además se va a estudiar los mecanismos de hinchamiento y erosión y las características morfológicas de los comprimidos.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Metformina HCL (Fagron Ibérica, España), taurocolato sódico hidratado y pepsina de mucosa gástrica porcina (Sigma-Aldrich Chemical, España), cloruro sódico, hidróxido sódico 5N y ácido clorhídrico 37% (Panreac, España), fosfato sódico monobásico (Acros Organics, Belgica).

2.2. Elaboración de los comprimidos

Se elaboran comprimidos matriciales por compresión directa, empleando una máquina de comprimir excéntrica BE-30 (J. Bonals). La metformina se encuentra homogéneamente dispersa por toda la matriz en una proporción del 50% con respecto al polímero PAMgA. Se elaboran comprimidos con dos polímeros con diferente grado de reticulación: PAMgA 5 y PAMgA 40. Los comprimidos presentan las siguientes características: ovalados, diámetro de 7,8 mm, longitud de 14 mm, altura de 6,5 mm, peso de 1g y con una resistencia a la fractura de 135N.

2.3. Ensayos de velocidad de disolución

Los ensayos se llevaron a cabo empleando el aparato de palas (708-DS, Agilent Technologies) descrito por la USP. Se ajustó la agitación a 100rpm, a 37±0,1ºC y con un volumen de medio de 1000mL. Los ensayos se realizaron en dos medios biorrelevantes diferentes: FaSSGF a pH 1,2 y FaSSIF a pH 6,8 [2]. Las muestras, recogidas a los diferentes tiempos de muestreo, se filtran y la cantidad de principio activo disuelto se cuantifica por espectrofotometría UV a una λ=232nm. Los ensayos se llevan a cabo por triplicado.

2.3. Ensayos de hinchamiento y erosión

Estos ensayos se realizaron en un aparato de disolución. Se ajusta la velocidad de giro de las palas a 100rpm, con un volumen de 250mL de medio biorrelevante y a una temperatura de 37±0,1ºC. El estudio se lleva a cabo empleando un método gravimétrico.

$$SW = \frac{Wi - Wo}{Wo} * 100$$

$$E = \frac{Wo - Wf}{Wo} * 100$$

Fig. 1: Ecuación de hinchamiento (SW) y de erosión (E) donde Wo es el peso del comprimido seco, Wf el peso final tras la estufa y Wi es el peso del comprimido húmedo.

Se pesan los comprimidos secos y se añaden al baño, a los diferentes tiempos de muestreo (1, 4 y 8 horas) se sacan, se retira el exceso de agua y se pesan en una balanza de precisión. Posteriormente se mantienen en la estufa a 50ºC durante 24 horas, hasta la total desecación. Se vuelven a pesar para obtener el porcentaje de erosión. A partir de estos valores se calcularon el hinchamiento y erosión usando las ecuaciones de la Figura 1 [3].

2.3. Estudios morfológicos

Se observan visualmente los cambios morfológicos que ocurren en la estructura de los comprimidos al entrar en contacto con el medio de disolución [4]. Los comprimidos se extraen de los vasos y se retira el exceso de agua, a continuación se realiza un corte longitudinal y se fotografían con una cámara Nikon COOLPIX S9100 (Japon). Las dimensiones del comprimido, así como de los diferentes frentes, se analizaron con el programa ImageJ. Los tiempos de muestreo para este ensayo fueron 1, 4 y 8 horas en los dos medios FaSSGF y FaSSIF. El ensayo se llevó a cabo por duplicado con los dos tipos de polímero PAMgA.

3. Resultados y discusión

Cuando los comprimidos entran en contacto con el medio, se produce un aumento rápido de su peso debido a la captación de agua entre las cadenas de ácido acrílico. Este hinchamiento es más acusado a pH básico (FaSSIF). Los comprimidos elaborados con PAMgA 40 presentan un mayor hinchamiento que los elaborados con PAMgA 5, probablemente debido a que este polímero está más reticulado y por tanto puede albergar más moléculas de agua en su interior. Por otro lado, los comprimidos elaborados con PAMgA 5 se erosionan más fácilmente y además esta erosión es ligeramente superior a pH 1,2.

Los resultados obtenidos en los estudios de velocidad de disolución, muestran que la liberación del principio activo es muy similar para ambos pHs e independiente del polímero empleado. A las 8 horas de comenzar el ensayo se ha disuelto un 100% y un 92% de metformina a pH 1,2 y pH 6,8 respectivamente. Sin embargo, aunque a ambos pHs los porcentajes de fármaco liberado son muy similares, los mecanismos de liberación son diferentes. A pH 6,8 el principio activo tiene que atravesar una capa de gel más gruesa y la liberación es principalmente por difusión. A pH 1,2, el mecanismo de liberación del principio activo se debe fundamentalmente a una mayor erosión. Este hecho se puede confirmar en los estudios morfológicos realizados. En estos estudios se observan las diferentes capas de los comprimidos al entrar en contacto con el medio, diferenciándose la capa de gel del núcleo seco (4h). Al final del ensayo (8 h), el comprimido está totalmente hinchado formando una capa de gel, a este tiempo el principio activo esta disuelto en el medio.

4. Conclusiones

El polímero PAMgA se postula como un buen excipiente para controlar la liberación de fármacos hidrosolubles en comprimidos matriciales, al haber presentado una buena compresibilidad y capacidad de controlar la liberación del principio activo metformina de forma prolongada durante 8 horas.

Referencias

[1] M. CHADDADI, *et al.* "*Cytotoxicity and biocompatibility evaluation of poly (magnesium acrylate) hydrogel synthesized for drug delivery*". Int. J. Pharm. 413: 216-133. 2011.

[2] J. JANTRATID, N. JASSEN, J. DRESSMAN, J. "*Biorelevant Dissolution Media Simulating the Proximal Human Gastrointestinal Tract: An Update*". Pharmaceutical Research, 25: 21-25, 2008.

[3] E.I. NEP, K. ASARE-ADDO, M.U. GHORI, B.R. CONWAY, A.M. SMITH, "*Starch-free grewia gum matrices: Compaction, swelling, erosion and drug release behaviour*". Int J Pharmaceutics 496, 689-698, 2015.

[4] S. CONTI, L. MAGGI, L. SEGALE, *et al.*, "*Matrices containing NaCMC and HPCM 2. Swelling and releade mechanism study*", Int. J. Pharm. 333, 143-151, 2007.

CO_2 foaming preparation of porous bone scaffolds containing low molecular weight PLGA and autologous growth factors

Luis DÍAZ-GÓMEZ[1], Carlos A. GARCÍA-GONZÁLEZ[1], Fang YANG[2], John A. JANSEN[2], Ángel CONCHEIRO[1], Carmen ÁLVAREZ-LORENZO[1]

1. Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidade de Santiago de Compostela. 15782 Santiago de Compostela, España
2. Department of Biomaterials, Radboud University Medical Center, 6500 HB Nijmegen, The Netherlands

Email de contacto: diazgomez.luis@gmail.com

1. Introduction

The biodegradation rate of synthetic grafts should match the growth rate of the tissue as the main requirement for tissue engineering applications [1]. Among the FDA-approved polyesters for grafts, PLGA allows the tuning of the degradation properties of tissue implants by changing the lactic/glycolic ratio and molecular weight (Mw). Although PLGA with low Mw has degradation rates in the range of the bone tissue ingrowth, it lacks of mechanical strength and shows poor processability [2]. Low-Mw PLGA can be combined with other polymers such as PCL leading to the formation of porous scaffolds with physicochemical and mechanical properties that match the required specifications of the host tissue. Furthermore, scaffolds should present a porous structure to serve as a template to allow the attachment, proliferation and migration of cells and to enhance angiogenesis [3].

The aim of this work was to develop a modified compressed CO_2 foaming method, a solvent-free processing approach for the preparation of porous scaffolds containing low-Mw PLGA, also comprising PCL, pregelified starch (dried in oven, StO, or freeze-dried, StL) and autologous growth factors (PRGF) and to evaluate their use in bone regeneration [4].

2. Materials and methods

2.1. Scaffolds preparation

Scaffolds were prepared by using a supercritical fluid equipment. Powdered mixtures of the components (Table 1) were homogenized in a mortar, compressed in the form of rectangular tablets and subsequently subjected to near-critical CO_2 conditions (60 bar, 27 ºC) for 30 min followed by depressurization at 5 bar/min.

Scaffold	PCL	PLGA	PRGF	StO	StL
PCGL	50	50	-	-	-
PCGL- PRGF	47.5	47.5	5	-	-
PCGL-StO	45.0	45.0	-	10	-
PCGL-StO- PRGF	42.5	42.5	5	10	-
PCGL-StL	45.0	45.0	-	-	10
PCGL-StL- PRGF	42.5	42.5	5	-	10

Table 1: Composition of the scaffolds (wt%).

2.2. Scaffolds characterization

The scaffolds were immersed in liquid nitrogen, cut as cubes and observed using a high-resolution field emission SEM (JSM-6460LV, JEOL, Japan). Erosion was monitored after 2 months in PBS pH 7.4.

2.3. PRGF release

Cubic scaffold pieces (5 mm side; in triplicate) were placed in Eppendorf LoBind tubes containing PBS pH 7.4 (1 mL) and incubated at 37 ºC under stirring (30 rpm). At pre-established times, 0.5 mL of medium was collected and the content in protein quantified using a BCA kit. The tubes were refilled with 0.5 mL of fresh PBS.

2.4. Cell attachment and proliferation

Mesenchymal stem cells (MSC) were used to assess the ability of the scaffolds to promote cell attachment and proliferation both quantitative (DNA quantification) and qualitatively (Live-Dead staining).

3. Results and Discussion

The scaffolds showed an interconnected porous structure with pores in the 50-200 µm range (Fig. 1) and significantly degraded after 2 months (up to 55 wt. %).

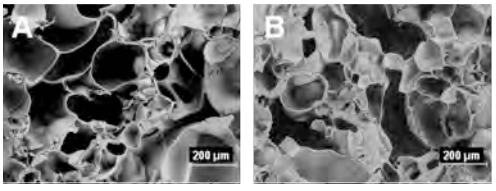


Fig. 1: SEM micrographs of the PCGL (A) and PCGL-PRGF (B) scaffolds.

The incorporation of starch decreased the interaction between PRGF and the polymer backbone resulting in a sustained release of growth factors for, at least, one week (Fig. 2).

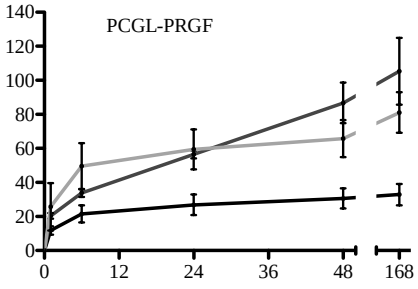


Fig. 2: Cumulative release of PRGF from the scaffolds after one week in PBS at 37ºC.

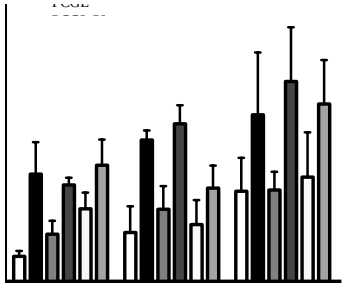


Fig. 3: DNA content of PCGL scaffolds after 1, 3 and 7 days in culture (n=3). Intraday-results were statistically compared (p<0.01 at 1 and 3 days and p<0.05 at day 7). Equal letter means statistically homogeneous groups.

PRGF had a positive effect on the MSC attachment and growth on the scaffolds as shown by DNA quantification, resulting in a significant increase in the cell concentration (Fig. 3).

These results confirmed that the foaming method did not affect the activity of the growth factors contained in the PRGF. Live-dead staining also revealed the cytocompatibility of the scaffolds.

4. Conclusions

The proposed CO_2 foaming method for the preparation of porous scaffolds from low-Mw PLGA and autologous growth factors (PRGF) is reported for the first time. The processing limitations of low-Mw polymers whilst retaining bioactivity of PRGF are overcome in a solvent-free, simple and reproducible method. Highly porous structure with a degradation rate similar to trabecular bone was obtained. Scaffolds were cytocompatible and provided sustained release of PRGF over 15 days enhancing cell attachment, proliferation and migration of mesenchymal stem cells.

5. Acknowledgements

Work supported by MINECO (SAF2014-52632-R) and FEDER. L.D-G. acknowledges MINECO for the FPI fellowship (BES-2012-051889) and the travel grant (EE-I-14-07904) and C.A.G-G for a Ramón y Cajal Fellowship (RYC-2014-15239).

References

[1] S. BROWNE, A. PANDIT. *"Multi-modal delivery of therapeutics using biomaterial scaffolds"* J. Mater. Chem. B 2, 6692-6707, 2014.

[2] H.K MAKADIA, S.J. SIEGEL. *"Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier"*. Polymers 3, 3, 1377-1397, 2011.

[3] C. A. GARCÍA-GONZÁLEZ, A. CONCHEIRO, C. ALVAREZ-LORENZO. *"Processing of materials for regenerative medicine using supercritical fluid technology"*. Bioconjugate Chem. 26, 7, 1159-1171, 2015.

[4] L. DIAZ-GOMEZ, F. YANG, J.A. JANSEN, A. CONCHEIRO, C. ALVAREZ-LORENZO, C.A. GARCÍA-GONZÁLEZ. "*Low viscosity-PLGA scaffolds by compressed CO_2 foaming for growth factors delivery*". RSC Advances 6, 70510-70519, 2016.

El grado de cristalinidad como parámetro indicativo de calidad en la compactación por vía seca de ibuprofeno

Antonio MATJI[1], Luis CARVAJAL[1], Fernando CONDE[2], María Ángeles PEÑA[3], Nicoletta DONATO[1], Juan TORRADO[1]

1. Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal sn, 28040 Madrid
2. CAI Difracción Rayos X. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal sn, 28040 Madrid
3. Dpto. de Ciencias Biomédicas. Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, 28871 Alcalá de Henares

Email de contacto: torrado1@ucm.es

1. Introducción

El ibuprofeno es un analgésico antiinflamatorio no esteroídico de amplio uso por vía oral. Generalmente se suele procesar mediante granulación por vía húmeda. Un proceso alternativo más económico y rápido es la granulación por vía seca con rodillos refrigerados. La fabricación de formas sólidas de ibuprofeno está condicionada por su bajo punto de fusión, entre 75 y 78ºC. En esta comunicación se presenta información sobre cómo el grado de cristalinidad del ibuprofeno materia prima influye en su facilidad para granulación por vía seca mediante rodillos y en la calidad de los granulados obtenidos.

El grado de cristalinidad se estudia por las técnicas de difracción de rayos X (DRX) y por calorimetría diferencial de barrido (DSC).

La calidad final del granulado obtenido se evalúa mediante su velocidad de disolución.

2. Materiales y métodos

Ibuprofeno Shasun Chemicals and Drug Ltd (India) grado 70, 90% de tamaño < 70 µm lotes 12746 y 21673, ambos lotes conforme a Farmacopea [1]. Croscarmelosa sódica AC-DI-Sol (FMC, USA). Resto de productos de calidad análisis.

2.1. Análisis de ibuprofeno materia prima

Aspecto. Se cuantifica de 0 a 10 siendo 0 un producto completamente aglomerado y apelmazado y 10 un producto suelto con buena fluidez.

Grado de cristalinidad por difracción de rayos X (GCDRX). Se utiliza un difractómetro de polvo Panalytical (anterior Philips) X'Pert MPD (CAI difracción RX, UCM). Se mide la anchura de picos a media altura del pico característico a 22,3º 2theta.

Grado de cristalinidad por DSC. Se utiliza un calorímetro Mettler TA 4000 con nitrógeno como gas de purga. La cristalinidad se evalúa mediante su entalpía de fusión normalizada (EFN).

2.2. Granulación por compactación vía seca

El ibuprofeno materia prima se pasa por tamiz de 1,5 mm y se mezcla en proporción 97:3 con croscarmelosa sódica. La compactación se realiza en una Bonals BC150/75 V con rodillos refrigerados. La velocidad de producción fue entre 25-30 kg/h, la velocidad del rodillo entre 12 y 13 rpm. Se prepararon 5 lotes (G1-G5) diferentes variando la fuerza de compactación (FC) como se muestra en la Tabla 2. Los granulados obtenidos se pasan por un tamiz de 1,5 mm.

2.3. Análisis de granulados de ibuprofeno

Porcentaje de finos (PF) < 125 µm mediante tamización.

Grado de cristalinidad igual que el ibuprofeno materia prima.

Velocidad de disolución. Según equipo Erweka DT 80 modelo II de farmacopea a 50 rpm. Como medio de disolución se usa tampón fosfato pH 7,2 con 1% de lauril sulfato sódico y se cuantifica por espectrofotometría a 266 nm (Beckman DU6).

3. Resultados y discusión

Los resultados de los dos lotes de ibuprofeno materia prima se muestran en la Tabla 1. El aspecto del lote 12746 es normal aunque un poco apelmazado. Sin embargo, el lote 21673 resultó muy apelmazado siendo muy laboriosa su tamización inicial para poderlo mezclar con croscarmelosa. Las características de cristalinidad por difracción se muestran en la Figura 1 donde el lote 12746 muestra máximos de mayor intensidad relativa y menor anchura que el lote 21673. Las diferencias de cristalinidad entre los dos lotes analizados pueden ser debidas a deficientes condiciones de almacenamiento.

Lotes	Aspecto	GCDRX	EFN (Jg)
12746	5	0,21	-120,48
21673	1	0,31	-119,99

Tabla 1: Características del ibuprofeno materia prima.

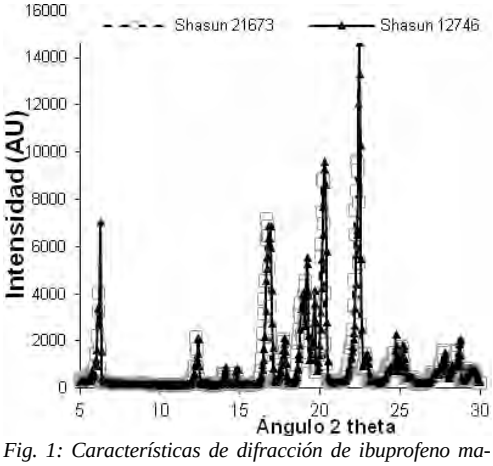


Fig. 1: Características de difracción de ibuprofeno materia prima.

Los resultados de los granulados de ibuprofeno se muestran en la Tabla 2. El porcentaje de finos es indicativo de la calidad de la granulación y es parecido en las cinco condiciones de fuerzas de compactación estudiadas. Si se compara con los datos de cristalinidad de la Tabla 1 se aprecia una disminución del grado de cristalinidad estadísticamente proporcional a la fuerza de compactación.

	FC (KN)	PF (%)	GCDRX	EFN (Jg)
G1	45-50	8	0,41	-117,01
G2	50-55	8	0,44	-120,35
G3	55-60	8	0,36	-122,58
G4	60-65	8	0,46	-119,56
G5	65-70	7	0,54	-118,11

Tabla 2: Características de los granulados.

La Figura 2 muestra los resultados de velocidad de disolución de los granulados. La velocidad de disolución de los lotes realizados con el ibuprofeno 12746 (lotes G1-G5) son muy parecidos entre si y rápidos, mientras que el lote GM realizado con el ibuprofeno menos cristalino (21673) tiene una liberación más lenta.

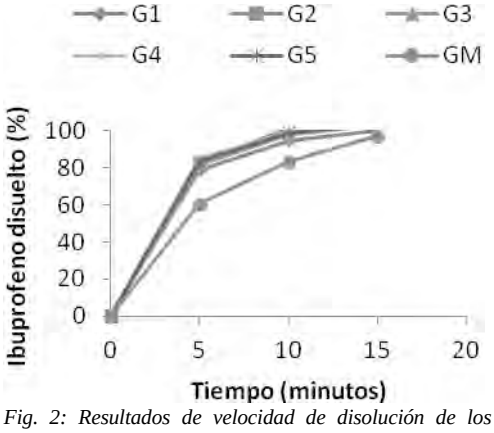


Fig. 2: Resultados de velocidad de disolución de los granulados.

4. Conclusiones

El grado de cristalinidad de la materia prima es clave en la granulación por vía seca y cambia durante la compactación influyendo en la velocidad de disolución.

Referencias

[1] European Pharmacopoeia 8.0 Council of Europe. 2013.

Análisis de Riesgos en el desarrollo de una formulación de liberación controlada bajo el concepto de Calidad por Diseño (QbD)

Roberto ARÉVALO PÉREZ[1], Cristina MADERUELO MARTÍN[1], José M. LANAO[1,2]

1. Dpto. de Ciencias Farmacéuticas-Área Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Salamanca
2. Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca (IBSAL)

Email de contacto: robertoarevalo@usal.es

1. Introducción

En la guía ICH Q8(R2) se establecen los principios de Calidad por Diseño (QbD) bajo los que se trabaja en el marco de un Espacio de Diseño previamente definido en el cual existe un control sobre las diferentes variables que intervienen tanto con los materiales como en los procesos del desarrollo, garantizando la calidad del producto final [1, 2].

El objetivo del estudio ha sido realizar un Análisis de Riesgos para establecer el impacto de los Atributos Críticos de los Materiales (CMAs), fármaco y excipientes sobre los Atributos Críticos de Calidad (CQAs) en una formulación de liberación controlada.

2. Materiales y Métodos

2.1. Formulación

La formulación a desarrollar presenta el siguiente Perfil de Producto (QTPP): comprimidos de administración oral, de liberación controlada de un fármaco poco soluble en agua.

2.2. Materiales

Se estudiaron los datos recabados de los certificados de análisis del fármaco modelo y los polímeros hidrofílicos candidatos a incluir en la formulación, destinados a modular la velocidad de liberación del fármaco: HPMC y polietilenóxido [3].

Adicionalmente, se estudiaron experimentalmente aquellos datos no facilitados en dicha documentación, como son la determinación de la densidad aparente y compactada, y la fluidez del fármaco y de los polímeros siguiendo los diferentes métodos recogidos en la 5º edición de la Real Farmacopea Española [4].

2.3. Análisis de Riesgos

Se determinaron los CQAs del producto final en base a los parámetros críticos que *a priori* pueden incidir sobre el QTPP.

Se utilizó un código de colores para clasificar el impacto de los diferentes CMAs sobre los CQAs del producto final:

- Verde: riesgo bajo
- Amarillo: riesgo medio
- Rojo: riesgo elevado

Los CMAs valorados en el análisis de riesgos han sido tamaño de partícula, fluidez, solubilidad, higroscopicidad, humedad residual y estabilidad.

Para la cuantificación de los riesgos se efectuó un análisis modal de fallos y efectos utilizando una escala del 1 al 5, siendo 1 un riesgo muy poco probable, de baja severidad y elevada capacidad de detección, y 5 una probabilidad y severidad de riesgo muy alta, y un índice de detección muy bajo. El Número de Prioridad del Riesgo (RPN) se obtuvo multiplicando los valores de probabilidad (P), severidad (S) y detección (D):

Se tomaron en consideración como puntos críticos para el Diseño Experimental y el establecimiento

del Espacio de Diseño aquellos atributos con un RPN superior a 30.

3. Resultados y discusión

Se establecieron un total de seis CQAs: aspecto físico (forma, color y tamaño), riqueza, uniformidad de contenido, resistencia a la rotura, disolución y humedad residual.

De todos los CMAs estudiados, en el Análisis de Riesgo del fármaco se puso de manifiesto que sus malas propiedades de flujo, su baja solubilidad y su inestabilidad tienen impacto medio y alto sobre los CQAs del producto final (Tabla 1).

Una vez establecidos los riesgos sobre los CQAs se procedió a la Evaluación del Riesgo para el desarrollo del Espacio de Diseño. En el caso concreto del fármaco modelo, la Evaluación del Riesgo puso de relieve que el mal flujo y su baja solubilidad son los aspectos críticos a considerar (Tabla 2).

CQAs	Flujo	Solubilidad	Estabilidad
Atributos Físicos	Bajo	Bajo	Alto
Riqueza	Alto	Bajo	Alto
UC	Alto	Bajo	Bajo
Resistencia a la rotura	Bajo	Bajo	Bajo
Disolución	Bajo	Medio	Bajo
HR	Bajo	Bajo	Bajo

** UC (uniformidad de contenido), HR (humedad residual)*
Tabla 1: CMAs con resultado de alto y medio riesgo en el Análisis de Riesgos del fármaco modelo.

CMAs	P	S	D	RPN
Tamaño Partícula	2	3	4	24
Mal flujo	5	4	3	60
Baja solubilidad	2	5	3	30
Baja higroscopicidad	2	3	2	12
Bajo % Humedad	1	4	2	8
Fotosensibilidad	3	2	2	12

Tabla 2: Evaluación de Riesgos del fármaco modelo.

Un flujo muy deficiente podría afectar a la uniformidad de contenido y a la riqueza debido a un mal vaciado de la tolva y un llenado deficiente de la matriz, dando lugar a comprimidos con diferente proporción de principio activo [5]. Por otro lado, la baja solubilidad en agua del fármaco, 1g/100ml, puede comprometer la disolución.

El Análisis de Riesgos de los dos polímeros hidrofilicos estudiados mostraron que tan solo la HPMC presenta unos CMAs con mayor impacto, debido a su muy malas propiedades de flujo (RPN=60) y su elevada higroscopicidad (RPN=30). Estas propiedades pueden influir negativamente sobre la uniformidad de contenido y la riqueza del producto, así como sobre su estabilidad [5]. El polietilenóxido presentó para todos sus CMAs unos valores de RPN < 30.

4. Conclusiones

El Análisis y la Evaluación de Riesgos nos permitieron determinar cuáles de las diferentes propiedades de los materiales empleados en la formulación suponen un riesgo elevado para alcanzar los objetivos planteados en el QTPP.

En base a los resultados obtenidos se podrá establecer un Diseño Experimental (DoE) para describir las posibles interacciones multidimensionales de los diferentes CMAs con los Parámetros Críticos del Proceso (CPP). El Espacio de Diseño quedará definido por el conjunto de combinaciones CMAs-CPPs que garanticen el perfil recogido en el QTPP.

Referencias

[1] ICH oficial website: ICH www.ich.org/.

[2] Kannissery Pramod, M. A. TAHIR, N. A. CHAROO, S. H. ANSARI, J. ALI, *"Pharmaceutical product development: A quality by design approach"* International Journal of Pharmaceutical Investigation. 6, 3, 129-138. 2016.

[3] V. BANSAL, R. MALVIYA, T. MALAVIYA, P. K. SHARMA, *"Novel Prospective in Colon Specific Drug Delivery System"* Polimery w Medycyne. 44, 2, 109-118. 2014.

[4] *"Real Farmacopea Española"* Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid (Quinta Edición, 2015).

[5] E. GUERIN, P. C. TCHORELOFF, B. LECLERC, D. TANGUY, M. DELEUIL, G. COURRAZE, *"Rheological characterization of pharmaceutical powders using tap testing, shear cell and mercury porosimeter"* International journal of pharmaceutics. 189, 1, 91-103. 1999.

Terapia génica no viral para la enfermedad de Fabry: Nuevo vector basado en SLNs y Bemiparina

Paola S. APAOLAZA[1,2], Ana del POZO-RODRÍGUEZ[1], Mónica VICENTE-PASCUAL[1], Josune TORRECILLA[1], Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN[1], María Ángeles SOLINIS[1]

1. Farmacocinética, Nanotecnología y Terapia Génica (PharmaNanoGene). Facultad de Farmacia. Centro de Investigación Lascaray Ikergunea. Universidad del País Vasco (UPV/EHU), España
2. Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Regensburg, Alemania

Email de contacto: marian.solinis@ehu.eus

1. Introducción

La enfermedad de Fabry (EF) es una alteración metabólica, multisistémica y grave, de carácter hereditario, debida a mutaciones en el gen que codifica la enzima α-galactosidasa A (α-Gal A), siendo una excelente candidata para ser tratada mediante terapia génica.

Los vectores no virales a base de Nanopartículas Sólidas Lipídicas (SLNs) son una prometedora estrategia para terapia génica. La incorporación a las SLNs del péptido protamina (P) incrementa su capacidad de transfección. Además, se pueden utilizar ligandos como la bemiparina (Be), heparina de bajo peso molecular, para dirigir a células diana e incrementar la estabilidad de la formulación [1].

El objetivo de este trabajo es evaluar *in vitro* en células hepáticas Huh-7 y células endoteliales IMFE1 modelo de la EF, un vector no viral basado en SLNs asociadas a Be y P (Be-SLN) para el tratamiento de la EF. Además, evaluamos la compatibilidad del vector a nivel hematológico considerando una futura administración intravenosa.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación y caracterización de los vectores

Una solución acuosa de P y Be (cedida por Laboratorios Rovi) se mezcló con una solución del plásmido pCMV-EGFP (codifica la proteína verde fluorescente) o del plásmido pR-M10-αGal A. La mezcla se adicionó a la suspensión de SLNs elaboradas según el método de emulsificación-evaporación del solvente [2]. Se prepararon formulaciones con diferentes proporciones de Be y P. Se determinó el tamaño de partícula y potencial zeta y la capacidad de los vectores para condensar, liberar y proteger el ADN frente a DNasas (electroforesis en gel de agarosa). Se tomaron imágenes de los vectores mediante microscopía de transmisión electrónica (TEM).

2.2.- Estudios "in vitro"

Se estudió la eficacia de transfección en células Huh-7 e IMFE1 a las 72 h. La producción de GFP se midió mediante fluorimetría y se expresó como RFU/mg proteína (Micro BCA™). La actividad de la enzima *α*-Gal A se determinó por fluorimetría [3]. La viabilidad celular se estudió mediante el método CCK8. La hemaglutinación y la hemólisis se evaluaron tras poner el vector en contacto con una suspensión de eritrocitos durante 15 min y 1 h, respectivamente.

3. Resultados

En base a los resultados de protección y liberación del ADN se seleccionó el vector con las proporciones Be-P-ADN-SLNs 0.1:2:1:5. El tamaño de partícula fue 180±6 nm, el índice de polidispersión fue de 0,2 y el potencial Zeta +41±1 mV. La Figura 1 presenta una fotografía del vector en la que se observa una capa o corona debida a la Be.

Fig. 1: Imagen del vector Be-SLN obtenida mediante TEM.

Tras la administración del vector Be-SLN se produjo una mayor cantidad de GFP en Huh-7 que en IMFE1 (fig. 2A). En la Figura 2B se recogen los niveles de α-Gal A en las células tratadas y sin tratar. Las células IMFE1 presentaron bajos niveles basales de α-Gal A, al ser una línea celular procedente de un paciente con EF. En esta línea celular el vector Be-SLN incrementó 7 veces la actividad α-Gal A con respecto a las células sin tratar. No hubo diferencias significativas en la viabilidad celular.

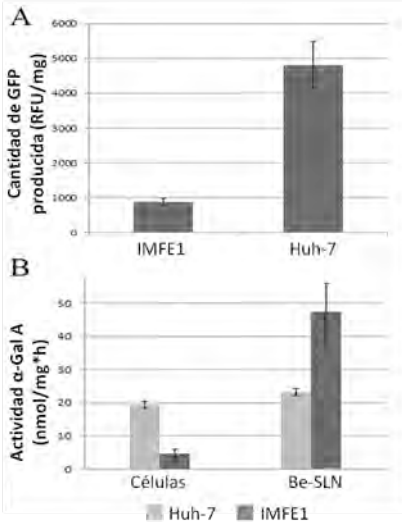


Fig. 2 A) Expresión de GFP y B) α-Gal A 72 h post-transfección en IMFE1 y Huh-7 (n=3).

El vector Be-SLN no produjo hemólisis significativa ni aglutinación de los eritrocitos (fig. 3). Los vectores sin Be (figs. 3B y 3C) indujeron aglutinación de los eritrocitos.

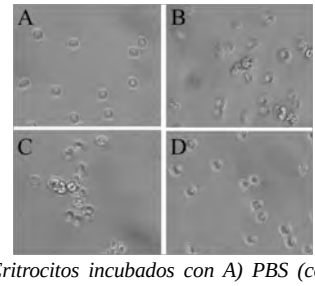


Fig. 3: Eritrocitos incubados con A) PBS (control); B) ADN-SLNs; C) P-ADN-SLNs y D) Be-SLNs.

4. Discusión

Las células endoteliales vasculares son las principalmente afectadas por la EF. Cabe destacar que el vector Be-SLN produjo una alta actividad α-Gal A en un modelo celular de EF, por lo que cabe esperar una mejoría en el funcionamiento celular.

Las células Huh-7 se han usado como modelo para evaluar la capacidad de los vectores de transfectar el hígado. Este órgano puede actuar como factoría de proteínas que se vierten al torrente sanguíneo. La producción de GFP fue mayor en Huh-7 que en IMFE1, pero la actividad α-Gal A fue inferior. Sin embargo, se sabe que no es necesario conseguir niveles altos de expresión de la enzima para obtener eficacia clínica.

La falta de correlación entre la cantidad de GFP y actividad α-Gal A en ambas líneas celulares pone de manifiesto la complejidad del desarrollo de este tipo de nanoformulaciones, además de la necesidad de disponer de modelos celulares adecuados.

Finalmente, el carácter aniónico de la Be aporta al vector una mayor estabilidad en fluidos biológicos como la sangre, evitando la hemólisis y la agregación celular.

5. Conclusión

El nuevo vector Be-SLN produce un gran incremento de la actividad α-Gal A en un modelo celular de EF. Los vectores también fueron capaces de transfectar células hepáticas. La Be aportó estabilidad a los vectores en la sangre.

6. Agradecimientos

Este trabajo ha sido apoyado por el departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco (IT-341-10) y la fundación MERCK Salud (2016).

Referencias

[1] APAOLAZA P.S., *et al.*, Solid lipid nanoparticle-based vectors intended for the treatment of X-linked juvenile retinoschisis by gene therapy: In vivo approaches in Rs1h-deficient mouse model, J. controlled release, 2016, 217-283, 2016.

[2] DEL POZO-RODRÍGUEZ A., *et al.*, Solid lipid nanoparticles: formulation factors affecting cell transfection capacity, Int J Pharm, 261, 268-339, 2007.

[3] RUIZ DE GARIBAY A.P., *et al.*, Solid Lipid Nanoparticles as Non-Viral Vectors for Gene Transfection in a Cell Model of Fabry Disease, J Biomed Nanotechnol, 11, 500-511, 2015.

Absorción percutánea de un polifenol lipídico desde nano-emulsiones y nanotransportadores sólidos lipídicos

Elvira ESCRIBANO FERRER[1,2], Ferran ROIG ROIG[1],
Rosa María LAMUELA RAVENTÓS[3,2], María José GARCÍA CELMA[1,4]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona e Instituto de Nanociencia y Nanotecnología (IN²UB), Avda. Juan XXIII s/n, 08028 Barcelona
2. Centro de Investigación Biomédica en Red en Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBER-OBN), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid
3. Dpto. de Nutrición, Ciencias de la Alimentación y Gastronomía, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Avda. Juan XXIII s/n, 08028 Barcelona.
4. Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid

Email de contacto: eescribano@ub.edu

1. Introducción

Los flavonoides son un tipo de polifenoles adecuados para ser administrados por vía tópica debido a sus efectos anti-inflamatorios y sus propiedades antioxidantes, así como por la eficacia demostrada en la prevención de daños foto-oxidativos [1]. Sin embargo, para lograr su absorción percutánea, es necesario administrarlos en formulaciones que permitan retener una gran cantidad del principio activo en la piel y una baja penetración en la dermis.

El objetivo del presente estudio fue desarrollar tres sistemas nanoestructurados [2,3]: una nano-emulsión (NE), un transportador lipídico nanoestructurado (NLC) y nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) que contenían un polifenol lipídico (0,3% p/p) para aplicación tópica, y estudiar la influencia de la formulación y el tamaño de partícula en la permeación *in vitro* a través de piel humana.

2. Material y métodos

Para la preparación de las formulaciones, se utilizaron dos tensioactivos no iónicos: un derivado de polioxietileno (HLB = 15) y un derivado de aceite de ricino (HLB ≈12). Como componentes oleosos se seleccionaron un triglicérido de cadena media de aceite y un lípido sólido derivado de glicerol.

La NE se preparó por el método de adiciones sucesivas a 25ºC y la NLC y SLN se prepararon por el método de emulsificación-sonicación. El tamaño de partícula de las NE, NLC y SLN se determinó utilizando el analizador de tamaño de partícula Vasco™ (Cordouan Technologies, Francia), mediante el método de cumulantes.

Para el estudio de absorción percutánea se utilizó el sistema MicroettePlus™ (Hanson Research, EE.UU.). En el compartimiento donador de la celda se adicionaron 200 µL de la formulación, y como medio receptor se utilizó una solución reguladora de fosfatos PBS a pH 7,2 con un 1% de polisorbato 80 (condiciones *sink*) a 32ºC y agitada a 400 rpm. Se utilizaron muestras de piel del mismo donante (0,4 mm de grosor), después de comprobar su integridad (TEWL). Al final del experimento, se retiraron de la capa córnea los restos de formulación, y se lavó la piel de acuerdo con un protocolo establecido. El polifenol en las muestras se cuantificó por HPLC-UV. 2.

Los parámetros de permeación (Jss, TL, Kp y P1, P2 [4]) se determinaron por el método del período de latencia [5].

3. Resultados

Las NE, NLC y SLN mostraron estabilidad cinética al menos durante 72h. El tamaño de partícula

obtenido y el correspondiente valor de span fueron de 85,14 nm (0,95), 53.72 nm (1.16) y 589 nm (1.13) para la NE, el NLC y SLN, respectivamente. En la Tabla 1 se exponen los resultados de permeación obtenidos.

	SLN	NLC	NE
J (µg/h·cm^2)	0.147	0.129	0.0350
	(0.134-0.157)	(0.105-0.155)	(0.023-0.042)
TL (h)	11.81	4.45	10.07
	(6.56-12.74)	(4.21-4.69)	(9.66-10.49)
P2·10^2 (1/h)	1.41	3.75	1.66
	(1.31-2.54)	(3.55-3.96)	(1.59-1.72)
P1·10^3 (cm)	3.47	1.17	0.59
	(1.76-3.99)	(0.88-1.46)	(0.45-0.73)
Kp·10^{-5} (cm/h)	4.90	4.33	0.96
	(4.48-5.23)	(3.49-5.18)	(0.78-1.6)
Qret* (µg)	144.7	152.1	191.3
	(134.9-178.3)	(123.2-180.8)	(160-8-196.6)
* *Balance de masas*			

Tabla 1: Mediana y rango de los valores de los parámetros de permeación obtenidos a partir de cada una de las formulaciones (n=3-4).

4. Discusión

Los tamaños de partícula relativamente elevados y la polidispersidad observada en las NLC y SLN pueden atribuirse al método de preparación utilizado.

De acuerdo con los valores de los parámetros de permeación obtenidos, el polifenol lipídico muestra una mayor permeación cutánea desde las NLC y SLN que desde la NE. Sin embargo, la NE presentó la mayor cantidad de principio activo retenido en la piel, aspecto importante a considerar en una formulación tópica. El tamaño de la gota no parece influir en la permeabilidad de la piel del polifenol ensayado en las formulaciones desarrolladas.

5. Conclusiones

La permeación del polifenol lipídico estudiado fue relativamente baja respecto a la dosis aplicada, lo que resulta de interés para su administración por vía tópica y acción local. Además, los nanosistemas ensayados permiten retener el principio activo en la piel, observándose diferencias entre las tres formulaciones, que no pueden atribuirse al tamaño de partícula sino a la composición.

6. Agradecimientos

Se agradece la financiación parcial del trabajo al proyecto AGL2013-49083-C3-1-R del Ministerio de Economía y Competitividad y a las ayudas 2014SGR1655 y 2014SGR773 de la Generalitat de Cataluña.

Referencias

[1] A. SAIJA, y col., *Influence of different penetration enhancers on in vitro skin permeation and in vivo photoprotective effect of flavonoids,* Int. J. Pharm., 175, 85-94, 1998.

[2] M.J. GARCÍA-CELMA y col. *Nano-emulsions for Pharmaceutical Applications*, en: M. Sánchez-Domínguez, C. Rodríguez-Abreu, eds., *Nanocolloids: A Meeting Point for Scientists and Technologists*, Elsevier, Amsterdam, 2016, pp. 365-388.

[3] R. H. MÜLLER, M. RADTKE, S. A. *Wissing, Solid lipid nanoparticles (SLN) and nanostructured lipid carriers (NLC) in cosmetic and dermatological preparations*, Adv. Drug Deliv. Rev., 54, 131-155, 2002.

[4] H. OKAMOTO y col, *Effects of β-cyclodextrin and di-o-methyl-β-cyclodextrin on the percutaneous absorption of butylparaben, indomethacin and sulfanylic acid*. Int. J. Pharm, 30, 34-35, 1986.

[5] J.C. SHAH. *Analysis of percutaneous data: evaluation of the lag time method*. Int J. Pharm 90, 161-169, 1993.

Albusomes, a Green Pharmaceutical Vehicle for Itraconazol Formulation

Mª José DE JESÚS VALLE[1], Imanol DE PRADA ERRAZQUIN[1], Macarena GONZÁLEZ LÓPEZ[1], Ana Rita HENRIQUES ALMEIDA RODRIGUES[2], Amparo SÁNCHEZ NAVARRO[1]

1. Dpto. de Ciencias Farmacéuticas (Farmacia y Tecnología Farmacéutica), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, c/ Licenciado Méndez Nieto, s/n, 37007 Salamanca
2. Escola superior de Saúde. Instituto politecnico da Guarda. Avenida Rainha D. Amélia, s/n 6300-749 Guarda, Portugal

Email de contacto: asn@usal.es

1. Introducción

Pharmaceutical vehicles aimed at controlled delivery are of particular interest, not only for new active products, but also for old generation drugs whose clinical use is restricted by unfavourable kinetic profiles. Albumin nanoparticles (ANP) have gained considerable attention because of this protein's transport capacity and physiological functions. Albumin is thought to facilitate endothelial transcytosis of plasma constituents into the extravascular space by binding to the cell surface receptor albondin [1]. These properties together with its preferential uptake by tumours and inflamed tissue [2] make albumin an appropriate ingredient for drug delivery systems. Apart from its relevant role in drug transport and targeting, this protein is also used to formulate hydrophobic drugs. Formulations based on albumin are being developed and successfully applied to the poorly water-soluble paclitaxel [3]. Albusomes, albumin microspheres containing liposomes, first applied to vancomycin [4] constitute a green formulation strategy with high potential for hydrophobic and highly albumin-bound products such as Itraconazole (ITZ). The aim of this work was to prepare and characterized ITZ-loaded albusomes.

2. Material and methods

2.1. Albumin as a ITZ solubility enhancer

The influence of albumin on ITZ solubility was studied prior to the preparation of albusomes. 7.5 mg of drug was placed in a vessel containing 500 ml of medium prepared by adding albumin at different protein concentrations (0.1%-4%) to HCl 0.1 M. The assay was also carried out in absence of albumin as control. After 24 h, a sample was extracted and split into two aliquots, one for direct quantification of ITZ and the other to be filtered by means of a Chromafil® PET-45/25 (0.45 µm, 25 mm diameter), both being analyzed using HPLC. The mixtures were then stored at room temperature (20-24ºC) for 1 week, after which they were analyzed again for ITZ quantification.

2.2. Preparation of albusomes

Cationic liposomes were prepared by sonication according to the previously described method [5] and mixed with the above ITZ medium to obtain albusomes. The procedure applied to vancomycin [4] was used here with slight modifications: only cationic liposomes were used and drug was incorporated with albumin instead of liposomes.

2.3. Characterization of albusomes

Centrifugation of flocculates (15.000 rpm, 4ºC) afforded the separation of a solid pellet containing the albusomes from a clear supernatant, the components not found in the latter were assumed to be trapped in the pellet. The amount of ITZ entrapped into the albusomes (Qa) was estimated from the difference between the drug amount used for particles preparation (Qi) and the amount quantified in the supernatant:

$$Qa = Qi - (Vs \times C_{ITZ})$$

where Vs and C_{ITZ} are the supernatant volume and

the ITZ concentration, respectively. Entrapment efficiency (%) was then calculated as follows:

EE (%) = (Qa/Qi) x 100

3. Results and Discussion

Drug concentration in mixtures prepared to achieve a theoretical value of 15 mg/l revealed mean values that were lower than expected (9.48±0.45, 11.79 ± 0.48, 12.96 ±1.00 and 12.69 ± 0.49 for 0%, 0.1%, 0.5% and 1% albumin, respectively), likely due to the high hydrophobicity of ITZ causing it to adhere to the surface of the glass. The concentrations obtained after filtering the samples were 6.84 ± 0.19 mg/L, 8.60 ± 0.38 mg/L, 9.11 ± 0.15 mg/L and 9.11 ± 0.36 for 0%, 0.1%, 0.5% and 1% albumin, respectively.

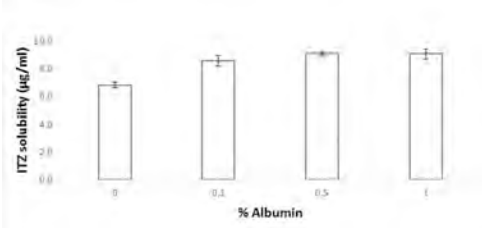


Fig. 1: Itraconazol solubility in acidic medium for different albumin concentrations.

Differences between these concentrations and those obtained for the same mixtures stored at room temperature for 7 days were not observed, which allows immediate checking of drug solubility by filtering without the need to wait for solute sedimentation. As figure 1 shows, albumin significantly increases ITZ solubility, even at 0.1%, and no statistical differences can be observed between the lowest and highest protein concentrations used (p=1.00).

Mean values for drug entrapment efficiency, fall into a 51-68% range for all albumin feeding concentrations, with no statistical differences (p=0.15) among them. No relationship between EE and albumin was found and data reveal that the albumin/ITZ molar ratio increase from 0.88 to 35.20 (0.1% and 4%, respectively) did not increase drug entrapment efficiency.

The findings of this study show that the combination of albumin and liposomes leads to a pharmaceutical vehicle that may be applied to drugs regardless of water solubility. For hydrophobic and highly albumin-bound drugs, such as ITZ, this formulation strategy improves solubility with no need for organic solvents or emulsifiers. The method applied to prepare the drug-loaded albusomes is a green, solvent-free procedure that guarantees total absence of volatile or cross-linker agent residuals in its formulation.

References

[1] S.M. VOGEL, R.D. MINSHALL, M. PILIPOVIC, C. TIRUPPATHI, A.B. MALIK, "*Albumin uptake and transcytosis in endothelial cells in vivo induced by albumin-binding protein*", Am. J. Physiol. Lung Cell Mol Physiol, 281: L1512-1522. 2001.

[2] L.P. KOLLURU, S.A. RIZVI, M. D'SOUZA, M.J. D'SOUZA, "*Formulation development of albumin based theragnostic nanoparticles as a potential delivery system for tumor targeting*", J Drug Target, 21: 77-86. 2013.

[3] Q. FU, J. SUN, W. ZHANG, X. SUI, Z. YAN, Z. HE, "*Nanoparticle albumin-bound (NAB) technology is a promising method for anti-cancer drug delivery*", Recent Pat. Anticancer Drug Discov, 4: 262-272. 2009.

[4] M.J. de JESÚS VALLE, D. LÓPEZ DÍAZ, M. VELÁZQUEZ SALICIO, A. SÁNCHEZ NAVARRO, "*Development and In vitro Evaluation of a Novel Drug Delivery System (Albumin Microspheres Containing Liposomes) Applied to Vancomycin*", J Pharm Sci, 105: 2180-2187. 2016.

[5] M.J. de JESÚS VALLE, A. SANCHEZ NAVARRO, "*Liposomes Prepared in Absence of Organic Solvents: Sonication Versus Lipid Film Hydration Method*", Curr Pharm Anal, 11: 86-91. 2015.

Encapsulación de ciprofloxacino en Albusomas: microesferas de albumina y liposomas

Mª José de JESÚS VALLE, Juan José DUQUE AGUILAR, Sara VIRUEGA ENCINAS, Amparo SÁNCHEZ NAVARRO

Dpto. de Ciencias Farmacéuticas (Farmacia y Tecnología Farmacéutica), Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca, c/ Licenciado Méndez Nieto, s/n, 37007 Salamanca

Email de contacto: mariajosedj@usal.es

1. Introducción

Ciprofloxacino es una fluoroquinolona de amplio espectro con actividad frente a microorganismos aerobios Gram-negativos y Gram-positivos. Debido a la baja toxicidad asociada a su uso y el lento desarrollo de resistencias está indicada en el tratamiento de diversas infecciones.

Se han ensayado distintas formulaciones de ciprofloxacino liposomal mediante estudios *in vitro* e *in vivo*, cobrando especial importancia la administración pulmonar para el tratamiento de patologías infecciosas del sistema respiratorio [1] y la ocular para superar las limitaciones derivadas del empleo de formulaciones líquidas convencionales [2].

Generalmente los liposomas se modifican con polímeros hidrófilos para aumentar su estabilidad y mejorar sus propiedades biofarmacéuticas, siendo el chitosan y los polietilenglicoles los más utilizados con este fin. En el presente estudio se seleccionó la albúmina, proteína biocompatible y biodegradable, con capacidad de unión a múltiples ligandos. [3]. Se trata de combinar los liposomas y la albumina en partículas denominadas albusomas, con el fin de aunar las propiedades de ambos transportadores [4].

El objetivo del presente trabajo ha sido incorporar ciprofloxacino a los albusomas y evaluar la influencia de distintos factores en las características de las partículas obtenidas.

2. Material y métodos

2.1. Preparación de liposomas

Se dispersan la fosfatidilcolina y el colesterol en el medio acuso que contiene el antibiótico en diferentes concentraciones (1-5 mg/ml); en el caso de liposomas catiónicos se incorpora, además, el bromuro dimetildioctadecil amonio (DDA). Se somete la mezcla a sonicación y 55±5ºC durante 20 min, se deja en reposo durante 1 h y se filtra (0,45 µm).

2.2. Preparación de los albusomas

Se mezcla la suspensión de liposomas catiónicos o aniónicos con la disolución de albúmina (0,5% o 1%) ajustando el pH a 7 o 4, respectivamente y se coloca la mezcla en baño de agitación a 4ºC durante 20 h.

2.3. Determinación de la Eficacia de encapsulación (EE%)

Se separan las partículas formadas por centrifugación a 15.000 rpm y 4ºC y se cuantifica la cantidad de ciprofloxacino en el sobrenadante mediante una técnica de HPLC. Se estima la EE (%) en base a la siguiente ecuación:

$$EE\ (\%) = [(Qi-Qs)/Qi] \times 100$$

Donde Qi es la cantidad inicial de ciprofloxacino añadida y Qs la cantidad remanente en el sobrenadante.

Todos los ensayos se replicaron 4 veces.

3. Resultados y discusión

Mediante el ajuste de pH y la bajada de la temperatura se induce el fenómeno de floculación que facilita la formación de los albusomas: partículas constituidas por liposomas y albúmina (libre y unida al fármaco). Como muestran las siguientes

figuras, el porcentaje de fármaco encapsulado no se modifica al variar las concentraciones de ciprofloxacino, se incrementa ligeramente al aumentar la concentración de albúmina y aumenta de forma significativa cuando se incorpora el DDA a los liposomas.

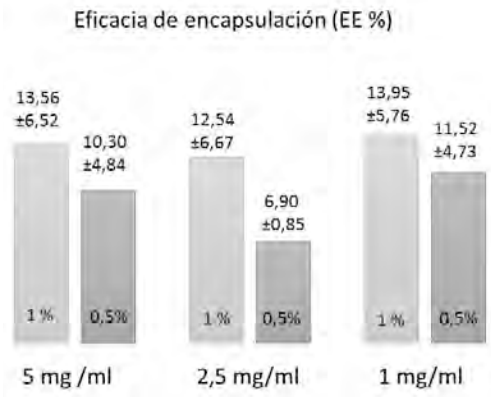


Fig. 1: EE (%) a partir de liposomas sin DDA para diferentes concentraciones de fármaco (1-5 mg/ml) y de albúmina (0,5%; 1%).

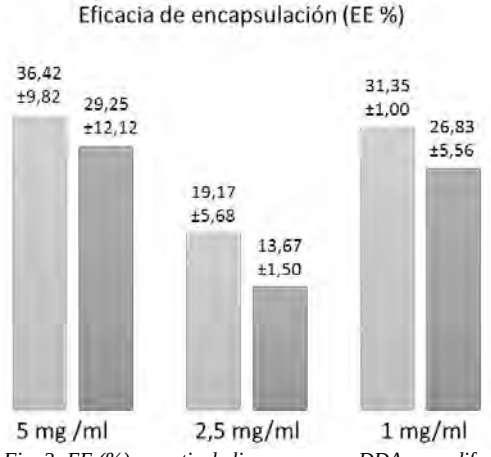


Fig. 2: EE (%) a partir de liposomas con DDA para diferentes concentraciones de fármaco (1-5 mg/ml) y de albúmina (0,5%; 1%).

La presencia del lípido catiónico aumenta el potencial zeta de los liposomas y facilita la interacción electrostática entre las vesículas y las moléculas de albúmina con signo contrario. El fármaco unido a la proteína queda atrapado en los albusomas, cuya estructura se muestra de forma esquemática en la siguiente figura

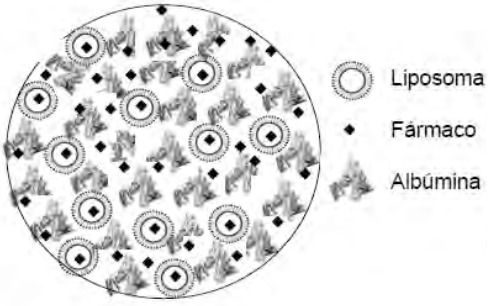


Fig. 3: Estructura propuesta para los albusomas.

La combinación de albúmina y liposomas permite obtener un vehículo farmacéutico biocompatible y biodegradable con gran potencial en el campo de la liberación controlada de fármacos; para antibióticos de amplio espectro, como es ciprofloxacino, facilitaría su administración por diferentes vías como son la pulmonar u ocular.

Referencias

[1] D. CIPOLLA, H. WU, I. GONDA, H.K. CHAN. "*Aerosol performance and stability of liposomes containing ciprofloxacin nanocrystals*". J Aerosol Med Pulm Drug Deliv, 28(6): 411-422. 2015.

[2] L. BUDAI, M. HAJDÚ, M. BUDAI, P. GRÓF, S. BÉNI, B. NOSZÁL *et al.* "*Gels and liposomes in optimized ocular drug delivery: studies on ciprofloxacin formulations*". Int J Pharm, 343(1-2): 34-40. 2007.

[3] F. KRATZ. "Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles". J Control Release, 132(3): 171-183. 2008.

[4] M.J. DE JESÚS VALLE, D. LÓPEZ DÍAZ, M. VELÁZQUEZ SALICIO, A. SÁNCHEZ NAVARRO. "Development and In vitro Evaluation of a Novel Drug Delivery System (albumin microspheres containing liposomes) Applied to Vancomycin". J Pharm Sci 105: 2180-2187. 2016.

Starch aerogel-loaded poly (ε-caprolactone) scaffolds for bone regeneration

Leticia GOIMIL GARCÍA, Ángel CONCHEIRO, Carmen ÁLVAREZ LORENZO, Carlos A. GARCÍA GONZÁLEZ

Dpto. de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, R+D Research Group (GI-1645), Facultad de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain

Email de contacto: leticia.goimil@rai.usc.es

1. Introduction

Bone grafts are widely used in situations where natural self-regeneration is compromised, either because the bone defect surpasses the critical size or because of physiological conditions. Synthetic scaffolds are designed to overcome the problems associated to autografts (donor site morbility) and allografts (low osteoinductivity, risk of disease transmission) [1]. For their use in bone regeneration, apart from being biocompatible, scaffolds have to posses porosities from 65 to 80%, with pore sizes above 100mm for vascularization [2].

This work aims to enhance the architectural properties of synthetic scaffolds matrix made of poly(ε-caprolactone) (PCL) [3], a biocompatible polyester, by adding to the polymeric matrix starch aerogel particles, a light mesoporous material with a high surface area. These compounds are mixed and processed through foaming with supercritical CO_2 to form a porous matrix. This technique does not require the use of organic solvents, high temperatures or purification steps, thus avoiding problems of cytotoxicity, premature drug degradation, low drug loading yields, reproducibility concerns or long processing times among others [4].

2. Materials and methods

2.1. Materials

PCL (50kDa, Polysciences); native corn starch (52.6% amylose content, Roquette); paraffin oil (Panreac); polyglycerol polyricinoleate (PGPR, Palsgaard); CO_2 (99.9% purity, Praxair); ethanol (99.8% purity, Omnilab); diethyl ether (DEE, 98% purity, Labkem).

2.2. Starch aerogel particles preparation

A water-in-oil emulsion was prepared from a mixture of paraffin oil and a starch aqueous solution 15% (w/w) in a 3:1 oil-to-water weight ratio. 3% (w/w) of PGPR with respect to the aqueous phase was added to the oil phase as emulsifier. The mixture was heated at 121ºC for 20 min and then homogenized using an ultrasound probe. The emulsion was kept at 4ºC for 48h for starch retrogradation. The hydrogel particles were separated by centrifugation and washed with ethanol for solvent exchange, obtaining starch alcogels. Part of the hydrogels was washed with DEE prior to washing them with ethanol. Starch aerogel microspheres were obtained by supercritical drying of the alcogels.

2.3. PCL-starch aerogels scaffolds preparation

Weighed amounts of powdered PCL and mixture formulations of PCL and starch aerogel (90:10 w/w) were physically mixed and placed in Teflon cylindrical moulds. The moulds were then inserted in a high-pressure stainless steel autoclave and soaked in scCO2, at 37ºC and 140 bar, for 60 min in the static mode. Then, autoclave was depressurized to ambient pressure at a venting rate of 1.8 g/min.

2.4. Characterization of aerogels and scaffolds

Morphology of scaffolds and starch aerogel was examined through scanning electron microscopy (SEM). Particle size distribution of starch alcogels was studied by dynamic light scattering analysis of the microspheres suspended in ethanol. Textural properties were studied by N_2

adsorption-desorption analysis applying BET and BJH methods. Skeletal density was measured through helium picnometry.

3. Results and discussion

3.1. Starch aerogel properties

Emulsion-gelation method followed by supercritical drying led to starch aerogel microspheres with a mean size of 1.2 mm (Fig. 1), suitable for their incorporation in scaffolds.

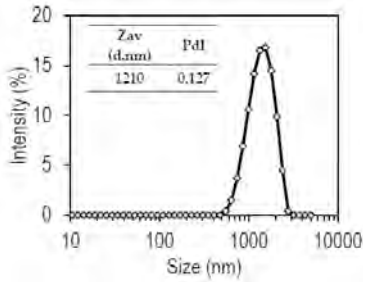


Fig. 1: Particle size distribution of alcogel microspheres.

The analysis of textural properties revealed a porous structure, with an average pore diameter of 25 nm and a surface area of 93 m^2/g. The washing of the hydrogels with DEE increased the surface area of aerogels until 188 m^2/g. This confirms there was still PGPR coating the particles, and it could be removed with diethyl ether.

3.2. Effect of starch aerogel on PCL scaffolds

Higher porosities and lower bulk densities of the resulting scaffolds are observed with an increased content in starch aerogel (Fig. 2).

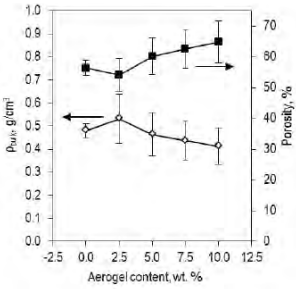


Fig. 2: Effect of aerogel content on apparent density and overall porosity of scaffolds.

SEM micrographs show the formation of larger and more interconnected pores when starch aerogel is added to the PCL matrix. Starch aerogels might act as pore nucleation sites in the depressurization phase of foaming.

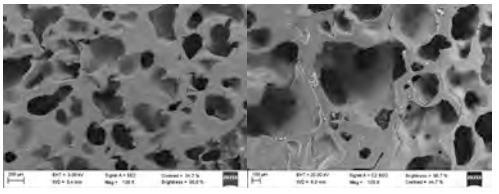


Fig. 3: SEM micrographs of (left) PCL and (right) PCL-starch aerogel scaffolds.

4. Conclusions

Starch aerogel microspheres with a mean size on the order of 1 mm were obtained through emulsion-gelation followed by supercritical drying. Also, excess of PGPR was washed off the hydrogels with diethyl ether, which increased the surface area of aerogels. Incorporation of these aerogels in the PCL-based scaffolds enhanced their porosity and pore interconnectivity, which are key factors for their use in regenerative medicine.

5. Acknowledgements

Work funded by MINECO (SAF2014-52632-R), Banco Santander SA (JPI-2014), and FEDER. C.A. García-González acknowledges to MINECO for a Ramón y Cajal Fellowship (RYC-2014-15239).

References

[1] Naohiro SHIBUYA, Daniel C. JUPITER, *"Bone Graft Substitute: Allograft and Xenograft"*. Acta Biomaterialia, 8(1):61-71 (2012).

[2] Lisa J. WHITE, Victoria HUTTER, Hongyun TAI, Steven M. HOWDLE, Kevin M. SHAKESHEFF, *"The effect of processing variables on morphological and mechanical properties of supercritical CO_2 foamed scaffolds for tissue engineering"*. Clinics in Podiatric Medicine and Surgery, 32(1):21-34 (2015).

[3] Leticia GOIMIL, Mara E.M. BRAGA, Ana M.A. DIAS, José L. GÓMEZ AMOZA, Angel CONCHEIRO, Carmen ALVAREZ-LORENZO, Hermínio C. DE SOUSA, Carlos A. GARCÍA-GONZÁLEZ, *"Supercritical processing of starch aerogels and aerogel-loaded poly(ε-caprolactone) scaffolds for sustained release of ketoprofen"*. Submitted.

[4] Luis DIAZ-GOMEZ, Angel CONCHEIRO, Carmen ALVAREZ-LORENZO, Carlos A. GARCÍA-GONZÁLEZ, *"Growth factors delivery from hybrid PCL-starch scaffolds processed using supercritical fluid technology"*. Carbohydrate Polymers, 142, 282-292 (2016).

Gene delivery to the corneal surface: *in vitro* and *ex vivo* evaluation of a solid lipid nanoparticle based vector

Ana DEL POZO RODRÍGUEZ[1], Luigi S, BATTAGLIA[2], Elisabetta MUNTONI[2], Federica FOGLIETTA[2], Alicia RODRÍGUEZ-GASCÓN[1], Maitane RUEDA[1], Mª Ángeles SOLINÍS[1]

1. Pharmacokinetic, Nanotechnology and Gene Therapy Group (PharmaNanoGene), Faculty of Pharmacy, Centro de investigación Lascaray ikergunea, University of the Basque Country (UPV/EHU), Paseo de la Universidad 7, Vitoria-Gasteiz, Spain
2. Università degli Studi di Torino, Dipartimento di Scienza e Tecnologia del Farmaco, via Pietro Giuria 9, Torino, Italy

Email de contacto: ana.delpozo@ehu.eus

1. Introduction

Several features makes the cornea particularly attractive for gene transfer: it has a well-defined anatomy and is easily accessible during ambulatory visits, as well as surgical procedures. Moreover, it is relatively immune-privileged, and easily monitored due to its transparency. Corneal diseases potentially treatable by gene therapy include mucopolysaccharidosis VII, herpetic stromal keratitis, corneal neovascularization, corneal burns, and corneal transplantation and graft rejection, among others [1].

The most important, and most difficult, challenge in gene therapy is the issue of delivery. Among the delivery systems designed for gene therapy, solid lipid nanoparticles (SLN) are very promising vectors for ocular gene therapy [2]. The topical administration of SLN to the corneal surface favors the retention by muco-adhesion, and the corneal permeation through the cornea epithelial cells by endocytic uptake [3].

The aim of this work was the *in vitro* and *ex vivo* evaluation of SLN as a gene delivery system to the cornea.

2. Materials and methods

2.1. Preparation and characterization of vectors

SLN were prepared by the emulsification-evaporation method [3]. The plasmid pCMS-EGFP (that encodes the green fluorescent protein) was used as reporter gene. For vector preparation the plasmid was complexed with protamine (P) and dextran (DX). The complex was then put in contact with a suspension of SLN to obtain the DX-SLN vector. Particle size and zeta potential of the vector were measured in a Zetasizer Nano series-Nano ZS.

2.2. *In vitro* evaluation

Transfection and cell viability were evaluated in the human corneal epithelial (HCE2) cell line 48h after addition of vectors. Transfection was evaluated by fluorescence microscopy and cell viability by the CCK8 method.

2.3. *Ex vivo* evaluation

Corneas explanted from rabbit eyes were used as *ex vivo* model for gene delivery [3]. A suspension of the vector was added to the explanted corneas kept in sterile Steinhardt medium at 37ºC. Internalization of the vector at 24 h was studied by fluorescent microscopy, by using Nile Red-labeled SLN. Transfection efficacy was evaluated by immunofluorescence 48 h after the addition of the vector to the fixed corneas. Finally, the structure of the corneas treated with the vector was analysed by the Masson's trichrome staining technique.

3. Results

The DX-SLN vector showed a particle size of 240±11 nm and a zeta potential of +35±2 mV. As

can be seen in fig. 1, the vector was able to transfect HCE2 cells. Cell viability was similar to that obtained in non-treated cells.

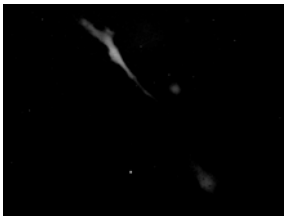


Fig. 1: EGFP (green) produced in HCE2 cells 48h after addition of the vector (20x).

Fig. 2 shows the entry of the vector in the cells of the explanted corneas.

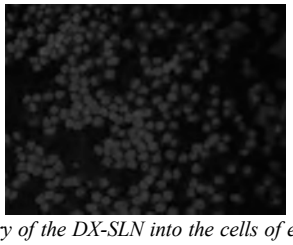


Fig. 2: Entry of the DX-SLN into the cells of excised corneas. Red: Nile Red-labeled vectors; blue: cells nuclei.

Transfection was also detected *ex vivo* at 48h in the corneal epithelial cells and in the stroma (fig. 3).

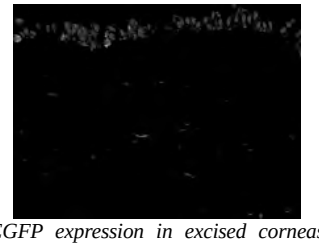


Fig. 3: EGFP expression in excised corneas. Green: EGFP; blue: cells nuclei.

Fig. 4 features the structure of the rabbit cornea 48 h after the treatment with the DX-SLN vector.

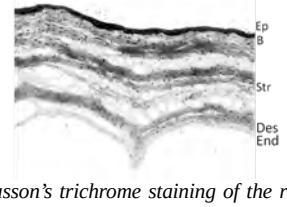


Fig. 4: Masson's trichrome staining of the rabbit cornea treated with the vectors.

4. Discussion

Firstly, we observed that DX-SLN vectors were able to transfect HCE2, a cellular *in vitro* model usually employed to evaluate corneal treatments. Moreover, cell viability was not significantly affected.

Later on, considering that cellular uptake is one the main barriers for the efficacy of non-viral vectors, the entry of the vectors into the cells of excised corneas was studied. The SLN-based vector was extensively internalized by the corneal cells (fig. 2).

The inmunofluorescence analysis of the corneas explanted from rabbits showed the EGFP expression in epithelial and stromal cells (fig. 3), which means that the DX-SLN vector was able to overpass the epithelial barrier and move through the glucosaminoglicans and the colagen fibres that compose the stroma. The stelth properties of DX [4] may facilitate the diffusion of the vector through corneal layers. Moreover, the corneal structure was not affected by the adition of the vector (fig. 4).

5. Conclusions

The vector DX-SLN is internalized by corneal cells and is able to transfect them, without alteration of corneal structure. Therefore, these results show the potential of SLN as gene delivery system to the cornea.

6. Acknowledgments

This work has been supported by the Basque Government's Department of Education, Universities and Investigation (IT-341-10) and by the Spanish Ministry of Economy and Competitiveness (SAF2014-53092-R). The authors would also thank the Italian MIUR for financial support (ricerca locale 2015).

References

[1] RODRÍGUEZ-GASCÓN A., *et al.*, *Gene therapy in the cornea*, In: eLS, John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2016.

[2] APAOLAZA P.S., *et al.*, *Structural recovery of the retina in a retinoschisin-deficient mouse after gene replacement therapy by SLN*, Biomaterials, 90, 40-49, 2016.

[3] BATTAGLIA L., *et al.*, *Application of lipid nanoparticles to ocular drug delivery*, Expert Opin Drug Deliv, 24, 1-15, 2016.

[4] DELGADO D., *et al.*, *Dextran-protamine-solid lipid nanoparticles as a non-viral vector for gene therapy: in vitro characterization and in vivo transfection after iv administration to mice*, Int J Pharm, 425, 1-2, 2012.

El hipo en la enfermedad de Parkinson

Ana Carmen MARQUÍNEZ[1], Unax LERTXUNDI[2],
Saioa DOMINGO ECHABURU[3], María Ángeles SOLINÍS[1],
Begoña CALVO[1], Ana DEL POZO RODRÍGUEZ[1], Montserrat GARCÍA[4],
Carmelo AGUIRRE[4], Arantxa ISLA[1]

1. Grupo Farmacocinética, Nanotecnología y Terapia génica (PharmaNanoGene), Facultad de Farmacia, Centro de Investigación Lascaray Ikergunea, Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU). Vitoria-Gasteiz
2. Servicio de Farmacia. Red de Salud Mental de Araba. Osakidetza-Servicio Vasco de Salud. Vitoria-Gasteiz
3. Servicio de Farmacia; OSI Alto Deba. Osakidetza-Servicio Vasco de Salud. Arrasate
4. Unidad de Farmacovigilancia del País Vasco. Hospital de Galdakao-Usansolo

Email de contacto: marian.solinis@ehu.eus

1. Introducción

El hipo es una contracción espasmódica, involuntaria y repetitiva del diafragma y los músculos intercostales, que provoca una inspiración súbita de aire que termina con el cierre de la glotis. El hipo persistente se prolonga más de 48 horas pudiendo causar efectos graves en los pacientes. Los medicamentos habitualmente utilizados para tratar el hipo están contraindicados en pacientes que toman fármacos antiparkinsonianos [1]. Además, se ha descrito en la literatura una posible asociación de este síntoma con la enfermedad de Parkinson (EP) [2] y con la toma de agonistas dopaminérgicos [3].

El objetivo de este estudio fue profundizar en el conocimiento sobre el manejo del hipo en pacientes con EP. En primer lugar se analizaron las notificaciones registradas en la base de datos europea de farmacovigilancia (Eudravigilance) sobre hipo en pacientes con EP y en aquellos tratados con agonistas dopaminérgicos. Además, se llevó a cabo una revisión de la literatura sobre los casos de hipo asociados con agentes dopaminérgicos y por último se identificaron recomendaciones basadas en la evidencia científica sobre el manejo de este síntoma en la EP.

2. Material y métodos

2.1. Revisión de casos de Eudravigilance

Se analizaron los casos de hipo (término preferente de la clasificación MedDRA) registrados en Eudravigilance desde el 1 de enero de 2001 hasta el 15 de mayo de 2016. Se seleccionaron los que afectaban a enfermos de Parkinson y a pacientes tratados con agonistas dopaminérgicos mayores de 18 años. Se recogió información sobre edad, sexo, gravedad, causalidad, país y medicamento sospechoso de causar hipo en cada caso. Se calcularon las razones de notificación proporcional (PRR) para comprobar si existía relación entre los agonistas dopaminérgicos y la generación de hipo. Se considera que se genera una señal de seguridad cuando el límite inferior del intervalo de confianza al 95% de la PRR es superior a 1 y existen 3 o más notificaciones para un medicamento en concreto [4].

2.2. Revisión de la literatura

Se llevó a cabo una búsqueda en la base de datos Medline desde 1966 hasta la actualidad para identificar los casos de hipo asociados a pacientes con EP o en tratamiento con agonistas dopaminérgicos.

2.3. Revisión de la farmacoterapia del hipo

Se realizó una búsqueda en las bases de datos TRIPdatabase, NICE y en UptoDate para identificar las recomendaciones basadas en la evidencia científica sobre el manejo del hipo en la EP. Además, se revisaron las fichas técnicas de los medicamentos utilizados habitualmente para tratar el hipo.

3. Resultados

3.1. Revisión de casos de Eudravigilance

Se encontraron 32 casos de hipo en pacientes tratados con agonistas dopaminérgicos; 24 en pacientes con EP, 6 en pacientes con síndrome de piernas inquietas y otros 2 en pacientes sin diagnóstico definido. El 75% de las notificaciones fueron en hombres.

Pramipexol estuvo implicado en 16 casos, rotigotina en 6, levodopa en 5, ropirinol y pergolida en 2 y piribedil en 1. Se describieron 5 casos de hipo en enfermos de Parkinson en los que el medicamento sospecho no era un agonista dopaminérgico.

Más de la mitad de los casos de hipo relacionados con la toma de agonistas dopaminérgicos (56%) se consideraron graves, con base a los criterios de codificación de la UE (Directiva 2001/83/EEC). En cuanto a los casos de este síntoma en pacientes con EP pero que estaban relacionados con otra medicación, se consideraron graves el 80% de los casos.

La Tabla 1 recoge los valores de PRR, donde se observa que rotigotina y pramipexol generan una señal de seguridad.

Agonistas dopaminérgicos	PRR (95% IC)	n
Rotigotina*	9.59 (4.31-21.35)	6
Pramipexol*	4.99 (3.09-8.04)	16
Levodopa	1.38 (0.62-3.07)	5

*Tabla 1: Valores de PRR. * Señal de seguridad.*

3.2. Revisión de la literatura

Se encontraron 13 casos que relacionaban el hipo con la toma de agonistas dopaminérgicos. En los 8 casos donde se indicaba el sexo, los pacientes eran varones. Pramipexol, piribedil y levodopa aparecían como medicamentos sospechosos de causar hipo en 4 casos cada uno y pergolida en otro.

3.3. Revisión de la farmacoterapia del hipo

En las fuentes consultadas no se encontraron recomendaciones específicas para el manejo del hipo en pacientes con EP. De acuerdo con las fichas técnicas, en la UE únicamente haloperidol está indicado para el tratamiento de hipo. En Estados Unidos, el único fármaco indicado para el tratamiento del hipo es clorpromazina.

4. Discusión

Nuestro estudio proporciona la primera evidencia de que existe una mayor proporción de casos notificados de hipo para rotigotina y pramipexol. El hecho de que ambos fármacos hayan generado una señal de seguridad refuerza la hipótesis de que se asocian con este efecto adverso.

Cabe destacar la desproporción observada entre casos de hipo en hombres y mujeres, notificándose tres casos de hipo en hombres por cada caso en mujeres.

No existen especificaciones en las bases de datos consultadas sobre el manejo del hipo en enfermos de Parkinson o en pacientes tratados con agonistas dopaminérgicos. Además los únicos tratamientos con indicación en ficha técnica para tratar el hipo, haloperidol y clorpromazina, están contraindicados en dichos pacientes.

5. Conclusiones

Este trabajo evidencia por primera vez que rotigotina y pramipexol generan una señal de seguridad, reforzando la hipótesis de que ambos fármacos se asocian con la aparición de hipo. Asimismo, queda patente la necesidad de incluir recomendaciones específicas sobre el tratamiento del hipo en las guías clínicas sobre la EP.

6. Agradecimientos

Este proyecto ha sido financiado por el Gobierno Vasco (SAN15/09).

Referencias

[1] U. LERTXUNDI, y cols. "Antidopaminergic therapy for managing comorbidities in patients with Parkinson's disease". Am Health-Syst Pharm, 65, 414-419, 2008.

[2]. H. MIWA, y cols. "*Hiccups in Parkinson's disease: an overlooked non motor symptom?*" Parkinsonism Relat Disord, 16, 249-251, 2010.

[3]. J. LESTER, y cols. "Hiccup secondary to dopamine agonists in Parkinson's disease". Mov Disord, 22, 1667-1668, 2007.

[4]. S.J.W. EVANS, y cols. "Use of proportional reporting ratios (PRRs) for signal generation from spontaneous adverse drug reaction reports". Pharmacoepidem Drug Saf, 10, 483-486, 2001.

Análisis de la efectividad de ranibizumab en la DMAE

Javier ADÁN[1], Pilar MODAMIO[1], Alfredo ADÁN[2,3], M. Ángeles PIÑERO-LÓPEZ[1], Socorro ALFORJA[3], Eduardo L. MARIÑO[1]

1. Unidad de Farmacia Clínica y Farmacoterapia. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Av. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona, España
2. Dpto. Cirugía y Especialidades Médico-Quirúrgicas, Facultad de Medicina. Universidad de Barcelona, c/ Casanova, 143, 08036 Barcelona, España
3. Institut Clínic d'Oftalmologia, Servicio de Oftalmología, Hospital Clínic, c/ Sabino Arana, 1, 08028 Barcelona, España

Contact Email: emarino@ub.edu

1. Introducción

La degeneración macular asociada a la edad (DMAE) tiene una elevada prevalencia al estar ligada al envejecimiento de la población, siendo la principal causa de ceguera en nuestro país [1]. Entre los tratamientos indicados y disponibles se encuentra ranibizumab, fragmento de anticuerpo monoclonal recombinante humanizado dirigido contra el factor de crecimiento endotelial vascular A (VEGF-A). La unión del VEGF-A a sus receptores (VEGFR-1 y VEGFR-2) produce la proliferación de las células endoteliales y la neovascularización, junto con la exudación vascular, lo que favorece la progresión de la forma neovascular de la DMAE [2].

El objetivo del presente estudio fue evaluar la efectividad de ranibizumab en pacientes con degeneración macular neovascular (exudativa).

2. Material y métodos

Se realizó un estudio observacional descriptivo de carácter retrospectivo, mediante la revisión de las historias clínicas informatizadas de pacientes diagnosticados de DMAE exudativa, tratados con ranibizumab y seguimiento de un año.

Las variables de estudio fueron: demográficas: edad y sexo; clínicas: agudeza visual y tomografía de coherencia óptica (OCT) de acuerdo con el protocolo de tratamiento, número de inyecciones administradas (tratamiento de carga: una inyección intravítrea mensual durante 3 meses y reinyecciones en visitas mensuales), efectividad del medicamento (ganancia o pérdida de mejor agudeza visual corregida durante el periodo de estudio), coste del tratamiento.

3. Resultados

Durante el periodo de estudio se seleccionaron un total de 100 pacientes (61% mujeres, edad media: 74 ± 10,7 (rango: 62-89).

Se administraron 484 inyecciones intravítreas (4,8 inyecciones por caso-año). La agudeza visual media basal fue de 0,290 ± 0,222 vs. la agudeza visual media a los 12 meses que resultó ser de 0,293 ± 0,275.

Del total de pacientes, el 58% se mantuvo estable o mejoraba la agudeza visual (n=22 con ≤ 3 inyecciones) y el 42% no respondió o perdió agudeza visual.

Considerando el precio de un vial y el número medio de inyecciones anuales por paciente, se estimó un coste promedio de 4000 euros anuales por paciente (y ojo) con DMAE exudativa.

4. Discusión y conclusiones

La mayoría de los pacientes tratados con ranibizumab consiguieron estabilizar su agudeza visual, aunque sólo en algunos casos mejorarla. Es importante considerar que la agudeza visual basal de los pacientes seleccionados era baja y que el estudio incluyó sólo un año de seguimiento

(en general la enfermedad tiene un curso de 5-7 años) [3].

El número de inyecciones por paciente resultó ser de 4,7, lo que señaló la necesidad de tratamientos repetidos para estabilizar la enfermedad.

El medicamento dada la cronicidad de la enfermedad y su prevalencia tiene un impacto económico relevante [4].

Nuevos análisis y con un periodo mayor de estudio son necesarios con objeto de establecer patrones de utilización más efectivos y eficientes, sin reducir la seguridad del paciente. En esta línea se están realizando estudios con ranibizumab para obtener nuevas formas de liberación del fármaco que no conlleven la inyección repetida del medicamento.

Referencias

[1] Spanish Eyes Epidemiological (SEE) Study Group. Prevalence of age-related macular degeneration in Spain. Br J Ophthalmol, 95, 7, 931-936, 2011.

[2] European Medicines Agency. Ficha técnica de Lucentis®. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000715/WC500043546.pdf (25/10/2016).

[3] E. BOULANGER-SCEMAMA, D. SAYAG, T. HA CHAU TRAN, M. QUARANTA-EL MAFTOUHI, F. RUMEN, C. CREUZOT-GARCHER, R. BLANCO GARAVITO, C. JUNG, E. Souied. Ranibizumab and exudative age-related macular degeneration: 5-year multicentric functional and anatomical results in real-life practice. J Fr Ophtalmol, 39, 8, 668-674, 2016.

[4] S. PERSHING, C. PAL CHEE, S.M. ASCH, L.C. BAKER, D. BOOTHROYD, T.H. WAGNER, M.K. BUNDORf. Treating age-related macular degeneration: comparing the use of two drugs among medicare and veterans affairs populations. Health Aff (Millwood), 34, 2, 229-238, 2015.

Fórmula Magistral de metilprednisolona oral para el tratamiento de los brotes de Esclerosis Múltiple: experiencia en un Hospital Universitario

Begoña ESCALERA IZQUIERDO[1], Ana Mª HORTA HERNÁNDEZ[2], Antonio YUSTA IZQUIERDO[3], Eva MARTÍN ALCALDE[2], Adriana ÁLVAREZ NONAY[2], María BLANCO CRESPO[2]

1. Dpto. Ciencias Biomédicas, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, Ctra. Madrid-Barcelona (Autovía A2) Km. 33,600, 28871 Alcalá de Henares, Madrid
2. Servicio de Farmacia, Hospital Universitario de Guadalajara, c/ Donantes de Sangre, s/n, 19002 Guadalajara
3. Servicio de Neurología, Hospital Universitario de Guadalajara, c/ Donantes de Sangre, s/n, 19002 Guadalajara

Email de contacto: amhorta@sescam.jccm.es

1. Introducción

La esclerosis múltiple (EM) es una enfermedad inflamatoria crónica del sistema nervioso central. Se caracteriza por crisis neurológicas autolimitadas (brotes) seguidas de periodos de recuperación parcial o completa [1]. Actualmente, el tratamiento recomendado de los brotes son los corticosteroides a dosis altas. Los brotes de EM se tratan normalmente con metilprednisolona (MP) intravenosa (IV) a dosis de 500 mg a 1.000 mg durante 3-5 días [2]. En España no existe comercializado ningún fármaco con MP oral a dosis altas.

La revisión Cochrane [3] sobre el uso de esteroides orales frente a intravenosos para el tratamiento del brote de EM concluye que los ensayos realizados apoyan la hipótesis de que no hay diferencias significativas en los resultados clínicos, radiológicos y farmacológicos entre las dos vías de administración, y que basado en la evidencia, el tratamiento oral es una alternativa práctica y efectiva a la vía IV para el tratamiento de los brotes de EM.

El uso de MP oral a dosis altas para el tratamiento de los brotes de EM es más conveniente para el paciente y tiene menor repercusión en la vida laboral porque evita desplazamientos al hospital. Además, resulta más económica que la vía IV [2].

El presente estudio pretende analizar el uso de una fórmula magistral (FM) de MP oral a dosis altas para el tratamiento de los brotes de EM. Además, se ha valorado el grado de aceptación por parte de los pacientes y el impacto económico.

2. Material y métodos

Estudio observacional retrospectivo realizado en el Servicio de Farmacia del Hospital Universitario de Guadalajara. El período de estudio fue diciembre 2011- noviembre 2016. Los datos fueron extraídos de la historia clínica electrónica y de dos aplicativos del Servicio de Farmacia (Magisform©, módulo de pacientes externos de Farmatools©). Las variables registradas fueron: datos demográficos (edad, sexo, tipo de EM, tratamiento inmunomodulador), dosis de MP oral (mg) y duración del tratamiento (días). Se incluyeron todos los pacientes que recibieron durante el período de estudio al menos una dosis de FM de MP oral para el tratamiento de un brote de EM. El grado de aceptación de los pacientes se recogió en el año 2015 a través de una encuesta [4].

3. Resultados

Durante el periodo de estudio se han tratado con la FM de MP oral 63 pacientes (70% mujeres). La mediana de edad fue 44 años (17-82). El 78% de los pacientes estaban diagnosticados de esclerosis múltiple remitente recidivante (EMRR). El 44% tenían tratamiento activo para la EM con

fármacos inmunomoduladores.

Se registraron 95 brotes tratados con MP oral. El número de tratamientos por paciente osciló entre 1 y 4, en función del número de brotes.

La mayoría de pacientes (66%) recibieron 1.250 mg de MP oral en dosis única diaria durante 3 o 5 días. El resto de dosis fueron 1.200, 1.000, 625 y 600 mg diarios.

Sólo un paciente interrumpió el tratamiento por náuseas y vómitos. El resto completaron pauta, observándose recuperación del brote en un 93%. El mayor inconveniente reportado por los pacientes fue el sabor amargo. En el año 2015 se realizó una encuesta a los pacientes que recibieron MP oral, y el 82% preferían la administración oral frente a la IV. Los efectos adversos notificados fueron similares a la vía IV.

El coste medio por brote asociado a la administración oral versus administración IV fue: 53 € vs. 485 €. Durante el periodo de estudio se consiguió un ahorro económico de 41.030 € con la utilización de la FM de MP oral a dosis altas.

4. Discusión

Durante los 5 años en los que se lleva preparando la FM de MP oral en el Servicio de Farmacia, se han tratado un número importante de brotes con una eficacia y tolerabilidad similar a la administración IV. Esto coincide con los datos publicados que demuestran que no hay diferencias significativas entre ambas vías de administración [2,3]. La dosis prescrita con mayor frecuencia fue 1.250 mg de MP oral que equivalen a 1.000 mg de MP IV [2].

Según la encuesta realizada en 2015, el grado de aceptación de la FM fue elevado, ya que se consigue una administración más cómoda que interfiere menos en la vida cotidiana del paciente. El principal inconveniente de la FM, fueron sus desagradables características organolépticas. Esto podría ser un inconveniente para lograr que todos los brotes se traten por vía oral.

El objetivo principal que se planteó al elaborar esta FM era mejorar la comodidad del paciente. A lo largo de estos años, se ha conseguido, además, un importante ahorro económico al evitar el ingreso del paciente.

5. Conclusiones

El uso de una FM de MP oral para el tratamiento de los brotes de EM ha resultado ser una alternativa eficaz, cómoda y coste- efectiva frente a la administración IV.

6. Agradecimientos

A Mónica Gasanz Garicochea, por realizar la búsqueda bibliográfica y las primeras dosis de MP oral en nuestro Servicio de Farmacia.

Referencias

[1] D.S. GOODIN, E.M FROHMAN *et al.*, *"Disease modifying therapies in multiple sclerosis: report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of the American Academy of Neurology and the MS Council for clinical practice guidelines"* Neurology 58(2), 169-178, 2002.

[2] Cristina RAMO TELLO, Laia GRAU LÓPEZ, *"Corticoterapia oral en megadosis para el tratamiento del brote de EM"*. *Revista Española de Esclerosis Múltiple"*, Vol. V, nº 27:5-9, 2013.

[3] J.M. BURTON, P.W. O'CONNOR, M. HOHOL, J. BEYENE. *"Oral versus intravenous steroids for treatment of relapses in multiple sclerosis"*. Cochrane Database of Systematic Reviews 2012, Issue 12. Art. No.: CD006921.DOI:10.1002/14651858.CD006921.pub3.

[4] Adriana ALVAREZ NONAY, Mónica GASANZ GARICOCHEA, Eva MARTÍN ALCALDE, Ana HORTA HERNANDEZ. *"Uso de metilprednisolona oral para el tratamiento de los brotes de esclerosis múltiple"*. 60 Congreso SEFH. Libro comunicaciones científicas, p. 275, 2015.

Oleogel de aceite de orujo de oliva destinado al tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas de la piel

Carla Andrea SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS, Mª Jesús LUCERO MUÑOZ

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Profesor García González, 2, 41012 Sevilla

Email de contacto: csanchez17@us.es, mrosa@us.es, mjlucero@us.es

1. Introducción

Las enfermedades inflamatorias de la piel comprenden un grupo importante de las afecciones dermatológicas, siendo de naturaleza y características muy diversas.

El interés del aceite de orujo de oliva está creciendo debido a su composición en compuestos bioactivos como: escualeno (ESC) por su capacidad para restablecer el equilibrio natural de la humedad de la piel, mantenerla suave y elástica [1] y ácidos triterpénicos (AcTP) por su actividad antitumoral, antiinflamatoria y bactericida [2].

Por otra parte, el ácido docosahexaenoico (DHA) tiene gran interés por sus efectos antiinflamatorios y citoprotectores [3].

El objetivo del presente trabajo ha sido el diseño y desarrollo galénico de un oleogel con aceite de orujo de oliva y otros componentes bioactivos para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas de la piel.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Aceite de orujo de oliva obtenido por un proceso de refinación física, en concreto, por destilación en película descendente (Oleícola El Tejar, SCA). Fracción insaponificable de aceite de orujo de oliva (Oleícola El Tejar, SCA). Ácido docosahexaenoico (DHA) procedente de NATAC Biotech, SL. Nipaguard® SCE (Clariant International). Vitamina E (Acofarma) y Sucragel CF (Gattefosse).

2.2. Métodos

Los ensayos de liberación se han llevado a acabo en un aparato de disolución USP 27 tipo II (Erweka DT 600 HH), vasos de disolución de 200 ml (Erweka, USP 39), Enhancer Cell® (Vankel) de 2 cm de diámetro con superficie efectiva de 1.77 cm^2 y una membrana de nitrato de celulosa de 0.45 µm de tamaño de poro (Whatman International). El medio de disolución ha sido agua desionizada y desgasificada, y 2% de polisorbato 80. La cantidad de oleogel ha sido de 2 g.

Los ensayos se han llevado a cabo durante 24 h, manteniéndose a 37 ºC, tomándose muestras a diferentes tiempos.

La cuantificación del contenido de cada compuesto bioactivo se ha realizado mediante HPLC-DAD (UltiMate 3000) con una columna C18 (250x5.6x5).

El ESC se ha determinado con una fase móvil compuesta por acetonitrilo:acetona (60:40), a un flujo de 1 ml/min y a 208 nm.

Los AcTP se han determinado con una fase móvil: acetonitrilo: H_2O:ácido fórmico (80:20:0.05), a un flujo de 1 ml/min y a 205 nm.

El DHA se ha determinado con una fase móvil de acetonitrilo: H_2O:metanol (70:20:10), a un flujo de 0.7 ml/min y a 237 nm.

Los estudios de estabilidad se han llevado a cabo durante 60 días, a tres temperaturas diferentes: 5, 25 y 40 ºC.

3. Resultados y Discusión

En el ensayo de liberación, Fig. 1, se han obtenido niveles de bioactivos por encima del 60% a las 24 h.

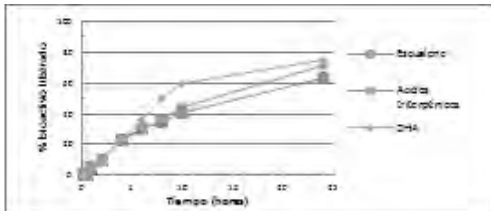


Fig. 1: Curvas de liberación de los compuestos bioactivos indicados.

ESC y AcTP han seguido una cinética de liberación de Higuchi (r^2=0,9821 y 0,9777 respectivamente), mientras que DHA, hasta las 10 h de estudio, ha seguido una cinética de orden 0 (r^2=0,9977). Las ecuaciones obtenidas se muestran en la Tabla 1.

Bioactivos	% liberado de bioactivo
ESC	14.254 t - 6.2387
AcTP	15.905 t - 8.0082
DHA	6.156 t - 0.9247

Tabla 1: Ecuaciones cinéticas de liberación de los compuestos bioactivos indicados.

El estudio de estabilidad del oleogel ha mostrado, a los 30 días de almacenamiento y a 40ºC, la rotura del sistema tal y como se observa en la Fig. 2.

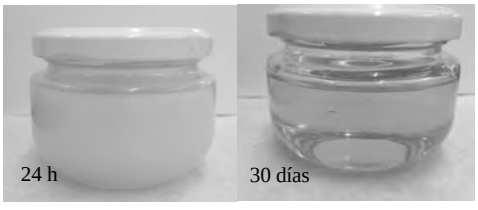


Fig. 2: Oleogel (24 h) y tras ser almacenado durante 30 días a 40ºC.

En la Fig. 3, se recogen los perfiles de estabilidad de los compuestos bioactivos contenidos en los oleogeles. Se observa que a los 60 días, todos mantienen el 98% del contenido declarado tanto a 5 como a 25ºC, no ocurriendo esto a los 40ºC ya que se ha perdido la estabilidad física del producto a los 30 días.

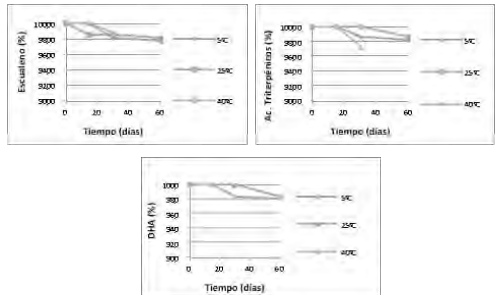


Fig. 3: Estudio de estabilidad del contenido en escualeno, ácidos triterpénicos y DHA, a los 60 días.

4. Conclusiones

La liberación de los compuestos bioactivos supera el 60% a las 24 h. La cinética que siguen el escualeno y los ácidos triterpénicos es de Higuchi, mientras que el DHA es de orden 0.

El oleogel pierde su estabilidad física a 40ºC, después de 30 días de estudio. Por otra parte, se comprueba la estabilidad química de los compuestos bioactivos, a las temperaturas de 5 y 25ºC durante 60 días.

5. Agradecimientos

Este trabajo forma parte del Proyecto RTC-2014-1689-1 del Ministerio de Economía y Competitividad. Las materias primas necesarias para su desarrollo han sido facilitadas por NATAC Biotech, Oleícola El Tejar, Clariant International y Gattefosse.

Referencias

[1] HUANG Z.R., LIN Y.K., FANG J.Y. *"Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology"*. Molecules, 14 (1), 540-554, 2009.

[2] MÁRQUEZ-MARTÍN A., DE LA PUERTA R., FERNÁNDEZ-ARCHE A., RUIZ-GUTIÉRREZ V., YAQOOB P. *"Modulation of cytokine secretion by pentacyclic triterpenes from olive pomace oil human mononuclear cells"*. Cytokine. 36 (5-6), 211-217, 2006.

[3] VALENZUELA R., TAPIA G., GONZÁLEZ M., VALENZUELA A. *"Ácidos grasos omega-3 (EPA y DHA) y su aplicación en diversas situaciones clínicas"*. Revista chilena de nutrición. 38(3), 356-367, 2011.

Evaluación de la citotoxicidad *in-vitro* por MTT y citometría de flujo de una nueva formulación de micropartículas para el tratamiento de patologías en el segmento posterior del ojo

Javier RODRÍGUEZ VILLANUEVA[1], Irene BRAVO-OSUNA[2], Irene MOLINA MARTÍNEZ[2], Rocío HERRERO-VANRELL[2], Manuel GUZMÁN NAVARRO[1]

1. Dpto. Ciencias Biomédicas, Unidad Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Faculta de Farmacia. Universidad de Alcalá. Ctra. Madrid-Barcelona Km 33,600, 28871 Alcalá de Henares
2. Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Faculta de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid

Email de contacto: manuel.guzman@uah.es

1. Introducción

Entre los requerimientos esenciales que cualquier sistema farmacéutico debe cumplir, se encuentran la biocompatibilidad y la ausencia de citotoxicidad [1]. Para asegurar estas cualidades se realizan estudios específicos que, en el caso de los sistemas microparticulares (MPs), se basan en la evaluación de la supervivencia de determinadas celulas en un medio de cultivo, al que se adicionan dichos sistemas farmacéuticos. Las células HeLa son unas de las más utilizadas como modelo celular para las pruebas de concepto. Además, es bien conocido que la biodistribución de las MPs puede verse afectada por el aclaramiento que realizan las células del sistema inmune. La opsonización es el primer mecanismo de defensa del organismo frente a cualquier agente extraño, siendo los macrófagos (MPH), la principal población celular responsable de los procesos de endocitosis. Alto grado de internalización de las MPs afecta la viabilidad celular y es un indicador indirecto de la eficacia del sistema [2].

Para que un tratamiento resulte eficaz se requiere que el fármaco se mantenga en biofase, permitiendo que se alcancen concentraciones terapéuticas sostenidas durante un periodo de tiempo dado. Con la finalidad de disponer de una información previa sobre la acción y el aclaramiento celular que podría esperarse con la administración in-vivo de nuevas formulaciones farmacéuticas de MPs destinadas al tratamiento de enfermedades neurodegenerativas e inflamatorias en el segmento posterior del ojo, se ha realizado un estudio de su viabilidad en cultivos celulares, utilizando la técnica MTT y la citometría de flujo en macrófagos J774 (MPH) y en células HeLa.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Se han empleado: Copolímero poli(LD-láctico-coglicólico) 50:50 (PLGA) 35.000g/mol (Boehringer Ingelheim), alcohol polivinílico (PVA) 72.000g/mol (Merck), Dexametasona base (Dxm) y α-tocoferol acetato (Sigma-Aldrich), albúmina sérica humana isoticianato de fluoresceína (FITC-HSA) (Tebu-bio). Para los ensayos de citotoxicidad y viabilidad celular: placas y pocillos estériles (Cultex S.L.U) y los medios para macrófagos RPMI 1640 suplementado con L-glutamina (2mM), suero fetal bovino (10%), penicilina-estreptomicina (2%), gentamicina (0,4%) y L-arginina (1mM) y para las células HeLa medio DMEM suplementado con suero fetal bovino (10%), penicilina-estreptomicina (2%) y anfotericina B (2%) (Difco y Sigma-Aldrich).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación de las MPs

Se prepararon tres formulaciones de MPs de PLGA cargadas con dexametasona (Tabla 1) según el método extracción-evaporación del solvente S/O/W descrito previamente [3].

	PLGA	Dxm	Vit. E	HSA-FITC
F1	200 mg	20 mg		
F2	200 mg	20 mg	20 µg	
F3	200 mg	20 mg	20 µg	20 µg

Tabla 1: Composición de las formulaciones de MPs de PLGA (50:50) cargadas con Dxm.

Las MPs se lavaron, filtraron por tamices de nylon (Gylson Co.) para eliminar el PVA y obtener una fracción homogénea de 2-20 µm y se almacenaron en recipientes cerrados a 4±1 ºC.

2.2.2. Cultivos celulares

El ensayo se ha realizado por triplicado, durante 24h a 37ºC (fig. 1). Las células de MPH y de HeLa se incubaron con las formulaciones de MPs cargadas con Dxm (F1, F2 y F3), de MPs sin fármaco (B) y con dos disoluciones acuosas de Dxm (1 y 10 mM) todas ellas dispersas en tampón PBS pH 7,4. Los resultados se expresan en forma porcentual, en relación a los obtenidos con las células sin tratar (100%).

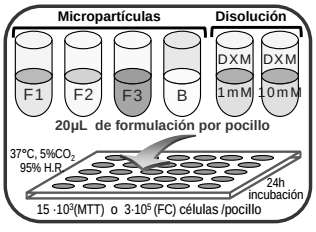


Fig. 1: Ensayos de viabilidad/citotoxicidad con células MPH J774 y HeLa.

El ensayo de viabilidad celular MTT (metiltiazol tetrazolio) es un test colorimétrico rápido y sencillo, que resulta de elección cuando se quiere disponer de una información preliminar de la citotoxicidad de un compuesto o de una formulación farmacéutica. La metodología empleada ha sido la descrita por Mosmann [4]. Se incubaron $15x10^3$ células en 1mL del medio de cultivo con 20 µL de las formulaciones.

El *ensayo de citotoxicidad por citometría de flujo* se llevó a cabo mediante la incorporación de yoduro de propidio (PI; 1µg/ml). Tras las 24h de incubación de las células con las formulaciones, el medio se traspasa a tubos BD para citometría.

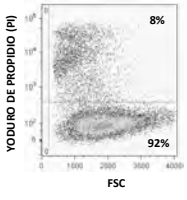


Fig. 2: Ejemplo de un gráfico de FACS.

Las células se despegaron con 300 µL de solución de tripsina-EDTA en PBS (5min), deteniendose la reacción con FBS en proporción 1:10. Después las células se centrifugaron (5000 rpm, 5 min), se eliminó el sobrenadante y se resuspendieron en 500 µL de medio DMEM 10% FBS que contiene la sonda PI.ra finalmente adicionarle la sonda PI. El análisis se realizó en un Citómetro de flujo FACSCalibur (Fluorescence-activated cell sorting, Becton Dickinson) equipado con láser de excitación de argón (488nm) y de diodo (633nm) del CAI de cultivos celulares de la UAH, cuantificando 5000 eventos en total.

3. Resultados

Los resultados muestran que las MPs con Dxm no presentan un efecto significati-vamente acusado sobre la viabilidad celular. Por otro lado, las formulaciones en cuya composición se ha incorporado la albúmina sérica humana en estado sólido parecen generar una menor necrosis celular. Esto podría ser debido al efecto protector frente a la apóptosis que ha sido previamente descrito para la albúmina [5]. Estos prometedores hallazgos que muestran la ausencia de citotoxicidad, aportan un valioso conocimiento sobre el potencial perfil de seguridad óptimo de estos nuevos sistemas microparticulares de liberación controlada.

4. Agradecimientos

A la Dra. Mª Isabel Trabado responsable del Centro de cultivos celulares de la UAH, a los proyectos Nanofarmacia (FGUA), MAT2013-43127R (MINECO) y a la UCM por la financiación al al grupo de investigación UCM920415 (GR3/14).

Referencias

[1] JÓHANNESSON G., STEFÁNSSON E., LOFTSSON T.: (2015) Microspheres and Nanotechnology for Drug Delivery. Dev. Ophtalmol. 55: 93-103.

[2] PRADAL J., MAUDENS P., GABAY C. *et al*. (2016) Effect of particle size on the biodistribution of nano- and microparticles following intra-articular injection in mice. Int. J. Pharm. 498: 119-129.

[3] RODRÍGUEZ VILLANUEVA J., BRAVO-OSUNA I., HERRERO-VANRELL R. *et al*. (2016) Optimising the controlled release of dexamethasone from a new generation of PLGA-based microspheres intended for intravitreal administration. Eur. J. Pharm. Sci. 92: 287-297.

[4] MOSMANN T. (1983) Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. J Immunol Meth. 65: 55-63.

[5] MARTÍN-SABROSO C., FRAGUAS-SÁNCHEZ A.I., APARICIO-BLANCO J. (2015) Critical attributes of formulation and of elaboration process of PLGA-protein microparticles. Int. J. Pharm. 480: 27-36.

Primer estudio sobre la evolución de los parámetros del sistema experto SeDEM según la teoría de la percolación

Marta CASAS DELGADO, Eduardo GALDÓN CABRERA, Isidoro CARABALLO RODRÍGUEZ

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Profesor García González, 2. 41012 Sevilla

Email de contacto: caraballo@us.es

1. Introducción

La teoría de la percolación estudia la distribución de sistemas desordenados compuestos por varios componentes distribuidos aleatoriamente. En un sistema binario, uno o ambos componentes pueden formar un *cluster* percolante, dependiendo de su proporción relativa en volumen. El umbral de percolación de una sustancia indica la concentración en la que empieza a dominar el sistema [1]. Cerca de los umbrales de percolación pueden ocurrir cambios importantes en las propiedades del sistema, dando lugar a los llamados puntos críticos. Por tanto, los sistemas cerca de los puntos críticos no cumplen las condiciones de robustez requeridas en el Espacio de Diseño, constituyendo límites naturales de este espacio [2].

El sistema experto SeDeM es una herramienta que proporciona información sobre la idoneidad de un sólido pulverulento para ser sometido a compresión directa [3]. Este sistema permite identificar las propiedades reológicas que necesitan mejorarse para su compresión, facilitando la optimización racional de la formulación.

El objetivo del presente trabajo es analizar, por primera vez, la evolución de los parámetros reológicos del sistema experto SeDeM en mezclas pulverulentas, desde el punto de vista de la teoría de la percolación.

2. Material y métodos

Teofilina anhidra (Acofarma, España) se usó como fármaco modelo y lactosa monohidrato (Meggle, Alemania) como excipiente.

2.1. Elaboración de las mezclas

Se elaboraron mezclas de teofilina y lactosa en las siguientes proporciones: 10/90, 20/80, 30/70, 33/67, 36/64, 40/60, 50/50, 60/40, 70/30, 73/27, 76/24, 80/20, 90/10 p/p. De acuerdo con nuestra experiencia previa en sistemas binarios, los umbrales de percolación se encuentran, generalmente, entre el 30-35% v/v, por lo que se realizaron más mezclas alrededor de esas concentraciones para conseguir una estimación más precisa de los umbrales de percolación.

2.2. Caracterización reológica de las mezclas según el método SeDEM

Las mezclas se caracterizaron estudiando los siguientes parámetros, según el sistema experto SeDeM [3]: densidad aparente y compactada, porosidad interparticular, índice de Carr, índice de Hausner, índice de cohesividad, ángulo de reposo, capacidad de flujo, pérdida por secado, higroscopicidad, porcentaje de partículas inferiores a 45 µm e índice de homogeneidad. Los resultados obtenidos se normalizaron para obtener valores de radio comprendidos entre 0-10, de acuerdo con el método SeDeM.

2.3. Estimación de los umbrales de percolación

Los valores obtenidos del estudio reológico se representaron frente al % v/v del fármaco para observar posibles discontinuidades, y estimar los umbrales de percolación.

3. Resultados y discusión

El diferente comportamiento reológico del fármaco y excipiente, provoca cambios en las

propiedades reológicas de las mezclas estudiadas. De acuerdo con los planteamientos de la Teoría de la Percolación, los parámetros reológicos mostraron un comportamiento no lineal frente al porcentaje de teofilina.

En sistemas binarios pueden esperarse 2 umbrales de percolación: el del fármaco y el del excipiente. Estos umbrales corresponden a transiciones geométricas de fase que causan importantes cambios en la distribución de los componentes, por lo que algunas propiedades muestran discontinuidades.

En los parámetros relativos al flujo se observaron tres regiones, según la concentración de teofilina (Fig. 1). A bajas concentraciones (0–31% v/v) las mezclas mostraban ángulos de reposo normalizados entre 4-5; con un contenido medio de fármaco (37-61% v/v) presentaban ángulos en torno a 3, y con un alto contenido de teofilina (74-100% v/v) tenían pobres propiedades, con ángulos inferiores a 1.

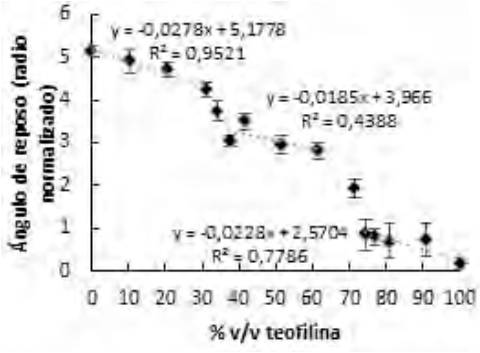


Fig. 1: Valores normalizados del ángulo de reposo de las mezclas estudiadas.

Por tanto, los resultados indican que existe una transición de fases entre 31-37% v/v de teofilina, y otra entre 61-74% v/v, que pueden atribuirse a los umbrales de percolación del fármaco y excipiente, respectivamente.

Los resultados del índice de Carr corroboran la evidencia de los umbrales de percolación (Fig. 2). Así, cuando el excipiente percuela se observan valores radio por debajo de 4, mientras que por encima del umbral del excipiente (cuando sólo el fármaco percuela) presentan valores por encima de 4.

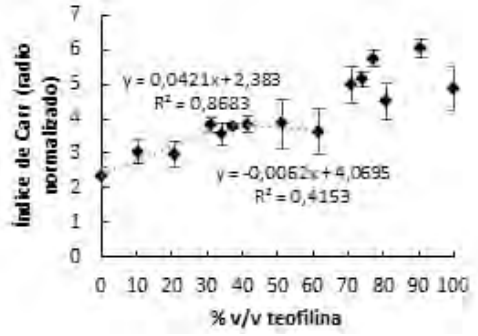


Fig. 2: Valores normalizados del índice de Carr de las mezclas estudiadas.

El punto crítico puede estimarse aplicando el método desarrollado por Fuertes y cols [4], como la intersección entre las dos líneas de regresión establecidas con el cambio de tendencia. Así, el punto de intersección es 34.9% v/v, atribuido al umbral de percolación del fármaco.

4. Conclusiones

La teoría de la percolación se ha aplicado por primera vez con éxito para analizar la evolución de los parámetros SeDeM, confirmando la existencia de dos puntos críticos, correspondientes a los umbrales de percolación del fármaco y excipiente, afectando a las propiedades reológicas, especialmente a la fluidez.

Referencias

[1] H. LEUENBERGER y cols., *"Percolation theory - a novel approach to solid dosage form design"*, Int. J. Pharm., 38, 109-15, 1987.

[2] A. AGUILAR-DE-LEYVA y cols., *"Critical Points and Phase Transitions in Polymeric Matrices for Controlled Drug Release"*. Handbook of Polymers for Pharmaceutical Technologies (2015).

[3] P. PÉREZ y cols., *"A new expert systems (SeDeM diagram) for control batch powder formulation and preformulation drug products"*, Eur. J. Pharm. Biopharm., 64, 351-359, 2006.

[4] I. FUERTES y cols., *"Estimation of the percolation thresholds in acyclovir hydrophilic matrix tablets"*, Eur. J. Pharm. Biopharm, 64, 336-342, 2006.

Estabilidad de membranas lipídicas aplicando la balanza de Langmuir

Nabila NAITLHO[1], Marcos VÁZQUEZ GONZÁLEZ[2], María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ[1], María José CÓZAR BERNAL[1], Antonio María RABASCO ÁLVAREZ[1], Manuela RUEDA RUEDA[2], Francisco PRIETO DAPENA[2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnologia Farmacéutica. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. c/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla
2. Dpto. de Química-Física. Facultad de Química, Universidad de Sevilla, c/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla

Email de contacto: malugoro@us.es

1. Introducción

Los liposomas constituyen sistemas de liberación controlada de moléculas activas ampliamente estudiados. Estas vesículas lipídicas están constituidas por bicapas cuya composición es variable y de las interacciones entre los distintos componentes que conforman la bicapa va a depender, en muchos casos, la estabilidad de la formulación.

Dada la complejidad de estudiar estas interacciones directamente en las vesículas, es interesante estudiarlas en condiciones controladas a partir de monocapas lipídicas de composición variable y extrapolar los resultados de las mismas a las bicapas liposomales. Estos estudios pueden aportar una información importante tanto acerca del empaquetamiento y configuración de los lípidos, como de las interacciones fármaco-lípido [1], o de la estabilidad de los liposomas [2]. Además, estas películas de Langmuir son fácilmente transferibles a soportes sólidos, lo que permitiría realizar posteriores estudios estructurales mediante métodos microscópicos y espectroscópicos.

En el presente trabajo se realiza el análisis termodinámico de películas de Langmuir de naturaleza lipídica con tres componentes, frecuentemente empleados en la formación de estos transportadores de fármacos. Este análisis permite establecer la proporción óptima de uno de los componentes de la monocapa desde el punto de vista de la estabilidad de la misma.

2. Metodología

Para estos experimentos, se ha usado como lípido dimiristoil fosfatidil colina (DMPC) debido a su alto grado de pureza, colesterol y bromuro de dodecil dimetil amonio (DDAB), éste último como agente portador de carga. La proporción entre el fosfolípido y DDAB en los liposomas ha sido ya previamente optimizada para dotar a la película del carácter catiónico adecuado.

El estudio termodinámico se llevó a cabo mediante la obtención de isotermas de Langmuir para películas superficiales con distinta proporción de colesterol, empleando para ello una balanza de Langmuir modelo Nima 622D. En cada isoterma se registra la presión superficial de la monocapa (π) en función del área promedio ocupada por cada molécula en la interfase (A) a medida que se disminuye la misma a una velocidad de compresión de 3,1017$Å^2$/min.

3. Resultados y discusión

En la Figura 1 se representan las isotermas de Langmuir para las monocapas con diferentes proporciones de colesterol.

Interpolando a valores de presión superficial constante en las isotermas de la Figura 1 se obtienen los valores de área experimental por molécula para las distintas fracciones molares de colesterol.

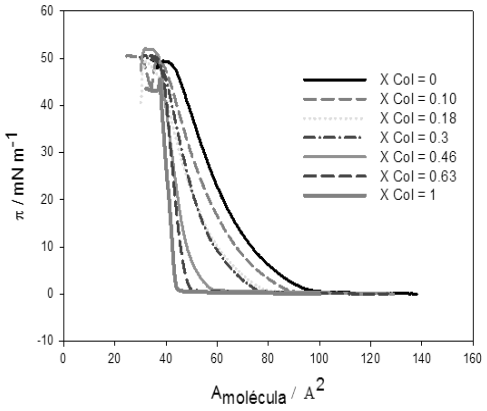


Fig. 1: Isotermas (π-A) para películas de Langmuir formadas con DMPC + DDAB y colesterol, para las fracciones molares de colesterol indicadas en la figura.

A partir de las mismas se determinan las áreas de exceso, definidas como la diferencia entre el área por molécula experimental y el área ideal:

$$\Delta A = A_{exp} - [A_{xcol=0} + (A_{x_{col}=1} - A_{x_{col}=0})\, x_{col}]$$

En la Figura 2 se muestran estas áreas de exceso para 3 valores de presión superficial.

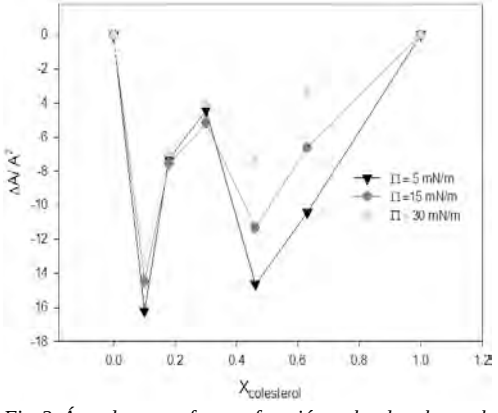


Fig. 2: Área de exceso frente a fracción molar de colesterol.

En la figura se observa cómo para todas las mezclas se obtienen valores de área de exceso negativos, especialmente a fracciones 0,1 y 0,5, aproximadamente. Esto indica una compresión de la película asociada a interacciones estabilizantes entre sus componentes. Ello se corrobora mediante la representación de la energía libre de exceso, que se recoge en la Figura 3.

$$\Delta Gexc = \int \Delta A \, d\pi$$

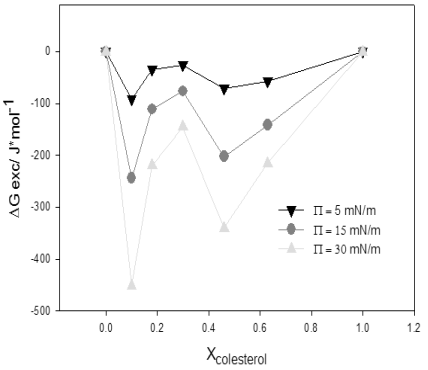


Fig. 3: Energía libre de exceso frente a fracción molar de colesterol.

En ella se observa cómo también se obtienen dos mínimos de energía libre de exceso en las fracciones molares de 0,1 y 0,5, indicando que son las composiciones más estables.

4. Conclusión

Se ha demostrado la capacidad de la técnica de Langmuir para el estudio de la estabilidad de formulaciones lipídicas susceptibles de ser empleadas en liposomas.

En el caso de mezclas de DMPC, DDAB y colesterol, se obtienen dos proporciones de colesterol que proporcionan una estabilidad mayor a las monocapas: la de 0,5 sugiere la existencia de interacciones lípido/colesterol con estequiometría 1:1, y la de 0,1 presenta un orden de magnitud similar al que presenta en las membranas biológicas.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto CTQ2014-(57515-C2-1-R)

Referencias

[1] M.H. ALI, D.J. KIRBY, A.R. MOHAMMED, Y. PERRIE, "Solubilisation of drugs within liposomal bilayers: alternatives to cholesterol as a membrane stabilising agent", J. Pharm. Pharmacol., 62, 1646-1655, 2010.

[2] D. CHRISTENSEN, D. KIRBY, C. FOGED, E.M. AGGER, P. ANDERSEN, Y. PERRIE, H.M. NIELSEN, "α,α-trehalose 6,6-dibehenate in nonphospholipid-based liposomes enables direct interaction with trehalose, offering stability during freeze-drying", Biochim. Biophys. Acta, 1778, 1365-1373, 2008.

Preparation and characterization of liposomes encapsulating levodopa-cyclodextrin complexes for the treatment of Parkinson's disease: preliminary studies

Elena GARCÍA ESTEBAN, María José CÓZAR BERNAL,
Antonio María RABASCO ÁLVAREZ, María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. c/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla

Email de contacto: malugoro@us.es

1. Introduction

Parkinson's disease is a neurodegenerative disorder. The clinical use of numerous drugs for the treatment of central nervous system diseases is limited by their incapability to cross the blood-brain barrier. Actually, the most attractive and versatile technique for delivery drugs into the brain parenchyma involves the use of drug carriers, such as liposomes.

Levodopa (L-dopa) is the drug of choice for treating the Parkinson's disease. However, this drug has low pharmacokinetic and bioavailability properties. The stability of L-dopa in aqueous solution is low, suffering oxidation reactions, which may have a negative impact in its therapeutic action. Among other approaches, the preparation of cyclodextrin inclusion complexes of L-dopa has proven effective in enhancing the stability of drug.

Cyclodextrins (CD) are glucopyranose units which are able to form host-guest inclusion complexes with lipophilic molecules. The ability of CD to increase drug stability may be used to increase drug entrapment in the aqueous compartment of liposomes and liposomes can protect CD/L-dopa inclusion complexes until drug release. The aim of this work was to develop and characterize different formulations based on liposomes encapsulating L-dopa cyclodextrin complexes in order to improve the stability of this formulation with time.

2. Materials and Methods

2.1. Phase solubility studies

The stability constant values for inclusion complex formation between L-dopa and CDs were determined using the phase solubility method. Samples were prepared by adding 5 mL of Hepes buffer solution pH 6.4 and successively increasing the concentration of β-CD and HP-β-CD as follows: 5, 9, 12, 15 and 20 mM. An excess amount of L-dopa (15 mg/mL) was added to each vial to maintain saturated conditions. Vials were capped and shaken for 48 h at room temperature. Aliquots were then filtered and complexed L-dopa was analyzed by HPLC.

This HPLC method uses ZORBAX SB-C_{18} 150 mm × 4.6 mm, 3.5 µm column. Mobile phase consisted of phosphate buffer pH 2.5 and methanol in gradient mode. Buffer solution consisted of 10 mM potassium dihydrogen orthophosphate solution with pH adjusted to 2.5 using orthophosphoric acid. Flow rate was 1.0 mL/min and detection was carried out at 280 nm.

2.2. Preparation and characterization of β-CD/L-dopa inclusion complexes

Liposomes contained DPPC and cholesterol as forming agents of the lipid bilayers. The aqueous compartment consisted of a solution of β-CD/L-dopa complexes into Hepes buffer pH 6.4. Liposomes were obtained by two different methods: thin-lipid film hidration (TLE) and transmembrane pH gradient, both of them previously reported.

Since a chemical interaction between cholesterol and cyclodextrins in aqueous solution has been reported in the literature, three batches of liposomes were prepared in order to dilucidate this phenomenon:

Batch 1: Liposomes with DPPC (2,75 mM)

Batch 2: Liposomes with DPPC (1,7 mM) + cholesterol (1,05 mM)

Batch 3: Liposomes with DPPC (1,7 mM) + cholesterol hemisuccinate (1,05 mM)

Morphological parameters were determined by dynamic light scattering (DLS) technique using a Zetasizer Nano series apparatus (Malvern Instruments, Malvern, UK) at 25ºC. The morphology was observed by transmission electron microscopy (TEM). Encapsulation efficiency was performed after breaking the vesicles with sodium lauryl sulfate (SLS) 0,5% p/v. The amount of L-dopa entrapped into the vesicles was determined by HPLC.

3. Results and discussion

3.1. Phase solubility studies

The diagrams of phase solubility for the complex formation between L-dopa and β-CD/HP-β-CD are presented in figure 1. Results showed a higher complexation of L-dopa by using 15 mM β-CD. Therefore, the following binary systems of L-dopa and β-CD were prepared at 1:1 molar ratio.

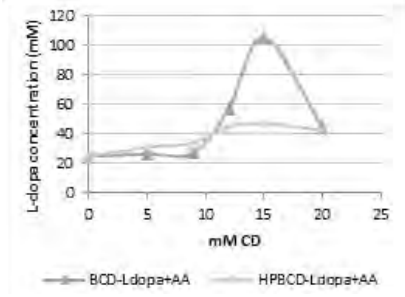


Fig. 1: Phase solubility diagram of L-dopa in the presence of β-CD or HPβ-CD.

3.2. Interaction cholesterol/β-CD

	PDE (%)	Size (nm)	PDI	Z potential (mV)
Batch 1	61	3327	0,63	-1,9
Batch 2	59	2825	0,51	-0,3
Batch 3	60	5231	0,38	-8,83

Table 1: Characterization of different vesicle formulation prepared. PDI: Polydispersity index. PDE: percentage of drug entrapment.

Once selected β-CD as complexing agent for L-dopa, different liposome formulations were prepared. Previously we have analyzed the competitite effect between cholesterol and the drug by β-CD. Characterization studies (Table 1) showed a similar encapsulation percentage (PDE) in all formulations; however, better morphological characteristics in terms of polydispersion (PDI) and zeta potential were obtained in batch 3. So, cholesteroyl hemissucinate was included in liposome composition indeed cholesterol.

3.3. Effect of preparation method

β-CD/L-dopa complexes were encapsulated into liposomes from two different methods. TLE method shows better entrapment efficiency, lower PDI and more negatively charged vesicles, than transmembrane method.

Method	PDE (%)	Size (nm)	PDI	Z potential (mV)
TLE	62	2916	0,61	-11,66
Transmembrane pH gradient	57	924	0,85	-11,13

Table 2: Characterization of liposomes preparating by TLE and transmembrane pH gradient.

Considering the loading procedure of β-CD/L-dopa complex into the liposome by the transmembrane method, in which a dialysis process is included and the presence of a pH gradient, it is difficult to obtain good results of entrapment. However, TLE methodology only involves vortexing cycles of aqueous phase for entrapping the β-CD/L-dopa complexes into the vesicles. This makes easier the drug loading.

The morphological analysis by TEM demonstrated spherical shapes and homogeneous TLE vesicles.

3.4. Conclusion

As a conclusion, this study demostrated that the incorporation of a drug into DPPC-cholesteroyl hemisuccinate liposomes in the form of β-CD/L-dopa inclusion complexes resulted in an improvement of stability of L-dopa.

References

[1] T. HIGUCHI, K.A. CONNORS, *"Phase solubility techniques"*, Adv. Anal. Chem. Instrum., 4, 117-212, 1965.

[2] R. GHARIB *et al.*, *"Liposomes incorporating cyclodextrin-drug inclusion complexes: Current state of knowledge"*, Carbohydrate Polymers, 129, 175-186, 2015.

[3] V. PANDIT *et al.*, *"Preparation and characterization of pioglitazone cyclodextrin inclusion complexes"*, J. Young Phamacists, 3, 267-74, 2011.

Formulación de liposomas que incorporan complejos de inclusión HPβCD-acetazolamida. Estudios de integridad

Carmen Martina ARROYO GARCÍA, María Luisa GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, Cayetano NAVAS ENAMORADO, María José CÓZAR BERNAL, Antonio María RABASCO ÁLVAREZ

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. c/ Profesor García González 2, 41012 Sevilla, España

Email de contacto: malugoro@us.es

1. Introducción

Acetazolamida (ACZ) es un fármaco utilizado por vía oral para el tratamiento del glaucoma. Sin embargo, diversos estudios han demostrado que la administración tópica podría evitar los efectos secundarios sistémicos, como el adormecimiento y el cosquilleo, la somnolencia y cefaleas. Uno de los problemas de este fármaco hace referencia a sus bajas solubilidad acuosa y permeabilidad a través de membranas. Con el fin de mejorar las propiedades de solubilidad, se recurre a diferentes estrategias, como por ejemplo su formulación en complejos de inclusión con ciclodextrinas. Entre los diferentes tipos, se ha demostrado una mayor eficacia de complejación con la hidroxipropilbeta (HPβCD). Por otra parte, la mejora en sus propiedades de permeabilidad se ha venido estudiando mediante su inclusión en liposomas. Como es bien sabido, los liposomas son estructuras anfifílicas, de manera que pueden mantener el fármaco solubilizado, además de mejorar la penetración a través de la membrana corneal debido a su composición en fosfolípidos.

El objetivo principal de este trabajo consiste en analizar las características fisicoquímicas del complejo HPβCD-ACZ incorporado en liposomas convencionales y evaluar su integridad e interacción con los componentes de éstos.

2. Materiales y Métodos

La elaboración de los liposomas se llevó a cabo utilizando la técnica de evaporación en capa fina, Bangham o TLE *(Thin Layer Evaporation*).

Se realizaron estudios de incubación en presencia del complejo ACZ-HPβCD (solución del complejo en Hepes), tomando como control las formulaciones antes de incubarse y como control negativo una solución de Hepes. Las formulaciones se caracterizaron en términos de porcentaje de encapsulación, tamaño vesicular, índice de polidispersión y potencial zeta.

Componente	Fase lipídica	Fase acuosa
Fosfatidilcolina (EPC)	0,0954 mmol	-
Colesterol	0,0812 mmol	-
Cloroformo	4 mL	-
Metanol	3,8 mL	-
HPβCD	-	0,318 g/10 mL
Inductor de carga positiva: EA o DDAB	Cantidades variables para comprobar estabilidad	
Hepes pH 7.4 + EDTA 0,1 mM	-	10 mL
Acetazolamida (ACZ)		5 mg/mL en fase acuosa

Tabla 1: Composición de los liposomas. DDAB: bromuro de dodecil dimetil amonio. EA: estearilamina.

Una vez analizado el efecto de la HPβCD sobre la estructura externa de la bicapa, se decidió realizar un estudio con los inductores de carga incrementando su concentración en la bicapa (González-Rodríguez y Rabasco, 2011). En este caso, el complejo de inclusión se incorporó en la etapa correspondiente durante el proceso de elaboración de los liposomas.

3. Resultados y Discusión

Los resultados del estudio de incubación se recogen en la Tabla 2.

Lote	1	2	3	4
Composición lipídica	EPC	EPC+ Ch	EPC+ Ch + DDAB	EPC+ Ch + EA
t = 0				
Diámetro medio (DE, nm)	1017,0 (62,1)	973,6 (23,0)	1125,0 (26,3)	1577,0 (±95,2)
IP	0,181	0,406	0,302	0,409
Potencial zeta (mV)	-12,3 (0,72)	-15,0 (0,70)	+38,3 (2,71)	+12,8 (0,82)
t = 5 días en Hepes				
Diámetro medio (DE, nm)	826,87 (55,9)	806,7 (43,3)	904,63 (32,51)	1248,67 (24,54)
IP	0,23	0,37	0,21	0,21
Potencial zeta (mV)	-17,17 (3,20)	-13,1 (0,49)	+43,30 (0,92)	+13,50 (0,95)
t = 5 días en Hepes + ACZ-HPβCD				
Diámetro medio (DE, nm)	724,27 (34,76)	641,5 (53,1)	792,4 (99,82)	1107,33 (96,91)
IP	0,18	0,23	0,13	0,11
Potencial zeta (mV)	-8,71 (0,51)	-14,6 (0,98)	+46,27 (0,98)	-11,18 (1,68)

Tabla 2: Resultados de los estudios de incubación.

Un efecto común observado fue la reducción en las dimensiones de las vesículas tras el período de incubación, como consecuencia del adecuado empaquetamiento de los componentes de la bicapa durante los cinco días del almacenamiento (Lindblom y Oradd, 2009). Respecto al potencial zeta, no se apreciaron diferencias significativas, salvo en el Lote 4, en el cual se obtuvo una inversión del signo correspondiente a la carga superficial de las vesículas cuando éstas fueron incubadas en presencia del complejo de inclusión. Una hipótesis que se planteó fue que el complejo fuera capaz de extraer la EA de la bicapa por interacción con ella, devolviéndole a la formulación la carga negativa original. Otros trabajos han puesto de manifiesto la interacción producida entre aminas primarias, como estearilamina con γ y *β* ciclodextrinas.

En cuanto al estudio posterior de los inductores de carga, el efecto de la presencia de carga positiva en la superficie de los liposomas, aportada por EA o DDAB sobre la integridad de los liposomas en presencia de HPβCD-ACZ ha sido diferente. Respecto al parámetro de porcentaje de encapsulación, en los lotes elaborados con concentraciones crecientes de DDAB (0,01484, 0,02968 y 0,04453 mmol) se observó una relación lineal (24,99 ± 2,98; 38,68 ± 4,03; 41,65 ± 4,05%) de modo que a mayor concentración de DDAB, mayor porcentaje de encapsulación; sin embargo, en los lotes formulados con EA no se estableció tal relación. Así, podría producirse una reacción de desplazamiento de la ACZ del complejo, a favor de la complejación de EA. Este efecto no ocurriría con el DDAB, el cual da lugar a bicapas más estables cuando se incorpora el complejo de inclusión en la formulación. Además, el DDAB, por su naturaleza tensioactiva, podría estar actuando como agente solubilizante del fármaco favoreciendo su permanencia en el interior del liposoma.

5. Conclusión

Según los resultados obtenidos, se pueden extraer las siguientes conclusiones:

- Parece que la formulación de liposomas con DDAB como agente portador de carga proporciona vesículas más estables que con EA, hecho que se manifiesta tanto en los estudios de incubación de las vesículas como en el estudio de inclusión del complejo de inclusión durante la formulación de los liposomas.

- Se detecta una posible interacción entre el complejo HP**β**CD-ACZ, que será objeto de futuros estudios

- Las propiedades solubilizantes del DDAB pueden resultar favorables para incrementar la encapsulación del fármaco.

Agradecimientos

Consejo Andaluz de Colegios Oficiales de Farmacéuticos por una beca concedida a CMAG.

Referencias

[1] M.L. GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, A.M. RABASCO, "*Charged liposomes as carriers to enhance the permeation through the skin*", Expert Opin. Drug Deliv., 8, 857-871, 2011.

[2] G. LINDBLOM, G. ORADD, "*Lipid lateral diffusion and membrane heterogeneity*", Biochim. Biophys. Acta, 1788, 234-244, 2009.

Efecto de la naturaleza del vidrio en el aspecto de un liofilizado parenteral obtenido empleando solventes orgánicos volátiles

Elena MILLÁN RODERO[1], Pilar CALVO SALVE[1], Manuel GUZMÁN NAVARRO[2]

1. Dpto. Desarrollo Analítico y Farmacéutico, PharmaMar, Avda. de los Reyes 1, Colmenar Viejo, Madrid
2. Dpto. Ciencias Biomédicas, Unidad Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Faculta de Farmacia. Universidad de Alcalá. Ctra. Madrid-Barcelona Km 33,600, 28871 Alcalá de Henares, Madrid

Email de contacto: emillan@pharmamar.com, manuel.guzman@uah.es

1. Introducción

La liofilización de principios activos muy poco solubles en agua presenta una serie de retos que se han resuelto con frecuencia utilizando solventes orgánicos miscibles con agua, con objeto de solubilizar los ingredientes farmacéuticos activos y los excipientes y facilitar la liofilización. Los alcoholes son los co-solventes de elección, siendo las mezclas de tert-butanol/agua las más frecuentemente empleadas por sus ventajas. El tert–butanol es altamente miscible en agua, presenta un alto punto de solidificación (24ºC) y una alta volatilidad, favoreciendo el proceso de sublimación durante la liofilización y como consecuencia, un menor nivel de disolventes residuales en el producto final [1,2].

En el proceso de fabricación de estos productos liofilizados, los viales de vidrio borosilicatados tipo I son un material de empaquetado de elección. Sin embargo, el producto final presenta una apariencia deficiente ya que es frecuente observar manchas, salpicaduras o pequeñas gotas en toda la superficie del vial, incluso restos entre el vial y el tapón [3]. Esto, no sólo tiene impacto en el aspecto estético final del vial liofilizado, sino que también puede impactar en la recuperación de la dosis de fármaco, al no ser accesible el producto que se encuentra entre el tapón y el vial al solvente de reconstitución. Adicionalmente, puede verse comprometida la integridad del cierre y la esterilidad del producto.

El objetivo de este trabajo es buscar el origen de este problema y proponer soluciones adecuadas que permitan la optimización del aspecto en productos farmacéuticos en los que se emplea, en el proceso de fabricación, tert-butanol en vial de vidrio.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Manitol (Fluka), Tert-butanol (Merck). Viales de liofilización de vidrio borosili-catado tipo I y tipo I Plus (con recubrimiento de óxido de sílice (SiO_2), incoloros, 10R) (Schott). Tapones de liofilización 20 mm grey butyl rubber, Igloo, recubiertos con Fluorotec® (Daykio Seyko).

2.2. Métodos

Dos mL de una solución del 5% de manitol en tert-butanol/agua (40/60% v/v) se dosifica en dos tipos diferentes de viales de vidrio, tipo I y tipo I Plus, previamente lavados con agua para inyección y despirogenizados a 360ºC, 30 min. Durante las 12h siguientes al llenado se realizó una inspección visual controlada del vial a fin de observar posibles evaporaciones/condensaciones del solvente. Finalmente los viales con la solución de manitol se someten a un ciclo de liofilización estándar y conservador que garantiza la ausencia de colapso (Tª de colapso de la mezcla -26ºC). El ciclo de liofilización consiste en una congelación a -50ºC, una desecación primaria a -25ºC a 200 µbar de presión y una desecación secundaria a +30ºC.

Finalizado el proceso se realizó la inspección visual de los viales y el análisis calorimétrico (DSC Q-100, TA Instruments) del producto.

3. Resultados

Durante el periodo de tiempo comprendido entre la dosificación y la congelación, se observa la presencia de líquido tanto en las paredes como en el cuello de los viales de vidrio Tipo I. Este evento no se observa en los de Tipo I plus (recubiertos). Una vez liofilizados, el aspecto que presenta es concordante con lo observado antes de la liofilización: los viales Tipo I presentan manchas en toda la superficie del vial y en la zona próxima al tapón, mientras que en los viales Tipo I plus (recubiertos), el liofilizado es compacto, sin material en la superficie del vial, ni en el cuello, ni en el tapón (Fig. 1).

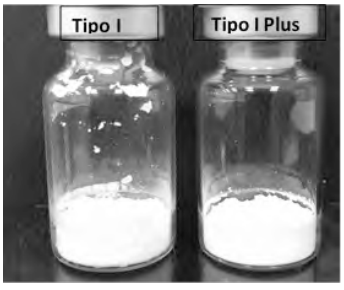


Fig. 1: Aspecto del producto liofilizado en viales Tipo I (izq) y Tipo I plus (der.)

El análisis por DSC de los productos liofilizados en ambos tipos de viales muestra la presencia de los polimorfos α y β del manitol (Tª ~ 165ºC) (Fig. 2). El liofilizado en el vial recubierto (Tipo I plus) presenta además un tercer polimorfo a 154ºC, que podría asignarse a δ manitol o forma III según Burger *et al.* [4].

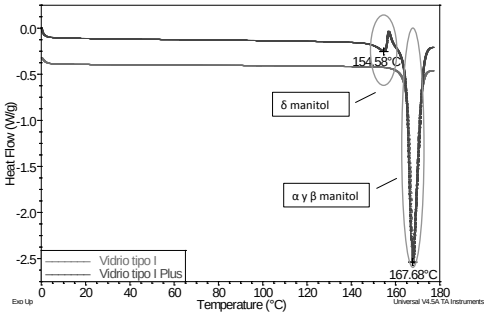


Fig. 2: Termogramas DSC del producto liofilizado en ambos tipos de viales.

4. Discusión

La presencia de líquido en las paredes del vial Tipo I, antes de su congelación, se debe a la evaporación/ migración del solvente en las paredes del vial por capilaridad, condensándose en su superficie interna en el cuello y tapón. Este solvente arrastra manitol que tras la congelación y liofilización es el responsable de la formación de manchas de producto en toda la superficie del vial.

Este efecto no se produce en vial Tipo I plus, ya que su recubrimiento interior de cuarzo (100% óxido de silicio 100-200 nm) le hace químicamente inerte, minimizando el riesgo de interacción entre el solvente/sólido y la superficie del vial. Además este vidrio resulta mucho más resistente a los procesos de lavado, esterilización en autoclave y despirogenización.

5. Conclusiones

En formulaciones en las que se requiera el uso de tert-butanol como cosolvente para una solubilización completa del principio activo para su posterior liofilización, la utilización del vial Tipo I plus (con recubrimiento de SiO_2) previene el arrastre de los componentes por la superficie de las paredes del vial, produciendo un producto liofilizado con propiedades adecuadas para su posterior comercialización.

Referencias

[1] VESSOT S. and ANDRIEU J., *"A Review on Freeze Drying of Drugs with tert-Butanol (TBA)-Water Systems: Characteristics, Advantages, Drawbacks"*, Drying Technology (2012), 30(4), 377-385.

[2] TEAGARDEN D.L., BAKER D.S., "*Practical aspects of lyophilization using non-aqueous co-solvent systems*", Eur. J. Pharm. Sci. (2002), 15(2), 115-133.

[3] ABDUL-FATTAH A.M., OESCHGER R. *et al. "Investigating factors leading to fogging of glass vials in lyophilized drug Products"*, Eur. J. Pharm. Biopharm. (2013), 85(2), 314-326.

[4] BURGER A, HENCK J. *et al. "Energy/temperature diagram and compression behavior of the polymorphs of D-mannitol*".J. Pharm. Sci. (2000), 89(4), 457-68.

Estudio farmacotécnico de nuevas formulaciones de anfotericina B

Alicia LÓPEZ SÁNCHEZ[1], Santiago TORRADO DURÁN[1,2], Susana TORRADO DURÁN[1,2]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid
2. Instituto de Farmacia Industrial y Galénica., Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n. 28040 Madrid

Email de contacto: torrado2@ucm.es

1. Introducción

La anfotericina B es un agente antibiótico hidrofóbico de baja solubilidad, con un amplio espectro antifúngico que se utiliza en el tratamiento de infecciones graves sistémicas, administrado principalmente por vía intravenosa. [1]

En este trabajo se han desarrollado sistemas micelares poliagregados de anfotericina B y se han estudiado sus características farmacotécnicas a lo largo de 7 días mediante un análisis espectrofotométrico (estado de agregación), cromatográfico por HPLC y la caracterización de su tamaño de partícula.

2. Material y métodos

2.1. Materiales

La anfotericina B (AmB) fue suministrada por Brystol Myers, Squibb (Barcelona, España). El desoxicolato sódico (DCH) se obtuvo de Fluka-Biochemika (Buchs, Switzerland). El resto de reactivos empleados fueron de calidad farmacéutica o superior.

2.2. Preparación de las formulaciones

Se preparó una primera formulación de AmB usando como diluyente metanol. Este preparado se considera la formulación patrón del estudio.

A continuación, se prepararon 2 formulaciones de AmB empleando como diluyente agua purificada. Una de ellas con una proporción de AmB:DCH 1:1,5 y otra formulación preparada en las mismas condiciones pero sin DCH (AmB:DCH 1:0) como formulación de referencia.

2.3. Determinación del estado de agregación

Para determinar el estado de agregación de las diferentes formulaciones reconstituidas de AmB, tras las diluciones necesarias para su análisis, se utilizó el espectrofotómetro Shimadzu® UV-1700. El rango de longitudes de onda empleado fue 300-450nm.

2.4. Caracterización del tamaño de partícula

El tamaño de partícula fue estudiado con el analizador de partículas Microtrac® S-3500.

Una vez reconstituidas las formulaciones, se diluyen en agua purificada según sea necesario. Los datos recogidos corresponden al tamaño medio de partícula de tres muestras (nm).

2.5. Ensayo con HPLC

Se realizó un estudio cromatográfico, utilizando un sistema modular Jasco®, que consta de una bomba PU-1580, un detector UV-1575 y un inyector automático A5-2050.

Las condiciones cromatográficas fueron: columna BDS C18 5µm dm 250 x 4,6mm y fase móvil: 40:4,3:55,7 (acetonitrilo: ácido acético: agua).

3. Resultados y discusión

3.1. Estados de agregación

En la Figura 1 se observa la forma monomérica de AmB (patrón), presenta un desplazamiento de sus máximos y mínimos de absorbancia obtenidos a las 24 horas y a los 7 días respecto a los valores obtenidos a tiempo cero.

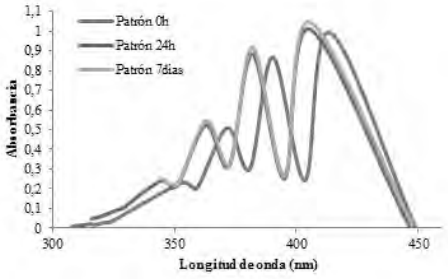


Fig. 1: Espectro de absorción de la forma monomérica de AmB (patrón) a tiempo 0, 24 horas y 7 días.

En la Figura 2 se muestra el espectro característicos de las formas poliagregadas AmB:DCH 1:0 y AmB:DCH 1:1,5, la presencia de DCH muestra un aumento en los valores de absorbancia. Esto posiblemente pueda ser debido a un proceso de desagregación de la AmB. [2]

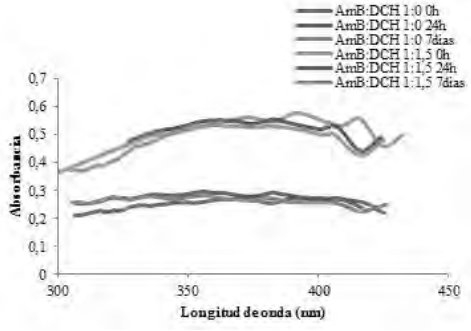


Fig. 2: Espectro de absorción de las formas poliagregadas de AmB (AmB:DCH 1:0 y AmB:DCH 1:1,5) a tiempo 0, 24 horas y 7 días.

3.2. Tamaño de partícula

La presencia de DCH contribuye a la formación de sistemas micelares poliagregados de menor tamaño [3] (505,11 ± 21,44nm para AmB:DCH 1:1,5 y 641,67 ± 2,96nm para AmB:DCH 1:0).

El tamaño de partícula de estas formas poliagregadas no muestra cambios durante los días de estudio.

3.3. Análisis cromatográfico

El método cromatográfico permite detectar cambios en el pico característico para la AmB y la aparición de nuevos picos en las muestras analizadas a distintos tiempos. [4] En la Tabla 1, se observa un mayor descenso del porcentaje de AmB en la forma monomérica (Patrón).

	Porcentaje de AmB		
	0 horas	24 horas	7 días
AmB Patrón	100	89,78	82,99
AmB:DCH 1:0	100	98,86	87,19
AmB:DCH 1:1,5	100	98,87	98,48

Tabla. 1: Porcentajes de AmB a tiempo 0, 24 horas y 7 días en las formulaciones estudiadas.

La forma poliagregada con DCH (AmB:DCH 1:1,5) es la que presenta mejores porcentajes de AmB. Su comparación con la formulación AmB:DCH 1:0 nos confirma el efecto estabilizante del DCH en estos sistemas poliagregados.

4. Conclusiones

La formulación monomérica presenta mayores cambios durante los días de estudio que las formas poliagregadas.

La presencia de DCH presenta un efecto estabilizante en el sistema micelar poliagregado AmB:DCH 1:1,5.

Referencias

[1] CIFANI, C., CONSTANTINO, S., MASSI, M., BERRINO, L., *"Commercially available lipid formulations of amphotericin b: are they bioequivalent and therapeuthically equivalent?"*, Acta Biomed. 83, 154-163. 2012.

[2] SELVAN, S., ANDREWS, M.E., MISHRA, A.K. *"A photophysical study on the role of bile salt hydrophobicity in solubilizing amphotericin B aggregates"*. J. Pharm. Sci. 98, 4153-4160. 2009.

[3] ZU, Y., SUN, W., ZHAO, X., WANG, W., LI, Y., GE, Y., LIU, Y., WANG, K. *"Preparation and characterization of amorphous amphotericin B nanoparticles for oral administration through liquid antisolvent precipitation"*. Eur. J. Pharm. Sci. 53, 109-117. 2014.

[4] GROESCHKE, J., SOLASSOL, I., BRESSOLLE, F., PINGUET, F. *"Stability of amphotericin B and nystatin in antifungal mouthrinses containing sodium hydrogen carbonate"*. J. Pharm. Biomed. Agents. 42, 362-366. 2014.

Macrophage Targeted Drug Delivery Systems for Intracellular Parasitic Disease

Esther DE PABLO TOMERO[1], María Auxiliadora DEA-AYUELA[3], Francisco BOLÁS[1], Dolores R. SERRANO[1,2], Mª Paloma BALLESTEROS[1,2], Juan José TORRADO[1,2]

1. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
2. Instituto Universitario de Farmacia Industrial. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
3. Dpto. de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, CEU, Valencia

Email de contacto: epablo@ucm.es

1. Introduction

Leishmaniasis is a disease caused by obligate intracellular protozoa transmitted by the bite of infected female phlebotomine sandflies. The sandflies inject the infective stage (i.e., promastigotes). Promastigotes that reach the puncture wound are phagocytized by macrophages and other types of mononuclear phagocytic cells. Promastigotes transform in these cells into amastigotes which multiply by simple division and proceed to infect other mononuclear phagocytic cells. Thus, macrophage targeted drug delivery systems are required to eradicate the intracellular parasitic forms and stop the infection.

The process of phagocytosis opsonization of drug delivery systems is conditioned by many factors. In general, the larger the particle size, the more efficient the process of opsonization is; then particles above 200 nm in size can be more easily phagocitated. But besides the size, the surface of the particles plays a key role in this process too [2].

The aim of this work was to evaluate the macrophage uptake of different amphotericin B delivery systems (in amorphous and crystalline state) used as model drug due to its high efficacy against *Leihsmania* parasites.

2. Materials and Methods

Different formulations of AmB were prepared by spray-drying with different solid-state characteristics: crystalline (Formulation C) and amorphous nature (Formulation A) he uptake study consisted on incubation of 100 µl of J77A murine macrophages ($5x10^5$ cell/ml) with 100 µl of each formulation in a range of different concentrations in a 96 well plate. Fungizone was used as control. Also a physical mixture of amphotericin B and other excipients was included in the experiment to observe the effect of particle morphology on macrophage uptake.

After different incubation times (1, 4 and 24 hours at 37º C), the supernatant was removed and the macrophages attached at the bottom of the wells were washed with cold medium (RPMI) specific for mammalian cells.

The cellular lysis was performed using 250 µl of Triton X 1% in PBS and after 30 minutes in a slow stirring, 100 µl were transferred to another 96 well plate. 100 µl of MeOH was added to solubilise the drug.

Then, the plate was centrifuged for 10 min at 2500 rpm. After that, 100 µl of the supernatant were transferred to a vial and drug concentration was determined using a validated HPLC isocratic method (añadir ref).

3. Results and Discussion

The results showed that the most amorphous formulation (formulation A) and Fungizone (dimeric amphotericin B) exhibited a lower uptake compared to formulation 1.5 probably due to differences in particle size (Fig.1). Due to the

amorphous mature, formulation A enhanced drug solubilisation leading to a smaller particle size in solution limiting the uptake.

All the formulations have a similar behavior against the macrophage's response characterized by a quickly uptake followed by maintained or decreased levels over time. (Fig.1). When different concentrations of amphotericin B (formulation C) were tested, higher uptake was observed a very low and a very high concentration (Fig. 2). This could be explained by the fact than more than one process (passive and active or energy-dependent) is involved in the uptake of the drug in this formulation.

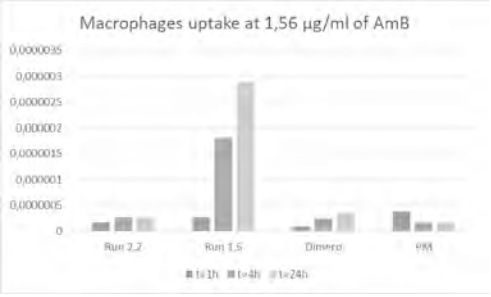


Fig. 1: Uptake of AmB (µg) in macrophages of different formulation at 1.56 µg/ml.

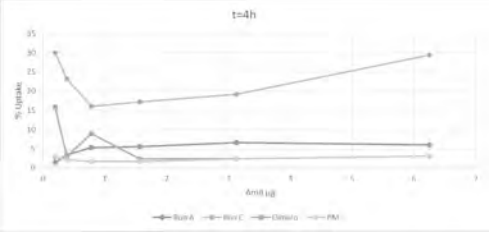


Fig. 2: Uptake of AmB in macrophages after 4 hours of cell incubation at different. concentrations.

4. Conclusions

Controlling the particle size of amphotericin B drug delivery systems can lead to formulations with much higher uptake than Fungizone and then can be promising systems in the treatment of visceral leishmaniasis.

References

[1] Abeer H. Mohamed AHMED, Simon L. CROFT. *"Antileismanial activity, uptake and biodistribution of an Amphotericin B and Poly (Glutamic Acid) Complex"* aac.asm.org., 57,10,4608-14,2013.

[2] Dolores R. SERRANO, Mª Paloma BALLESTEROS, Juan J. TORRADO. *"Nuevas formulaciones orales, tópicas y parenterales de anfotericina B con acción antifúngica y antiparasitaria"* (Tesis Doctoral), 20-22, 2013.

[3] Allen T.M., Austin G.A., Chonn A., Lin L. *"Uptake of liposomes by cultured mouse bone narrow macrophages: influence of liposome composition and size"*, Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Biomembranes,1061, 1, 56-64, 1991.

Optimization of a PLGA-*Aloe vera* nanofibrous dressing for wound healing

Itxaso GARCÍA-ORUE[1], Garazi GAINZA[2], Patricia GARCÍA[3], Araceli DELGADO[3], Carmen EVORA[3], José Luis PEDRAZ[1,4], Rosa María HERNÁNDEZ[1,4], Manoli IGARTUA[1,4]

1. NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria, Spain
2. Biopraxis Research AIE, Miñano, Spain
3. Department of Chemical Engineering and Pharmaceutical Technology. School of Pharmacy. University of La Laguna, Tenerife, Spain
4. Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN). Vitoria-Gasteiz, Spain

Contact email: manoli.igartua@ehu.eus

1. Introduction

Chronic wounds are becoming a health burden worldwide, because their incidence is alarmingly high due to the ageing of the population [1]. Nanofibrous dressings are an interesting new approach for the treatment of those wounds, since their characteristics (high surface area-to-volume ratio and high porosity) enhance wound healing by allowing cell respiration and removal of exudates [2].

Accordingly, the aim of this study was to optimize an electrospun nanofibrous membrane composed of PLGA and *Aloe vera* extract that contains a lipid portion. *Aloe vera* is able to improve wound healing by stimulating the proliferation and activity of fibroblast [3] and the lipid portion could facilitate the removal of the dressing from the wound by preventing its adhesion to the newly formed epidermis and to the surrounding tissue.

2. Materials and methods

2.1. Nanofiber preparation

Briefly, the electrospun nanofibers were prepared as follows: PLGA RG 858 or PLGA LG 824 were dissolved in hexafluoroisopropanol and emulsified by vortex and sonication with an aqueous solution containing *Aloe vera*. Then, this emulsion was electrospun horizontally, at a flow rate of 2.5 ml/h, on a rotating collector (250 rpm) located at 8 cm from the needle, under 10 kV power supply. Table 1 listed the variables modified during the optimization process.

2.2. Nanofiber characterization

The nanofibers were characterized before and after 72 h of incubation into an aqueous medium at 32 ºC in terms of morphology and diameter (SEM images), weight, size and porosity (helium picnometer).

3. Results and discussion

3.1. Polymer used

Variable		Function
Polymer used:	PLGA RG 858 (amorphous) or PLGA LG 824 (cristallyne)	Avoid the shrinking of the dressing
Other components	Addition of lipids: lipid nanoparticles (NLC) in the aqueous phase or their components (mygliol or precirol) on the organic phase	Improve the removal of the dressing from the wound
	Addition of PVA 0.5% to the aqueous phase	Stabilize the emulsion
Electrospun collector coating: the collector was covered with mygliol or a PEG disolution in ethanol		to improve the removal of the membrane

Table 1: Variables of the nanofibers formulation.

With both PLGAs the obtained nanofibers were similar in terms of nanofiber diameter and porosity, with values around 1 µm and 80% respectively,

as showed in table 2. However, regarding to the behavior of the nanofibers, both shrink after incubation. The size of PLGA RG858 (NF-1) reduced to about 72% of the initial one, while PLGA LG 824(NF-2) kept its size (96% of the original). Therefore, the chosen polymer for further analyses was PLGA LG 824.

Name	Formulation	Diameter (μm)	Porosity (%)	Remaining weight after 72h in PBS (%)	Remaining area after 72 h in PBS (%)
NF-1	PLGA RG 858, *Aloe vera* and PVA	1.28±0.52	82.73±2.64	52.57±2.79	72.22
NF-2	PLGA LG 824, *Aloe vera* and PVA	1.1±0.42	81.55±1.16	53.08±0.37	96.15±0.88
NF-3	PLGA LG 824, *Aloe vera*, mygliol and PVA	1.6±0.5	74.85±1.21	64.78±0.81	92.91±0.93
NF-4	PLGA LG 824, *Aloe vera* and NF-5NLCs	1.23±0.46	84.51±0.84	62.74±0.37	92.18±1.80
NF-5	PLGA LG 824, *Aloe vera*, NLCs and PVA	0.96±0.34	84.23±0.85	60.06±0.28	93.37±1.86
NF-6	Collector coated with PEG	1.10±0.43	81.80±0.36	50.49±158	97.24±2.52

Table 2: Characteristics of the developed formulations.

3.2. Other components

The nanofibers containing mygliol or precirol did not improve the formulation quality, since on the one hand the emulsion containing precirol failed to electrospun; and on the other hand, the SEM images of the formulation containing mygliol (NF-3) or mygliol and precirol showed heterogeneous nanofibers (Fig. 1). However, formulations containing NLCs (NF-4), PVA (NF-2) or both (NF-5) showed homogeneous nanofibers. Moreover, the formulation containing both was more uniform and had a slightly lower fiber diameter.

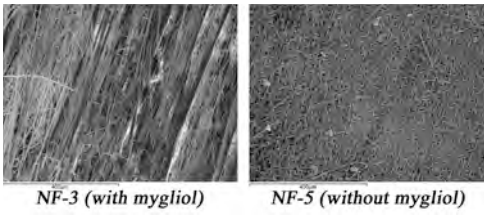


Fig. 1: SEM images of nanofibers with and without mygliol.

3.3. Electrospun collector coating

Coating the collector either with mygliol or PEG (NF-6) made easier the peeling off of the membranes from the collector. Nevertheless, the nanofibers were wet, SEM images showed one side of the membranes covered with the coating material (Fig. 2) and the porosity decreased from 85% to 75%. Therefore, the coating of the collector was no further carried out.

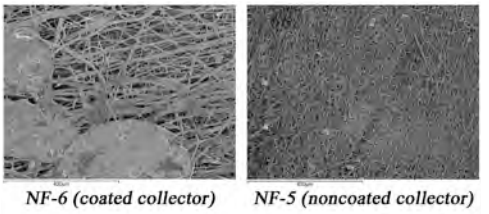


Fig. 2: SEM images of nanofibers produced with coated and non coated collector.

3.5. Optimized formulation

Taking all the data into account, the chosen formulation was NF-5, which was composed of PLGA LG 824, *Aloe vera*, NLCs and PVA (0.5% into the aqueous phase); and the collector was uncoated during the process.

4. Conclusion

The formulation composed of PLGA LG 824, *Aloe vera*, NLCs and PVA 0.5% (NF-5) presented the most suitable characteristics, in order to develop a wound dressing based on a nanofibrous membrane containing a lipid component.

5. Acknowledgments

I. García-Orue thanks the Basque Government for the fellowship grant.

References

[1] Alexander J. WHITTAM *et al.* *"Challenges and Opportunities in Drug Delivery for Wound Healing"*. Adv. Wound Care (New Rochelle), 5, 79-88, 2016.

[2] Lalduhsanga PACHUAU. "*Recent developments in novel drug delivery systems for wound healing*", Expert. Opin. Drug Deliv.,12, 1895-1909, 2015.

[3] Seyyed Abbas HASHEMI *et al.*" *The Review on Properties of Aloe Vera in Healing of Cutaneous Wounds"*, Biomed Res. Int., 2015, 714216, 2015.

Desarrollo de un modelo *in vitro* alternativo de *Acanthamoeba castellanii* para la evaluación inicial del sabor de los medicamentos

Ana SANTOVEÑA[1], María REYES-BATLLE[1], Inés SIFAOUI[1,2], Javier SUÁREZ-GONZÁLEZ[1,3], José E. PIÑERO[1], Basilio VALLADARES[1], Jacob LORENZO-MORALES[1], José BRUNO FARIÑA[1]

1. Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias (IUETSPC), Universidad de La Laguna (ULL), Campus de Anchieta, 38203 La Laguna, Tenerife
2. Laboratoire Mat'riaux-Mol'ecules et Applications, IPEST, B.P. 51, 2070, LA Marsa, University of Carthage, Tunisia
3. Programa de doctorado en Ciencias de la Salud. Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad de La Laguna (ULL), Campus de Anchieta, 38203 La Laguna, Tenerife

Email de contacto: ansanto@ull.es

1. Introducción

El conocimiento de las características organolépticas de un fármaco, especialmente del sabor amargo, es un aspecto crucial en el desarrollo galénico del medicamento. El adecuado enmascaramiento del sabor repercute en la mejor aceptación del medicamento por parte del paciente, especialmente cuando éstos van a ser empleados en pacientes pediátricos. La evaluación del sabor de una formulación suele llevarse a cabo mediante el empleo de métodos *in vivo* e *in vitro* [1]. Los primeros se basan en estudios de panel de sabores, métodos electrofisiológicos y estudios de preferencia de sabor en animales. Los segundos utilizan fundamentalmente estudios de cesión del principio activo, ensayos basados en sistemas de sensores biomiméticos [2]. Para la identificación del sabor amargo en los estudios iniciales de nuevos fármacos se suele emplear el test de aversión al sabor (del inglés, BATA) en modelos animales de rata o ratón. Este ensayo posee limitaciones de eficiencia y reproducibilidad. Como posible alternativa a estos modelos animales, Cocorocchio *et al.* [3] proponen un modelo simple no animal basado en la respuesta celular del *Dictyostelium discoideum* a moléculas de diferentes sabores. Los resultados iniciales encontrados por estos autores, utilizando el *Dictyostelium*, presentaron una elevada correlación con la respuesta encontrada utilizando los ensayos en animales y en humanos cuando se ensayaron una serie de moléculas representativas de los distintos grados de intensidad del sabor amargo [3].

2. Objetivo

El propósito de este trabajo es el desarrollo de un modelo de ameba alternativo al *Dictyostelium discoideum, Acanthamoeba castellanii* (cepa Ac Neff no patógena), que permite evaluar el sabor amargo de principios activos, mejorando las prestaciones del modelo propuesto por otros autores.

3. Material y métodos

Se emplearon como estimulantes del sabor amargo las siguientes moléculas: Clorhexidina, Ibuprofeno, Quinina, Cafeína, Nitrato potásico y Paracetamol.

Se utilizaron diferentes intervalos de concentraciones para cada sustancia, que se pusieron en contacto a partes iguales con el cultivo celular de *Acanthamoeba castellanii* en placas de microtitulación. Tras dicho contacto, se realizó un estudio de la respuesta celular ante las diferentes concentraciones de las diferentes moléculas estudiadas. Los cambios metabólicos y estructurales, implican cambios de la forma y movilidad celular. Para su estudio se realizó un ensayo de la reacción cromática al metabolismo celular empleando AlamarBlue® y se determinó la absorbancia y flourescencia de cada disolución estudiada [4].

También se monitorizó el comportamiento celular de la fase vegetativa en movimiento aleatorio, tomando imágenes tras la adición de cada molécula estudiada. Se realizaron un mínimo de tres experimentos por cada concentración de cada molécula en estudio, realizando el ensayo por triplicado. Para el cálculo de la concentración inhibitoria (IC_{50}) de cada molécula estudiada, concentración requerida para producir una reducción del 50% del movimiento celular, se realizó una regresión lineal (para la absorbancia), una regresión logarítmica (para la fluorescencia) y una regresión no lineal (para el movimiento) con un 95% de intervalo de confianza. Para cada ensayo, se realizaron controles negativos del metabolismo amebiano.

4. Resultados

El modelo propuesto, *Acanthamoeba castellanii,* es un modelo celular que presenta numerosas ventajas en relación al modelo propuesto por Cocorocchio *et al.* [3] como por ejemplo la simplicidad de mantenimiento del cultivo, la baja patogenicidad y su bajo coste. Además la *Acanthamoeba* presenta únicamente dos estadios en su ciclo de vida: trofozoito (fase vegetativa) y quiste (fase de resistencia). De esta forma permite una fácil observación de su comportamiento ante diferentes compuestos, siendo el quiste la fase que forman cuando las condiciones del medio no son favorables.

En la Figura 1 puede observarse como el control negativo (C) de color rosado indica que en el cultivo celular se encuentra en fase vegetativa, móvil, y como de izquierda (mayor concentración) a derecha (menor concentración) el color es azul, indicativo de la presencia de la fase de resistencia, inmóvil. Los trofozoitos son móviles y son capaces de responder a estímulos físicos y químicos fácilmente observables mediante microscopía invertida.

La determinación de la IC_{50} nos permite conocer la potencia de la respuesta para las diferentes moléculas estudiadas.

Por todo lo anterior, fue posible contrastar ambos modelos mediante la determinación de la absorbancia, fluorescencia y estudio de movilidad, pudiéndose determinar la $IC_{50,}$ para la que se observó una correlación apropiada.

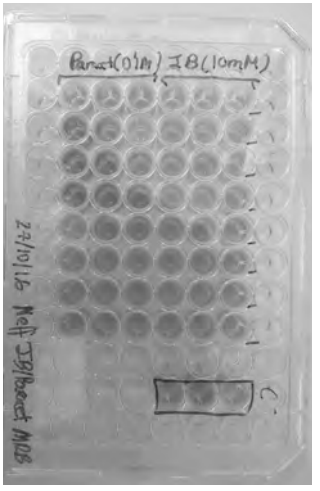


Fig. 1: Aspecto de los pocillos de una placa de microtitulación tras el contacto de los cultivos celulares con disoluciones de diferentes concentraciones de ibuprofeno y paracetamol.

5. Conclusión

Nuestros resultados iniciales confirman la idoneidad del modelo celular de *Acanthamoeba castellanii* para el estudio del sabor amargo en fases de preformulación de principios activos.

6. Agradecimientos

El presente estudio ha sido financiado por la Fundación CajaCanarias: proyecto de investigación BIO27 y contrato (2016_28).

Referencias

[1] V. ANAND, M. KATARIA, V. KUKKAR, V. SAHARAN, P. K. CHOUDHURY. The latest trends in the taste assessment of pharmaceuticals. Drug Discovery Today 2007, 12: 257-265.

[2] T. SAGAR, G. AMOL, D. RAHUL, P. PRASHANT, S. YOGESH. Review on: taste masking approaches and evaluation of taste masking. International Journal of Oharmaceutical Sciences 2012, 4: 1895-1907.

[3] M. COCOROCCHIO, R. IVES, D. CLAPHAM, P. L. R. ANDREWS, R. S. B. WILLIAMS. Bitter tastant responses in the amoeba Dictyostelium correlate with rat and human taste assays. Altex 2015, 33: 225-236.

[4] C.M. MARTÍN-NAVARRO, A. LÓPEZ-ARENCIBIA, I. SIFAOUI, A. REYES-BATLE, A. M. CABALLERO-VÍLCHEZ, S. MACIVER, B. VALLADARES, J.E. PIÑERO, J. LORENZO-MORALES. PrestoBlue® and AlamarBlue® are equally useful as agents to determine the viability of *Acanthamoeba* trophozoites. Experimental Parasitology 2014, 145: 569-572.

Recubrimiento de formas farmacéuticas sólidas de Tenofovir basadas en partículas de oxicarburo de silicio para prevenir la transmisión sexual del VIH

Araceli MARTÍN ILLANA[1], Raúl CAZORLA LUNA[1], Fernando NOTARIO PÉREZ[1], Roberto RUIZ CARO[1], Aitana TAMAYO[2], María Dolores VEIGA OCHOA[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
2. Dpto. de Química Física de Superficies y Procesos, Instituto de Cerámica y Vidrio, Centro Superior de Investigaciones Científicas, Calle Kelsen 5, 28049 Madrid

Email de contacto: mdveiga@ucm.es

1. Introducción

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) representa un importante problema de salud pública a nivel mundial. Afecta especialmente a los países de ingresos medios y bajos, siendo el África Subsahariana la zona con mayor porcentaje de personas infectadas por el virus [1].

Una de las tendencias más actuales se centra en el desarrollo de nuevos métodos de prevención de la transmisión sexual del virus que estén al alcance de las mujeres de este grupo de población. En esta línea, surgen los microbicidas vaginales basados en fármacos antirretrovirales, como el Tenofovir (TFV), como sistemas prometedores destinados a la profilaxis pre-exposición [2,3,4].

Entre los excipientes de interés en el campo de la liberación controlada de fármacos encontramos los derivados de carbono o sílice. Los vidrios de oxicarburo de silicio (SiOC) reúnen las propiedades de los dos anteriores, siendo posible su funcionalización en superficie y el consiguiente anclaje de fármacos [5]. Por otro lado, el Eudragit® RS PO (ERS) es un copolímero derivado de polimetacrilatos que forma cubiertas capaces de ejercer un control sobre la cesión del principio activo al medio [6].

Con estos antecedentes, el objetivo del presente trabajo fue la formulación y evaluación de formas sólidas vaginales, basadas en partículas de SiOC y recubiertas con ERS, capaces de liberar TFV de forma controlada para que resulten útiles en la prevención de la transmisión sexual del VIH.

2. Materiales y métodos

Las partículas de SiOC se sintetizaron por el método sol-gel, obteniéndose, tras pirólisis en atmósfera inerte, un vidrio poroso. Posteriormente, la superficie de dicho material se funcionalizó con γ-amino-propil-trimetoxi-silano y se cargó con TFV.

Se prepararon 3 lotes de compactos (LB1, LB2 y LB3) variando de uno a otro la proporción de los polímeros hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y quitosano (CH): 1:1 (LB1); 1,9:1 (LB2); 1:1,9 (LB3). Cada unidad contenía 30mg de TFV cargado en partículas de SiOC. Algunos de los compactos se recubrieron con una película basada en ERS dando lugar a los lotes CLB1, CLB2 y CLB3.

Las formulaciones resultantes fueron sometidas a ensayos de hinchamiento, de cesión del fármaco y de mucoadhesión, en fluido vaginal simulado (FVS). Los estudios de hinchamiento se llevaron a cabo en base al método descrito por Ruiz-Caro *et al.* [7], mientras que las cantidades de TFV liberadas se cuantificaron por espectroscopía UV-Vis según Sánchez-Sánchez *et al.* [8]. Por otro lado, se determinó visualmente el tiempo de mucoadhesión de dos compactos de cada lote sobre mucosa vaginal bovina.

3. Resultados y discusión

Las formulaciones LB2 alcanzan los porcentajes más elevados de hinchamiento. Esto, que también ocurre en el caso de los compactos recubiertos, se debe a que la HPMC se hincha al captar agua del medio formando una espesa capa de gel, mientras que el CH se hincha y erosiona al mismo tiempo. Si comparamos los lotes LB y CLB, observamos que la presencia de la cubierta modula los grados máximos de hinchamiento y los prolonga en el tiempo (Fig. 1).

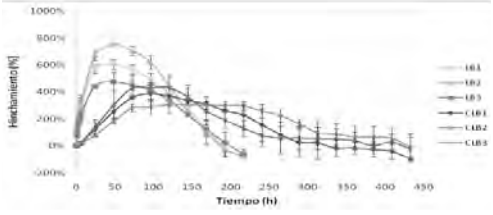


Fig. 1: Perfiles de hinchamiento de los lotes preparados.

En cuanto a la cesión del fármaco (Fig. 2), todos los sistemas evaluados liberan el TFV de forma controlada. El lote LB2 permite obtener perfiles de liberación más sostenidos frente a LB1 y LB3, hecho que se invierte en el caso de los compactos recubiertos. Esto se explica porque el espesor de la capa de gel de HPMC conduce a la ruptura de la cubierta, resultando en la pérdida del control sobre la liberación del fármaco. Por otro lado, los lotes recubiertos reflejan perfiles de cesión más sostenidos en el tiempo que aquellos sin cubierta, lo que refleja la utilidad de la misma para lograr este tipo de liberación.

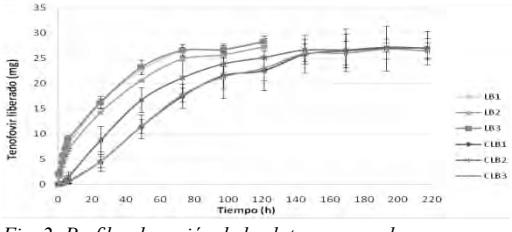


Fig. 2: Perfiles de cesión de los lotes preparados.

Las formulaciones evaluadas permanecieron adheridas a la mucosa durante, al menos, 72 horas.

4. Conclusiones

1. Las partículas de SiOC constituyen un buen excipiente para preparar compactos de liberación controlada de TFV, permitiendo cesiones del mismo que se prolongan aún más al recubrir estas formulaciones con una cubierta basada en ERS.

2. El recubrimiento con ERS implica una modulación en el grado de hinchamiento frente a los sistemas sin recubrir, resultando en una mayor comodidad para las pacientes.

3. Los compactos desarrollados basados en SiOC y recubiertos con ERS representan una interesante opción para prevenir la transmisión sexual del VIH en mujeres.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al proyecto MAT2012-34552 del Ministerio de Economía y Competitividad. Raúl Cazorla Luna es beneficiario de una beca FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

[1] Organización Mundial de la Salud, www.who.int/es/.

[2] Kabamba B. ALEXANDRE, Hazel T. MUFHANDU, Grace M. LONDON, E. CHAKAUYA, M. KHATI, "*Progress and Perspectives on HIV-1 Microbicide Development*", Virology, 497, 69-80, 2016.

[3] Robin J. SHATTOCK, Zeda ROSENBERG. "*Microbicides: Topical Prevention against HIV*", Cold Spring Harb. Perspect. Med., 2(2):a007385, 2012.

[4] Sophia ANTIMISIARIS, Spyridon MOURTAS, "*Recent Advances on anti-HIV Vaginal Delivery Systems Development*", Adv Drug Deliv Rev,92, 123-145, 2015.

[5] Aitana TAMAYO, María Alejandra MAZO, Roberto RUIZ-CARO, Araceli MARTÍN-ILLANA, Luis Miguel BEDOYA, María Dolores VEIGA-OCHOA, Juan RUBIO, "*Mesoporous Silicon Oxycarbide Materials for Controlled Drug Delivery Systems*", Chem Ing Jour, 280, 165-174, 2015.

[6] Kathrin NOLLENBERGER, Jessica ALBERS, "*Poly(meth)acrylate-Based Coatings*", Int J Pharm, 457, 461-469, 2013.

[7] Roberto RUIZ-CARO, María Dolores VEIGA-OCHOA, *"Characterization and dissolution study of chitosan freeze-dried systems for drug controlled release"*, Molecules, 14, 11, 4370-86, 2009.

[8] María del Pilar SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, Araceli MARTÍN-ILLANA, Roberto RUÍZ-CARO *et al.*, "*Chitosan and Kappa-Carrageenan Vaginal Acyclovir Formulations for Prevention of Genital Herpes. In vitro and ex vivo Evaluation*", Mar Drugs, 13(9): 5976-5992, 2015.

Evaluación de la influencia de agentes estructurales y plastificantes en la liberación de Tenofovir formulado en *films* vaginales basados en HPMC y Zeína

Fernando NOTARIO PÉREZ, Raúl CAZORLA LUNA, Araceli MARTÍN ILLANA, Roberto RUIZ CARO, María Dolores VEIGA OCHOA

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, España

Email de contacto: mdveiga@ucm.es

1. Introducción

Los *films* de administración vaginal son finas láminas de polímeros con fármaco incorporado que proporcionan una administración local del principio activo a través de la disolución del mismo en el fluido vaginal. Mediante la incorporación de fármacos antirretrovirales, como el Tenofovir (TFV), es posible desarrollar formulaciones para prevenir la transmisión sexual del VIH [1].

En el diseño de los *films* se han estudiado diferentes polímeros. La Hidroxipropilmetil celulosa (HPMC) en presencia de agua es capaz de hincharse originando un gel de gran viscosidad que controla la difusión del principio activo al medio. En cambio, la Zeína es una proteína insoluble en agua, empleada habitualmente para controlar la liberación mediante su uso en el recubrimiento de distintas formas farmacéuticas [2].

Los materiales mesoporosos, tales como las sílices (MCM-41 y FSM-16), han sido estudiados para múltiples aplicaciones debido a su elevada área superficial, alta porosidad, uniformidad de distribución y tamaño de los poros y posible modificación de la superficie de los mismos [3].

Precisamente debido a estas características, el objetivo de este trabajo es incorporar MCM-41 a *films* medicamentosos diseñados para estudiar su influencia en la liberación del fármaco, ya sea mediante el control de la liberación o debido a la actuación de la sílice como agente estructural.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de los *Films*

Los polímeros empleados en la preparación de los *films* fueron HPMC y Zeína, tanto de forma individual como en combinación. Se utilizaron cuatro plastificantes distintos: Glicerina (G), Polietilenglicol 400 (PEG), Tributilcitrato (TBC) y Ácido Oleico (AO). Además, se incluyó TFV como fármaco antirretroviral y cantidades crecientes de sílice mesoporosa (MCM-41), que actuaría como agente estructural.

2.2. Evaluación de los *films*

Para evaluar la compatibilidad polímero-plastificante se observó si la incorporación del plastificante en la matriz polimérica era homogénea.

Con el fin de evaluar la liberación y disolución del TFV incluido en cada formulación, cada tipo de *film* preparado fue introducido en Fluido Vaginal Simulado (FVS). A tiempos prefijados, se cuantificó la concentración de TFV liberado.

Para evaluar el comportamiento de los *films* en el medio vaginal se determinó el grado de hinchamiento (SR) de los mismos, evaluando cada lote por triplicado en FVS utilizando el método descrito por Ruiz-Caro *et al.* [4].

Además, se evaluó la capacidad bioadhesiva de los *films*.

3. Resultados y Discusión

3.1. Compatibilidad Polímero-Plastificante

Se observó que los *films* que incluían HPMC son incompatibles con el AO, mientras que los *films* de Zeína presentaban incompatibilidad al ser formulados junto con G y PEG. El TBC, aun siendo compatible con ambos polímeros, no mejora la flexibilidad de los *films*.

3.2. Resultados de Liberación de TFV

En los ensayos de liberación del fármaco (Fig. 1) se observó que los *films* de Zeína eran los que tenían mayor capacidad para retener el TFV. Cabe destacar la mejor modulación de la cesión del fármaco que se aprecia cuando los *films* incluyen 25 mg de MCM-41, así como que el uso de TBC como plastificante provoca una liberación más rápida que cuando se utiliza AO.

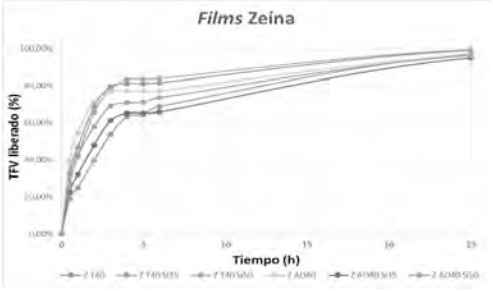


Fig. 1: Perfiles de liberación de TFV obtenidos desde de los films de Zeína en FVS.

3.3. Comportamiento de los *films* en FVS

Los *films* de HPMC sufren un rápido proceso de hinchamiento, absorbiendo más de 1000 veces su peso en agua, para posteriormente irse erosionando poco a poco hasta su completa disolución. En cambio, los *films* de Zeína sufren una modificación estructural al entrar en contacto con el FVS, captando un pequeño volumen de agua que los hace completamente flexibles. Los *films* que combinan HPMC y Zeína muestran un comportamiento intermedio (Fig. 2).

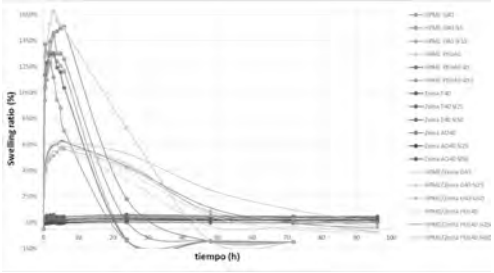


Fig. 2: Perfil de hinchamiento de los films en FVS.

3.4. Adhesión a tejidos biológicos

En todos los casos se observó que los *films* eran capaces de permanecer adheridos hasta su completa disolución (*films* de HPMC) o durante periodos superiores a una semana cuando los *films* incluían Zeína.

4. Conclusiones

Los *films* de Zeína, debido a su baja permeabilidad al medio acuoso, permiten un adecuado control de la liberación del fármaco. Además, la incorporación de una pequeña cantidad de MCM-41 al *film* de Zeína potencia la capacidad de control sobre la liberación del TFV.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al proyecto MAT2012-34552 del Ministerio de Economía y Competitividad. Raúl Cazorla Luna es beneficiario de una beca FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

[1] María D. FAN, Lindsay F. KRAMZER, Sharon L. HILLIER, *et al.*, *"Preferred physical characteristics of vaginal film microbicides for HIV prevention in Pittsburgh women"*, *Arch Sex Behav,* 2016.

[2] Yong ZHANG, Lili CUI, Xiaoxia CHE, *et al.*, *"Zein-based films and their usage for controlled delivery: Origin, classes and current landscape"*, J Control Release, 206, 206-19, 2015.

[3] Makoto OGAWA, *"Mesoporous silica layer: preparation and opportunity"*, Chem Rec, 2016.

[4] Roberto RUIZ-CARO, María Dolores VEIGA-OCHOA, *"Characterization and dissolution study of chitosan freeze-dried systems for drug controlled release"*, Molecules, 14, 11, 4370-86, 2009.

Estudio de polímeros naturales para el desarrollo de formulaciones vaginales mucoadhesivas

Raúl CAZORLA-LUNA, Araceli MARTÍN-ILLANA, Fernando NOTARIO-PÉREZ, Roberto RUIZ-CARO, María Dolores VEIGA-OCHOA

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal, s/n, 28040 Madrid

Email de contacto: rruizcar@ucm.es

1. Introducción

Según la Organización Mundial de la Salud "*La infección por el VIH (Virus de la inmunodeficiencia humana) es una de las principales causas de infertilidad, discapacidad y muerte en todo el mundo, con importantes consecuencias médicas y psicológicas para millones de mujeres, hombres y niños*" [1].

Los ITIAN (inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleósidos) fueron los primeros fármacos en mostrar su actividad en el tratamiento y la prevención de la infección por VIH. Tenofovir (TFV) pertenece a este grupo de fármacos, bloqueando la actividad de la transcriptasa inversa por antagonismo competitivo [2].

Son numerosos los polímeros naturales que se están investigando en el desarrollo de nuevos sistemas farmacéuticos. Entre estos polímeros, podemos encontrar la ceratonia (LBG), el quitosano (CH) o la pectina (P). Todos ellos son bioadhesivos, biocompatibles y biodegradables [3].

Con estos antecedentes, el objetivo de este trabajo fue el desarrollo de nuevas formulaciones vaginales, basadas en los polímeros arriba indicados, que permitan una cesión sostenida de TFV para la prevención del VIH.

2. Material y métodos

Se prepararon matrices por compresión a base de CH, LBG, P y mezclas LBG/CH sin fármaco y con 30mg o 100mg de TFV.

El grado de hinchamiento se evaluó en FVS (fluido vaginal simulado) atendiendo al método descrito por Ruiz-Caro *et al.* [4]. Los ensayos de liberación también fueron desarrollados en FVS, y las concentraciones de TFV liberado se cuantificaron por espectroscopía ultravioleta.

El tiempo de mucoadhesión de las formulaciones se evaluó en mucosa vaginal bovina obtenida de animales de matadero. Se determinó visualmente el tiempo transcurrido hasta el despegue, la disolución completa o la erosión de la forma de dosificación en FVS.

3. Resultados y discusión

3.1. Estudios de hinchamiento

Atendiendo a los distintos polímeros, las formulaciones que más se hincharon fueron aquellas constituidas por P, pero se erosionaron en menos de 200h. Las formulaciones de LBG mostraron un hinchamiento menor a P pero su completa erosión requirió más de 300h.

La P y el LBG forman un gel que se disuelve en el medio. El gel formado por la P es menos viscoso y esto lleva a una rápida desestructuración de la formulación. No obstante, las formulaciones son lo suficientemente robustas como para que no afecte la presencia del TFV.

Las formulaciones con CH y CH/LBG fueron las que menos se hincharon (Fig. 1). Atendiendo a la cantidad de fármaco en la matriz, la presencia de TFV supone una mayor penetración de agua, lo que conlleva mayor hinchamiento. Las formulaciones que contenían 100mg de TFV se erosionaron rápidamente, puesto que el CH sufre mayoritariamente un proceso de erosión en el medio con escasa formación de gel. Cuanto mayor es la penetración de agua, más favorecida está la erosión. No obstante, al adicionar 30mg, la erosión

se lleva a cabo en más de 300h, ya que el TFV actúa como agente estructural de la formulación.

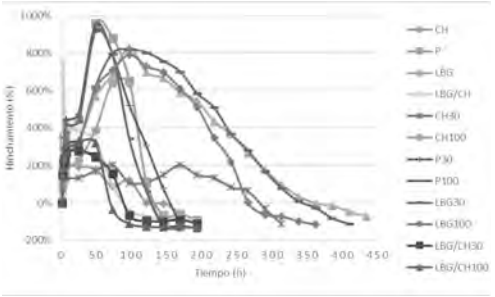


Fig. 1: Perfiles de hinchamiento de las formulaciones.

3.2. Estudios de cesión

Las formulaciones basadas en CH mostraron la cesión más sostenida del fármaco, seguidas de aquellas constituidas por P y LBG. Las formulaciones formadas por la mezcla LBG/CH requirieron el menor tiempo para liberar la totalidad de la dosis.

Las formulaciones con 100mg de fármaco mostraron una cesión más sostenida respecto a aquellas que, con la misma composición, contenían 30mg de TFV (Fig. 2).

Estos perfiles se pueden explicar si atendemos a la rápida formación del gel en el caso de la P y el LBG, lo que facilita la difusión del fármaco. Esto es más acusado en las combinaciones LBG/CH debido a la rápida desestructuración mostrada en estos sistemas. En el caso de las matrices de CH, la liberación se produce por procesos simultáneos de difusión a través de la matriz y erosión, procesos lentos según se indica en los estudios de hinchamiento.

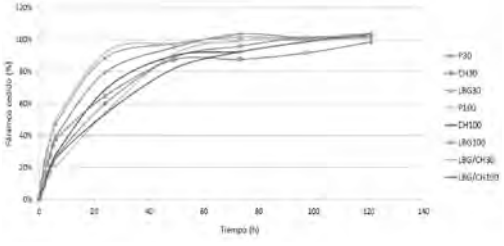


Fig. 2: Perfiles de cesión de las formulaciones.

3.3. Estudios de mucoadhesión

Todas las formulaciones mostraron ser mucoadhesivas, siendo las de LBG las que más tiempo se mantuvieron mucoadheridas.

4. Conclusiones

Los sistemas basados en CH representarían las formulaciones más adecuadas por su capacidad para ceder el TFV de forma sostenida durante 5-6 días, además de presentar valores de hinchamiento bajos, lo que asegura el confort de la paciente.

La capacidad mucoadhesiva del CH lo convierte en un interesante excipiente para la obtención de formulaciones que deben permanecer adheridas al tejido vaginal el tiempo suficiente para prevenir ETS.

5. Agradecimientos

Este trabajo se ha realizado gracias al Proyecto MAT2012-34552 del Ministerio de Economía y Competitividad. Raúl Cazorla Luna es beneficiario de una beca FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

[1] Sexually transmitted infections, World Health Organization, http://www.who.int/topics/sexually_transmitted_infection.

[2] Todd J. JOHNSON, Kavita M. GUPTA, Judit FABIAN *et al*., "*Segmented polyurethane intravaginal rings for the sustained combined delivery of antiretroviral agents dapivirine and tenofovir*", Eur J Pharm Sci, 39(4), 203-212, 2010.

[3] María del Pilar SÁNCHEZ-SÁNCHEZ, Araceli MARTÍN-ILLANA, Roberto RUÍZ-CARO *et al., "Chitosan and Kappa-Carrageenan Vaginal Acyclovir Formulations for Prevention of Genital Herpes. In vitro and ex vivo Evaluation*", Mar Drugs, 13(9), 5976-5992, 2015.

[4] Roberto RUIZ-CARO, Manuel GAGO-GUILLÁN, Francisco Javier OTERO-ESPINAR *et al*., «*Mucoadhesive tablets for controlled release of acyclovir*", Chem Pharm Bull, 60(10), 1249-1257, 2012.

Desarrollo de comprimidos vaginales de Tenofovir para la prevención de la transmisión sexual del VIH

Fernando NOTARIO PÉREZ[1], Araceli MARTÍN ILLANA[1], Raúl CAZORLA LUNA[1], Roberto RUIZ CARO[1], Juan RUBIO[2], María Dolores VEIGA OCHOA[1]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, España
2. Dpto. de Química Física de Superficies y Procesos, Instituto de Carámica y Vidrio, Consejo Superior de Investigaciones Científicas, Calle Kelsen 5, 28049 Madrid, España

Email de contacto: rruizcar@ucm.es

1. Introducción

El Síndrome de InmunoDeficiencia Adquirida (SIDA) continúa siendo uno de los principales problemas de salud pública, especialmente en los países menos desarrollados. Se estima que actualmente 36,7 millones de personas viven con el VIH [1].

Los polímeros empleados en formulaciones sólidas vaginales deben ser capaces de adherirse a la mucosa vaginal mediante interacciones con la superficie biológica lo que aumenta el tiempo de permanencia en el lugar de acción y controlar además la liberación del fármaco [2].

Los polímeros pueden ser naturales, como el Quitosano (CH) o Goma Guar (GG), semisintéticos como la HidroxiPropilMetil Celulosa (HPMC) o sintéticos como el Eudragit® RS (ERS).

El objetivo de este trabajo es evaluar el potencial de los polímeros anteriormente mencionados para desarrollar comprimidos de liberación sostenida de Tenofovir (TFV).

2. Materiales y métodos

Se prepararon cuatro lotes de comprimidos a partir de mezclas físicas del polímero correspondiente.

2.1. Ensayos de hinchamiento

El hinchamiento de los distintos lotes en Fluido Vaginal Simulado (FVS) [3] fue analizado utilizando el método descrito por Ruiz-Caro *et al.* [4].

2.2. Ensayo de liberación

Para evaluar la liberación de TFV desde cada lote se empleó el método descrito por Sánchez-Sánchez *et al.* [5].

2.3. Caracterización microestructural

Mediante porosimetría de mercurio se determinó la distribución de tamaño de poro (PSD).

2.4. Ensayo de mucoadhesión

Se evaluó la adhesión *ex vivo* empleando mucosa vaginal de ternera.

3. Resultados y Discusión

3.1. Resultados de hinchamiento

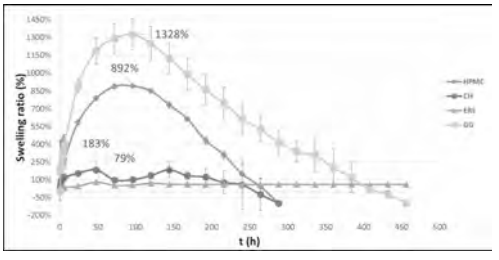


Fig. 1: Perfiles de hinchamiento de cada lote en FVS.

HPMC y GG destacan por su elevado hinchamiento, mientras que CH sufre un hinchamiento moderado pero sostenido, captando un volumen de agua mucho menor. En contraste, ERS, al ser un polímero insoluble en agua, apenas capta agua (la matriz porosa absorbe una pequeña cantidad) (Fig. 1).

3.2. Resultados de Cesión de TFV

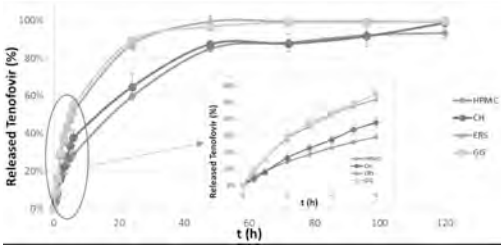


Fig. 2: Perfiles de liberación de TFV obtenidos desde de los distintos lotes en FVS.

Los datos de cesión muestran que HPMC y CH son los polímeros que mejor controlan la liberación de TFV, gracias a la formación de un gel en FVS. En cambio, ERS es un polímero insoluble incapaz de gelificar que apenas controla la liberación del fármaco, y GG, aunque produce una capa de gel con el mayor SR, tiene muy baja consistencia, por lo que el fármaco difunde rápidamente a través de éste gel (Fig. 2).

3.3. Microestructura de los comprimidos

De acuerdo a la Fig. 3, se distinguen dos tipos de PSD: HPMC y GG tienen una PSD estrecha, donde la mayor parte de los poros están en torno a 100 µm, mientras que CH y ERS tienen una PSD amplia con poros de entre 100 y 0,1 µm. Ambos tipos de PSD se asocian al comportamiento de hinchamiento (Fig. 1).

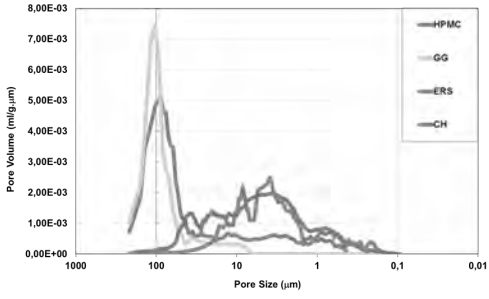


Fig. 3: PSD de los comprimidos de HPMC, CH, ERS y GG.

3.4. Evaluación de la mucoadhesión

Los resultados de mucoadhesión revelan que los lotes con HPMC, ERS y GG permanecen adheridos a la mucosa durante amplios periodos de tiempo (>144h). En cambio, los comprimidos con CH tienen un tiempo de permanencia de 48h.

4. Conclusiones

Los comprimidos de CH que contienen TFV, podrían constituir una formulación adecuada para la prevención de la transmisión sexual del VIH debido a su buena mucoadhesión, liberación sostenida del fármaco e hinchamiento moderado con erosión que asegura el confort de la paciente.

5. Agradecimientos

Este trabajo fue realizado gracias al proyecto MAT2012-34552 del Ministerio de Economía y Competitividad. Raúl Cazorla Luna es beneficiario de una beca FPU del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Referencias

[1] Organización Mundial de la Salud, http://www.who.int/topics/hiv_aids/en/.

[2] Claudia VALENTA, *"The use of mucoadhesive polymers in vaginal delivery"*, Adv Drug Deliv Rev, 57, 11, 1692-712, 2005.

[3] Derek H. OWEN, David F. KATZ, *"A vaginal fluid simulant"*, Contraception, 59, 2, 91-5, 1999.

[4] Roberto RUIZ-CARO, María Dolores VEIGA-OCHOA, *"Characterization and dissolution study of chitosan freeze-dried systems for drug controlled release"*, Molecules, 14, 11, 4370-86, 2009.

[5] María del Pilar SANCHEZ-SANCHEZ, Araceli MARTIN ILLANA, Roberto RUIZ-CARO, Paulina BERMEJO, María José ABAD, Ruben CARRO, Luis Miguel BEDOYA, Aitana TAMAYO, Juan RUBIO, Anxo FERNÁNDEZ-FERREIRO, Francisco OTERO-ESPINAR, María Dolores VEIGA, *"Chitosan and kappa-carrageenan vaginal acyclovir formulations for prevention of genital herpes. In vitro and ex vivo evaluation"*, Marine Drugs, 13, 9, 5976-92, 2015.

Human Serum Albumin (HSA) nanoparticles for the ocular delivery of suramin

Inés LUIS DE REDÍN[1], Carolina BOIERO[2], Maite AGÜEROS[1], Juan M. LLABOT[2], Juan M. IRACHE[1]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Navarra, Campus Universitario, 31009 Pamplona, Navarra, Spain
2. Department of Pharmacy, CONICET-National University of Cordoba, Valparaiso Avda s/n X5000HRV, Córdoba, Argentina

Email de contacto: iluisder@alumni.unav.es

1. Introduction

Topical application of drugs to the eye remains the most popular and well-accepted route of administration for the treatment of different eye disorders. Most commonly available ophthalmic preparations are solutions (drops) and ointments, which conform about 70% of the eye dosage formulations in the market. However, when instilled into the cul-de-sac, these preparations are rapidly drained away from the ocular cavity due to tear flow and lachrymal nasal drainage. Only a small amount is available for its therapeutic effect (1–3%) resulting in frequent dosing (Kuno *et al*. 2011).

Suramin is a polysulfonated naphthylamine derivate of urea that inhibits tumor cell proliferation and angiogenesis. Also, it was reported the inhibition effect of suramin in vitro and in vivo rat corneal neovascularization model (Bocci *et al.* 1999).

In this context, the aim of this work was to develop and optimize nanocarriers based on human serum albumin (HSA) for the topical eye delivery of suramin.

2. Experimental methods

HSA nanoparticles were prepared by a desolvation technique following a previous method described by Merodio *et al*. (2001) with some modifications. Nanoparticles were stabilized by addition of either of glutaraldehyde in water (Nps-Glu) or of Gantrez ES-425™ (Nps-Ga) in ethanol.

For the preparation of suramin-loaded nanoparticles (S-NPsGa or S-NPsGlu), the drug (20mg) was added to the albumin solution. Then, the nanoparticles were desolvated and stabilized in the same way as described previously.

Nanoparticle size and zeta potential of nanoparticles were determined by photon correlation spectroscopy (PCS) and electrophoretic laser Doppler anemometry, respectively, using a Zeta Plus analyser system (Brookhaven Inst. Corp., USA). Shape of the nanoparticles was also examined by scanning electron microscopy (SEM).

The amount of the protein transformed into nanoparticles (yield) was estimated from the quantification by micro-BCA of the free HSA fraction (soluble protein) after the formation of nanoparticles by desolvation.

The amount of suramin loaded into nanoparticles was calculated by UV spectroscopy at 318 nm (*Power Wave HT* microplate, BioTek, USA).

In vitro release studies of suramin loaded in albumin nanoparticles were carried out in PBS (pH 7.4).

3. Results and discussion

For empty nanoparticles, the size of albumin nanoparticles stabilized by incubation with Gantrez was found to be higher than those cross-linked with glutaraldehyde (210 vs. 160 nm). However, in both cases, the resulting batches were homogeneous with polydispersion index lower than 0.2. On the other hand, the zeta potential of both

types of carriers was found to be negative and quite similar in an absolute value (between -35 and -39 mV). Moreover, the yield of the preparative process was found to be slightly higher when albumin nanoparticles were stabilized by coating with Gantrez ES-425™ than when cross-linked via glutaraldehyde.

For suramin-loaded nanoparticles, the mean size of the resulted carriers was about 200 nm and the drug loading was calculated to be around 120 µg/mg nanoparticle with an encapsulation efficiency close to 85%. Interestingly, the physico-chemical characteristics of S-Nps-Glu were quite similar to those observed for S-Nps-Ga. Just slight differences were observed in the mean size of the resulting carriers. The morphological characterization of nanoparticles by SEM was found to be similar to the ones found by photon correlation spectroscopy (Figure 1).

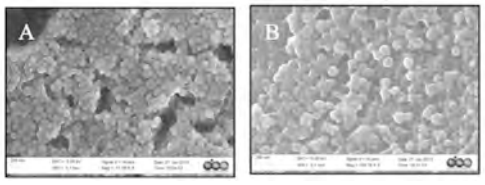


Fig. 1: SEM of empty (NPs-Ga; A) and suramin-loaded nanoparticles (S-Nps-Ga, B).

Figure 2 shows the release profile of suramin from albumin nanoparticles.

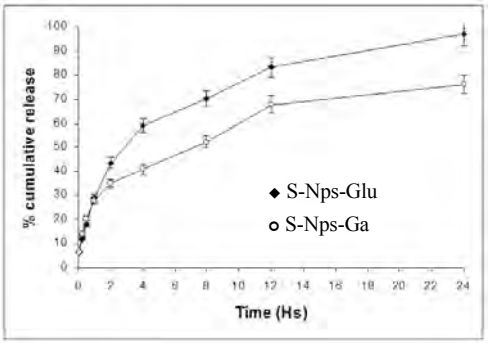


Fig. 2: In vitro release of suramin from albumin nanoparticles cross-linked with glutaraldehyde (o) or stabilized by coating with Gantrez ES-425 (◆). Data expressed as mean ± SD (n = 3).

Interestingly, during the first two hours of the study, suramin was similarly released from nanoparticles cross-linked with glutaraldehyde or stabilized with Gantrez ES-425™. Then, the release of suramin from nanoparticles stabilized by coating with Gantrez was faster than that from nanoparticles cross-linked with glutaraldehyde. For the former suramin released was around 70% in 8 hours, whereas for the latter the suramin released was 50% in the same period of time.

4. Conclusion

Gantrez® ES-425 resulted to be an appropriated stabilizing agent for HSA nanoparticles, avoiding the drawbacks of using glutaraldehyde. Also, the *in vitro* release studies showed the ability of these nanoparticles to control the release of the drug.

5. Acknowledgements

This work was supported by grants from the "Ministerio de Ciencia e Innovación» (PRI-PIBAR-2011-1377) in Spain and financial support of CONICET and FONCyT (BID 2473/OC-AR PICT 2010-0380) in Argentina.

Referencias

[1] Noriyuki KUNO, Shinobu FUJII *"Recent advances in ocular drug delivery systems"* Polymers 3,193-221 (2011).

[2] Jin-Hong CHANG, Eric E. GABISON, Takuji KATO, Dimitri AZAR*"Corneal neovascularization"* Curr. Opin. Ophthalmol. Aug;12(4):242-9 (2001).

[3] Guido BOCCI, Romano DANESI, Umberto BENELLI, Federico INNOCENTI, Antonello DI PAOLO, Stefano FOGLI, Mario DEL TASCA, *"Inhibitori effect of suramin in rat models of angiogenesis in vitro and in vivo"*, Cancer Chemother Pharmacol. 43(3):205-12 (1999).

[4] Marta MERODIO, Amaia ARNEDO, M. Jesús RENEDO, Juan M. IRACHE, *"Ganciclovir-loaded albumin nanoparticles: characterization and in vitro release properties"*, Eur J Pharm Sci. 12(3), 251-9 (2001).

El desarrollo profesional de especialistas sanitarios en Farmacia Industrial y Galénica. Balance desde el Dispositivo Docente de la Universidad CEU San Pablo

Carmen TRIVES LOMBARDERO, Luis Alberto DEL RÍO ÁLVAREZ

Escuela de Farmacia Industrial y Galénica. Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo, Urbanización Montepríncipe, 28668 Boadilla del Monte, Madrid

Email de contacto: trilombar@ceu.es

1. Introducción

La formación especializada sanitaria conducente a la obtención del Título de Farmacéutico Especialista en Farmacia Industrial y Galénica (FEFIG) expedido por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte, ha venido impartiéndose como disciplina exclusivamente farmacéutica en los Dispositivos Docentes adscritos a las Universidades de Alcalá de Henares, Barcelona, Navarra y CEU San Pablo. Para optar a una de estas plazas es necesario realizar el examen FIR de carácter anual junto con el resto de especialidades sanitarias convocado por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad (MSSSI).

Tras un estudio inicial sobre la empleabilidad de los especialistas sanitarios egresados por parte del MSSSI [1] contrastado con la visión posterior de Montilla [2], el objetivo de la presente comunicación ha sido analizar la inserción en el mercado laboral de los farmacéuticos industriales formados desde la Unidad Docente de la Universidad CEU San Pablo a lo largo del periodo formativo de estancias en los laboratorios farmacéuticos, tras 10 años de experiencia nuestra.

2. Materiales y Métodos

Estudio descriptivo transversal de los farmacéuticos con plaza de cada una de las promociones FIR mediante seguimiento y análisis del mismo [3]. Para ello, tras cada módulo de enseñanza, el farmacéutico alumno realiza una encuesta sobre el grado de satisfacción de los contenidos impartidos y de valoración de los profesores. Al comienzo de su periodo industrial de prácticas, se mantiene una reunión trimestral con cada alumno y su tutor. Finalizado dicho periodo, se solicita al laboratorio la valoración del tutor sobre las capacidades tanto técnicas como profesionales del farmacéutico. Se pide a éste una memoria *in extenso* crítica sobre su trabajo industrial. Finalmente, se realiza una encuesta de inserción laboral y de inquietudes tras haber finalizado su estancia.

3. Resultados

La encuesta de inserción laboral llevada a cabo ha conseguido respuesta en 62 sobre el total de 92 alumnos (67,4%) que han pasado por el Dispositivo Docente. Los resultados (como porcentajes) de la inserción laboral se muestran en las Figuras 1 y 2, en donde se aprecia su tasa de inserción laboral y que ésta tiene lugar mayoritariamente en la industria farmacéutica

Fig. 1: Tasa de empleo.

En todos los casos, los departamentos de la industria farmacéutica en los que tiene lugar su desarrollo laboral, Fig. 3, se corresponden con la formación recibida, lo que pone de manifiesto el adecuado planteamiento de la misma y justifica su inserción laboral.

Fig. 2: Centro de empleo.

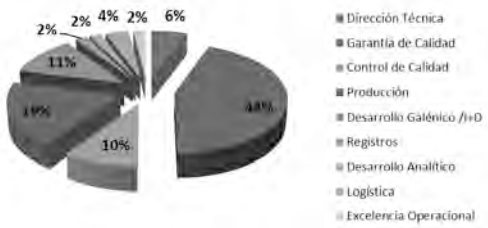


Fig. 3: Empleo por funciones en la industria farmacéutica.

Los propios especialistas egresados consideran, mayoritariamente, que la formación recibida ha resultado de utilidad para su acceso al mundo laboral en la industria farmacéutica de forma rápida y en un departamento y función acorde a sus competencias, Fig. 4.

Fig. 4: Valoración para el acceso al mundo laboral en la Industria Farmacéutica

4. Conclusiones

Mayoritariamente, la formación recibida por los especialistas ha sido de utilidad para su empleabilidad en la industria farmacéutica, con una responsabilidad relacionada con la formación recibida consecuencia del grado de talento adquirido. Son los propios especialistas los que consideran, de manera unánime, que la formación FEFIG les ha resultado de utilidad.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad CEU San Pablo el Primer Premio a la Innovación Docente 2014 por el trabajo que ha dado lugar a la presente comunicación. Asimismo, quieren hacer constar su agradecimiento tanto al Presidente de la Comisión de Farmacia Industrial y Galénica, Dr. José Carlos Montilla, y al Vocal de la Comisión Nacional de Especialidades, Dr. Vicente Hernández y a los Dispositivos Docentes de las Universidades de Alcalá de Henares, Barcelona y Navarra que tanto han hecho de forma irrepetible y con la máxima ilusión por el futuro de los profesionales industriales.

Referencias

[1] Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Estudio sobre la evolución laboral de los especialistas egresados de la FSE entre 2009 y 2012. Disponible en http://www.msssi.gob.es/profesionales/formacion/necesidadEspecialistas/doc/EstudioFSE20092012.pdf.

[2] MONTILLA JC. Futuro de la especialización en Farmacia Industrial y Galénica. (2014) Pharmatech. 11, 46-50.

[3] DEL RIO L.A., TRIVES C., SALAZAR N. (2015). Formación de especialistas sanitarios (FIR) de Farmacia Industrial y Galénica de la Unidad Docente de la Universidad CEU San Pablo tras estancias en la industria farmacéutica de Madrid. Educ Med. 16(4):218-222.

Los ensayos de funcionalidad según farmacopea para los cierres de goma cuando se emplean agujas de dispositivos de transferencia de soluciones i.v.

Luis Alberto DEL RÍO ÁLVAREZ, Ana M. PUGA, Nuria SALAZAR SÁNCHEZ

Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo, Urbanización Montepríncipe, 28668 Boadilla del Monte, Madrid

Email de contacto: delrio@ceu.es

1. Introducción

Los tapones elastoméricos gozan de monografía propia en las distintas farmacopeas. Los más comúnmente utilizados son de naturaleza halobutílica pero presentan riesgo de producción de fragmentos tras su perforación [1]. Los fragmentos pueden ser difíciles de visualizar debido a su pequeño tamaño, el efecto de enmascaramiento de las etiquetas, o la opacidad de la medicación.

La RFE [2] recoge una serie de ensayos en la determinación de su funcionalidad, perforándose con agujas hipodérmicas nuevas y lubricadas, con un ángulo de bisel de 12 ± 2º y un diámetro exterior de 0.8 mm. Las especificaciones se encuentran en la Tabla 1.

Nº máximo fragmentos/48 punciones	5
Autoobturación	100%
Fuerza de perforación	< 10 N

Tabla 1: Cierres de goma: ensayo de funcionalidad con agujas hipodérmicas

Existen una serie de dispositivos y puertos (Fig. 1) con agujas para el trasvase de soluciones parenterales, en la disolución de liofilizados, el mezclado de soluciones y disolución de sus ingredientes que minimizan el riesgo de lesiones en el personal sanitario. Sin embargo, presentan un diámetro habitualmente diez veces mayor y un diseño propio por cada fabricante. En este caso, es de esperar la aparición de un número fragmentos, tras su perforación, significativamente mayor que con las clásicas agujas biseladas de acero [3].

El objetivo del presente trabajo es conocer la validez de los ensayos de funcionalidad, desarrollados inicialmente para agujas hipodérmicas, cuando se contempla el uso de otras agujas de mayor calibre y diferente geometría

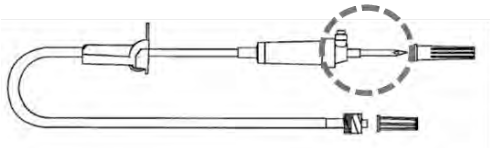


Fig. 1: Aguja de transferencia en un sistema de administración o reconstitución de soluciones i.v.

2. Material y Métodos

Viales de vidrio de 75 ml de volumen total con agua destilada hasta la mitad de su volumen, Agujas en policarbonato de 9 mm de diámetro para transferencia AMS-500 (Churchill Medical Systems, PA, USA), Cierres elastoméricos Helvoet Pharma V9168-FM y Cápsulas de aluminio.

Los tapones elastoméricos son tratados y esterilizados según RFE y sellados con cápsulas de aluminio. Se perfora cada tapón con la aguja perpendicularmente al vial sobre el rebaje central del cierre. El recorrido de la aguja se fija en 9 mm. El tiempo transcurrido en la perforación es inferior a 1 segundo. Se agita el vial y se vierten los contenidos sobre una membrana de 0.45 µm de poro. Se examina con una lupa de 6 aumentos y se cuentan los fragmentos provenientes del elastómero. La fuerza de perforación se determina por medio de un Dinamómetro Salter modelo 6018 sujeto a un soporte AEG BST 718. El ensayo de autoobturación consiste según la RFE en la perforación de los viales a través de los cierres del modo descrito para el ensayo de fragmentación y posteriormente ser sumergidos en una disolución de azul de metileno con vacío.

3. Resultados

Se comprueba que la variabilidad de los factores externos sea sensiblemente menor que aquella que considera tanto la del propio método como la intrínseca, lo que indica que el método es lo suficientemente robusto o insensible a los factores lote, analista y día, máxime al tratarse de ensayos destructivos en donde no es posible la obtención de replicados ni la comparación de resultados experimentales con un estándar. Los resultados se encuentran en la Tabla 2.

Nº unidades sin fragmentos	61.4%
Nº fragmentos/100 punciones	42
Autoobturación	100%
Fuerza de perforación (media±std)	77,7±8,1N

Tabla 2: Cierres de goma: resultados de los ensayos de funcionalidad con agujas de transferencia.

4. Discusión

Las agujas procedentes de los dispositivos en estudio no están definidas para ser empleadas en los ensayos de funcionalidad de los cierres de goma. Los resultados hallados en el caso de la producción de fragmentos son preocupantes desde un punto de vista de la seguridad para el paciente.

La regulación farmacéutica rara vez proporciona instrucciones directas sobre el modo de preparar y seleccionar los materiales que van a servir para la administración del medicamento. Se debe requerir un estudio de funcionalidad para este tipo de agujas para controlar sus riesgos, independientemente de usar sistemas de filtración adicionales para soslayar su trascendencia, si bien en este caso podría resultar desaconsejable para emulsiones (e.g. propofol) o por aparición de fenómenos de adsorción.

5. Conclusiones

Los ensayos realizados han permitido identificar una situación potencialmente peligrosa para la seguridad del paciente asociada a la utilización de diferentes agujas.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto la necesidad de desarrollar un nuevo sistema regulatorio que contemple la utilización de otros tipos de agujas y el establecimiento de sus valores estándar para los ensayos de funcionalidad de los elastómeros junto con su análisis de riesgos correspondiente.

Referencias

[1] Wayne CURRY *et al*. “Reducing the Risk of Contamination of Sterile Parenteral Products via Ready-to-Use Closure Components”, AAPS PharmSciTech, Vol. 11, No. 4, 1572-1579, 2010.

[2] MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD. *“Real Farmacopea Española”*, 5ª edición, 2015.

[3] Tariq WANI, Anupama WADHWA, Joseph TOBIAS. *“The incidence of coring with blunt versus sharp needles”*, J Clin Anesth. Vol 26, 2, 152-154, 2014.

Influence of the composition of the encapsulating solutions in the structural properties of Alginate-Poly-L-Lysine-Alginate microcapsules

Ainhoa GONZÁLEZ-PUJANA, Edorta SANTOS, Gorka ORIVE, José Luis PEDRAZ, Rosa María HERNÁNDEZ

NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU). Vitoria, Spain

Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN). Vitoria, Spain

Email de contacto: rosa.hernandez@ehu.es

1. Introduction

Cell encapsulation technology is based on the entrapment of cells in a polymeric matrix. The permselective membrane which surrounds the core permits the ingress of nutrients and oxygen and the egress of therapeutic factors produced by the implanted cells, while prevents the immune system from entering the capsule. Thus, the protection of allogeneic or even xenogeneic cells is enabled, reducing, the use of immunosuppressants [1]. Moreover, a controlled and *de novo* release of biologically active molecules is obtained, giving rise to the development of promising therapeutic treatments for disorders such as diabetes [2].

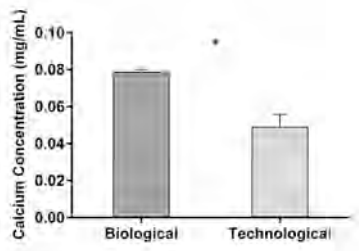


*Fig. 1: Calcium determination (n=3). Statistical significance: *p< 0.0.5,**p< 0.01 and ***p< 0.001.*

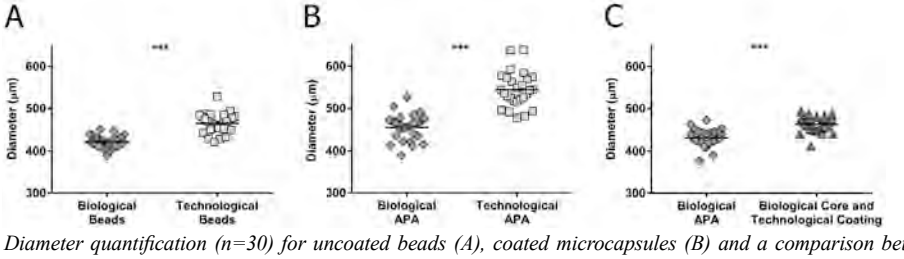


*Fig. 2: Diameter quantification (n=30) for uncoated beads (A), coated microcapsules (B) and a comparison between Biological and Hybrid microcapsules (C). Statistical significance: *p< 0.0.5,**p< 0.01 and ***p< 0.001.*

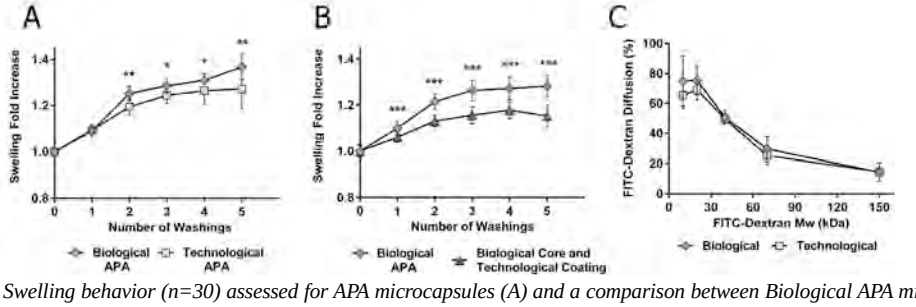


*Fig. 3: Swelling behavior (n=30) assessed for APA microcapsules (A) and a comparison between Biological APA microcapsules and Hybrid microcapsules (B). (C) FITC labeled dextran diffusion (n=4). Statistical significance: *p< 0.0.5, **p< 0.01 and ***p< 0.001.*

It is of paramount importance to study in depth some basic parameters in order to gain control over the system, and therefore, obtain a better understanding of its performance. In this work, one of these parameters was studied in detail. It is crucial that the solutions that incorporate the biomaterials used in encapsulation present adequate pH and osmolarity values. This may be fulfilled following two different strategies: to add electrolytes, or to add inert molecules. To elucidate which strategy is more beneficial for the biosystem, we compared two batches of microcapsules which only differed from the formulation of the solutions used in the encapsulation process: a first batch containing physiological concentrations of electrolytes (Biological group); and a second one, consisting of inert solutions based on mannitol (Technological group). An *in vitro* study was carried out in order to analyze if this sometimes overlooked parameter influences the final structural properties of the capsule.

2. Materials and Methods

APA microcapsules were synthesized using an electrostatic droplet generator with slight modifications of the procedure of Lim and Sun [3]. A Calcium Detection Kit was utilized after treating capsules with alginate lyase to cause their rupture and release all the calcium forming the matrix. For structural studies, Biological and Technological capsules were compared with a third group of microcapsules containing a Biological core and Technological coatings (Hybrid microcapsules). Capsule diameter was determined through micrographs. The osmotic resistance of the capsules was evaluated by a swelling assay. Finally, to determine the microcapsule membrane molecular weight cut-off (MWCO), FITC-dextran diffusion was studied by means of confocal microscopy and semi-quantitative data was obtained using Image J software. Statistical computations were performed using SPSS 23 (SPSS, Chicago, IL).

3. Results and Discussion

The Biological group presented higher calcium levels within the matrix (Fig. 1). This suggests that during the synthesis of the capsules, if they are put in contact with the Biological solutions (containing electrolytes), the calcium release is lower than when put in contact with the Technological solutions (with no electrolytes).

A higher leakage of calcium in the Technological group led to swelling and consequently, to larger diameters. So did Hybrid microcapsules when compared to the Biological group, emphasizing that composition of both matrix and coatings has a direct effect in capsule diameter (Fig. 2). For the osmotic resistance, Biological capsules swelled in a higher extent (Fig. 3). This fact may be related to the higher calcium leakage in Technological and Hybrid groups, leaving more uronic residues free to interact with the PLL and giving rise to a more resistant system. Regarding permeability, no significant differences were observed (Fig. 3).

4. Conclusion

This work demonstrates the influence of the encapsulating solutions in the final structural properties. It is possible to modify capsule size and osmotic resistance by only modifying the composition of the solutions used, without altering the MWCO, vital factor for the correct function of the system. Our results highlight the importance of a proper design of the solutions to obtain microcapsules with the required properties.

5. Acknowledgements

A. Gonzalez-Pujana thanks the Basque Government (Department of Education, Universities and Research) for the PhD grant.

References

[1] Edorta SANTOS *et al.*, *"Therapeutic cell encapsulation: ten steps towards clinical translation"*, J. Control Release 170, 1-14, 2013.

[2] Riccardo CALAFIORE *et al.*, *"Clinical application of microencapsulated islets: actual prospectives on progress and challenges"*, Adv. Drug Deliv. Rev. 67-68, 84-92, 2014.

[3] Franklin LIM *et al.*, *"Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas"*, Science, 210, 908-910, 1980.

Topical Delivery of Amphotericin B for the Treatment of Cutaneous Leishmaniasis

Liliana BAUTISTA CHÁVEZ[1], Dolores R. SERRANO[1], Larry STATTS[2], María A. DEA-AYUELA[1], Aikaterini LALATSA[2]

1. Departament of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, Complutense University, Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid
2. Department of Pharmacy and Biomedical Sciences, Faculty of Sciences, University of Portsmouth, St. Michael's Building, White Swan Road, Portsmouth, United Kingdom

Email de contacto: lilicari11@gmail.com

1. Introduction

Cutaneous Leishmaniasis (CL) is a parasitic disease that mainly affects poor communities in low- and middle-income countries, with ~10 million people affected. [1] CL is characterised by a variety of clinical symptoms ranging from defined nodular forms to chronic ulcerative lesions. Non-complicated lesions tend to heal spontaneously, a process that can take 3 to 18 months depending on the *Leishmania* species and host susceptibility factors, and nearly always leave a disfiguring scar. [2] Available treatments include intralesional antimonials and paromomycin cream. However, the heterogeneity of the disease, shortcomings in clinical trials design, inability of drugs to be bioavailable after topical administration results in limited efficacy necessitating parenteral treatment with antimonials or amphotericin B (Fungizone® or liposomal formulations such as AmBisome®) for severe cutaneous disease or mucocutaneous leishmania (MCL) which is linked with sever adverse-effects (haemolysis, nephrotoxicity.

Nanomedicines, are deformable stress-responsive, self-regulating bilayer vesicles known to be able to enhance the permeation of drugs across the stratum corneum following the osmotic water gradient. Here we present nanomedicines with high loading of amphotericin B that are incorporated into a nano-enabled hydrogel for topical application for the treatment of CL and AmB permeation across mouse skin was studied using Franz cells.

2. Methods

Lipids (Soy Bean dehydrogenated), AmB and sodium deoxycholate were dissolved in methanol. The solution was then rota-evaporated and the thin film rehydrated with a mixture of PBS (pH 7.4) and ethanol (<8.3%) was added to reconstitute the formed film. Finally, the suspension was sonicated to elicit optimal particle size. Gels were prepared by addition of Carbopol EDT or Metolose directly onto the liquid nanomedicines.

Nanomedicines were characterised for particle size (Microtrac Zetatract instrument) and drug loading by high pressure liquid chromatography (as below). Morphology of nanomedicines were imaged using TEM microscopy (JEOL JEM1400 electron microscope) after staining with 2% Uranyl acetate. Viscosity of the gels was measured using a Brookfield Rheometer.

Franz cells with an internal diameter of 1.3 cm were used to measure permeation of AmB through mouse skin, Strat-M membrane (Millipore) and acetate cellulose membranes (Medicell). The receptor fluid consisted of 2% sodium deoxycholate in PBS (pH 6.0) to ensure AmB solubilisation in the stirred receptor compartment (50 rpm) that was bath sonicated to remove air bubbles. Receptor fluid samples were taken at regular time intervals and analysed by HPLC-UV.

3. Results

Nanomedicines were able to be loaded with a high content of AmB (2 ± X mg mL^{-1}) which is >20 fold the aqueous solubility of AmB.

Nanomedicines illustrated a bi-layer spherical morphology (Figure 1) with a particle size similar to that measured with light scattering. A mean particle size of 71 ± X nm (D10: 48 ± x nm, D90: 104 ± x nm, Polydispersity: 0.8) for blank nanomedicines and 46 ± X nm (D10: 34 ± x nm, D90: 67 ± x nm, Polydispersity: 0.71) for AmB loaded nanomedicines was obtained.

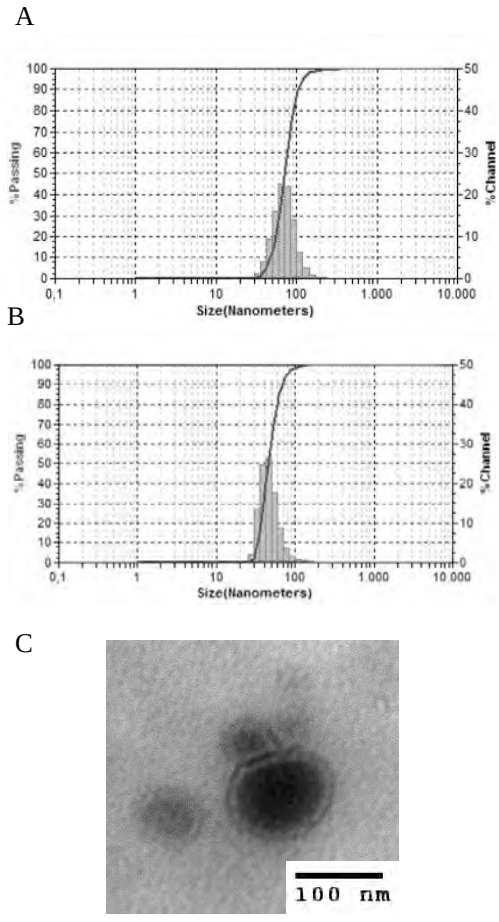


Fig. 1: Particle size histogram for blank (A) and AmB nanomedicines (2 mg mL^{-1}) (B). Transmission electron microscopy image of AmB loaded nanomedicines (Bar: 100 nm) (C).

AmB nanomedicine gels displayed a pseudoplastic behavior (Figure 2). Decreasing viscocity with increasing shear rate is critical for topical application.

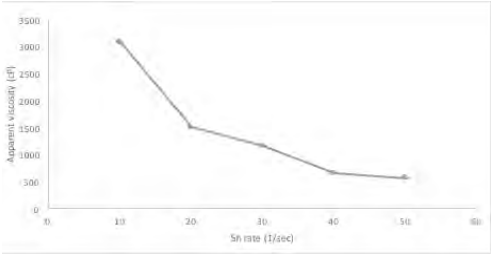


Fig. 2: Apparent viscosity versus shear rate of AmB nanomedicines gel.

AmB nanomedicines exhibited high permeability through Start-M and cellulose membranes compared to mouse skin. A lag time of approximately 1 h was observed for all the systems.

4. Conclusions

AmB nanomedicines can be a scalable safe and bioavailable topical formulation to treat cutaneous leishmaniasis enabling the localization of AmB in the epidermis.

References

[1] CEVC, G. (1995) J Controlled Release 36:3-16.

[2] CEVC, G. (1998) Biochimica et Biophysica Acta 1368:201-215.

[3] BOCXLAER K.V., YARLEY V., MURDAN S. and Croft SL. *"Drug permeation and barrier damage in Leishmania-infected mouse skin"*. J Antimicrob Chemother 2016; 71: 1578-1585.

Platelet dynamics in patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin

Carlos PÉREZ-RUIXO[1,4], Belén VALENZUELA[2], José Esteban PERIS[1], Pedro BRETCHA-BOIX[2], Vanesa ESCUDERO-ORTIZ[3], José FARRÉ-ALEGRE[2], Juan José PÉREZ-RUIXO[4]

1. Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology. University of Valencia, Spain
2. Platform of Oncology. Hospital Quirón Torrevieja. Torrevieja, Alicante, Spain
3. Pharmacy and Clinical Nutrition Group. University CEU Cardenal Herrera, Elche, Alicante, Spain
4. Clinical Pharmacology and Pharmacometrics. Janssen Research & Development, Beerse, Belgium

Email de contacto: jose.e.peris@uv.es

1. Introduction

Peritoneal carcinomatosis (PC) is an abdominal dissemination of malignant gastrointestinal and gynaecological tumors, with or without evidence of metastatic systemic disease, which results in poor prognosis. The combination of cytoreductive surgery (CRS) and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin (HIO) is a promising strategy for PC treatment since several studies have evidenced its survival benefit, relative to standard palliative surgery and/or chemotherapy, in patients with resectable PC of colorectal origin. This work was carried out to characterize the platelet counts dynamics in peritoneal carcinomatosis patients treated with cytoreductive surgery (CRS) and quantify the effect of CRS and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin (HIO) on platelet dynamics.

2. Patients and Methods

Platelet counts from 41 patients treated with CRS and HIO diluted in isotonic 4% icodextrin (Cohort A), 21 patients undergoing CRS followed by HIO diluted in isotonic 5% dextrose (Cohort B) and 18 patients treated with CRS without HIO (Cohort C) were used to estimate the system related and drug specific parameters of a modified Harker's cytokinetic model [1].

A previously developed PK model was used as an input function into the PD model [2] following a sequential approach.

Non-parametric bootstrap stratified by cohort [3], normalized prediction distribution errors (NPDE) [4], prediction corrected visual predictive check (pcVPC) and numerical predictive check (NPC) were used as validations tools.

3. Results and Discussion

The NPC qualified the model to properly describe the incidence of thrombocytopenia and thrombocytosis grade ≥3, as well as the mean platelets counts in subjects with these toxicities in the three cohorts studied.

Figure 1 shows the model ability to describe the individual time course of platelets for non-splenectomized and splenectomized patients randomly selected from the three cohorts of patients analyzed in this study.

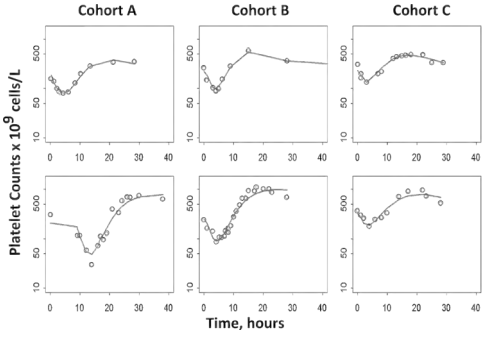


Fig. 1: Representative individual time course of platelet counts and the corresponding model predictions for non-splenectomized (upper panels) and splenectomized patients (lower panels) stratified by cohort.

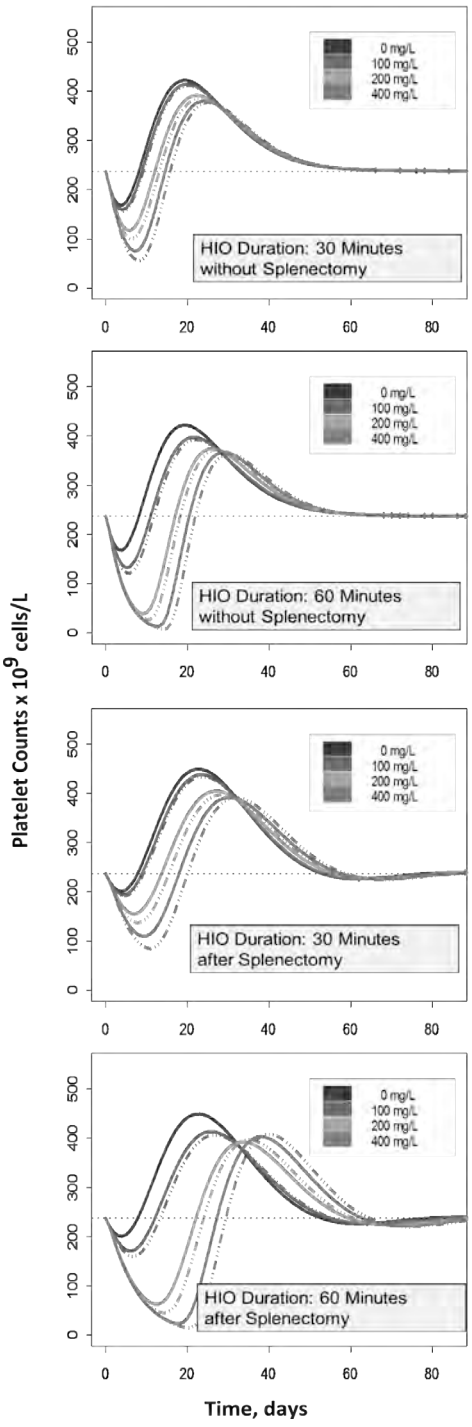


Fig. 2: Effect of the initial oxaliplatin concentrations in the peritoneum, treatment duration and carrier solution on platelet dynamics.

The PK/PD model properly characterizes the transient thrombocytopenia observed immediately after the CRS and HIO, the rebound phenomena characterized by a transient thrombocytosis achieved around 25 days after the CRS, and the subsequent return to baseline of the platelet counts (Fig. 2).

3. Conclusions

The time course of platelet counts was well characterized by the developed model, which simultaneously accounts for the acute-immediate thrombocytopenia response induced by the HIO effect in bone marrow, as well as the subsequent thrombocytosis due to the CRS.

This model suggests that higher doses or longer treatment durations than those evaluated to date could be used without substantially increasing the risk of major haematological toxicity.

References

[1] L.A. HARKER, L.K. ROSKOS, U.M. MARZEC, *et al*. Effects of megakaryocyte growth and development factor on platelet production, platelet life span, and platelet function in healthy human volunteers. Blood, 95, 2514-2522, 2000.

[2] C. PÉREZ-RUIXO, B. VALENZUELA, J.E. PERIS, *et al*. Neutrophil dynamics in peritoneal carcinomatosis patients treated with cytoreductive surgery and hyperthermic intraperitoneal oxaliplatin. Clin Pharmacokinet. 52, 1111-1125, 2013.

[3] B. EFRON, R. TIBSHIRANI. An introduction to the bootstrap. Chapman and Hall /CRC Press, London (1993).

[4] TH NGUYEN, E. COMETS, F. MENTRÉ. Extension of NPDE for evaluation of nonlinear mixed effect models in presence of data below the quantification limit with applications to HIV dynamic model. J Pharmacokinet Pharmacodyn. 39, 499-518, 2012.

Nueva fórmula magistral de la solución oral de propranolol

Mª Jesús LUCERO MUÑOZ, Carla Andrea SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, Mª Rosa JIMÉNEZ-CASTELLANOS BALLESTEROS

Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Profesor García González nº 2, 41012 Sevilla

Email de contacto: csanchez17@us.es, mrosa@us.es, mjlucero@us.es

1. Introducción

El propranolol (P) es un fármaco β-bloqueante indicado en el tratamiento del hemangioma infantil. Produce una contracción de los vasos sanguíneos que están formados y evitan la aparición de otros nuevos [1].

Se han revisado las diferentes formulaciones magistrales pediátricas de P elaboradas en los distintos Servicios de Farmacia de los Hospitales nacionales y de algunas Farmacias Comunitarias [2]. La complejidad en la preparación de algunas fórmulas y el uso de especialidades farmacéuticas, hace difícil conseguir medicamentos con la misma biodisponibilidad.

Por todo ello, el objetivo del presente trabajo es proponer una nueva fórmula magistral de la solución oral de P que sea más sencilla y reproducible por ambos sectores sanitarios.

2. Materiales y Métodos

2.1. Materiales

Clorhidrato de propranolol, ácido cítrico, Nipagín, Nipasol y jarabe simple (Acofarma, Barcelona). Para el control microbiológico se han utilizado los medios de cultivo *Casein soya vean digest agar* y *Sabouraud-dextrose agar* [3].

2.2. Métodos

La nueva fórmula magistral de la solución oral de P (F1) tiene la composición que se indica en la Tabla 1. Al mismo tiempo, se recoge la formulación más frecuentemente elaborada (F2). Ambas soluciones contienen una dosis de 1 mg/ml de fármaco.

Componentes	F1	F2
Propranolol HCl	114 mg	141 mg
Ácido cítrico	100 mg	
Sol. ácido cítrico 25%		110 mg
Agua conservans [5]		20 ml
Nipagín	50 mg	
Nipasol	22 mg	
Agua purificada	20 ml	
Jarabe simple	80 ml	80 ml

Tabla 1: Componentes de las soluciones orales de propranolol (F1 y F2).

Ambas soluciones orales se han elaborado por simple disolución bajo agitación.

El estudio de estabilidad química se ha llevado a cabo durante 90 días, sometiendo las formulaciones a las temperaturas de 5, 25 y 40ºC.

En estas condiciones de almacenamiento, se ha determinado el pH (pHmetro Crison) y el contenido de P (HPLC UltiMate 3000, Thermo Fisher Scientific). Las condiciones cromatográficas han sido las siguientes: columna C18 (250x5,6x5) a 35ºC, fase móvil agua:acetonitrilo (450:550), ácido sulfúrico (1 ml), laurilsulfato sódico (1.6 g) y dihidrogenofosfato tetrabutil (0.31 g). El pH se ha ajustado a 3.3. Se ha medido a 292 nm y el TR ha sido 3.5 min.

El control microbiológico a los 90 días se ha realizado sobre dos medios de cultivo:

* *Casein soya bean digest agar* para el crecimiento de bacterias, tras la incubación a 30-35ºC durante 3 a 5 días.

* *Sabouraud - dextrose agar* para el crecimiento de hongos, tras incubación a 20-25ºC durante 5 a 7 días.

Para este estudio se ha utilizado la técnica de sembrado por extensión en superficie.

3. Resultados y Discusión

La evolución del pH de las soluciones orales de P se muestra en la Fig. 1.

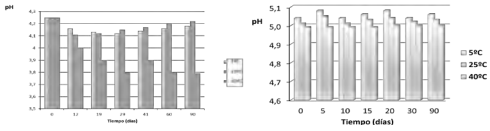


Fig. 1: pH de las soluciones orales de propranolol, F1 y F2, en función de las temperaturas y tiempos indicados.

El pH inicial de F1 ha sido 5.05 y se ha mantenido estable entre 5.0 y 5.1 a todas las temperaturas y durante los 90 días del estudio. En cambio, el pH de F2 ha sido 4.25 y se ha mantenido entre 4.1 y 4.3 a 5 y 25 ºC, disminuyendo hasta 3.8 a 40 ºC a los 90 días.

En la Fig. 2 se recoge las variaciones del contenido de fármaco de las soluciones orales, en función de las temperaturas y tiempos indicados. Se observa que, a los 90 días de estudio, la F1 mantiene la concentración de P por encima del 95% del contenido declarado, a todas las temperaturas y tiempos indicados. En cuanto a la F2 sólo mantiene los niveles por encima del 90% a los 90 días a 5 ºC, no ocurriendo esto a 25 ni a 40 ºC.

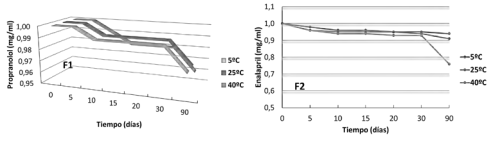


Fig. 2: Contenido de propranolol en las soluciones orales, F1 y F2, a las temperaturas y tiempos indicados.

Tras los resultados obtenidos, se determina que la nueva fórmula magistral (F1) posee más estabilidad química al tener mayor pH, por lo que se decide continuar el estudio microbiológico con la F1.

El control microbiológico se ha realizado para determinar la posibilidad de crecimiento de bacterias (*S. aureus, B. subtilis y P. aeruginosa*) y hongos (*C. albicans y A. brasiliensis*). Se ha llevado a cabo en las muestras almacenadas a 5, 25 o 40 ºC durante 90 días. En ningún caso se ha observado crecimiento de bacterias o de hongos (Fig. 3).

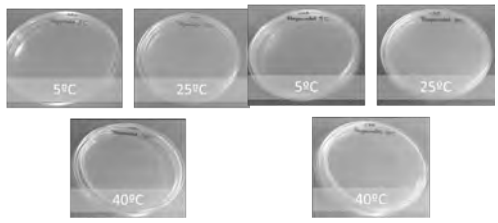


Fig. 3: Control microbiológico de bacterias y hongos de la solución oral de propranolol (F1).

4. Conclusiones

La nueva solución oral de propranolol propuesta posee un pH de 5.05, lo que favorece la estabilidad química del fármaco, mientras la fórmula convencional, con un pH de 4.25, es menos estable.

El tiempo de caducidad de la nueva fórmula magistral es de 90 días, conservándose a 5, 25 o 40 ºC; a este mismo tiempo, el crecimiento microbiológico ha sido negativo.

4. Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Instituto Tecnológico del Medicamento Individualizado (ITMI) promovido por la Asociación de Formulistas de Andalucía (AFA).

Referencias

[1] E. BASELGA, J. BERNABÉU, D.L. VAN ESSO, M.I. FEBRER, A. CARRASCO, R. DE LUCAS, J. DEL POZO, Á. HERNÁNDEZ, L. JIMÉNEZ, J.C. LÓPEZ, A. MARTÍN-SANTIAGOK, P. REDONDO, J. RUÍZ-CANELA, A. TORRELO, A. VERA, M.A. VICENTE, *Consenso español sobre el hemangioma infantil,* Anales de Pediatría, 2015. http://www.analesdepediatria.org/es.

[2] J.M. ALVAREZ, M.J. LUCERO, *Estudio de la estabilidad de formulaciones pediátricas de captopril, enalapril y propranolol,* II Symposium Formulación Pediátrica. Unificación de criterios. Sevilla, 2010.

[3] European Pharmacopoeia, 8th edit. https://www.edqm.eu/en.

[4] M. ATIENZA, J, MARTÍNEZ, C. ÁLVAREZ, *Formulación en Farmacia Pediátrica*, IV edición, AMV ediciones, Madrid, 2011.

Desarrollo de CBD-PLGA micropartículas para el tratamiento de cánceres ginecológicos

A.I. FRAGUAS-SÁNCHEZ[1], A. SATTA[2], M. FIGINI[2], A. FERNÁNDEZ-CARBALLIDO[1,3], D. MEZZANZANICA[2], A.I. TORRES-SUÁREZ[1,3]

1. Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Complutense de Madrid, España
2. Fondazione IRCCS, Istituto Nazionale dei Tumori, Milano, Italia
3. Instituto Universitario de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid, España

Email de contacto: aifraguas@ucm.es

1. Introducción

Una de las áreas donde los cannabinoides presentan un gran potencial terapéutico es la terapia antitumoral, al ser capaces de inhibir la proliferación, migración, invasión y angiogénesis e inducir apoptosis de las células tumorales [1]. Uno de los cannabinoides más prometedores es el cannabidiol (CBD) [2]. No obstante, la elevada liposolubilidad y los problemas de estabilidad que lo caracterizan [3], dificultan el desarrollo de formulaciones eficaces de CBD. La microencapsulación constituye un recurso tecnológico que nos permitiría proteger al CBD de los agentes externos y, a la vez, elaborar un sistema de liberación controlada que consiga concentraciones terapéuticas del activo durante un periodo de tiempo prolongado con una única administración.

El objetivo de este trabajo es evaluar *in vitro* la actividad antiproliferativa del CBD en cáncer de mama y ovario y desarrollar micropartículas poliméricas (MPs) de administración parenteral cargadas con CBD.

2. Materiales y métodos

Las líneas celulares empleadas en los ensayos de viabilidad fueron MCF-7 y MDA-MB-231 como modelo de cáncer de mama y SKOV-3 y OAW-42 como modelo de cáncer de ovario. La viabilidad celular se determinó mediante Cell Titer-glo®, tras 24 y 48 horas de incubación con los diferentes tratamientos de CBD (2-50µM).

Las micropartículas cargadas con CBD se elaboraron empleando PLGA RG® 502 como polímero mediante la técnica de emulsificación-evaporación del solvente y se caracterizaron determinando la morfología mediante SEM, tamaño y distribución de tamaños por difracción de rayos láser y estado físico del CBD por DSC. Se determinó también el rendimiento del proceso y la carga en activo de las micropartículas junto con la eficacia de encapsulación. Para determinar la cinética de liberación del CBD a partir de las microesferas se utilizó como medio una solución de PBS-Tween 80 al 0.5% (con el fin de mantener las condiciones sink durante todo el ensayo), a 37ºC y agitación constante de 100 rpm. Previamente, debido a los problemas de estabilidad del CBD, se realizó un estudio de estabilidad del activo en condiciones fisiológicas (condiciones del estudio de cesión). La cuantificación del CBD en todos los ensayos se llevo a cabo por HPLC.

3. Resultados y discusión

3.1. Estudios de viabilidad celular

Los ensayos de viabilidad celular mostraron un efecto inhibitorio del CBD sobre la proliferación de las células de cáncer de mama y ovario empleadas. Los valores de CI_{50} tras 48 h de incubación se muestran en la Tabla 1, siendo las células de cáncer de mama MDA-MB-231 las más sensibles.

MDA-MB-231	13.90 µM
MCF-7	18.59 µM
SKOV-3	21.13 µM
OAW-42	31.80 µM

Tabla 1: Valores de CI_{50} tras 48 horas de incubación con CBD.

3.2. Desarrollo y caracterización de micropartículas de CBD

Las micropartículas obtenidas presentaron una superficie lisa, sin poros y un tamaño medio adecuado a nuestros objetivos. La carga, eficacia de encapsulación y rendimiento del proceso fueron superiores al 90% (Tabla 2).

Tamaño (µm)	28.5±0.10
Carga (µg CBD/10mg MPS)	865.06±17.54
Eficacia de encapsulación (%)	93.78 ±3.20
Rendimiento del proceso (%)	90.04±1.97

Tabla 2: Tamaño, carga, eficacia de encapsulación y rendimiento del proceso de las MPs cargadas con CBD.

El termograma obtenido por DSC correspondiente a las Mps cargadas mostró la desaparición del pico endotérmico característico del CBD, indicando que este se encuentra disuelto en la matriz polimérica. También se observó un descenso en la temperatura de transición vítrea (Tg) del PLGA, probablemente debido al efecto que ejerce el CBD sobre la plasticidad del polímero (Fig. 1).

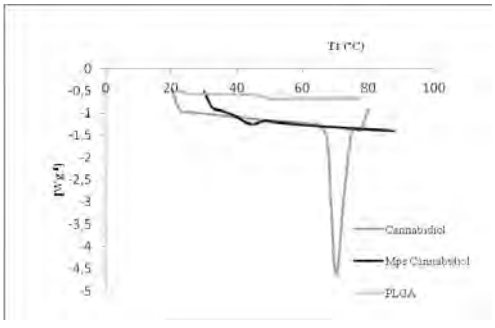


Fig. 1: Ttermograma obtenido por DSC del CBD, PLGA y las MpS cargadas con CBD.

Los estudios de estabilidad en condiciones fisiológicas demostraron una degradación importante del activo tras 72 horas, con más del 10% del CBD degradado. La ecuación de la cinética de degradación se muestra en la Figura 2, empleándose para corregir los datos obtenidos en el ensayo de cesión. Finalmente, el estudio de liberación mostró un ligero efecto burst (en torno al 3%) durante las primeras 2 horas. Se aprecia un perfil de liberación bifásico, con una fase de liberación rápida durante las primeras 48 horas, seguida de una fase de liberación lenta que se prolonga hasta los 31 días de ensayo (Fig. 2). Esta segunda fase, se ajusta a una cinética de orden cero, con una velocidad constante de 191.3 µg CBD/día/100 mg Mps.

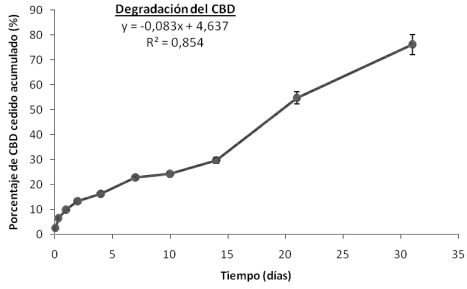


Fig. 2: Perfil de liberación in vitro del CBD.

5. Conclusiones

Debido a la actividad antiproliferativa que presenta el CBD en las diferentes células estudiadas, este cannabinoide resulta una herramienta terapéutica útil para el tratamiento de cáncer de mama y ovario. Las micropartículas desarrolladas presentan un tamaño adecuado para ser administradas por vía parenteral, así como una elevada carga y eficacia de encapsulación; permitiendo una liberación constante del activo con una única administración durante un mes. Dosis de 1.15, y 1.53 mg de Mps son necesarias para inhibir el crecimiento del 50% de las células MDA-MB-231 y MCF-7 respectivamente, y dosis de 1.72 y 2.61 mg para las células SKOV-3 y OAW-42 respectivamente.

6. Agradecimientos

Esta trabajo ha sido realizado gracias a una Beca FPU concedida a A.I. Fraguas-Sánchez por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte de España (Ref: FPU14/06441).

Referencias

[1] B. CHAKRAVARTI *et al.*, "Cannabinoids as therapeutic agents in cancer: current status and future implications". Oncotarget, 5,5852:72, 2014.

[2] A.I. FRAGUAS-SÁNCHEZ *et al*., Phyto-, endo- and synthetic cannabinoids: promising chemotherapeutic agents in the treatment of breast and prostate carcinomas. Expert Opin Investig Drugs, 28:1-13, 2016.

[3] R. MECHOULAM *et al.*, "Cannabidiol: an overview of some chemical and pharmacological aspects". Part I: chemical aspects. Chem Phys Lipids, 121, 35-43, 2002.

Índice de Autores

XIII Congreso de la
Sociedad Española de Farmacia
Industrial y Galénica

Universidad de Alcalá
Alcalá de Henares
23 – 25 de enero de 2017

A

ABERTURAS, Mª del Rosario 117, 119
ABIZANDA, Gloria 83
ABRAHAM, Gustavo A. 51
ABREU VILLELA, Renata 137
ACARREGUI, Argia 45
ADÁN, Alfredo 197
ADÁN, Javier 197
AGÜEROS, Maite 231
AGUILAR-DE-LEYVA, Ángela 137, 143
AGUIRRE, Carmelo 195
ALCOBÉ OLLÉ, Xavier 131
ALFORJA, Socorro 197
AL-QADI, Sonia 127
ÁLVAREZ ÁLVAREZ, Covadonga 139, 141
ÁLVAREZ GONZÁLEZ, José Víctor 167
ÁLVAREZ-LORENZO, Carmen 51, 57, 123, 157, 177, 191
ÁLVAREZ NONAY, Adriana 199
ÁLVAREZ-RIVERA, Fernando 57
ANGUIANO IGEA, Soledad 163
APAOLAZA, Paola S. 183
APARICIO BLANCO, Juan 61
ARCO, Maialen 67
ARÉVALO PÉREZ, Roberto 181
ARIAS, José Luis 67, 79, 81
ARRANZ ROMERA, Alicia 125
ARROYO GARCÍA, Carmen Martina 211
ARROYO, M.M. 71

B

BAHADUR, Anita 157
BAHADUR, Pratap 157
BALAGUER FERNÁNDEZ, Cristina 159
BALLARÍN, Florencia M. 51
BALLESTEROS, Mª Paloma 47, 217
BARCIA, E. 171, 173
BASTIAT, Guillaume 61
BATTAGLIA, Luigi S. 193
BAUTISTA CHÁVEZ, Liliana 47, 239
BENITO, Elena 143
BENITO MIGUEL, Marta 105
BENOIT, Jean Pierre 61
BERMEJO SANZ, María del Val 37, 43, 87, 111, 115
BERRAONDO, Pedro 63
BLANCO CRESPO, María 199
BLANCO GAITÁN, María Dolores 97, 105
BLANCO, José 167
BLANCO-PRIETO, María 83
BOEVA, L. 171
BOIERO, Carolina 231
BOLÁS, Francisco 217
BONET, Francesc 89
BRAVO OSUNA, Irene 125, 203
BRETCHA-BOIX, Pedro 241
BRUNO FARIÑA, José 221

C

CABANA, Sonia 157
CALATAYUD PASCUAL, M. Araceli 159
CALVO, Begoña 161, 195
CALVO SALVE, Pilar 213
CAMPÍÑEZ, María Dolores 143
CANADELL, Ricard 89
CANUT, Andrés 109
CARABALLO RODRÍGUEZ, Isidoro 137, 143, 205
CARRERAS, Juan José 165
CARVAJAL, Luis 179
CASAS DELGADO, Marta 205
CASTRO-VÁZQUEZ, L. 71
CAZORLA LUNA, Raúl 223, 225, 227, 229
CHEW, Chii Chii 107
CIRIZA, Jesús 45, 67
CLIMENTE-MARTÍ, Mónica 103
COLINO GANDARILLAS, Clara Isabel 169
COLL, C. 113
CONCHEIRO, Ángel 51, 57, 123, 157, 177, 191
CONDE, Fernando 179
CONTRERAS-SANDOVAL, Ana M. 63
CORMA, Avelino 87
CORTINA, Anna 123
COSTOYA, Alejandro 51
CÓZAR BERNAL, María José 207, 209, 211
CSABA, Noemi 127
CUTRÍN GÓMEZ, Elena 163

D

D'ARCY, Deirdre M. 49
DEA-AYUELA, María Auxiliadora 49, 111, 217, 239
DE JESÚS VALLE, Mª José 93, 187
DE LA CABA, Koro 73
DE LA TORRE IGLESIAS, Paloma M. 139, 141
DELGADO, Ángel V. 79, 81, 135
DELGADO, Araceli 219

DELGADO, Ezequiel 55
DEL POZO RODRÍGUEZ, Ana 183, 193, 195
DEL RÍO ÁLVAREZ, Luis Alberto 233, 235
DE PABLO TOMERO, Esther 217
DE PRADA ERRAZQUIN, Imanol 187
DÍAZ-GÓMEZ, Luis 123, 177
DOMINGO ECHABURU, Saioa 195
DONATO, Nicoletta 179
DORTA-VERA, Diego 69
DUQUE AGUILAR, Juan José 189

E

EL-HAMMADI, Mazen M. 79
ESCALERA IZQUIERDO, Begoña 153, 155, 199
ESCOLANO, Carmen 99
ESCRIBANO FERRER, Elvira 185
ESCUDERO ORTIZ, Vanesa 241
ESTEBAN PÉREZ, Sergio 125
ETXABIDE, Alaitz 73
EVORA, Carmen 219

F

FARIÑA, José B. 69
FARRÉ-ALEGRE, José 241
FERNÁNDEZ-CARBALLIDO, A. 171, 173, 175, 245
FERNÁNDEZ, Cecilia 107
FERNÁNDEZ GARCÍA, Raquel 47
FERNÁNDEZ JOVER, Eduardo 75
FERNÁNDEZ LASTRA, Cecilia 53
FERNÁNDEZ PAZ, Cristina 129
FERNÁNDEZ PAZ, Estefanía 127
FERRANDIS BELLVÍS, Salvador 159
FIGINI, M. 245
FIGUEIREDO ESCRIBA, Carlos de 53
FOGLIETTA, Federica 193
FRAGUAS-SÁNCHEZ, A.I. 245

G

GAINZA, Garazi 219
GALBIS, Juan Antonio 143
GALDÓN CABRERA, Eduardo 205
GALIANA, Carolina 49
GÁLVEZ-MARTÍN, P. 133
GARAY, Ángel 161
GARBAYO, Elisa 83
GARCÍA CELMA, María José 185
GARCÍA DE YÉBENES, Manuel 83
GARCÍA ESTEBAN, Elena 209
GARCÍA GONZÁLEZ, Carlos A. 177, 191
GARCÍA HERRERO, Víctor 149, 151
GARCÍA, Laura C. 117, 119
GARCÍA MARTÍN, María de Gracia 143
GARCÍA MONTOYA, Encarna 89, 99, 121
GARCÍA, Montserrat 195
GARCÍA-ORUE, Itxaso 219
GARCÍA, Patricia 219
GARCÍA RODRÍGUEZ, Juan J. 141
GARRIDO, María J. 63
GARRIGUES, Teresa Mª 165
GASTELURRUTIA, Miguel Ángel 161
GAVIRA, Juan José 83
GOIMIL GARCÍA, Leticia 191
GÓMEZ, Jose Luis 163
GONZÁLEZ ÁLVAREZ, Isabel 43, 87, 111, 115
GONZÁLEZ ÁLVAREZ, Marta 43, 87, 111, 113, 115
GONZÁLEZ FUENTES, J. 71
GONZÁLEZ GARCÍA, Iris 69
GONZÁLEZ LÓPEZ, Macarena 187
GONZÁLEZ MUNGUÍA, Silvia 77
GONZÁLEZ PUJANA, Ainhoa 237
GONZÁLEZ RODRÍGUEZ, María Luisa 207, 209, 211
GOYENECHEA, Estíbaliz 161
GREGORÍ VALDES, Barbara S. 163
GUERRERO, Pedro 73
GUGLIERI LÓPEZ, Beatriz 103
GURRUCHAGA, Haritz 45
GUTIÉRREZ MILLÁN, Carmen 93
GUZMÁN NAVARRO, Manuel 203, 213

H

HEALY, Anne Marie 49
HENAO, Elizabeth 55
HENRIQUES ALMEIDA RODRIGUES, Ana Rita 187
HERNÁNDEZ GARCÍA, César 36
HERNÁNDEZ MARTÍN, Julia 101
HERNÁNDEZ, Rosa María 45, 73, 219, 237
HERRERO VANRELL, Rocío 125, 203
HORCAJADA, Patricia 129
HORTA HERNÁNDEZ, Ana Mª 199

I

IBAR-BARIAIN, Maitane 109
IGARTUA, Manoli 73, 219
IRACHE, Juan M. 231
ISLA, Arantxa 109, 195

J

JANSEN, John A. 177
JESÚS VALLE, Mª José de 189
JIMÉNEZ-CASTELLANOS B., Mª Rosa 59, 201, 243

K

KOO, Teng Wai 107

L

LALATSA, Aikaterini 47, 239
LAMUELA RAVENTÓS, Rosa María 185
LANA, Hugo 83
LANAO, José M. 147, 181
LANDÍN PÉREZ, Mariana 41, 145
LARRAÑAGA, Belén 161
LERTXUNDI, Unax 195
LLABOT, Juan M. 231
LLABRÉS MARTÍNEZ, Matías 65
LLABRÉS, Matías 77
LLOVO, José 51
LOLLO, Giovanna 61
LÓPEZ CASTELLANO, Alicia 159
LÓPEZ SÁNCHEZ, Alicia 215
LÓPEZ VIOTA, J. 133, 135
LÓPEZ VIOTA, Margarita 67, 133, 135
LORENZO MORALES, Jacob 221
LOZANO, M.V. 71
LOZOYA-AGULLÓ, Isabel 43
LUCERO MUÑOZ, Mª Jesús 59, 201, 243
LUIS DE REDÍN, Inés 231
LUZARDO, Asterio 167

M

MADERUELO MARTÍN, Cristina 147, 181
MALET, Amaia 161
MARCIANES, P. 173
MARCO, Laia 89
MARCOS, P. 71
MARGARIDA RIBEIRO, Helena 163
MARIÑO HERNÁNDEZ, Eduardo Luis 53, 107, 197
MARQUÍNEZ, Ana Carmen 195
MARTÍN ALCALDE, Eva 199
MARTÍNEZ LANAO, Jose 169
MARTÍNEZ-MAÑEZ, R. 113
MARTÍNEZ-MARTÍNEZ, María Teresa 87
MARTÍNEZ-MORENO, Javier 91
MARTÍNEZ RELIMPIO, Ana María 97, 105
MARTÍN HERNÁEZ, Susana 105
MARTÍN ILLANA, Araceli 223, 225, 227, 229
MATJI, Antonio 179
MEDINA PÉREZ, M. M. 133
MEGÍAS, Raúl 67
MELERO, Ana 165
MELGUIZO, Consolación 79
MERINO, María 63
MERINO SANJUÁN, Matilde 43, 91, 101, 103
MERINO SANJUÁN, Virginia 87, 91, 101, 113
MEZZANZANICA, D. 245
MILLÁN RODERO, Elena 213
MIÑARRO CARMONA, Montserrat 89, 95
MODAMIO CHARLES, Pilar 53, 107, 197
MOES, Dirk Jan 103
MOLINA MARTÍNEZ, Irene 125, 203
MOLPECERES, Jesús 117, 119
MONTEJO, C. 173
MONTERO PASTOR, Nuria 97
MOURA BORDADO, João 163
MUNGUÍA, Obdulia 77
MUNTONI, Elisabetta 193
MUÑOZ DE ESCALONA, María 81

N

NÁCHER, Amparo 91
NAITLHO, Nabila 207
NARDI RICART, Anna 89, 95, 121, 131
NAVARRO RUIZ, Eva 139, 141
NAVAS ENAMORADO, Cayetano 211
NEGRO, S. 171, 173
NOFRERIAS ROIG, Isaac 89, 95, 121, 131
NOTARIO PÉREZ, Fernando 223, 225, 227, 229

O

OLIVA MARTÍN, Alexis 65
OLMO LÓPEZ, Rosa 97

OÑATIBIA-ASTIBIA, Ainhoa 161
ORIVE, Gorka 45, 237
OSORIO PADILLA, Luis Manuel 169
OTERO ESPINAR, Francisco J. 163, 167

P

PALLÀS, Mercè 99
PARERA, B. 135
PEDRAZ MUÑOZ, José Luis 45, 73, 75, 219, 237
PELACHO, Beatriz 83
PEÑA-FERNÁNDEZ, Antonio 155
PEÑA FERNÁNDEZ, María Ángeles 139, 153, 155, 179
PÉREZ IZQUIERDO, Elena 97
PÉREZ LOZANO, Pilar 121
PÉREZ, Pilar 89
PÉREZ-PITARCH, Alejandro 103
PÉREZ-RUIXO, Carlos 241
PÉREZ-RUIXO, Juan José 241
PERIS, José Esteban 241
PERIS MARTÍ, Juan 101
PERSOONS, Tim 49
PICO COUCE, Mari Luz 167
PIÑERO, José E. 221
PIÑERO-LÓPEZ, M. Ángeles 197
PLAZA-OLIVER, M. 71
PORTA-OLTRA, Begoña 103
PRADOS, José C. 79, 81
PRIETO DAPENA, Francisco 207
PRÓSPER, Felipe 83
PUGA, Ana M. 235
PUJOL DILME, Maria Dolors 131
PUJOL, Eugènia 99
PURAS OCHOA, Gustavo 67, 75

Q

QUINTANA, Germán 55

R

RABASCO ÁLVAREZ, Antonio María 207, 209, 211
REÍLLO, Aurora 155
REMUÑÁN-LÓPEZ, Carmen 127, 129, 145
REYES-BATLLE, María 221
RIVAS CORNEJO, Antonio 147
RODRIGO, José Luis 91
RODRIGO, Yesica 117, 119
RODRÍGUEZ BERNA, Guillermo 87
RODRÍGUEZ-GASCÓN, Alicia 109, 183, 193
RODRÍGUEZ, V. 71
RODRÍGUEZ VILLANUEVA, Javier 203
ROIG ROIG, Ferran 185
ROMERO-AZOGIL, Lucía 143
ROUCO TABOADA, Helena 145
RUBIO, Juan 229
RUEDA, Maitane 193
RUEDA RUEDA, Manuela 207
RUIZ CARO, Roberto 223, 225, 227, 229
RUIZ, Mª Adolfina 79, 81, 135
RUIZ-PICAZO, Alejandro 115

S

SAENZ DEL BURGO, Laura 45, 67
SÁEZ-FERNÁNDEZ, Eva 81
SALA, Adrián 165
SALAZAR SÁNCHEZ, Nuria 235
SANCENÓN, F. 113
SÁNCHEZ, Esther 77
SÁNCHEZ-GUTIÉRREZ, Carla Andrea 201, 243
SÁNCHEZ NAVARRO, Amparo 187, 189
SANTANDER-ORTEGA, M. J. 71
SANTOS, Edorta 73, 237
SANTOVEÑA, Ana 69, 221
SANZ, Fátima 155
SATTA, A. 245
SEBASTIÁN CABEZA, Víctor 61
SEBASTIÁN MORELLÓ, María 159
SEGARRA, Ignacio 107
SERRANO, Dolores R. 47, 49, 217, 239
SIFAOUI, Inés 221
SIMANCAS HERBADA, Rebeca 175
SIMÓN-YARZA, Teresa 129
SLOWING, K. 171
SOLINÍS, Mª Ángeles 183, 193, 195
SOTO SÁNCHEZ, Cristina 75
STATTS, Larry 47, 239
SUÁREZ-GONZÁLEZ, Javier 69, 221
SUÑÉ, Marc 89
SUÑÉ-NEGRE, Josep Maria 89, 95, 121, 131
SUÑÉ-POU, Marc 95, 121, 131

T

TAMAYO, Aitana 223

TAPIA, Willian E. 165
TASCÓN OTERO, Estefanía 139, 141
TEIGELL-PÉREZ, Nuria 69
TEIJÓN LÓPEZ, César 97
TERUEL, Adrián H. 113
TICÓ GRAU, Josep Ramón 89, 95
TORRADO DURÁN, Santiago 149, 151, 215
TORRADO DURÁN, Susana 215
TORRADO, Juan José 179, 217
TORRADO SALMERÓN, Carlos 149, 151
TORRECILLA, Josune 183
TORRES PABÓN, Norma Sofía 153
TORRES SUÁREZ, Ana Isabel 61, 175, 245
TRIVES LOMBARDERO, Carmen 233
TROCÓNIZ, Iñaki F. 63

U

UCHEGBU, Ijeoma F. 35

V

VAIRO, Claudia 73
VALENZUELA, Belén 241
VALLADARES, Basilio 221
VASQUEZ, Marcos 63
VÁZQUEZ GONZÁLEZ, Marcos 207
VÁZQUEZ, Santiago 99
VEIGA OCHOA, María Dolores 223, 225, 227, 229
VENDRELL, Carme 123
VICENTE-PASCUAL, Mónica 183
VILLAR, E. 71
VILLASECA, N. 71
VILLATE BEITIA, Ilia 75
VIRUEGA ENCINAS, Sara 189
VIVANCOS, Verónica 111

Y

YANG, Fang 177
YUSTA IZQUIERDO, Antonio 199

Z

ZARZUELO CASTAÑEDA, Aránzazu 93, 147