

Sevilla, 2-4 diciembre 2021

XV CONGRESO
DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE
FARMACIA INDUSTRIA Y GALENICA



Índice

	<i>Pág.</i>
Política editorial	XI
Tipos de artículos	XI-XII
Información para los autores / (Normas de publicación)	XIII-XV
Consejo Editorial, Comité Editorial y Comité Científico	XV
Editorial	XVI

Artículos

Merits in computational pharmaceuticals – selected case studies Kuentz M	1
In vivo predictive dissolution: relevant gastrointestinal factors and methodological approaches Bermejo M	2-3
Nanomedicines for local and intracellular gastrointestinal tumour modulation Sarmiento B	4
Continuous manufacturing Kleinebudde P	5
Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration Ruiz Alonso S, Lafuente Merchan M, Gallego I, Saenz Del Burgo L, Pedraz JL	6-8
Dimensión fractal, una nueva herramienta para la predicción de la capacidad de impresión por FDM Linares V, Galdón E, Casas M, Caraballo I	9-11
Desarrollo de comprimidos gastro-retentivos de Furosemida de liberación prolongada Rodríguez ML, Rosano F, Schiavo A, Fagiolino P, Palma S, Malanga A	12-14
Human serum albumin as a potential nanocarrier for the oral delivery of therapeutic proteins Pangua Irigaray C, Espuelas Millán S, Martínez Ohárriz C, Irache, Garreta JM	15-17
Diseño y desarrollo de un sistema automatizado para el control global de la impresión 3D de medicamentos pediátricos Díaz Torres E, Suárez González J, Cáceres Pérez A, Magariños Triviño M, Echezarreta López MM, Santoveña Estévez A, Fariña JB	18-20

Evaluación de nanoplataformas magnetopoliméricas con potencial aplicación en la teranosis antitumoral García García G, Caro C, Fernández Álvarez F, García Martín ML, Arias JL	21-23
Laca ungueal de polipseudorotaxanos: del laboratorio a la clínica Otero Espinar FJ, Anguiano Igea S, Cutrín Gómez E, Nogueiras Nieto L, Gómez Amoza JL.....	24-26
Estudio comparativo pre-post intervención en la prescripción de tapentadol y la combinación de oxicodona/naloxona en la atención primaria de salud Viñas Bastart M, Oms Arias M, Pedraza Gutierrez À, Lastra CF, Mariño EL, Modamio P	27-29
Polycaprolactone hybrid scaffolds combining 3D printing and electrospinning to guide the osteogenic differentiation of MC3T3 preosteoblasts for bone tissue regeneration Gonzalez Pujana A, Hernando S, Carranza T, De La Caba K, Guerrero P, Igartua M, Santos Vizcaino E, Hernandez RM.....	30-32
Pharmaceutical equivalence and stability study of levofloxacin tablets commercialized in Europe and Africa Caceres Perez AR, El Kory MB, Elhadj Malick K, Suarez Gonzalez J, Betancor I, Soriano M, Echezarreta M, Santoveña Estevez A, Fariña JB.....	33-35
3D-Bioactive aerogel scaffolds for bone tissue engineering Iglesias Mejuto A, García González CA.....	36-37
Caracterización electrocinética de partículas compuestas por núcleo magnético y recubrimiento metálico conjugadas con proteína A. Aplicaciones en diagnóstico Parera B, Rica R, López Viota J, López Viota M.....	38-40
“In vitro” hyperosmolar design in human corneal epithelial cells and inflammation in macrophages: avoiding the use of animals in the screening of ocular surface therapies López Cano JJ, González Cela-Casamayor MA, Andrés Guerrero V, Benítez Del Castillo JM, Herrero Vanrell R, Molina Martínez I	41-43
Computational modeling of praziquantel drug release from montmorillonite clay using enhanced sampling method Borrego Sánchez A, Debnath J, Parrinello M.....	44-45
Functionalised SLNs-based nanovectors for gene therapy in Fabry disease: The liver as an α-Galactosidase A factory Rodríguez Castejón J, Gómez Aguado I, Beraza Millor M, Solinís MA, Del Pozo Rodríguez A, Rodríguez Gascón A.....	46-48
NLC a la carta mediante Inteligencia Artificial Martínez Borrajo R, Díaz Rodríguez P, Landin M	49-51
Shear-collapsible microscale aggregates of PLGA nanoparticles with the ability to target obstructed blood vessels El-Hammadi Mazen M, Otero Candelera R, Martín Navarro L, Álvarez Fuentes J, Martin Banderas L.....	52-53

Estimators and Confidence Intervals of f_2 Using Bootstrap Methodology for the Comparison of Dissolution Profiles	
Xu Z, Merino San Juan M, Mangas San Juan V, García Arieta A	54-56
Indomethacin microencapsulation in polymeric blends of PLGA502 and PEOT-PBT multiblock copolymer	
Lamela Gómez I, Blanco Méndez J, Otero Espinar FJ, Luzardo Álvarez A.....	57-59
Modelo animal de glaucoma crónico inducido con microesferas biodegradables: influencia de la adición de dexametasona	
García Herranz D, Rodrigo MJ, Aragón Navas A, Subias M, Martínez Rincón T, Méndez Martínez S, Cardiel MJ, García Feijóo J, PL, García Martín E, Herrero Vanrell R, Bravo Osuna I.....	60-62
Diseño, desarrollo y caracterización de nanopartículas de PLGA cargadas con adalimumab	
García Otero X, Varela Fernández R, Blanco Méndez J, Subias M, González Barcia M, Aguiar P, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ.....	63-65
Microemulsión tópica de amlodipino besilato: formulación, caracterización y evaluación	
Pazmiño C, Rabasco AM, González Rodríguez ML.....	66-68
Servicio de seguridad y uso de medicamentos sujetos a seguimiento adicional (ssum) en farmacia comunitaria: resultados de conocimiento y uso	
Aizpurua Arruti X, Isla A, Malet Larrea A, Oñatibia Astibia A, Calvo B, Solinís MÁ, Domingo Echaburu S, Gastelurrutia MÁ, Goyenechea E, Del Pozo Rodríguez A.....	69-71
Sporopollenin microcapsules as ocular drug delivery platforms	
Roblas S, Varela Calviño R, Alcalde I, Merayo Lloves J, Csaba N	72-73
Ventajas de la tarjeta electrónica para el seguimiento de pacientes desde la farmacia ante la crisis sanitaria Covid-19	
Jiménez Esquivel AL, Córdoba Díaz M, Córdoba Díaz D.....	74-75
Oral calcium fosfomycin: Pharmacokinetic/pharmacodynamic study	
Alarcia Lacalle A, Isla A, Solinís MÁ, Abajo Z, Cabero Zamorano M, Canut A, Rodríguez Gascón A	76-78
Development of selective cannabinoid nanoparticles to target the atheroma plaque	
Martín Navarro L, Clara Cala CM, Herrera González MD, Álvarez Fuentes J, Martín Banderas L.....	79-80
Assessment of extrusion process of drug-loaded filaments for 3D printing: metformin and Affinisol™	
Mora Castaño G, Millán Jiménez M, Caraballo I.....	81-83
Substrate reduction therapy based on siRNA for Fabry Disease	
Beraza Millor M, Miranda J, Rodríguez Castejón J, Gómez Aguado I, Del Pozo Rodríguez A, Rodríguez Gascón A, Solinís MA.....	84-86
Base preclínica de sistemas lipídicos nanoestructurados (NLC) cargados con bevacizumab: diseño, desarrollo y caracterización fisicoquímica	
Varela Fernández R, García Otero X, Fernández Ferreiro A, Lema MI, González Barcia M, Otero Espinar FJ	87-89

Monitoring system for substandard detection of antituberculosis drugs used in the Mauritanian National Health System Suárez González J, El Kory MB, Elhadj Malick K, Cáceres Pérez AR, Soriano M, Santoveña Estévez A, Echezarreta M, Fariña JB	90-92
Applying 3D constructs for gene therapy Sainz Ramos M, Caci E, Gallego I, Villate Beitia I, Maldonado I, Ruiz Alonso S, García Villén F, Zárata J, Puras G, Pedraz JL	93-95
Estudio in vivo en ratones del efecto de la progesterona para el tratamiento de la retinosis pigmentosa Alambiaga Caravaca AM, Cantón A, Rodilla V, Miranda Sanz M, López Castellano A	96-98
Elaboración y caracterización de geles sintéticos para la administración local de micropartículas en cirugía protésica Alonso Berenguel M, Martín Sabroso C, Aparicio Blanco J, Torres Suárez AI	99-100
Diseño de experimentos en el desarrollo de nanopartículas poliméricas de celecoxib Quispe Chauca P, Alonso González M, Fernández Carballido A, Fraguas Sánchez AI.....	101-103
Administración Intranasal de nanopartículas de PLGA Venlafaxina: Biodistribución al SNC Álvarez Fuentes J, Cayero Otero MD, Fernández Arévalo M, Martín Banderas L.....	104-105
Preparación y caracterización de espumas sólidas poliméricas, obtenidas a partir de emulsiones altamente concentradas, para aplicaciones farmacéuticas Aparicio Pelegrin RM, Ameli Katayun I, Soley Cascales J, Figueroa Becerra E, Caballero Román A, Escribano Ferrer E, Esquena Moret J, Garcia Celma MJ	106-108
Nanoestructuras (maghemita/PLGA)/quitosano (core/shell)/shell sensibles al pH y a campos magnéticos, y con actividad frente al cáncer de pulmón Fernández Álvarez F, García García G, Arias JL	109-111
Diseño de nanoestructuras híbridas con potencial aplicación como agentes de contraste T₂ en RMI y agentes de hipertermia antitumoral Fernández Álvarez F, Caro C, García García G, García Martín ML, Arias JL	112-114
Implantes intravítreos de PLGA cargados de bevacizumab preparados mediante tecnología de fluidos supercríticos Bendicho Lavilla C, Seoane Viaño I, Santos Rosales V, Luzardo Álvarez A, García González CA, Otero Espinar FJ	115-117
Impresión 3D de prótesis temporales: estudio de liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina Bernat Just L, Tamarit Martínez C, Alambiaga Caravaca A, Bueno López C, Rodilla V, López Castellano A	118-120
Los implantes lipídicos como tratamiento contra la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética Blanco Fernández G, Blanco Fernández B, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ.....	121-123

Estabilización de emulsiones agua-en-agua (w/w) por gelificación: influencia en la liberación de fármacos Caballero Román A, Figueroa Becerra E, Aparicio Pelegrin RM, Esquena J, García Celma MJ.....	124-126
Development of nanoparticle complexes as liquid biopsy candidates for circulating tumor cell detection Calderó G, Rodríguez Abreu C, Rosales E, Morral Ruíz G, Melgar Lesmes P, Leitner S, Solans C, García Celma MJ.....	127-129
Pruebas de disolución in vitro biopredictivas del comportamiento in vivo para ibuprofeno Cámara Martínez I, Blechar Johannes A, Ruíz Picazo A, García Arieta A, Calandria C, Langguth P, González Álvarez M, Bermejo M, Al-Gousous J, González Álvarez I.....	130-132
Solubilidad del carvedilol en medios acidificados para uso en formulaciones líquidas para pediatría Chiclana Rodríguez B, Rouaz K, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre JM, García Montoya E, Pérez Lozano P.....	133-135
Scaffolds 3D con perfiles de cesión modulables de carvacrol Concheiro Á, Farto Vaamonde X, Álvarez Lorenzo C.....	136-138
Evaluación de la SELfd en la vectorización de sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales García Recio V, Córdoba Díaz M, Garrosa García M, Rojo Rodríguez MA, Jiménez López P, Girbés JT, Córdoba Díaz D.....	139-140
Geles para administración tópica de meloxicam: velocidad de disolución a pH=5,8 Dahma Z, Bozzia D, De La Torre Iglesias PM, Álvarez Álvarez C.....	141-142
Ciclodextrinas oftálmicas: Estudios de irritación y permanencia en la superficie ocular mediante Tomografía por Emisión de Positrones Díaz Tomé V, García Otero X, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ.....	143-145
Desarrollo y caracterización de un inserto ocular de Famciclovir para el tratamiento del herpes zóster Domenech Monsell IM, Alambiaga Caravaca A, Balaguer Fernández C, Rodilla V, López Castellano A.....	146-147
Biocompatibility of the synthetic biomimetic membrane PermeaPad® with the mucosa of the oral Domenech Monsell IM, Alambiaga Caravaca A, Balaguer Fernández C, Rodilla V, López Castellano A.....	148-150
Study of the intestinal permeability of levofloxacin in coperfusion in rats Escribano Ferrer E, López Yerena A, Serrano Nieto Á, García Sala X.....	151-153
Efecto del bromuro de didodecildimetilamonio sobre liposomas de curcumina doblemente cargados Fernández Romero AM, González Rodríguez ML, Rabasco AM.....	154-156
Cannabinoid-loaded receptor-targeted nanoparticles improve anticancer activity through delayed cell internalization Durán Lobato M, Álvarez Fuentes J, Fernández Arévalo M, Martín Banderas L.....	157-158

Desarrollo de emulsiones agua-en-agua (W/W), con pectina y caseinato, para la liberación de moléculas hidrófilas Figueroa Becerra E, Caballero Román A, Martínez D, Ferrero P, Esquena J, Escribano Ferrer E, García Celma MJ.....	159-161
Aplicación de nanocompuestos core/shell (Fe₃O₄/PCL) en fototerapia antitumoral García García G, Fernández Álvarez F, Iglesias GR, Delgado ÁV, Arias JL.....	162-163
Propuesta de metodología de enseñanza-aprendizaje enfocada al estudio de las formulaciones de medicamentos comercializados en España Ginés JM, Holgado MÁ, González Rodríguez ML, Caraballo I, Rabasco AM.....	164-166
Validación de un método de ultrafiltración centrífuga que permita evaluar la carga y la liberación de fármacos incorporados en nanocápsulas lipídicas Gómez Lázaro L, Pérez López A, Martínez Herrera K, Martín Sabroso C, Aparicio Blanco J, Torres Suárez AI	167-169
Physicochemical considerations of ibuprofen and its sodium salt in different solvents Peña Fernández MA, Mathew B, Torres Pabón NS.....	170-172
Desarrollo galénico de comprimidos de rosuvastatina cálcica González Crespo R, Peña Fernández MÁ, Torrado Durán G.....	173-174
Nuevos hidrogeles para favorecer la cicatrización Laseca A, Sánchez Dengra B, González Álvarez I, Bermejo M, Merino Sanjuán V, González Álvarez M	175-176
Nucleolípido incorporado en liposomas funcionalizados con nanopartículas de oro y sensibles a estímulos de pH y temperatura para liberación controlada de doxorubicina García MC, Calderón Montañó JM, Rueda M, Longhi M, Rabasco AM, López Lázaro M, Prieto Dapena F, González Rodríguez ML.....	177-179
Estudios sobre el tipo de adsorción y morfología de sistema híbrido a base de sistema vesicular lipídico y mineral de arcilla Piñar Corral S, Orta Cuevas MM, Medina Carrasco S, Rabasco AM, González Rodríguez ML	180-182
Estudio de diferentes proporciones de quitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos Guarnizo Herrero V, Torrado Salmerón C, Torrado Durán S	183-184
Influencia del método de encapsulación en las propiedades de eritrocitos portadores de fármacos Gutiérrez Millán C, Báez Díaz C, Colino Gandarillas CI.....	185-186
Hydroxyapatite and graphene oxide on nanocellulose-alginate ink for 3D bioprinting and bone regeneration Lafuente Merchan M, Ruiz Alonso S, Saenz Del Burgo L, Pedraz JL.....	187-188

Comparison of size and protein decoration between extracellular vesicles isolated from adipose tissue and hair follicle mesenchymal stem cells Las Heras K, Royo F, Garcia Vallicrosa C, Igartua M, Santos Vizcaino E, Falcon Perez JM, Hernandez RM.....	189-190
In situ forming implants: selection of the most suitable polymer for the administration of CBD Lozza I, Martín Sabroso C, Torres Suárez AI, Fraguas Sánchez AI	191-192
Desarrollo y control de calidad de dos formulaciones de budesonida viscosa para administración oral en pediatría Magariños Triviño M, Suárez González J, Santoveña Estévez A, Fariña Espinosa JB	193-194
Variabilidad en el perfil de liberación de diclofenaco, formulado como emulgel 1 %, durante su periodo de validez Mañez Asensi A, Merino Sanjuan M, Merino V	195-197
Cannabis-based terpenes loaded in PEG-PLGA nanoparticles for pain management El Hammadi MM, Small Howard AL, Fernández Arévalo M, Martin Banderas L.....	198-199
CBD-loaded NPs increases glucose uptake and attenuates palmitate-induced lipid accumulation in human HepG2 hepatocytes El Hammadi Mazen M, Vázquez Bourgon J, Berrocoso E, Crespo Facorro B, Suárez Pereira I, Martin Banderas L.....	200-201
Caenorhabditis elegans as a model under hyperglycemic conditions to evaluate insulin-loaded nanoparticles Martínez López AL, González Navarro C, Vizmanos JL, Irache JM	202-204
Cyanocobalamin Ultraflexible Lipid Vesicles: Characterization and In-Vitro Evaluation of Drug-Skin Depth Profiles Guillot Antonio J, Merino P, Garrigues TM, Melero A	205-207
Apósitos de alginato-quitosano elaborados “capa a capa” Molina Pérez D, García García P, Évora C, Delgado A, Díaz Rodríguez P	208-210
Adquisición de competencias farmacéuticas asistenciales mediante técnicas de Role Playing Montejo Rubio C, Trives Lombardero C, Aguilar Ros A.....	211-212
Formulation of a 3D printable hydrogel for the development of solid rectal drug delivery system Muñoz Perez E, Igartua M, Santos Vizcaino E, Hernandez RM	213-215
Pharmacy student’s engagement, performance and perceptions in a pilot study of cooperative learning applied to “introduction to the galenic pharmacy” subject Nardi Ricart A, Oliva Herrera M, Aparicio Pelegrín R, Suñer Carbó J, Viscasillas Clerch A, García Montoya E, Pérez Lozano P, Halbaut Bellowa L.....	216-217
Estudio de diferentes proporciones de chitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos Nardi Ricart A, Oliva Herrera M, Aparicio Pelegrín R, Suñer Carbó J, Viscasillas Clerch A, García Montoya E, Pérez Lozano P, Halbaut Bellowa L.....	216-218

Encapsulación de un compuesto hidrofílico en nanopartículas de PLGA mediante doble emulsión- evaporación del disolvente Navío C, Aberturas MR, Molpeceres J	219-220
Exploración de la granulación seca activada por humedad (MADG) para el diseño de comprimidos gastroretentivos Origoni Suárez MX, Ochoa Andrade AT, Garcia Montoya E	221-222
Lipid nanoparticles for the transport of drugs like dopamine through the blood-brain barrier Ortega E, Peralta S, Ruiz A, Morales ME	223-224
Estabilidad de nanorods de oro en presencia de proteínas Parera B, Rica R, Plaza V, López Viota J, López Viota M.....	226-228
Doxycycline microparticles for potential use in neurodegenerative diseases Rahmani M, Barcia Hernández EM, Paccione Basmadji N, Negro Álvarez MES	229-230
Aplicación de la técnica de granulado matricial para la obtención de una formulación líquida pediátrica de omeprazol Rouaz K, Chiclana Rodríguez B, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre J, Pérez Lozano P, García Montoya E	231-233
Stability omeprazole 2 mg/ml suspension for use in paediatrics in different acidic media Rouaz K, Chiclana Rodríguez B, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre J, Pérez Lozano P, García Montoya E	234-235
Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration Ruiz Alonso S, Lafuente Merchan M, Gallego I, Saenz Del Burgo L, Pedraz JL.....	236-238
Desarrollo de una IVIVC basada en disolución dinámica en el aparato USP IV aplicada a diferentes formulaciones de Montelukast Prieto Escolar M, J. Torrado J, Álvarez C, Ruiz Picazo A, Govantes C, Frias J, García Arieta A, Gonzalez Alvarez I, Bermejo M	239-240
Aplicación del modelo experimental full factorial 23 para el desarrollo de un comprimido recubierto conteniendo montelukast y desloratadina Salas Ospino S, Garzón Díaz J, Morales Carmona L, Mena Utria E	241-243
Método alternativo para el estudio in vitro de la distribución de fármacos en cerebro Sánchez Dengra B, González Álvarez I, González Álvarez M, Bermejo M	244-245
Investigación sobre servicios profesionales farmacéuticos asistenciales en el marco de los trabajos fin de grado desarrollados durante las prácticas tuteladas Solinís MA, Del Pozo Rodríguez A, Calvo B, Zarate J, López De Ocariz M, Erazo F, Gastelurrutia MA, Isla A	246-248
Diseño y desarrollo de un sistema de entrega de fármaco autoemulsificable (SEDSS) de ibuprofeno en cápsula dura de gelatina Sotomayor Pino RG, Salas Ospino S, Ramirez Castillo L, Ospina Garcia D	249-250

Sistemas multiparticulares de ezetimiba y atorvastatina en el tratamiento de hiperlipidemia inducida en ratas diabéticas Torrado Salmerón C, Guarnizo Herrero V, Torrado Durán S	251-253
Vehiculación del fármaco antifúngico clotrimazol en liposomas Usach I, Martínez P, Peris JE.....	254-256
Adaptación de la asignatura Tecnología Farmacéutica en tiempos de COVID-19 Usach I, Náchter A, Taléns Visconti R	257-259
Vectorización de agentes antiinflamatorios a macrófagos para potenciar su actividad utilizando micropartículas Villa Hermosilla MC, Negro Álvarez S, Montejo Rubio C, Hurtado Marcos C, Fernández Carballido A	260-262
Estudio de la estabilidad de un sistema semisólido turba/agua para aplicación en Hidrología Médica Sánchez Espejo R, García Villén F, Borrego Sánchez A, Cerezo P, Viseras C.....	263-265
Hybrid lipid/clay carrier system containing Bixa orellana L.: a tool for drug delivery Barbosa R, García Villén F, Raffin F, Viseras C, Moura T.....	266-267
Optimización de la preparación de quitosomas de quercetina Colino Gandarillas CI, García Quintero P, Gutiérrez Millán C.....	268-270
Impresión 3D de supositorios de tacrolimus para el tratamiento de la colitis ulcerosa Seoane Viaño I, Ong Jun J, Luzardo Álvarez A, González Barcia M, Basit Abdul W, Otero Espinar FJ, Goyanes A	271-272
Evaluación preclínica empleando imagen PET/CT de formulaciones impresas en 3D para el tratamiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal Seoane Viaño I, Gómez Lado N, García Otero X, Aguiar P, Basit Abdul W, González Barcia M, Otero Espinar FJ, Luzardo Álvarez A, Fernández Ferreiro A, Goyanes A.....	273-274

REVISTA ESPAÑOLA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS

POLÍTICA EDITORIAL

La REVISTA ESPAÑOLA DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS (nombre abreviado según norma ISO-4: *Rev Esp Cienc Farm* y acrónimo RESCIFAR) es una revista científica internacional de carácter multidisciplinar en el ámbito de la Farmacia. Aceptará para su estudio y evaluación, trabajos originales, no publicados ni remitidos simultáneamente a otras publicaciones, que se refieran a los distintos aspectos relacionados con el medicamento y los productos sanitarios. Concretamente, aceptará estudios sobre medicamentos, su análisis, aplicaciones en Farmacia Hospitalaria o comunitaria, Farmacia Clínica, Atención Farmacéutica, Farmacoterapia, Tecnología Farmacéutica, Microbiología, Nutrición, Legislación y Gestión, Historia, Farmacia asistencial, Industria Farmacéutica, Distribución, etc.

Es la revista científica oficial del Real e Ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Sevilla, con periodicidad cuatrimestral (febrero, junio y octubre), de manera ininterrumpida. Acepta manuscritos en español e inglés.

La revista publica, artículos originales, originales breves, casos clínicos, revisiones completas, mini revisiones y comunicaciones breves. Las lecciones de aprendizaje, comentarios y cartas al director también pueden ser considerados para su publicación. También se podrán incluir fe de erratas y retractaciones. La revista RESCIFAR se adhiere a las recomendaciones de uniformidad para manuscritos enviados a revistas biomédicas elaboradas por el Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, cuyo texto oficial se encuentra disponible en: <http://www.icmje.org/recommendations/>

Todos los manuscritos presentados para su publicación serán sometidos inmediatamente a una revisión por pares (*peer-review journal*), por los miembros del Consejo Editorial y con evaluadores externos. Los autores obtendrán información sobre el artículo, aceptación, revisión o rechazo en un tiempo máximo de 60 días tras la recepción del trabajo.

La revista RESCIFAR se reserva el derecho de admitir publicidad comercial relacionada con diferentes aspectos de las Ciencias de la Salud, si lo cree oportuno.

TIPOS DE ARTÍCULOS

Revisiones. Estos artículos proporcionan un resumen exhaustivo de temas de interés general de amplio alcance para los científicos farmacéuticos. Se incluirán bajo esta tipología los estudios bibliométricos, las revisiones sistemáticas, los metaanálisis y las metasíntesis. Deben estar estructurados en los siguientes apartados: Introducción, Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones. La extensión máxima del artículo será de 5000 palabras y se admite un número máximo de 10 tablas y figuras. Tendrán un máximo de 100 referencias bibliográficas. Además, debe aparecer un resumen estructurado de no más de 500 palabras (en inglés y español). Se incluirán un mínimo de 3 palabras clave y un máximo de 6 (en inglés y español).

Originales. Son descripciones completas de resultados experimentales y / o teóricos significativos y originales que se ajustan al alcance de RESCIFAR. Se requiere que los manuscritos sean escritos de manera clara y concisa y que incluyan únicamente datos relevantes para llegar a sus conclusiones finales. Deben estar estructurados en los siguientes apartados: Introducción, Material y Métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones. Preferiblemente, los manuscritos no deben exceder las 5000 palabras de texto y un total de 8 figuras y / o tablas. Los datos extra experimentales y / o teóricos en forma de figuras y tablas se deben depositar en Información Suplementaria. Los trabajos originales incluirán un resumen estructurado de 300 palabras como máximo (en inglés y español). Se recomienda un máximo de 40 referencias bibliográficas. Además, incluirán un mínimo de 3 palabras clave y un máximo de 6 (en inglés y español).

Originales breves. Trabajos de las mismas características que los originales, pero que pueden ser publicados de forma abreviada por

la concreción de sus objetivos y resultados. La extensión máxima del texto será de 2000 palabras, con un máximo de 3 tablas o figuras (para las normas de tablas y figuras véase más adelante). La estructura de estos trabajos será la misma que la de los originales, con un resumen estructurado de 150 palabras (en inglés y español) y 20 referencias bibliográficas como máximo. Además, incluirán un mínimo de 3 palabras clave y un máximo de 5 (en inglés y español).

Comunicaciones breves. Se trata de publicar resultados preliminares experimentales y/o teóricos significativos y originales que se ajustan al alcance de la revista. Los resultados deben ser de suficiente importancia, originalidad e interés general para justificar la publicación acelerada. Se les pide a los autores que escriban sus manuscritos de manera clara y concisa y que incluyan solo datos cruciales para llegar a sus conclusiones finales. Preferiblemente los manuscritos no deben exceder las 2000 palabras de texto y un total de 4 figuras y/o tablas. Los datos extra experimentales y / o teóricos en forma de figuras y tablas se deben depositar en Información Suplementaria.

Casos clínicos. Esta sección tiene como objeto comunicar experiencias de práctica profesional en los diversos ámbitos de la salud pública y la farmacia, que contengan componentes novedosos y relevantes para el ejercicio profesional. La extensión máxima del texto será de 1200 palabras y como máximo se admitirán 2 tablas o figuras. Además, tendrán un máximo de 10 referencias bibliográficas. No es necesario que el texto se estructure formalmente, pero deberá guardar la lógica narrativa (introducción, desarrollo de la experiencia, conclusiones) e incluir un resumen de 150 palabras como máximo y un mínimo de 3 palabras clave y un máximo de 6 (en inglés y español).

Lecciones de aprendizaje. Son artículos cortos (600 palabras) que proporcionan a los autores un medio para informar a otros científicos sobre temas críticos, experiencias y observaciones, cuyas descripciones no serían apropiadas para un artículo de investigación, comunicación, nota, comentario o revisión típica. Los ejemplos incluyen, entre otros, información clave sobre un problema de fabricación imprevisto,

conocimiento acumulado para el desarrollo de un método analítico o de formulación dada. Cada artículo será revisado directamente por un editor con experiencia en el área científica relevante. Debido a que cada uno de estos artículos representa la opinión personal, la experiencia y/o las percepciones del autor, no se requieren datos (si bien, podrían incluirse) ni es necesario divulgar la identidad de un medicamento determinado. Los artículos pueden contener hasta tres referencias clave.

Comentarios. Se presentan los comentarios de salud en su globalidad, así como comentarios de temas especiales (solo por invitación), considerando opiniones de los autores sobre temas científicos o técnicos dentro del alcance de RESCIFAR. Si el Comentario critica el contenido de un Artículo o Nota publicada en la revista, los autores del artículo original tendrán la oportunidad de presentar un Comentario de "respuesta" y un Comentario "crítico". Los autores interesados en preparar este tipo de aportación, deben proporcionar un breve resumen al Editor, solicitando invitaciones para enviar manuscritos en esta categoría.

Cartas al director. Esta sección pretende incluir de manera prioritaria observaciones científicas y de opinión formalmente aceptables sobre trabajos publicados en fecha reciente en la revista, o sobre otros temas relevantes y actuales sobre salud pública y la farmacia. La extensión máxima será de 700 palabras, y se admitirán una tabla o figura y hasta 5 referencias bibliográficas. Se dará oportunidad de réplica a los autores del trabajo comentado.

Fe de erratas y retractación. Si se encuentran errores en el documento publicado, el autor debe enviar una corrección del error al Editor Jefe para su publicación en la Sección de Erratas de la revista. También se publicarán retractaciones cuando se ha detectado algún tipo de fraude en la preparación o en los resultados de una investigación publicada. La retractación del manuscrito será comunicada a los autores y a las autoridades o la directiva de la institución a que pertenezcan.

INFORMACIÓN PARA LOS AUTORES / NORMAS DE PUBLICACIÓN

Cada trabajo, en función del tipo de artículo anteriormente expresado, deberá estar estructurado según se ha comentado. El trabajo debe presentarse de acuerdo con la plantilla que se encuentra en la web de la revista.

Los artículos se enviarán en castellano, por ser el idioma oficial de la revista; no obstante, también se aceptarán artículos en inglés.

Durante la elaboración del manuscrito podrán añadirse abreviaturas, las cuales serán previamente identificadas y especificadas en su primera aparición. Se recomienda el uso de abreviaturas comunes en el lenguaje científico. No se permitirá el uso de abreviaturas en el título ni el resumen, únicamente en el cuerpo principal del manuscrito. Se deberá hacer especial hincapié en la expresión correcta y adecuada de las unidades de medida. Las palabras en latín o en otros idiomas deben ponerse en cursiva. Para asegurar que todos los caracteres especiales utilizados estén incrustados en el texto, deben insertarse como un símbolo en un formato de estilo que no lo pierda tras la conversión del texto a PDF/XML u otros procesos de maquetación. Las ecuaciones químicas, nombres químicos, símbolos matemáticos, unidades de medidas, concentraciones y unidades de física y química deben ajustarse al sistema internacional de unidades (SI) y al *Chemical Abstracts* o IUPAC. Todas las mediciones deben ser rotuladas solo en SI.

Los manuscritos se presentarán de acuerdo con el siguiente orden y estructura:

Título

Los títulos adquieren gran importancia, ya que deben describir adecuadamente el contenido del trabajo. Su redacción debe ser breve, clara e informativa sobre los contenidos del manuscrito (máximo 120 caracteres sin espacios). Deben evitarse símbolos, fórmulas o abreviaturas arbitrarias, excepto símbolos químicos para indicar la estructura de los compuestos. El título debe proporcionarse en castellano y en inglés.

Autores

A continuación, se debe especificar el nombre y apellidos de cada uno de los autores teniendo

en cuenta la forma de firma para indexación en bases de datos internacionales (véase <http://www.accesowok.fecyt.es/>) y según la firma bibliográfica de cada autor. Se identificará la afiliación de los autores con números arábigos en superíndice, remitiendo al nombre de la institución, departamento o centro, y el país al que pertenecen. Se incluirá el correo electrónico del autor de correspondencia.

Resumen y palabras clave

• Resumen

El resumen, que debe redactarse en castellano y en inglés, deberá incluirse en los originales, en las revisiones y en los originales breves. Tendrá una extensión máxima de 300 palabras. Es aconsejable que incluya, al menos, los siguientes apartados: objetivos, métodos, resultados y conclusiones. En él deberá quedar plasmado el problema y el enfoque experimental y establecer los principales hallazgos y conclusiones. No se pueden usar notas al pie o abreviaturas indefinidas.

• Palabras clave

Se proporcionarán de 3 a 6 palabras clave, en castellano y en inglés, que reflejen el contenido científico del manuscrito.

Además de facilitar la indexación de artículos, nuestro sistema de palabras clave ayuda en la asignación de revisores cualificados para el manuscrito.

Texto y cuerpo del manuscrito con sus diferentes apartados

Introducción. Debe fundamentar el estudio mediante exposición de los antecedentes y resumiendo su marco, sin necesidad de revisar de manera exhaustiva el tema. Se debe finalizar con una exposición clara del objetivo del trabajo. Se incluirán sólo aquellas referencias estrictamente necesarias según criterios de actualidad y relevancia en relación con los fines del estudio.

Material y Métodos. Es la parte fundamental y más crítica del manuscrito. Los procedimientos experimentales deben describirse con suficiente detalle para permitir que otros repitan los experimentos.

En el caso de trabajos de investigación en laboratorio, deben incluirse los nombres de productos y fabricantes, con ciudad y país. Los

nuevos procedimientos experimentales deben describirse en detalle, pero los procedimientos publicados deben referirse meramente a la bibliografía que cita las modificaciones originales y publicadas. Cuando se trate de trabajos experimentales en que se hayan utilizado grupos humanos, hay que especificar el lugar, la población del estudio por sexo y edad, y el momento de su realización. Debe especificarse el proceso para la selección de los sujetos o los fenómenos estudiados, incluyendo la información necesaria acerca del diseño, los procedimientos, los instrumentos de medida y los métodos de análisis empleados. Esta sección debe incluir información suficiente para que otros/as autores/as puedan replicar el trabajo.

La investigación con animales, los autores deben indicar si los procedimientos seguidos están de acuerdo con las normas establecidas en la octava edición de la Guía para el cuidado y uso de animales de laboratorio (grants.nih.gov/grants/olaw/Guide-for-the-care-and-use-of-Laboratory-animals/), publicado por la *National Academy of Sciences, The National Academies Press, Washington, DC*).

Asimismo, los manuscritos que contienen datos generados a partir de estudios en animales y/o humanos, se debe especificar el comité y la institución que aprobó los protocolos experimentales utilizados para generar estos datos y, en todo caso, si se han respetado los acuerdos de la Declaración de Helsinki en su revisión de octubre del año 2000, elaborada por la Asociación Médica Mundial (<http://www.wma.net/>). No deben utilizarse los nombres ni las iniciales de las personas que hayan participado formando parte de la muestra estudiada.

Resultados. Deben ser claros, concisos y bien explicados. Las tablas y figuras deben estar diseñadas para maximizar la presentación y la comprensión de los datos experimentales. Se recomienda no repetir información de las tablas o gráficos en el texto.

Como regla general, la interpretación de los resultados debe reservarse para la sección de discusión; no obstante, en algunas circunstancias puede ser conveniente combinar los resultados y la discusión en una sola sección.

Discusión. La finalidad de esta sección es interpretar los resultados y relacionarlos con el conocimiento existente en el campo de la manera

más clara y breve posible. Deben señalarse las fortalezas y limitaciones del estudio, y comentar sus posibles implicaciones en la interpretación de los resultados.

La información dada en otra parte del manuscrito no debe repetirse en la discusión y se deben evitar extensas revisiones de la literatura.

Conclusiones. Se deberán destacar los aspectos más importantes de los datos obtenidos de forma breve y con mensajes directos

Referencias bibliográficas. Se incluirán todas las citas que hayan sido utilizadas en la elaboración del artículo para que quede constancia de ellas. Deberán ser ordenadas según su aparición en el texto y ser incluidas dentro del mismo entre corchetes y con números arábigos.

Las referencias seguirán el modelo avalado por la National Library of Medicine (NLM), basado en las normas de Vancouver, que viene recogido en la página web <http://www.nlm.nih.gov/citingmedicine>.

En el siguiente enlace se puede obtener más información sobre el modo de redactar las referencias bibliográficas, con [ejemplos concretos](#).

Tablas. Se recomienda la tabulación de los resultados experimentales cuando ello conduce a una presentación más efectiva o a un uso más económico del espacio.

Las tablas se numerarán con números arábigos consecutivamente de acuerdo con su aparición en el texto y se deben citar dentro de este.

Cada tabla será incluida en una página en solitario y deberá ser numerada de forma correlativa a su aparición en el texto con números arábigos (Tabla 1, Tabla 2,...) y un título breve, pero suficientemente explicativo, en su parte superior. Cada columna de la tabla ha de tener un breve encabezado. Se incluirán las necesarias notas explicativas a pie de tabla, y dentro de la tabla las llamadas irán con letras minúsculas en superíndice y en orden alfabético (a, b...).

En la plantilla se indicará claramente la ubicación de cada una de las tablas.

Figuras. Tanto gráficos como fotografías, dibujos o esquemas se consideran figuras. Estas no deben repetir datos ya presentados en el texto o en las

tablas. Las leyendas de las figuras se incluirán al pie. Las figuras se identificarán con números arábigos que coincidan con su orden de aparición en el texto. Los autores deben asegurarse de citar las figuras dentro del texto. Las leyendas y los pies de las figuras deberán contener información suficiente para poder interpretar los datos presentados sin necesidad de recurrir al texto. Para las notas explicativas a pie de figura se utilizarán llamadas con letras minúsculas en superíndice y en orden alfabético (a, b...). Deben presentarse cada una en una página por separado.

En la plantilla se indicará claramente la ubicación de cada una de las figuras.

Opcionalmente, se podrá incluir al final de la plantilla los siguientes apartados:

Agradecimientos. Esta sección debe reconocer el apoyo de financiación, la asistencia técnica, el asesoramiento científico, obsequios, etc.

Contribuciones de los autores.

Financiación.

Conflicto de interés.

CONSEJO EDITORIAL

El Consejo Editorial estará formado por el Comité Editorial y el Comité Científico.

El Comité Editorial se responsabilizará de la administración general de la publicación, así como de establecer la política y estrategia de la revista con el fin de lograr una posición significativa en la Sociedad.

Estará formado por presidente, vicepresidente, secretario, tesorero y 4 vocales.

El Comité Científico se encargará de gestionar el proceso de revisión de los manuscritos recibidos, tutelar la calidad de los trabajos publicados y mantener adecuadas relaciones con la comunidad científica.

Estará formado por 3 Editores Jefe y un número de Editores que oscilará entre un mínimo de 20 y un máximo de 40 personas.

COMITÉ EDITORIAL

Presidente: Manuel Pérez Fernández
Vicepresidente: Juan Pedro Vaquero Prada
Secretario: María Isabel Andrés Martín
Tesorero: Juan Luis Barea Ledesma
Vocal: María Álvarez de Sotomayor Paz
Vocal: Pedro Bueno López
Vocal: Ana Isabel del Moral García
Vocal: Leopoldo Gutiérrez-Alviz Conradi

COMITÉ CIENTÍFICO

Editores Jefe

Antonio María Rabasco Álvarez
Ana María Cameán Fernández
Antonio Ventosa Utero

Editores

María Isabel Andrés Martín
Carolina Arjona Murube
Antonio Blanes Jiménez
Fernando Cansino Calvo
Fernando Caro Cano
Santiago Cuéllar Rodríguez
María de Toro Crespo
María de la Matta Martín
María Teresa Díaz Carmona
María Luisa González Rodríguez
Ana Herranz Alonso
Joaquín Herrera Carranza
María Dolores Herrera González
Gema Herrerías Esteban
Antonio Hoys García
Alejandra León Botubol
Pilar León Lozano
María de Lourdes Moreno Amador
Esteban Moreno Toral
Juan Núñez Valdés
Milagros Olías Valdés
Domingo Ortega López
Santiago D. Palma
Marisol Pedrosa Carrera
Manuel Posada de la Paz
Antonio Ramos Carrillo
Claudio J. Salomón
Matilde Sánchez Reyes
Francisco Zaragoza García

Edita: Real e Ilustre Colegio Oficial de Farmacéuticos de Sevilla

Maquetación y producción: Euromedia Comunicación

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2).

Impresión: Imprenta Galán

Depósito Legal: SE-1252-2020

ISSN: 2660-6356

EDITORIAL

Este último número del año de la Revista Española de Ciencias Farmacéuticas viene dedicado monográficamente a recoger la actividad científica que se ha generado dentro del ámbito del XV Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica (SEFIG), que se ha celebrado en Sevilla del 2 al 4 de diciembre de 2021.

La Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica agrupa a farmacéuticos y otros titulados superiores que realizan actividades de investigación y desarrollo galénico, fabricación y control de calidad, docencia o investigación en los campos de la Tecnología Farmacéutica, la Biofarmacia y Farmacocinética y la Farmacia Clínica y Asistencial, vinculados a la industria farmacéutica, a centros de enseñanza universitaria o a instituciones sanitarias.

La celebración de esta XV edición del Congreso de la SEFIG ha estado amenazada en varias ocasiones debido a la pandemia de la COVID-19 que tanto impacto ha causado a nivel mundial y con una repercusión importante en la vida habitual de los ciudadanos. La continua incertidumbre sobre su evolución hizo que se decidiera, por primera vez en la historia de los mismos, desarrollar el Congreso bajo una modalidad mixta, presencial y telemática, abriendo así la posibilidad de participar en el Congreso a profesionales de otros países europeos e incluso allende los mares.

Los ejes temáticos del congreso se han centrado en dos bloques principales: la investigación y desarrollo de nuevos sistemas de administración de medicamentos, y en los avances de la aplicación de novedosas alternativas de cara a la optimización de los tratamientos a los pacientes. Dentro del primero de ellos, podrían citarse, a modo de ejemplo, los trabajos relacionados con la investigación en nanotransportadores o con la impresión 3D; y entre los segundos, los que hacen referencia a medicina regenerativa, terapia génica, enfermedades raras o medicina personalizada. Todo ello dirigido hacia la obtención de los mejores resultados en salud, reduciendo al máximo posible los riesgos inherentes a cualquier tratamiento farmacológico complejo. Esperamos que sean interesantes para los lectores de nuestra Revista.

Sevilla, diciembre de 2021

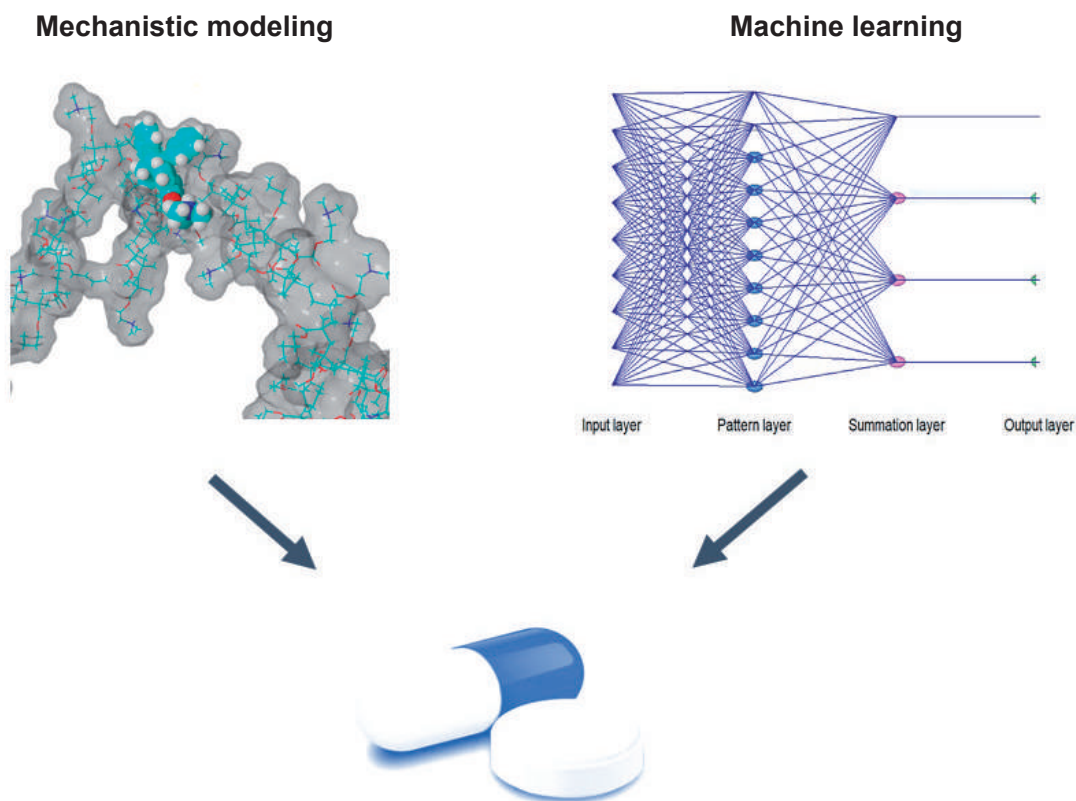
El Comité Editorial

Merits in computational pharmaceuticals – selected case studies

Martin Kuentz

University of Applied Sciences and Arts
Northwestern Switzerland
HLS- Institute of Pharma Technology
martin.kuentz@fhnw.ch

The digital revolution is taking place in many fields, which includes the pharmaceutical sciences. Computational tools are these days increasingly used in pharmaceuticals to define the formulation strategy or to guide the selection of excipients. Some of the computational approaches are entirely data-driven, while other computational calculations make use of mechanistic modeling. There is even an intermediate modeling strategy in which theoretical considerations help with the selection of molecular descriptors to setup a quantitative structure property relationship (QSPR). The presentation gives a brief introduction to the field before individual case studies of computational pharmaceuticals are presented that cover data- and theory- driven approaches and there is also an example given of a theory-guided QSPR. Practical advantages of the different computational methods are discussed, while keeping the theoretical basics of the individual methods to a minimum. Finally, an outlook is provided of possible future research that would advance this thriving field of pharmaceuticals.



Este trabajo debe ser citado como:

Martin Kuentz. Merits in computational pharmaceuticals – selected case studies. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):1.

***In vivo* predictive dissolution: relevant gastrointestinal factors and methodological approaches**

Marival Bermejo

Universidad Miguel Hernández de Elche, Spain. University of Michigan, US
Correspondencia: mbermejo@umh.es

In-vivo predictive dissolution methods (iPD) should incorporate the physiologically relevant characteristics of the “gold standard dissolution beaker” i. e. the human gastrointestinal (GI) tract. To design iPD methodologies, it is necessary to observe directly in-vivo drug dissolution in the intestinal lumen. We have observed in vivo Ibuprofen levels on the GI tract after the administration of an oral immediate release ibuprofen product to human volunteers by using a specialized manometric catheter with 4 sampling ports that allowed the measurement intestinal drug concentrations, pH values as well as intestinal wall motility. Ibuprofen formulation was administered with a solution of Phenol Red (PR) as a non-absorbable marker. The relationship of GI variables (as luminal pH and GI motility) with Ibuprofen absorption rates has been explored. Results show that Ibuprofen luminal concentration is determined principally by the luminal pH and the GI Ibuprofen profiles follow closely the pH versus time fluctuations. In addition, the modelling of PR concentrations has allowed the characterization of the range of gastric emptying profiles and their variability. All the in vivo modelled parameters have been incorporated in the Gastrointestinal simulator (GIS), a physiological based multi-compartment dissolution device. Examples of application of GIS dissolution experiments to discriminate non bioequivalent formulations of etoricoxib, posaconazole, and dexketoprofen trometamol, will be presented. These results demonstrate the relevance of the gastrointestinal variables, pH and motility in oral absorption. iPD methodologies incorporating these variables in combination with mass transport computational methods will be an invaluable tool for formulation optimization.

References

1. Bermejo M, Kuminek G, Al-Gousous J, et al. Exploring Bioequivalence of Dexketoprofen Trometamol Drug Products with the Gastrointestinal Simulator (GIS) and Precipitation Pathways Analyses. *Pharmaceutics*. 2019;11(3):122.
2. Bermejo M, Paixão P, Hens B, et al. Linking the Gastrointestinal Behavior of Ibuprofen with the Systemic Exposure between and within Humans-Part 1: Fasted State Conditions. *Mol Pharm*. 2018;15(12):5454–67.
3. Bermejo M, Hens B, Dickens J, Mudie D, Paixão P, Tsume Y, Shedden K, Amidon GL. Mechanistic Physiologically-Based Biopharmaceutics Modeling (PBBM) Approach to Assess the In Vivo Performance of an Orally Administered Drug Product: From IVIVC to IVIVP. *Pharmaceutics*. 2020;12(1):74. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12010074> - 17 Jan 2020. PMID: 31963448
4. Paixão P, Bermejo M, Hens B, et al. Gastric emptying and intestinal appearance of nonabsorbable drugs phenol red and paromomycin in human subjects: A multi-compartment stomach approach. *Eur J Pharm Biopharm*. 2018;129:162–74.
5. Gonzalez-Alvarez I, Bermejo M, Tsume Y, Ruiz-Picazo A, Gonzalez-Alvarez M, Hens B, Garcia-Arieta A, Amidon GE, Amidon GL. An In Vivo Predictive Dissolution Methodology (iPD Methodology) with a BCS

Class IIb Drug Can Predict the In Vivo Bioequivalence Results: Etoricoxib Products. *Pharmaceutics* Pub Date: 2021-04-07, DOI: 10.3390/pharmaceutics13040507

6. Hens B, Bermejo M, Tsume Y, Gonzalez-Alvarez I, Ruan H, Matsui K, Amidon GE, Cavanagh K, Kuminek G, Benninghoff G, Fan J, Rodríguez-Hornedo N, Amidon GL. Evaluation and optimized selection of supersaturating drug delivery systems of posaconazole (BCS class 2b) in the gastrointestinal simulator (GIS): An in vitro-in silico-in vivo approach. *Eur J Pharm Sci.* 2018 Jan 25. pii: S0928-0987(18)30053-8. doi: 10.1016/j.ejps.2018.01.039. PMID: 29378253

Este trabajo debe ser citado como:

Marival Bermejo. In vivo predictive dissolution: relevant gastrointestinal factors and methodological approaches. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):2-3.

Nanomedicines for local and intracellular gastrointestinal tumour modulation

Bruno Sarmento

Principal Investigator

i3S – University of Porto

Correspondencia: Bruno.sarmiento@i3s.up.pt

Our group is focused on the development of drug delivery systems, with special attention on nanotechnology, and their application to the pharmaceutical and biomedical fields. There is a particular interest in establish bioengineering targeted nanomedicines for oral delivery of anti-tumor drugs for gastrointestinal tumours as gastric and colorectal cancer. The group also developed and validated novel in vitro cell-based intestinal model to evaluate the permeability and performance of drugs and drug delivery systems and proposed an innovative multicellular 3D colorectal cancer spheroid model used to screen efficacy of anticancer nanomedicines.

In this presentation, our most recent achievements of the establishment of nanomedicines, with passive and active targeting features for cancer cells will be described. Our approach involves innovative nanomedicines, with deep and comprehensive physical-chemical, in vitro and in vivo evaluation.

References

1. Andreia Almeida, Flávia Castro, Carlos Resende, Marlene Lúcio, Simó Schwartz Jr, Bruno Sarmento, Oral delivery of camptothecin-loaded multifunctional chitosan-based micelles is effective in reduce colorectal cancer, under review
2. Andreia Almeida, Vicente Linares, Gloria Mora-Castaño Marta Casas, Isidoro Caraballo Bruno Sarmento, 3D printed systems for colon-specific delivery of camptothecin-loaded chitosan micelles, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 167, 48-56, 2021
3. Andreia Almeida, Marco Araújo, Ramon Novoa-Carballal, Fernanda Andrade, Hugo Gonçalves, Rui L. Reis, Marlene Lúcio, Simó Schwartz, Bruno Sarmento, Novel amphiphilic chitosan micelles as carriers for hydrophobic anticancer drugs, *Materials Science & Engineering C*, 112, 110920, 2020
4. Fernanda Andrade, Diana Rafael, Mireia Vilar-Hernández, Sara Montero, Francesc Martínez-Trucharte, Joaquin Seras-Franzoso, Zamira Díaz-Riscos, Ana Boullosa, Natalia García-Aranda, Patricia Cámara-Sánchez, Diego Arango, Marika Nestor, Ibane Abasolo, Bruno Sarmento, Simó Schwartz Jr, Polymeric micelles targeted against CD44v6 receptor increase niclosamide efficacy against colorectal cancer stem cells and reduce circulating tumor cells in vivo, *Journal of Controlled Release*, 331, 198-212, 2021
5. Ana Baião, Flávia Sousa, Ana Vanessa Oliveira, Carla Oliveira, Bruno Sarmento, Effective intracellular delivery of bevacizumab via PEGylated polymeric nanoparticles targeting CD44v6 receptor in colon cancer cells, *Biomaterials Science*, 8, 3720-3729, 2020
6. Tomás Ramos, Tália Feijão, André Gonçalves, Mohammad Shahbazi, Zehua Liu, Cristina Barrias, Maria Oliveira, Pedro Granja, Hélder Santos, Bruno Sarmento, Colorectal cancer triple co-culture spheroid model to assess the biocompatibility and anticancer properties of polymeric nanoparticles, *Journal of Controlled Release*, 323, 398-411, 2020

Este trabajo debe ser citado como:

Bruno Sarmento. Nanomedicines for local and intracellular gastrointestinal tumour modulation. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):4.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):4.

Continuous manufacturing

Peter Kleinebudde

Heinrich Heine University Düsseldorf, Germany
kleinebudde@hhu.de

Continuous manufacturing (CM) of pharmaceutical products is among other trends like additive manufacturing one of the dominating topics in advanced manufacturing in the 21st century. The importance and relevance of CM is indicated by the step 2 draft of ICH Q13 on “Continuous manufacturing of drug substances and drug products”¹, which was published in July 2021. Several types of CM are covered by the draft guideline: drug substances, drug products, therapeutic protein drug substances and integrated drug substance and drug product CM.

The presentation focuses on drug product CM, especially solid dosage forms. First products are on the markets in US, Europe and Japan. The number of CM products is limited so far, but the number will raise soon. Some companies have a clear strategy that a significant portion of products in their portfolio will either be converted to CM or be produced by CM right from the beginning. Some of the existing CM products are made by direct compression, which requires a short process trail with relatively low complexity. Integrating other process steps like roll compaction/ dry granulation or wet granulation and drying is more demanding.

CM has a number of advantages, which can generally be related to an increase in quality or a reduction of costs. However, in order to realize these advantages a number of problems and hurdles have to be eliminated. CM requires a new way of thinking, a new mindset, in all participating parts of a company like management, development, production, quality control and quality assurance². Furthermore, not only the pharmaceutical companies have to make progress, but also machine suppliers, who have to integrate their unit operations into a CM-line, implement suitable PAT methods, develop hierarchical architectures for (advanced) process control etc. Excipient suppliers can contribute by offering tailor made excipient grades for CM. Finally, the authorities also have to adapt the concepts of CM and to understand the differences to batch manufacturing. All in all, CM requires less, but highly educated staff. Academia and scientific organizations can train experts that are able to handle the important topics of CM. A lot of research is done at Universities and there are still a lot of exciting scientific questions to be answered.

Collaboration between the stakeholders are crucial to develop the field. Some examples of consortia in this field are shown.

References

1. ICH. Q13 Continuous manufacturing of drug substances and drug products.
https://database.ich.org/sites/default/files/ICH_Q13_Step2_DraftGuideline_%202021_0727.pdf
2. Kleinebudde P. Trends in continuous manufacturing of pharmaceutical drug products. Pharm. Tech. Japan 35 (2019) 1175-1179.

Este trabajo debe ser citado como:

Peter Kleinebudde. Continuous manufacturing. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):5.

Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration

Ruiz Alonso Sandra^{1,2,3}, Lafuente Merchan Markel^{1,2,3}, Gallego Idoia^{1,2,3}, Saenz Del Burgo Laura^{1,2,3}, Pedraz Jose Luis^{1,2,3}

¹ NanoBiocel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain

² Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain

³ Bioaraba Health Research Institute, NanoBioCel Research Group, E-01009 Vitoria-Gasteiz, Spain

*Correspondencia: sandra.ruiz@ehu.eus

1. Introduction

Tendon injuries represent a clinical burden on health systems globally [1]. 3D bioprinting could help for the development of scaffolds whose characteristics resemble those of the native tendon [2].

In this study, an ink based on natural materials was developed for tendon tissue regeneration. That ink was characterized and used to print scaffolds by 3D printing. Swelling and degradation rate assays were performed to predict the possible behaviour of the scaffolds in vivo. Finally, tenocytes were incorporated into the inks and 3D bioprinted. The viability and metabolic activity of tenocytes in the scaffold were analyzed.

2. Materials and methods

2.1. Development and characterization of the ink for 3D printing

Hyaluronic acid, alginate, fibrinogen and gelatine were mixed and dissolved in DMEM culture medium to obtain the ink. Its characterization was made by two different rheological tests in the Rheometer AR1000 (TA instruments, New Castle, USA). For the oscillation test a frequency ramp was performed (-0,1 Hz to 100 Hz). For the rotational test a shear rate sweep was performed ($0.1s^{-1}$ to $100s^{-1}/100s^{-1}$ to $0.1s^{-1}$).

2.2. 3D printing of scaffolds

2.2.1. 3D printing

The developed ink was used to print scaffolds using a BIO X 3D printer (CELLINK, Gothenburg, Sweden).

2.2.2. Swelling capacity of the scaffolds

Scaffolds were lyophilized and weighed. Then, they were immersed in PBS and kept for up to 3 days at 37 °C. The wet scaffolds were reweighed.

2.2.3. Degradation rate

Scaffolds were weighed at different times after printing, thereby controlling their weight loss after incubation in culture medium at 37°C for several weeks.

2.3. 3D bioprinting of scaffolds

Mouse tenocytes were incorporated into the developed ink (5·10⁶ cel/ml). Bioinks were used to obtain scaffolds by 3D bioprinting.

2.3.1. Cell viability assay

To analyse the cell viability a Live/Dead test was performed. Scaffolds were then observed on a Nikon Eclipse TE2000-S confocal microscope.

2.3.2. Bioactivity assay

Cell metabolic activity was studied using a CCK8 assay. Scaffolds were incubated with the CCK8

reagent for 4 hours at 37 °C and subsequently the absorbance measurement was carried out in an Infinite M200 Tecan plate reader, at a wavelength of 450 nm.

3. Results and Discussion

The rotational test allowed establishing that the ink had non-Newtonian behaviour. Its shear thinning behaviour made it ideal for 3D printing. The initial viscosity at low shear rates was 1020 Pa/s. This ink was not very thixotropic, since after applying and removing the force, the initial viscosity was not recovered. The oscillatory test made it possible to establish that the elastic modulus (G') of the ink was greater than the viscous modulus (G'') (elastic solid-like behaviour) (Fig. 1).

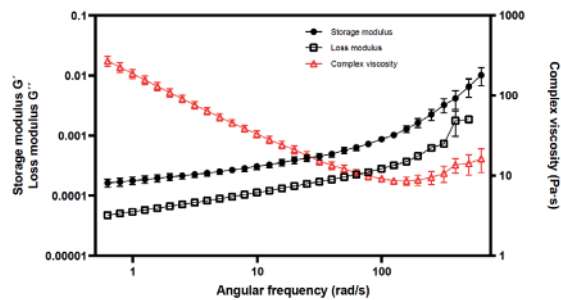


Fig. 1. Oscillation test.

As indicated by the rheological studies, the ink could be properly printed. The pressure and speed selected were 40 kPa and 7 mm/s respectively. The obtained scaffolds had dimensions very similar to those of the CAD design.

The swelling test made it possible to establish that after one hour, the lyophilized scaffold had practically recovered its initial weight (93 %) (Fig. 2A). In the degradation assay, it was observed that the highest percentage of weight loss occurred during the first two days. From day 3 to day 35, there was a very slight gradual degradation (Fig. 2B).

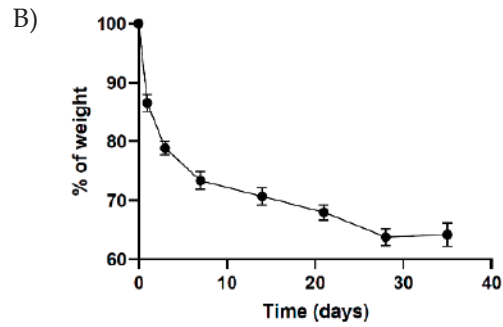
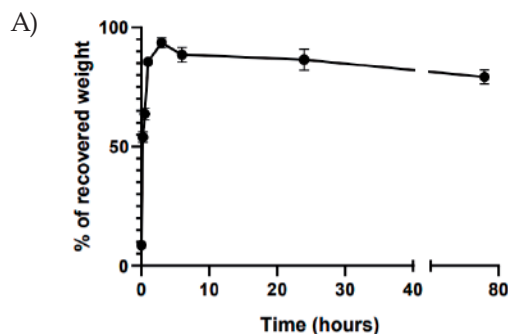


Fig. 2. A) Swelling test. B) Degradation test.

After the incorporation of the tenocytes in the ink, the viability and activity of the cells within the scaffolds were analyzed. The viability of the cells at different times was good (no cell death was observed) (Fig. 3B). This result was related to the one obtained for cellular activity in which an increase in activity could be seen over time (Fig. 3A).

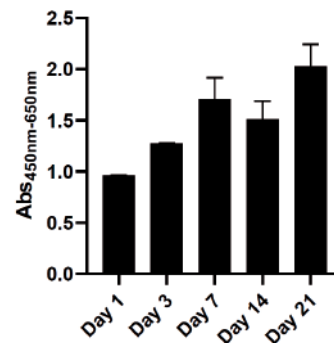
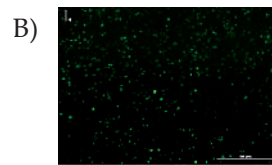
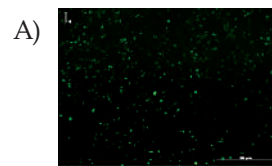


Fig. 3. A) Assay of metabolic activity. B) Cell viability of tenocytes at day 1 (I) and day 21 (II). Scale Bar=500 μ m

4. Conclusions

The ink based on hyaluronic acid, alginate, gelatin and fibrinogen presented adequate rheological behaviour. In addition, the swelling values indicated a good rehydration capacity and the

degradation values indicated a maintenance of the scaffold structure for the appropriate time. The viabilities and cellular functionality showed that the scaffold was biocompatible. On the one hand, these good results suggest that the developed ink is optimal for its use in 3D bioprinting technology applied to tendon regeneration. On the other hand, the developed scaffolds could have a positive effect on the regeneration of damaged tendons. In future studies, the effect of these scaffolds in vivo will be analyzed.

References

1. Steinmann S, et al. Spectrum of Tendon Pathologies: Triggers, Trails and End-State. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):844.
2. Ma X, et al. 3D bioprinting of functional tissue models for personalized drug screening and in vitro disease modeling. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;132:235-5

Este trabajo debe ser citado como:

Ruiz Alonso, Lafuente Merchan Ma, Gallego I, Saenz Del Burgo L, Pedraz JL. Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):6-8.

Acknowledgements

Authors thank the Basque Government for granted fellowship to S. Ruiz-Alonso (PRE_2020_2_0143). The Basque Country Government (IT907-16) and the University of the Basque Country (UPV/EHU)-Fundación VITAL Fundazioa (VITAL20/25) financially supported this study. 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 Basque Country.

Dimensión fractal, una nueva herramienta para la predicción de la capacidad de impresión por FDM

Linares Vicente, Galdón Eduardo, Casas Marta*, Caraballo Isidoro

Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

*Correspondencia: mcasas@us.es

1. Introducción

Una de las tecnologías más recientes que se están aplicando en el campo farmacéutico es la impresión 3D (I3D), que ofrece la oportunidad de desarrollar nuevos sistemas de liberación. De entre las distintas tecnologías destaca el Modelado por Deposición Fundida (FDM), ampliamente usado por su versatilidad, bajo coste y fácil empleo [1]. Un requisito indispensable para el uso de esta tecnología es el desarrollo de filamentos cargados de fármaco aptos para esta técnica. El profundo conocimiento de las variables del proceso de extrusión de estos filamentos, así como los atributos de calidad de los mismos, resulta clave para el óptimo desarrollo de estos sistemas. Uno de los aspectos que merece especial atención es la rugosidad de los filamentos. Sin embargo, la descripción de superficies irregulares conlleva un análisis complejo, pues no pueden describirse mediante la geometría convencional. El análisis fractal, basado en el concepto de autosemejanza, proporciona una valiosa herramienta para la evaluación de estas estructuras.

El objetivo del trabajo es la utilización de la dimensión fractal como posible herramienta para la predicción del comportamiento de los filamentos cargados con fármaco. Para ello, se extruirán mezclas binarias de poliuretano termoplástico (TPU) y teofilina como fármaco modelo. Esta herramienta podría ofrecer información acerca de los puntos críticos asociados a propiedades claves, entre las que se encuentra la capacidad de impresión de los filamentos.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Teofilina anhidra (lote 151209-P-1, Acofarma, Barcelona, España) se empleó como fármaco modelo. Poliuretano termoplástico de grado médico Tecoflex™ EG-72D fue usado como excipiente suministrado por Lubrizol Advanced Materials (Barcelona, España).

2.2. Preparación de la mezcla

Los pellets del TPU se congelaron con nitrógeno líquido y se pulverizaron en un molino de rotor (Retsch, Alemania). Las mezclas binarias de fármaco y polímero en polvo (proporción 10-70 % p/p) se mezclaron durante 15 minutos (Turbula mixer, Willy A. Bachofen, Basilea, Suiza).

2.3. Preparación de los filamentos

Los filamentos fueron obtenidos mediante un extrusor de tornillo único (Noztek Pro, Sussex, UK) a 130 °C.

2.4. Análisis fractal

Se utilizó el microscopio estereoscópico SMZ800N (Nikon Instruments Inc., Nueva York, USA) para tomar imágenes de los perfiles de los filamentos. Estas imágenes fueron binarizadas y tratadas con el programa Matlab R2019b (The MathWorks, Inc., Massachusetts, EE. UU.). Se representó la longitud frente a la inversa del nivel de aumentos con el que se habían tomado las imágenes, obteniendo el valor de la dimensión fractal como el exponente de cada ecuación de la gráfica [2].

2.5. Proceso de impresión 3D

Los sistemas 3D fueron elaborados utilizando la impresora Raise3D Pro2 (Raise3D Technologies, Inc, California, USA), y el software BlocksCAD (BlocksCAD Inc., Massachusetts, USA) para su diseño.

2.6. Ensayo de liberación y modelización

Los ensayos de liberación se llevaron a cabo en un equipo disolución (USP II Sotax, Suiza) con 900 mL de agua destilada a 37 ± 0.5 °C a velocidad de rotación de 50 rpm. Los filamentos y sistemas 3D fueron analizados por triplicado para cada lote. El porcentaje de fármaco liberado fue medido en un espectrofotómetro UV-Vis Agilent 8453 (California, USA) a 272 nm. Los datos del ensayo fueron analizados usando Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Albuquerque, NM, EE. UU.) de acuerdo con las ecuaciones de orden cero, de Higuchi (1963) [3], Korsmeyer y cols. (1983) [4] y Peppas-Sahlin (1989) [5].

3. Resultados y Discusión

Se obtuvieron filamentos binarios con TPU y teofilina (10-70 % p/p) usando una extrusora de tornillo único. Todos los filamentos tenían un diámetro adecuado para ser utilizados por la FDM. Sin embargo, solo los filamentos con contenido de fármaco hasta el 30 % p/p pudieron ser utilizados, siendo el resto demasiado frágiles.

Las imágenes obtenidas del perfil de los filamentos revelaron el aumento de rugosidad con el incremento del contenido en fármaco (Figura 1).



Fig.1. Imágenes de microscopio estereoscópico del perfil de filamentos con 10 % (A) y 70 % (B) de fármaco, respectivamente.

Los valores de dimensión fractal, obtenidos tras el análisis de estas imágenes, se representaron frente al porcentaje en volumen de fármaco de los filamentos (Figura 2).

Referencias bibliográficas

1. Linares V, Casas M, Caraballo I. Printfills: 3D printed systems combining fused deposition modeling and injection volume filling. Application to colon-specific drug delivery. Eur J Pharm Biopharm. 2019;134:138-43.

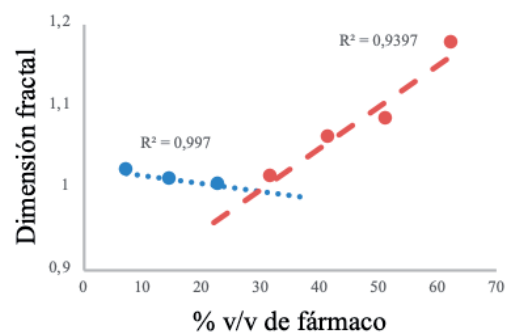


Fig.2. Representación gráfica de la DF frente al porcentaje (v/v) de fármaco de cada filamento.

Como resultado de la intersección entre las dos tendencias se obtuvo el valor de 37,8 % p/p de fármaco (equivalente a 29,69 % v/v). El valor resultante coincide con la desaparición de la capacidad de impresión de los filamentos. Este resultado parece indicar que el estudio de la dimensión fractal no solo permitiría conocer la rugosidad del sistema, sino que además podría ayudar a predecir la capacidad de impresión de los filamentos compuestos por mezclas binarias.

4. Conclusiones

Por primera vez se han analizado filamentos cargados con fármaco para impresión 3D según el enfoque fractal. El resultado del estudio de la dimensión fractal ha permitido estimar directamente un punto crítico relacionado con la capacidad de impresión de los filamentos por la técnica de FDM. Así, la dimensión fractal se presenta como una nueva herramienta que permitiría el análisis y predicción del comportamiento de los filamentos de manera rápida y no destructiva.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España (Subvención RTI2018-095041-B-C31).

2. Dillon CG, Carey PF, Worden RH. Fractscript: A macro for calculating the fractal dimension of object perimeters in images of multiple objects. *Comput. Geosci.* 2001;27:787-94.
3. Higuchi T. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J Pharm Sci.* 1963;52:1145-9.
4. Korsmeyer RW, Gurny R, Doelker E, Buri P, Peppas NA. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int J Pharm.* 1983;15:25-35.
5. Peppas NA, Sahlin JJ. A simple equation for the description of solute release. III. Coupling of diffusion and relaxation. *Int J Pharm.* 1989;57:169-72.

Este trabajo debe ser citado como:

Linares V, Galdón E, Casas M, Caraballo I. Dimensión fractal, una nueva herramienta para la predicción de la capacidad de impresión por FDM. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):9-11.

Desarrollo de comprimidos gastro-retentivos de Furosemida de liberación prolongada

Rodríguez María Luisa*¹, Rosano Federico¹, Schiavo, Alejandra², Fagiolino Pietro², Palma Santiago³, Malanga Antonio¹

¹ Biofarmacia y Tecnología Farmacéutica, Instituto Polo Tecnológico de Pando, Facultad de Química, Universidad de la República, Canelones, Uruguay.

² Centro de Evaluación de Biodisponibilidad y Bioequivalencia de Medicamentos, Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

³ Laboratorio de Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina

*Correspondencia: mluisar@fq.edu.uy

1. Introducción

Algunos medicamentos destinados a la vía oral presentan zonas del tracto digestivo donde la absorción se dificulta, ya sea por impedimento termodinámico (inadecuada lipofilia) o por impedimento bioquímico (transportadores y enzimas), que limitan la permeación transmembrana del fármaco a través del epitelio intestinal. En particular, los fármacos con función ácido carboxílico sufren importante ionización a los pHs intestinales dificultando su absorción. Se han venido llevando a cabo investigaciones focalizadas a drogas con características ácidas, destacando en particular la Furosemida que, de las drogas estudiadas, es la de más estrecha ventana de absorción (limitada a la parte alta del intestino delgado), razón por la cual se la elige como fármaco modelo. La tecnología de fabricación de los medicamentos que la contengan para administración por vía oral es fundamental para adecuar correctamente su velocidad y cantidad de absorción. De esta manera, incluirla en formulaciones gastro-retentivas permitiría prolongar su tránsito desde el estómago hacia el duodeno, extendiendo así su velocidad de absorción, aumentando no solo su biodisponibilidad sino (además) la intensidad del efecto diurético [1-4]. Como sistemas gastro-retentivos se eligen los sistemas flotantes [5].

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Las materias primas utilizadas fueron donadas por el Laboratorio Dorrego (ASSE-Uruguay) y todas eran de grado farmacéutico. Los reactivos y solventes eran de grado analítico.

2.2. Métodos

2.2.1. Desarrollo de las formulaciones

El estudio de los factores que podrían influir los Atributos Críticos de Calidad (ACC) de este tipo de productos, se realiza mediante el uso de la herramienta estadística Diseño de Experimentos (DoE). La generación, optimización y simulación del modelo se hace mediante el software R de acceso gratuito. Los factores estudiados fueron: la composición de la matriz hidrofílica, y la relación entre la matriz hidrofílica y la cantidad de mezcla efervescente. El DoE generado es un Diseño Central Compuesto del cual se obtuvieron 9 lotes de comprimidos que fueron elaborados por granulación vía húmeda. Se elabora también una formulación llamada F10 proveniente de estudios preliminares. Como se encuentra dentro del espacio operacional del DoE estudiado, se codificó junto a los demás lotes y se lo utilizó como punto control en los modelos estadísticos realizados.

Se realizaron ensayos de rutina para todos los lotes de comprimidos obtenidos: aspecto y dimensiones, uniformidad de masa, dureza, friabilidad, dosificación, siguiendo los lineamientos de las farmacopeas oficiales (USP y Ph. Eur.). Además, se realizaron los ensayos para el estudio de los ACC: Ensayo de flotabilidad, índice de hinchamiento, índice de erosión y el ensayo de disolución [6].

2.2.2. Estudio in vivo exploratorio

Se realizó un estudio in vivo exploratorio bajo un protocolo que tiene el aval de la Comisión de Ética de Investigación en Seres Humanos de la Facultad de Química.

El estudio se llevó a cabo en el CEBIOBE administrando a 3 voluntarios sanos, de ambos sexos (2 hombres y 1 mujer), furosemida en dosis únicas de 40 mg para Lasix (Producto Referencia), y 40 mg para el comprimido gastro-retentivo LP seleccionado (Producto Test), en 2 períodos en forma aleatoria, cruzada y compensada. Se determinaron la diuresis, la concentración de furosemida y la excreción de sodio, cloruros y potasio en cada tiempo de micción estipulado).

3. Resultados y Discusión

Todos los lotes de comprimidos obtenidos cumplieron con la uniformidad de masa, friabilidad y dosificación. Sus dimensiones y aspectos eran los esperados, y su dureza fue uniforme. Son de destacar cuatro formulaciones que flotaron por más de 8 horas y tuvieron un buen perfil de liberación de la furosemida: F2, F3, F6 y F10. Del estudio estadístico de los datos obtenidos, se pudo observar que la relación entre la matriz hidrofílica total y la mezcla efervescente es significativa ($p < 0,05$) en el tiempo de flotación, en el perfil de liberación de la Furosemida y en la integridad de la matriz evaluada por el índice de erosión. Por medio de la metodología de superficie de

respuesta, se pudo observar que a medida que se aumenta la mezcla efervescente, se aumenta la flotabilidad del comprimido y el porcentaje de disolución, pero a su vez se comienza a ver comprometida la integridad de la matriz ya que la erosión también aumenta ($p < 0,05$).

De todas las formulaciones realizadas se decide continuar con F10 para la siguiente etapa donde se evalúa si la Formulación Test aumenta la biodisponibilidad de la Furosemida respecto al producto de referencia Lasix® en un estudio in vivo exploratorio.

La F10 presentó mayor biodisponibilidad que Lasix®, lo cual era una de las metas perseguidas en el proyecto, pero la velocidad de absorción, y por ende la aparición urinaria del fármaco, fue más rápida, y no más prolongada como se pretendía. Esa intensa y rápida absorción de fármaco no dio tiempo para que se registrara mayor efecto de F10 respecto a Lasix®, demostrando una vez más la conveniencia de una absorción menos rápida que los de liberación inmediata y además prolongada en el tiempo.

4. Conclusiones

Se consiguió obtener in vitro comprimidos flotantes que liberan controladamente su contenido. No se ha logrado aún aumentar la biodisponibilidad de la Furosemida sin comprometer la retención gástrica del sistema in vivo, pero se ha avanzado notoriamente en el conocimiento de los factores que impactan en el comportamiento de estas formulaciones.

Agradecimientos

Comisión Sectorial de Investigación Científica (UdelaR).
Comisión Académica de Posgrado (UdelaR) por la beca de Posgrado. PEDECIBA-Química (MEC-UdelaR).

Referencias bibliográficas

1. Lorier, M. et al. Stereoselective Pharmacokinetics of Ketoprofen After Oral Administration of Modified-Release Formulations in Caucasian Healthy Subjects. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2016;41:787-93.
2. Magallanes L, et al. A simple pharmacokinetic model base on mean residence times to predict furosemide exposure after oral doses. *Int J Pharm Pharm Res.* 2015;3:54-65.
3. Magallanes L, et al. Sex related in vitro/in vivo and PK/PD correlations after oral single dose furosemide administration. *J Pharm Technol Drug Res.* 2016;5(2).

4. Magallanes L, et al. Influence of food and sex on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of furosemide. *Current Topics in Pharmacology*. 2016;20:45-56.
5. Jimenez Kairuz A, Palma SD, Allemandi D. *Nuestra Farmacia*. 2006;48:20-5.
6. Doroczyński, P et al. The Macromolecular Polymers for the Preparation of Hydrodynamically Balanced Systems—Methods of Evaluation. *Drug Dev Ind Pharm*. 2004;30(9):947-57.

Este trabajo debe ser citado como:

Rodríguez ML, Rosano F, Schiavo, A, Fagiolino P, Palma S, Malanga A. Desarrollo de comprimidos gastro-retentivos de Furosemida de liberación prolongada. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):12-4.

Human serum albumin as a potential nanocarrier for the oral delivery of therapeutic proteins

Pangua Irigaray Cristina*¹, Espuelas Millán Socorro¹, Martínez Ohárriz Cristina², Irache Garreta Juan Manuel¹

¹ Pharmaceutical Technology and Chemistry Department, University of Navarra.

² Chemistry Department University of Navarra.

*Correspondencia: cpangua@alumni.unav.es

1. Introduction

The oral delivery of therapeutic proteins faces different barriers (pH, enzymes, peristalsis, mucus, etc.) that highly hampers their stability and absorption [1].

In addition, protein drugs have poor oral bioavailability due to their large size and physicochemical characteristics. In order to solve these drawbacks, one alternative may be the combination of nanocarriers with permeation enhancers in order to promote the bioavailability of these drugs. Within this aim, particularly interesting are those permeation enhancers with ionizable groups that may interact with hydrophobic molecules (i.e., proteins) by hydrophobic ion pairing (HIP) resulting in hydrophobic complexes [2]. Furthermore, the encapsulation of these complexes into nanoparticles may protect the loaded protein from its premature degradation and facilitate its release in the epithelium surface.

In this context, the aim of this work was to design nanocarriers capable of encapsulating lipophilic complexes of a model protein with hydrophobic counter ions and reaching the surface of the intestinal epithelium.

2. Materials and Methods

2.1. Hydrophobic ion-pairing

The hydrophobic ion pairing (HIP) complexes were prepared by mixing the aqueous solution of a model protein (MP) with two different

counterions, sodium deoxycholate (DS) and sodium docusate (DOCU). To obtain the highest complexation efficiency (CE%), different protein-to-counterion molar ratios and pH conditions were evaluated. The dissociation of the complexes in gastric and intestinal simulated fluid, as well as the solubility of HIP complexes in aqueous media were also studied.

2.2. Preparation of nanoparticles

The HIP complexes were encapsulated in human serum albumin (HSA) nanoparticles coated with poly(ethylene glycol) 35,000 (PEG) following a desolvation method [3]. The physicochemical characterization of the nanoparticles was evaluated by measuring the mean particle size and zeta potential. The model protein quantification was measured by microfluidic electrophoresis.

2.3. Ex vivo mucus diffusion evaluation

In order to evaluate the mucus permeating properties of the resulting nanocarriers, their diffusion in pig intestinal mucus was determined by Multiple Particle Tracking (MPT).

2.4. In vivo biodistribution evaluation

The biodistribution of the nanoparticles labeled with a fluorescent marker (Lumogen Red) was evaluated in rats. For this purpose, four hours after the oral intake of the nanoparticles, slices of different portions of the gastrointestinal tract were obtained and visualized by fluorescence microscopy.

3. Results and discussion

3.1. HIP characterization

HIP complexes between the model protein and either DS or DOCU were successfully formed at a ratio of either 1:200 or 1:150 respectively. FTIR spectrum confirmed the formation of ion pair bonds between the protonable aminoacids of the protein and the negative ionized groups of the counterions. In all cases the solubility of the complexes in water was lower than 10 %.

3.2. Nanoparticles characterization

These complexes were successfully loaded in human serum albumin nanoparticles (Table 1). For DS-containing nanoparticles (DS-NPA), the mean size was of about 255 nm and the zeta potential was close to -30 mV. For nanoparticles containing the HIP complex with DOCU (DOCU-NPA), the resulting nanocarriers displayed a mean size of 330 nm and a negative zeta potential of -26 mV. In both cases, the encapsulation efficiency of the protein complex was higher than 70 %.

Table 1. Physicochemical characterization of nanoparticles. Data expressed as mean ± SD (n=3).

	Particle size (nm)	PDI	Z Potential (mV)	EE (%)
NPA	260	0.13	-28	70
DOCU-NPA	330	0.19	-26	72
DS-NPA	255	0.13	-29	90

3.3. Ex vivo mucus diffusion of nanoparticles

The capability of nanoparticles to diffuse in pig mucus was evaluated by MPT (Figure 1). Compared with control nanoparticles (NPA), DS-NPA displayed a similar ability than their control nanoparticles to diffuse in mucus. On the contrary, the relative diffusion of DS-NPA was significantly higher than for DOCU-NPA.

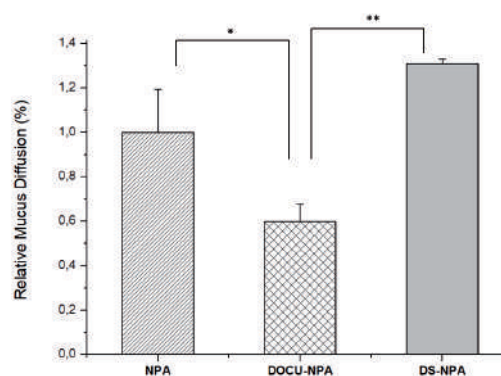


Fig 1. Relative diffusion of nanoparticles through pig intestinal mucus.

3.4. In vivo biodistribution of nanoparticles

After administration to rats, both DS-NPA and DOCU-NPA were capable of reaching the epithelium surface of the distal small intestine (Figure 2). Nevertheless, this ability to reach the epithelium appeared to be higher for DS-NPA than for DOCU-NPA.

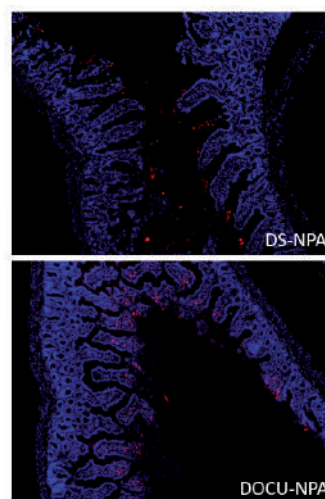


Fig 2. Fluorescence microscopy images of jejunum 4 hours after the oral administration of DS-NPA and DOCU-NPA.

4. Conclusions

In summary, albumin-based nanoparticles can adequately incorporate lipophilic complexes of a model protein. The resulting nanocarriers displayed mucus-permeating properties and the capability of reaching the surface of the distal intestinal epithelium. All together may be of interest to promote the oral bioavailability of therapeutic proteins.

Acknowledgements

The first author acknowledges to the AECC Scientific Foundation for a Ph. D. Scholarship.

References

1. Muheem A, Shakeel F, Jahangir MA, Anwar M, Mallick N, et al. A review on the strategies for oral delivery of proteins and peptides and their clinical perspectives. *Saudi-Pharm J.* 2016;24:413-28.
2. Cao J, Wang H, Ling Y, Dong J, Xia R, Sun X. Nanoparticles: Oral delivery for protein and peptide drugs. *AAPS PharmSciTech.* 2019;20:190.
3. Luis de Redín I, Boiero C, Martínez-Ohárriz, C, Agüeros M, Ramos R, et al. Human albumin nanoparticles for ocular delivery of bevacizumab. *Int J Pharm.* 2018;541:214-23.

Este trabajo debe ser citado como:

Pangua Irigaray C, Espuelas Millán S, Martínez Ohárriz C, Irache Garreta JM. Human serum albumin as a potential nanocarrier for the oral delivery of therapeutic proteins. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):15-7.

Diseño y desarrollo de un sistema automatizado para el control global de la impresión 3D de medicamentos pediátricos

Díaz Torres Eduardo^{*1,2}, Suárez González Javier¹, Cáceres Pérez Amor R^{1,2}, Magariños Triviño María^{1,2}, Echezarreta López M. Magdalena¹, Santoveña Estévez Ana¹, Fariña José B.¹

¹ Departamento Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Universidad de La Laguna

² Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida. Universidad de La Laguna.

*Correspondencia: ediaztor@ull.edu.es

1. Introducción

En pediatría, las opciones terapéuticas individualizadas son una prioridad debido a la ausencia de medicamentos comercializados adecuados en cuanto a dosis, vía de administración y/o formas farmacéuticas [1]. La impresión 3D permite obtener medicamentos individualizados, ya que se puede, a partir de la construcción de formas 3D por deposición secuencial, obtener nuevas formas farmacéuticas individualizadas.

La dosis del principio activo, del inglés API, puede modificarse variando el volumen de la formulación de partida que es extruida, pudiendo ser filamentos (del inglés, FDM), masas semisólidas (del inglés, SSE) o mezclas de sólidos pulverulentos (del inglés, DPE).

Por otro lado, los atributos finales de la forma farmacéutica también pueden ser modificados a través de un ajuste preciso de los parámetros clave de impresión [2].

A pesar de las numerosas ventajas de la impresión 3D para la obtención de medicamentos individualizados, hay muchos pasos en el proceso que requieren personal cualificado, siendo un hándicap para la integración de esta tecnología en la práctica clínica hospitalaria y en los servicios de farmacia hospitalaria [1].

Los objetivos de este estudio son diseñar y desarrollar una aplicación informática que permita automatizar el proceso de impresión 3D para el

desarrollo de nuevas formulaciones aptas para niños, y que a su vez fuera compatible con las tecnologías de impresión 3D más prometedoras en el campo del desarrollo galénico. Aplicar la calidad por diseño (del inglés, QbD) y la tecnología analítica de procesos (del inglés, PAT) para garantizar los atributos de calidad finales de las formas farmacéuticas.

2. Materiales y métodos

Para facilitar la creación y diseño de nuevas formulaciones de partida, conteniendo uno o varios API junto a una serie de excipientes, se dotó al software de una base de datos unificada.

Las bases de datos empleadas para la información básica de los API, indicaciones pediátricas y dosis requeridas fueron las bases de datos BotPlus [3], Pediamecum [4] y el BNF for children [5]. Mientras que para las características de los excipientes y el perfil de seguridad en pediatría se obtuvieron de las bases de datos STEP [6], IID [7] y ChemIDplus [8].

El cálculo de la dosis, la generación de la forma 3D de la forma de dosificación y la aplicación de los parámetros de impresión se realizaron automáticamente utilizando un script de Python diseñado por el grupo.

Por último, para evaluar la calidad según PAT se utilizaron los datos aportados por varios sensores en línea instalados en la impresora (sensor de presión, temperatura).

3. Resultados y Discusión

3.1. *Diseño de nuevas formulaciones*

La base de datos de API y excipientes disponibles en el software permite al farmacéutico/usuario realizar una correcta selección de los excipientes en el diseño de un nuevo cartucho de impresión, en función de las características de los API y tecnología de impresión 3D. Por otro lado, las recomendaciones del software permiten seleccionar los parámetros de impresión 3D.

Ambos, cartucho y perfil, se validan para un rango de dosis de API utilizando un archivo .stl generado automáticamente con un patrón de formas 3D de diferentes dosis con su posterior análisis estadístico siguiendo las directrices de la ICH Q2(R1) [9].

3.2. *Cálculo automatizado de la dosis*

En función de la prescripción médica, el software calcula la dosis de API necesaria para una indicación específica y para un paciente determinado, mostrando una sugerencia de pauta posológica en función de las características del paciente.

A continuación, el farmacéutico hospitalario asigna a cada una de estas prescripciones un cartucho de impresión con su conjunto de parámetros y tecnología de impresión.

3.3. *Creación de la forma 3D conteniendo la dosis de API*

El software genera una forma 3D que contiene la dosis requerida de API y comprueba que la cantidad de excipientes requeridas no superan los límites de seguridad pediátricos en función

de las características de un paciente determinado (edad, peso, insuficiencia renal o hepática).

3.4. *Control de calidad en línea*

El software mediante PAT, realiza automáticamente el control de calidad con los datos recogidos (presión y temperatura de impresión, masa individual de cada forma farmacéutica, análisis de imágenes, etc.), prediciendo qué forma farmacéutica cumple o no los estándares de calidad requeridos.

4. Conclusiones

La implementación del software en la práctica clínica puede incentivar el desarrollo de los medicamentos individualizados para pediatría, adaptados a las características de un paciente concreto, ajustando la dosis, la vía de administración y la forma farmacéutica.

Por otro lado, permitirá reducir los errores de dosificación en pediatría gracias a la calculadora de dosis de API según la indicación, la generación automática de las formas 3D y el control integrado de las plataformas de impresión 3D, todo ello en un software integral.

Además, el sistema de validación de los cartuchos y el conjunto de parámetros de impresión, así como el uso de QbD y PAT a lo largo de todo el proceso garantizan los atributos de calidad finales.

Agradecimientos

E. Díaz-Torres beneficiario del programa predoctoral de formación de personal investigador en Canarias de la Consejería de Economía, Conocimiento y Empleo.

Referencias bibliográficas

1. Elbadawi M, Mccoubrey LE, Gavins FKH, et al. Disrupting 3D printing of medicines with machine learning. Trends Pharmacol Sci [Internet]. 2021;xx:1–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.tips.2021.06.002>.
2. Díaz-Torres E, Santoveña-Estévez A, Fariña JB. A micro-extrusion 3D printing platform for fabrication of orodispersible printlets for pediatric use. 2021;605. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120854>.
3. Consejo General de Colegios Farmacéuticos. Bot PLUS 2.0.
4. Comité de Medicamentos de la Asociación Española de Pediatría. Pediamécum [Internet]. 2015 [cited 2021 Jul 20]. Available from: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum>.
5. Paediatric Formulary Committee. BNF for Children (online) [Internet]. [cited 2021 Jul 20]. Available from: <http://www.medicinescomplete.com>.

6. European Paediatric Formulation Initiative (EuPFI). Safety and Toxicity of Excipients for Paediatric (STEP) Database [Internet]. [cited 2021 Jul 20]. Available from: <https://step-db.ucl.ac.uk/>.
7. U.S. Food and Drug Administration. Inactive Ingredient Database (IID) [Internet]. [cited 2021 Jul 20]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cder/iig/index.Cfm>.
8. National Library of Medicine. ChemIDplus [Internet]. [cited 2021 Jul 20]. Available from: <https://chem.nlm.nih.gov/chemidplus/>.
9. ICH The International Conference on Harmonisation. Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1). 2005.

Este trabajo debe ser citado como:

Díaz Torres E, Suárez González J, Cáceres Pérez A, Magariños Triviño M, Echezarreta López M M, Santoveña Estévez A, Fariña J B. Diseño y desarrollo de un sistema automatizado para el control global de la impresión 3D de medicamentos pediátricos. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):18-20.

Evaluación de nanoplataformas magnetopoliméricas con potencial aplicación en la teranosis antitumoral

García García Gracia^{*1}, Caro Carlos², Fernández Álvarez Fátima³, García Martín María Luisa^{2,4}, Arias José L.^{3,5}

¹ Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, 28223 Madrid, España.

² Centro Andaluz de Nanomedicina y Biomedicina (BIONAND), Junta de Andalucía-Universidad de Málaga, 29590 Málaga, España.

³ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, 18011 Granada, España.

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), 28029 Madrid, España.

⁵ Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España.

*Correspondencia: gracia.garcia@ufv.es

1. Introducción

La lucha frente al cáncer requiere de Medicina de precisión. En este sentido, la inclusión de nanopartículas (NPs) de óxido de hierro (ej. Fe₃O₄) en nanoplataformas poliméricas presenta gran interés por su potencial para constituir herramientas teranósticas [1].

En esta investigación se diseña y caracteriza un nanosistema multifuncional constituido por NPs de Fe₃O₄ embebidas en una nanomatriz de policaprolatona (PCL) funcionalizada con quitosano (CS). Se estudiará su capacidad como agentes de hipertermia, como sistemas de liberación ante estímulos de pH y temperatura de gemcitabina (GEM) y como agentes de contraste en RMI. Por último, se determinará su perfil de biodistribución.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Todos los reactivos químicos utilizados presentaban calidad analítica.

2.2. Métodos

2.1.1. Diseño de las nanoplataformas

La obtención de las NPs de Fe₃O₄/PCL y Fe₃O₄/PCL cargadas con GEM se llevó a cabo siguiendo un método previamente descrito [2]. La funcionalización de las NPs de Fe₃O₄/PCL con CS se hizo mediante coacervación iónica.

2.1.2. Caracterización fisicoquímica y respuesta magnética

Se investigó mediante DLS, HRTEM, EDX, XRD y electroforesis. La respuesta magnética se definió mediante el ciclo de histéresis y un análisis de la respuesta a un campo magnético de 0.4 T.

2.1.3. Ensayos de biocompatibilidad

Se llevaron a cabo ensayos de hemocompatibilidad y estudios de proliferación y morfología celular in vitro en la línea HFF-1 mediante análisis de imagen high-content (n = 4).

2.1.4. Capacidad de hipertermia magnética

Dispersiones de NPs (10 mg/mL) fueron sometidas a un campo magnético alterno (250 kHz y 4 kA/m) durante 3 h.

2.1.5. Capacidad de transporte de fármaco

La capacidad de las NPs para cargar fármaco se determinó de forma indirecta. Los perfiles de liberación de GEM se obtuvieron mediante ensayos de diálisis, usando medios de liberación de diferentes características. La cuantificación de la cantidad cargada o liberada se realizó mediante espectrofotometría de UV-Vis ($n = 3$).

2.1.6. Capacidad como agente de contraste

Se investigó la capacidad como agente de contraste en RMI *in vitro* e *in vivo* (ratones Balb/c; $n = 3$). Todos los experimentos *in vivo* fueron realizados en el Centro de Experimentación Animal de BIONAND, aprobados por un comité local de cuidado animal de acuerdo con la directiva 2010/63/EU (2010) y la legislación española para el cuidado y manejo de animales de laboratorio (R.D. 53/2013).

3. Resultados y Discusión

3.1. Estructura, magnetismo y biocompatibilidad

La carga eléctrica superficial, los espectros de XRD, el mapa de distribución de Fe y N (Figura 1a), y el espectro de EDX permitieron confirmar la estructura (Fe₃O₄/PCL)/CS. Las NPs presentaron un tamaño de 308 ± 74 nm (Figura 1b), un PdI de 0.02 y un ZP de 28.4 ± 0.6 ($n = 3$). Las NPs demostraron un comportamiento superparamagnético (Figura 1c). Su biocompatibilidad se demostró al no inducir cambios en los componentes de la sangre (eritrocitos, plaquetas, sistema complemento), ni en la viabilidad ni morfología de las células HFF-1 utilizadas (Figura 1d).

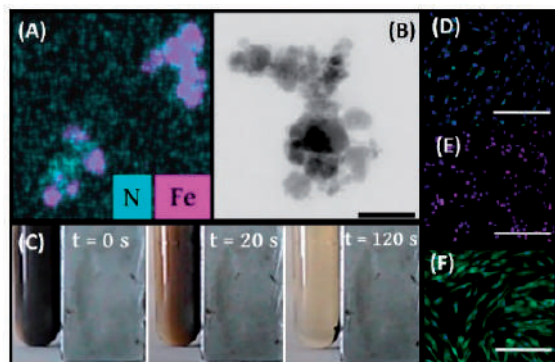


Fig. 1. (A) mapa elemental de nitrógeno (N) y hierro (Fe). (B) imagen HRTEM. (C) respuesta magnética (≈ 0.1 %). (D) y (E) control negativo (PBS) y positivo de HFF-1

(Tritón X-100, 1 %, p/v). (F) HFF-1 con NPs (100 $\mu\text{g/mL}$ de Fe).

3.2. Hipertermia magnética y vehiculización de gemcitabina

La dispersión de NPs demostró efectividad como agente de hipertermia magnética. Concretamente, se alcanzó la temperatura mínima de hipertermia (41°C) en ≈ 15 min y la máxima (45°C) en ≈ 30 min.

Las NPs presentaron una capacidad de carga adecuada a la máxima concentración de GEM utilizada (DL ≈ 11 %). Los perfiles de liberación obtenidos en pH 5.0 y 45°C alcanzaron una velocidad de liberación superior a la obtenida en condiciones fisiológica (4 y 24 veces mayor, respectivamente). Así, se postula su aplicación como sistemas de liberación selectiva en el microambiente tumoral.

3.4. Resonancia magnética de imagen y biodistribución

La administración *in vivo* de las NPs (5 mg de hierro/Kg) permitió obtener mapas e imágenes de RMI, validando su utilización como agentes de contraste T2, y describir el perfil de biodistribución en los órganos del sistema fagocítico mononuclear (Figura 2). La biodistribución se confirmó con el análisis histológico realizado a las 24 h.

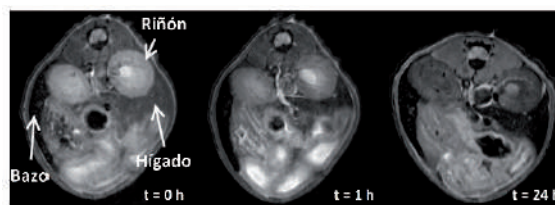


Fig. 2. Imágenes T2 de RMI a las 0, 1 y 24 h.

4. Conclusiones

Se ha logrado la formulación de NPs con potencial aplicación en teranosis antitumoral debido a su demostrado potencial como agente de hipertermia magnética y de contraste en MRI. Además, se demuestra la posibilidad de establecer un tratamiento con GEM selectivo por su capacidad de liberación activada por estímulos (pH y temperatura).

Agradecimientos

Proyecto PI19/01478 (Junta de Andalucía, España) y CTQ2017-86655-R (Ministerio de Economía y Competitividad).

Referencias bibliográficas

1. Blanco-Andujar C, Walter A, Cotin G, Bordeianu C, Mertz D, Felder-Flesch D, Begin-Colin S. Design of iron oxide-based nanoparticles for MRI and magnetic hyperthermia. *Nanomedicine (Lond)*. 2016;11(14):1889-910.
2. García-García G, Fernández-Álvarez F, Cabeza L, Delgado ÁV, Melguizo C, Prados JC, Arias JL. Gemcitabine-Loaded Magnetically Responsive Poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles against Breast Cancer. *Polymers (Basel)*. 2020;12(12):2790.

Este trabajo debe ser citado como:

García García G, Caro C, Fernández Álvarez F, García Martín ML, Arias JL. Evaluación de nanoplataformas magnetopoliméricas con potencial aplicación en la teranosis antitumoral. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):21-3.

Laca ungueal de polipseudorotaxanos: del laboratorio a la clínica

Otero Espinar Francisco J*, Anguiano Igea Soledad, Cutrín Gómez Elena, Nogueiras Nieto Luis, Gómez Amoza José Luis

Dpto. Farmacología Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, USC.

*Correspondencia: francisco.otero@usc.es

1. Introducción

Uno de los factores críticos que condicionan la eficacia de los tratamientos tópicos en las patologías ungueales es la baja permeabilidad de la uña. Esto hace que la mayoría de los tratamientos tópicos no sean eficaces y sea necesario combinar con la administración sistémica.

En este trabajo se aborda el desarrollo integral de un sistema tópico ungueal, desde su diseño en el laboratorio hasta su autorización de comercialización.

La tecnología empleada en la elaboración de la laca puede aplicarse a diversas sustancias, lo que abre un amplio abanico de posibilidades de tratamiento de patologías y alteraciones ungueales.

2. Materiales y métodos

2.1. Desarrollo de las formulaciones

Estudios realizados de la asociación supramolecular entre las ciclodextrinas y los poloxámeros y su interacción con la placa ungueal, permitieron obtener un primer vehículo acuoso termosensible elaborado a partir de estos polipseudorotaxanos y cuyos resultados fueron objeto de la concesión de la patente ES2369101B2 [1].

Sobre la base de esta patente, se optimizaron las condiciones de preparación y composición del vehículo y se logró obtener una nueva laca de uñas de base hidro-alcohólica que mejoraba significativamente las características cosméti-

cas y la permeabilidad ungueal de dos principios activos estudiados, ciclopiroxolamina y clobetasol propionato.

Los prometedores resultados obtenidos tras la modificación de la formulación inicial y los posteriores estudios de optimización de sus principales componentes nos impulsó a la solicitud de una nueva patente europea [2], que ha sido extendida a varios países. Esta patente ha sido licenciada a una compañía farmacéutica internacional que ha realizado los estudios clínicos.

2.2. Estudios clínicos

Con las formulaciones seleccionadas se han realizado dos tipos de ensayos clínicos en humanos. Un ensayo de fase III, multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, de grupos paralelos, para evaluar la eficacia y seguridad de un barniz de uñas de ciclopiroxolamina. Se completó con un ensayo piloto de evaluación de la respuesta clínica y de su tolerabilidad frente a la mejora cosmetológica y mantenimiento de uñas y finalmente un estudio de evaluación de la eficacia reparadora del barniz de uñas, de la tolerancia bajo control dermatológico y de la evaluación subjetiva de la eficacia y de las características organolépticas.

Adicionalmente se realizó un estudio clínico para comprobar la seguridad y eficacia de una laca de metilsulfonilmetano frente a la fragilidad de las uñas y alteraciones como las líneas de Beau y la onicorrexis.

3. Resultados y Discusión

Todas las laca optimizadas presentan los siguientes componentes en el vehículo (adaptando su proporción a la polaridad del activo): poloxamer P407, laurilsulfato sódico, hidroxipropil- β -ciclodextrina, acetato de etilo, etanol y agua purificada. Con las laca elaboradas se han realizado estudios de penetración y difusión ungueal con diferentes principios activos antifúngicos y antipsoriáticos.

Los estudios de permeabilidad mostraron una penetración significativa de estos activos a partir de la laca y en el caso de los fármacos antifúngicos una mejora con relación a referencias del mercado (Fig. 1).

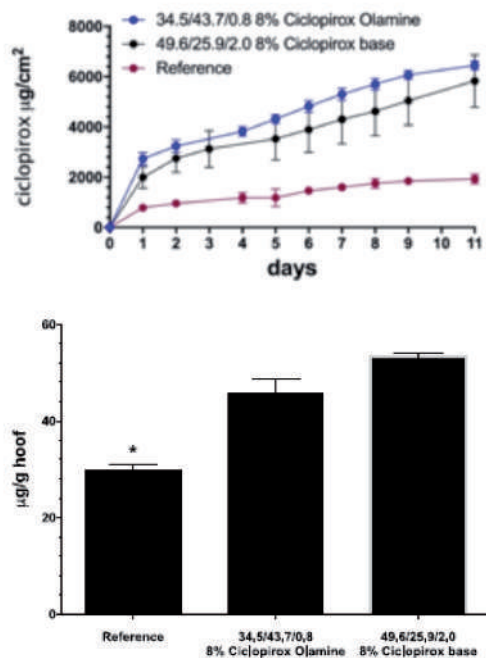


Fig 1. Cinéticas de difusión y cantidad de fármaco acumulado a los 11 días en pezuña bovina a partir de laca optimizadas y Ref OnyTec® [3]

Los estudios clínicos en fase III de eficacia y seguridad de la laca de ciclopiroxolamina, empleando como producto comparador de referencia OnyTec®, muestran un nivel de curación completa similar para la laca y la referencia (alrededor del 10-11 %), pero con una curación micológica superior (Fig. 2).

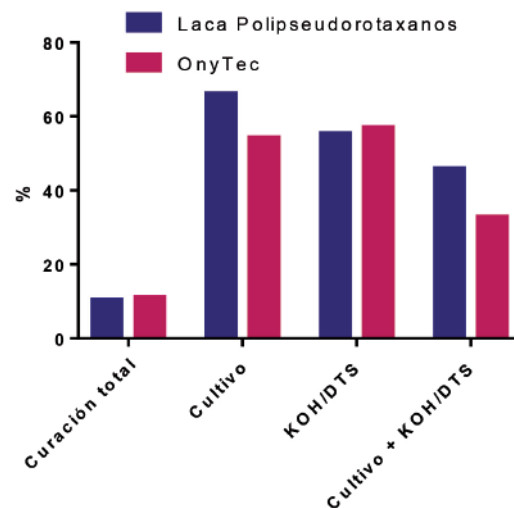


Fig 2. Porcentaje de curación micológica

El resultado del ensayo clínico de tolerabilidad y mejora cosmética de la laca realizada en 25 voluntarios con alteraciones cosméticas, mostraron una clara mejoría a las 24 semanas de tratamiento, con una reducción significativa del área afectada, de las alteraciones del color y un descenso en proporción de pacientes con alteraciones del lecho ungueal (31 %). Los resultados del estudio del efecto BRISA muestran una apreciación muy positiva de los voluntarios en cuanto al brillo y belleza de las uñas, regeneración y crecimiento e imagen y color.

Finalmente, el estudio clínico de eficacia de la laca desarrollada conteniendo metilsulfonil-metano realizado en 30 voluntarios y en el que se utilizó Betralfatus® como referencia mostró una mejor eficacia de la nueva laca desarrollada frente a las líneas de Beau y onicorrexis y una mejor satisfacción de los voluntarios [4].

4. Conclusiones

Las formulaciones desarrolladas han mostrado que con el nuevo barniz de uñas se obtiene resultados de penetración transungueal significativamente superiores a las que ofrecen otras laca del mercado. Se mejoran además la tolerabilidad, regeneración y aceptabilidad por parte del paciente. La tecnología de esta nueva laca representa un avance como vehículo de sustancias activas para aplicaciones tópicas en diversas patologías.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Área de Valorización, Transferencia y Emprendimiento de USC la financiación recibida del programa Acelerador de Transferencia en la convocatoria 2012.

In memoriam a nuestro compañero y amigo José Luis Gómez Amoza

Referencias bibliográficas

1. Otero Espinar FJ, Nogueiras Nieto, L., Anguiano Igea S. Sistema farmacéutico acuoso para la administración de fármacos en las uñas. Patente española ES2369101B2, 2012
2. Otero Espinar FJ, Anguiano Igea S., Cutrín Gómez ML, Gómez Amoza JL Hydroalcoholic system for nail treatment. Patente europea, EP3151863B1, 2020
3. Cutrín Gómez E, Conde Penedo A. Anguiano Igea S, Gómez Amoza JL, Otero Espinar FJ. Optimization of drug permeation from 8 % colopirox cyclodextrin/poloxamer-soluble polypseudorotaxane-based nail lacquers. *Pharmaceutics*. 2020;12(231):1-14.
4. Fernández Campos F, Navarro F, Corrales A, Picas J, Pena E, González J, Otero Espinar FJ. Transungual delivery, anti-inflammatory activity, and an vivo assessment of a cyclodextrin polypseudorotaxanes nail lacquer. *Pharmaceutics*. 2020;12(730):1-18.

Este trabajo debe ser citado como:

Otero Espinar FJ, Anguiano Igea S, Cutrín Gómez E, Nogueiras Nieto L, Gómez Amoza, JL. Laca ungueal de polipseudorotaxanos: del laboratorio a la clínica. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):24-6.

Estudio comparativo pre-post intervención en la prescripción de tapentadol y la combinación de oxicodona/naloxona en la atención primaria de salud

Viñas Bastart Montserrat^{1*}, Oms Arias Miriam², Pedraza Gutierrez Àfrica², Lastra Cecilia F.¹, Mariño Eduardo L.¹, Modamio Pilar¹

¹ Unidad de Farmacia Clínica y Atención Farmacéutica, Sección de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Fisicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona.

² Direcció Atenció Primària Costa de Ponent, Institut Català de la Salut, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona.

*Correspondencia: montsavb8888@gmail.com

1. Introducción

El uso de opioides en España durante el período 2008-2015 [1] aumentó de 7.3 dosis diarias definidas (DDD) por 1,000 habitantes/día a 13.3, lo que supuso un incremento superior al 80 %. En nuestra área de estudio en la atención primaria de salud se encontró un aumento en el consumo de tapentadol y la combinación de oxicodona/naloxona durante los años 2014 a 2017 (1.3 % DHD tapentadol y 1.4 % DHD oxicodona/naloxona a 2.3 % DHD y 1.9 % DHD, respectivamente) [2].

En un estudio previo llevado a cabo también en nuestra área, el patrón de uso de ambos medicamentos fueron pacientes del sexo femenino, entre 71 y 90 años, con disminución leve o moderada de la función renal y con una duración promedio de 31 a 90 días. Las dosis diarias fueron mayores en los tratamientos más prolongados, principalmente de entre uno y dos años y la mayoría provenían de los médicos de atención primaria [2]. Se llevaron a cabo intervenciones como añadir al programa clínico de atención primaria (ECAP) la pauta posológica recomendada de ambos medicamentos.

Así, el objetivo del presente estudio fue caracterizar los patrones de uso de tapentadol y la combinación oxicodona/naloxona en la atención primaria de salud tras la implementación de las intervenciones de mejora.

2. Materiales y métodos

Se realizó un estudio pre-post intervención (2017 vs. 2021). La población objeto de estudio fueron todos los pacientes de una Dirección de Atención Primaria (53 equipos de Atención Primaria) del Institut Català de la Salut con prescripción activa de tapentadol y/o de oxicodona/naloxona. Las variables analizadas pre y post-intervención fueron: género, duración de tratamiento, origen prescripción.

3. Resultados y Discusión

Se encontró un aumento del número de prescripciones activas sólo en el caso de tapentadol (de un 30.0 % en mujeres y de un 25.0 % en hombres) [Fig. 1]. El sexo femenino y entre 71 y 90 años sigue siendo el patrón mayoritario en ambos medicamentos.

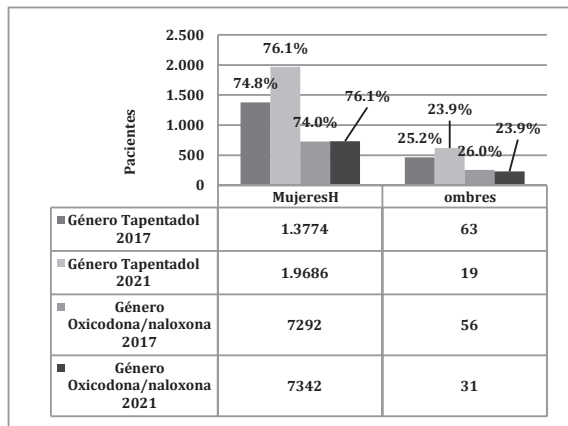


Fig. 1. Distribución de los pacientes con prescripción activa de los medicamentos estudiados en función del género (2017 vs. 2021).

Más de un 80 % de las prescripciones provenían del médico de atención primaria y solo en el caso de tapentadol se ha observado un aumento del 30 % [Fig. 3].

Al comparar las pautas posológicas prescritas, se observó una disminución del número de pacientes con pautas prescritas fuera de ficha técnica [3] en el 2017 (2.3 % y 2.9 %) respecto al 2021 (0.5 % y 0.2 %) para tapentadol y oxicodona/naloxona, respectivamente.

4. Conclusiones

Se encontró un aumento del uso prolongado de tapentadol para el que no existe evidencia cien-

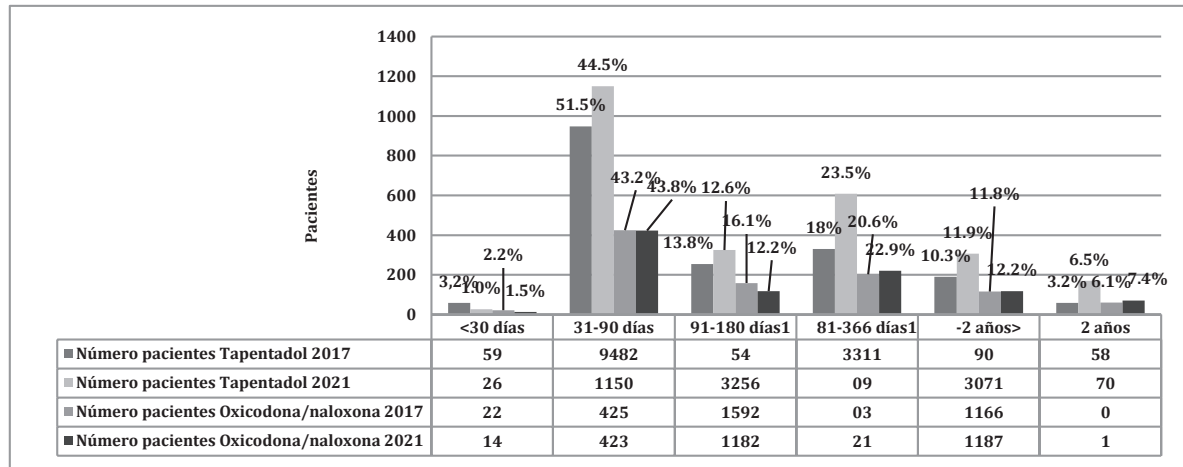


Fig. 2. Duración del tratamiento (2017 vs. 2021).

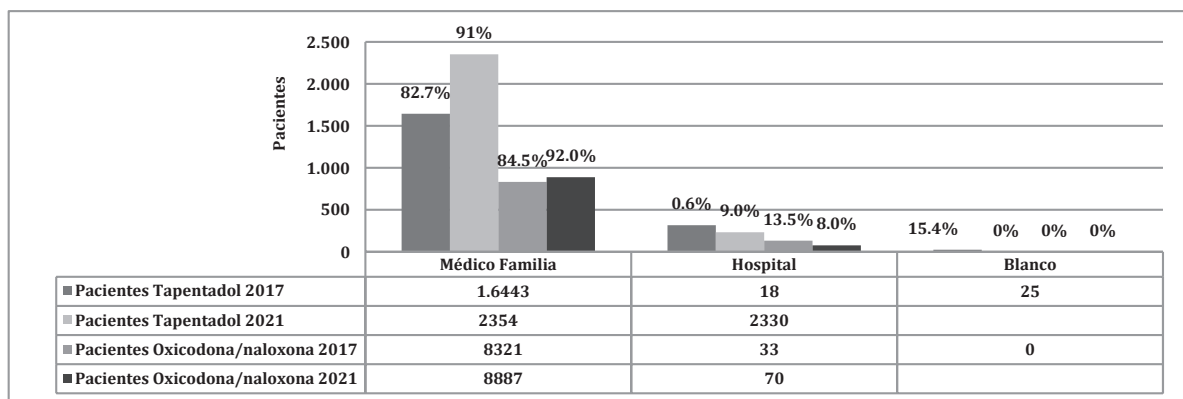


Fig. 3. Origen de la prescripción (2017 vs. 2021).

Alrededor de un 50 % de los tratamientos en ambos medicamentos tenía una duración entre 1 y 3 meses y solo en el caso de tapentadol este patrón se incrementó en un 17.5 % [Fig. 2].

tífica de su eficacia ni seguridad. Oxidodona/naloxona mantuvo su patrón de uso. Es conveniente seguir insistiendo en la mejora del uso de estos medicamentos.

Referencias bibliográficas

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. [Informe sobre el uso de medicamentos. Uso de medicamentos opioides en España durante el período 2008-2015]. Informe U/OPI/V1/13022017. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentosUsoHumano/observatorio/docs/opioides-2008-2015.pdf>.
2. Viñas-Bastart M, Oms-Arias M, Pedraza-Gutiérrez À, Lizano-Díez I, Mariño EL, Modamio P. Tapentadol and Oxycodone/Naloxone prescribing patterns in primary health care in Catalonia, Spain: A cross-sectional study. Risk management and healthcare policy. In Press 2021
3. Centro de información online de medicamentos de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Fichas técnicas. Disponible en: <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html>.

Este trabajo debe ser citado como:

Viñas Bastart M, Oms Arias M, Pedraza Gutierrez A, Lastra CF, Mariño E, Modamio P. Estudio comparativo pre-post intervención en la prescripción de tapentadol y la combinación de oxicodona/naloxona en la atención primaria de salud a. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):27-9.

Polycaprolactone hybrid scaffolds combining 3D printing and electrospinning to guide the osteogenic differentiation of MC3T3 preosteoblasts for bone tissue regeneration

Gonzalez Pujana Ainhoa^{1,2,3}, Hernando Sara^{1,2,3}, Carranza Teresa⁴, De La Caba Koro^{5,6}, Guerrero Pedro^{5,6,7}, Igartua Manoli^{1,2,3}, Santos Vizcaino Edorta^{1,2,3}, Hernández Rosa María^{1,2,3} *

¹ NanoBioCel Research Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Paseo de la Universidad 7, 01006 Vitoria Gasteiz, Spain.

² Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Institute of Health Carlos III, Madrid, Spain.

³ Bioaraba, NanoBioCel Research Group, Vitoria Gasteiz, Spain.

⁴ Domotek SL, B⁹ Santa Luzi 17, 20400 Tolosa, Spain.

⁵ BIOMAT Research Group, University of the Basque Country (UPV/EHU), Escuela de Ingeniería de Gipuzkoa, Plaza de Europa 1, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain.

⁶ BCMaterials, Basque Center for Materials, Applications and Nanostructures, UPV/EHU Science Park, 48940, Leioa, Spain.

⁷ Proteinmat materials SL, Avenida de Tolosa 72, 20018 Donostia-San Sebastián, Spain.

*Correspondencia: rosa.hernandez@ehu.es

1. Introduction

Polycaprolactone (PCL), a synthetic linear hydrophobic polymer, has been widely used in tissue engineering over the last decade. This FDA approved polymer has been specially applied in the field of bone tissue engineering since it presents interesting features including a high biocompatibility, chemical stability and adequate mechanical properties [1,2].

Different methods can be employed for the fabrication of PCL-based scaffolds for bone tissue regeneration. Among them, electrospinning is a versatile technique that generates a nanofibrous network that resembles the natural extracellular matrix (ECM), thus enhancing cell adhesion and promoting a correct cell function. On the other hand, 3D printed PCL scaffolds have demonstrated to enable cellular migration, vessel formation and in growth of tissue due to its architecture, which resembles the mechanical features of bone tissue [1,3].

Taking advantage of the unique properties of PCL and the important advantages of both scaffold-

fold-fabrication techniques above mentioned, in the present work, we developed PCL hybrid scaffolds, comprised of a bioprinted PCL layer covered by electrospun nanofibers of such polymer. Obtained results showed the potential of this platform to drive the differentiation of MC3T3-E1 murine preosteoblast towards bone tissue.

2. Materials and methods

The hybrid PCL scaffolds were fabricated using domoBIO 2A bioprinter Domotek equipped with an electrospinning module and a filament extruder. The two technologies work in sequential mode. Resulting scaffolds had a diameter of 21 mm and a height of 1 mm. Biocompatibility studies were performed in L929 fibroblasts following ISO guidelines (ISO 10993-5:2009) for in vitro cytotoxic tests [4]. MC3T3-E1 murine preosteoblasts were cultured following cell culture standard conditions. For all experiments, cells were used at passage 4-7. Metabolic activity was assessed by means of the Cell Counting Kit-

8 (CCK-8) and early osteogenic features were measured following the intracellular alkaline phosphatase (ALP) test.

3. Results and Discussion

Hybrid PCL scaffolds demonstrated good biocompatibility, scoring values above 70 % of the positive controls in both direct and indirect cytotoxicity assays (Fig. 2A-B). Furthermore, MC3T3 preosteoblasts were cultured for 21 days on the hybrid PCL scaffolds, showing an increase in proliferation over time (Fig. 3A-B). Moreover, MC3T3-E1 cells cultured in the hybrid PCL scaffolds showed a significantly increased activity of intracellular ALP — a marker of early osteogenic differentiation— as compared to the same cells cultured onto 2D plates (Fig. 3C).

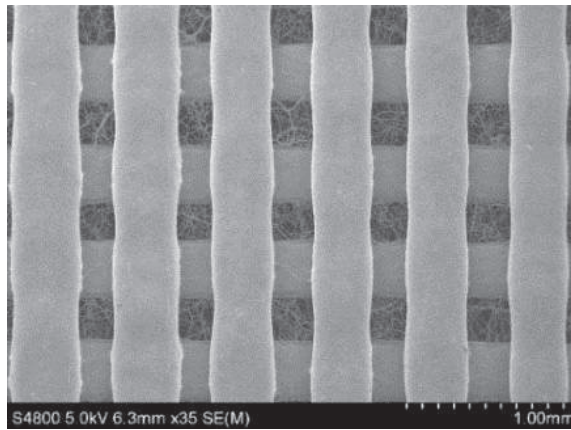


Fig1. SEM image of PCL hybrid scaffold

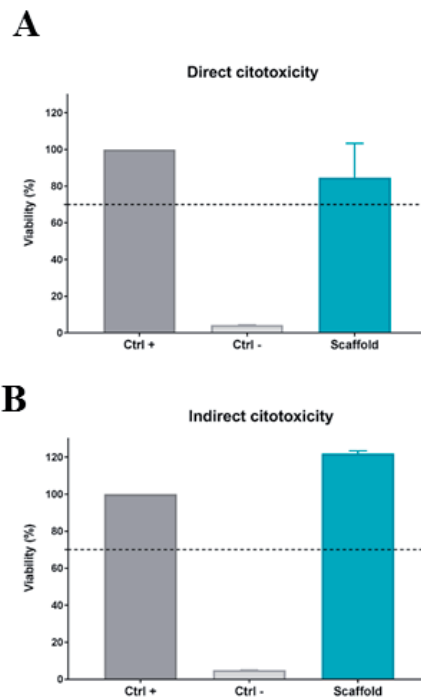


Fig.2. Biocompatibility of hybrid PCL scaffolds. (A) Direct and (B) indirect cytotoxicity evaluation of PCL scaffolds according to ISO 109

4. Conclusions

This new hybrid PCL scaffold was demonstrated biocompatible and enabled the culture and proliferation of MC3T3 preosteoblasts, while promoted their ALP activity. These results indicate the scaffolds developed here as a potential platform to guide MC3T3 preosteoblast through bone tissue differentiation

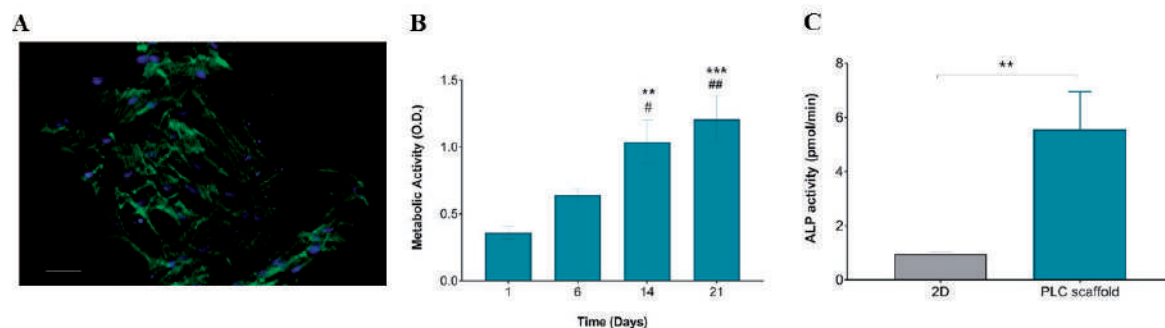


Fig 3. MC3T3-E1 murine preosteoblast culture in hybrid PCL scaffolds. (A-B) Hybrid PCL scaffolds enabled MC3T3 culture and proliferation, with the subsequent increase in metabolic activity over-time (C). Intracellular ALP activity of MC 3T3-E1 on tissue culture plates (2D) or after 21 days on PCL scaffold

Acknowledgements

Authors thank the Basque Country Government (No IT907-16). MCI/AEI/FEDER, UE (RTI2018-097100-B-C22). A. Gonzalez-Pujana and S. Hernando acknowledge the postdoctoral grants from the University of the Basque Country (UPV/EHU) (ESPDOC20/119, DOCREC21/07).

References

1. Teoh et al.: Three-Dimensional Printed Polycaprolactone Scaffolds for Bone Regeneration Success and Future Perspective. *Tissue Eng. Part A*. 2019;25(13-14):931-5.
2. Yang X et al.: The Application of Polycaprolactone in Three-Dimensional Printing Scaffolds for Bone Tissue Engineering. *Polymers (Basel)* 2021;13(16) 10.3390/polym13162754.
3. Aidun A, et al.: Graphene oxide incorporated polycaprolactone/chitosan/collagen electrospun scaffold: Enhanced osteogenic properties for bone tissue engineering. *Artif Organs*. 2019;43(10):E264-E281.
4. ISO 10993-5 2: Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity (2009).

Este trabajo debe ser citado como:

Gonzalez Pujana A, Hernando S, Carranza,T, De La Caba K, Guerrero P, Igartua M, Santos Vizcaino E, Hernandez Rosa, M. Polycaprolactone hybrid scaffolds combining 3D printing and electrospinning to guide the osteogenic differentiation of MC3T3 preosteoblasts for bone tissue regeneration. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):30-2.

Pharmaceutical equivalence and stability study of levofloxacin tablets commercialized in Europe and Africa

Cáceres Pérez Amor R ^{*1,2,3}, El Kory Mohamed B⁴, Elhadj Malick Kane⁵, Suárez Gonzalez Javier^{1,2}, Betancor Inés¹, Soriano Mabel^{1,2}, Echezarreta Magdalena^{1,2}, Santoveña Estevez Ana^{1,2}, Fariña José B^{1,2}

¹ Departamento Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

² Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

³ Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

⁴ Laboratoire National de Contrôle de la Qualité des Médicaments. Nouakchott, Mauritania.

⁵ Programme Nationale de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre. Ministère de la santé. Nouakchott, Mauritania.

*Correspondencia: acaceres@ull.edu.es

1. Introduction

Tuberculosis (TB) is one of the most severe and deadly infectious diseases in African region, where there is a high prevalence of multi-drug resistant tuberculosis (MDR-TB) too [1]. This resistant has increased in the recent years due to the commercialization of substandard and falsified medicines in low and middle income countries. The quality of the medicines may be affected in the whole steps of its lifecycle. In this sense, many medicines require specific conditions to ensure their quality during storage or shipping. In addition, climatic conditions of African countries are extremely harsh for many medicines, so packaging must be selected for environments with high temperature and humidity. Then, the detection of such poor-quality medicines it is essential to ensure an optimum treatment of TB disease and must be carried out by WHO-accredited reference laboratories [2]. In this way, the ISACAM project (www.isacam.eu) aims to establish a medicine quality assurance system in collaboration with the Laboratoire National de Contrôle de la Qualité des Médicaments (LNC-QM) and achieve its qualification.

Levofloxacin (LVFX) is one of the most widely

used drugs to treat MDR-TB and its quality assurance is essential to cure the disease and prevent new resistance.

The objective of this work was to evaluate the influence of storage conditions on the quality attributes of 3 LVFX medicines obtained from European and African supply-chain and compare the formulations through the dissolution profiles.

2. Materials and methods

500 mg LVFX film-coated tablets were collected: Tavanic[®] (Tenerife, Spain), Levofloxacin Cinfa[®] (Pamplona, Spain) and Amesol[®] (Nouakchott, Mauritania) from distribution company, manufacturer laboratory and an official national program against TB, respectively.

All medicines were collected in December 2019, transported to ULL lab in an isothermal bag, stored at 5 °C and 11 % of relative humidity (RH) and analysed before their expiration date. Primary and secondary package were checked for imperfections, colour changes and lack of relevant information. Ultra-Performance Liquid Chromatography (UPLC, Waters) was employed

to detect and quantify LVFX. The method used was adapted for UPLC and validated following ICHQ2(R1) guideline [3].

2.1. Quality Control and Stability study.

Mass uniformity, disintegration and uniformity of dosage units tests were carried out according to European Pharmacopeia (Eu. Ph.). Dissolution studies were performed according to the procedure recommended by United State Pharmacopeia for Levofloxacin tablets [4]. Then, medicines were stored at climatic zone IV conditions ($40\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C} / 75\text{ \% RH} \pm 5\text{ \% RH}$) in a climatic chamber ICH 110L (Mettler). Content and dissolution studies were performed for each medicine at 3 and 6 months.

2.2. Dissolution profiles.

Samples of 5 mL were withdrawn and replaced with new medium at 5, 10, 15, 20, 30 and 40 minutes to compare their dissolution profiles. The similarity between dissolution profiles were evaluated calculating the similarity factor (f_2) according to European Medicine Agency recommendations [5] using Tavanic[®] as reference medicine.

3. Results and Discussion

At initial time, the packaging medicines were checked and all of them were in good condition and contained the required information. 6 months later, the colour of the packaging had changed while the appearance of the dosage form seemed unchanged.

3.1. Stability study

Every medicine complied with mass uniformity and disintegration Eu. Ph. tests because no units deviate more than 5 % of average weigh and all tablets were disintegrated before 15 minutes. At 0, 3 and 6 months all formulations met with the requirements for uniformity of dosage units and dissolution tests too. In addition, no degradation products or impurities were detected during the study.

References

1. World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2020. 2020.

3.2. Dissolution profiles.

Figure 1 shows the dissolution profiles of all formulations. As can be seen, the best dissolution result was obtained for Levofloxacin Cinfa[®], reaching the asymptotic value before 15 minutes, so f_2 estimation is not necessary and could be considered as a quick dissolution. To compare the dissolution profiles of Amesol[®] and Tavanic[®], sampling points at 10, 15 and 20 minutes were used to calculate f_2 , which was 55.9. Then, the similarity between the dissolution profiles may be accepted.

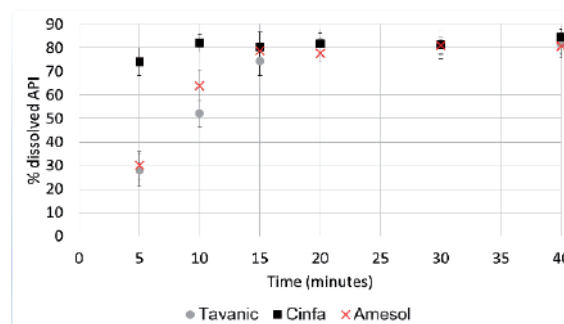


Fig. 1. Dissolution profiles of LVFX medicines

4. Conclusions

The Mauritanian medicine is a pharmaceutical equivalent of Tavanic[®] that meets quality requirements and is not affected by storage conditions. However, the sample size should be expanded to include generics commercialized in Mauritania, medicines from more cities where shipping conditions may affect their qualities and other sites of the supply-chain like pharmacy services, hospitals or centres of diagnostic and treatment.

Acknowledgements

This work was funded by Programa de Cooperación Interreg V-A MAC 2014-2020, ISACAM (MAC2/1.1a/219). Thanks to Laboratorios Cinfa by donation of LVFX and Gobierno de Canarias for a grant to ARCP (TE-SIS2020010045).

2. World Health Organization. A study on the public health and socioeconomic impact of substandard and falsified medical products. 2017.
3. Kim HJ et al. Simple and accurate quantitative analysis of 20 anti-tuberculosis drugs in human plasma using liquid chromatography–electrospray ionization–tandem mass spectrometry. *J Pharm Biomed Anal.* 2015;102:9-16. doi: 10.1016/j.jpba. 2014.08.026
4. USP. Levofloxacin tablets. 2014.
5. European Medicine Agency. Guideline on the investigation on the bioequivalence. 2010.

Este trabajo debe ser citado como:

Caceres Perez AR, El Kory MB, Elhadj Malick K, Suarez Gonzalez J, Betancor I, Soriano M, Echezarreta M, Santoveña Estevez A, Fariña JB. Pharmaceutical equivalence and stability study of levofloxacin tablets commercialized in Europe and Africa. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):33-5.

3D-Bioactive aerogel scaffolds for bone tissue engineering

Iglesias Mejuto Ana*, García González Carlos A

Universidade de Santiago de Compostela, Department of Pharmacology, Pharmacy and Pharmaceutical Technology, I+D Farma Group (GI-1645), Faculty of Pharmacy, and Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain..

*Correspondencia: ana.iglesias.mejuto@rai.usc.es

1. Introduction

Bone tissue engineering (BTE) aims to regenerate this tissue at critical-sized defect sites. An ideal bone scaffold should mimic the bone extracellular matrix and provide suitable mechanical properties to preserve the physiological and anatomical function of the damaged area [1]. Alginate scaffolds are biocompatible and suitable for cell colonization but they lack the bioactivity needed for bone regeneration [2]. Accordingly, hydroxyapatite (HA) is commonly used as a bioactive component in BTE to promote cell adhesion. In general, mechanical and biological properties of bone substitutes can be enhanced by crosslinking strategies. Specifically, glutaraldehyde (GA) is a chemical crosslinker commonly employed on biopolymeric scaffolds to improve their mechanical properties and stability.

Different techniques have been proposed to obtain BTE scaffolds. Among others, three-dimensional (3D) printing is a reproducible and precise technology for the manufacturing of bone scaffolds with patient-specific shapes [3]. Furthermore, alginate bioinks have been widely employed in BTE scaffolds because of its easy and fast crosslinking ability. Nevertheless, one of the current 3D-printing technical limitations is the lack of nanostructuring in the end structures. Aerogel technology could help to solve this problem but the production of these nanoporous materials with a customized external structure is still a remarkable challenge [4].

In this work, alginate-HA aerogels were obtained by the combination of 3D-printing and super-

critical drying techniques. GA post-crosslinking was performed on aerogel scaffolds. Biocompatibility, bioactivity and textural properties of aerogels were then measured and assessed for BTE applications.

2. Materials and methods

Scaffolds were printed from different alginate-HA aqueous inks (6 wt.% alginate aqueous solutions with HA-to-water ratios of 0, 8, 16, or 24 wt.%) using a grid pattern (20x20x1 mm) with 3 layers. After the printing process, scaffolds were put directly in contact with 1 M CaCl₂ for aging. The 3D-aerogels were obtained after solvent exchange to ethanol and supercritical drying (120 bar, 40 °C, 5 g/min, 3 h). GA crosslinking was performed in aerogel scaffolds for 1 h under room temperature and vacuum. The effect of GA treatment on the textural parameters of the scaffolds was evaluated by SEM analysis. Biocompatibility was assessed in BALB 3T3 cells after 24 and 48 h of incubation using this cell line as positive control. Bioactivity assays were performed in simulated body fluid (SBF) at 37 °C for 28 days.

3. Results and Discussion

Homogeneous and customized 3D-structures formed by filaments arranged in layers were successfully obtained by the technological combination herein proposed (Fig. 1). The initial 3D-structure and porosity of the printed gel were preserved in the resulting aerogel scaffolds, with mesopores and macropores clearly recognized.

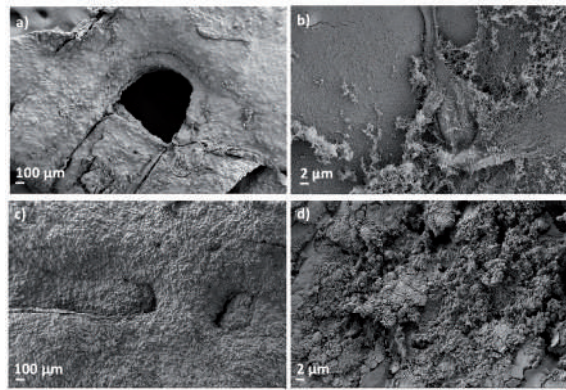


Figure 1: SEM images of alginate-HA aerogels. (a,b) AlgHA16 %. (c,d) AlgHA16 %,GA.

Excellent results of viability of BALB cells were found for all aerogel formulations, without observing statistical significance (t-test, $p < 0.05$) with respect to the positive controls, thus confirming the lack of cytotoxicity. Finally, apatite formation was found at all HA concentrations studied thus confirming the long-term bioactivity of the aerogel scaffolds (Fig. 2). An increasing HA content in the scaffolds resulted in a higher apatite growth.

4. Conclusions

Macroporous alginate-HA aerogel scaffolds following a customized pattern were obtained by the technological combination of 3D-printing and supercritical drying. Lack of cytotoxicity

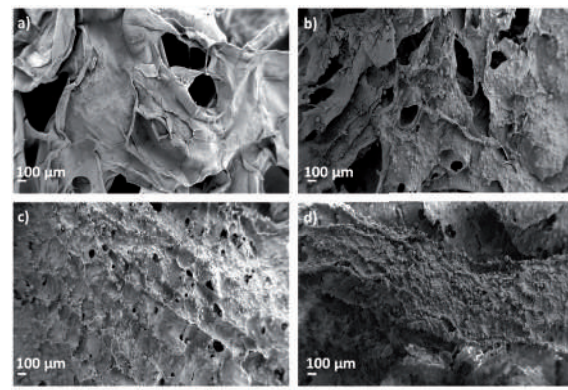


Figure 2: SEM images of alginate-HA aerogels after SBF treatment for 28 days. (a) AlgHA0 %, GA; (b) AlgHA8 %,GA; (c) AlgHA16 %,GA and (d) AlgHA24 %,GA.

and high apatite formation were found at all formulations studied, thus confirming the excellent biocompatibility and bioactivity of alginate-HA aerogel scaffolds and also their potential for BTE applications.

Acknowledgements

This work was supported by Xunta de Galicia [ED431C 2020/17], MICINN [PID2020-120010RB-I00], Agencia Estatal de Investigación [AEI] and FEDER funds. Work carried out in the framework of the COST Action CA18125 “Advanced Engineering and Research of aeroGels for Environment and Life Sciences” (AERoGELS) and funded by the European Commission. A.I.-M. acknowledges to Xunta de Galicia for her predoctoral research fellowship [ED481A- 2020/104]. I. Rial is commended for her technical contribution to this work.

References

1. Tohamy KM, Soliman IE, Mabrouk M, et al. Novel polysaccharide hybrid scaffold loaded with hydroxyapatite: Fabrication, bioactivity, and in vivo study. *Mater Sci Eng C*. 2018;93:1-11.
2. Browning KL, Stocker IN, Gutfreund P, Clarke SM. The effect of alginate composition on adsorption to calcium carbonate surfaces. *J Colloid Interface Sci*. 2021;581:682-9.
3. Lee J, Hong J, Kim W, Kim GH. Bone-derived dECM/alginate bioink for fabricating a 3D cell-laden mesh structure for bone tissue engineering. *Carbohydr Polym*. 2020;250:116914.
4. Feng J, Su B-L, Xia H, et al. Printed aerogels: chemistry, processing, and applications. *Chem Soc Rev*. 2021;50(6):3842-88.

Este trabajo debe ser citado como:

Iglesias Mejuto A, García González CA. 3D-Bioactive aerogel scaffolds for bone tissue engineering. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):36-7.

Caracterización electrocinética de partículas compuestas por núcleo magnético y recubrimiento metálico conjugadas con proteína A. Aplicaciones en diagnóstico

Parera Beatriz*¹, Rica Raúl², López Viota Julián³, López Viota Margarita¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus de Cartuja S/N 18071. Granada. España.

² Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Campus Universitario de Fuentenueva S/N. 18071. Granada. España.

³ Vircell microbiologist. Parque Tecnológico de la Salud. Avicena 8, 18016, Granada, España.

*Correspondencia: bparera@correo.ugr.es

1. Introducción

Gracias a los avances en el campo de la nanotecnología se han desarrollado nanopartículas que poseen propiedades específicas que intentan compensar las posibles deficiencias de los sistemas terapéuticos de diagnóstico [1].

Se requiere un cuidadoso diseño de las nanopartículas para controlar su forma, tamaño y propiedades de superficie.

El objetivo de dicho estudio se centra en la conjugación de nanopartículas metálicas con proteínas específicas de unión a anticuerpos y su posterior caracterización mediante el estudio de sus propiedades eléctricas superficiales.

2. Materiales 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 una suspensión de nanopartículas metálicas mixtas, compuestas por un núcleo con características magnéticas sintetizada mediante coprecipitación química [2] y un recubrimiento de nanopartículas de óxido de cobre.

Se comprobó que las nanopartículas eran capa-

ces de conjugar la proteína A sobre su superficie, tanto de manera hidrofóbica como de manera covalente. Se seleccionó esta proteína de superficie por ser capaz de reconocer en la matriz extracelular, moléculas como los anticuerpos. Por lo tanto, y en último lugar, se completó el estudio conjugando anticuerpos específicos y comprobando las características finales del sistema.

3. Resultados y discusión

Se han obtenido resultados de tamaño, morfología, carga eléctrica superficial y absorbancia óptica.

3.1. Tamaño y morfología de nanopartículas.

Como muestra la tabla 1, durante el proceso de síntesis del sistema se determinó el tamaño y la morfología de las nanopartículas de la suspensión obtenida.

TIPO DE PARTÍCULA	TAMAÑO MEDIO DE PARTÍCULA
NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA	124,0±16,7nm
NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE COBRE	8,0±2,0nm
NANOPARTÍCULAS MIXTAS DE MAGNETITA Y ÓXIDO DE COBRE	230,5±55,1nm

Tabla 1: Tamaño medio de nanopartículas sintetizadas

Una vez obtenidos los valores de tamaño de los diferentes sistemas diseñados, mediante Microscopía Electrónica de Barrido, pudimos determinar la morfología de las nanopartículas obtenidas como se puede apreciar en la figura 1.

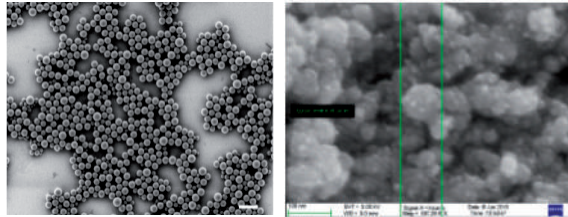


Figura 1: Microfotografías SEM (Microscopía electrónica de barrido) de las partículas de magnetita (izquierda) y magnetita recubierta con óxido de cobre (derecha).

3.2. Propiedades eléctricas superficiales

Con el fin de determinar las propiedades eléctricas superficiales, se realizaron medidas de movilidad electroforética en todo el rango de pH estudiados.

En las siguientes gráficas mostramos la dependencia de la movilidad electroforética de las nanopartículas en función del pH.

La adsorción superficial de proteína A se llevó a cabo desde el punto de vista hidrofóbico y covalente. En la figura 2 observamos el cambio sobre la superficie de las nanopartículas mixtas (línea azul) al conjugarlas con la proteína A (líneas roja y verde).

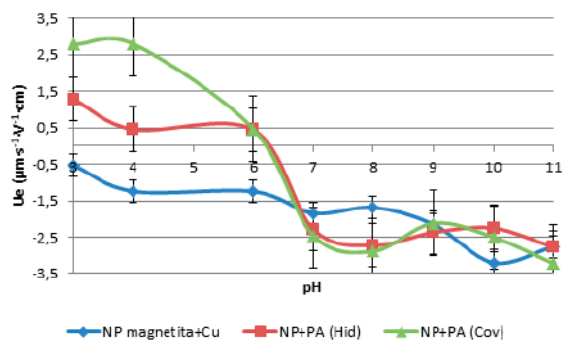


Figura 2: Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las nanopartículas de magnetita y cobre y las conjugadas con la proteína A de manera hidrofóbica y covalente.

Como se puede apreciar en la figura 2, los resultados obtenidos muestran la presencia de un punto isoelectrico a un valor de pH más ácido que el obtenido con las nanopartículas sin proteína A, lo que nos expone que ésta se ha conju-

gado correctamente. De igual modo se comprobó que se había absorbido la proteína realizando un ensayo espectrofotométrico del sobrenadante resultante de la combinación, obteniendo una concentración (absorbancia óptica) de prácticamente cero.

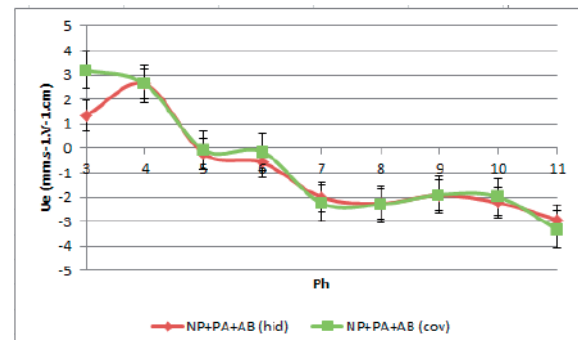


Figura 3: Medidas de movilidad electroforética en función del pH de las nanopartículas conjugadas con la proteína A y con el anticuerpo.

Como se muestra en la figura 3, los resultados obtenidos nos vuelven a mostrar un punto isoelectrico de partícula a un pH aún más ácido que los obtenidos anteriormente, lo que nos lleva a decir que se ha conjugado correctamente el anticuerpo a la proteína. De igual modo se comprobó que se había absorbido el anticuerpo, realizando un ensayo del sobrenadante resultante de la combinación, obteniendo una concentración de prácticamente cero.

4. Conclusiones

El control de las propiedades de las nanopartículas es crucial para determinar su estabilidad, solubilidad, focalización y aplicabilidad.

El diseño propuesto proporciona unos resultados adecuados para su posterior utilización en el campo biomédico, ya que la proteína es capaz de conjugarse con las nanopartículas sintetizadas y a la vez, con un anticuerpo de un determinado microorganismo que, en contacto con su respectivo antígeno, será capaz de reconocerlo y unirse a él.

Agradecimientos

El trabajo realizado, ha sido financiado gracias a la concesión de los proyectos I+D+I de la Junta de Andalucía 2018, en concreto al P18-FR-3583.

Referencias bibliográficas

1. Farokhzad OC, Langer R. Nanomedicine: developing smarter therapeutic and diagnostic modalities. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2006;58(14):1456-9.
2. Massart R. Preparation of Aqueous Magnetic Liquids in Alkaline and Acidic Media. *IEEE Transactions Magnetics*. 1981;17(2):1247-8.

Este trabajo debe ser citado como:

Parera B, Rica R, López Viota J, López Viota M. Caracterización electrocinética de partículas compuestas por núcleo magnético y recubrimiento metálico conjugadas con proteína A. Aplicaciones en diagnóstico. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):38-40.

"In vitro" hyperosmolar design in human corneal epithelial cells and inflammation in macrophages: avoiding the use of animals in the screening of ocular surface therapies

López Cano José Javier^{1,2}, González Cela-Casamayor Miriam Ana^{1,2}, Andrés Guerrero Vanessa^{1,2}, Benítez Del Castillo José Manuel^{2,3}, Herrero Vanrell Rocío, Molina Martínez Irene^{1,2}

¹ Innovación, Terapia y Desarrollo Farmacéutico en Oftalmología (InnOftal, UCM 920415). Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

² Red de patología ocular (OFTARED), Instituto de salud Carlos III, Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Clínico San Carlos (IdISSC).

³ Unidad de Superficie e Inflamación Ocular, Servicio de Oftalmología, Hospital Clínico San Carlos.

*Correspondencia: josejavl@ucm.es

1. Introduction

Keratoconjunctivitis sicca (SS-KCS) is a pathology affecting the ocular surface and tear film stability [1]. When a hypertonic environment occurs, specific biochemical pathways are activated leading to apoptosis [2]. Substances protecting cells against hyperosmolarity by stabilization of cell's membrane through their accumulation are commonly described as osmoprotectants. There are substances employed for the treatment of SS-KCS with anti-inflammatory properties. L-Carnitine, Taurine or Betaine are known to possess osmoprotective properties [2, 3] and the mucoadhesive polymer hyaluronic acid (HA) has demonstrated to have anti-inflammatory effect [1]. Commonly, the use of animals is considered for ocular drug screening, however following the principle of replacement, reduction, and refinement (3Rs), alternative in vitro models should be developed. The aim of the present study is to simulate in vitro hyperosmolar and inflammatory conditions for fast screening of ocular therapies avoiding the use of animals following the 3Rs principle.

2. Materials and methods

2.1. In vitro tolerance evaluation of osmoprotectants

Cell viability of different substances (Betaine,

L-Carnitine and Taurine, HA, and hydroxy propyl methyl cellulose; HPMC) was assessed at 8 h in Human corneal cells (HCECs) and evaluated by MTT.

2.2. Simulation of hypertonic environment in human corneal epithelial cells

2.2.1. In vitro tolerance under hypertonic stress

Initially, HTERT-HCECs were exposed to different hyperosmolar concentrations (350, 400, 450, 460, 470, 480, 490 and 500 mOsm/L) for 16 h and the 470 mOsm/L was selected. Then, HCECs were exposed to the osmoprotectants and anti-inflammatory substances (8 h) and incubated with 470 mOsm/L overnight. Finally, cell viability was determined as mentioned above.

2.2.2. Flow cytometry apoptosis and cell size studies

Hypertonic environment was simulated and osmoprotective activity assessed. Cells were isolated, stained with 7-AAD, YO-PRO™-1 Iodide, taken to the flow cytometer (FC500) and apoptosis was evaluated. Besides, after hyperosmotic stress simulation, variations in relative cell size (RCS) were evaluated. The in vitro efficacy of osmoprotectants and HA was studied.

2.3. TNF- α determination in an inflammation model of macrophages

Inflammatory conditions were recreated in macrophages (J774A.1) by addition of LPS and TNF- α detection by Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

3. Results and Discussion

Cells exposed to hyperosmolar concentrations showed a threshold at 450 mOsm/L where viability decrease dramatically from 66.66 % \pm 13.54 up to 12.77 % \pm 5.57 at 500 mOsm/L. Pre-incubation with osmoprotectants and polymers which were well tolerated increased survival compared with hypertonic environment in absence of protective compounds (Fig. 1). Particularly, Betaine (200 mM) and Taurine (80 mM) were the most effective substances in protecting cells against hyperosmolarity (66.01 % \pm 3.65 and 52.08 % \pm 3.36 respectively). Among polymers, HA 0.8 % showed the best results (60.24 % \pm 6.29).

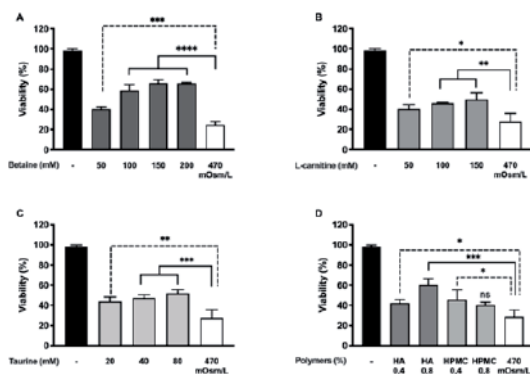


Fig. 1. Osmoprotection of osmoprotectants and polymers in response to 470 mOsm/L.

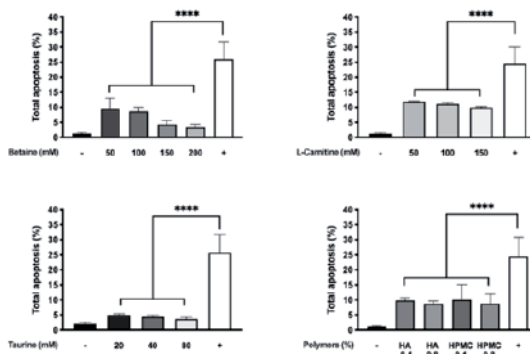


Fig. 2. Total apoptosis of cells pre incubated with the different substances and polymers.

It has been previously reported that an increment in osmolarity causes cell apoptosis. We confirmed the activity of osmoprotectants and polymers to prevent cell apoptosis [3]. Particularly, taurine and betaine at high concentrations were the most effective. It was also assessed that HA and HPMC can protect cells against apoptosis caused by hypertonic stress (Fig.2).

Some have studied that cells under hyperosmolarity develop a change in volume [3]. We showed that osmoprotectants balanced the RCS (\approx 100 %) under hyperosmolarity but polymers, drastically increased RCS (HA 0.8 % increased RCS up to 113.8 % \pm 4.11) (Fig.3).

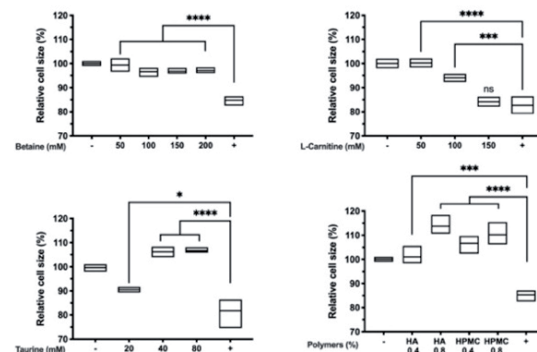


Fig. 3. Modification in cell size under hypertonic stress (470 mOsm/L).

Finally, we assessed the anti-inflammatory activity of the osmoprotectants and polymers. L-Carnitine, taurine and HA were the most anti-inflammatory ones (\approx 60 %) as hypothesized by some authors.

4. Conclusions

In vitro hyperosmolar models in HCECs and inflammation in macrophages allow to screen potential therapies to prevent cell damage when chronic hypertonic stress and inflammation have been established such as occur in SS-KCS. This tool could be useful before the use of animal models to follow the 3Rs rules.

Acknowledgements

Research Group UCM 920415, (InnOfal). ISCII-FEDER RETICS (OFTARED) (RD16/0008/0009) (RD16/0008/0004). FEDER-CICYT, FIS-PI17/00079 and PI17/00466.

References

1. Jones L, Downie LE, Korb D, Benitez-del-Castillo JM, Dana R, Deng SX, et al. TFOS DEWS II Management and Therapy Report. *Ocul Surf* [Internet]. 2017;15(3):575–628. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jtos.2017.05.006>
2. Khajavia N, Reinach PS, Skrzypski M, Lude A, Mergler S. L-Carnitine Reduces in Human Conjunctival Epithelial Cells Hypertonic- Induced Shrinkage through Interacting with TRPV1 Channels. 2014;49(030):790–803.
3. Garrett Q, Khandekar N, Shih S, Flanagan JL, Simmons P, Vehige J, et al. Betaine stabilizes cell volume and protects against apoptosis in human corneal epithelial cells under hyperosmotic stress. *Exp Eye Res*. 2013;108:33–41.

Este trabajo debe ser citado como:

López Cano JJ, González Cela-Casamayor MA, Andrés Guerrero V, Benítez Del Castillo JM, Herrero Vanrell Rocío, Molina Martínez I. "In vitro" hyperosmolar design in human corneal epithelial cells and inflammation in macrophages: avoiding the use of animals in the screening of ocular surface therapies. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):41-3.

Computational modeling of praziquantel drug release from montmorillonite clay using enhanced sampling method

Borrego Sánchez Ana ^{*1}, Debnath Jayashrita¹, Parrinello Michele¹

¹ Center for Human Technologies, Italian Institute of Technology (IIT), Genoa (Italy)

*Correspondencia: ana.borrego@iit.it

1. Introduction

A good drug delivery system is an important part of any new drug development process. In fact, an efficient delivery system would help optimizing the drug pharmacological effects and reducing its adverse reactions.

We examine here the case of the drug of choice for the treatment of the schistosomiasis disease. This molecule is poorly soluble in water and its efficacy would benefit from an improved dosage and an accelerated release of the drug. One of us has investigated experimentally the possibility of using clay minerals as excipients for praziquantel. These studies have shown that these low-cost biocompatible materials lead to an increased solubility and an improved dissolution profile [1-3].

In this presentation, we study computationally the praziquantel release from montmorillonite clay, with the aim of better understanding the dissolution process and to improve drug delivery, guide new experimental studies, and possibly replace them.

Eventually we would like to establish well defined computational strategy to alleviate the need for time consuming experiments for the study of drug delivery from clays.

2. Methodology

We modeled the montmorillonite with a two layer system as shown in Figure 1. The number of water molecules was chosen so as to reproduce as much as possible the experimental

concentration. Periodic boundary conditions were applied. We use the LAMMPS program [4] interfaced to PLUMED [5] and the interatomic interactions were described by CVFF Interface force field [6].

Given the long-time scales involved in the process, we used the recently developed Gaussian Mixture-Based Enhanced Sampling (GAMBES) method [7] that allows not only to enhance sampling but are to obtain residence times.

3. Results and Discussion

The structure displayed in Figure 1 was used to model the water solvated praziquantel-montmorillonite system. After equilibration, in a set of GAMBES based simulations the molecule was seen to go out from the clay into the water, via a multi-step mechanism and a very high desorption rate in accordance with previous experimental studies that revealed a fast drug release.

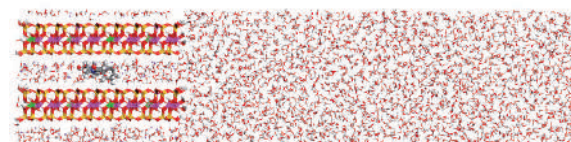


Fig. 1. Praziquantel-montmorillonite system in aqueous solution.

4. Conclusions

In this work, the praziquantel release from montmorillonite in aqueous solution has

been studied with atomistic simulation. The GAMBES method has allowed find out the release mechanism predicting a fast release time in agreement with experiments. It is to be hoped that this initial positive performance could eventually lead useful pharmaceutical applications.

Acknowledgments

This research was funded by European Commission Horizon 2020 Framework Programme, H2020-MSCA-IF-2019, MSCA-IFEF-ST, grant nº 895355, METADRUG.

References

1. Borrego-Sánchez A, Carazo E, Aguzzi C, Viseras C, Sainz-Díaz CI. Biopharmaceutical improvement of praziquantel by interaction with montmorillonite and sepiolite. *Appl Clay Sci.* 2018;160:173-9.
2. Borrego-Sánchez A, Sánchez-Espejo R, García-Villén F, Viseras C, Sainz-Díaz CI. Praziquantel-Clays as Accelerated Release Systems to Enhance the Low Solubility of the Drug. *Pharmaceutics.* 2020;12:914.
3. Borrego-Sánchez A, Sainz-Díaz CI, Viseras C, Aguzzi C. Preparation Procedure for a Nano-Structured Material of Praziquantel and a Silicate, Material Obtained and Used as Antiparasitic. Europe patent ES 2696400 2017.
4. Plimpton S. Fast Parallel Algorithms for Short-Range Molecular Dynamics. *J Comput Phys.* 1995;117:1-19.
5. Tribello GA, Bonomi M, Branduardi D, Camilloni C, Bussi G. PLUMED 2: New feathers for an old bird. *Comput Phys Commun.* 2014;185:604-13.
6. Heinz H, Lin T-J, Mishra RK, Emami FS. Thermodynamically Consistent Force Fields for the Assembly of Inorganic, Organic, and Biological Nanostructures: The INTERFACE Force Field. *Langmuir* 2013;29:1754-65.
7. Debnath J, Parrinello M. Gaussian Mixture-Based Enhanced Sampling for Statics and Dynamics. *J Phys Chem Lett.* 2020;11:5076-80.

Este trabajo debe ser citado como:

Borrego Sánchez A, Debnath J, Parrinello M. Computational modeling of praziquantel drug release from montmorillonite clay using enhanced sampling method. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):44-5.

Functionalised SLNs-based nanovectors for gene therapy in Fabry disease: The liver as an α -Galactosidase A factory

Rodríguez Castejón Julen^{1,2}, Gómez Aguado Itziar^{1,2}, Beraza Millor Marina^{1,2}, Solinís María Ángeles^{1,2}, del Pozo Rodríguez Ana^{1,2}, Rodríguez Gascón Alicia ^{*1,2}

¹ Pharmacokinetics, Nanotechnology & Gene Therapy Group (PharmaNanoGene), Faculty of Pharmacy, Centro de Investigación Lascaray Ikergunea, University of the Basque Country UPV/EHU, Paseo de la Universidad 7, 01006 Vitoria-Gasteiz, Spain

² Bioaraba, Microbiology, Infectious Disease, Antimicrobial Agents and Gene Therapy, 01006 Vitoria-Gasteiz, Spain

*Correspondencia: alicia.rodriguez@ehu.eus

1. Introduction

Fabry disease (FD) is a monogenic X-linked metabolic disorder caused by mutations in the gene that encodes the enzyme α -Galactosidase A (α -Gal A). A deficiency of enzyme activity leads to a progressive deposition of glycosphingolipids within the lysosomes of cells, predominantly in vascular endothelial and smooth muscle cells [1].

The liver is a highly specialized organ in protein synthesis, which, after transfection with the appropriate nucleic acid, could act as an α -Gal A production factory to later release it and restore the enzyme deficiency in affected organs. The delivery of nucleic acids to hepatocytes with non-viral vectors is challenging; however, it can be enhanced by functionalizing the carriers with different ligands [2].

Solid Lipid Nanoparticles (SLNs) are regarded as one of the most promising non-viral gene delivery systems. One of their main advantages is the wide versatility they offer. In fact, SLNs can be decorated easily with polysaccharides to control the biodistribution in vivo [3].

The objective of the present work is the design of SLNs-based nanovectors decorated with polysaccharides and the evaluation of their capacity to transfect a liver-derived cell line (Hep G2).

2. Materials and methods

2.1. Preparation and characterization of SLNs and nanovectors

SLNs were synthesized with DOTAP, Tween 80 and Precirol® ATO5 by a hot-melt emulsification technique [4]. To form the nanovectors, a pDNA encoding α -Gal A was mixed with protamine, a polysaccharide (dextran – DX or galactomannan – GM) and SLNs. Formulations were characterized in terms of size, polydispersity index and zeta potential.

2.2. In vitro transfection studies in Hep G2

To evaluate the transfection efficacy Hep G2 cells were treated with the nanovectors and α -Gal A activity was quantified in the culture medium by a fluorimetric assay, 3 and 5 days after the addition of the formulations. Lipofectamine® 2000 Transfection Reagent was used as positive control of transfection.

3. Results and discussion

The hydrodynamic diameter of the SLNs was 93 nm and the surface charge +73 mV. The nanovectors prepared with the two different polysaccharides presented a size in the nanometre range suitable for intravenous administration; 104 nm the formulation with DX and 107 nm the one with GM. Both nanovectors had a positive zeta potential (+43 and +31 mV,

respectively), which favours the interaction with the negatively charged cell membrane. The polydispersity index of all the formulations was below 0.3.

Both nanovectors were able to increase significantly enzyme activity over untreated cells 3 and 5 days after the treatment (Figure 1). Nevertheless, the nanovector formulated with GM resulted more effective than that with DX, increasing enzyme activity 685-fold with respect to non-treated cells at day 5. Moreover, 5 days after the treatment the vector with GM incremented the enzyme activity 1.5 times over the positive control Lipofectamine® 2000. The high efficacy of the GM nanovector is probably due to the presence of galactose and mannose groups of the GM that bind and drive the vector through liver-specific receptors [5].

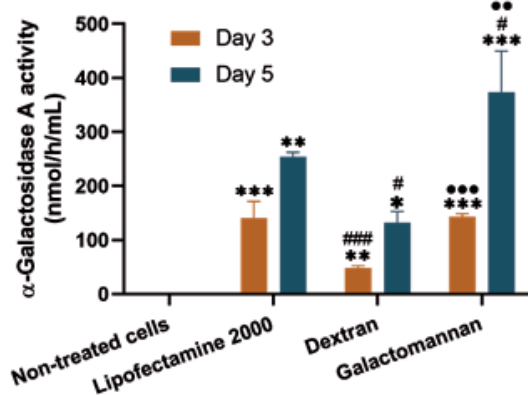


Fig. 1. α -Galactosidase A activity in the supernatant of Hep G2 cells 3 and 5 days post-transfection. Data represent mean \pm standard deviation of three biological replicates. Enzyme activity of non-treated cells < 1 nmol/h/mL. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$ with respect to non-treated cells. # $p < 0.05$, ### $p < 0.001$ with respect to Lipofectamine® 2000 at the same sampling time. ●● $p < 0.01$, ●●● $p < 0.001$ with respect to dextran nanovector at the same sampling time.

References

1. Rodríguez-Castejón J, Alarcia-Lacalle A, Gómez-Aguado I, Vicente-Pascual M, Solinís Aspiazu MA, del Pozo-Rodríguez A, Rodríguez-Gascón A. α -Galactosidase A augmentation by non-viral gene therapy: evaluation in fabry disease mice. *Pharmaceutics* [Internet]. 2021 May 21 [cited 2021 Sept 16];13(6):771. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13060771>
2. Aravalli RN, Belcher JD, Steer CJ. Liver-targeted gene therapy: approaches and challenges. *Liver Transpl* [Internet]. 2015 March 30 [cited 2021 Sept 16];21(6):718-737. Available from: <https://doi.org/10.1002/lt.24122>
3. Tapeinos C, Battaglini M, Ciofani G. Advances in the design of solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers for targeting brain diseases. *J Control Release* [Internet]. 2017 Oct 28 [cited 2021 Sept 16];264:306-332. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.08.033>

4. Conclusions

Herein, we have developed and evaluated SLNs-based nanovectors decorated with two different polysaccharides able to increase α -Gal A activity in hepatocytes. The nanovectors formulated with DX and GM presented suitable physicochemical characteristics to reach hepatocytes in vivo after intravenous administration. Both formulations were able to increase α -Gal A activity in the supernatant of treated hepatocytes. However, the nanovector containing GM on the surface was more effective, suggesting a key role of this polysaccharide in non-viral liver-targeted vectors for the treatment of FD.

Acknowledgements

RODRÍGUEZ-CASTEJÓN, Julen thanks the Basque Government (PRE_2020_2_0120) and GÓMEZ-AGUADO, Itziar and BERAZA-MILLOR, Marina thank the University of the Basque Country UPV/EHU (PIF17/067 and PIFG19/36, respectively) for their research grants. This research has been funded by MCIU/AEI/FEDER, UE (RTI2018-098672-B-I00) and by the University of the Basque Country UPV/EHU (GIU20/048).

4. Gómez-Aguado I, Rodríguez-Castejón J, Beraza-Millor M, Vicente-Pascual M, Rodríguez-Gascón A, Garelli S, Battaglia L, del Pozo-Rodríguez A, Solinís MA. mRNA-based nanomedicinal products to address corneal inflammation by interleukin-10 supplementation. *Pharmaceutics* [Internet]. 2021 Sept 15 [cited 2021 Sept 16];13(9),1472. Available from: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13091472>
5. Chen F, Huang G, Huang H. Sugar ligand-mediated drug delivery. *Future Med Chem* [Internet]. 2019 Nov 13 [cited 2021 Sept 17];12(2),161-171. Available from: <https://doi.org/10.4155/fmc-2019-0114>

Este trabajo debe ser citado como:

Rodríguez Castejón J, Gómez Aguado I, Beraza Millor M, Solinís MA, Del Pozo Rodríguez A., Rodríguez Gascón A. Functionalised SLNs-based nanovectors for gene therapy in Fabry disease: The liver as an α -Galactosidase A factory. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):46-8.

NLC a la carta mediante Inteligencia Artificial

Martínez Borrajo Rebeca ^{*1}, Díaz Rodríguez Patricia¹, Landin Mariana¹

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela

*Correspondencia: rebecca.martinez.borrajo@rai.usc.es

1. Introducción

La obtención de NLCs (Nano Lipid Carriers) optimizados resulta extraordinariamente compleja debido al importante número de variables implicadas en la síntesis de estas nanopartículas. Sin embargo, el uso de técnicas computacionales modernas permite el modelado de los procesos de formulación y el establecimiento de patrones generales o predicciones complejas con conjuntos relativamente reducidos de datos experimentales [1]. El uso de tecnologías de inteligencia artificial, como las redes neuronales artificiales (ANN) combinadas con otras como la lógica difusa o los algoritmos genéticos (GA) generan herramientas híbridas que permiten modelizar procesos complejos y, en último término, optimizar sistemas farmacéuticos sin necesidad de poseer profundos conocimientos matemáticos [2].

En este trabajo se pretende utilizar la metodología combinada de ANN y GA para desarrollar NLC cargadas con indometacina a la carta, que cumplan con especificaciones concretas respecto a tamaño, índice de polidispersión (PdI), potencial zeta (ZP), eficiencia de encapsulación (EE) y carga del fármaco (DL).

2. Materiales y métodos

Se utilizó como lípido sólido (SL) el Compritol[®] 888 ATO y como lípido líquido (LL) el Transcutol P ambos de Gattefossé (Francia). Como surfactantes se emplearon el polisorbato 80 (Tween[®] 80) de Sigma Aldrich (Germany) y Epikuron[®] 145 V (lecitina) de Cargill (España) y como fármaco la Indometacina de Acros Organics.

2.1. Diseño experimental

Se estableció un diseño experimental balanceado para 4 variables a 3 niveles (proporción LL:SL, % de Tween 80, masa de lecitina y tiempo de diálisis) mediante el software Dataform[®] v3.1 (Intelligensys Ltd, UK). Las 4 variables de composición y/o operación se presentan en la Tabla 1.

Tabla 1. Diseño experimental de las NLC.

NLC	(LL:SL)	Tween 80 (%)	Lecitina (mg)	Diálisis (h)
1	50	0,5	2	12,25
2	30	2	1,5	0,5
3	10	1,25	1	24
4	10	1,25	2	12,25
5	50	0,5	1	0,5
6	30	2	1,5	24
7	30	0,5	2	12,25
8	10	2	1,5	24
9	50	1,25	1	0,5
10	30	2	1	24
11	50	1,25	2	12,25
12	10	0,5	1,5	0,5
13	50	2	1	24
14	10	0,5	2	0,5
15	30	1,25	1,5	12,25

2.2. Preparación y caracterización de las NLC

Se prepararon NLCs mediante homogeneización en caliente de alta cizalla (HSH) siguiendo el procedimiento descrito previamente por Rouco et al. 2018 [3]. Se caracterizaron las NLC en términos de tamaño, PdI y ZP utilizando un Zetasizer Nano-ZS. Se determinaron la EE y la DL mediante un método espectrofotométrico validado a 322 nm.

2.3. Modelización y optimización

Se utilizó el software InForm[®] v5.01 (Intelligensys Ltd, UK) que combina ANN y GA para modelizar la base de datos generada. Se establecieron como “inputs” o entradas las 4 variables seleccionadas (LL:SL, % de Tween 80, masa de lecitina y tiempo de diálisis) y como “outputs” o salidas, los parámetros: tamaño de partícula, PDI, ZP, EE y DL. Los GA también permiten estimar la composición y las condiciones adecuadas para producir una formulación óptima que cumpla con los requisitos deseados. Se llevó a cabo la modelización y la optimización siguiendo la metodología de Rouco et al 2018 [3]. Se validó el modelo elaborando experimentalmente la formulación óptima seleccionada por el programa.

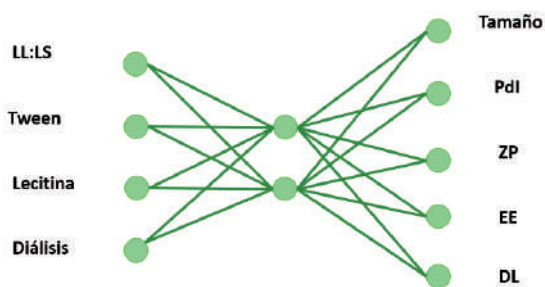


Figura 1. Estructura de la red neuronal con 4 inputs y 5 outputs.

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización y optimización de NLC.

InForm[®] v5.01 fue capaz de generar un modelo capaz de predecir adecuadamente los resultados de cualquier formulación dentro del espacio de diseño establecido. Además, nos permitió responder a la pregunta “Cómo obtener” NLC de indometacina con pequeño tamaño y PDI, ZP con los valores más negativos y DL y EE máximas. La formulación seleccionada se presenta en la Tabla 2.

Referencias bibliográficas

1. Landín M, Rowe RC, York P. Advantages of neurofuzzy logic against conventional experimental design and statistical analysis in studying and developing direct compression formulations. *Eur J Pharm Sci.* 2009;38(4):325-31.
2. Gago J, Landín M, Gallego P. Strengths of artificial neural networks in modeling complex plant processes. *Plant Signaling & Behavior.* 2010;5(6):743-5.

Ingrediente	Valor
Proporción LL:SL	50
Tween (%)	1,7
Lecitina (mg)	2
Diálisis (h)	2

Tabla 2. Características para obtener la formulación óptima.

Siguiendo el procedimiento establecido para la formulación óptima, los valores experimentales obtenidos para las NLC (Tabla 3) son muy similares a los predichos por InForm[®], particularmente el tamaño, PDI y ZP. Las EE y DL de las formulaciones resultan ligeramente inferiores.

	Teórica	Optimizada
Tamaño (nm)	119,4	123,4
PDI	0,2	0,2
ZP (mV)	-14,0	-14,8
%EE	90,1	82,1
%DL	5,3	2,5

Tabla 3. Propiedades de NLC predichas por el software (teóricas) y las NLC desarrolladas experimentalmente (optimizadas).

4. Conclusiones

La combinación de ANN y GA permite el diseño de formulaciones a la carta para una aplicación concreta empleando para ello un número muy reducido de formulaciones.

Agradecimientos

Se agradece la financiación del Gobierno de España. Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-120010RB-I00)

3. Rouco H, Diaz-Rodriguez P, Rama-Molinos S, Remuñán-López C, Landin M. Delimiting the knowledge space and the design space of nanostructured lipid carriers through Artificial Intelligence tools. *Int J Pharm.* 2018;553(1-2):522-30.
4. Rouco H, Diaz-Rodriguez P, P. Gaspar D, M.D. Gonçalves L, Cuerva M, Remuñán-López C, J Almeida A, Landin M. Rifabutin-loaded nanostructured lipid carriers as a tool in oral anti-mycobacterial treatment of Crohn's disease. *Nanomaterials.* 2020;10:2138.

Este trabajo debe ser citado como:

Martínez Borrajo R, Díaz Rodríguez P, Landin M. NLC a la carta mediante Inteligencia Artificial. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):49-51.

Shear-collapsible microscale aggregates of PLGA nanoparticles with the ability to target obstructed blood vessels

El-Hammadi Mazen M¹, Otero Candelera Remedios^{2,3,4}, Martín Navarro Lucía *¹, Álvarez Fuentes Josefa¹, Martín Banderas Lucía^{1,2}

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Sevilla, Spain.

² Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)-Campus Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain.

³ Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain.

⁴ CIBERES, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain.

*Correspondencia: lmartinnavarro@us.es

1. Introduction

Obstruction of critical blood vessels as in thrombosis and atherosclerosis is a leading cause of death and long-term adult disability worldwide. Effective treatment requires quick and invasive interventions through the systematic infusion of thrombolytic agents or the placement of a catheter in the affected vessel. Moreover, non-selective distribution of the thrombolytic drug increases bleeding risk. Blood vessels with luminal stenosis (narrowing) show a significant increase in fluid shear stress (>1000 dyne/cm²) compared to normal vessels (~70 dyne/cm²), a fact that can be exploited for targeting delivery to obstructed vessels.

The objective of present work is to prepare microscale aggregates of PLGA NPs with the ability to breakup under high shear stress into their forming NPs, which in turn adhere more effectively to the vessel surface compared with larger aggregates.

2. Materials and methods

Negatively and positively charged NPs were prepared based on poly(ethylene glycol) (PLGA) using an emulsion-solvent evaporation method. Nanoparticles surface charge was modulated by using carboxylic or amine species. Next, the microaggregates were prepared by mixing the

negatively and positively charged NPs using a high-speed homogenizer. Optimized aggregates were achieved by controlling different parameters as: (i) composition of NPs; (ii) NPs ratio; or (iii) homogenization conditions (speed, duration). The produced NPs and aggregates were extensively characterized. To test the ability of the microaggregates to collapse under high shear stress, they were injected through a microfluidic device specially designed to mimics different vascular grading stenosis (low, medium, high) (see Fig. 1).

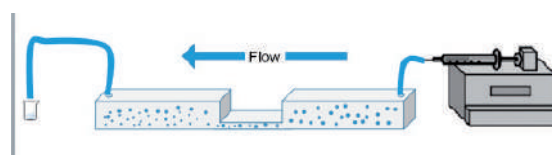


Figure 1. Set-up for shear-induced dissociation of aggregates assay

Furthermore, HUVEC cells were cultivated in the microfluidic system and labelled aggregates (Nile red-negative NPs and (FITC-positive NPs) were injected into the microchannel and observed under fluorescence microscope.

3. Results and Discussion

Particle size and zeta potential were 268.5 nm, -20.1mV and 179.2 nm, +20.9 mV for negative and positive NPs, respectively. The microaggregates

had a globular shape and an average diameter of 6.8 μm (Figure 1).

Aggregates passed through the microchannel contained ~30 % of NPs as a result of aggregates collapse under the elevated shear. In addition, examination under fluorescence microscope provided another evidence for aggregates breakup.

4. Conclusions

The PLGA-based microaggregates show promise for targeted treatment of thrombosis,

arteriosclerosis and thrombosis-associated disorders such as COVID 19 infection.

Acknowledgments

We specially thank funding from Junta de Andalucía (Consejería de Economía, Conocimiento, Empresas y Universidad) Project. Medicamentos innovadores basados en nanomedicina (AT17_5548_USE)

Authors also thank Biology and Microscopy Services from Centro de Investigación, Tecnología e Innovación (CITIUS, Universidad de Sevilla) for technical assistance.

References

1. Korin N, et al. *Science*. 2012;337:738-42.
2. Berrocoso E, et al. *Nanomedicine*. 2017;13:2623-32.

Este trabajo debe ser citado como:

El-Hammadi Mazen M, Otero Candelera R, Martín Navarro L, Álvarez Fuentes J, Martín Banderas L. Shear-collapsible microscale aggregates of PLGA nanoparticles with the ability to target obstructed blood vessels. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):52-3.

Estimators and Confidence Intervals of f_2 Using Bootstrap Methodology for the Comparison of Dissolution Profiles

Xu Z¹, Merino San Juan M^{1,2}, Mangas San Juan V^{1,2}, García Arieta A³

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Parasitology, University of Valencia, Valencia, Spain.

² Interuniversity Research Institute for Molecular Recognition and Technological Development, Polytechnic University of Valencia–University of Valencia, Spain.

³ División de Farmacología y Evaluación Clínica, Departamento de Medicamentos de Uso Humano, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, Spain.

1. Introduction

Dissolution tests are essential in the development of medicinal product, but there are many methods to compare dissolution profiles. The most widely used one is the similarity factor f_2 . Nevertheless, the f_2 method has several drawbacks, which lead to certain restrictions described in regulatory guidelines, e.g. when variability of dissolution data is more than 20 % and 10 % for early and later time points, respectively, the f_2 method cannot be used. In such circumstance, alternative methods are recommended in several regulatory guidelines, for instance, the model-independent multivariate statistical distance methods (MSD) [1–2]. However, members from US FDA indicated in 2013 that the model-independent MSD method is less discriminative and sensitive than the f_2 method. Therefore, they recommended the confidence interval of f_2 approach using bootstrap [3]. Recent studies comparing the MSD method with the confidence interval of f_2 approach with bootstrap method confirmed these findings [4–5]. However, the guidelines neither specify the estimator nor the type of confidence interval to be used and literature with this regard is scarce. Therefore, we investigated the accuracy and precision of several estimators and types of confidence intervals by simulation.

2. Materials and Methods

One million individual dissolution profiles of the test and the reference product were simulated for each of the following target population f_2 values of 25, 35, 45–75. Random samples of size 6, 12, 18 or 24 units were chosen to estimate the f_2 value and its confidence intervals with 5000 bootstraps. Comparisons with low and high variability were also included. The whole process is repeated 10000 times, as shown in figure 1. Five f_2 estimators as shown in Equation 1 to 5 were calculated and fourteen confidence intervals were investigated according to literature: Normal interval, basic interval, percentile interval (Type 1 to Type 9, and another one using the interpolation method from R's boot package), two bias-corrected and accelerated (BCa) intervals (one by regression and another by jackknife). Accuracy was expressed as bias and precision was evaluated by the root of mean square error. In addition, type I error rate was evaluated by calculating the percentage of similarity for each target population.

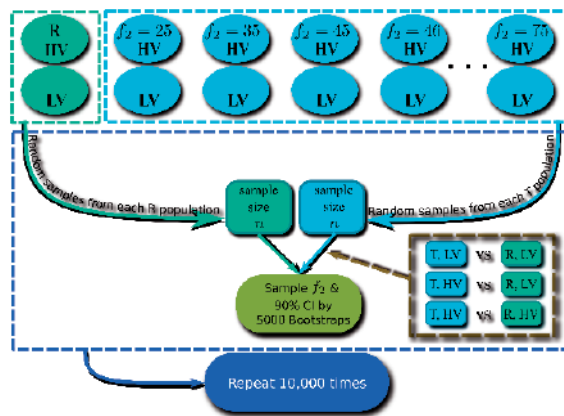


Figure 1. Workflow of simulation. HV and LV denotes high and low variability, respectively

3. Results

Results of accuracy and precision of the estimators are summarized in figure 2 showing bias and root of mean square error. All percentile results are similar, therefore, Type 7 was used as a representative one. Percentage of similarity was represented in figure 3 for population f_2 values of 45 to 55 with a sample size of 12 units.

$$\hat{f}_2 = 100 - 25 \log \left(1 + \frac{1}{P} \sum_{i=1}^P (\bar{X}_{T,i} - \bar{X}_{R,i})^2 \right) \quad (1)$$

$$\hat{f}_{2,bc} = 100 - 25 \log \left(1 + \frac{1}{P} \left(\sum_{i=1}^P (\bar{X}_{T,i} - \bar{X}_{R,i})^2 - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^P (S_{T,i}^2 + S_{R,i}^2) \right) \right) \quad (2)$$

$$\hat{f}_{2,vcbc} = 100 - 25 \log \left(1 + \frac{1}{P} \left(\sum_{i=1}^P (\bar{X}_{T,i} - \bar{X}_{R,i})^2 - \frac{1}{n} \sum_{i=1}^P (w_{T,i} S_{T,i}^2 + w_{R,i} S_{R,i}^2) \right) \right) \quad (3)$$

$$\hat{f}_{2,exp} = 100 - 25 \log \left(1 + \frac{1}{P} \left(\sum_{i=1}^P (\bar{X}_{T,i} - \bar{X}_{R,i})^2 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^P (S_{T,i}^2 + S_{R,i}^2) \right) \right) \quad (4)$$

$$\hat{f}_{2,vcexp} = 100 - 25 \log \left(1 + \frac{1}{P} \left(\sum_{i=1}^P (\bar{X}_{T,i} - \bar{X}_{R,i})^2 + \frac{1}{n} \sum_{i=1}^P (w_{T,i} \cdot S_{T,i}^2 + w_{R,i} \cdot S_{R,i}^2) \right) \right) \quad (5)$$

Figure 2. Accuracy and precision results using different estimators of f_2 and number of units per formulation throughout the range of population f_2 values.

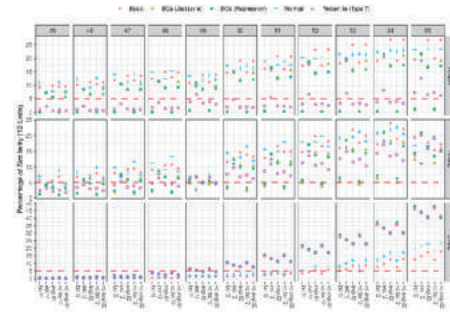


Figure 3. Probability of declaring similarity according to the variability conditions and the 90% confidence interval method.

4. Discussion

In general, when f_2 values are high, all estimators under-estimate the population value, which is consistent with the literature findings. When variance is high, a large proportion of $f_{2, bc}$ and $f_{2, vcbc}$ cannot be calculated as the domain of the log function is negative in such cases, which makes them unsuitable to be used for profiles with high variability. When the population f_2 values are low, the estimator f_2 slightly over-estimates the population value; with the most conservative percentile interval, this estimator still over-estimate the population value at f_2 of 47, 48 and 49, with type I error more than 7%. Estimators $f_{2, exp}$ and $f_{2, vcexp}$ showed better precision than other estimators, but with slightly larger bias when the population f_2 values are high. However, from a regulatory perspective, this is less relevant. Regarding the types of intervals, basic and Normal intervals are not suitable as those intervals showed almost 15% Type I error. BCa intervals with estimator f_2 , $f_{2, exp}$ and $f_{2, vcexp}$ also led to a type I error higher than 10%, depending on the sample size and variability. The best combination of estimator and type of confidence interval were $f_{2, exp}$ and $f_{2, vcexp}$ with percentile interval that have type I error around 5%. The drawback of this combination is its low power; therefore, larger sample sizes may be necessary to have sufficient power.

5. Conclusion

We recommend the use of the percentile interval with $f_{2, exp}$ or $f_{2, vcexp}$ to compare dissolution profiles when the conventional f_2 similarity factor is not applicable.

References

1. U.S. FDA, Guidance for industry. Dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms (1997).
2. European Medicines Agency, Guideline on the investigation of bioequivalence (2010).
3. B. M. Davit, E. Stier, X. Jiang, O. Anand, Expectations of the US FDA regarding dissolution data in generic drug regulatory submissions, *Biopharma Asia* 2 (2) (2013).
4. V. Mangas-Sanjuan, S. Colon-Useche, I. Gonzalez-Alvarez, M. Bermejo, A. García-Arieta, Assessment of the regulatory methods for the comparison of highly variable dissolution profiles., *AAPS J.* 2016;18(6):1550–61.
5. P. Paixão, L. F. Gouveia, N. Silva, J. A. G. Morais, Evaluation of dissolution profile similarity — comparison between the f_2 , the multivariate statistical distance and the f_2 bootstrapping methods. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017;112:67–74.

Este trabajo debe ser citado como:

Xu Z, Merino San Juan M, Mangas San Juan V, García Arieta A. Estimators and Confidence Intervals of f_2 Using Bootstrap Methodology for the Comparison of Dissolution Profiles. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):54-6.

Indomethacin microencapsulation in polymeric blends of PLGA502 and PEOT-PBT multiblock copolymer

Lamela Gómez I ^{*1,2}, Blanco Méndez J ^{1,2}, Otero Espinar FJ ^{1,2}, Luzardo Álvarez A ^{1,2}

¹ Department of Pharmacology, Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Santiago de Compostela (Faculty of Sciences, Lugo/ Faculty of Pharmacy, Santiago de Compostela).

² Paraquasil Group, Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, Spain. de Uso Humano, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, Spain.

*Correspondencia: ivan.lamela@usc.es

1. Introduction

Indomethacin (IND) is a non-selective non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAIDs) with high anti-inflammatory, antipyretic and analgesic activity. It has been widely used in the therapeutical management of moderate to severe rheumatic disorders, including rheumatoid arthritis, osteoarthritis and gouty arthritis. Nonetheless, its use as a first-line and long-term therapy is limited by its dose-dependent severe gastrointestinal, renal and hematologic adverse effects [1]. Local administration via intra-articular (I.A.) injection can be an alternative to achieve high drug concentrations into the joint, but the high clearance rate of most drugs limits its use as a long-term administration route.

Microencapsulation seems to be an excellent approach to overcome those limitations, allowing us to increase the retention time of the drug into the joint and to achieve a controlled drug delivery profile [2]. Nonetheless, IND microencapsulation in PLGA was previously reported, showing a high drug delivery rate [3].

This work aims to prepare and characterize IND-loaded microspheres made of a polymeric blend of PEOT-PBT and PLGA502 with convenient features to achieve an intra-articular long-term delivery profile.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of microspheres

Indomethacin-loaded microspheres were fabricated by coaxial ultrasonic atomization. Briefly, both channels of a dual-feed nozzle were fed with a 3 % polymeric blend dispersion in CH₂Cl₂ composed for a mixture of PLGA502 and 1000PEOT70PBT30 at different ratios, obtaining a spray that was collected over a PVA stirring solution. Indomethacin was dissolved in the polymeric dispersion atomized through the inner channel (0.1 g IND/g polymer), whereas the outer dispersion remained drug-free. The contribution of each channel to the total flow rate (1 ml/min) and PEOT PBT/PLGA502 ratio was set accordingly to an experimental design. Finally, the solvent was removed under continuous stirring, and microparticles were isolated and dried under vacuum.

A central composite rotatable and orthogonal statistical experimental design was built to assess the influence of flow rate through each channel (0.22 – 0.78 ml/min) and polymeric composition (PLGA502; 14.64 – 85.36 %) on particle size, encapsulation efficiency and drug delivery profile. Experimental results were fitted to a quadratic multiple regression model and optimal formulations were selected by surface response methodology.

2.2. Characterization of microspheres

All formulations obtained were characterized in terms of particle size (laser diffraction), surface morphology (SEM), process yield and encapsulation efficiency. Physicochemical interactions between PEOT-PBT and PLGA502 and between IND and the polymeric matrix were characterized by FTIR. Also, thermal analysis of IND, Empty and IND-loaded MPs was performed by DSC. Changes in the degree of crystallinity of the drug and polymers after microencapsulation were assessed by X-ray diffraction.

Cell compatibility of the microspheres was tested by XTT assay in THP-1 cells previously differentiated into macrophages. Further, the phagocytic capacity of THP-1-derived macrophages in the presence of microspheres was evaluated.

3. Results and Discussion

All formulations included in the experimental design were successfully prepared, exhibiting high process yield (78.2 – 88.5 %) and encapsulation efficiency (81.3 – 56.2 %). Particle size analysis showed a polydisperse distribution with a mean diameter ranging between 22.8 and 82.6 μm . Experimental data of encapsulation efficiency (E.E) and Mean Diameter ($d(v,0.5)$) have successfully fitted a multiple regression quadratic model. Surface response graphs were constructed to assess the influence of formulation parameters over the microspheres' properties (Figure 1).

SEM micrographs showed spherical particles with a porous surface (Figure 2). Further studies by RAMAN confocal microscopy are being carried out to determine the distribution of PLGA502, PEOT-PBT and Indomethacin within the microparticles.

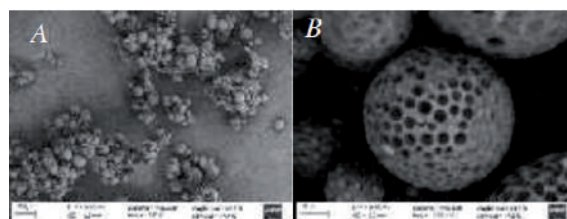


Fig. 2. SEM micrographs of IND-loaded microspheres (central point). A)500x B)3000x

DSC thermogram of commercial crystalline IND showed an endothermic peak around 161 $^{\circ}\text{C}$ (T_m). X-ray diffractogram confirmed its crystalline state, showing the characteristic diffraction pattern of γ -polymorph of IND. The absence of significant differences between DSC thermograms of empty and IND-loaded microspheres suggested that the drug is dispersed into the polymeric matrix in an amorphous form with the independence of the polymeric blend composition. These results support those of X-ray diffraction, where the typical diffraction pattern of crystalline IND was not detected in IND-loaded microcapsules, corroborating the amorphous state of the microencapsulated drug. The absence of polymer-polymer and drug-polymer chemical interactions were confirmed by FTIR, suggesting that the polymeric blend is a simple mixture of polymers.

Microspheres' biocompatibility was assessed in THP-1 derived macrophages after 24 hours of

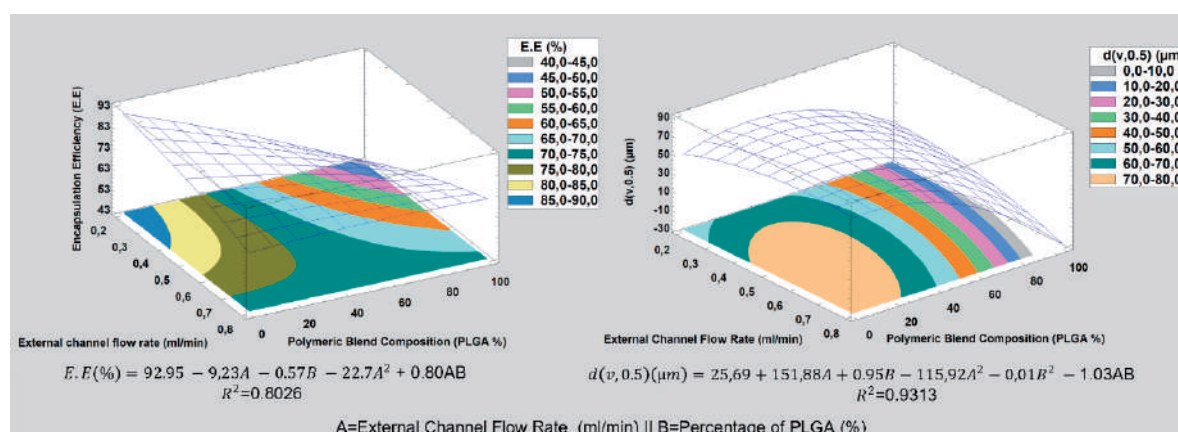


Figure 1- Surface-response graphs for encapsulation efficiency and particle size of IND-loaded microspheres prepared by ultrasonic atomization accordingly to the experimental design

co-incubation, achieving high viability rates (95-100 %). Also, microparticles were found to be extensively phagocytosed by THP-1 cells.

administration were successfully obtained. Also, in vitro drug delivery studies are being performed.

4. Conclusions

Indomethacin-loaded microparticles with suitable properties for intra-articular

Acknowledgments

Ivan Lamela-Gómez is grateful to "Axudas á etapa predoutoral da Xunta de Galicia".

References

1. Nalamachu S, Wortmann R. Role of Indomethacin in Acute Pain and Inflammation Management: A Review of the Literature. *Postgrad Med.* 2014;126(4):92-7.
2. Pradal J, Maudens P, et al. Effect of particle size on the biodistribution of nano- and microparticles following intra-articular injection in mice. *Int J Pharm.* 2016;498(1):119-29.
3. Graves R, Poole D, et al. Encapsulation of Indomethacin Using Coaxial Ultrasonic Atomization Followed by Solvent Evaporation. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008;34(5):419-42

Este trabajo debe ser citado como:

Lamela Gómez I, Blanco Méndez J, Otero Espinar FJ, Luzardo Álvarez A. Indomethacin microencapsulation in polymeric blends of PLGA502 and PEOT-PBT multiblock copolymer. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):57-9.

Modelo animal de glaucoma crónico inducido con microesferas biodegradables: influencia de la adición de dexametasona

García Herranz David^{1,2}, Rodrigo María Jesús^{3,4,5}, Aragón Navas Alba^{1,2}, Subias Manuel^{4,5}, Martínez Rincón Teresa^{4,5}, Méndez Martínez Silvia^{4,5}, Cardiel María José^{4,5}, García Feijóo Julián^{1,3,7,8}, Pablo Luis^{3,4,5}, García Martín Elena^{3,4,5}, Herrero Vanrell Rocío^{1,2,3,6}, Bravo Osuna Irene^{*1,2,3,6}

¹ Innovación, Terapia y Desarrollo Farmacéutico en Oftalmología (InnOftal), Grupo de investigación UCM 920415, Universidad Complutense de Madrid (UCM), 28040 Madrid, España.

² Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM), IdISSC, 28040 Madrid, España.

³ Red Temática de Investigación Cooperativa en Salud (Oftared), Instituto de Salud Carlos III, 28040 Madrid, España.

⁴ Departamento de Oftalmología, Hospital Universitario Miguel Servet, 50009 Zaragoza, España.

⁵ Grupo de Investigación e Innovación Miguel Servet Oftalmología, Instituto de Investigación Sanitaria Aragón (IIS Aragón), 50009 Zaragoza, España

⁶ Instituto Universitario de Farmacia Industrial (IUPI), Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid (UCM), 28040 Madrid, España.

⁷ Servicio de Oftalmología, Hospital Clínico San Carlos, 28040 Madrid, España.

⁸ Departamento de Inmunología, Oftalmología y ORL, Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid (UCM), IdISSC, 28040 Madrid, España.

*Correspondencia: ibravo@ucm.es

1. Introducción

El aumento de la presión intraocular (PIO) es el factor de riesgo modificable más importante en el desarrollo de glaucoma [1]. Con el objetivo de desarrollar un modelo animal crónico de glaucoma que simule las condiciones fisiopatológicas de esta patología mediante un aumento gradual de la PIO se ha procedido a la inyección, en cámara anterior, de microesferas (Ms) de ácido poli láctico-co- glicólico (PLGA) sin carga (PLGA-Ms) y cargadas con dexametasona (PLGA-Ms-DX). De esta forma se ha conseguido un bloqueo físico del drenaje de humor acuoso en la malla trabecular, en el primer caso y una combinación de daño físico y farmacológico en el segundo [2], elevando así la PIO. El objetivo del presente trabajo es la comparación de los valores de PIO como resultado de la inyección de las microesferas en ambos modelos animales, así como la degeneración retiniana.

2. Materiales y métodos

2.1. Elaboración y caracterización de las microesferas.

Las Ms blanco (PLGA-Ms) y las cargadas con DX (PLGA-Ms-DX) se elaboraron siguiendo la técnica de extracción- evaporación del solvente a partir de una emulsión O/A. Como disolvente orgánico se utilizó diclorometano (DCM) para disolver el PLGA (50:50, viscosidad aparente 0.16–0.24 dL/g) y como emulgente de la fase externa alcoholpolivinílico (PVA). En el caso de las PLGA- Ms-DX, el fármaco fue dispersado en la fase interna de la emulsión. Tras su maduración, las Ms se lavaron, se separaron por tamización, y se liofilizaron. Las microesferas así obtenidas se caracterizaron en cuanto a morfología (microscopía electrónica de barrido, SEM), tamaño y distribución de tamaño de partícula (dispersión de luz dinámica). Además, con las PLGA-Ms-DX se estudió también la

eficacia de encapsulación de DX y se realizó el correspondiente ensayo de cesión in vitro durante 24 semanas (cuantificando la DX con HPLC-MS). En este ensayo, para simular el comportamiento in vivo, se incluyó una segunda dosis de microesferas al ensayo de cesión a las 4 semanas del comienzo del ensayo.

2.2. Ensayo in vivo.

Para el estudio in vivo (longitudinal e intervencionista) se emplearon ratas Long-Evans. 25 de ellas recibieron PLGA-Ms (inicial, cada dos semanas el primer mes y mensual hasta la semana 20). En el modelo inducido por PLGA-Ms-DX los animales (42 ratas) recibieron dos inyecciones (inicial y en la semana 4). En todos los casos, los animales recibieron una suspensión de Ms administrada en la cámara anterior del ojo derecho (OD) (10 % p/v).

Se evaluaron los signos clínicos, PIO medida con tonómetro de rebote) y se realizó evaluación neurorretiniana seriada e in vivo mediante tomografía de coherencia óptica (OCT) y electroretinografía (ERG) hasta la semana 24.

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización de las microesferas.

Las Ms resultaron esféricas y de superficie lisa en ambas formulaciones. El tamaño de partícula resultó unimodal y similar en ambos casos (10-20 μm) (Fig.1).

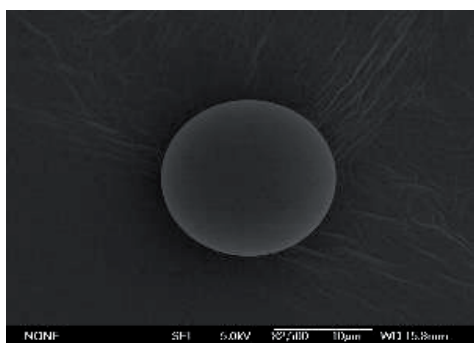


Fig. 1. Imagen de SEM y distribución de tamaños de las partículas PLGA-Ms- DX

En las PLGA-Ms-DX la eficacia de encapsulación fue de 66.77 ± 1.14 % (60.70 ± 1.03 μg DX/mg Ms). El perfil de liberación in vitro mostró dos liberaciones rápidas correspondientes al "burst" inicial y a la segunda administración de Ms en

la semana 4, seguidas de liberaciones sostenidas de DX hasta el día 77.

En los ojos inyectados con PLGA-Ms, la PIO aumentó significativamente ($p < 0,05$), a lo largo del estudio, en comparación con los ojos contralaterales, con valores que superaron los 20 mm Hg (señal de hipertensión ocular) a partir de la semana 12. La PIO en los ojos que recibieron PLGA-Ms-DX aumentó, en comparación con el contralateral, desde la primera semana, superando los 20 mm Hg en la semana 5. En ambos casos el incremento de la PIO resultó más progresiva que en animales sanos [3] y otros modelos que se caracterizan por producir una elevación de la PIO poco representativa del glaucoma crónico en humanos [4] (fig. 2). La liberación de dexametasona no sólo inició el aumento de la PIO antes, sino que además se necesitaron únicamente dos administraciones de las microesferas, mientras que el modelo de PLGA-Ms requirió 7 inyecciones. Los estudios de OCT y ERG mostraron, en ambos modelos, una tendencia descendente progresiva en el espesor de la retina y en la función neurorretiniana a lo largo del tiempo.

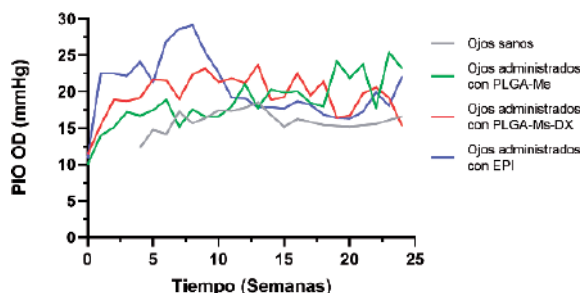


Fig. 2. Evaluación de la PIO en ojos administrados con PLGA-Ms (verde) y PLGA-Ms-DX (rojo), comparados con el modelo de Morrison producido por daño en la vena episcleral (azul) y con ojos sanos (gris).

4. Conclusiones

Los modelos de glaucoma presentados en este trabajo y que se fundamentan en el bloqueo físico y farmacológico de la salida del humor acuoso a través de la malla trabecular, por inyección de microesferas biodegradables, producen un incremento gradual de la PIO que se asemeja más a las condiciones fisiopatológicas en humanos, con la consiguiente degeneración crónica de la retina. El número de administraciones de microesferas se reduce considerablemente (de 7 a 2) cuando se emplea como agente de daño

farmacológico la dexametasona, lo que no sólo reduce el número de intervenciones en el animal, sino que permite una mejor caracterización del modelo (y de la evaluación de los posibles tratamientos experimentales) mediante técnicas no invasivas.

Agradecimientos

Rio Hortega Research Grant M17/00213, PI20/00437, PI17/01726, PI17/01946 (ISCIII), MAT2017-83858-C2-1, MAT2017-83858-C2-2 MINECO/AEI/FEDER, Grupo de investigación UCM 920415, ISCIII-FEDER "Una manera de hacer Europa" RETICS Oftared, RD16/0008/0004, RD16/0008/0009, and RD16/0008/029. Beca Santander-UCM CT17/17-CT17-18, Beca PRE2018-083951.

Referencias bibliográficas

1. Qu J, Wang D, Grosskreutz CL. Mechanisms of retinal ganglion cell injury and defense in glaucoma. *Exp Eye Res.* 2010 Jul;91(1):48–53.
2. Kersey JP, Broadway DC. Corticosteroid-induced glaucoma: a review of the literature. *Eye.* 2006;20:407–16.
3. Rodrigo MJ, Martínez-Rincón T, Subias M, Méndez-Martínez S, Luna C, Pablo LE, et al. Effect of age and sex on neurodevelopment and neurodegeneration in the healthy eye: Longitudinal functional and structural study in the Long–Evans rat. *Exp Eye Res.* 2020 Nov;200.
4. Biswas S, Wan KH. Review of rodent hypertensive glaucoma models. *Acta Ophthalmol.* 2019;97(3):e331–40.

Este trabajo debe ser citado como:

García Herranz D, Rodrigo MJ, Aragón Navas A, Subias M, Martínez Rincón T, Méndez Martínez S, Cardiel MJ, García Feijóo J, Pablo L, García Martín E, Herrero Vanrell R, Bravo Osuna I. Modelo animal de glaucoma crónico inducido con microesferas biodegradables: influencia de la adición de dexametasona. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):60-2

Diseño, desarrollo y caracterización de nanopartículas de PLGA cargadas con adalimumab

García Otero Xurxo^{1,2}, Varela Fernández Rubén^{1,3}, Blanco Méndez José¹, Subias Manuel^{4,5}, González Barcia Miguel⁴, Aguiar Pablo², Fernández Ferreiro Anxo⁴, Otero Espinar Francisco J¹

¹ Departamento de Farmacia, Farmacología y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela (USC). Campus vida. Santiago de Compostela. Código postal: 15782. España.

² Departamento de Medicina Nuclear y Grupo de Imagen Molecular, Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

³ Grupo de Investigación en Neurociencias clínicas. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

⁴ Grupo de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España

*Correspondencia: xurxo.garcia@rai.usc.es

1. Introducción

El adalimumab es un anticuerpo monoclonal considerado como fármaco de tratamiento biológico. Su mecanismo de acción consiste en la disminución del efecto del factor de necrosis tumoral (anti-TNF- α), así como la inducción de la apoptosis de linfocitos que se encuentran anormalmente activados. Por esta razón, el adalimumab ha demostrado su eficacia en el tratamiento de algunas enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, artritis psoriásica o psoriasis, y también en patologías oculares como la uveítis no infecciosa [1].

Se han identificado mecanismos de resistencia, incluyendo la alteración de la expresión o la unión del antígeno, el deterioro de la citotoxicidad mediada por el complemento (CMC) o la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). Por este motivo, se propone la encapsulación de este anticuerpo en sistemas poliméricos de tamaño nanométrico con la finalidad de aumentar su estabilidad, conferir protección y vectorizar el anticuerpo al lugar deseado.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

El adalimumab (Imraldi[®]) fue cedido por el Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Clínico de Santiago de Compostela, Resomer[®] RG 503 H se adquirió de Evonik (Essen, Alemania). El alcohol polivinílico (PVA) se adquirió de Sigma-Aldrich (San Louis, EE.UU.). Poloxamer se adquirió de Sigma-Aldrich (San Louis, EE.UU.).

2.2. Metodología

2.2.1. Diseño y desarrollo de NPs PLGA cargadas con adalimumab

La preparación de las NPs PLGA cargadas con adalimumab se realizó mediante un método modificado de doble emulsión/evaporación W/O/W. Se ha llevado a cabo preparación de dos tipos de NPs PLGA, unos con núcleo acuoso y otros con núcleo gelificado. Con la finalidad de valorar la composición óptima de las NPs PLGA, así como las condiciones del proceso de preparación se realizó un estudio factorial previo.

2.2.2. Caracterización físico-química de NPs PLGA cargadas con adalimumab

2.2.2.1. Tamaño de partícula, distribución de tamaño y potencial z

La caracterización físico-química en cuanto a tamaño, distribución de tamaño y carga superficial de las NPs PLGA cargadas con adalimumab se ha llevado a cabo mediante una técnica de dispersión dinámica de la luz (DLS) [2].

2.2.2.2. Evaluación morfológica

El estudio de la morfología de las NPs PLGA se ha realizado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), tras tinción con ácido fosfotúngstico, colocación en placas de cobre y posterior secado.

2.2.2.3. Rendimiento de producción, Eficiencia de encapsulación y Capacidad de carga

La determinación del rendimiento de producción se ha realizado por un método directo, basado en la relación entre la cantidad de producto final e inicial. Por su parte, la evaluación de la eficacia de producción y la capacidad de carga de las NPs PLGA se llevó a cabo mediante una técnica de ultracromatografía líquida de alta resolución (UPLC) a través de un método de difusión en gradiente diseñado para la detección de adalimumab.

El efecto de la cantidad de adalimumab en las características físico-químicas de las NPs PLGA se ha evaluado en términos de tamaño, distribución de tamaño y carga superficial y posteriormente se correlacionaron con los valores de eficacia de encapsulación y capacidad de carga.

3. Resultados y Discusión

3.1. Diseño y desarrollo de NPs PLGA cargadas con adalimumab

El procedimiento de preparación de las NPs PLGA cargadas con adalimumab ha sido adecuado, permitiendo la encapsulación y estabilización de dicho anticuerpo en sistemas de tamaño nanométrico.

3.2. Caracterización físico-química

3.2.1. Tamaño, distribución de tamaños y carga superficial

Las NPs PLGA cargadas con adalimumab se presentan como una población muy uniforme y homogénea, sin agregación ni precipitación. Además, mostraron valores adecuados de carga superficial derivados de la carga intrínseca del polímero, aspecto que garantiza su estabilidad en el tiempo.

3.2.2. Estudio de la morfología

Ambos tipos de NPs PLGA presentaban un núcleo acuoso, son redondas, uniformes y con superficie lisa. Por tanto, a priori se trataría de sistema polimérico de tipo repertorio, útil para procesos de liberación controlada de adalimumab.

3.2.3. Rendimiento de producción, eficacia de encapsulación y capacidad de carga

Se han obtenido valores elevados tanto a nivel de rendimiento de producción, como de eficacia de encapsulación y capacidad de carga, asegurando que el método de preparación es apropiado para la encapsulación de adalimumab.

4. Conclusiones

Se propone, por primera vez, un sistema polimérico nanoestructurado para la encapsulación de adalimumab como forma de aumentar su estabilidad, reducir los posibles efectos asociados a su administración y mejorar su biodisponibilidad. Su diseño y desarrollo se vieron reforzados por una consistente base de caracterización in vitro. Asimismo, dicho sistema NPs PLGA mostró características físico-químicas adecuadas para la administración de adalimumab.

Agradecimientos

XGO y RVF agradecen al IDIS (Instituto de investigación sanitario de Santiago de Compostela) por la financiación de su contrato predoctoral. Esta investigación ha sido apoyada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (RTI2018-099597-B-100).

Referencias bibliográficas

1. Bang, L.M., Keating, G.M. Adalimumab. *BioDrugs*. 2004;18:121–39.
2. Varela-Fernández R, García-Otero X, Díaz-Tomé V, et al. Design, Optimization, and Characterization of Lactoferrin-Loaded Chitosan/TPP and Chitosan/Sulfobutylether- β -cyclodextrin Nanoparticles as a Pharmacological Alternative for Keratoconus Treatment *ACS Applied Materials & Interfaces*. 2021;13(3):3559-75.

Este trabajo debe ser citado como:

García Otero X, Varela Fernández R, Blanco Méndez J, Subias M, González Barcia M, Aguiar P, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ. Diseño, desarrollo y caracterización de nanopartículas de PLGA cargadas con adalimumab. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):63-5.

Microemulsión tópica de amlodipino besilato: formulación, caracterización y evaluación

Pazmiño Carlitos ^{*1}, Rabasco Antonio M², González Rodríguez María Luisa²

¹ Laboratorio Neofármaco. Avda Atahualpa y Noboa y Caamaño, Ambato. Ecuador.

² Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González, 2. 41012 Sevilla, España.

*Correspondencia: pazminoc@neofarmaco.net

1. Introducción

La fisura anal crónica es una afección caracterizada por la presencia de úlceras en el epitelio escamoso del ano [1, 2], que son provocadas por la contracción espasmódica del esfínter anal interno (EAI) [3, 6]. Amlodipino (AMD) es un bloqueante de los canales de calcio que regula los cambios en la concentración de calcio intra y extracelular [4, 5]. Debido a los problemas que AMD presenta en cuanto su solubilidad, el objetivo de la presente investigación consiste en formular, caracterizar y evaluar una microemulsión (ME) de AMD para su aplicación tópica, mediante la utilización de excipientes adecuados como potenciadores de la permeación.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Amlodipino Besilato (AMD, Merck, USA). Aceite de ricino polioxi-etileno – 40 (Findet ARH-52, Kao global chemical), Triglicéridos caprílico, cáprico (Crodamol[®], Croda, USA), Propilenglicol (PG, Alfa Aesar, USA), Metilparabeno, propilparabeno EDTA disódico y acetato de tocoferol fueron (Lab Neofarmaco, Ecuador).

2.2. Formulación de las microemulsiones

Se determinó la solubilidad de AMD en varios aceites, surfactantes y co-surfactantes para encontrar los componentes apropiados con

buna capacidad de solubilización para AMD en ME. Para conocer los intervalos de concentración de los componentes en el rango existente de ME, se construyeron diagramas de fase pseudo-ternarios utilizando el método de titulación de agua. Una vez definidas las zonas de ME, se volvieron a replicar y caracterizar por mezcla directa y agitación; el AMD se añadió a la mezcla de surfactante y co-surfactante, se calentó a 50 °C y se agitó durante 15 minutos a 1000 rpm.

2.3. Caracterización y evaluación

Las microestructuras resultantes de las zonas de ME derivadas del diagrama pseudo-ternario, se caracterizaron por una combinación de técnicas que incluyen apariencia macroscópica y microscópica, medición de la conductividad eléctrica, pH, comportamiento reológico, tamaño de gotícula, índice de polidispersión (PDI) y potencial zeta, calorimetría diferencial de barrido, ensayo de permeación in vitro (flujo en el estado estable J y el coeficiente de permeación P). Finalmente, de la formulación optimizada se realizó la valoración del AMD mediante HPLC-DAD a 237 nm.

3. Resultados y Discusión

3.1. Evaluación de solubilidad de AMD en los componentes de las ME

Se midió la solubilidad del activo en los componentes de una ME, resultando ser que el co-surfactante con mejor resultado fue el propilenglicol. De los surfactantes, se seleccionó

al aceite de ricino polioxietileno – 40 (Findet). De los componentes oleosos evaluados, los triglicéridos caprílico/cáprico tuvieron el mejor comportamiento, ya que no fueron susceptibles de auto-oxidación lipídica debido a las insaturaciones estructurales de sus ácidos grasos.

3.2. Diagramas pseudo-ternarios

Se construyeron los diagramas pseudoternarios, resultando tres los diagramas principales que presentaron una amplia zona de ME; se seleccionaron en ellos tres puntos aleatorios en la zona de ME más estable, con lo cual se elaboraron nueve formulaciones denominadas P1-P9 de ME cargadas con 1 % (p/p) de AMD. Estas formulaciones estaban constituidas por PG, Findet ARH52, Agua y AMD en diferentes proporciones que permitieron mantener en estado disuelto al fármaco.

3.3. Caracterización y evaluación de las ME

Las formulaciones seleccionadas fueron caracterizadas físico-químicamente. En base al estudio realizado, las formulaciones denominadas P5, P7 y P8 mantienen su tamaño de partícula menor a 100 nm con PDI inferior a 0,5 con respecto al resto de formulaciones. El potencial zeta de la fórmula P5 fue el mayor de las tres evaluadas, con un valor de 9.99 mV. El comportamiento reológico reveló características de una fase dilatante y posterior comportamiento plástico para la formulación P5. El lote con pH 5.6 define su afinidad por la epidermis donde será aplicada y el valor de la conductividad revela el sentido de la ME, o/w.

El análisis ANOVA del estudio de liberación de las formulaciones evaluadas (p-valor 0.0707) determinó que no existe diferencia sobre los valores de flujo ni constante de permeabilidad. Las fórmulas que tienen la mayor pendiente son P3, P5 y P7, con valores de J 0.011, 0.014 y 0.022 mg/cm²/min, respectivamente.

Referencias bibliográficas

1. Martinena Padial E, Pozuelos Estrada J, Martín Lencero L, Vergeles-Blanca JM. Tratamiento de las fisuras anales con donadores de óxido nítrico: ¿una opción terapéutica? FMC - Form. Med Contin Aten Prim. 2001;8(4):256-65.
2. Nelson RL, Thomas K, Morgan J, Jones A. Non surgical therapy for anal fissure. Cochrane Database Syst Rev. 2012.

La caracterización térmica indicó que no existe incompatibilidad entre los componentes principales.

De las tres formulaciones finales fue seleccionada la formulación P5, a la cual se complementó su formulación galénica para el ingreso al estudio de estabilidad a largo plazo; para ello, se le incluyeron metil y propil parabenos como conservantes, acetato de tocoferol y EDTA disódico como antioxidantes, al igual que un humectante, glicerina, en proporciones que no alteraran la microemulsión formada. A esta formulación se le evaluó mediante HPLC su potencia con respecto al AMD, obteniéndose un tiempo de retención de 10.33 min, una potencia del 102,3 % ± 0.9 %, resolución de 3.8, asimetría de 1.4 y 3579 platos teóricos para el pico de AMD.

4. Conclusiones

En el presente estudio se investigó la aplicación de un sistema en ME que contiene AMD para su aplicación tópica. El diseño experimental permitió evaluar una serie de combinaciones que derivaron a establecer una ME optimizada - P5 - la cual demostró ser la más estable y con mejor comportamiento de permeación in vitro. La formulación está compuesta por propilenglicol 15 %, glicerina 3 %, FINDET ARH 52® 39 %, crodamol® 21 %, AMD 1 %, metilparabeno 0,18 %, propilparabeno 0,02 %, acetato de tocoferol 0,05 % y agua purificada csp 100 %.

Agradecimientos

El trabajo fue financiado por la Junta de Andalucía (CTS214), el VI Plan Propio de la Universidad de Sevilla y Laboratorio Neofármaco de Ecuador. Los autores agradecen al grupo de investigación el apoyo científico y tecnológico brindado.

3. Salem AE, Mohamed EA, Elghadban HM, Abdelghani GM. Potential combination topical therapy of anal fissure: Development, evaluation, and clinical study. *Drug Deliv.* 2018;25(1):1672-82.
4. Ananchenko G, Novakovic J, Lewis J. Amlodipine Besylate. En: Brittain H, editor. *Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology*, 1ª ed. Vol. 37, Academic Press; 2012. p. 31-77.
5. Fares H, Di Nicolantonio JJ, O'Keefe JH, Lavie CJ. Amlodipine in hypertension: a first-line agent with efficacy for improving blood pressure and patient outcomes. *Open Heart.* 2016;3(2):e000473.
6. Fernández García MI, Albornoz López R, Pérez Rodrigo I, Abellón Ruiz J. Efectividad y seguridad de diltiazem 2 % tópico en fisura anal. *Farm Hosp.* 2009;33(2):80-8.

Este trabajo debe ser citado como:

Pazmiño C, Rabasco AM, González Rodríguez ML. Microemulsión tópica de amlodipino besilato: formulación, caracterización y evaluación. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):66-8.

Servicio de seguridad y uso de medicamentos sujetos a seguimiento adicional (ssum) en farmacia comunitaria: resultados de conocimiento y uso

Aizpurua Arruti Xavier ^{*1,2}, Isla Arantxa², Malet Larrea Amaia¹, Oñatibia Astibia Ainhoa¹, Calvo Begoña², Solinís María Ángeles², Domingo Echaburu Saioa³, Gastelurrutia Miguel Ángel^{1,4}, Goyenechea Estíbaliz¹, del Pozo Rodríguez Ana²

¹ Colegio Oficial de Farmacéuticos de Gipuzkoa, Donostia / San Sebastián, España.

² Departamento de Tecnología farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco, Vitoria-Gasteiz, España.

³ Servicio de Farmacia OSI Alto Deba, Osakidetza, España.

⁴ Grupo de Investigación de Atención Farmacéutica, Universidad de Granada, España.

*Correspondencia: xabieraizpurua@cofgipuzkoa.eus

*Aprobado por el Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de Euskadi (CEIm-E)

1. Introducción

Las intervenciones en salud realizadas desde la farmacia comunitaria mediante Servicios Profesionales Farmacéuticos Asistenciales han demostrado una mejoría de los resultados clínicos [1].

Los medicamentos sometidos a seguimiento adicional son aquellos que, por contener nuevos principios activos, ser medicamentos biológicos de reciente autorización o porque se requieren datos o estudios adicionales posteriores a su autorización, están sujetos a una vigilancia más estricta de su seguridad [2]. Dentro de este grupo de medicamentos se incluyen varios indicados en el tratamiento de patologías crónicas de elevada prevalencia como la diabetes mellitus (DM), enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y aquellas relacionadas con el riesgo cardiovascular (tromboembolismo e insuficiencia cardíaca), en las que es importante garantizar un uso racional de los medicamentos. Para ello, y con el fin de garantizar la seguridad del tratamiento, su efectividad terapéutica y el control de la enfermedad es necesario asegurar una buena adherencia al tratamiento, el adecuado conocimiento y uso de los medicamentos (CyU), así como la detección de posibles efectos adversos asociados a su uso y su manejo.

Por todo ello, el objetivo del presente proyecto es la implementación y evaluación de un servicio de seguridad y uso de medicamentos (SSUM) aplicado a pacientes en tratamiento con medicamentos sujetos a seguimiento adicional para el tratamiento de DM, EPOC y patologías cardiovasculares (CV).

2. Materiales y métodos

Se ha diseñado un estudio multicéntrico con seguimiento prospectivo en el que participan 27 farmacias comunitarias de Gipuzkoa. Cada farmacia ha reclutado pacientes en tratamiento con alguno de los 30 medicamentos objeto de estudio, es decir, medicamentos sometidos a seguimiento adicional indicados para el tratamiento de DM, EPOC o patologías CV.

Desde las farmacias comunitarias se ha realizado un seguimiento de cada paciente a lo largo de 6 meses para evaluar e intervenir en i) la adherencia; ii) el CyU de los medicamentos y iii) la seguridad. Para ello, tras la visita inicial de reclutamiento (V0), se realizaron entrevistas pasados 1 mes (V1), 3 meses (V2) y 6 meses (V3).

Para valorar la adherencia al tratamiento, se utilizó el Test de Morisky-Green. En caso de

falta de adherencia, se llevaron a cabo diferentes intervenciones dependiendo de la causa. Para valorar el CyU, se evaluó si se conocía para qué era el medicamento, qué cantidad debía tomar, durante cuánto tiempo, cómo se usa y si conocía las precauciones de uso. En el caso de detectar falta de CyU, se realizó una intervención facilitando la información necesaria de manera adecuada y adaptada a las necesidades de cada paciente.

Finalmente, se valoró la seguridad, identificando la aparición de Reacciones Adversas de los Medicamentos (RAM). En caso de detección, se notificó al Sistema de Farmacovigilancia y se realizaron las intervenciones necesarias para solucionarlas.

3. Resultados y Discusión

Se reclutaron 145 pacientes, 66 (46 %) pertenecientes al grupo de DM, 51 (35 %) a patologías cardiovasculares (CV) y 28 (19 %) a EPOC.

En la primera entrevista (V1), se identificaron 155 incidencias, el 22 % relacionadas con adherencia, el 45 % con CyU y el 33 % con seguridad (Figura 1). Tras las intervenciones llevadas a cabo por personal farmacéutico, se observa una reducción importante en el número de incidencias. De hecho, en la V3 se observa una reducción respecto a V1 del 80 % en incidencias relacionadas con la adherencia, del 84 % en el CyU y del 73 % en la seguridad.

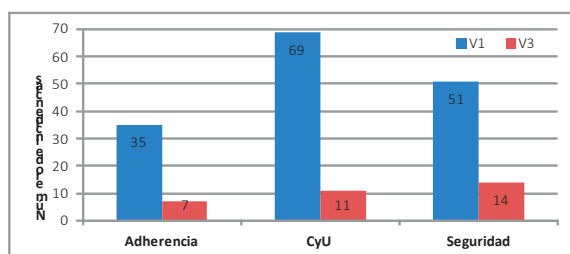


Fig. 1. Número de incidencias de cada modalidad en las visitas V1 y V3.

Referencias bibliográficas

1. Dalton K, Byrne S. Role of the pharmacist in reducing healthcare costs: current insights. *Integrated pharmacy research and practice*. 2017;6:37-46.

Teniendo en consideración que el mayor número de incidencias se asocian al CyU, la Figura 2 detalla el número de incidencias e intervenciones llevadas a cabo en cada una de las visitas clasificadas por grupos de medicamentos. En la V3 se observa un adecuado CyU en más del 90 % de pacientes. Cabe destacar, que el número de intervenciones es similar en los 3 grupos de pacientes, pese a que el número de sujetos en seguimiento y de incidencias es distinto (DM>CV>EPOC). Este hecho muestra que ante una incidencia son necesarias diferentes intervenciones, dependiendo de la complejidad del tratamiento y características de la persona.

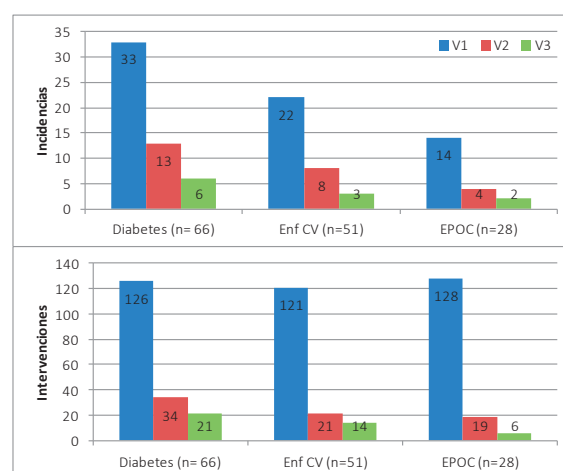


Fig. 2. Incidencias e intervenciones sobre CyU en cada una de las visitas.

4. Conclusiones

La puesta en marcha del servicio SSUM ha mejorado notablemente en un periodo de 6 meses la adherencia, el uso y conocimiento y la seguridad de los tratamientos con medicamentos sometidos a seguimiento adicional en pacientes con DM, EPOC y patologías CV. Este estudio pone de manifiesto la importancia de la Farmacia Comunitaria para garantizar el uso racional de los medicamentos y mejorar los resultados en salud de la población.

Agradecimientos

Universidad del País Vasco (UPV/EHU, US18/24, GIU 17/32), Distribuidora Farmacéutica Guipuzcoana y Colegio Oficial de Farmacéuticos de Gipuzkoa.

Aizpurua Arruti X, Isla A, Malet Larrea A, Oñatibia Astibia A, Calvo B, Solinís MA, Domingo Echaburu S, Gastelurrutia MA, Goyenechea E, Del Pozo Rodríguez A - Servicio de seguridad...

2. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Medicamentos sometidos a seguimiento adicional de su seguridad. 2013. Disponible en: https://www.aemps.gob.es/informa/notasinformativas/medicamentosusohumano-3/seguridad-1/2013/ni-muh_fv_25-2013-seguimiento-adicional/

Este trabajo debe ser citado como:

Aizpurua Arruti X, Isla A, Malet Larrea A, Oñatibia Astibia A, Calvo B, Solinís MA, Domingo Echaburu S, Gastelurrutia MA, Goyenechea E, Del Pozo Rodríguez A. Servicio de seguridad y uso de medicamentos sujetos a seguimiento adicional (ssum) en farmacia comunitaria: resultados de conocimiento y uso. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):69-71.

Sporopollenin microcapsules as ocular drug delivery platforms

Roblas Sandra¹, Varela Calviño Rubén², Alcalde Ignacion³, Merayo Lloves Jesús³, Csaba Noemi ^{*1}

¹ Center for Research in Molecular Medicine and Chronic Diseases/Department of Pharmacology, Pharmacy and Pharmaceutical Technology, University of Santiago de Compostela, Spain.

² Department of Biochemistry and Molecular Biology, University of Santiago de Compostela, Spain.

³ Fernández-Vega University Institute, Ophthalmological Research Foundation, University of Oviedo, Oviedo, Spain.

*Correspondencia: noemi.csaba@usc.es

1. Introduction

In the present work we developed an ocular drug delivery platform based on natural pollen grains. The hollow microcapsules obtained upon the treatment of pollen present a highly porous structure with a 3D microneedle-like surface and are expected to enhance mucoadhesion and residence time of drugs administered to the ocular surface.

2. Methods

Purification of natural pollen grains from *Helianthus* and *Matricaria* sp. was performed by sequential washing steps to remove the external pollenkitt and the intracellular components. [1] Morphology and chemical composition were analyzed by FT-IR, elemental analysis, thermogravimetry and SEM.

Evaluation of the immune response to potential allergens was performed *in vitro*, using human monocyte-derived dendritic cells. Biocompatibility and physical irritation were evaluated upon ocular administration to rat eye *in vivo*.

Immunostaining of the different sections of the rat eye was accomplished with ocular lymphocyte and dendritic cells markers to evaluate activation after pollen exposition. Additional analysis of epithelial damage was

carried out *in vitro* by means of measuring the transepithelial resistance (TEER) on an artificial 3D cornea model of human sclerocorneal limbus epithelium (HCLEC).

3. Results and discussion

Purified pollen microcapsules preserved the characteristic external 3D structure of intact, natural pollen grains but were free of external contaminants and intracellular compounds.

The immune cell recognition assay showed that the instillation of different pollen grains did not cause higher cell activation than that observed in non-treated eyes, which is an indicator of an optimal purification procedure able to avoid allergenicity when used via ocular route.

Moreover, regarding ocular biocompatibility and tolerability, no signs of hyperemia, anormal mucus/tear secretion or animal discomfort were detected *in vivo* by *in-situ* macroscopic observation even 6 hours after pollen administration. Finally, the 3D corneal HCLEC tissue model showed that no epithelial rupture took place, showing preserved integrity over 3 h of exposure.

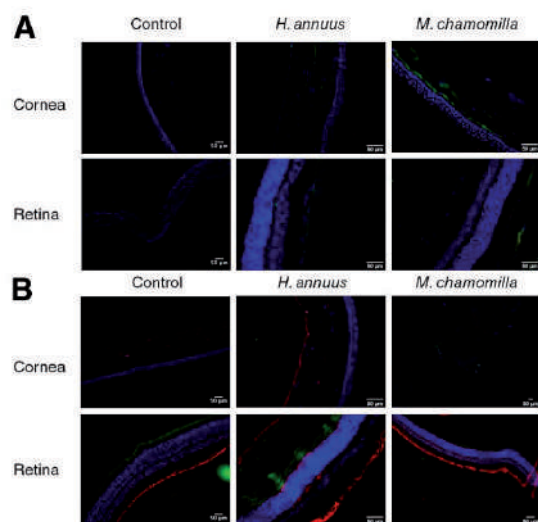


Fig 1. - Fluorescence images of rat cornea and retina upon the administration of different pollen grains. A. Immunostaining with TNF α (green) y CamKII (red). B. Immunostaining of CD4 lymphocytes and the S100 protein (red). Cell nuclei were stained with DAPI (blue)

References

1. Ageitos et al., Purification of Hollow Sporopollenin Microcapsules from Sunflower and Chamomile Pollen Grains, *Polymers*. 2021;13(13):2094

Este trabajo debe ser citado como:

Roblas S, Varela Calviño R, Alcalde I, Merayo Lloves J, Csaba N. Sporopollenin microcapsules as ocular drug delivery platforms. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):72-3.

4. Conclusions

The biocompatibility of the developed 3D mironeedle-like platforms, as well as their mucoadhesion properties make them a promising strategy to overcome the biological and mechanical barriers of ocular drug delivery.

Acknowledgements

Ministerio de Ciencia e Innovación, Gobierno de España: PID2019-107500RB-I00 and ERC2018-092841

Xunta de Galicia: Competitive Reference Groups ED431C 2021/17

Ventajas de la tarjeta electrónica para el seguimiento de pacientes desde la farmacia ante la crisis sanitaria Covid-19

Jiménez Esquivel Antonio Luis *, Córdoba Díaz Manuel, Córdoba Díaz Damián

Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria. Facultad de Farmacia. UCM.

*Correspondencia: antonj05@ucm.es

1. Introducción

La Organización Mundial de la Salud elevó el 11 de marzo de 2020 la situación de Emergencia de Salud Pública ocasionada por el Covid-19 a pandemia internacional [1].

El gobierno aprobó el 14 de marzo de 2020 declarar el estado de alarma en todo el territorio español para afrontar dicha situación [2].

Las comunidades autónomas procedieron a modificar sus sistemas de receta electrónica para facilitar a los pacientes la retirada de tratamientos y de esta forma disminuir las visitas a las farmacias y centros de salud.

Se pudieron renovar los tratamientos crónicos que habían caducado, mediante llamada telefónica sin necesidad de desplazarse físicamente a la consulta médica.

También se alargaron los tiempos que los tratamientos podían estar en la tarjeta electrónica con el fin de retirar varios envases el mismo día [3].

La polimedición es un hecho constatado, sobre todo en personas mayores de 65 años, que presentan una demanda asistencial en atención primaria 3 veces superior a la media, y que consumen el 30 % de los medicamentos que se prescriben.

Los acontecimientos adversos que tuvieron lugar durante el periodo anteriormente descrito, tuvieron un efecto negativo en muchos de esos pacientes en cuanto a adherencia se refiere [4].

Sin, embargo el uso de la tarjeta electrónica hizo que muchos de esos pacientes pudieran seguir retirando sus medicamentos de la farmacia igual que antes de la pandemia.

2. Metodología

Se realizó un estudio para determinar la prevalencia de los tratamientos durante el periodo que duró el confinamiento, es decir entre el 15 de marzo y 21 de junio de 2020.

El estudio tuvo lugar en la farmacia Marín situada en Jerez de los Caballeros (Badajoz).

Se incluyeron en el estudio a los 100 primeros pacientes polimedcados que obedecían los siguientes requisitos; mayor de edad, con 4 o más medicamentos prescritos y aceptación del consentimiento informado. No contabilizamos ni material de cura ni absorbentes.

Definimos “pequeñas diferencias”, aquellos valores de consumo de medicamentos por paciente entre los periodos de tiempo a estudiar que estuvieran comprendidos entre más menos 6 medicamentos.

Las variables recogidas fueron: fecha, denominación, mes, observaciones, próxima dispensación.

Para el análisis de la información de los tratamientos de cada paciente utilizamos la herramienta informática UNYCOP, así como la hoja de cálculo Excel junto con el empleo de tablas dinámicas. De esta forma, cada paciente quedaba grabado como COMBO (y el número

correspondiente por orden de consumo de medicamentos).

Los datos de consumo de medicamentos eran volcados desde el programa UNYCOP hasta la hoja de cálculo. Desde aquí y una vez convertida en tabla dinámica obteníamos los datos de consumo de medicamentos por el paciente, medicamento más utilizado, estudio de la edad por consumo de medicamentos, etc...

Creamos un programa que relacionaba a su vez todas las tablas dinámicas entre sí.

Toda esta información la comparamos con los mismos pacientes y en el mismo periodo del año actual.

Además se hizo seguimiento de tensión arterial y glucemia en muchos de ellos, especialmente los más vulnerables, lo que nos permitía comprobar si cumplían sus tratamientos.

Por último, hay que indicar que tuvimos una relación muy estrecha con el centro de Salud de Jerez de los Caballeros, lo que permitió en muchos casos que la actualización de los tratamientos se agilizará. Especial atención sobre todo a la prescripción de psicótopos, ansiolíticos y antidepresivos, muy demandados durante este periodo.

Referencias bibliográficas

1. BOE. Real Decreto 463/2020, de 14 de marzo por el que se declara el estado de alarma para la gestión de la situación de crisis sanitaria ocasionada por el Covid19 [en línea]. [Consultado el 21 de septiembre 2021]. Disponible en: <https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=BOE-A-2020-3692>
2. Administracion.gob.Crisis sanitaria Covid-19: Normativa e información útil [en línea]. [Consultado el 19 de agosto de 2021]. Disponible en: https://administracion.gob.es/pag_Home/atencionCiudadana/Crisis-sanitaria-COVID-19.html
3. elglobal. Las CCAA flexibilizan sus sistemas de e-receta para facilitar la retirada de medicación [en línea]. [Consultado el 2 de septiembre 2021]. Disponible en: <https://elglobal.es/farmacia/ccaa-cambios-receta-electronica-retirada-medicamentos-coronavirus/>
4. Sánchez JL, Muñoz M, Lara S, Tenias JM, Lara JJ, Fraga MD, Valenzuela JC. Impacto de la atención farmacéutica en pacientes crónicos polimedcados en un centro de salud. Rev. O.F.I.L. 2016;26:1.

Este trabajo debe ser citado como:

Jiménez Esquivel AL, Córdoba Díaz M, Córdoba Díaz D. Ventajas de la tarjeta electrónica para el seguimiento de pacientes desde la farmacia ante la crisis sanitaria Covid-19. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):74-5.

3. Resultados y discusión

Las conclusiones obtenidas fueron las siguientes:

El 78 % de los pacientes eran personas mayores de 65 años, el 18 % estaban comprendidos entre los 51 y 65 años, y sólo un 4 % pertenecían al grupo de entre 31 y 50 años.

El 57 % de todos los pacientes cumplieron sus tratamientos por igual en los dos periodos de tiempo a estudio.

De todos ellos, el 86 % eran personas mayores de 65 años.

Debemos de indicar que estimamos un error de un 8 % debido a que en el estudio hay 8 pacientes que después del confinamiento tuvieron que utilizar material apósitos de hidrocoloide y alimentación especial, los cuales nosotros no incluimos en el estudio.

4. Conclusiones

Con este trabajo queremos evidenciar el impacto positivo que ha tenido la implantación de la tarjeta electrónica durante la crisis COVID 19, permitiendo que los pacientes a pesar de todas las limitaciones que hubo en ese periodo de tiempo pudieran seguir tomando su medicación sin perjuicio para su salud.

Oral calcium fosfomicin: Pharmacokinetic/pharmacodynamic study

Alarcia Lacalle Ana^{1,2}, Isla Arantxa^{1,2}, Solinís María Ángeles^{1,2}, Abajo Zuriñe³, Cabero Zamorano María³, Canut Andrés^{2,4}, Rodríguez Gascón Alicia^{*1,2}

¹ Pharmacokinetic, Nanotechnology and Gene Therapy Group (PharmaNanoGene), Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country UPV/EHU, Paseo de la Universidad 7, Vitoria-Gasteiz, Spain.

² Bioaraba, Microbiology, Infectious Diseases, Antimicrobials and Gene Therapy Research Group, Vitoria-Gasteiz, Spain.

³ Bioraba Health Research Institute, Clinical Trials Unit, Vitoria-Gasteiz, Spain.

⁴ Microbiology Service. Araba University Hospital. Vitoria-Gasteiz, Spain.

*Correspondencia: ana.alarcia@ehu.eus

1. Introduction

Urinary tract infections (UTIs) are some of the most common bacterial infections, affecting 150 million people each year worldwide. Calcium fosfomicin is an antimicrobial agent with indication for the treatment of uncomplicated UTIs, being *Escherichia coli* the most frequently isolated microorganism [1, 2]. EUCAST clinical breakpoint of oral fosfomicin for *E. coli* in uncomplicated UTI is 8 mg/L, and the epidemiologic cutoff (ECOFF) for *E. coli* is 4 mg/L [3]. Urinary drug concentrations are correlated with antibacterial activity in uncomplicated UTI infections. Indeed, high urinary antimicrobial concentrations are essential for efficacy.

Therefore, the objective of this study was to analyze the urine concentrations of fosfomicin after oral administration to healthy women at different dosing levels from a pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) point of view.

2. Materials and methods

Urine data come from an open-label, randomized, crossover study of bioavailability of various doses of Fosfocina[®] (Laboratorios ERN, S.A.) and formulations in healthy women under fasting conditions, carried out in the Unidad de Ensayos Clínicos (Hospital Universitario de Álava, Vitoria-Gasteiz, Spain). The study

was approved by the Ethics Committee for Investigation with medicinal products of Euskadi. The authorization of the AEMPS was also obtained (Code: PD7522.22, EudraCT: 2020-001664-28).

The volunteers received oral calcium fosfomicin as a single dose of 500 mg (capsule), a single dose of 1000 mg (capsule or suspension), and a multiple dose of 1000 mg q8h for three days (capsule). Urine samples were collected over a period of 36 hours.

From the concentrations of fosfomicin in urine, the area under the urine concentration-time curve over a period of 24 h (AUC₂₄) was calculated by the trapezoidal rule. The AUC₂₄/MIC > 24 was considered the PK/PD target [4]. Monte Carlo simulations were used to estimate the cumulative fraction of response (CFR), defined as the expected population probability of target attainment for a specific antimicrobial dose and a specific population of microorganisms. CFR is understood as the expected probability of success of the therapy. MIC distribution of *E. coli* against fosfomicin reported by EUCAST was used [3]. A 10.000-subject simulation was used with Oracle[®] Crystal Ball.

3. Results

Figure 1 shows a comparison of the mean urine

profiles in all groups. As the figure shows, mean concentration of fosfomycin in urine, even at the lowest dose level, is above 32 mg/L for at least 24 hours with all evaluated formulations.

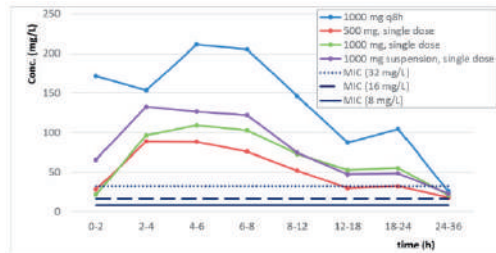


Fig 1. Mean urine concentration of fosfomycin compared to MIC of 8, 16 and 32 mg/L.

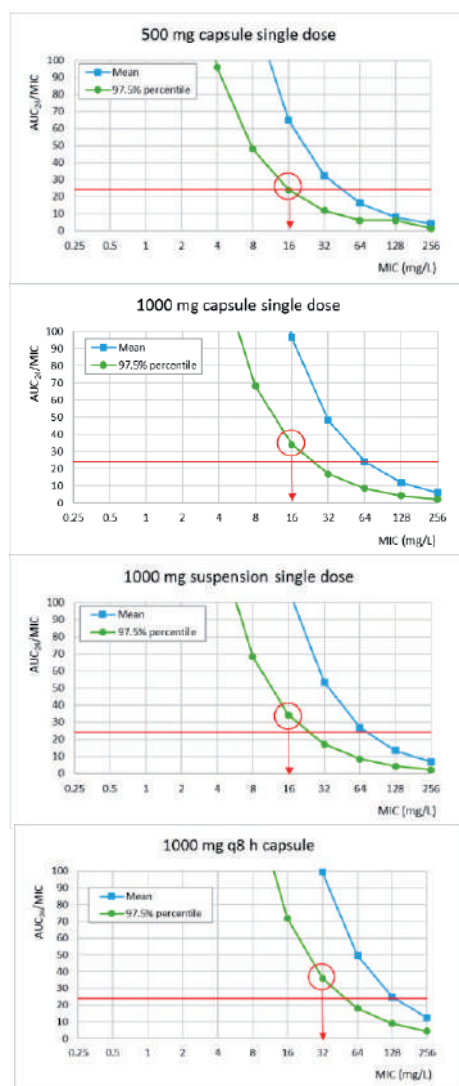


Fig. 2. AUC24/MIC values vs MIC for all dose levels.

References

1. Flores-Mireles AL et al. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* 2015;13:269-84.

Figure 2 shows the AUC24/MIC values for a range of MIC values (expressed as mean and 97.5 % percentile). PK/PD breakpoints can be read directly from the graphic at the intersection of the horizontal line at the PK/PD target (AUC24/MIC > 24) and the 97.5 % percentile curve.

Table 1 summarizes the PK/PD breakpoints (highest MIC value with a probability of target attainment $\geq 90\%$) of fosfomycin at the different dose levels and dosage form, and the values of CFR against E.coli considering the MIC profile reported by EUCAST [3].

Table 1. PK/PD breakpoints (non-species related) of fosfomycin and CFR against E. coli.

Dose/formulation	PK/PD (mg/L)	CFR (%)
500 mg capsule, sd	16	96
1000 mg capsule, sd	16	96
1000 mg suspension, sd	16	96
1000 mg q8h capsule	32	97

4. Conclusions

Urine exposition of fosfomycin greatly exceeds the EUCAST clinical and ECOFF breakpoint of E. coli. MIC value supposedly covered with 500 mg capsule single dose, with 1000 mg capsule single dose, and with 1000 mg suspension single dose is 16 mg/L. In the same way, the MIC value supposedly covered with 1000 mg q8h capsule is 32 mg/L; therefore, this is the best option. Based on PK/PD analysis from urine concentrations, empiric treatment of uncomplicated UTI with oral calcium fosfomycin provides a high probability of treatment success (> 95 %).

Acknowledgments

This study was supported by ERN, S.A. A. Alarcia-Lacalle thanks the University of the Basque Country UPV/EHU (PIFG19/23) for her research grant.

2. Klein RD et al. Urinary tract infections: microbial pathogenesis, host-pathogen interactions and new treatment strategies. *Nat Rev Microbiol.* 2020;18:211-26.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints and dosing of antibiotics. <http://www.eucast.org>.
4. Lepak AJ et al. In Vivo Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of ZTI-01 (Fosfomicin for Injection) in the Neutropenic Murine Thigh Infection Model against *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61:e00476-17.

Este trabajo debe ser citado como:

Alarcia Lacalle A, Isla A, Solinís MA, Abajo Z, Cabero Zamorano M, Canut A, Rodríguez Gascón A. Oral calcium fosfomicin: Pharmacokinetic/pharmacodynamic study. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):76-8.

Development of selective cannabinoid nanoparticles to target the atheroma plaque

Martín Navarro Lucía ^{*1}, Clara Cala Carmen María², Herrera González María Dolores³,
Álvarez Fuentes Josefa^{1,4}, Martín Banderas Lucía^{1,4}

¹ Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/Prof. García González nº2 41012, Sevilla, España.

² Dpto. Farmacología, Pediatría y Radiología, Facultad de Medicina. Universidad de Sevilla. Avda. Sánchez Pizjuán, s/n, 41009, Sevilla, España.

³ Dpto. Farmacología, Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/Prof. García González nº2 41012, Sevilla, España.

⁴ Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/ CSIC/ Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

*Correspondencia: lmartinnavarro@us.es

1. Introduction

Atherosclerosis is the major cause of cardiovascular disease death in the developed world, for which there is no specific treatment [1]. Currently, the endothelial dysfunction and the inflammatory process in atherosclerosis are related with the actions of the endocannabinoid system. Cannabinoid receptor type 2 (CB2) is expressed in immune cells and is characterized for its anti-inflammatory properties, introducing CB2 agonists as a potential treatment [2, 3]. Given that these molecules have high lipophilicity and low availability, our research group has been exploring a platform of biodegradable, biocompatible and polymeric nanoparticles (NPs) as selective CB2 agonist delivery systems. For this purpose, we selected JWH-133, a synthetic, selective and potent CB2 agonist. Moreover, since cell adhesion molecule

VCAM-1 was highly expressed in the vascular endothelium of the atheroma plaque [4], NPs were functionalized with a VCAM-1 binding peptide (VCAM-1 BP) to target nanosystems in the atherosclerotic region (Fig. 1).

2. Materials and methods

2.1 NPs production

Polymeric NPs were produced by nanoprecipitation method previously described(5) using a mixture of three types of poly(lactide-co-glycolic): (i) PLGA; (ii) poly(lactide-co-glycolide)-b-poly (ethylene glycol) (PLGA-PEG) and (iii) poly(lactide-co-glycolide)-b-poly (ethylene glycol)-maleimide (PLGA-PEG-Mal) polymers at different ratios.

2.2. Drug loading

The cannabinoid was loaded to the NPs with a drug loading (DL, %) of 15 % drug/polymer concentration (w/w). JWH-133 loading to the NPs was determined

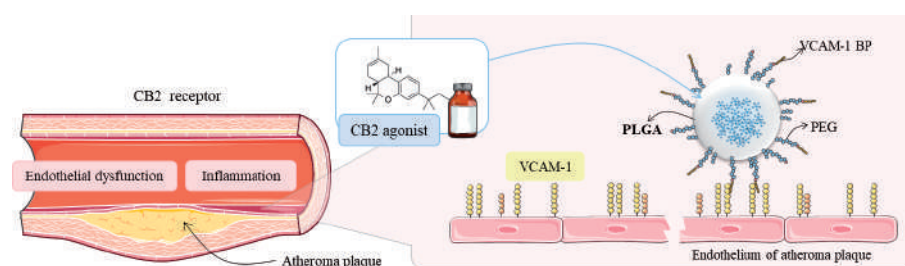


Fig. 1. Targeting of selective CB2 NPs to atherosclerotic regions through the interaction with the VCAM-1 adhesion molecules

by a reverse phase-high performance liquid chromatography (RP-HPLC) method. Drug incorporation to the NPs was indicated as entrapment efficiency (EE, %).

2.3. NPs functionalization

NPs prepared using 85:5:10 w/w ratio of PLGA:PLGA-PEG:PLGA-PEG-Mal, were functionalized with VCAM-1 BP. After 2h of NPs conjugation in HEPES 10mM/EDTA 0.4mM buffer, conjugation efficiency (CE%) was measured by microBCA assay.

2.4. In vitro cytotoxic activity

Cell viability after incubation of NPs during 24h was evaluated by MTT assays on human umbilical vein endothelial cells (HUVEC).

2.5. Cell uptake of functionalized NPs

In vitro cell uptake was studied using fluorescently labelled NPs (Nile Red-NPs) by confocal microscopy in tumor necrosis factor alpha (TNF α) stimulated cells.

3. Results and Discussion

The NPs were in 150-200 nm of diameter, showed spherical morphology, negative surface charge and, high encapsulation efficiency of JWH-133. After conjugation, functionalized NPs

maintained their shape and size.

Cell viability assays on HUVEC indicated low or non-toxicity for both blank and loaded-JWH-133 NPs. In contrast, cell viability was compromised when free CB2 agonist was incubated at high concentrations, indicating the positive impact of drug nanoencapsulation.

For cell NP uptake, TNF α stimulation resulted in a pro-inflammatory profile that mimicked the pathogenic condition. In vitro stimulated HUVEC expressed high levels of VCAM-1, resulting in increased recruitment and cell uptake of functionalised NPs in comparison of non-stimulated cells.

4. Conclusions

These preliminary results highlight the potential of formulated PLGA-NPs as functionalized selective delivery system for the vehiclization of CB2 agonists to target atheroma regions.

Acknowledgments

The authors would like to thank Biology Service of CITIUS for the assistance and equipment. This work has been supported by the Programa Operativo FEDER 2014-2020, the Consejería de Economía y Conocimiento de la Junta de Andalucía (US-1263053), and the Plan Propio of the University of Seville (Acción I.5).

References

1. Bergheanu SC, Bodde MC, Jukema JW. Pathophysiology and treatment of atherosclerosis: Current view and future perspective on lipoprotein modification treatment. *Netherlands Hear J.* 2017;25(4):231–42.
2. Hoyer FF, Steinmetz M, Zimmer S, Becker A, Lütjohann D, Buchalla R, et al. Atheroprotection via cannabinoid receptor-2 is mediated by circulating and vascular cells in vivo. *J Mol Cell Cardiol [Internet].* 2011;51(6):1007–14. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yjmcc.2011.08.008>
3. Steffens S, Veillard NR, Arnaud C, Pelli G, Burger F, Staub C, et al. Low dose oral cannabinoid therapy reduces progression of atherosclerosis in mice. *Nature.* 2005;434(7034):782–6.
4. Yin M, Li C, jiang J, Le J, Luo B, Yang F, et al. Cell adhesion molecule-mediated therapeutic strategies in atherosclerosis: From a biological basis and molecular mechanism to drug delivery nanosystems. *Biochem Pharmacol.* 2021;186(February).
5. Durán-Lobato M, Martín-Banderas L, Gonçalves LMD, Fernández-Arévalo M, Almeida AJ. Comparative study of chitosan- and PEG-coated lipid and PLGA nanoparticles as oral delivery systems for cannabinoids. *J Nanoparticle Res.* 2015;17(2).

Este trabajo debe ser citado como:

Martín Navarro L, Clara Cala CM, Herrera González MD, Álvarez Fuentes J, Martín Banderas L. Development of selective cannabinoid nanoparticles to target the atheroma plaque. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):79-80.

Assessment of extrusion process of drug-loaded filaments for 3D printing: metformin and Affinisol™

Mora Castaño Gloria¹, Millán Jiménez Mónica ^{*1}, Caraballo Isidoro¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla.

*Correspondencia: momillan@us.es

1. Introduction

3D printing technology enables the design of new drug delivery systems using polymers which can be molten. Most studies dealing with drug-loaded filaments report two main situations: in the first one, drugs and excipients melting points are similar [1], whereas in the second one drug melting point is much higher than excipient melting point. For this second case, we have studied some parameters of blends related with the extrusion process. Moreover, some parameters of drug-loaded filaments, containing metformin as model drug and a HPMC as main carrier, were also studied to know their printability.

2. Materials and methods

2.1. Materials

The filaments were made with HPMC (Affinisol™ 15 cP), donated by The Dow Chemical Company (Midland, MI); metformin (MF) was donated by Pharmhispania S.A. Pharmaceuticals (Barcelona, Spain); magnesium stearate (ES) and polyethylene glycol 6000 (PEG 6000). Affinisol™ is a cellulose derivative which can be molten (melting point 135 °C-200 °C). Metformin's melting point is 270 °C. ES was used as a lubricant. PEG 6000 was used as plasticizer [2].

2.2. Methods

2.2.1. Extrusion process

A single-screw filament extruder (Noztek Pro Desktop Filament Extruder, Noztec, UK) was

employed to obtain the drug loaded filaments (extrusion temperature 150 °C). Filaments with varying drug load (10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 % and 60 % w/w) were performed with a percentage of PEG 6000 and ES 5 % w/w each one. Residence time and flow speed were parameters employed to evaluate the behaviour of the blends in the extrusion process.

2.2.2. Mechanical and physical properties testing of filaments

Three-point bend test was applied to measure the brittleness of filaments using a Texture Analyser TA-XT (Stable Micro Systems, Godalming, UK).

The irregularity degree of the filaments surface could be highly abstracted into a fractal dimensional value (Df). Images of filaments surface were captured with Nikon SMZ800N. Matlab R2020a was employed to perform the box counting fractal analysis.

2.2.3. Homogeneity studies

Samples of filaments were dissolved in 200 ml of dissolution medium (pH=1.2) at 37 ± 0.5 °C, under magnetic stirring until complete dissolution. Aliquots (5 ml) were then filtered (0.45 mm membrane filters) and diluted (1:10). Absorbance of these solutions was measured at 230 nm using UV Visible spectrophotometry (Agilent 8453).

3. Results and Discussion

Behaviour of blends in the extrusion process and final filaments (diameter 1.71 ± 0.04 mm) were

Table 1. Extrusion process parameters and final filament parameters of blends containing 5 % of ES and PEG 6000 from 10 % to 60 % MF.

Blend	MF (%)	AFF (%)	Residence time (min)	Flow speed (cm/min)	Brittleness (kg/mm ² *%)	Fractal dimension	Drug content (%)
60A	60	30	12.00±0.00	2.71±0.00	5.70±0.65	1.035±0.006	65.99±4.39
50A	50	40	7.00±0.00	6.63±2.28	10.15±1.89	1.029±0.004	51.22±4.66
40A	40	50	5.75±0.96	6.87±4.77	15.93±3.55	1.028±0.006	38.44±1.74
30A	30	60	6.40±1.52	5.07±3.75	44.03±5.22	1.023±0.006	30.88±2.07
20A	20	70	7.83±2.32	4.77±4.14	57.63±11.36	1.022±0.008	22.23±0.27
10A	10	80	7.00±1.73	1.65±1.32	65.81±11.35	1.032±0.005	9.76±0.04

evaluated. As we can observe in Table 1, blend 10A shows one of the lowest flow speeds. This suggests 10 % of drug is insufficient to make the extrusion properly due to low viscosity of the blend. Blend 60A shows the longest residence time and one of the lowest flow speeds. This might be due to the high amount of not molten drug contained in these blends which was hindering the extrusion process. The results suggest a threshold for the extrusion of blends containing not molten drugs and AFF at 60 % drug load with percentages of 5 % of ES and PEG 6000. This result is analogous

to the previously observed in the granulation process. The mean torque intensity of a mixer torque rheometer follows a curve as a function of the liquid/solid ratio, which describes the mechanism of rheological variations during the sample wetting process [3]. Belem & Ferraz, 2020 [4] reported rheological profiles showing a curve with the maximum peak at 0.4 mL/g binder ratio. This curve decreased after this maximum. This agrees with our results as 60A contains 40 % of the main carrier together with ES and PEG 6000 and it is the blend which resists more the extrusion process and complicates it.

Regarding to the brittleness of filaments, the higher the value showing in the table, the lower the brittleness. From 10A to 30A, brittleness is lower than filaments from 40A to 60A. That suggests the more AFF in blends, the lower brittleness.

The surface roughness, using Df parameter, shows a turning point given that it decreases from 10 % to 30 % of drug but increases from 30 % to 60 %. Thus, the not molten drug seems to contribute to the stiffness and consistency of the filament. Therefore, it would be needed

over 10 % of drug to obtain a uniform texture on the surface of filament. Prasad et al., 2019 [5] has also reported that filaments above 25 % concentration of paracetamol (which did not melt at extrusion temperature) with Affinisol 15cP as carrier polymer were much softer than those with lower drug load. However, the smoothness of filaments decreased while the drug load increased.

The uniformity of filaments is one of the key parameters for the further development of successful 3D printed systems. Table 1 shows the concentrations of MF in the filaments. Filaments showed good agreement with the theoretical value. Thus, demonstrating that homogeneous mixtures were processed.

4. Conclusions

Summarizing parameters assessed in this study we could conclude blends containing more than 50 % of not molten drug and less than 40 % of Affinisol are not suitable for extrusion process neither to obtain drug-loaded filaments with physical and mechanical characteristics to be used in 3D printing.

Acknowledgments

This work has been supported by a F.P.U. grant from the Spanish Government and was part of a project (RTI2018-095041-B-C31) from the Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades.

References

1. Huang S, et al. Processing thermally labile drugs by hot-melt extrusion: The lesson with gliclazide. *Eur J Pharm Biopharm.* 2017;119:56-67.
2. Goyanes A, et al. Development of modified release 3D printed tablets (printlets) with pharmaceutical excipients using additive manufacturing. *Int J Pharm.* 2017;527:21-30.
3. Hancock BC, York P, Rowe RC. An assessment of substrate-binder interactions in model wet masses. 1: Mixer torque rheometry. *Int J Pharm.* 1994;102(1-3):167-76.
4. Belem, BR, Ferraz, HG. Rheological profile in mixer torque rheometer of samples containing furazolidone and different binders. *Chem Eng Res Des.* 2020;160:533-9.
5. Prasad E, et al. Development of a hot-melt extrusion (HME) process to produce drug loaded Affinisol™ 15LV filaments for fused filament fabrication (FFF) 3D printing. *Addit Manuf.* 2018;29:100776.

Este trabajo debe ser citado como:

Mora Castaño G, Millán Jiménez Mónica, Caraballo I. Assessment of extrusion process of drug-loaded filaments for 3D printing: metformin and Affinisol™. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):81-3.

Substrate reduction therapy based on siRNA for Fabry Disease

Beraza Millor Marina ^{*1,2}, Miranda Jonatan ^{3,4}, Rodríguez Castejón Julen ², Gómez Aguado Itziar ^{1,2}, del Pozo Rodríguez Ana ^{1,2}, Rodríguez Gascón Alicia ^{1,2}, Solinís María Ángeles ^{1,2}

¹ Pharmacokinetics, Nanotechnology and Gene Therapy (PharmaNanoGene), Faculty of Pharmacy, Centro de Investigación Lascaray Ikergunea, University of Basque Country, UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz.

² Bioaraba, Microbiology, Infectious Disease, Antimicrobial Agents and Gene Therapy, Vitoria-Gasteiz, Spain.

³ GLUTEN3S Research Group, Faculty of Pharmacy, University of Basque Country, UPV/EHU, Vitoria-Gasteiz.

⁴ Bioaraba, Nutrition and Food Safety, Vitoria-Gasteiz, Spain.

*Correspondencia: marina.beraza@ehu.eus

1. Introduction

Fabry Disease (FD) is a lysosomal storage disorder caused by mutations in GLA gene, resulting in an insufficient α -galactosidase A (α -Gal A) enzyme activity. Consequently, there is a progressive accumulation of glycosphingolipids, particularly globotriaosylceramide (Gb3) and its derivated lyso-Gb3 in vascular endothelial and smooth-muscle cells, specially in human heart and kidney [1].

The available therapeutic options are limited to enzyme replacement therapy (Replagal[®] and Fabrazyme[®]), and the oral chaperone Migalastat[®]. These therapies increase α -Gal A activity, reducing the levels of Gb3 and lyso-Gb3. In this sense, substrate reduction therapy (SRT) is a new approach for limiting the formation of glycosphingolipids. SRT targeted to Gb3 synthase (encoded by the A4GALT gene) has been proposed as a new strategy for FD, as it leads to a reduction in Gb3 avoiding the depletion of other glycosphingolipids which do not accumulate in FD [2].

Silencing therapies based on small interfering RNA (siRNA) are promising options as SRT tools. siRNA is a double-stranded RNA molecule, 21-25 nucleotides in length, able to cleave its complementary mRNA. The use of siRNAs requires the development of a vector

able to protect it and to facilitate its interaction with the target cell, affording an adequate intracellular disposition of the nucleic acid. Lipid nanoparticles (LNP) are among the most

widely non-viral nucleic acids carriers. LNP show several advantages, such as low or absence of in vivo toxicity, good long-term stability and the possibility to autoclave and sterilize. In fact, in 2018 FDA and EMA approved the first siRNA product, Onpattro[®], and it was formulated in LNP.

In this work, we have evaluated four different siRNA molecules targeted to the mRNA expressed by A4GALT gene. siRNAs were formulated in LNP as well as in a commercial transfection reagent. The silencing capacity was evaluated in IMFE-1 cells, a cellular line derived from primary endothelial cells obtained from FD patients.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Four siRNAs targeted to A4GALT gene differing in the nucleotide composition, and the DharmaFECT[®] Transfection Reagent were provided by Horizon Discovery (Waterbeach, England). DOTAP was obtained from Avanti Polar-lipids, Inc (Alabaster, AL, USA). Gattefossé

(Madrid, Spain) kindly provided Precirol[®] ATO 5 (Madrid, Spain). Real Time RT-PCR products were all obtained from Roche Diagnostics (Mannheim, Germany). All other reagents were analytical grade.

2.2. Methods

2.2.1. Preparation of the formulations

LNPs were prepared using two different techniques: solvent evaporation/emulsification and hot-melt emulsification [3]. The final vectors were decorated with dextran and protamine. Formulations were characterized in terms of size, polydispersity index and zeta potential. DharmaFECT[®] Transfection Reagent was formulated as indicated by its own protocol.

2.2.2. Silencing studies and viability analysis

IMFE-1 cells were transfected with four different siRNAs formulated in LPN as well as in the commercial transfection reagent. Forty-eight hours after the addition of the formulations silencing efficacy was measured by real time RT-PCR. Briefly, total RNA was extracted from the cells using a High Pure RNA Isolation Kit. RNA was then reverse-transcribed by a First Strand cDNA Synthesis Kit. cDNA was amplified and quantified using the LightCycler[®] FastStart DNA Master SBR Green I, using the specific primer sets to quantify A4GALT gene and β -actin as the endogenous reference. The analysis was performed by the LightCycler[®] 2.0 system (Roche). For viability analysis MTT was performed 24 hours after transfection.

3. Results and discussion

LNP vectors prepared by solvent evaporation/emulsification showed a particle size of 300 nm and a positive superficial charge of +36 mV. Vectors based on LNP prepared by hot-melt emulsification showed a lower size and zeta potential, 140 nm and +12 mV, respectively. Due to instability problems, vectors containing the LNPs prepared by solvent evaporation/emulsification were discarded.

Different concentrations of siRNA (15-50 nM) were tested in IMFE-1 cells in order to evaluate the effect of the dose on the efficacy. Silencing studies showed that all except one (siRNA 4)

were able to inhibit A4GALT gene. siRNA 1 was able to silence the A4GALT gene but in a lower extent than siRNA 2 and 3. When siRNA 2 and 3 were formulated in LNP, they showed their maximum inhibitory capacity (80 %) at a concentration of 25 nM (Figure 1). However, when siRNA 3 is formulated with the commercial reagent, 50 nM concentration was necessary for a high inhibition.

Cell viability was higher than 90 % when cells were treated with the siRNA containing LNP regardless siRNA concentration. However, with the commercial reagent cell viability decreased to around 60 % when a 50 nM concentration was assayed.

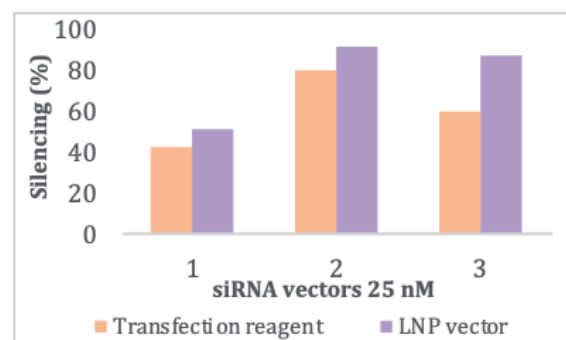


Figure 1. Gene silencing efficacy of different siRNAs.

4. Conclusion

siRNA-vectors containing LNP prepared by hot-melt emulsification present a lower particle size and a better stability compared to those prepared by solvent evaporation/emulsification.

LNP-based vectors provided a high gene silencing efficacy without affecting IMFE-1 cell viability.

Substrate reduction therapy based on the administration of siRNA targeted to Gb3 synthase enzyme formulated in LNP could be a feasible strategy to tackle FD.

Acknowledgements

The author wants to thank the UPV/EHU for her research grant (PIFG19/36). This research has been funded by MCIU/AEI/FEDER, UE (RTI2018-098672-B-I00) and by the UPV/EHU (GIU20/048).

References

1. Rodríguez-Castejón et al. α -Galactosidase A augmentation by non-viral gene therapy: evaluation in Fabry Disease mice. *Pharmaceutics*. 2021;13(6):771.
2. Miller JJ et al. Progress in the understanding and treatment of Fabry disease. *Biochim Biophys Acta Gen Subj*. 2020;1864(1):129437.
3. Gómez-Aguado I et al. mRNA-based nanomedicinal products to address corneal inflammation by interleukin-10 supplementation. *Pharmaceutics*. 2021;13(9):1472.

Este trabajo debe ser citado como:

Beraza Millor M, Miranda J, Rodríguez Castejón J, Gómez Aguado I, Del Pozo Rodríguez A, Rodríguez Gascón A, Solinís MA. Substrate reduction therapy based on siRNA for Fabry Disease. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):84-6.

Base preclínica de sistemas lipídicos nanoestructurados (NLC) cargados con bevacizumab: diseño, desarrollo y caracterización fisicoquímica

Varela Fernández Rubén ^{*1,2}, García Otero Xurxo^{1,3}, Fernández Ferreiro Anxo³, Lema María Isabel², González Barcia Miguel⁴, Otero Espinar Francisco J¹

¹ Departamento de Farmacia, Farmacología y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela (USC). Campus vida. Santiago de Compostela. Código postal: 15782. España. Francisco.

² Grupo de Investigación en Neurociencias clínicas. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

³ Grupo de Imagen Molecular. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

⁴ Grupo de Farmacología Clínica. Hospital Clínico Universitario, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS). Travesía da Choupana s/n Santiago de Compostela. Código postal: 15706. España.

*Correspondencia: rubenvfl@gmail.com

1. Introducción

Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado que ha demostrado eficacia en el tratamiento de algunas enfermedades neoplásicas (cáncer de colon, de mama, de pulmón no microcítico y de células renales), así como en patologías oculares como la DMAE y la retinopatía diabética [1]. Su mecanismo de acción se fundamenta en la unión al factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), inhibiendo así la unión de éste a sus receptores Flt 1 (VEGFR 1) y KDR (VEGFR 2), situados en la superficie de las células endoteliales, provocando una reducción de la angiogénesis, principal mecanismo fisiopatológico involucrado en estas enfermedades.

Se han identificado mecanismos de resistencia, incluyendo la alteración de la expresión o la unión del antígeno, el deterioro de la citotoxicidad mediada por el complemento (CMC) o la citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC). A raíz de esto, se propone la encapsulación de este anticuerpo en sistemas lipídicos de tamaño nanométrico con la finalidad de aumentar su estabilidad, conferir protección y vectorizar el anticuerpo al lugar deseado [2].

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Bevacizumab (Avastín[®]) fue proporcionado por el Servicio de Farmacia Hospitalaria del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela. Cetilpalmitato fue comprado a Acros Organics (Madrid, España). Myglyol 812N fue cedido por IOI Oleo GmbH (Witten, Alemania). Poloxamer 407 ha sido comprado a Sigma-Aldrich (St Louis, EEUU).

2.2. Metodología

2.2.1. Diseño y desarrollo de NLC cargados con bevacizumab

La preparación de los NLC cargados con bevacizumab se ha llevado a cabo mediante una técnica modificada de doble emulsión/evaporación. Se prepararon dos tipos de NLC, unos con núcleo acuoso y otros con núcleo gelificado. Se ha llevado a cabo un estudio factorial previo con la finalidad de valorar la composición óptima de los NLC, así como las condiciones del proceso de preparación.

2.2.2. Caracterización fisicoquímica

2.2.2.1. Tamaño, distribución de tamaño y carga superficial

La caracterización fisicoquímica en cuanto a tamaño, distribución de tamaño y carga superficial de los NLC cargados con bevacizumab se ha llevado a cabo mediante una técnica de dispersión dinámica de la luz (DLS).

2.2.2.2. Estudio de la morfología

El estudio de la morfología de los NLC se ha realizado mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), tras tinción con ácido fosfotúngstico, colocación en placas de cobre y posterior secado.

2.2.2.3. Rendimiento de producción, eficacia de encapsulación y capacidad de carga

La determinación del rendimiento de producción se ha realizado por un método directo, basado en la relación entre la cantidad de producto final e inicial. Por su parte, la evaluación de la eficacia de producción y la capacidad de carga de los NLC se llevó a cabo mediante una técnica de ultracromatografía líquida de alta resolución (UPLC) a través de un método de difusión en gradiente diseñado para la detección de bevacizumab.

El efecto de la cantidad de bevacizumab en las características fisicoquímicas de los NLC se ha evaluado en términos de tamaño, distribución de tamaño y carga superficial y posteriormente se correlacionaron con los valores de eficacia de encapsulación y capacidad de carga.

3. Resultados y Discusión

3.1. Diseño y desarrollo de NLC cargados con bevacizumab

El procedimiento de preparación de los NLC cargados con bevacizumab ha sido adecuado, permitiendo la encapsulación y estabilización de dicho anticuerpo en sistemas de tamaño nanométrico.

3.2. Caracterización fisicoquímica

3.2.1. Tamaño, distribución de tamaños y carga superficial

Los NLC cargados con bevacizumab se presentan como una población muy uniforme y homogénea, sin agregación ni precipitación. Además, mostraron valores adecuados de carga superficial derivados de la carga intrínseca de los lípidos, aspecto que garantiza su estabilidad en el tiempo.

3.2.2. Estudio de la morfología

Ambos tipos de NLC presentaban un núcleo acuoso, son redondas, uniformes y con superficie lisa. Por tanto, a priori se trataría de sistema lipídico de tipo repertorio, útil para procesos de liberación controlada de bevacizumab.

3.2.3. Rendimiento de producción, eficacia de encapsulación y capacidad de carga

Se han obtenido valores elevados tanto a nivel de rendimiento de producción, como de eficacia de encapsulación y capacidad de carga, asegurando que el método de preparación es apropiado para la encapsulación de bevacizumab.

4. Conclusiones

Se propone, por primera vez, un sistema lipídico nanoestructurado para la encapsulación de bevacizumab como forma de aumentar su estabilidad, reducir los posibles efectos asociados a su administración y mejorar su biodisponibilidad. Su diseño y desarrollo se vieron reforzados por una consistente base de caracterización *in vitro*. Asimismo, dicho sistema NLC mostró características fisicoquímicas adecuadas para la administración de bevacizumab.

Agradecimientos

RVF y XGO agradecen el apoyo financiero de la Fundación FIDIS (Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela). Esta investigación ha sido parcialmente apoyada por el Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (RTI2018-099597-B-100)

Referencias bibliográficas

1. Keating GM. Bevacizumab: a review of its use in advanced cancer. *Drugs*. 2014 Oct;74(16):1891-1925. doi: 10.1007/s40265-014-0302-9. PMID: 25315029.
2. Luan J, Zhang D, Hao L, Li C, Qi L, Guo H, Liu X, Zhang Q. Design and characterization of Amoitone B-loaded nanostructured lipid carriers for controlled drug release. *Drug Deliv*. 2013 Nov;20(8):324-30. doi: 10.3109/10717544.2013.835007. Epub 2013 Sep 13. PMID: 24032657.

Este trabajo debe ser citado como:

Varela Fernández R, García Otero X, Fernández Ferreiro A, Lema MI, González Barcia M, Otero Espinar FJ . Base preclínica de sistemas lipídicos nanoestructurados (NLC) cargados con bevacizumab: diseño, desarrollo y caracterización fisicoquímica. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):87-9.

Monitoring system for substandard detection of antituberculosis drugs used in the Mauritanian National Health System

Suárez González Javier ^{*1,2}, El Kory Mohamed B³, Elhadj Malick Kane⁴, Cáceres Pérez Amor R^{1,2,5}, Soriano Mabel^{1,2}, Santoveña Estévez Ana^{1,2}, Echezarreta Magdalena^{1,2}, Fariña José B^{1,2}

¹ Departamento Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

² Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

³ Laboratoire National de Contrôle de la Qualité des Médicaments. Nouakchott, Mauritania.

⁴ Programme Nationale de Lutte contre la Tuberculose et la Lèpre. Ministère de la santé. Nouakchott, Mauritania.

⁵ Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida. Universidad de La Laguna. La Laguna. España.

*Correspondencia: jsuarezg@ull.edu.es

1. Introduction

Global sales of medicines have risen from US\$ 500 billion to US\$ 1.1 trillion in 15 years. This growth it is related with the inclusion of substandard and falsified medicines in the pharmaceutical market. These medicines can prolong illness, promote drug-resistant infections or could make people die because of being untreated or killed by the product itself [1].

From 2013 to 2017, 1450 reports were received by The World Health Global Surveillance and Monitoring System, being 42% from the African region. The highest percentage of all products reported belongs to medicines to treat malaria and antibiotics, 19.6 and 16.9% respectively [1].

Nowadays it is not possible to know the absolute number of substandard and falsified medical products worldwide as the notifications comes from the national or regional medicines regulatory authorities and they need to be trained to identify and report incidents. However, it is not always possible to have the possibility of having a laboratory accredited by

the World Health Organization (WHO) for the detection of substandard and falsified drugs [1].

Faced with this situation, the ISACAM project arises to develop a system that ensures the quality of drugs used in the treatment of tuberculosis (TB), AIDS and Malaria, in collaboration with the Laboratoire National de Contrôle de la Qualité des Médicaments in Mauritania (LNCQM). In addition, another objective is to collaborate so that the LNCQM achieves the accreditation of the WHO as a reference laboratory in the country for the detection of substandard and falsified drugs.

The objective of this work was to analyze the quality of antiTB drugs used in the Mauritanian National Health System.

2. Materials and methods

13 medicines to treat TB with isoniazid (INH), pyrazinamide (PZA), rifampicin (RFP), ethambutol (EMB) and levofloxacin (LVFX) as active pharmaceutical ingredients (APIs) were collected from different locations at Nouakchott (Islamic Republic of Mauritania). The

preparations were collected from distribution offices and programs such as “The National Program against TB and Leprosi” (PNLTL) but also from diagnostic and treatment centers (DTC).

In each sampling area an identification card was filled for each medicine with information related to packaging (lot, number of units, expiry date, manufacturer laboratory and packaging conditions), storage place (type of establishment, name, storage conditions), person responsible for sampling and date. Then, the product was placed in an isothermal bag and transported to ULL lab, where it was storage at 5 °C and 11 % of relative humidity.

Every medicine was analyzed testing their mass uniformity, content uniformity, disintegration time and dissolution according to European Pharmacopoeia. Drug content was analyzed by chromatography using an Acquity UPLC® H-Class System with analytical methods previously validated. In the case of the dissolution test, medium, apparatus and rotation speed were selected according to the monograph published for each drug by the United States Pharmacopoeia. Friability was performed if indicated.

3. Results and Discussion

As of today, 10 medicines have been completely analyzed. All products complied with mass uniformity and disintegration test. However, problems related to tablet friability, drug content and dissolution were found for some of them, see table 1.

The products with PZA (I16TPF030 and NPB919A) did not comply with the recommendations as tablets were cracked during friability test. In the case of fixed dose combination of INH and RFP (NRH9392A), this medicine did not fulfil with API content, independently of sampling site. Then, the problem might be located in the laboratory of manufacture. This agrees with previously published studies from other African countries which also detected problems with these combinations of APIs [2].

The product which combines 3 APIs (S46) did not comply with dissolution test as RFP release was below limit. In this case must be indicated the bad conditions of the packaging and the proximity of expiration date.

4. Conclusions

At the moment 60 % of the antiTB drug included in the present study were considered

Table 1. Results for quality control. IBN: Centre de santé de Araffat Ibn Sina

APIs	Lot	Sampling site	Acceptance value	Dissolution (% of drug release)
LVFX	E2M103	PNLTL	2.20	81.1 ± 2.8 (n=12)
PZA	16TPF030	PNLTL	9.20	95.6 ± 1.1 (n=6)
PZA	NPB919A	IBN	5.30	94.8 ± 2.4 (n=6)
EMB	EEZ643	PNLTL	4.40	100.3 ± 4.4 (n=6)
EMB	EEZ923D	Polyclinique	4.60	97.5 ± 0.7 (n=6)
INH + RFP	NRH9352A	DTC	INH: 15.0 RFP: 11.3	INH: 97.4 ± 5.4 (n=12) RFP: 78.8 ± 7.1 (n=12)
INH + RFP	NRH9352A	Polyclinique	INH: 13.0 RFP: 19.0	INH: 98.3 ± 6.3 (n=6) RFP: 90.4 ± 7.2 (n=6)
INH + RFP	NRH9352A	IBN	INH: 18.0 RFP: 13.0	INH: 102.0 ± 3.0 (n=12) RFP: 92.8 ± 8.8 (n=12)
INH + RFP + PZA	S46	IBN	INH: 11.4 RFP: 15.1 PZA: 7.45	INH: 93.0 ± 7.0 (n=6) RFP: 29.0 ± 21.7 (n=6) PZA: 99.0 ± 2.7 (n=6)
INH + RFP + PZA + EMB	NRG69208	DTC	INH: 10.3 RFP: 10.1 PZA: 4.5 EMB: 5.4	INH: 102.3 ± 2.1 (n=6) RFP: 95.3 ± 3.2 (n=6) PZA: 104.8 ± 3.0 (n=6) EMB: 101.7 ± 2.4 (n=6)

as substandard being the variability of API content the most frequent problem. Although, all the techniques and procedures used were documented and transferred to the LNCQM, it is necessary to increase the means, training, and qualification of the personnel of this Lab to be able to achieve the objectives of the WHO

regarding the detection of substandard or falsified medicines.

Acknowledgments

This research was funded by Programa de Cooperación Interreg V-A MAC 2014-2020, ISACAM (MAC2/1.1a/219).

References

1. The World Health Organization. Global Surveillance and Monitoring System for substandard and Falsified Medical Products. 2017.
2. Bate R, Jensen P, Hess K, Mooney L, Milligan J. Substandard and falsified anti-tuberculosis drugs: a preliminary field analysis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2013 Mar;17(3):308-1.

Este trabajo debe ser citado como:

Suárez González J, El Kory MB, Elhadj Malick K, Cáceres Pérez AR, Soriano M, Santoveña Estévez A, Echezarreta M, Fariña JB. Monitoring system for substandard detection of antituberculosis drugs used in the Mauritanian National Health System. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):90-2.

Applying 3D constructs for gene therapy

Sainz Ramos Myriam^{*1,2,3}, Caci Emanuela⁴, Gallego Idoia^{1,2,3}, Villate Beitia Iliá^{1,2,3}, Maldonado Iván¹, Ruiz Alonso Sandra^{1,2,3}, García Villén Fátima^{1,2,3}, Zárate Jon^{1,2,3}, Puras Gustavo^{1,2,3}, Pedraz José Luis^{1,2,3}

¹ NanoBioCel Research Group, Laboratory of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmacy, University of the Basque Country UPV/EHU.

² Networking Research Centre of Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

³ Bioaraba, NanoBioCel Research Group.

⁴ Medical Genetics Unit, IRCSS Institute Giannina Gaslini, Genova.

*Correspondencia: miriam.sainz@ehu.eus

1. Introduction

The main objective of three-dimensional (3D) bioprinting technology is the development of 3D constructs combining biomaterials and cells to replicate tissues and organs. Using this technique, different kinds of epitheliums can be produced in order to imitate the in vivo environment with more precision than cell cultures [1]. Such scaffolds are usually characterized prior to evaluate cellular response upon the addition of different drugs and genetic materials [2].

The aim of this study was to make use of 3D bioprinting technology to develop scaffolds that mimic the in vivo lung environment to evaluate the capacity of niosomes (non-viral vectors) to deliver genetic material for the treatment of cystic fibrosis (CF) genetic disorder [3].

2. Material and methods

2.1. 3D bioprinting

The scaffolds were obtained in a extrusion-based 3D Cellink[®] BioX bioprinter equipment using bioink with biocompatible components such as hyaluronic acid, alginate, gelatin, fibrin and A-proteinin combined with human airway epithelial cells (CuFi-1) being homozygous for F508del (mutation responsible of 70 % of CF patients).

2.2. Scaffolds characterization

Assays were carried out at days 1, 3, 7, 14 and 21 after bioink printing. Live/dead[™] staining was used for tracking cell status. Cell counting kit 8 (CCK-8) and lactate dehydrogenase (LDH) activity assays were performed to monitor metabolism activity and cell cytotoxicity, respectively.

2.3. Cellular transfections

Two different transfection approaches were evaluated. The first one consists in the addition of nioplexes in the scaffolds' medium (2.5 µg DNA/scaffold) every 72 h (4 times). In the second one, nioplexes were added inside the bioink, using 3 different doses (7.5; 15 y 22.5 µg DNA/scaffold). The genetic material used in both approaches was the EGFP reporter plasmid at a cationic lipid/DNA mass ratio of 5/1. Transfection efficiency was evaluated in a Cytation[™] 1 equipment during 13 days.

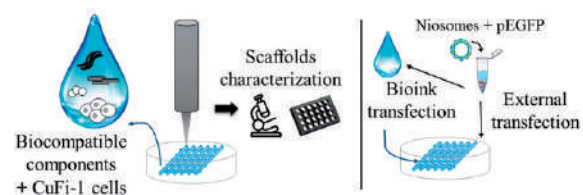


Fig. 1. General scheme of 3D bioprinting process, scaffolds characterization and transfection approaches.

3. Results and discussion

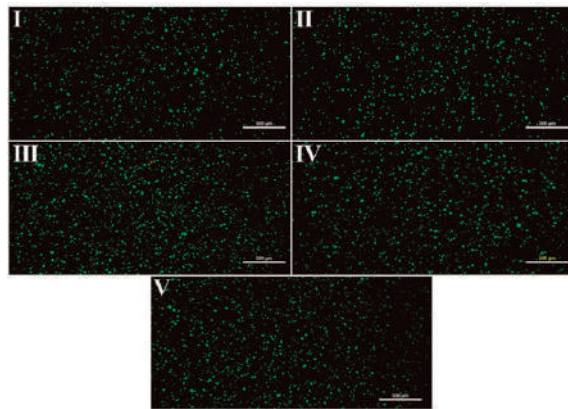


Fig. 2. Representative fluorescence images of Live/dead™ stained scaffolds at I) day 1; II) day 3; III) day 7; IV) day 14 and V) day 21. Scale bar: 500 μ m.

Fluorescence images (Fig. 2) show live cells in green, which contain a high number of cells inside each scaffold, and dead cells in red, which scarcely appear in all pictures. The number of live cells was higher as the days go by and the number of dead ones was highest on days 7 and 14.

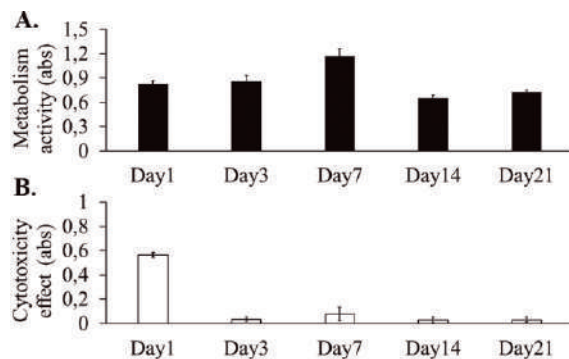


Fig. 3. Evolution of A. metabolism activity and B. cell cytotoxicity of scaffolds. Statistical significance *** $p < 0.001$.

Metabolism activity (Fig. 3A) was similar on all days except in day 7 that it was higher, without statistical significance. Regarding the cytotoxicity effect (Fig. 3B), the first day reported the highest toxic value, showing stable and minimum values during next days.

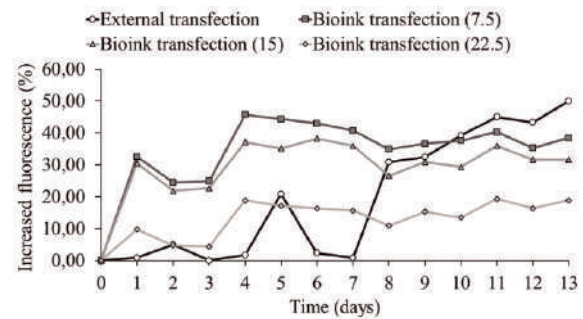


Fig. 4. Scaffold fluorescence increases using different transfection approaches.

External transfection (Fig. 4) had the lower values until day 7 when the fluorescence began to increase. This approach has 4 doses because nioplexes have more barriers to overcome and need more time to reach the cells. Bioink transfection (Fig. 4) has unique dose being 3 groups depending on the dose (7.5, 15 and 22.5 μ g DNA/scaffold). The same pattern was followed by each dose: increased fluorescence raised until day 4 and the next days was stable; 7.5 was the dose with more increased fluorescence, following by 15 and finishing by 22.5 (the highest dose, the lowest fluorescence). At final point, external transfection showed more value of increased fluorescence than 7.5.

4. Conclusions

The main findings were the following ones: after 21 days in culture, cells into the scaffolds still remain viable and metabolically active; cells were more affected the first day after bioprinting due to the technique employed but then recovered their values; external multi-dose transfection has higher values of fluorescence than the bioink transfection.

Acknowledgements

ICTS "NANBIOSIS" U10 of CIBER-BBN; Department of Education of the Basque Country Government (Consolidated Groups IT907-16); Spanish Ministry of Science and Innovation (PID2019-106199RB-C21); and the Basque Country Cystic Fibrosis Association. M.S.R. and I.V.B. thank the University of the Basque Country UPV/EHU for the pre-doctoral PIF17/79 and post-doctoral ESPDOC19/47 grants; S.R.A. thanks the Basque Country Government for the pre-doctoral grant PRE_2020_2_0143.

References

1. Heinrich MA, Liu W, Jimenez A, Yang J, Akpek A, Liu X, Pi Q, Mu X, Hu N, Schiffelers RM, Prakash J, Xie J, Zhang YS. 3D Bioprinting: from Benches to Translational Applications. *Small*. 2019 Jun;15(23):e1805510.
2. Grijalvo S, Puras G, Zárata J, Sainz-Ramos M, Qtaish NAL, López T, Mashal M, Attia N, Díaz D, Pons R, Fernández E, Pedraz JL, Eritja R. Cationic Niosomes as Non-Viral Vehicles for Nucleic Acids: Challenges and Opportunities in Gene Delivery. *Pharmaceutics*. 2019 Jan 22;11(2):50.
3. Sainz-Ramos M, Villate-Beitia I, Gallego I, A L Qtaish N, Lopez-Mendez TB, Eritja R, Grijalvo S, Puras G, Pedraz JL. Non-viral mediated gene therapy in human cystic fibrosis airway epithelial cells recovers chloride channel functionality. *Int J Pharm*. 2020 Oct 15;588:119757.

Este trabajo debe ser citado como:

Sainz Ramos M, Caci E, Gallego I, Villate Beitia I, Maldonado I, Ruiz Alonso S, García Villén F, Zárata J, Puras G, Pedraz JL. Applying 3D constructs for gene therapy. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):93-5.

Estudio in vivo en ratones del efecto de la progesterona para el tratamiento de la retinosis pigmentosa

Alambiaga Caravaca Adrián M *, Cantón Antolín, Rodilla Vincent, Miranda Sanz María, López Castellano Alicia

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera. CEU Universities, C/Santiago Ramón y Cajal, s/n., Alfara del Patriarca, 46115, Valencia, España

*Correspondencia: adrian.alambiagacaravaca@uchceu.es

1. Introducción

La retinosis pigmentaria (RP) es un grupo de enfermedades degenerativas retinianas hereditarias que provoca la muerte de las células fotorreceptoras para la que los tratamientos actuales tienen un éxito limitado [1].

Se ha demostrado que la administración oral de altas concentraciones de progesterona (PG), actúa en múltiples niveles para retrasar la muerte de los fotorreceptores en el transcurso de la RP [2]. Asimismo se ha estudiado la permeabilidad ocular de la PG ex vivo utilizando distintas formulaciones animales [3–5].

El objetivo del trabajo que se presenta es estudiar in vivo la eficacia de la PG administrada tópicamente para el tratamiento de la RP.

2. Materiales y métodos

2.1. Modelo animal utilizado y tratamiento

Como modelo experimental de RP se utilizaron ratones rds (Retinal Degeneration Slow), (N≥8) que fueron tratados con una solución acuosa de PG en ciclodextrinas a una concentración de 1 mg/mL entre los días 11 y 21 post-natal. En el ojo izquierdo (OI) de los ratones tratados (RT) se administró una gota de la solución de PG cada 12 horas. Una vez finalizado el tratamiento se procedió al sacrificio del animal y se enuclearon los ojos. Los ratones del grupo control (RC) fueron tratados en el OI con suero salino. Los

ojos derechos (OD) no fueron tratados para estudiar un posible efecto sistémico.

2.2. Tinciones

Tras el procesamiento convencional los ojos se cortaron con un criostato Leica CM 1850 UV Ag protect, (Leica Microsistemas SLU, Barcelona, España) en secciones de 8 µm.

Se realizó una tinción fluorescente doble de TUNEL (In Situ Cell Death Detection Kit) y GFAP (Glial fibrillar acidic protein). Finalmente se montaron los cortes utilizando el medio de montaje Vectaschield con DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol).

Los cortes histológicos se fotografiaron en la parte central a 20X mediante una cámara Nikon DS-Fil acoplada a un microscopio Leica DM 2000. En la tinción TUNEL se contaron el número de células positivas por área. En la tinción de GFAP se cuantificó el porcentaje de área con marcaje. Finalmente, mediante la contratinción DAPI se contaron el número de filas de núcleos en la capa nuclear externa. Para ello se utilizó el programa informático Fiji.

2.3. Análisis estadístico

La normalidad de los datos se evaluó mediante el test de Shaphiro-Wilk y la homocedasticidad con el test de Levene. El análisis estadístico se realizó con ANOVA de dos vías seguida por una comparación de medias marginales mediante el test de Bonferroni. En todos los casos se utilizó una significación de $\alpha < 0,05$.

3. Resultados y Discusión

El recuento de células marcadas con la tinción TUNEL demuestra que existen diferencias estadísticamente significativas entre los ojos que han recibido tratamiento (OI-RT) y los que no (OI-RC) (Fig 1A). Existe una disminución en el número de células TUNEL positivas en ratones tratados con PG. Esta misma diferencia se observó también en la tinción de GFAP (Fig 1B). En cambio, en el recuento de filas de la capa nuclear externa (CNE) (Fig 1C) no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los ojos tratados de los dos grupos (OI-RT y OI-RC).

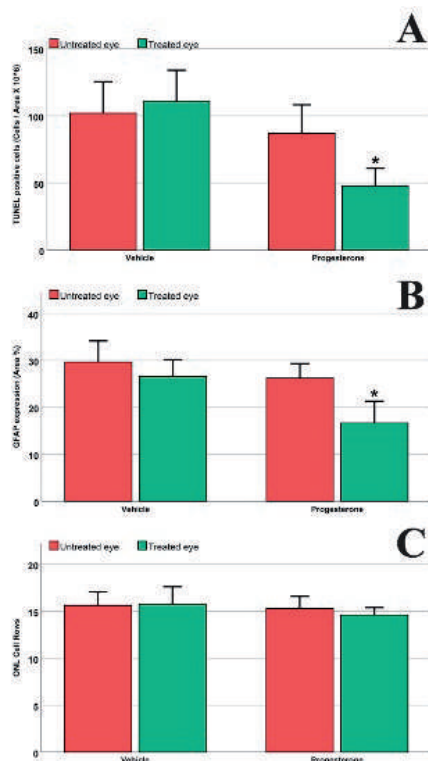


Fig. 1. Recuento de células en OD (rojo) y OI (verde) en RC y RT en tinción TUNEL (A), GFAP (B) y CNE (C).

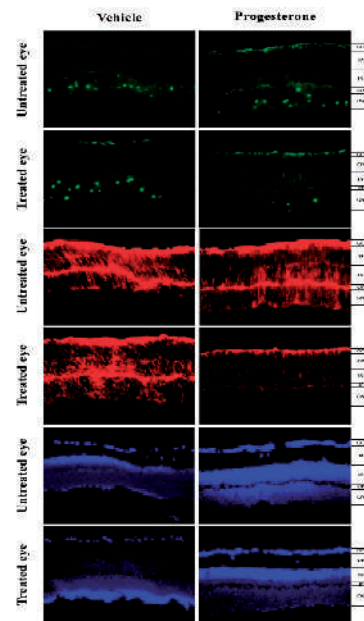


Fig. 2. Tinción TUNEL (verde), GFAP (rojo) y CNE (azul).

El ojo tratado con PG muestra diferencias estadísticamente significativas en comparación con todos los demás ojos en las tinciones de TUNEL y GFAP, pero no en el recuento de filas en la CNE (Fig. 2).

4. Conclusiones

Los estudios in vivo demostraron que una solución de PG en ciclodextrinas administrada tópicamente en ojo de ratón, tiene un papel protector frente a la muerte celular de fotorreceptores en el modelo animal de RP estudiado y no se produce un efecto sistémico en el ojo contralateral.

Agradecimientos

Este trabajo fue financiado por la Universidad CEU Cardenal Herrera (INDI19/28) y por ayudas a la formación de Jóvenes Investigadores CEU-SANTANDER 20/21.

Referencias bibliográficas

- Hernández-Rabaza V, López-Pedrajas R, Almansa I. Progesterone, Lipoic Acid, and Sulforaphane as Promising Antioxidants for Retinal Diseases: A Review. *Antioxidants*. 2019;8:1–21.
- Sánchez-Vallejo V, Benlloch-Navarro S, López-Pedrajas R, et al. Neuroprotective actions of progesterone in an in vivo model of retinitis pigmentosa. *Pharmacol Res*. 2015;99:276–88.
- Alambiaga-Caravaca AM, Domenech-Monsell IM, Sebastián-Morelló M, et al. HPLC-UV analytical validation of a method for quantification of progesterone in ex vivo trans-corneal and trans-scleral diffusion studies. *J Pharm Biomed Anal*. 2021;193:113749.

4. Alambiaga-Caravaca AM, Calatayud-Pascual MA, Rodilla V, et al. Micelles of progesterone for topical eye administration: Interspecies and intertissues differences in ex vivo ocular permeability. *Pharmaceutics*. 2020;12:1–18.
5. Alambiaga-Caravaca AM, Domenech-Monsell IM, Sebastián-Morelló M, et al. Development, characterization, and ex vivo evaluation of an insert for the ocular administration of progesterone. *Int J Pharm*. 2021;606:120921.

Este trabajo debe ser citado como:

Alambiaga Caravaca A, Cantón A, Rodilla V, Miranda Sanz M, López Castellano A. Estudio in vivo en ratones del efecto de la progesterona para el tratamiento de la retinosis pigmentosa. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):96-8.

Elaboración y caracterización de geles sintéticos para la administración local de micropartículas en cirugía protésica

Alonso Berenguel María¹, Martín Sabroso C¹, Aparicio Blanco J¹, Torres Suárez AI¹

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

*Correspondencia: malons34@ucm.es

1. Introducción

Las cirugías protésicas en ortopedia consisten en la extracción, reparación y sustitución (parcial o total) de una articulación por una prótesis.

Algunas de las complicaciones más prevalentes de este tipo de cirugías son la aparición de infecciones en el sitio quirúrgico [1], enfermedades tromboembólicas, dolor o pérdida de fijación.

Los medicamentos utilizados tanto durante el acto quirúrgico como en el tratamiento postquirúrgico de las posibles complicaciones se administran habitualmente por vías sistémicas [2]. La administración repetida de altas dosis durante largos periodos de tiempo, puede conllevar la aparición de efectos adversos e, incluso el incumplimiento de la terapia farmacológica por parte de los pacientes [3].

El objetivo de este trabajo es elaborar geles que faciliten la administración local de sistemas de liberación controlada, concretamente micropartículas, durante el acto quirúrgico con el fin de reducir el tratamiento sistémico posterior.

2. Materiales y métodos

Los materiales empleados fueron: Soluplus[®] (BASF Pharma); PVA con peso molecular de 30.000 a 70.000 Da (de Sigma-Aldrich, Alemania); alcohol etílico 96^º (Panreac AppliChem); agua desmineralizada Milli-Q[®] (Millipore, España); agitador magnético termostático (IKA Labortechnik, Alemania) y viscosímetro rotacional (Brookfield[®], USA).

2.1. Formulación de geles sintéticos

2.1.1. Formulación de geles con Soluplus[®].

Se elaboraron 6 geles, con concentraciones de Soluplus del 30 %, 40 % y 50 %, en mezclas etanol:agua 80:20 y 90:10. Para ello el Soluplus[®] se incorporó a la solución de etanol:agua y se mantuvo en agitación durante 1h a temperatura ambiente. Una vez elaborados se almacenaron en nevera.

2.1.2. Formulación de geles de PVA.

Se elaboró un gel concentrado de PVA y agua, mediante agitación a 80 °C, hasta su completa disolución, se dejó atemperar y, en agitación continua, se añadió etanol, con el fin de elaborar las formulaciones de la tabla 1. Una vez elaborados los geles se almacenaron en nevera.

Tabla 1. Composición de los geles de PVA.

Gel	PVA (%)	Etanol:agua
P21-30	21	30:70
P21-40	21	40:60
P10-50	10	50:50
P10-70	10	70:30
P7,5-40	7,5	40:60

2.2. Caracterización de los geles.

Se estudió su viscosidad, su extensibilidad sobre la superficie de un cotilo de cadera de titanio y el tiempo que tardan en secar sobre éste. Además, se estudió la formación y estabilidad de una suspensión de micropartículas de PLGA con un tamaño medio de partícula de 25 µm, en el gel.

3. Resultados y Discusión

Los geles elaborados resultaron transparentes; ligeramente amarillentos en el caso de geles con Soluplus®.

En los geles con Soluplus®, se observó que la viscosidad era independiente de la proporción de etanol/agua usada, incrementándose al aumentar la cantidad de Soluplus® en los mismos (Figura 1).

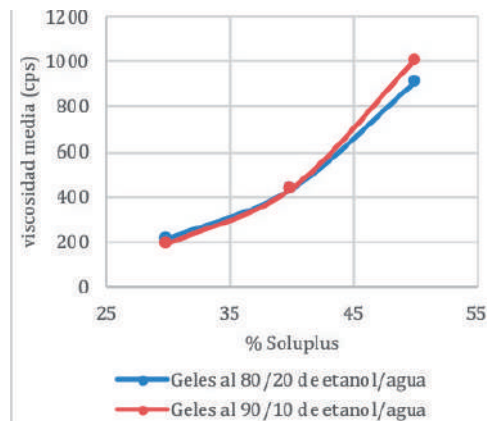


Fig.1. Influencia del porcentaje de Soluplus® en la viscosidad de los geles con diferentes proporciones de etanol/agua.

Al incorporar las micropartículas, éstas se dispersaron con facilidad, y la estabilidad de la suspensión formada fue mayor para geles con viscosidades más altas, produciéndose, en estos geles, la sedimentación de las micropartículas a partir de las 8 h.

Los geles con una menor proporción de Soluplus® destacaron por presentar una extensibilidad sobre el cotilo más fácil. Sin embargo, la capa de gel formada era extremadamente fina y, los tiempos de secado, eran mayores. El gel, con 50 % de Soluplus®, destacó por ser el que menor tiempo tardaba en secar (10 minutos),

Referencias bibliográficas

1. Kurtz S, Ong K, Lau E, Mowat F, Halpern M. Projections of primary and revision hip and knee arthroplasty in the United States from 2005 to 2030. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89(4):780-5.
2. Arciola CR, Campoccia D, Speziale P, Montanaro L, Costerton JW. Biofilm formation in Staphylococcus implant infections. A review of molecular mechanisms and implications for biofilm-resistant materials. *Biomaterials.* 2012;33(26):5967-82.
3. Bouaziz A, Uçkay I, Lustig S, Boibieux A, Lew D, Hoffmeyer P, et al. Non-compliance with IDSA guidelines for patients presenting with methicillin-susceptible Staphylococcus aureus prosthetic joint infection is a risk.

Este trabajo debe ser citado como:

Alonso Berenguel M, Martín Sabroso S, Aparicio Blanco J, Torres Suárez AI. Elaboración y caracterización de geles sintéticos para la administración local de micropartículas en cirugía protésica. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):99-100.

generando una capa de gel más gruesa y con una extensibilidad buena.

Para todos los geles de PVA, se observó que la viscosidad se incrementa al incorporar mayores concentraciones de etanol y de PVA. Esta viscosidad aumentó, además, durante el almacenamiento de los geles hasta estabilizarse entre las 24-48 h después de su elaboración.

Tan solo para los geles elaborados con proporciones bajas de PVA y altas de etanol, se consiguen tiempos de secado por debajo de 40 minutos (límite de tiempo de secado establecido). Concretamente, los geles elaborados con un 10 % de PVA presentaron un tiempo de secado de 30 min. A pesar de que la viscosidad de estos geles era relativamente baja, eran capaces de generar suspensiones de micropartículas homogéneas y estables cuando la proporción de etanol:agua fue de 70:30 (Tabla 2).

Tabla 2. Características de los geles seleccionados.

Gel	50 % Soluplus®90:10 etanol:agua	10 % PVA 70:30 etanol:agua
Viscosidad	~1000 cps	~200 csp
Tiempo de secado	10 min	30 min
Estabilidad suspensión	> 8h	> 4h

4. Conclusiones

Se consiguieron, dos geles, uno con Soluplus® y otro con PVA con unas características de viscosidad, extensibilidad, tiempo de secado y capacidad de formación de una suspensión estable de micropartículas que les hace adecuados para la administración intraoperatoria de micropartículas cargadas con fármacos buscando una acción prolongada a nivel local.

Diseño de experimentos en el desarrollo de nanopartículas poliméricas de celecoxib

Quispe Chauca Prissila¹, Alonso González Mario ^{*1}, Fernández Carballido Ana^{1,2}, Fraguas Sánchez Ana Isabel^{1,2}

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Universidad Complutense de Madrid.

² Instituto Universitario de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid.

*Correspondencia: marioalonsogonzalez@ucm.es

1. Introducción

El celecoxib (CXB) es un antiinflamatorio no esteroideo, inhibidor selectivo de la COX-2, que se utiliza en el tratamiento de patologías que cursan con inflamación [1]. El uso de nanotransportadores, como las nanopartículas poliméricas, nos permitiría vectorizar el celecoxib al lugar de acción, disminuyendo sus efectos adversos y aumentando su eficacia terapéutica [2].

En el desarrollo de nanoformulaciones, el diseño estadístico de experimentos o diseño experimental supone una excelente herramienta de trabajo, ya que nos permite evaluar la influencia de las diferentes variables del proceso de elaboración en las características finales de los nanosistemas de forma eficiente, podemos obtener la máxima información posible con un número reducido de experimentos. En este sentido, uno de los diseños más empleados es el diseño de Plackett-Burman (PB) [3].

El objetivo de este trabajo es evaluar la influencia de diferentes variables del proceso de elaboración sobre las características finales de nanopartículas de PLGA cargadas con celecoxib empleando un diseño PB.

2. Materiales y métodos

Las nanopartículas de CXB se prepararon empleando el resómero PLGA-RG®-502 como polímero, mediante el método de emulsificación-

evaporación del solvente. Se realizó un diseño experimental PB a dos niveles con el objetivo de evaluar el efecto de la concentración de PVA, el tiempo de sonicación, la amplitud de sonicación y el ratio PLGA: CXB (variables independientes) en el tamaño, índice de polidispersión y eficacia de encapsulación (respuestas) (Tabla 1). Se realizaron un total de 12 formulaciones de nanopartículas.

Tabla 1. Diseño experimental de PB realizado.

Variabes	Bajo (-1)	Alto (+1)
Concentración de PVA (%)	0,5	3
Tiempo de sonicación (minutos)	2	7
Amplitud de sonicación (%)	50	80
Ratio PLGA: CXB (m/m)	100:5	100:20

3. Resultados y discusión

Con relación al tamaño de partícula, todas las formulaciones desarrolladas presentan un tamaño medio, expresado como diámetro volumen, comprendido entre los 207 y 350 nm. La concentración de PVA, el tiempo de sonicación y la amplitud del sonicador tienen un efecto estadísticamente significativo (p -valor $<0,05$) sobre el tamaño de partícula. En todos los casos, estas tres variables presentan un efecto negativo sobre esta respuesta, de manera que un aumento en estas variables supone una disminución del tamaño de partícula. Sin embargo, el ratio PLGA:CXB, no presenta un

efecto estadísticamente significativo sobre el tamaño de partícula (p valor > 0.05) (Fig. 1).

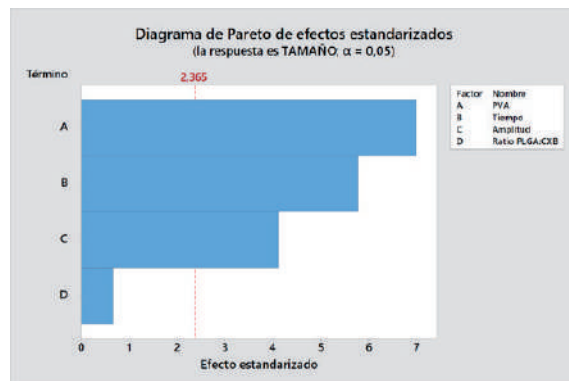


Fig 1. Diagrama de Pareto que muestra el efecto estandarizado sobre el tamaño de partícula.

Al igual que ocurría en la evaluación del efecto sobre el tamaño de partícula, la concentración de PVA y la amplitud del sonicador tienen una influencia estadísticamente significativa (p -valor < 0.05) sobre el índice de polidispersión, concretamente presentan un efecto negativo, de manera que el aumento del valor de estas variables implica una disminución en el PDI. Sin embargo, el tiempo de sonicación y el ratio PLGA: CXB no tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el índice de polidispersión (p -valor > 0.05) (Fig.2).

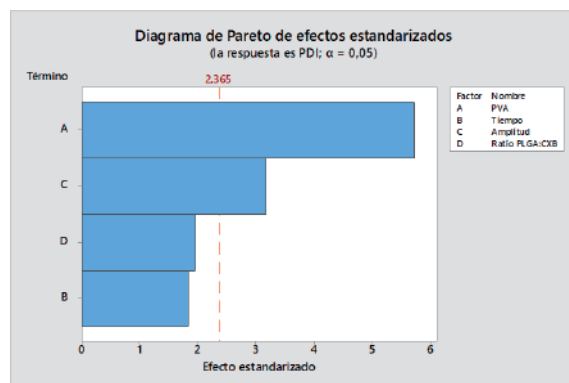


Fig. 2: Diagrama de Pareto que muestra el efecto estandarizado sobre el índice de polidispersión.

Por último, en cuanto a la eficacia de encapsulación, cabe destacar que todas las

formulaciones desarrolladas presentan valores muy elevados, superiores al 60 % en todos los casos, e incluso superiores al 90 % en algunas formulaciones; lo que indica la elevada afinidad que tiene el celecoxib por el PLGA. En este caso, ninguna de las variables evaluadas presenta un efecto estadísticamente significativo en la eficacia de encapsulación del celecoxib (p -valor > 0.05) (Fig.3).

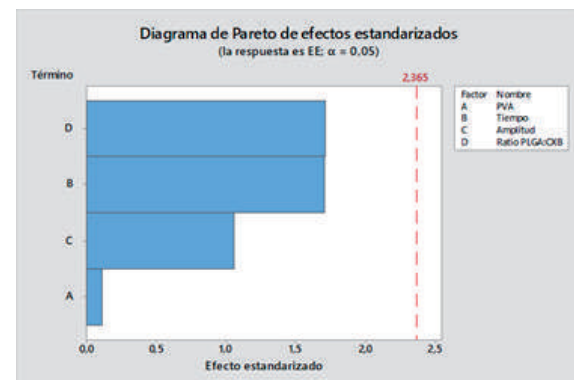


Fig. 3: Diagrama de Pareto que muestra el efecto estandarizado sobre la eficacia de encapsulación.

4. Conclusiones

1. La concentración PVA y la amplitud del sonicador influyen significativamente en el tamaño y el índice de polidispersión de las nanopartículas de PLGA cargadas con CXB. Sin embargo, no influyen en la eficacia de encapsulación.
2. El tiempo de sonicación sólo influye en el tamaño de partícula.
3. El ratio PLGA:CXB no influye estadísticamente en el tamaño, índice de polidispersión o eficacia de encapsulación de las nanopartículas de CXB.

Agradecimientos

Grupo de investigación de la UCM "Formulación y biodisponibilidad de nuevos medicamentos" (ref: 910939)

Referencias bibliográficas

1. Fidahic M, et.al. Celecoxib for rheumatoid arthritis. Cochrane Database Syst Rev. 2017.
2. Madan JR et.al. Formulation and In Vitro Evaluation of Casein Nanoparticles as Carrier for Celecoxib. Adv Pharm Bull. 2020 Jul;10(3):408-17.

3. Tavares Luiz M, et.al. Design of experiments (DoE) to develop and to optimize nanoparticles as drug delivery systems. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021 Aug;165:127-48.

Este trabajo debe ser citado como:

Quispe Chauca P, Alonso González M, Fernández Carbadillo A, Fraguas Sánchez AI. Diseño de experimentos en el desarrollo de nanopartículas poliméricas de celecoxib. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):101-3.

Administración Intranasal de nanopartículas de PLGA-Venlafaxina: Biodistribución al SNC

Álvarez Fuentes Josefa ^{*1,2}, Cayero Otero María Dolores¹, Fernández Arévalo Mercedes¹, Martín Banderas Lucía^{1,2}

¹ Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/Prof. García González nº2 41012, Sevilla, España.

² Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBiS), Hospital Universitario Virgen del Rocío/CSIC/ Universidad de Sevilla, Sevilla, España.

*Correspondencia: ffjalvarez@us.es

1. Introducción

El principal obstáculo para el tratamiento de las enfermedades del sistema nervioso central (SNC) es la presencia de la barrera hematoencefálica (BHE). Prácticamente, el 100 % de las moléculas de gran tamaño, y el 98 % de las moléculas hidrófilas de bajo peso molecular no son capaces de superar esta barrera [1]. Solo pequeñas moléculas con carácter lipofílico pueden atravesar la BHE [2].

Afortunadamente, se ha demostrado que existe un método atractivo de administración, no invasivo, que logra el acceso al SNC eludiendo la barrera hematoencefálica, es la denominada ruta nose-to-brain. Gracias a esta ruta los fármacos pueden llegar al cerebro después de la administración intranasal a través de los nervios olfatorio y trigémino [3].

El objetivo del presente trabajo fue comparar la capacidad que diferentes formulaciones de nanopartículas de PLGA mostraban para llegar al cerebro después de su administración intranasal.

2. Materiales y metodos

2.1. Producción de las nanopartículas

Se prepararon nanopartículas fluorescentes de PLGA (NP) (pegiladas y no pegiladas) mediante la técnica de emulsión- evaporación de solvente.

El tamaño, la distribución del tamaño (PdI) y el potencial zeta (ZP) se midieron mediante DLS (Malvern Zetasizer) antes y después de la conjugación con: (i) transferrina (Tf) o (ii) un péptido contra el receptor de Tf (TfRp), usando el método de la carbodiimida con EDC y NHS [4].

2.2. Ensayo de biodistribución tisular

Todas las formulaciones ensayadas fueron administradas vía intranasal (7,5 µl / fosa nasal) (alrededor de 30 mg / kg).

Previamente, los animales fueron anestesiados mediante inyección intraperitoneal y se dividieron en cinco grupos (control, FITC-PLGA-, FITC-PLGA-PEG-, Tf-FITC-PLGA y NP de TfRp-FITC-PLGA) (4 animales por grupo).

Después de 30 minutos, se perfundió el corazón de los ratones con PBS estéril y se recogieron el cerebro, el corazón, los riñones, el hígado, los pulmones y el bazo, homogeneizándolos en 1 ml de PBS.

Cada homogenizado se analizó mediante citometría de flujo.

3. Resultados y Discusión

Las NP no PEGiladas mostraron un tamaño de $189,5 \pm 3,8$ nm de diámetro (PdI $\approx 0,025$), con un Potencial Zeta de $-22,3 \pm 0,4$ mV.

Después de su conjugación, las NP mostraron un aumento en su tamaño medio. Así, las NPs-Tf mostraron un tamaño medio de $205,4 \pm 1,3$ nm (PdI > 0,1) y un Potencial Zeta de $-14,5 \pm 0,4$ mV; y las NPs-TfRp un tamaño medio de $202,4 \pm 3,9$ nm (PdI 0.058 ± 0.015) y un Potencial Zeta de $-14,5 \pm 0,4$ mV.

Las NPs pegiladas exhibieron un tamaño mayor, por encima de 230 nm ($231,2 \pm 3,2$ y PdI $0,154 \pm 0,007$) y un Potencial Zeta superior a -30 mV ($-31,3 \pm 0,8$ mV).

Después de la administración de los cuatro tipos de NP estudiados, el análisis de citometría de flujo mostró que las nanopartículas sin modificar mostraban la mejor capacidad para cruzar la BBB.

Esto podría deberse a que estos sistemas nanoparticulares llegarían al cerebro mediante transporte facilitado o extracelular que requiere solo minutos [5], mientras que las NPs funcionalizadas entrarían por endocitosis mediada por receptores, que generalmente es un proceso de transporte más lento [6].

Referencias bibliográficas

1. Patel MM, Goyal BR, Bhadada S V, Bhatt JS, Amin AF. *CNS Drug*. 2009;23(1):35–58.
2. Blasi P, Giovagnoli S, Schoubben A, Ricci M, Rossi C. *Adv Drug Deliv Rev*. 2007;59(6):454–77.
3. Wu H, Hu K, Jiang X. *Expert Opin Drug Deliv*. 2008;5(10):1159–68.
4. Das M, Dilnawaz F, Sahoo SK. *Nanomedicine*. 2011;6:489–507.
5. Muntimadugu E, Dhommatti R, Jain A, Challa VGS, Shaheen M, Khan W. *Eur J Pharm Sci*. 2016;92:224–34.
6. Dhuria S V., Hanson LR, Frey WH. *J Pharm Sci*. 2010;99(4):1654–73.
7. Katare YK, Daya RP, Sookram Gray C, Luckham RE, Bhandari J, Chauhan AS, et al. *Mol Pharm*. 2015;12(9):3380–8.

Este trabajo debe ser citado como:

Álvarez Fuentes J, Cayero Otero MD, Fernández Arévalo M, Martín Banderas L. Administración Intranasal de nanopartículas de PLGA-Venlafaxina: Biodistribución al SNC. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):104-5.

A la inversa, las NPs pegiladas (PEG-NP) con un tamaño superior a 230 nm, posiblemente debido a su tamaño, tienen dificultado su acceso al cerebro. Se piensa que el transporte intracelular y paracelular, que requerirían estas partículas de tamaño superior a 200 nm, es deficiente en la ruta nose-to-brain [7].

4. Conclusiones

Los resultados obtenidos sugieren que las NP no pegiladas y no funcionalizadas son una plataforma prometedora para la administración de fármacos al SNC después de su administración intranasal gracias a la ruta nose-to-brain.

Agradecimientos

Los autores agradecen especialmente el apoyo económico del Plan Propio de la Universidad de Sevilla (acción I.5) y el apoyo técnico del Servicio de Biología de los Servicios Generales de Investigación de la Universidad de Sevilla (CITIUS).

Preparación y caracterización de espumas sólidas poliméricas, obtenidas a partir de emulsiones altamente concentradas, para aplicaciones farmacéuticas

Aparicio Pelegrin Rosa M ^{*1,2}, Ameli Katayun¹, Soley Cascales Jordi¹, Figueroa Becerra Esteban^{1,2}, Caballero Román Aitor¹, Escribano Ferrer Elvira^{1,2}, Esquena Moret Jordi^{3,4}, Garcia Celma M. José^{1,2,4}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Universidad de Barcelona, Joan XXIII 27-31, 08028, Barcelona, España.

² Instituto de Nanociencia y Nanotecnología (IN2UB). Universidad de Barcelona.

³ Instituto de Química Avanzada de Cataluña (IQAC). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034, Barcelona, España.

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN).

*Correspondencia: rosaaparicio@ub.edu

1. Introducción

Las emulsiones altamente concentradas contienen una fracción de fase dispersa superior al 0,74 (empaquetamiento máximo de esferas monodispersas) [1] y pueden utilizarse como plantilla para la obtención de sistemas microestructurados [2]. Los materiales porosos poliméricos o espumas sólidas, se pueden preparar a partir de estas emulsiones y se caracterizan por ser materiales sólidos de baja densidad y elevado volumen de poro, con una elevada superficie, tamaño de poro ajustable y la posibilidad de incorporación y posterior liberación de fármacos [3].

En este trabajo de investigación se han obtenido espumas sólidas a partir de emulsiones altamente concentradas en presencia de polímeros como el poliestireno-divinilbenzeno (PS-DVB), poliácridamida (PAM), quitosano (QS) y ácido hialurónico (HA). A los materiales obtenidos se les ha incorporado ketoprofeno, hidrocloreto de clindamicina o sulfato de salbutamol en diferentes concentraciones y por distintos métodos para la posible utilización de estos materiales como vehículos en formulaciones farmacéuticas y/o cosméticas.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Estireno (Merck), divinilbenceno (Merck), acrilamida (Merck), bisacrilamida (Merck), quitosano (Sigma-Aldrich), genipina (Challenge Bioproducts Co.), ácido hialurónico (Sigma-Aldrich), BDDE (Sigma-Aldrich).

2.2. Preparación de espumas sólidas e incorporación de fármacos

Se prepararon emulsiones altamente concentradas de fase externa acuosa (O/W) y de fase externa oleosa (W/O). En las primeras se incorporaron los monómeros (estireno y divinilbenceno o acrilamida y bisacrilamida) y en las segundas los polímeros (QS o HA), de acuerdo con su solubilidad en la fase externa, así como los reticulantes. Una vez finalizadas las reacciones de polimerización o la reticulación, se eliminaron los solventes y tensioactivos. A las espumas sólidas obtenidas se les incorporaron los fármacos seleccionados. Para asegurar la incorporación homogénea del fármaco en los materiales macroporosos, se sumergieron en soluciones de agua/alcohol (1:1 p/p) conteniendo un 2 %, 5 % o 10 % de ketoprofeno, clorhidrato

de clindamicina o sulfato de salbutamol. Posteriormente se procedió al secado de las muestras a 50 °C durante 24 h y se cuantificó la incorporación de los fármacos a partir del aumento de peso de las muestras.

2.3. Estudios de liberación

Los experimentos de difusión se llevaron a cabo en:

- Bolsas de diálisis con PBS (pH=7,4) y con los materiales meso/macroporosos impregnadas de fármaco.
- Equipo de disolución (Vision[®] G2 Elite 8[™], Hanson Research) con células de inmersión en vasos de vidrio termostatizados a 37 °C (USP tipo 2).
- Equipo de disolución con cestillos perforados (USP tipo 1).

El medio receptor fue PBS (pH=7,4). La cantidad de fármaco difundido en función del tiempo se determinó por espectrofotometría UV o HPLC. Todos los ensayos se realizaron por triplicado, comparando con un blanco, y bajo condiciones sink.

3. Resultados y Discusión

La impregnación es el punto crítico del proceso ya que depende del tamaño de poro y forma de la espuma sólida, así como de su peso.

Como se observa en la Figura 1, en las espumas sólidas de PS-DVB y QS la cantidad de ketoprofeno y clindamicina incorporados aumenta al aumentar la concentración de la solución de impregnación.

Se observó también un aumento del tiempo de retención del principio activo. en comparación con soluciones con la misma concentración de fármaco. Al comparar con formas farmacéuticas sólidas comercializadas, se observó que la liberación era notablemente más lenta y sostenida. Este aumento en el tiempo de retención no se ha observado con espumas sólidas de QS.

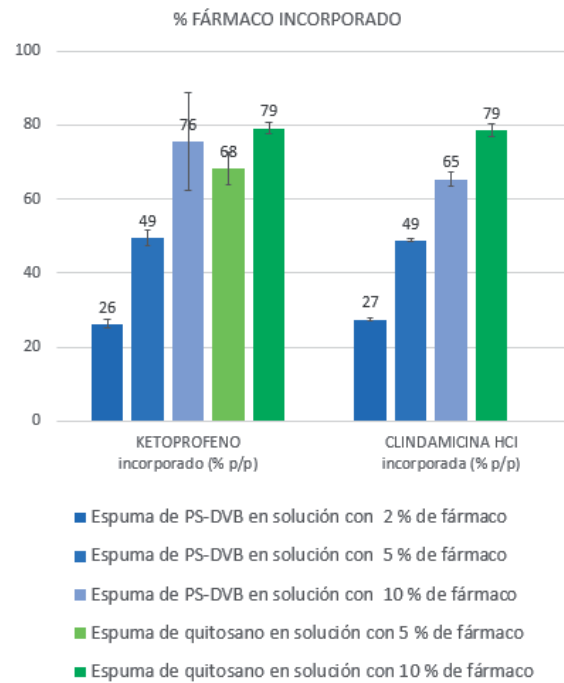


Fig. 1. Incorporación de fármacos a espumas sólidas de PS-DVD y QS.

Asimismo, se observó como el tiempo de retención difiere considerablemente en función del polímero utilizado, siendo mayor para las espumas de PS-DVB y menor para las de HA (figura 2).

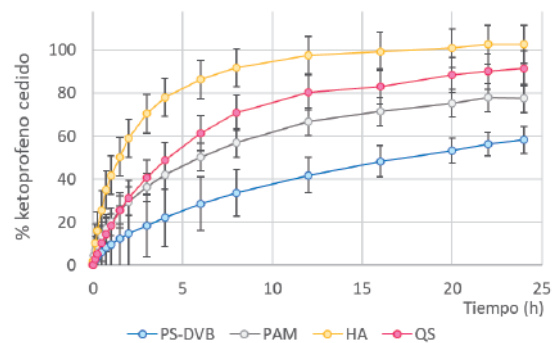


Fig. 2. Porcentaje de ketoprofeno liberado a partir de los distintos materiales porosos.

Los materiales poliméricos meso/ macroporosos ensayados mostraron una menor retención de los fármacos hidrófilos, como la clindamicina HCl.

4. Conclusiones

La retención de los fármacos por las espumas sólidas estudiados está influenciada por la estructura de la emulsión utilizada como plantilla y que condiciona la estructura porosa,

así como por la composición de los materiales porosos y su afinidad por los principios activos incorporados.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (CTQ2016-80645-R), Generalitat de Catalunya (2017SGR-1778) y Unidad Asociada de I+D+i al CSIC: Nanotecnología Farmacéutica.

Referencias bibliográficas

1. Llinàs, M. et al. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2013;394:337-45.
2. Canal, C. et al. *J Pharm Pharmaceut Sci*. 2012;15(1):197-207.
3. Esquena, J. et al. *Langmuir*. 2003;19:2983-8.

Este trabajo debe ser citado como:

Aparicio Pelegrin RM, Ameli K, Soley Cascales J, Figueroa Becerra E, Caballero Román A, Escribano Ferrer E, Esquena Moret J, Garcia Celma MJ. Preparación y caracterización de espumas sólidas poliméricas, obtenidas a partir de emulsiones altamente concentradas, para aplicaciones farmacéuticas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):106-8.

Nanoestructuras (maghemita/PLGA)/quitosano (core/shell)/shell sensibles al pH y a campos magnéticos, y con actividad frente al cáncer de pulmón

Fernández Álvarez Fátima¹, García García Gracia², Arias José L^{*1,3,4}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, 18011 Granada, España.

² Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, 28223 Madrid, España.

³ Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España.

⁴ Instituto Biosanitario de Granada (ibs.GRANADA), Servicio Andaluz de Salud (SAS) - Universidad de Granada, 18012 Granada, España.

*Correspondencia: jlarias@ugr.es

1. Introducción

El control en el guiado in vivo de antitumorales, si éstos son administrados asociados a nanopartículas (NPs), mejora la eficacia y seguridad de la terapia antitumoral [1]. La optimización de la nanoestructura para que sea sensible a estímulos asegura una liberación selectiva de los agentes terapéuticos en la zona diana [2].

En este contexto, esta investigación pretende desarrollar una metodología de formulación de NPs basadas en núcleos de maghemita (γ -Fe₂O₃) dentro de una matriz de poli(D,L-lactida-co-glicolida) (PLGA) y quitosano (QS), avalada por una extensa caracterización fisicoquímica. Se pretende abordar un estudio de vehiculización de cisplatino (CDDP) y un estudio preliminar in vitro de actividad frente a células A-549 de adenocarcinoma de pulmón humano.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Reactivos químicos de calidad analítica (Panreac Química S.L.U., España; y, Merck KGaA, Alemania).

2.2. Formulación y caracterización de NPs magnéticas de PLGA/QS

La preparación de los nanocompuestos γ -Fe₂O₃/PLGA se basó en el método de emulsificación con evaporación del disolvente [3] (n = 3). A continuación, estas NPs se incluyeron en una matriz de QS mediante un método de coacervación [3]. El tamaño de partícula se caracterizó mediante espectroscopia de correlación de fotones, y la composición del nanosistema se evaluó mediante un análisis elemental EDX. La visualización de las NPs se abordó mediante HAADF-STEM y ABF-STEM. La respuesta magnética se estudió mediante determinación del ciclo de histéresis del nanosistema.

2.3. Ensayo de liberación in vitro de CDDP

La técnica de la bolsa de diálisis se utilizó para realizar el ensayo de liberación del CDDP in vitro en función del pH (pHs 5 y 7.4, y 37 °C) (n = 3). Las NPs utilizadas presentaban un valor de drug loading \approx 15 % [3].

2.4. Estudio in vitro de citotoxicidad

La citotoxicidad de las NPs (γ -Fe₂O₃/PLGA)/QS frente a la línea celular A-549 se evaluó mediante un ensayo MTT (n = 3). Las concentraciones

equivalentes ensayadas de CDDP en este estudio oscilaron entre 1 y 20 $\mu\text{g/mL}$. Tiempo de exposición: 72 h.

3. Resultados y Discusión

La metodología de preparación de las NPs ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{PLGA}$)/QS dotó a éstas de un tamaño adecuado para la vía de administración parenteral (≈ 330 nm). Las microfotografías HAADF-STEM (Figura 1a) y ABF-STEM (Figura 1b) demostraron la inclusión de los núcleos de $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ en la nanoestructura polimérica. El análisis elemental EDX de Fe (Figura 1c) y N (Figura 1d) permitió confirmar cómo los núcleos de óxido de hierro quedaban embebidos en la matriz de PLGA, y cómo esta NP quedaba recubierta por QS.

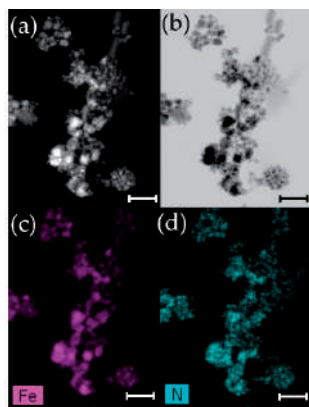


Fig. 1. Fotografías (a) HAADF-STEM, y (b) ABF-STEM de los nanocompuestos. Análisis elemental EDX de: (c) Fe y (d) N. Longitud de barra: 100 nm.

Los valores de susceptibilidad inicial y magnetización de saturación de los nanocompuestos, $(0.077 \pm 0.003) \times 10^{-3}$ m³/Kg, y 5.03 ± 0.37 Am²/Kg respectivamente, avalaron una interesante respuesta magnética.

La Figura 2 recoge cómo la liberación de CDDP desde las NPs seguía un perfil de liberación bifásico, considerablemente acelerado bajo las condiciones típicas del intersticio tumoral pH ≈ 5.0 .

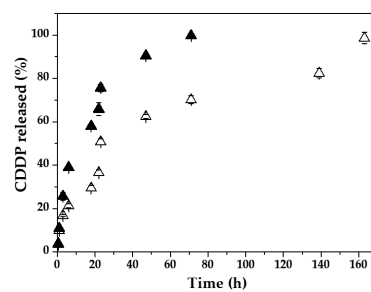


Fig. 2. Perfil de liberación in vitro de CDDP (%) desde las NPs en función del tiempo de incubación (h) a 37.0 ± 0.5 °C y pH 7.4 ± 0.1 (Δ) o pH 5.0 ± 0.1 (\blacktriangle).

La Figura 3 ilustra la inhibición del crecimiento celular dependiente de la dosis de CDDP. A concentraciones equivalentes de CDDP de 3 a 20 $\mu\text{g/mL}$ se observó una mejora significativa de la actividad antitumoral del fármaco cuando estaba vehiculado en las NPs ($p < 0.01$).

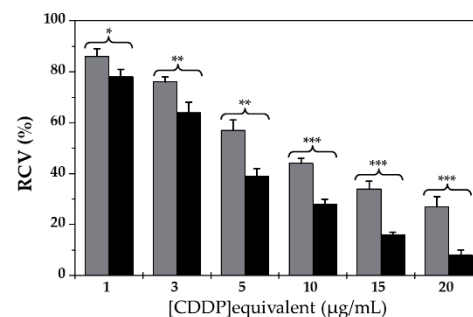


Fig. 3. Viabilidad celular (RCV, %) de células A-549 expuestas a NPs cargadas con CDDP (columna negra) o a CDDP libre (columna gris), en función de la concentración de antitumoral (concentraciones equivalentes hasta 20 $\mu\text{g/mL}$).

4. Conclusiones

Se ha desarrollado una metodología reproducible para la formulación de NPs ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3/\text{PLGA}$)/QS sensibles al pH, con respuesta magnética, y cargadas con CDDP. Este coloide presenta potencial aplicación en el tratamiento del cáncer de pulmón.

Agradecimientos

Instituto de Salud Carlos III (PI19/01478) (FEDER), Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014–2020 (Junta de Andalucía, I+D+i A1-FQM-341-UGR18); y el Programa de Ayudas a Proyectos I+D+i destinadas a Universidades y Entidades Públicas de Investigación (Junta de Andalucía, PY20_00346).

Referencias bibliográficas

1. Kim K, Khang D. Past, present, and future of anticancer nanomedicine. *Int J Nanomed.* 2020;15:5719-43.
2. Das SS, Bharadwaj P, Bilal M, Barani M, Rahdar A, Taboada P, et al. Stimuli-responsive polymeric nanocarriers for drug delivery, imaging, and theragnosis. *Polymers.* 2020;12:1397.
3. Fernández-Álvarez F, García-García G, Arias JL. A Tri-Stimuli Responsive (Maghemite/PLGA)/Chitosan.

Este trabajo debe ser citado como:

Fernández Álvarez F, García García G, Arias JL. Nanoestructuras (maghemita/PLGA)/quitosano (core/shell)/shell sensibles al pH y a campos magnéticos, y con actividad frente al cáncer de pulmón. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):109-11.

Diseño de nanoestructuras híbridas con potencial aplicación como agentes de contraste T₂ en RMI y agentes de hipertermia antitumoral

Fernández Álvarez Fátima¹, Caro Carlos², García García Gracia³, García Martín María Luisa^{2,4}, Arias José L^{3,5,6}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, 18011 Granada, España.

² Centro Andaluz de Nanomedicina y Biomedicina (BIONAND), Junta de Andalucía-Universidad de Málaga, 29590 Málaga, España.

³ Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, 28223 Madrid, España.

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), 28029 Madrid, España.

⁵ Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España.

⁶ Instituto Biosanitario de Granada (ibs.GRANADA), Servicio Andaluz de Salud (SAS) - Universidad de Granada, 18012 Granada, España.

*Correspondencia: jlarias@ugr.es

1. Introducción

La nanotecnología aporta interesantes herramientas para solventar algunos de los principales problemas relacionados con el diagnóstico y tratamiento convencional del cáncer, ej. baja sensibilidad de las técnicas de diagnóstico por imagen, obtención de concentraciones subterapéuticas en el tumor [1]. Además, estrategias de diseño avanzado han permitido la formulación de nanoestructuras con actividades adicionales frente al cáncer, ej. hipertermia antitumoral [2]. Este trabajo pretende el diseño de nanopartículas (NPs) híbridas magnéticas que aúnen capacidades para el diagnóstico del cáncer mediante resonancia magnética de imagen (RMI) y para la hipertermia antitumoral.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Reactivos químicos de calidad analítica (VWR International, LLC, España; Merck KGaA, Alemania; y, Panreac Química S.L.U., España).

2.2. Síntesis y caracterización de NPs mixtas

Los nanocompuestos de estructura [núcleo (maghemita, γ -Fe₂O₃) / cubierta (PLGA)] / recubrimiento (quitosano, QS) se formularon mediante el método de emulsificación con evaporación del disolvente, y posterior recubrimiento con QS mediante el método de coacervación (n = 3) [3]. El diámetro medio del nanosistema se determinó mediante espectroscopia de correlación de fotones, y la estructura interna (cristalina o no) de los coloides magnéticos se caracterizó mediante difracción de rayos X. La capacidad de respuesta magnética se determinó analizando la curva de primera imanación.

2.3. Hipertermia magnética

Se evaluó la capacidad para generar calor de los coloides ante un gradiente electromagnético alterno de alta frecuencia (GEMAAF). La citotoxicidad asociada a la capacidad para la hipertermia de las NPs se evaluó frente a la línea tumoral T-84, empleando el método MTT (grupo 1) en comparación con diferentes grupos control:

grupo 2 (incubación con NPs, sin GEMAAF), grupo 3 (sin NPs, con GEMAAF) y grupo 4 (sin NPs, sin GEMAAF).

2.4. Determinación *in vitro* de relajatividades

Las relajatividades longitudinal (r_1) y transversal (r_2) de las NPs se determinaron *in vitro*, empleando un campo magnético de 1.44 T y a 37.0 ± 0.5 °C [3].

3. Resultados y Discusión

El tamaño medio de las NPs magnetopoliméricas fue 325 ± 8 nm, siendo apropiado para la vía de administración parenteral.

Los difractogramas de rayos X de los núcleos de γ -Fe₂O₃ y de las NPs γ -Fe₂O₃/PLGA/QS coincidieron con el patrón ASTM de la γ -Fe₂O₃, lo que indica la presencia de los núcleos dentro de la matriz polimérica y su estructura cristalina (necesaria para tener propiedades magnética).

El análisis de la curva de primera imanación de los nanocompuestos permitió definir una adecuada respuesta magnética. Por otro lado, los valores de r_1 y r_2 de estas nanoestructuras (núcleo/cubierta)/recubrimiento fueron: 0.4 y $61.4 \text{ mM}^{-1} \times \text{s}^{-1}$, respectivamente. Por tanto, los nanocompuestos magnetopoliméricos podrían tener una interesante aplicación como agentes de contraste T2 en RMI.

La adecuada capacidad para la hipertermia de las NPs queda reflejada en la Figura 1a. Bajo exposición a un GEMAAF, el coloide magnético alcanzó la temperatura mínima de hipertermia (42 °C) en 32 min, y mantuvo una temperatura máxima de hipertermia (46 °C) durante el resto del experimento (3 h.).

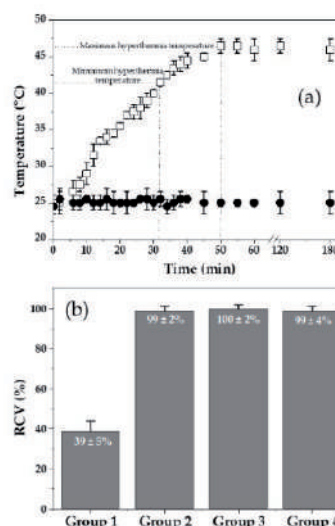


Fig. 1. (a) Evolución de la temperatura (°C) en función del tiempo (min) del coloide magnético (□), y de un control (medio acuoso sin NPs, ■), ante un GEMAAF. (b) Efecto de hipertermia antitumoral de las NPs en comparación con grupos control.

En la Figura 1b se aprecia un descenso significativo de la viabilidad celular (RCV, %) en la línea T-84 ($p < 0.01$), consecuencia de la actividad hipertérmica del coloide, en comparación con diferentes grupos control.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado un procedimiento reproducible para la formulación de NPs (γ -Fe₂O₃/PLGA)/QS con potencial aplicación como agentes de contraste T2 en RMI y como agentes de hipertermia magnética antitumoral.

Agradecimientos

Instituto de Salud Carlos III (PI19/01478) (FEDER), Programa Operativo FEDER de Andalucía 2014–2020 (Junta de Andalucía, I+D+i A1-FQM-341-UGR18); Programa de Ayudas a Proyectos I+D+i destinadas a Universidades y Entidades Públicas de Investigación (Junta de Andalucía, PY20_00346), y Ministerio de Economía y Competitividad (CTQ2017-86655-R). Unidad de Nanoimagen e Infraestructuras Científico-Tecnológicas Singulares por la realización de los experimentos de relajatividad.

Referencias bibliográficas

1. Zhang Y, Li M, Gao X, Chen Y, Liu T. Nanotechnology in cancer diagnosis: progress, challenges and opportunities. *J Hematol Oncol.* 2019;12:137.
2. Sohail A, Ahmad Z, Bég OA, Arshad S, Sherin L. A review on hyperthermia via nanoparticle-mediated therapy. *Bull Cancer.* 2017;104:452–61.
3. Fernández-Álvarez F, Caro C, García-García G, García-Martín ML, Arias JL. Engineering of stealth (maghemite/PLGA)/chitosan (core/shell)/shell nanocomposites with potential applications for combined MRI and hyperthermia against cancer. *J Mater Chem B.* 2021;9(24):4963-80.

Este trabajo debe ser citado como:

Fernández Álvarez F, Caro C, García García G, García Martín ML, Arias JL. Diseño de nanoestructuras híbridas con potencial aplicación como agentes de contraste T2 en RMI y agentes de hipertermia anti-tumoral. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):112-4.

Implantes intravítreos de PLGA cargados de bevacizumab preparados mediante tecnología de fluidos supercríticos

Bendicho Lavilla Carlos^{1,2}, Seoane Viaño Iria^{1,2}, Santos Rosales Víctor^{1,3}, Luzardo Álvarez Asteria^{1,2}, García González Carlos A^{1,3}, Otero Espinar Francisco J^{1,2}

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela (USC), 15782, Santiago de Compostela, España.

² Grupo Paraquasil, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, 15706, España.

³ Grupo I+D Farma, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, 15706, España.

*Correspondencia: francisco.otero@usc.es

1. Introducción

El bevacizumab (BVZ) (Avastin[®]) es un anticuerpo monoclonal que inhibe el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Actualmente, se utiliza fuera de indicación como terapia para enfermedades oculares como la degeneración macular asociada a la edad o la retinopatía diabética [1]. Se administra una vez al mes mediante una inyección intravítrea [1].

Las principales complicaciones están asociadas a las frecuentes inyecciones intravítreas, que además producen incomodidad en el paciente por ser un método muy invasivo [2]. Por ello, se necesita un sistema de liberación controlada y prolongada de BVZ que permita aumentar el tiempo entre inyecciones

En este trabajo se propone el diseño y preparación de implantes intravítreos biodegradables de ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) cargados con BVZ mediante el uso de la tecnología de espumado con CO₂ supercrítico [3], que presenta como ventajas la fabricación de implantes en ausencia de disolventes orgánicos y a bajas temperaturas.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño y formulación del implante

Se prepararon mezclas pulverulentas de PLGA de diferentes pesos moleculares (50:50 láctico/glicólico, 16-38 kDa), en proporción 1:1. A la mezcla polimérica se le incorporaron 50 µL de una disolución comercial de BVZ (Avastin[®]) y se introdujo en la estufa durante 30 minutos a 35 °C para la evaporación del solvente. Se homogenizó la mezcla y se insertó en una sonda de plástico de dimensiones próximas a las del implante deseado. A continuación, el material fue sometido al procesado con CO₂ supercrítico.

2.2. Fabricación de implantes mediante CO₂ supercrítico.

Se llevó a cabo mediante el uso de un autoclave de altas presiones (Thar Process, PA, USA); agitación (700 rpm); 100 bar; 60 minutos.

Se evaluó la influencia de la temperatura de procesado (35-40 °C) y la velocidad de despresurización (0.9-7.2 g/min) del sistema sobre la morfología final y los perfiles de cesión de los implantes obtenidos.

2.3. Aspecto físico y tamaño de los implantes

El análisis macroscópico se llevó a cabo mediante la observación de la estructura externa de los

implantes intravítreos a través de una lupa con cámara electrónica.

2.4. Liberación *in vitro*

La liberación de los implantes intravítreos se realizó empleando células de Franz (5,5 mL) con humor vítreo artificial en el donante y PBS pH 7,4 en el receptor a 37 °C y agitación de 100 rpm. A cada tiempo preestablecido, se extrajeron 0,5 mL del receptor y se reemplazaron con PBS fresco. Las muestras fueron analizadas mediante un cromatógrafo de líquidos de ultra alta resolución (UHPLC, Waters) a una longitud de onda de 280 nm.

3. Resultados y Discusión

3.1. Evaluación morfológica

Los implantes intravítreos mostraron forma cilíndrica con uniformidad en la superficie y el color (Figura 1).



Fig. 1. Aspecto macroscópico de los implantes intravítreos. Barra de escala 2,5 mm.

3.1. Liberación *in vitro*

Como se puede observar en la Figura 2, los implantes de PLGA dan lugar a un nivel de BVZ difundido significativamente mayor que el BVZ libre. El perfil de liberación de los implantes varía con la velocidad de despresurización del sistema de CO₂ supercrítico. Esto se debe a la modificación en el número y tamaño de poros que se producen en el implante durante el proceso de espumado.

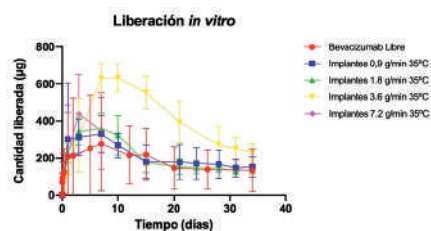


Fig 2. Liberación *in vitro* de BVZ libre y BVZ de los implantes intravítreos procesados con diferentes condiciones de despresurización.

En todas las formulaciones se observa una disminución de la cantidad de BVZ a partir de los 8-10 días. Probablemente se produce un proceso agregación de las moléculas de BVZ en el medio de liberación. La incorporación al implante parece mejorar la estabilidad del anticuerpo obteniéndose cantidades más elevadas y durante más tiempo, aunque finalmente se produce una importante disminución de su concentración.

El porcentaje de anticuerpo que difunde al receptor es reducido: 25 % en Avastin® o 50 % en el implante de 3,6 g/min. Esta baja difusión puede atribuirse a la presencia de ácido hialurónico cargado negativamente que puede interactuar electrostáticamente con las cargas positivas del anticuerpo impidiendo su difusión hacia el receptor.

En un trabajo futuro se estudiará si la incorporación de estabilizantes podría evitar la formación de agregados. Avastin® incluye tensoactivos y otros estabilizantes en su composición para evitar la agregación del anticuerpo.

4. Conclusiones

En el trabajo propuesto se diseñaron y fabricaron implantes intravítreos biodegradables de PLGA cargados de BVZ mediante la técnica de espumado con CO₂ supercrítico. Este método evita la utilización de disolventes orgánicos, tiene altos rendimientos de carga y tiene la capacidad de modificar fácilmente la cesión de los implantes.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-099597-B-100)

Referencias bibliográficas

1. The Royal College of Ophthalmologists. New NICE Age Related Macular Degeneration guidance supports potential cost savings for the NHS [Internet]. The Royal College of Ophthalmologists. 2018 [cited 2021 Sep 30]. Available from: <https://www.rcophth.ac.uk/2018/01/new-nice-age-related-macular-degeneration-guidance-supports-potential-cost-savings-for-the-nhs/>
2. Yorston D. Anti-VEGF drugs in the prevention of blindness. *Community Eye Health*. 2014;27(87):44–6.
3. Santos-Rosales V, Magariños B, Starbird R, Suárez-González J, Fariña JB, Alvarez-Lorenzo C, et al. Supercritical CO2 technology for one-pot foaming and sterilization of polymeric scaffolds for bone regeneration. *Int J*.

Este trabajo debe ser citado como:

Bendicho Lavilla C, Seoane Viaño I, Santos Rosales V, Luzardo Álvarez A, García González CA, Otero Espinar FJ. Implantes intravítreos de PLGA cargados de bevacizumab preparados mediante tecnología de fluidos supercríticos. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):115-7.

Impresión 3D de prótesis temporales: estudio de liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina

Bernat Just Lucía ^{*1}, Tamarit Martínez Carlos¹, Alambiaga Caravaca Adrián¹, Bueno López Carlos¹, Rodilla Vicente¹, López Castellano Alicia¹

¹ Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, C/Santiago Ramón y Cajal, s/n., Alfara del Patriarca, 46115, Valencia, España.

*Correspondencia: lucia.bernat@alumnos.uhceu.es

1. Introducción

Una de las principales complicaciones en artroplastias es la infección de la prótesis. Pese a su poca prevalencia (1-2 %), es difícil de tratar ya que las bacterias responsables, entre ellas *Staphylococcus aureus*, se acantonan en la prótesis formando un biofilm [1]. Existen estudios que justifican la incorporación de antibiótico en prótesis temporales para tratar la infección y generalmente se incorporan a cementos óseos [2].

Este trabajo forma parte de un proyecto de investigación cuyo objetivo es diseñar espaciadores (prótesis temporales) e imprimirlos en 3D para rellenarlos de antibióticos y usarlos en el tratamiento de infecciones de artroplastias. Con antibióticos incorporados al material impreso en 3D, sería posible crear una prótesis personalizada desde el punto de vista anatómico y terapéutico y se podría regular la liberación del fármaco modificando el tamaño de poro [3].

El objetivo de este trabajo fue estudiar la liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina desde el interior de un cilindro hueco impreso en PLA (Polylactic Acid) como un modelo de prótesis.

2. Materiales y métodos

2.1. Formulación del gel y la solución

Se prepararon una solución y un gel de cloxacilina (Sigma-Aldrich, St Louis) a concentración 1 mg/

mL. El gel se elaboró con ácido hialurónico adquirido de Fagron Iberica SAU (Terrasa, Barcelona) al 1.5 % y la solución con tampón fosfatos PBS.

2.2. Diseño e Impresión 3D

El programa informático de modelado e impresión de la prótesis fue "Rhinoceros 3D" y se utilizó la impresora 3D "Flashforge Creator Pro". En estudios preliminares se valoraron varios materiales y diseños de espaciadores seleccionando un cilindro en PLA [4]. El cilindro (BQ®, Huesca, España) para el estudio de la liberación tenía un volumen de 30 mm³ y de 12 mm³ para el estudio realizado de inhibición de crecimiento bacteriano.

2.3. Estudio de liberación

Para analizar la liberación de la cloxacilina se utilizó el equipo disolutest Erweka DT-80 Series con 6 compartimentos de 500 mL de capacidad que se rellenaron con 200 mL de PBS manteniendo la temperatura a 37°C. Los cilindros se rellenaron con una solución de 1 mg/mL de cloxacilina y se tomaron muestras (0.5 mL) a intervalos de tiempo de 0.5 a 192 horas con reposición del mismo volumen de PBS para mantener constante el volumen inicial. Las muestras fueron analizadas con HPLC.

2.4. Inhibición de crecimiento bacteriano

El estudio de inhibición de crecimiento bacteriano en placas de agar Mueller Hinton, se realizó mediante la siembra masiva de *S. aureus*

(0.5 McFarland) colocando los cilindros sobre el agar horizontalmente e incubando a 37°C durante 24 horas.

Asimismo, se realizó el estudio de inhibición de crecimiento bacteriano mediante la incubación de cuatro tubos de ensayo con una solución de *S. aureus* 1/10 de 0.5 McFarland. Uno de ellos fue el control negativo, otro el control positivo y en los dos restantes, se introdujeron los cilindros, uno de los cuales contenía 250 µL de gel de cloxacilina (1 mg/mL). Paralelamente se preparó otro experimento con la solución de cloxacilina a la misma concentración (1 mg/mL) en el cilindro. Tras 24 horas de incubación, se midieron las absorbancias a 600 nm.

3. Resultados y Discusión

3.1. Estudio de liberación

Los resultados del estudio de la liberación de cloxacilina desde el cilindro en solución se muestran en la Fig 1. Se observa una liberación de fármaco de un 21 % en las primeras 24 horas que se incrementa gradualmente hasta un 74 %. Los resultados se han comparado con los obtenidos con el gel y no hay diferencias significativas.

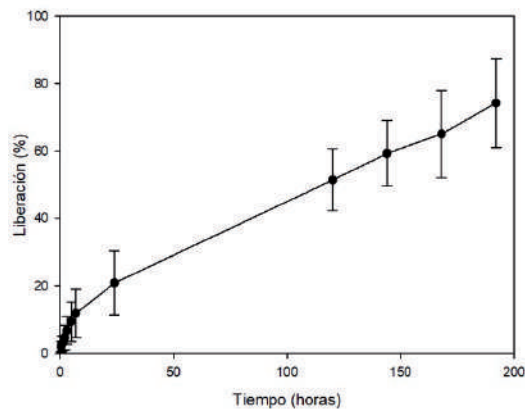


Figura 1: Porcentajes de liberación de solución de cloxacilina incorporada en cilindros de PLA impresos en 3D.

3.2. Inhibición de crecimiento bacteriano

La figura 2 muestra una placa de cultivo en la que se observa el halo de inhibición alrededor del cilindro. Sin embargo, la variabilidad de los resultados fue muy alta, que podría deberse a la diferente alineación de los microporos en los cilindros.

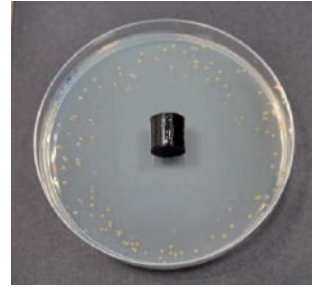


Figura 2: Placa de agar Mueller Hinton de *S.aureus* 0.5 McFarland con cilindro relleno de gel de cloxacilina tras 24 horas.

La figura 3 muestra la inhibición del crecimiento de cloxacilina en solución. El tubo correspondiente al cilindro con antibiótico incorporado (D) no presentó turbidez y se asemeja al control positivo (A). No obstante, el tubo sin presencia de antibiótico (C) presentó turbidez similar al control negativo (B). Los resultados de la cloxacilina en gel fueron semejantes.

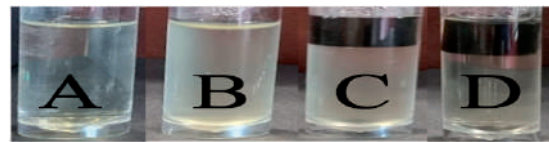


Figura 3: Tubos de ensayo de dilución 1/10 de 0.5 McFarland tras 24 horas de incubación. A: control positivo en solución; B: control negativo; C: cilindro sin antibiótico; D: cilindro con antibiótico en solución.

4. Conclusiones

- Se produce la liberación de la cloxacilina desde el interior de un cilindro de PLA impreso en 3D de manera progresiva.
- La cloxacilina, tanto en gel como en solución, difunde desde el interior del cilindro e inhibe el crecimiento bacteriano.

Agradecimientos

Financiación de la Universidad CEU Cardenal Herrera CEU 2019-2020, [FUSP-PPC-19-8166C64B].

Referencias bibliográficas

1. Davidson DJ, Spratt D, Liddle AD. Implant materials and prosthetic joint infection: the battle with the biofilm. *EFORT Open Rev.* 2019 Nov 5;4(11):633-9.
2. Rodriguez-Merchan EC. Antibiotic-loaded bone cement in primary total knee arthroplasty: does it reduce the risk of periprosthetic joint infection? *Hosp Pract (1995).* 2020 Oct;48(4):188-95.
3. Amekyeh H, Tarlochan F, Billa N. Practicality of 3D Printed Personalized Medicines in Therapeutics. *Front Pharmacol.* 2021 Apr 12; 12:646836.
4. Bueno C., Tamarit C., Alambiaga C, et al. 3D Printing of Temporary Prostheses for Controlled-Release of drugs: Design Physical characterization and Preliminary Studies. *Pharmaceuticals.* 2021. Enviado en proceso de revisión.

Este trabajo debe ser citado como:

Bernat Just L, Tamarit Martínez C, Alambiaga Caravaca A, Bueno López C, Rodilla V, López Castellano A. Impresión 3D de prótesis temporales: estudio de liberación e inhibición bacteriana de cloxacilina. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):118-20.

Los implantes lipídicos como tratamiento contra la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética

Blanco Fernández Guillermo ^{*1}, Blanco Fernández Bárbara^{2,3}, Fernández Ferreiro Anxo^{4,5}, Otero Espinar Francisco J.^{1,6}

¹ Departamento de Farmacia, Farmacología y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Santiago de Compostela.

² CIBER in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine, CIBER-BBN, Madrid, España.

³ Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology, Baldri Reixac 10–12, Barcelona, 08028, España.

⁴ Grupo de Farmacología, Fundación Instituto de Investigación de Santiago de Compostela (FIDIS), Santiago de Compostela, España.

⁵ Departamento de Farmacia, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela (SERGAS), Santiago de Compostela, España.

⁶ Grupo Paraquasil, Fundación Instituto de Investigación de Santiago de Compostela (FIDIS), Santiago de Compostela, España.

*Correspondencia: guillermo.blanco.fernandez@rai.usc.es

1. Introducción

La Degeneración Macular Asociada a la Edad (DMAE) y la Retinopatía Diabética (RD) son dos enfermedades prevalentes en la sociedad actual y causantes de ceguera a nivel mundial. Se estima que un 20 % de la población envejecida tiene DMAE. La RD es una comorbilidad común a la diabetes. Debido al acelerado ritmo de envejecimiento de la población y a la alta prevalencia de la diabetes, son enfermedades con un alto impacto sobre la población mundial.

La RD proliferativa y la DMAE neovascular aparecen debido a la neovascularización de los vasos sanguíneos oculares [1, 2]. El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) estimula esta neovascularización, es por ello que los anticuerpo anti-VEGF como el bevacizumab son una terapia adecuada contra DMAE neovascular y la RD proliferativa [3, 4]. El principal problema que presentan es la estabilidad, por ello el tratamiento actual, la solución de este anticuerpo, tiene que administrarse cada 2 meses.

Los implantes lipídicos protegen a las

biomacromoléculas y los fármacos de la degradación mientras que permiten una liberación controlada [5].

El objetivo de este trabajo es la preparación y caracterización inicial de implantes lipídicos conteniendo bevacizumab para el tratamiento de DMAE y RD.

2. Métodos

2.1. Materiales

Avastin 25 mg/mL fue donado por el Hospital clínico Universitario de Santiago de Compostela. El Precirol ATO 5, Tefose 63, Tefose 1500 y Geleol fueron donados por Gattefossé España S.A. Aceite de oliva de uso doméstico, solución de Ácido hialurónico 1 % (Acofarma) y Tween 80 (Acofarma).

2.1. Preparación de los implantes

Primero se determinó la solubilidad de los lípidos en agua, tampón fosfato salino (PBS) y humor vítreo artificial para seleccionar aquellos

que resistiesen la presencia en el humor vítreo.

Para preparar los implantes, se calentó la fase lipídica y la fase acuosa por separado a 63 °C. Cada implante lleva un total de 6,25 mg de anticuerpo. Después se incorporó la porción acuosa sobre la oleosa, se dispersó y se introdujo en jeringas de 0,5 mL con microaguja. Se hicieron 4 mezclas de dos lípidos, con distintos puntos de fusión, con el objetivo de conseguir formulaciones fácilmente extruendibles.

2.2. Jeringabilidad

Se llevó a cabo mediante una máquina universal de materiales Shimadzu AGS-X dotada con una célula de carga de 1 kN. Se registro la fuerza necesaria para desplazar el émbolo 20 mm, de jeringas de 5 mL y descargar la formulación a través de agujas de 18 G. Posteriormente se determinó la presión máxima necesaria para expulsar la formulación.

2.3. Caracterización de los implantes

Se estudio la superficie de los implantes mediante microscopía electrónica de barrido (Zeiss Evo LS 15). La liberación de bevacizumab a partir de los implantes se estudió en PBS con azida (5 mL) bajo agitación contante (100 rpm) a 37 °C. La cantidad liberada se midió por UPLC (Waters) empleando una columna Bioresolve, a 280 nm. Se hicieron 3 replicados por muestra y 1 blanco de cada formulación.

3. Resultados y discusión

Una vez depositados en el humor vítreo artificial todos los lípidos salvo el Tefose 63 mantiene su forma e integridad. Sin embargo, las mezclas de Tefose 63 con otros lípidos tardan en dispersarse, por lo que se continuó haciendo mezclas lipídicas con éste, ya que se considera que, debido a la renovación del humor vítreo y la lentitud en dispersarse de la mezcla, no

debiese manifestarse opalescencia o turbidez en el mismo.

La fuerza necesaria para expulsar la formulación de las jeringas (Figura 1) es mayor cuanto menor es la superficie del cabezal de la jeringa y la luz de la aguja, siendo las formulaciones F4 y F3 las que serían más fáciles de extruendir con microaguja, por ser las más fáciles también, con la aguja de 18 G.

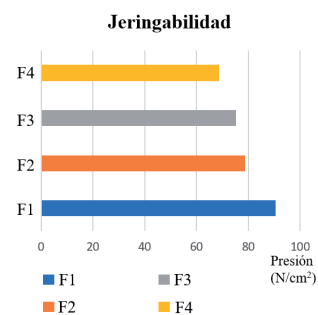


Fig.1 jeringabilidad obtenida de las diferentes formulaciones

Los implantes mostraron una liberación controlada en el tiempo superado el burst-release.

4. Conclusiones

Se han elaborado sistemas lipídicos implantables conteniendo bevacizumab con adecuadas propiedades de jeringabilidad. Los datos de liberación indican que las formulaciones favorecen la liberación controlada del Bevacizumab, siendo en algún caso la velocidad de liberación constante. Se están realizando ensayos sobre la integridad estructural del anticuerpo y de actividad para determinar la validez de las formulaciones.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-099597-B-100) y a Gattefossé España S.A. por la donación de sus lípidos para nuestra investigación.

Referencias bibliográficas

1. Lim LS, Mitchell P, Seddon JM, Holz FG, Wong TY, Age-related macular degeneration, Lancet. 2012;379:1728–38.
2. Tang J, Kern TS, Inflammation in diabetic retinopathy, Prog Retin Eye Res. 2011;30:343–58.
3. Lynch SS, Cheng CM, Bevacizumab for neovascular ocular diseases, Ann Pharmacother. 2007;41:614–25.

4. Luis de Redín I, Boiero C, Martínez-Ohárriz MC, Agüeros M, Ramos R, Peñuelas I, Allemandi D, Llabot JM, Irache JM, Human serum albumin nanoparticles for ocular delivery of bevacizumab, *Int J Pharm.* 2018;541:214–23.
5. Guse C, Koennings S, Kreye F, Siepmann F, Goepferich A, Siepmann J, Drug release from lipid-based implants:

Este trabajo debe ser citado como:

Blanco Fernández G, Blanco Fernández B, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ. Los implantes lipídicos como tratamiento contra la degeneración macular asociada a la edad y la retinopatía diabética. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):121-3.

Estabilización de emulsiones agua-en-agua (w/w) por gelificación: influencia en la liberación de fármacos

Caballero Román Aitor¹, Figueroa Becerra Esteban^{1,2}, Aparicio Pelegrin Rosa María¹, Esquena Jordi^{3,4}, García Celma María José ^{*1,2,4}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica. Facultad de Farmacia y Ciencias de Alimentación, Universidad de Barcelona, Joan XXIII 27-31, 08028, Barcelona, España.

² Instituto de Nanociencia y Nanotecnología (IN2UB), Universidad de Barcelona.

³ Instituto de Química Avanzada de Cataluña (IQAC). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034, Barcelona, España.

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN).

*Correspondencia: mjgarcia@ub.edu

1. Introducción

La necesidad de formulaciones más sostenibles y biocompatibles ha permitido el desarrollo de las emulsiones agua-en-agua (W/W), un ejemplo de sistema innovador con gran interés para aplicaciones farmacéuticas, ya que poseen la compartimentación propia de las emulsiones convencionales sin tener que utilizar tensioactivos ni componentes oleosos. Están constituidas por dos fases acuosas con macromoléculas hidrofílicas que presentan incompatibilidad termodinámica [1]. La estabilización de las emulsiones W/W no puede realizarse con tensioactivos, ya que éstos no se localizarían en las interfases.

El objetivo de este trabajo ha sido la estabilización de emulsiones W/W de alginato y caseinato de sodio mediante la gelificación con D-(+)-glucono- δ -lactona, un estabilizante ampliamente utilizado en formulaciones cosméticas y en alimentación. Se ha incorporado a las emulsiones un fármaco hidrófilo modelo, hidrocloreto de metformina, y se ha estudiado su difusión desde las emulsiones W/W a una solución receptora, en función de la concentración de gelificante.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Alginato de sodio (Sigma), caseinato de sodio (Sigma), hidrocloreto de metformina (Fagron), D-(+)-glucono- δ -lactona (Merck).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación de emulsiones W/W

Las emulsiones se prepararon a partir de soluciones de alginato de sodio y de caseinato de sodio a diferentes concentraciones. Las soluciones se mezclaron utilizando un homogeneizador Ultra-Turrax[®] dispersers T-8 (IKA[®]), a 25.000 rpm durante 90 segundos, a 25 °C.

La nomenclatura utilizada para las emulsiones indica los componentes, su concentración, el orden de incorporación y el tipo de emulsión. De este modo, la formulación A0,33 δ 0,33MF2/C10 es una emulsión de fase externa caseinato de sodio (C) y fase interna alginato de sodio (A) con hidrocloreto de metformina (MF) y gelificante D-(+)-glucono- δ -lactona (δ) incorporados en la solución de alginato; los números indican la concentración final de cada componente en porcentaje en peso.

2.2.2. Caracterización de emulsiones W/W

Se tomaron fotografías para evaluar el aspecto

macroscópico de las emulsiones. También se observaron mediante microscopía óptica (40x) y por microscopía electrónica de rastreo (100x).

2.2.3. Ensayo de liberación de principio activo

Se utilizó el equipo de disolución Vision® G2 Elite 8™ Dissolution Test (Hanson) que incorporaba Hanson's Immersion Cells de 15 mm. La membrana utilizada fue Cellu SepT3® MWCO 12.000-14.000 Da y la solución receptora PBS 0,16M a pH 7,4.

Se ensayaron cuatro réplicas de cada formulación.

2.1.4. Cuantificación de principio activo

Hidrocloruro de metformina se caracterizó mediante HPLC (Shimadzu LC-20) equipado con detector UV-visible.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización de emulsiones W/W

Se seleccionó la emulsión W/W A0,33MF2/C10, de tipo alginato en caseinato, con un 2 % de metformina, para realizar los estudios de gelificación. Se trataba de una emulsión fluida y en la que se inicia la separación de fases después de 24 horas de preparación. Las observaciones macroscópicas y microscópicas (Fig. 1a, 1b) permitieron comprobar que la emulsión A0,33δ0,33MF2/C10, con una baja proporción de gelificante incorporado con el alginato, presentaba una elevada concentración de gotas polidispersas y no se observaba separación de fases a las 24 horas de su preparación. En cambio, la emulsión A0,33MF2/C10δ4,17 (Fig. 1c, 1d), con una proporción más elevada de gelificante incorporado junto con el caseinato, era semisólida y mantenía la forma del contenedor. En la Fig. 1e, y 1f se observa el aspecto de las gotas de esta emulsión por microscopía óptica (Fig. 1e) y electrónica de rastreo (Fig. 1f).

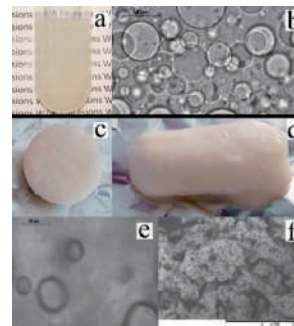


Figura. 1. Imágenes macroscópicas y microscópicas de emulsiones W/W gelificadas.

3.2. Liberación de principio activo

En la Figura 2 se muestran los perfiles de difusión de MF desde las emulsiones a una solución receptora de PBS, en función de la concentración de gelificante. A título comparativo, se ha representado la difusión de una solución de MF (MF2, en negro). Cuando la emulsión no contiene gelificante (A0,33MF2/C10, en azul), la liberación del principio activo es muy rápida. No se observan diferencias significativas con la emulsión que contiene una baja proporción de gelificante incorporado junto con el alginato (A0,33δ0,33MF2/C10, en rojo). Sin embargo, cuando la D-(+)-glucono-δ-lactona está en elevada proporción e incorporada con el caseinato (A0,33MF2/C10δ4,17, en lila), que constituye la fase externa, se produce una disminución considerable en el porcentaje del fármaco liberado, lo que se puede atribuir a la coagulación de caseinato en presencia de D-(+)-glucono-δ-lactona, con un considerable aumento de viscosidad de la emulsión, que provoca la retención de MF.

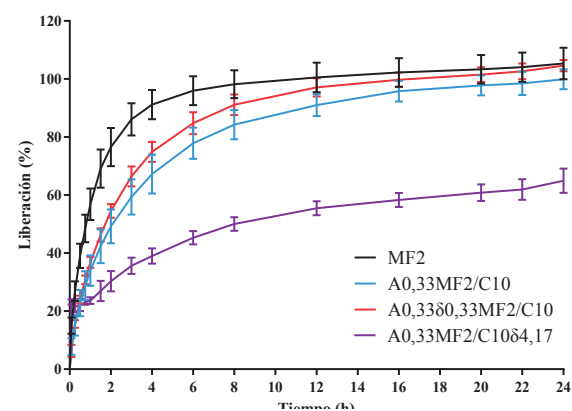


Figura. 2. Perfil de liberación de hidrocóloro de metformina incorporado en emulsiones W/W.

4. Conclusiones

D-(+)-glucono- δ -lactona ha demostrado ser un estabilizante eficaz para emulsiones W/W de alginato en caseinato, especialmente cuando se incorpora en la fase externa. La concentración del gelificante permite modular las propiedades reológicas de la emulsión y la liberación de un principio activo hidrófilo.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (CTQ2016-80645-R), Generalitat de Catalunya (2017SGR-1778) y Unidad Asociada de I+D+i al CSIC: Nanotecnología Farmacéutica.

Referencias bibliográficas

1. Esquena, J. Water-in-water (W/W) emulsions. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2016;25:109-19.

Este trabajo debe ser citado como:

Caballero Román A, Figueroa Becerra E, Aparicio Pelegrin RM, Esquena J, García Celma MJ. Estabilización de emulsiones agua-en-agua (w/w) por gelificación: influencia en la liberación de fármacos. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):124-6.

Development of nanoparticle complexes as liquid biopsy candidates for circulating tumor cell detection

Calderó Gabriela ^{*1,2,3}, Rodríguez Abreu Carlos^{2,3}, Rosales Eliana², Morral Ruíz Genoveva¹, Melgar Lesmes Pedro¹, Leitner Stefanie^{2,3}, Solans Conxita^{2,3}, García Celma María José^{1,3}

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physicochemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences. University of Barcelona, Joan XXIII, 08028, Barcelona, Spain.

² Institute of Advanced Chemistry of Catalonia (IQAC), Spanish National Research Council (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034, Barcelona, Spain.

³ Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Jordi Girona 18-26, 08034, Barcelona, Spain.

*Correspondencia: g.caldero@ub.edu

1. Introduction

Early detection of diseases is known to improve significantly the prognosis of many diseases. Liquid biopsy tests are emerging as an interesting approach, as they make diagnosis results available in a fast and simple way by just using biological fluids obtained in a minimally invasive manner. Certain solid tumour types, such as breast cancer, non-small cell lung cancer, colorectal cancer or prostate cancer, may be diagnosed by detecting circulating tumour cells (CTC) [1]. It is worth mentioning that the folate receptor is often highly expressed in these solid tumour types and may be considered as a biomarker. In this context, the use of nanoparticles may enhance the performance of liquid biopsy devices, through the specific recognition of disease biomarkers and enabling their detection in tiny volumes of body fluids. In the present research work, the potential of ethylcellulose nanoparticles as liquid biopsy nanodiagnostic tools has been preliminarily explored by using affordable materials and smooth preparation methods. For this purpose, the formation of positively charged ethylcellulose nanoparticles has been investigated using a low-energy emulsification method. Further, the ethylcellulose nanoparticles have been functionalized with gold nanoparticles or folate

exploiting supramolecular interactions. The haemocompatibility of the latter complexes has been assessed as a key factor in diagnostic tests involving the analysis of blood samples.

2. Materials and methods

2.1. Materials

Ethylcellulose (abbreviated as EC10) was kindly donated by Colorcon, a distributor of the Dow Chemical Company. Ethyl acetate was from Merck. The nonionic surfactants Kolliphor® EL (abbreviated as CEL, HLB = 12-14) and Span 80® (sorbitan monooleate; Abbreviated as S80, HLB = 4.3) were from BASF and Sigma-Aldrich respectively. Varisoft RTM50 (abbreviated CatA) is a quaternized amidoamine surfactant from Evonik. Sodium dihydrogen phosphate monohydrate, di-sodium hydrogen phosphate dihydrate and sodium chloride used for phosphate buffered saline (PBS) solution preparation were from Merck. Folic acid, D-(+)-glucose and HEPES salt were from Sigma Aldrich. The latter was used to prepare the HEPES 20 mM buffer solution and HEPES buffered glucose (HBG) solution which were adjusted at a pH of 7.4. Water was deionized and MilliQ® filtered. For the synthesis of gold nanoparticles, chloroauric (III) acid trihydrate

from Sigma and sodium citrate from Merck were used.

2.2. Methods

Ethylcellulose nanoparticles were prepared by a low-energy emulsification and solvent evaporation method [2]. Gold nanoparticles (AuNP) were prepared by the Turkevich and Frens method [3]. Folate-nanoparticle complexes and AuNP-ethylcellulose hybrid nanomaterials were prepared by self-assembly of the preformed positively charged ethylcellulose nanoparticles with the negatively charged preformed AuNP or folate solution by mixing stock solutions at different ratios. The nanomaterials obtained were characterized by dynamic light scattering (DLS), zeta potential measurements, transmission electron microscopy and UV-vis spectroscopy. Haemocompatibility was assessed spectrophotometrically as described elsewhere [2].

3. Results and Discussion

O/W nano-emulsions have been obtained in aqueous solution / [CatA: nonionic surfactant] / ethylcellulose solution systems at room temperature by the phase inversion composition method. The nonionic surfactant used was either CEL or S80, while the aqueous component either phosphate buffered saline (PBS) or HEPES solution. Nano-emulsions with an oil-to-surfactant ratio of 70/30 and 95 % aqueous component were selected as templates for nanoparticle preparation by solvent evaporation. The nano-emulsions showed droplet sizes typically below 200 nm as determined by DLS. The ethylcellulose nanoparticles were obtained from the nano-emulsions by solvent evaporation under reduced pressure. The nanoparticles showed sizes smaller than those of the template nano-emulsion. Due to the presence of the cationic surfactant, the ethylcellulose nanoparticles showed a positive surface charge. As a proof of concept, the positively charged ethylcellulose nanoparticles were complexed

with citrate-coated spherical gold nanoparticles (size around 30 nm and zeta potential of -22 mV). The hybrid nanomaterial showed a size of about 190 nm and a transverse plasmon band at about 598 nm. On the other hand, the formation of stable folate-ethylcellulose complexes was also investigated as a putative targeted platform towards circulating tumour cells. Stable complexes were formed as evidenced by both, particle size and zeta potential measurements. The folate-ethylcellulose complexes prepared showed excellent haemocompatibility suggesting that they may be suitable for being used in blood liquid biopsy procedures.

4. Conclusions

Positively charged ethylcellulose nanoparticles have been obtained by a low-energy emulsification and solvent evaporation method. These nanoparticles were successfully assembled with gold nanoparticles to form hybrid nanomaterials with promising optical properties for detection purposes in diagnostic tests. Further, ethylcellulose nanoparticles were also successfully complexed with folate, showing an excellent haemocompatibility. These preliminary results encourage the investigation of these complexes for use in liquid biopsy tests involving blood.

Acknowledgements

Characterization of nanomaterials has been performed at the Nanostructured Liquid Characterization Unit (NANBIOSIS ICTS, CIBER-BBN). Financial support from the Spanish Ministry of Science, Innovation and Universities, Agencia Estatal de Investigación (AEI), the European Regional Development Fund (Fondo Europeo de Desarrollo Regional, FEDER), and Generalitat de Catalunya is acknowledged. G.C. is currently a Serra Húnter Fellow. P. M.-L. is a Ramon y Cajal fellow (RYC2018-023971-I). The authors also acknowledge the "Grupo de Nanotecnología Farmacéutica" of the University of Barcelona, in the Faculty of Pharmacy and Food Sciences, which forms an R&D associated Unit to CSIC.

References

1. Li H, Li B, Pan Y, Zhang Y, Xiang J, Zhang Y, Sun Y, Yu X, He W, Hu H. Preoperative Folate Receptor-Positive Circulating Tumor Cell Level Is a Prognostic Factor of Long Term Outcome in Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Front Oncol.* 2021; 10:621435.
2. Leitner S, Solans C, García-Celma M.J, Morral-Ruíz G, Melgar-Lesmes P, Calderó G. Ethylcellulose

Calderó G, Rodríguez Abreu C, Rosales E, Morral Ruíz G, Melgar Lesmes P, Leitner S, Solans C, García Celma MJ - Development of nanoparticle...

nanoparticles prepared from nano-emulsion templates as new folate binding haemocompatible platforms. *Materials Science & Engineering C*. 2021; 120: 111682.

3. Turkevich J, Stevenson PC, Hillier J. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Faraday Society*. 1951;11:55.

Este trabajo debe ser citado como:

Calderó G, Rodríguez Abreu C, Rosales E, Morral Ruíz G, Melgar Lesmes P, Leitner S, Solans C, García Celma MJ. Development of nanoparticle complexes as liquid biopsy candidates for circulating tumor cell detection. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):127-9.

Pruebas de disolución in vitro biopredictivas del comportamiento in vivo para ibuprofeno

Cámara Martínez Irene ^{*1}, Blechar Johannes A², Ruíz Picazo Alejandro¹, García Arieta Alfredo³, Calandria Carlos⁴, Langguth Peter², González Álvarez Marta¹, Bermejo Marival¹, Al-Gousous Jozef², González Álvarez Isabel¹

¹ Departamento de Ingeniería y tecnología farmacéutica, Universidad Miguel Hernández.

² Instituto de Farmacia y ciencias biomédicas, Universidad Johannes Gutenberg.

³ Servicio de Farmacocinética y medicamentos genéricos. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.

⁴ Farmalider, S.A.

*Correspondencia: irene.camara@goumh.umh.es

1. Introducción

Un estudio de bioequivalencia que comparó dos comprimidos combinados de dosis fija que contenían 200 mg de ibuprofeno y 30 mg de clorhidrato de pseudoefedrina mostró bioequivalencia para el AUC y la CMAX de la pseudoefedrina, pero el producto de referencia mostró una CMAX mayor que el producto de prueba en condiciones de ayuno.

El objetivo de este trabajo fue explorar las razones de las diferencias en los niveles plasmáticos de ibuprofeno utilizando un modelo físico-químico mecanicista para predecir el pH microclimático (en la capa superficial del comprimido) y la solubilidad del ibuprofeno que podría explicar las diferencias in vivo en la tasa de absorción y encontrar un medio de disolución biopredictivo.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

El producto de referencia (Nurofen® Cold&Flu de Reckitt Benckiser Healthcare (UK) Ltd.) y el producto de prueba fueron provistos por Farmalider.

2.2. Ensayo de disolución

Los comprimidos de prueba y de referencia se probaron en un aparato de disolución USP II (como la figura 1) en un volumen de medio de

500 ml a 50 rpm y $37 \pm 0,5$ °C. Además del medio de fosfato USP 50 mM pH 6,8, los comprimidos se ensayaron en medio de fosfato 5 mM pH 6,8 y medio de maleato 7 mM pH 6,8, cuya composición se muestra en la tabla 1. El pH se midió y corrigió (con NaOH o HCl diluido) durante los experimentos [1].

Tab. 1. Tabla descriptiva de las concentraciones (mM) de los medios de disolución.

	Medio de fosfato 50 mM	Medio de fosfato 5 mM	Medio de maleato 7 mM
NaOH	12	1,2	12,3
NaCl	45,5	101,3	97,7
NaH ₂ PO ₄ x H ₂ O	50	5	-
Maleato	-	-	7



Fig. 1. Aparato de disolución USP tipo II utilizado en el ensayo.

Los perfiles de disolución de la formulación de prueba y de referencia en cada condición se compararon con el factor de similitud f_2 calculado con las muestras hasta que el perfil más rápido alcanza el 85 % de disolución [2].

3. Resultados y Discusión

Entre todos los medios probados, la liberación de pseudoefedrina fue similar entre los dos productos (valor $f_2 > 50$), lo cual está en línea con los hallazgos del estudio de bioequivalencia donde la pseudoefedrina fue bioequivalente en ambos productos.

En el medio de fosfato 50 mM no se pudieron observar diferencias en la liberación de ibuprofeno (valor $f_2 > 50$, como se puede observar en la figura 2 y en la tabla 2).

En los medios fosfato 5 mM y maleato 7 mM se detectó una diferencia entre la liberación de ibuprofeno de ambos productos (valor $f_2 < 50$, como se puede ver en la figura 2 y en la tabla 2).

Tab. 2. Valores de f_2 para los perfiles de ibuprofeno en cada medio de disolución.

	Medio fosfato 50 mM	Medio fosfato 5 mM	Medio maleato 7 mM
f_2	56,14	34,08	31,25

Con la molaridad de tampón más baja, se puede detectar la diferencia en la liberación de

fármaco debido al excipiente fosfato tricálcico [3]. El efecto de elevación del pH microclimático del fosfato tricálcico parece ser la causa de la suprabiodisponibilidad observada de ibuprofeno en el producto de referencia. Este pH microclimático más alto da como resultado una mayor solubilidad efectiva del ibuprofeno y, en consecuencia, una disolución más rápida y, por extensión, una absorción más rápida.

4. Conclusiones

La reducción de las molaridades de tampón de los medios de disolución para igualar las capacidades de tampón fisiológicas es una herramienta relativamente simple para aumentar el poder discriminatorio de los métodos de disolución para productos farmacéuticos que contienen fármacos ionizables poco solubles.

Agradecimientos

Este trabajo fue apoyado, en parte, por el proyecto: "Modelos in vitro de evaluación biofarmacéutica" [SAF2016-78756 (AEI / FEDER, EU)] financiado por Agencia Estatal de Investigación y la Unión Europea, a través de FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional).

Agradecemos a Becas Santander, S.A. por apoyar a J.A.B con una beca ("Santander Scholarships Studien | Santander ShortStay Stipendien Outgoing JGU").

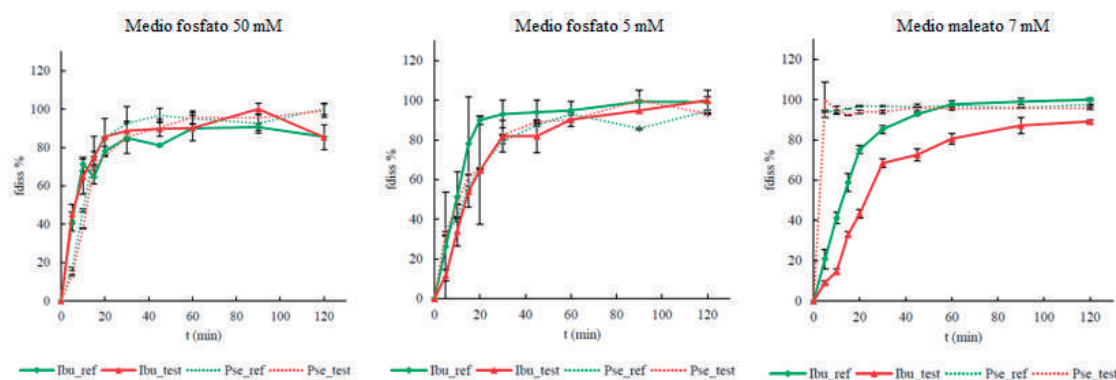


Fig. 2. Perfiles de disolución media in vitro de ibuprofeno (Ibu) y pseudoefedrina (Pse) en el producto de referencia y de prueba en diferentes medios de disolución.

Referencias bibliográficas

1. Cristofolletti R, Dressman JB. Dissolution Methods to Increasing Discriminatory Power of In Vitro Dissolution Testing for Ibuprofen Free Acid and Its Salts. *J Pharm Sci.* 2017;106.
2. European Medicines Agency. ICH guideline M9 on biopharmaceutics classification system based biowaivers. Ema. 2018;

Cámara Martínez I, Blechar JA, Ruíz Picazo A, García Arieta, A, Calandria C, Langguth P, González Álvarez M, Bermejo M, Al-Gousous J, González Álvarez I - Pruebas de disolución...

3. Silva DA, Al-Gousous J, Davies NM, Chacra NB, Webster GK, Lipka E, Amidon GL, Löbenberg R. Biphasic Dissolution as an Exploratory Method During Early Drug Product Development. *Pharmaceutics*. 2020;12(5):420.

Este trabajo debe ser citado como:

Cámara Martínez I, Blechar JA, Ruíz Picazo A, García Arieta, A, Calandria C, Langguth P, González Álvarez M, Bermejo M, Al-Gousous J, González Álvarez I. Pruebas de disolución in vitro biopredictivas del comportamiento in vivo para ibuprofeno. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):130-2.

Solubilidad del carvedilol en medios acidificados para uso en formulaciones líquidas para pediatría

Chiclana Rodríguez Blanca ^{*1}, Rouaz Khadija¹, Nardi Ricart Anna¹, Suñé Pou Marc^{1,2}, Mercadé Frutos Dèbora¹, Suñé Negre Josep María^{1,2}, García Montoya Encarna^{1,2}, Pérez Lozano Pilar^{1,2}

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Av. Joan XXIII, 27-31, 08028 Barcelona, Spain.

² Pharmacotherapy, Pharmacogenetics and Pharmaceutical Technology Research Group Bellvitge Biomedical Research Institute (IDIBELL), Av. Gran via de l'Hospitalet, 199-203, 08090 L'Hospitalet de Llobregat, Spain.

*Correspondencia: blachirod@gmail.com

1. Introducción

El carvedilol (CARV), 1-[carbazole-(4)-oxy]-3-[(2-methoxy-phenoxyethyl)-amino]-2-propanol, es un fármaco que posee acción vasodilatadora y es usado clínicamente para tratar enfermedades cardiovasculares como fallo cardíaco o hipertensión. Actúa como antagonista de los receptores beta-adrenérgicos de forma no selectiva [1]. Aunque el CARV ha sido probado solo en adultos, varios estudios han demostrado su eficacia en niños con fallo cardíaco [2]. La única formulación oral disponible comercializada de CARV se presenta en una forma farmacéutica sólida, como comprimido. La disponibilidad de las formulaciones líquidas es esencial para la farmacoterapia pediátrica, ya que niños menores de 7 años generalmente no son capaces de digerir formas farmacéuticas sólidas.

El CARV es un fármaco de clase II, que según el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, se absorbe bien después de su administración oral, pero es casi insoluble en agua. Esto hace difícil formular una solución líquida oral. El CARV posee una solubilidad pH dependiente, contiene una amina alfa-hidroxilo secundaria, con un pKa de 7.8, lo que predice su baja solubilidad en medios neutros o alcalinos. Sin embargo, su solubilidad aumenta con menor pH y alcanza una meseta cerca de pH 5 [1].

El objetivo de este estudio es evaluar la

solubilidad del CARV a 1 mg mL⁻¹ en medios con distinto pH. De las formulaciones en las que se consiga solubilizar el CARV, se evaluará su estabilidad a temperatura y humedad ambientales, con protección de la luz.

2. Materiales y métodos

El CARV fue adquirido en Moehs Ibérica (España).

2.1. Preparación de los medios

Para el estudio de solubilidad, los medios se prepararon según el apartado 5.17.1. Recommendations on dissolution testing de la Farmacopea Europea 10.0.

Para el estudio de estabilidad, se fabricaron las siguientes referencias: A, B y C. Estas se prepararon disolviendo 4.95 g de acetato de sodio tri-hidrato en 1000 mL de agua desionizada, y agregando el volumen de ácido acético necesario para llegar a un pH determinado.

2.2. Estudio de solubilidad

La solubilidad del CARV en los diferentes medios se determinó usando el método de saturación. Para ello, un exceso de CARV en estado sólido se añadió a un vaso de precipitado, el cual contiene el medio en estudio, hasta la saturación del sistema. La mezcla se homogenizó

con un agitador magnético y se dejó en agitación y a temperatura de 37 °C durante 24 h. Después, la muestra se filtró a través de un filtro PVDF de membrana de 0.45 µm. Una alícuota de este filtrado se traspasó a un vial de 2 mL de HPLC para ser analizado.

2.3. Estudio de estabilidad

Para el estudio de estabilidad se han estudiado tres formulaciones: Ref. A, Ref. B y Ref. C. En estas formulaciones, el CARV a una concentración de 1 mg mL⁻¹ se encuentra disuelto en medios con distinto pH, y son medios tamponados acético/acetato: Ref. A (pH 3.5), Ref. B (pH 4) y Ref. C (pH 4.5). Las formulaciones se acondicionaron en viales de vidrio de 10 mL y se almacenaron a temperatura y humedad ambiental, protegidas de la luz, durante 12 semanas. Se tomaron muestras a diferentes tiempos (1, 2, 3, 4, 8 y 12 semanas) y posteriormente se cuantificaron siguiendo el método HPLC descrito en esta sección.

Los parámetros estudiados fueron: aspecto, pH y recuperación de CARV (%). Las especificaciones son las siguientes:

- Aspecto: solución transparente, translúcida, sin partículas no disueltas.
- pH: no más de 0.2 de variación con respecto al pH inicial.
- Recuperación de CARV (%): 95-105 %.

2.4. Determinación de CARV por HPLC

La separación cromatográfica por HPLC del CARV se llevó a cabo usando una columna Zorbax XDB Eclipse C8 de 150 mm x 46 mm i.d, 5 µm, de acero inoxidable. Las condiciones cromatográficas fueron las siguientes:

- Fase móvil: acetonitrilo (calidad HPLC)/ solución tampón (pH 2, ácido fosfórico), 35/65 respectivamente. Flujo 1 mL min⁻¹.
- Longitud de onda del detector: 240 nm.
- Volumen de inyección de la muestra: 5 µL.
- Temperatura de columna: 40 °C.

3. Resultados y Discusión

3.1. Estudio de solubilidad

Los resultados de solubilidad del CARV a 1 mg mL⁻¹ en diferentes medios se encuentran en la Tabla 1. De entre los medios estudiados, se escogen los medios a pH 3.5, 4.0 y 4.5 por resultados a las 24 h conformes de aspecto y % recuperación del CARV para iniciar un estudio de estabilidad a 12 semanas.

3.2. Estudio de estabilidad

Las ref. A, B y C muestran resultados conforme de aspecto y pH después de 12 semanas en la condición estudiada. Los resultados de recuperación del CARV se exponen en la Tabla 2.

	Aspecto (inicio)	Aspecto (24h)	% Recup. CARV (24h)
pH 1.2	Soluble	Precipitación	3
pH 3.5	Soluble	Conforme	100
pH 4.0	Soluble	Conforme	100
pH 4.5	Soluble	Conforme	100
pH 5.0	No soluble	-	-
pH 5.5	No soluble	-	-
pH 6.8	No soluble	-	-

Tabla 1: Resultados de solubilidad del CARV (1 mg mL⁻¹) en medios con distinto pH

	1w	2w	3w	4w	8w	12w
Ref. A (pH 3.5)	100	100	99.5	98.4	98.2	97.5
Ref. B (pH 4.0)	100	100	100	100	100	99.5
Ref. C (pH 4.5)	100	100	100	100	100	100

Tabla 2: Resultados de recuperación de CARV (%) en el estudio de estabilidad durante 12 semanas

4. Conclusiones

El CARV a una concentración de 1 mg mL⁻¹, no es soluble en medios con pH superior a 4.5. En medios ácidos, a pH 1.2 el CARV se solubiliza pero acaba precipitando a las 24 h, por lo que no es estable. En medios con pH 3.5, 4.0 y 4.5, el CARV a la concentración estudiada muestra resultados conformes de aspecto y recuperación de CARV, por lo que se puede confirmar que es soluble en estos medios e incluso es estable durante 12 semanas en la condición estudiada.

Formulaciones de CARV (1 mg mL⁻¹) disueltas en medios a pH 3.5, 4.0 o 4.5 son prometedoras para una nueva formulación líquida oral, especialmente interesante para su uso en pediatría.

Referencias bibliográficas

1. Beattie K, Phadke G and Novakovic J. Carvedilol. Profiles Drug Subst Excip Relat Methodol. 2013;38:57-113.
2. Buontempo F, Bernabeu E, Glisoni R and Quiroga E. Carvedilol stability in paediatric oral liquid formulations. Farm Hosp. 2010;34(6):293-7.

Este trabajo debe ser citado como:

Chiclana Rodríguez B, Rouaz K, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre JM, García Montoya E, Pérez Lozano P. Solubilidad del carvedilol en medios acidificados para uso en formulaciones líquidas para pediatría. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):133-5.

Scaffolds 3D con perfiles de cesión modulables de carvacrol

Concheiro Ángel ^{*1}, Farto Vaamonde Xián¹, Álvarez Lorenzo Carmen¹

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645), Facultad de Farmacia e Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS) (IDIS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain.

*Correspondencia: angel.concheiro@usc.es

1. Introducción

Uno de los principales riesgos de fracaso de los scaffolds utilizados en medicina regenerativa es la colonización por bacterias. En el momento de la implantación el scaffold se puede contaminar al entrar en contacto con la piel del paciente o puede atraer microorganismos desde focos de infección activos en el paciente aunque cursen en tejidos relativamente alejados. La incorporación de antibióticos como medida profiláctica no resulta aconsejable al poder desencadenar mecanismos de multiresistencia. Esto hace que el uso de antisépticos y sustancias que interfieran en la formación de biofilm esté cobrando un interés creciente [1].

El carvacrol (2-metil-5-(1-metiletil) fenol) es un fenol monoterpenoide natural que se encuentra en los aceites esenciales de especies de orégano, entre otras plantas. Se utiliza como conservante de alimentos, aprobado por la FDA y el Consejo de Europa, dada su capacidad para inhibir el crecimiento de bacterias Gram-positivas y Gram-negativas [2].

El objetivo del presente trabajo fue evaluar la posibilidad de incorporar carvacrol en scaffolds de ácido poliláctico (PLA) preparados por impresión 3D y de regular su perfil de cesión. Para ello, se ensayaron dos modos de incorporación de carvacrol: (i) en el filamento antes de la impresión; y (ii) en el scaffold tras la impresión. Se evaluó el efecto de la incorporación de carvacrol en la fidelidad de impresión, en el grado de cristalinidad del PLA y en la velocidad de cesión en medio biorrelevante.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Filamento de PLA (181 kDa; 1.75 mm diámetro) de Createc3D (Granada, España), carvacrol (Sigma-Aldrich; St. Louis MO, USA).

2.2. Impresión 3D

Se prepararon scaffolds mediante extrusión de filamento fundido utilizando una impresora Regemat3D (Granada, España) y el siguiente diseño: diámetro 10 mm, altura 5 mm, tamaño de poro 0.6 mm, altura de capa 0.35 mm, total de capas 14, y perímetro 1. La temperatura de extrusión fue 220 °C, la velocidad de impresión 1.20 mm/s y el diámetro de boquilla 0.40 mm.

2.3. Incorporación de carvacrol

Porciones de filamento de PLA (12 cm) o de scaffolds se sumergieron en disoluciones de carvacrol al 5 ó 10 % en mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v. Se mantuvieron bajo agitación oscilatoria a 37 °C durante 72 h. A continuación, los filamentos y los scaffolds se llevaron a una estufa a 50 °C durante 24 h. El contenido en carvacrol se cuantificó mediante extracción en mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v a 37 °C durante dos semanas, y medida de absorbancia a 273 nm (Agilent 8453, Alemania).

2.4. Caracterización de los scaffolds

Se registraron los pesos y las dimensiones de los scaffolds y se tomaron fotos de microscopía electrónica de barrido (FESEM Ultra Plus, Zeiss, Alemania). Las propiedades mecánicas se

evaluaron en ciclos de compresión hasta 20 Kg (TA.XT Plus Texture Analyzer, Surrey, UK). Se registraron los perfiles de cesión de carvacrol en etanol:agua 50:50 v/v (5 mL, 37 °C) bajo agitación, y la cantidad de carvacrol cedido se cuantificó a partir de medidas de absorbancia a 273 nm.

3. Resultados y Discusión

3.1. Incorporación de carvacrol

La mezcla metanol:acetato de etilo 50:50 v/v resultó útil para disolver el carvacrol y para provocar el hinchamiento reversible de los filamentos y scaffolds de PLA [3]. De esta manera se pudo incorporar carvacrol tanto en los filamentos antes de imprimir (F.PLA-CAR) como después de obtener los scaffolds (PLA-CAR). Las cantidades cargadas más altas se obtuvieron por inmersión de los scaffolds preformados (Tabla 1), lo que se puede atribuir a la mayor superficie expuesta, en comparación con los filamentos [3].

Tabla 1. Carvacrol incorporado en los scaffolds preparados utilizando filamentos de PLA precargados (F.PLA-CAR 10 %) y en los scaffolds que fueron cargados por inmersión en disoluciones de carvacrol al 5 ó al 10 %.

Scaffold	Carvacrol incorporado (mg/g)
F.PLA-CAR 10 %	25.09 ± 0.10
PLA-CAR 5 %	30.00 ± 3.03
PLA-CAR 10 %	45.18 ± 3.88

3.2. Caracterización de los scaffolds

La incorporación de carvacrol en los filamentos no alteró el patrón de impresión y, en todos los casos se obtuvieron scaffolds de dimensiones similares. Las propiedades mecánicas tampoco resultaron afectadas por la incorporación de carvacrol y sólo se observó un ligero aumento del módulo de Young de los scaffolds conteniendo carvacrol en el primer ciclo de compresión con

respecto a los scaffolds no cargados.

Los scaffolds mostraron perfiles de cesión muy diferentes (Fig. 1). Los scaffolds obtenidos por impresión de filamentos precargados sostuvieron la cesión durante 3 meses, mientras que la cesión a partir de los scaffolds cargados después de la impresión fue más rápida y se completó en una semana.

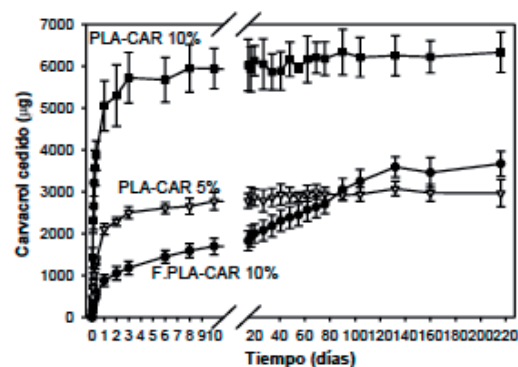


Fig. 1. Perfiles de cesión de carvacrol en medio etanol:agua 50:50 v/v a 37 °C.

4. Conclusiones

El modo de incorporación de carvacrol en los scaffolds permite modular el perfil de cesión, lo que puede resultar útil para abordar distintos objetivos terapéuticos. Incorporando cantidades similares de carvacrol, los scaffolds preparados a partir de filamentos precargados prolongan la cesión al quedar el carvacrol encapsulado en el PLA durante la impresión. En cambio, los scaffolds cargados post-impresión incorporan el carvacrol en la superficie lo que permite conseguir cesiones más rápidas.

Agradecimientos

MINECO [PID2020-113881RB-I00], AEI, Xunta de Galicia [ED431C 2020/17], FEDER. Xián Farto-Vaamonde agradece un contrato predoctoral de la Xunta de Galicia [ED481A-2018/073].

References

- Sadowska JM, Genoud KJ, Kelly DJ, O'Brien FJ. Bone biomaterials for overcoming antimicrobial resistance: Advances in non-antibiotic antimicrobial approaches for regeneration of infected osseous tissue. *Materials*. 2021;46:136-54.
- Ahmad A, Elisha IL, van Vuuren S, Viljoen A. Volatile phenolics: A comprehensive review of the anti-infective properties of an important class of essential oil constituents. *Phytochem*. 2021;190:112864.

3. Farto-Vaamonde X, Auriemma G, Aquino RP, Concheiro A, Álvarez-Lorenzo C. Post-manufacture loading of filaments and 3D printed PLA scaffolds with prednisolone and dexamethasone for tissue regeneration applications. *Eur J Pharm Biopharm.* 2019;141:100-10.

Este trabajo debe ser citado como:

Concheiro A, Farto Vaamonde X, Álvarez Lorenzo C. Scaffolds 3D con perfiles de cesión modulables de carvacrol. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):136-8.

Evaluación de la SELfd en la vectorización de sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales

García Recio Verónica¹, Córdoba Díaz Manuel¹, Garrosa García Manuel², Rojo Rodríguez María Ángeles³, Jiménez López Pilar⁴, Girbés Juan Tomás⁴, Córdoba Díaz Damián*¹

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria e Instituto Universitario de Farmacia Industrial, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid.

² Departamento de Histología e INCYL, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid.

³ Departamento de Ciencias Experimentales, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Europea Miguel de Cervantes.

⁴ Departamento de Nutrición y Bromatología, Facultad de Medicina, Universidad de Valladolid.

*Correspondencia: damianco@ucm.es

1. Introducción

Las lectinas son proteínas fijadoras de glicosaminoglicanos (CBPs) capaces de reconocer carbohidratos de manera altamente específica, reversible y sin modificar su estructura, a través de los dominios de reconocimiento de carbohidratos. En el ámbito de la Farmacia Galénica estas proteínas se están empleando entre otros usos, para dirigir de manera altamente específica, fármacos o sistemas micro o nanoparticulares a la superficie glicosilada de ciertos tejidos (reverse lectin targeting) [1].

La SELfd es una lectina dimérica aislada de frutos de *Sambucus ebulus* L. con una gran afinidad por restos L-fucosa, D-(+)-galactosa, N-acetil-D-glucosamina, y N-acetil-D-galactosamina. Estos carbohidratos se encuentran sobreexpresados en los bordes apicales de las membranas glicoproteicas de las células M de las placas de Peyer, ciertos tumores o en tejido intestinal inflamado. El objetivo del presente estudio consiste en evaluar la especificidad de dicha proteína por tejido inflamado en un modelo reversible de daño-regeneración intestinal para determinar si dicha proteína podría emplearse en sistemas de vectorización en patologías tipo Crohn.

2. Materiales y métodos

2.1. SELfd: aislamiento y caracterización

El extracto crudo obtenido a partir de frutos verdes de *S. ebulus* L. fue sometido a una cromatografía líquida de afinidad y posterior cromatografía líquida de exclusión molecular (SEC) [2]. Posteriormente se evaluaron los siguientes parámetros: pureza (SDS-PAGE), riqueza (Kalb & Bernlohr) y viabilidad (hemoaglutinación).

2.2. Microscopía confocal de fluorescencia

Una vez marcada la SELfd con Cy3 maleimida, se incubó una solución al 1 % en tejido intestinal de ratón sano (grupo control) o procedente de animales en los que previamente se les había inducido un modelo de pseudo-Crohn reversible mediado por ebulina-f [2] y se trató con una solución de DAPI en PBS (0, 2mg/mL).

3. Resultados y Discusión

La SELfd ha sido obtenido con una adecuada pureza y manteniendo su viabilidad (Fig.1).

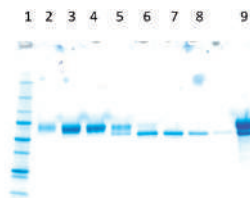


Fig. 1. Pureza de uno de los aislamientos realizados. Calle 1, marcadores; calles 2-4, fracciones seleccionadas primer pico SEC; calle 5, fracción intermedia entre picos SEC; calles 6- 8, fracciones seleccionadas segundo pico SEC; calle 9, concentrado antes de elución.

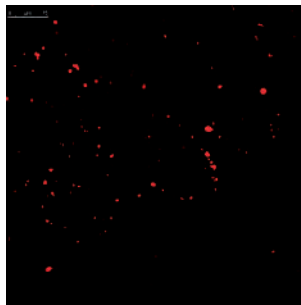


Fig 2. Aspecto de la unión de la SELfd sobre la superficie del epitelio intestinal en ratones control (escala lateral superior, 75µm).

A la vista de las microfotografías obtenidas en el grupo control (Fig. 2), parece que la SELfd se une de manera inespecífica sobre los enterocitos dispuestos en toda la superficie del epitelio intestinal, aunque no puede descartarse la unión específica probablemente a células caliciformes.

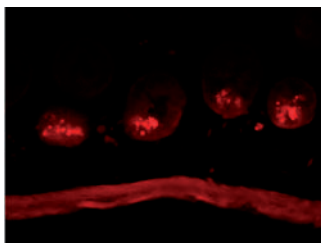


Fig. 3. Detalle de la unión de la SELfd a las criptas intestinales en donde se muestra una gran afinidad de la lectina por células de Paneth.

Referencias bibliográficas

1. Bawa RA, Rubinstein I. Reverse Lectin Targeting. En: Bawa RA, Rubinstein I. Eds. Handbook of Clinical Nanomedicine: Nanoparticles, Imaging, Therapy, and Clinical Applications. New York, EEUU: Taylor and Francis Group; 2016. p. 1548-61.
2. Jiménez P, Gayoso M, Tejero J, Cabrero P, Córdoba-Díaz D, Basterrechea JE, Girbés T. Toxicity in mice of lectin ebulin f present in dwarf Elderberry (*Sambucus ebulus* L.). *Toxicol*, 2013;61:26-9.
3. Garrosa M, Jiménez P, Córdoba-Díaz D, García-Recio V, Gayoso S, Rojo MA, Gayoso MJ, Girbés T. In vivo

Este trabajo debe ser citado como:

García Recio V, Córdoba Díaz M, Garrosa García M, Rojo Rodríguez MA, Jiménez López P, Girbés JT, Córdoba Díaz D. Evaluación de la SELfd en la vectorización de sistemas para el tratamiento de enfermedades inflamatorias intestinales. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):139-40.

Una observación directa sobre las criptas intestinales (Fig. 3), muestra un acúmulo de lectina de manera muy específica sobre las células madre secundarias, células del segmento TAC y células de Paneth.

Las lectinas han sido ampliamente utilizadas en estudios histoquímicos como sondas para localizar un tipo de célula en particular y para evaluar el estado celular, como la diferenciación, la activación o la progresión de una enfermedad. En este sentido, evaluando los resultados obtenidos en su conjunto, se puede afirmar que la SELfd presenta afinidad por los restos glucídicos presentes en la superficie de células intestinales secretoras. Dichos resultados son concordantes con resultados previos de nuestro equipo de investigación obtenidos con diversas quimerolectinas tóxicas aisladas tanto de *S. ebulus* L. como de *S. nigra* L. [3].

4. Conclusión

La SELfd, una lectina dimérica B-B' carente de actividad enzimática, podría ser empleada en el diseño de sistemas de vectorización activa de sistemas particulares hacia tejidos que sobreexpresen ligandos glucídicos con restos galactosa en superficie, como los hepatocitos, células M del GALT o tejido inflamado en patologías intestinales, lo que aumentaría la bioadhesividad de la formulación y el tiempo de residencia en el tejido afectado y no en tejido sano, lo que permitiría disminuir la dosis de fármaco administrado y por tanto los efectos secundarios debido a fármaco que no alcanza biofase.

Agradecimientos

Grupo de Excelencia GR106 y Convenio- Consejería de Sanidad) UVA-GIR J.E. Basterrechea por su asistencia técnica.

Geles para administración tópica de meloxicam: velocidad de disolución a pH=5,8

Dahma Zaid ^{*1}, Bozzia Diletta¹, de la Torre Iglesias Paloma M^{1,2}, Álvarez Álvarez Covadonga^{1,2}

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid.

² Instituto de Farmacia Industrial, Universidad Complutense de Madrid, 28040 Madrid, España.

*Correspondencia: zdahma@ucm.es

1. Introducción

El meloxicam 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 de este trabajo es aumentar la solubilidad del meloxicam con el fin de aumentar su biodisponibilidad tópica.

2. Materiales y métodos

Se preparan diferentes formulaciones utilizando dispersiones sólidas (en adelante DS) de meloxicam:L-HPC (1:0; 1:1; 1:2,5; 1:5; 1:10) utilizando L-HPC como vehículo, y se formularon en una base de gel formado por hidroxipropil goma guar (en adelante JHP8). Posteriormente, se realizan estudios de velocidad de disolución a pH=5,8 (condiciones de saturación), para comparar el perfil de disolución con la geles de materia prima a este mismo pH y elegir las formulaciones con mejores velocidades de disolución.

2.1. Preparación de las dispersiones sólidas

Se preparan diferentes DS con diferentes proporciones de meloxicam: LHPC (1:0; 1:1; 1:2,5; 1:5; 1:10) [4].

Para ello, primero se disuelven 20 mg de meloxicam en 20 mL de tampón a pH=5,8 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. Preparación de los geles

Primero, la cantidad correspondiente de la formulación a 65 mg de meloxicam se pulverizó en el mortero. Luego, en un vaso de precipitados, colocado en un agitador magnético, se agregaron 5 ml de tampón pH 6.0 y luego, se agregaron 65 mg de meloxicam poco a poco para formar una suspensión. Finalmente, y siempre bajo agitación, se añadió la cantidad adecuada de polímero JHP8 para formar un gel al 1,75 %.

2.3. Ensayos de velocidad de disolución

Para estudiar los perfiles de disolución de los geles de las distintas DS se realizan varios estudios de velocidad de disolución a pH=5,8 (condiciones de saturación).

El equivalente de 10 mg de meloxicam de gel se pone en un disco, en contacto con 300 mL de tampón a pH=5,8 en el Aparato 2 (paletas) a 50 rpm. Se realiza toma de muestras a diferentes

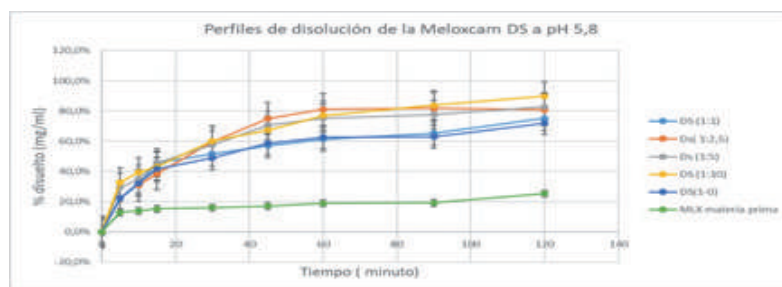


Fig. 1. Perfiles de disolución de los geles de meloxicam a pH=5,8

tiempos, filtrando a través de una membrana de 0,45 μm (Millipore®), y se mide la absorbancia a una longitud de onda de 364 nm.

3. Resultados y Discusión

La figura 1 muestra las principales diferencias entre los perfiles de disolución del gel de meloxicam materia prima (MP) y las diferentes DS a pH=5,8.

Como se observa en la figura 1 los geles realizados con las dispersiones sólidas de meloxicam presentan más de un 38 % de principio activo disuelto a los 5 minutos. Sin embargo, meloxicam materia prima tan sólo presenta disuelto un 14,97 % 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 meloxicam, 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 meloxicam materia prima. Por otra parte, al incrementar la cantidad de L-HPC se incrementa la velocidad de disolución del fármaco. No obstante, no se observan diferencias entre los perfiles de disolución de los geles con DS 1:2,5 y 1:5.

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 gel con las mejores características de liberación in vitro y se realizarán ensayos in vivo para estudiar su efectividad.

Agradecimientos

Nuestro agradecimiento a los Laboratorios Normon por cedernos meloxicam materia prima.

Referencias bibliográficas

1. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. MSC Madrid. 2006. Inacid®. www.aemps.gob.es/cima/
2. MB Delgado Charro, FJ Otero Espinar, J Blanco Méndez, "Tecnología Farmacéutica". (1999).
3. A Muñoz-Ruiz, MV Velasco-Antequera, MC Monedero-Perales, MR 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. 2009;7:217-25.
5. JJ García-Rodríguez, PM de la Torre-Iglesias, MC Vegas-Sánchez, S Torrado-Durán, F Bolás-Fernández, S Torrado-Santiago. Changed crystallinity of mebendazole solid dispersion: Improved anthelmintic activity. Int J Pharm. 2011;403:23-8.
6. de la Torre-Iglesias PM, García-Rodríguez JJ, Torrado G, Torrado S, Torrado-Santiago S, Bolás-Fernández F. Enhanced bioavailability and anthelmintic efficacy of mebendazole in redispersible microparticles with low-substituted hydroxypropylcellulose. Drug Des Devel Ther. 2014;8:1467-79.

Este trabajo debe ser citado como:

Dahma Z, Bozzia D, De La Torre Iglesias PM, Álvarez Álvarez C. Geles para administración tópica de meloxicam: velocidad de disolución a pH=5,8. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):141-2.

Ciclodextrinas oftálmicas: Estudios de irritación y permanencia en la superficie ocular mediante Tomografía por Emisión de Positrones

Díaz Tomé Victoria ^{*1,2}, García Otero Xurxo^{1,2}, Fernández Ferreiro Anxo^{1,2}, Otero Espinar Francisco J¹

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Santiago de Compostela.

² Grupo de Farmacología Clínica. Fundación Instituto De Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (FIDIS).

*Correspondencia: victoriadiatzome@gmail.com

1. Introducción

Se ha estudiado ampliamente el uso de ciclodextrinas en formulaciones oftálmicas ya que mejoran la solubilidad de fármacos poco solubles en agua mediante la formación de complejos de inclusión que incrementan su biodisponibilidad y su estabilidad. Existen estudios que han descrito levemente los niveles de seguridad de algunas ciclodextrinas a nivel oftálmico [1], pero no se ha realizado un estudio toxicológico lo suficientemente amplio. En el presente estudio, se compararon las alteraciones corneales producidas por la aplicación de soluciones oftálmicas de diferentes ciclodextrinas. Además, como ya se ha descrito anteriormente, las ciclodextrinas presentan cierta capacidad mucoadhesiva [2] por lo que en este estudio se ha comparado la capacidad corneal mucoadhesiva de las soluciones de ciclodextrinas mediante ensayos ex-vivo así como su permanencia sobre la superficie corneal mediante Tomografía por Emisión de Positrones (PET).

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

α CD (Cavamax[®] W6 PHARMA, MW 972.84 Da), β CD (Cavamax[®] W7 PHARMA, MW 1135 Da), γ CD (Cavamax[®] W8 PHARMA, MW 1297 Da) y HP γ CD (Cavasol[®] W8 HP PHARMA, sustitución molar 0.5-0.7, MW 1540 Da) fueron obtenidas

de Waker Chemie AG[®] (München, Alemania); HP α CD (sustitución molar 0.6, MW 1180 Da) fueron adquiridas de Aldrich[®] (Darmstadt, Alemania); HP β CD (Kleptose[®] sustitución molar 0.65, MW 1580 Da) y β CD parcialmente metilada (Crysmeb[®], sustitución molar 0.67, MW 1191) fueron conseguidas en Roquette[®] Laisa S.A. (Valencia, España); SBE β CD (Captisol[®] sustitución molar 6.6 MW:2163) fue donada por Cydex Pharmaceuticals INC. (Kansas, EEUU).

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación de las formulaciones

Todas las formulaciones utilizadas en este estudio se basaron en soluciones acuosas de ciclodextrinas. La concentración escogida para todas las ciclodextrinas fue del 20 % (p/v) a excepción de α CD and β CD que se prepararon al 15 % (p/v) y 2 % (p/v) respetivamente debido a la máxima solubilidad que presentan en agua. Las formulaciones fueron testadas también a pH 7.4, debido a los bajos valores que presentan algunas ciclodextrinas en disolución.

2.2.2. Ensayos de irritación ocular

Los ensayos de irritación ocular se llevaron a cabo mediante los test BCOP [3] y HET-CAM [4].

2.2.3. Mucoadhesión corneal

Este método se llevó a cabo mediante el uso de córneas frescas bovinas y un texturómetro.

Las córneas adheridas a la sonda superior del texturómetro fueron sumergidas 2 mm en las soluciones de ciclodextrina durante 30 seg. El área bajo la curva obtenida mediante la gráfica fuerza-desplazamiento se registró como el trabajo máximo.

2.2.4. Estudio de permanencia ocular mediante PET

Los ensayos PET se llevaron a cabo en ratas Sprague Dawley. Se instilaron 7.5 μ L de solución de ciclodextrina marcada con 18 F-FDG en cada ojo y se tomó una imagen estática de PET (10 min. de duración) en los tiempos 0, 30, 75, 120, 240 y 300 min. Las regiones de interés se obtuvieron manualmente y la señal radioactiva se corrigió por el decaimiento radioactivo.

3. Resultados y discusión

3.1. Ensayos de irritación ocular BCOP HET-CAM

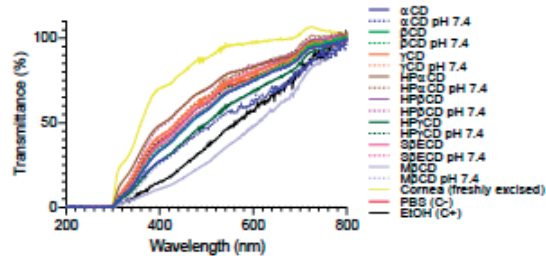


Figura 1. Scan ultravioleta (UV-VIS, 200-800 nm) de la transmitancia (%).

El ensayo de HET-CAM muestra que ninguna de las ciclodextrinas testadas produce hemorragia, lisis o coagulación. Sin embargo, la solución de α CD provocó una modificación en la apariencia de los vasos sanguíneos que se resolvió al ajustar el pH de la solución a pH 7.4.

3.2. Mucoadhesión corneal

Todas las soluciones de ciclodextrinas mostraron las misma capacidad mucoadhesiva excepto S β ECD que presentó valores más bajos que la media.

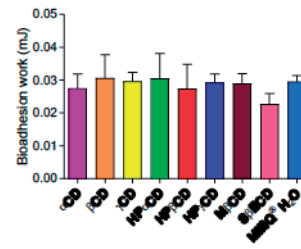


Figura 2. Trabajo de bioadhesión obtenido para cada solución de ciclodextrina usando cornea bovina de vaca

3.3. Estudio de permanencia ocular mediante PET

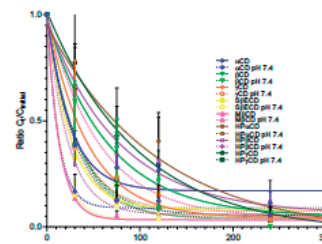


Figura 3. Ratio de aclaramiento de las soluciones de ciclodextrinas sobre la superficie ocular determinado mediante PET.

Las ciclodextrinas hidroxiladas mostraron el mayor tiempo de retención sobre la superficie ocular. Todas las ciclodextrinas permanecieron menos tiempo en la superficie ocular una vez ajustadas a pH 7.4 excepto la M β CD.

4. Conclusiones

Todas las ciclodextrinas presentaron una seguridad toxicológica sobre la superficie ocular excepto α CD y M β CD. Las ciclodextrinas hidroxiladas aumentan la permanencia de fármacos en la superficie ocular, por lo que podrían tenerse en cuenta en la preparación de nuevas formulaciones oftálmicas.

Referencias bibliográficas

1. EMA, Background Review for Cyclodextrins Used as Excipients, pp. 1–17, 2014.
2. Marc Francois, Eric Snoeckx, Peter Putteman, Fons Wouters, Eddy De Proost, Urbain Delaet, Jef Peeters and Marcus E. Brewster. A mucoadhesive, cyclodextrin-based vaginal cream formulation of itraconazole. AAPS PharmSci. 2003;5(1):E5.

3. OECD. Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method Paris: Organisation for Economic Co-operation and Development; 2013 [cited 2016 Jan 18]. Available from: <http://www.oecd-ilibrary.org/content/book/9789264203846-en>
4. Recommended Test Method Protocol: Hen's Egg Test – Chorioallantoic Membrane (HET-CAM) Test Method. [Internet]. <https://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/protocols/ivocular-hetcam.pdf>

Este trabajo debe ser citado como:

Díaz Tomé V, García Otero X, Fernández Ferreiro A, Otero Espinar FJ. Ciclodextrinas oftálmicas: Estudios de irritación y permanencia en la superficie ocular mediante Tomografía por Emisión de Positrones. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):143-5.

Desarrollo y caracterización de un inserto ocular de Famciclovir para el tratamiento del herpes zóster

Domenech Monsell Iris María *, Alambiaga Caravaca Adrián, Balaguer Fernández Cristina, Rodilla Vicent, López Castellano Alicia

Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad CEU Cardenal Herrera, CEU Universities, C/Ramón y Cajal s/n Alfara del Patriarca, 46115, Valencia, España.

*Correspondencia: irisdomenech95@gmail.com

1. Introducción

El Herpes Zóster (HZ) es una enfermedad neuropática viral que está causada por el herpesvirus 3, el mismo que causa la varicela. Tras una primera exposición al virus, este queda en estado de latencia durante muchos años. Existen una gran variedad de factores que pueden reactivar este virus en el ganglio trigémino. Las manifestaciones clínicas suelen incluir lesiones en la piel, pero se estima que un 50-70 % de los pacientes con HZ presenta una afección ocular directa [1, 2].

A pesar de la baja biodisponibilidad y de la incapacidad de curar las complicaciones que el HZ causa, la administración por vía oral de aciclovir es la forma más común de tratar los síntomas de esta enfermedad. El famciclovir (FCV), es un fármaco antiviral que tiene mayor biodisponibilidad que el Aciclovir y adicionalmente, es capaz de tratar la neuralgia post-herpética, una de las complicaciones más comunes que presenta el HZ. Actualmente solo se administra vía oral [3].

El objetivo del presente trabajo es la formulación y evaluación de insertos oculares de FCV que permitan la liberación controlada del fármaco.

2. Materiales y métodos

Para llevar a cabo el ensayo, en primer lugar se validó un método analítico de FCV con modificaciones del método descrito por Gedela

et.al [4]. La cuantificación del fármaco se llevó a cabo por HPLC-UV, utilizando una columna de fase inversa (C18, 250 x 4.0 mm, 5 µm) con un volumen de inyección de 50 µL y detección a 225 nm. Se utilizó una fase móvil de metanol: solución acuosa de fosfato monobásico (40:60). Se estudió la linealidad, precisión, exactitud, robustez, límite de detección y cuantificación y la especificidad del método analítico.

Con el fin de evaluar la estabilidad del FCV se prepararon soluciones de una concentración conocida 10 µg/mL que se guardaron a temperatura ambiente, en oscuridad, a 37 °C en la estufa, a 4 °C en la nevera y a -80 °C en el congelador durante un mes.

Se elaboró un inserto ocular con los polímeros polivinilalcohol (PVA) y polivinilpirrolidona (PVP). Se utilizó propilenglicol (PGL) como agente filmógeno y agua (Tabla 1). Los componentes del inserto se añadieron lentamente al agua y se dejó en agitación durante 24 horas hasta la obtención de un gel homogéneo. Finalmente, el gel se vertió en una placa Petri, se dejó secar y se obtuvieron insertos de 1 cm².

Tabla 1. Cantidades y componentes empleados para la elaboración del inserto ocular de FCV.

Componentes	Cantidades
PVA	200 mg
PVP	50 mg
PGL	0,1 mL
FCV	5 mg
AGUA	5 mL

Una vez formulado el inserto se evaluaron sus características organolépticas, homogeneidad de peso y espesor, pH e higroscopicidad.

Finalmente se realizaron estudios de retención ocular ex vivo del FCV en ojos de conejo con el inserto ocular desarrollado. Se realizaron estudios de difusión en celdas de Franz con córnea y esclera. Al finalizar el ensayo, las membranas fueron introducidas en 5 mL de una solución de metanol: agua (40:60) durante 24 horas, con el fin de extraer y cuantificar la cantidad de FCV retenida en córnea y en esclera.

3. Resultados y Discusión

El método validado es lineal, preciso, exacto, robusto y específico. Su límite de detección fue de 0,1 µg/ml y de cuantificación 0,5 µg/ml. El tiempo de retención del FCV es de 3,178 minutos.

El FCV es poco estable a 37°C, temperatura ambiente y a temperatura ambiente en oscuridad (1 día, 3 días y 7 días). En nevera y congelador la concentración inicial del FCV no disminuye más del 80 % trascurrido un mes.

El inserto ocular formulado es suave al tacto, translúcido y su consistencia es la adecuada (Fig 1).

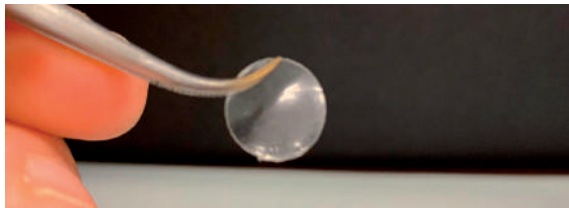


Figura 1. Inserto ocular formulado con FCV.

Referencias bibliográficas

1. Schmader K. Herpes Zoster. Ann Intern Med. 2018 Aug;169(3):ITC19–31.
2. Szeto SKH, Chan TCY, Wong RLM, Ng ALK, Li EYM, Jhanji V. Prevalence of Ocular Manifestations and Visual Outcomes in Patients With Herpes Zoster Ophthalmicus. Cornea. 2017 Mar;36(3):338–42.
3. Pott Junior H, de Oliveira MFB, Gambero S, Amazonas RB. Randomized clinical trial of famciclovir or acyclovir for the treatment of herpes zoster in adults. Int J Infect Dis. 2018 Jul;72:11–5.
4. Srinubabu G, Sudharani B, Sridhar L, Rao JS. Development and validation of liquid chromatographic and UV derivative spectrophotometric methods for the determination of famciclovir in pharmaceutical dosage forms. Chem Pharm Bull. 2006;54(6):819–22.

Este trabajo debe ser citado como:

Domenech Monsell IM, Alambiaga Caravaca A, Balaguer Fernández C, Rodilla V, López Castellano A. Desarrollo y caracterización de un inserto ocular de Famciclovir para el tratamiento del herpes zóster. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):146–7.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):146–7.

El peso medio de los insertos es de 7.72 ± 0.44 mg y su espesor de 0.12 ± 0.03 mm, con un pH de 7.45 ± 0.03 . El estudio de captación de agua realizado evidencia la higroscopicidad de los insertos elaborados.

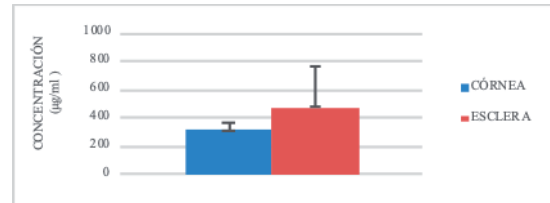


Figura 2. Concentración de FCV retenida en la esclera y córnea en los estudios realizados.

La figura 2 muestra el perfil de retención del FCV en la córnea y esclera de los ojos de conejo tras la aplicación del inserto. La concentración de FCV retenida en esclera es superior que en córnea ($477,53 \pm 285,57$ µg/ml vs. $314,16 \pm 59,96$ µg/ml).

4. Conclusiones

- El método analítico de FCV es preciso, exacto, robusto específico, detectable y cuantificable.
- El inserto ocular desarrollado presenta características adecuadas y su pH es similar al de las lágrimas.
- Los estudios de retención ocular ex vivo del FCV demuestran que la cantidad de FCV retenida es superior en esclera que en córnea.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por la Universidad CEU Cardenal Herrera (INDI19/28).

Biocompatibility of the synthetic biomimetic membrane PermeaPad[®] with the mucosa of the oral

El Moussaoui El Masnaoui Salima ^{*1}, Mallandrich Miret Mireia^{1,4}, Garrós Aristizabal Núria¹, Calpena Campmany Ana Cristina^{1,4}, Rodríguez Laguna María José², Fernández Campos Francisco³

¹Departament de Farmàcia, Tecnologia Farmacèutica i Físicoquímica, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain.

²Departament de Bioquímica i Fisiologia, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, University of Barcelona, Av. Joan XXIII 27-31, 08028 Barcelona, Spain.

³Reig-Jofre Laboratories, Av. de les Flors s/n, 08970 Sant Joan Despí, Spain.

⁴Institut de Nanociència i Nanotecnologia IN2UB, Universitat de Barcelona, 08028 Barcelona, Spain

*Correspondencia: selmouel9@alumnes.ub.edu

1. Introduction

Animal studies are expensive and complex procedures that require a lot of bureaucracy and material and human resources. To all this, we must add the most important, the ethical and moral aspect of testing drugs and other products on animals.

The development of synthetic biomimetic membranes aims to provide a simple solution to all these problems. PermeaPad[®] biomimetic membranes have been developed to simulate passive mass transfer across different barriers in the body (GIT, buccal, nasal) [1].

To analyze the biocompatibility of these membranes, the permeation results of sodium alginate and hyaluronic acid hydrogel containing 2 % ketorolac tromethamine (KT) through the oral mucosa and the PermeaPad[®] membranes were correlated.

2. Material and Methods

2.1. Materials

Reagents: Sodium alginate, Ketorolac tromethamine, Nipagin, Nipasol, Hyaluronic acids, Na₂HPO₄ and KH₂PO₄, KCl, CaCl₂, Hepes, and glucose. The purified water. All the

other chemicals and reagents used in the study were of analytical grade.

Tissue: Buccal and sublingual (SL) mucosae (Landrace Large White race) were provided by the Bellvitge animal facility services. The Ethics Committee of Animal Experimentation of the University of Barcelona approved the Study Protocol (approved on 10/01/2019). A thickness of 500 µm was dermatomized to carry out the test.

2.2. Methods

For the permeation test, 0.64 cm² Franz-type diffusion cells were used. The receiving medium consisted of Hank's solution. 400 mg ± 10 mg of KT hydrogel were seeded, 300 µl of sample were extracted at times 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, and 6 h, replacing the same volume of Hank's solution after each intake. The formulation was tested on buccal and SL mucosa and on PermeaPad[®] biomimetic membranes under an infinite dose regimen. KT content was analyzed by HPLC. The permeation parameters were calculated. After 6 h rehearsal, the KT retained in the mucosa was extracted [2].

The ex vivo permeation results and parameters were compared. For this, a one-way ANOVA statistical study was carried out. Furthermore,

Table 1. Biopharmaceutical KT permeation parameters under an infinite dose regimen according to first-order kinetics. Results are expressed as Mean ± SD (n = 3).

Parameter	Buccal Mucosa	Sublingual Mucosa	PermeaPad®	p-values
AP (mg/cm ²)	3.79 ± 0.24	3.86 ± 0.25	3.04 ± 0.67	0.943
AR (mg/cm ²)	0.12 ± 0.37	0.15 ± 0.16	0.35 ± 0.14	0.003**
C _{ss} (µg/mL)	1.13 ± 0.04	1.21 ± 0.05	1.36 ± 0.14	0.167
J _{ss} (mg/h·cm ²)	0.66 ± 0.02	0.71 ± 0.03	0.79 ± 0.08	0.181
K _p (cm/h)	0.052 ± 0.002	0.056 ± 0.002	0.062 ± 0.007	0.216

the correlation between the amounts of KT permeated through PermeaPad® vs. through buccal and SL mucosa at each time was calculated with the help of GraphPad software.

3. Results and Discussion

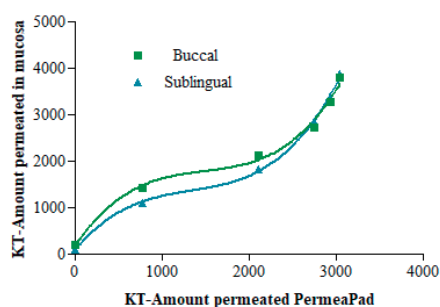


Fig. 1 Correlation of the KT amounts (µg/cm²) permeated through the PermeaPad® membrane and buccal mucosa (green) and PermeaPad® and SL mucosa (blue).

The Pearson regression coefficient (rp₂) was 0.94 between PermeaPad® and buccal mucosa and 0.95 between PermeaPad® membrane and SL mucosa, showing a strong positive correlation (Fig 1). The correlations of the permeations through the mucosa of the oral cavity with the biomimetic membrane were adjusted to different mathematical models, giving an excellent fit (r² of 0.993 in buccal mucosa vs. PermeaPad® and r² of 0.998 in SL mucosa vs. PermeaPad®) for the third-order polynomial equation. This adjustment would allow us to predict from the results obtained through the PermeaPad® membrane the results that the buccal and SL mucosa would give, according to the following equations:

$$\text{Buccal } A_{KT} = 165.9x^3 + 2.8x^2 - 0.0017x + 3.910^{-7}$$

$$\text{SL } A_{KT} = 86.4x^3 + 2.2x^2 - 0.0014 - 3.7 \cdot 10^{-7}$$

where AKT is the amount of KT permeated through the mucosae for each time and x the amount of KT permeated through the PermeaPad® at each time.

In addition, a statistical study (one-way ANOVA) was performed between permeation parameters. The results were not statistically significant for all parameters except for the retained amounts of KT (Table 1). The results were that the two mucosae were able to retain more than twice as much KT as the PermeaPad® membrane.

4. Conclusion

Considering all these results, it can be concluded that, the PermeaPad® membran is able to predict with a high correlation the permeation kinetics of KT both in buccal and SL mucosa. The permeations correlation between the biomimetic membrane and the mucosae allows an excellent fit to the third-order polynomial model, thus providing a mathematical model to predict the KT amounts that could permeate living tissues using synthetic biomimetic membranes. The comparison of biopharmaceutical parameters did not show significant differences between the membrane (p < 0.05), although a lower drug retention capacity was observed in the PermeaPad® membrane compared to the buccal and SL mucosa (p = 0.003).

Acknowledgment

Our sincere thanks to the innoME GmbH company for donating the PermeaPad® biomimetic membranes.

References

1. HA Bibi, R Holm, A Bauer-Brandl. Use of Permeapad[®] for prediction of buccal absorption: A comparison to in vitro, ex vivo and in vivo method. *Eur J Pharm Sci.* 2016;93:399–404. doi: 10.1016/j.ejps.2016.08.041.
2. S El Moussaoui et al. Topical Mucoadhesive Alginate-Based Hydrogel Loading Ketorolac for Pain Management after Pharmacotherapy, Ablation or Surgical Removal in Condyloma Acuminata. *MDPI Gels*, pp. 1–20, 2021.

Este trabajo debe ser citado como:

El Moussaoui El Masnaoui S, Mallandrich Miret M, Garrós Aristizabal N, Calpena Campmany AC, Rodríguez Laguna MJ, Fernández CF. Biocompatibility of the synthetic biomimetic membrane Permeapad[®] with the mucosa of the oral. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):148-50.

Study of the intestinal permeability of levofloxacin in coperfusion in rats

Escribano Ferrer Elvira ^{*1,2,3}, López Yerena Anallely⁴, Serrano Nieto Álvaro², García Sala Xavier^{2,3}

¹ CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition, Institute of Health Carlos III, Madrid. Spain.

² Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Physical Chemistry.

³ Institute of Nanoscience and Nanotechnology (IN2UB), School of Pharmacy and Food Sciences. University of Barcelona, Spain.

⁴ Nutrition, Food Science and Gastronomy Department, XaRTA, Institute of Nutrition and Food Safety (IN-SA-UB), School of Pharmacy and Food Sciences. University of Barcelona, Spain.

*Correspondencia: eescribano@ub.edu

1. Introduction

Levofloxacin (Levo) is a drug with an oral bioavailability near 100 % [1, 2]. According to the Biopharmaceutics Classification System [3] it belongs to the class of high permeability. For this reason, the possibility of using Levo as a model drug of high permeability in comparative studies with new substances could be considered.

However, in previous studies performed by our group using the in situ single-pass intestinal perfusion technique (SPIP) in rats, very little difference was observed between the concentration of Levo at the entrance and exit of the intestinal segment and thus increasing the variability of the results. For this reason, in order to study the case of intestinal permeability of Levo in more depth, a study of coperfusion of Levo with the high permeability standard metoprolol (Meto) and the low permeability standard acyclovir (Acyclo) [3] was performed.

2. Material and methods

2.1. Analytical Technique

The quantification of the compounds in the samples was performed by HPLC on a reversed phase column Hypersil™ Elite C18 (150 mm x 4.6 mm i.d., 5 µm, ThermoFisher Scientific),

with a mobile phase flux of 1 mL/min. The other conditions are listed in Table 1.

Table 1. HPLC Analytical conditions. FA aqueous phase; FO organic phase; AcN Acetonitrile; MeOH; Rt= retention time.

	Levo	Meto	Acyclo
FA	Water pH 1.5	Water pH 1.5	Water
pH 4			
FO	AcNc	AcNc	MeOHd
FA/FO	80/20	80/20	88/12
λ (nm)	223	223	254
Rt (min)	3.3 ± 0.3	6 ± 0.2	3.03 ± 0.02
Inj. vol (µL)	10	20	20

2.2. Rat Intestinal Perfusions

All animal experiments were conducted using protocols approved by the ethical committee of University of Barcelona (trial no. CEEA 124/16) and Generalitat de Catalunya (no. 6435).

The compounds were assayed at the highest dose strength in 250 mL perfusion solution [4] (3 mg/mL, 0.4 mg/mL and 1.6 mg/mL for levo, meto and acyclo, respectively). Sprague-Dawley rats (280 ± 30 g) were administered by i.p. injection with sodium pentobarbital (60 mg/kg BW). Briefly, once under general anaesthesia, a laparotomy was performed and a segment of the duodenum (ca. 10 cm) was isolated by inserting two glass

cannulas (o.d. 4 mm, i.d. 3 mm) at the proximal and distal end of the segment. After rinsing the intestinal segment properly, the experiment started by delivering the perfusion solution containing the drugs (Table 2) and phenol red (0.1 mg/mL) at a flow rate of 0.20 mL/min to the intestinal segment. The outflow perfusate was collected at 5 min intervals for 60 min. At the end of the experiment, the rat was euthanized and the length of the intestinal segment was measured. Samples were centrifuged (9000 rpm for 10 min), and the supernatant was stored at -20 °C until its analysis by HPLC.

Table 2. Study design in the SPIP experiments.

Rats	Perfusion solution
1 to 4	Levo + Meto
5 to 8	Levo + Acyclo

2.3. Data Analysis and Statistics

Effective permeability coefficients (P_{eff}) and percentage of absorption of Levo were calculated at steady state conditions according to equations 1 and 2 respectively, after correcting the outlet concentration following the phenol red method [5].

$$P_{eff} = \frac{-\Phi_{in}}{2\pi RL} \times Ln \frac{C_{out.cor}}{C_{in}} \quad (1)$$

$$\%fa = \left[1 - \left(\frac{C_{out.cor}}{C_{in}} \right) \right] * 100 \quad (2)$$

Where:

Φ is the perfusion solution flow rate (0.2 mL/min), C_{in} and C_{out} are the respective inlet and corrected outlet concentrations, R is radius of the intestinal segment (set to 0.2 cm) and L is the length of the perfused intestinal segment. C_{out} concentrations were corrected by multiplying by the factor CPR_{in}/CPR_{out} where: CPR_{in}

is the phenol red concentration in the inlet buffer solution and CPR_{out} is the phenol red concentration at the specific time interval.

The stability of the tested compounds in the inlet perfusion solutions at 37°C was assessed for 60 min. The mean parameters of Levo (n=4) were compared with the corresponding standard (n=4) by means of a paired-samples T test after testing the normal distribution of the data (Shapiro-Wilk test) and using SPSS Statistics vs. 17.0 ($\alpha=0.05$).

3. Results and discussion

The results obtained are shown in Table 3.

As depicted in Table 3, Levo showed a similar permeability to that of Metol and higher than that of Acyclo, confirming its high permeability. These results are in agreement with those obtained by Volpe et al. in Caco 2 cells [3], where Levo showed an apparent permeability coefficient (P_{app}) similar to that of the metoprolol. However, it is not advisable to use it as a high permeability standard, since -as demonstrated in the study of Volpe et al.- it is a substrate of p-glycoprotein [6].

Table 3. Permeability coefficients and percentage of drug absorbed in the different SPIP experiments. a, b = differences with acyclovir (p=0.001).

	Drug	P_{eff} (cm/s)	% abs
Rats 1-4	Levofloxacin	$9.66 \pm 3.62 \cdot 10^{-6}$	5.05 ± 2.29
	Metoprolol	$9.31 \pm 3.04 \cdot 10^{-6}$	5.13 ± 2.26
Rats 5-8	Levofloxacin	$1.185 \pm 0.284 \cdot 10^{-5a}$	7.22 ± 1.23^b
	Acyclovir	$2.126 \pm 1.486 \cdot 10^{-6}$	1.30 ± 0.72

4. Conclusions

Levo is a high permeability drug demonstrated in the in situ intestinal coperfusion study in rats. Coperfusion with a high and/or low permeability standard is recommended when intending to study the permeability of a new product.

References

1. Fish DN, Chow AT. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. Clin Pharmacokinet. 1997;32(2):101-19.
2. Volpe DA. Permeability Classification of Representative Fluoroquinolones by a Cell Culture Method. AAPS PharmSci 2004;6(2): Article 13 (<http://www.aapspharmsci.org>).
3. FDA 2017. Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics classification system. Guidance for industry, FDA, December 2017.

4. Kim J-S et al. The suitability of an in situ perfusion model for permeability determinations: utility for class I biowaiver requests. *Mol Pharm.* 2006;3(6):686-94.
5. Zakeri-Milani P et al. Predicting human intestinal permeability using single-pass intestinal perfusion in rat. *J Pharm Pharm Sci.* 2007;10(3):368-79.
6. Zur M et al. The low/high BCS permeability class boundary: physicochemical comparison of metoprolol and labetalol. *Pharmaceutics.* 2014;11:1707-14.

Este trabajo debe ser citado como:

Escribano Ferrer E, López Yerena A, Serrano Nieto Á, García Sala X. Study of the intestinal permeability of levofloxacin in coprefusion in rats. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):151-3.

Efecto del bromuro de didodecildimetilamonio sobre liposomas de curcumina doblemente cargados

Fernández Romero Ana María *, González Rodríguez María Luisa, Rabasco Antonio María

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla

*Correspondencia: anaferrom2@alum.us.es

1. Introducción

La curcumina (Cur) es un polifenol con actividad antiinflamatoria muy apreciado en medicina tradicional. Sin embargo, su baja solubilidad y biodisponibilidad reducen su uso potencial [1]. Una posible solución a este problema sería el empleo de liposomas. No obstante, la capacidad de estas vesículas de condensar bicapas puede limitar la cantidad de Cur que el sistema es capaz de retener [2]. Con el objetivo de aumentar la cantidad de Cur retenida en el sistema, el grupo de investigación ha optimizado la elaboración de sistemas de carga doble (double-loading) que combinan el uso de liposomas con 2-hidroxipropil- β -ciclodextrina (HP β CD), de forma que el fármaco se encuentre simultáneamente en ambos compartimentos del sistema, en la bicapa y en el núcleo acuoso (double-loaded drug-in cyclodextrin-in liposomes, DCL-DL)[3].

Los DCL-DL formulados contenían bromuro de didodecildimetilamonio (DDAB), un tensioactivo con forma cónica conocido por su capacidad para estabilizar bicapas [4]. Sin embargo, este tensioactivo, al igual que otros con carga positiva, puede resultar citotóxico [5], lo que limitaría su posible uso in vivo. No obstante, su ausencia podría comprometer la estabilidad del liposoma. Por ello, el objetivo del presente trabajo es demostrar que los DCL-DL con y sin DDAB no presentan diferencias significativas en sus características fisicoquímicas con el tiempo.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de los sistemas

2.1.1. Preparación del complejo Cur-HP β CD

El complejo se preparó disolviendo 14.5 mM de HP β CD y 0.4 mM de Cur en tampón cítrico/fosfato disódico a pH 5.4. El sistema se agitó durante 72 h y, posteriormente, se centrifugó a 1000 rpm durante 10 min. Finalmente, se cuantificó la cantidad de Cur mediante espectrofotometría UV/VIS a 420 nm.

2.1.2. Preparación de los liposomas

Los liposomas se prepararon empleando la técnica de evaporación en capa fina (Thin Layer Evaporation, TLE). Brevemente, los componentes lipídicos fueron disueltos en 4.8 mL cloroformo y 3.2 mL metanol en un matraz de fondo redondo. Una vez evaporados los disolventes, el film formado fue resuspendido empleando 3 mL de solución del complejo Cur-HP β CD.

2.2. Estudio comparativo de las formulaciones

2.2.1. Estudio de estabilidad

Para la realización de este estudio, se formularon DCL-DL con y sin DDAB. Se tomaron 5 muestras, una a las 24 h y las 4 restantes a los 3, 6, 15 y 24 días. Los parámetros analizados fueron tamaño, carga superficial, eficacia de encapsulación y oxidación de Cur. Todos los parámetros se analizaron siguiendo lo descrito en [3].

Tabla 1: Resultados del estudio de estabilidad. Los datos muestran el tamaño (size, nm), el potencial zeta (zeta, mV) y la eficacia de encapsulación (EE, %) de las muestras con DDAB (normal) y sin DDAB (negrita)

	Día 1	Día 3	Día 6	Día 15	Día 24
Size	3298±1223 3530.7±1261	3586.7±1082 2927.7±731	2952.2±1189 3018.5±764	2861.3±857 2368.8±427	2659.1±766 2136.4±597
Zeta	24.05±3.84 16.18±2.70	27.58±2.53 17.1±2.97	27.62±2.31 16.18±0.40	28.4±2.97 17.23±3.58	26.33±2.63 16.92±2.32
EE	60.59±0.20 58.62±5.05	49.78±2.85 50.89±1.73	50.61±1.15 58.03±0.62	51.10±2.15 51.86±6.13	54.00±3.15 56.89±5.46

2.2.2. Deformabilidad

Para conocer la influencia del DDAB sobre las bicapas, se estudió la deformabilidad de las mismas en ambos sistemas. Para ello, 1 mL de muestra fue extruido dos veces por un filtro de policarbonato de 800 nm. A continuación, la muestra homogeneizada fue extruida por un filtro de 100 nm a una presión de 40 bares durante cinco minutos. La elasticidad del sistema se calculó empleando la fórmula:

$$DI = J_{flux} \left(\frac{rv}{rp} \right)^2$$

siendo J_{flux} la velocidad de flujo (mL/min), rv el diámetro hidrodinámico de los liposomas y rp el diámetro de poro del filtro utilizado.

3. Resultados y Discusión

3.1. Estudio de estabilidad

En cuanto a la eficacia de encapsulación (EE), no se aprecia diferencias significativas entre ambos sistemas salvo el día 6. Con el paso de los días, los sistemas descienden en cantidad de Cur atrapada a partir del día 3, pero permanecen estables posteriormente.

La oxidación del sistema fue estudiada mediante ABTS. Ambos sistemas mantienen una capacidad antioxidante similar durante todo el estudio. No obstante, aunque no existen diferencias significativas entre los lotes a lo largo del tiempo, sí hay un aumento de la variabilidad que podría indicar que la capacidad antioxidante de Cur se ve afectada a lo largo del tiempo.

3.2. Deformabilidad

Como se puede apreciar en la Fig.2, existe una diferencia extremadamente significativa entre los liposomas con DDAB y los liposomas sin DDAB. Esto podría deberse a un cambio en el empaquetamiento de la bicapa al retirar el tensioactivo.

4. Conclusiones

De los estudios realizados se puede concluir que los DCL-DL con y sin DDAB no presentan diferencias significativas que puedan afectar a futuros ensayos in vivo. Con este cambio en formulación evitaremos posibles efectos tóxicos derivados de su uso.

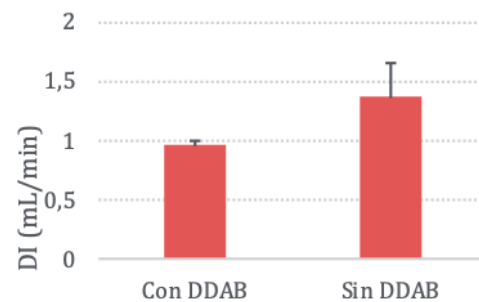


Fig. 2: Deformabilidad de los liposomas con y sin DDAB.

Referencias bibliográficas

1. Siviero A, Gallo E, Maggini V, et al. Curcumin, a golden spice with a low bioavailability. *J Herb Med.* 2015;5:57–70.
2. Karewicz A, Bielska D, Gzyl-Malcher B, et al. Interaction of curcumin with lipid monolayers and liposomal bilayers. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2011;88:231–9.
3. Fernández-Romero AM, Maestrelli F, Mura PA, Rabasco AM, González-Rodríguez ML. Novel findings about double-loaded curcumin-in-HP β cyclodextrin-in liposomes: Effects on the lipid bilayer and drug release. *Pharmaceutics.* 2018;10(256):1-27.
4. Proverbio ZE, Schulz PC, Puig JE. Aggregation of the aqueous dodecyl-trimethylammonium bromide-didodecyldimethylammonium bromide system at low concentration. *Colloid Polym Sci.* 2002;208:1045–52.
5. Filion MC, Phillips NC. Toxicity and immunomodulatory activity of liposomal vectors formulated with cationic lipids toward immune effector cells. *Biochim Biophys Acta BBA - Biomembr.* 1997;1329:345–56.

Este trabajo debe ser citado como:

Fernández Romero AM, González Rodríguez ML, Rabasco AM. Efecto del bromuro de didodecildimetilamonio sobre liposomas de curcumina doblemente cargados. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):154-6.

Cannabinoid-loaded receptor-targeted nanoparticles improve anticancer activity through delayed cell internalization

Durán Lobato Matilde¹, Álvarez Fuentes Josefa¹, Fernández Arévalo Mercedes ^{*1}, Martín Banderas Lucía¹

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Prof. García González nº2 41012, Sevilla, Spain

*Correspondencia: mfarevalo@us.es

1. Introduction

Δ^9 -tetrahydrocannabinol (Δ^9 -THC) is known for its antitumor activity and palliative effects. However, its unfavorable physicochemical and biopharmaceutical properties, including low bioavailability, psychotropic side effects and resistance mechanisms associated to dosing make mandatory the development of successful drug delivery systems. In this work, several steps forward were taken by including a targeting ligand and a multifunctional fluorescent labeling strategy in the presented approach. Transferrin (Tf), a targeting moiety for cancer cells based on a higher expression of the Tf receptor in tumor cells [1-4], was coupled to Δ^9 -THC-loaded PLGA NPs to modulate the interaction of the particles with the target cells. In addition, a double fluorescent labeling of the formulations, both through chemical linkage to the polymer and through dye encapsulation, was performed in order to selectively track the internalization pathway and intracellular fate of both the carrier and the cargo. The resulting formulations were evaluated in order to correlate the modulation of their anticancer effect with their cell internalization mechanics.

2. Materials and methods

Δ^9 -THC was provided by THC Pharma GmbH, (Frankfurt/Main, Germany). Poly(DL-lactide-co-glycolide) Resomer[®] RG 502H was obtained from Evonik-. Poly(vinyl alcohol) (87 – 90 % hydrolyzed, Mw: 30,000 – 70,000) PVA, Nile Red, Rhodamine B, human transferrin

(Tf), N-(3-Dimethylaminopropyl)-N'-ethylcarbodiimide hydrochloride (EDC-HCl), N-Hydroxysuccinimide (NHS), fluorescein isothiocyanate isomer I (FITC), sucrose and genistein were purchased from Sigma-Aldrich (St Louis, MO; USA). Glycerol was obtained from Acofarma Distribución S.A. (Barcelona, Spain). Trehalose was obtained from VWR International Eurolab S.L. (Barcelona, Spain). Solvents used ethyl acetate (EA), acetonitrile, methanol, pyridine, dimethylsulfoxide (DMSO) (HPLC-grade) and acetic acid were purchased from Panreac Química (Barcelona, Spain). Deionized and filtered water was used in all the experiments (Milli-Q Academic, Millipore, Molsheim, France).

The RP-HPLC analysis was carried out with a Hitachi LaChrom[®] (D-7000) Series HPLC (Waters column 3 μ m, 4.6x100 mm, at 25.0 \pm 0.1 $^{\circ}$ C)

For cell line experiments, human colon adenocarcinoma cells (Caco-2) cells were obtained from the European Collection of Cell Cultures (ECACC); number 86010202 (Salisbury, UK).

PLGA NPs were produced by a modified emulsion solvent evaporation method (SEV) and Tf was conjugated on the surface of PLGA NPs and THC-PLGA NPs. PLGA was previously conjugated with FITC. FITC was covalently coupled to PLGA by the carbodiimide method reported elsewhere. Doubled-labeled fluorescent PLGA NPs were obtained by encapsulating Nile Red into FITC-PLGA NPs.

3. Results and Discussion

We obtained monodispersed population of spherical nanostructures in agreement with the DLS characterization results and our previous works on THC-PLGA NPs, with no observable difference induced by the Tf coupling procedure or the presence of this moiety on the nanoparticle surface.

Caco-2 culture, a cancer cell model bearing cannabinoid receptors. Upon incubation with the cells, both plain THC PLGA NPs and Tf-THC PLGA NPs avoided moderate cell viability increases exerted by free THC at short incubation times, which have been associated in the literature to drug resistance mechanisms. Furthermore, Tf-THC PLGA NPs exerted a cell viability decrease down to 17 % vs. 88 % of plain nanoparticles in a cancer cell model, however their internalization was significantly slower than plain nanoparticles. Uptake studies in the presence of inhibitors indicated that the nanoparticles were internalized through cholesterol-associated and clathrin-mediated mechanisms. Overall, the observations suggested that the improved Δ^9 -THC antitumor effect

was potentially due to increasing the presence of the nanocarriers, and hence maximizing the amount of drug locally released, at the surface of cells bearing cannabinoid receptors, instead of improving internalization.

4. Conclusions

The results obtained highlight the promising potential of Δ^9 -THC-loaded nanocarrier-based antitumor therapies, as well as exploring further strategies aimed at modulating the nanocarrier action at the cell surface.

Acknowledgments

M. D-L is especially grateful to the V Plan Propio de Investigación of the Vicerrectorado de Investigación from the Universidad de Sevilla for the postdoctoral fellowship Contrato Puente Posdoctoral. L.M.-B. is especially grateful for the financial support from Junta Andalucía. Authors are also grateful to Dr. Modesto Carballo for the technical assistant with Flow Cytometry analysis and the Biology and Microscopy Services of CITIUS for the technical assistant. The authors specially acknowledge the Junta Andalucía, Spain (Project Nr. P09-CTS5029) for the financial support.

References

1. Yoshikawa T, Pardridge WM. Biotin delivery to brain with a covalent conjugate of avidin and a monoclonal antibody to the transferrin receptor. *J Pharmacol Exp Ther.* 1992;263:897-903.
2. Yan F et al. Transferrin-conjugated, fluorescein-loaded magnetic nanoparticles for targeted delivery across the blood-brain barrier. *J Mater Sci Mater Med.* 2013;24: 2371-9.
3. Ulbrich K, Hekmatara T, Herbert E, Kreuter J. Transferrin- and transferrin-receptor-antibody-modified nanoparticles enable drug delivery across the blood-brain barrier (BBB). *Eur J Pharm Biopharm.* 2009;71:251-6.
4. Sahoo SK, Ma W, Labhasetwar V. Efficacy of transferrin-conjugated paclitaxel-loaded nanoparticles in a murine model of prostate cancer. *Int J Cancer.* 2004;112:335-40.

Este trabajo debe ser citado como:

Durán Lobato M, Álvarez Fuentes J, Fernández Arévalo M, Martín Banderas L. Cannabinoid-loaded receptor-targeted nanoparticles improve anticancer activity through delayed cell internalization. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):157-8.

Desarrollo de emulsiones agua-en-agua (W/W), con pectina y caseinato, para la liberación de moléculas hidrófilas

Figuerola Becerra Esteban^{1,2}, Caballero Román Aitor¹, Martínez Daniel¹, Ferrero Paola¹, Esquena Jordi^{3,4}, Escribano Ferrer Elvira^{1,2}, García Celma María José ^{*1,2,4}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación. Universidad de Barcelona, Joan XXIII 27-31, 08028, Barcelona, España.

² Instituto de Nanociencia y Nanotecnología (IN2UB). Universidad de Barcelona.

³ Instituto de Química Avanzada de Cataluña (IQAC). Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), Jordi Girona 18-26, 08034, Barcelona, España.

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN).

*Correspondencia: mjgarcia@ub.edu

1. Introducción

Las emulsiones agua en agua (W/W) son dispersiones líquido/líquido constituidas por dos fases acuosas inmiscibles. Se forman en mezclas acuosas de polímeros hidrófilos que presentan incompatibilidad termodinámica [1], como algunas soluciones de polisacáridos y de proteínas.

El estudio de las interfases agua-agua y la estabilización de las emulsiones W/W [2] es un tema de notable interés. Debido a su composición acuosa y a la ausencia de componente oleoso y tensioactivo, presentan una mayor biocompatibilidad que las emulsiones convencionales y, además, ofrecen la posibilidad de incorporar eficazmente biomoléculas, fármacos hidrófilos y microorganismos [1].

En este trabajo de investigación se han formulado emulsiones W/W de pectina y caseinato de sodio. La pectina es un polisacárido de origen vegetal, que se ha utilizado ampliamente como excipiente en formas de liberación controlada [3]. El caseinato de sodio es una proteína derivada de la leche con numerosas aplicaciones en tecnología farmacéutica [4].

Los objetivos de este trabajo han sido: a) el desarrollo y caracterización de emulsiones W/W en el sistema acuoso pectina-caseinato de sodio, b)

la incorporación de un antibiótico, hidrocloreto de clindamicina (CL), como molécula hidrófila modelo, y c) el estudio de difusión del principio activo desde emulsiones W/W seleccionadas hacia una solución receptora.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Pectina de piel de cítricos (Sigma), caseinato de sodio (Sigma), hidrocloreto de clindamicina (Fagron) y agua MilliQ.

2.2. Métodos

2.2.1. Preparación de emulsiones W/W

Se elaboró el diagrama de fases del sistema pectina-caseinato en solución reguladora de fosfatos (PBS pH 7,4) a 25 °C. Las emulsiones se prepararon a partir de mezclas de soluciones acuosas de pectina y caseinato en PBS, en presencia y en ausencia de clindamicina. Las soluciones se mezclaron con un homogeneizador Ultraturrax T8 (IKA) a 25.000 rpm, para formar las emulsiones. Todas las muestras se almacenaron en un baño termostático a 25 °C.

2.2.2. Caracterización

Las emulsiones se caracterizaron mediante microscopía óptica y de fluorescencia, el conteo de gotas se realizó utilizando el software de

Phothoshop CS6. Se estudió la estabilidad físico-química de las muestras y el comportamiento reológico.

2.2.3. Ensayos de liberación

Se realizaron en el equipo de disolución Vision® G2 Elite 8™, con bolsas de diálisis (membrana hidrófila CelluSepT3® MWCO 12000-14000 Da) y 150 ml de PBS 0,16 M como solución receptora, a 37 °C, con una agitación de 250 rpm durante 24 horas. Se ensayaron cuatro réplicas para cada formulación. La cuantificación del fármaco se realizó mediante HPLC (Shimadzu, Nexera X2) con detección UV.

3. Resultados y Discusión

3.1. Preparación y caracterización de las emulsiones W/W

El diagrama de fases presenta dos regiones: una monofásica (I) y otra multifásica (II) donde se forman las emulsiones (Fig. 1).

Algunas formulaciones se prepararon con caseinato marcado con FITC y se caracterizaron por microscopía de fluorescencia. Como se muestra en la Figura 1, se identificaron emulsiones caseinato en pectina, pectina en caseinato y bicontinuas.

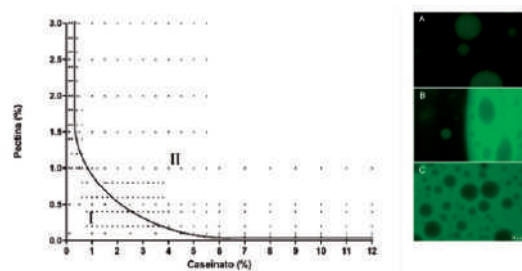


Fig. 1. Diagrama de fases del sistema pectina/caseinato en PBS a 25 °C. (I) Monofásica y (II) multifásica. Micrografías de emulsiones (A), caseinato en pectina; (B) estructura bicontinua; y (C), pectina en caseinato. (Caseinato marcado con FITC).

Se incorporó clindamicina (2 % en peso) a las emulsiones. Las muestras presentaron tamaños de gota similares, en el rango de 5-10 µm. Las emulsiones con clindamicina mostraron una mayor estabilidad, lo que puede atribuirse a la contribución iónica del fármaco a las interacciones repulsivas entre los polímeros.

3.2. Liberación de clindamicina

Se seleccionaron las emulsiones: C2.5CL2/P2.5 y P0.25CL2/C13.75. La nomenclatura indica la composición (C: caseinato, P: pectina, CL: clindamicina), el orden de incorporación y la composición cuantitativa expresada en porcentaje en peso.

Ambas emulsiones de pectina en caseinato y caseinato en pectina (Fig. 2) presentaron una liberación más lenta del fármaco, en comparación con la solución de CL en PBS, en solución de pectina o en solución de alginato.

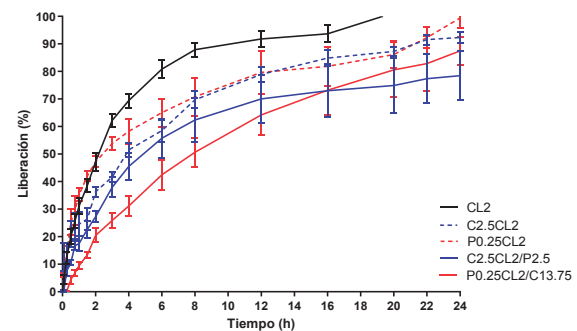


Fig. 2: Liberación de CL en porcentaje, solución receptora: PBS pH 7,4 a 37 °C. n = 4 ± DE.

4. Conclusiones

Se han desarrollado emulsiones W/W pectina en caseinato y caseinato en pectina con hidrócloruro de clindamicina (2 %) como molécula hidrófila modelo. La estructura compartimentada de las emulsiones permite una liberación más retardada en comparación con soluciones poliméricas de viscosidad similar. La biocompatibilidad de estas emulsiones, con ausencia de tensioactivo y aceite, y los perfiles de liberación obtenidos pueden ofrecer interesantes posibilidades como vehículos innovadores en farmacia, alimentación y cosmética.

Agradecimientos

Ministerio de Ciencia e Innovación (Proyecto CTQ2016-80645-R), Generalitat de Catalunya, ayuda a grupos de investigación consolidados (2017SGR-1778) y Unidad Asociada de I+D+i al CSIC: Nanotecnología Farmacéutica.

Referencias bibliográficas

1. Esquena J. *Curr Opin Colloid Interface Sci.* 2016;25:109-19.
2. Dickinson E. *Trends Food Sci Technol.* 2019;83:31-40.
3. Liu y cols. *Cellulose.* 2007;14(1):15-24.
4. Elzoghby y cols. *J Control Release.* 2011;153(3):206-16.

Este trabajo debe ser citado como:

Figuroa Becerra E, Caballero Román A, Martínez D, Ferrero P, Esquena J, Escribano Ferrer E, García Celma MJ. Desarrollo de emulsiones agua-en-agua (W/W), con pectina y caseinato, para la liberación de moléculas hidrófilas. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):159-61.

Aplicación de nanocompuestos core/shell (Fe₃O₄/PCL) en fototerapia antitumoral

García García Gracia ^{*1}, Fernández Álvarez Fátima², Iglesias Guillermo R³, Delgado Ángel V³, Arias José L^{2,4,5}

¹ Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad Francisco de Vitoria, 28223 Madrid, España.

² Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, 18011 Granada, España.

³ Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, 18071 Granada, España.

⁴ Instituto de Biopatología y Medicina Regenerativa (IBIMER), Centro de Investigación Biomédica (CIBM), Universidad de Granada, 18016 Granada, España.

⁵ Instituto Biosanitario de Granada (ibs.GRANADA), Servicio Andaluz de Salud (SAS) - Universidad de Granada, 18012 Granada, España.

*Correspondencia: gracia.garcia@ufv.es

1. Introducción

Hasta la fecha, la quimioterapia es el tratamiento sistémico más aplicado frente al cáncer. Sin embargo, la mayor parte de quimioterápicos presentan limitaciones como la pobre especificidad que comprometen el éxito terapéutico.

Para tal fin, el uso de herramientas nanotecnológicas constituye una de las principales estrategias. Esto se debe, principalmente, a la posibilidad de llevar a cabo nuevas terapias anticancerígenas con potencial sinérgico cuando se aplican en combinación con la quimioterapia [1].

El objetivo de esta investigación es el desarrollo de un nanocompuesto core/shell constituido por núcleos de óxido de hierro (Fe₃O₄) embebidos en una matriz polimérica de policaprolactona (PCL) con aplicación como agentes de fototerapia.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Todos los reactivos químicos utilizados presentaban calidad analítica.

2.2. Métodos

2.1.1. Procedimiento de obtención

Para la obtención del nanocompuesto se siguió una metodología previamente descrita [2].

2.1.2. Caracterización

El potencial zeta (ζ) y el tamaño medio de las NPs se analizó mediante DLS a temperatura ambiente ($n = 3$). La estructura core/shell se estudió mediante la realización de un mapa elemental de HRTEM, y mediante EDX. La caracterización magnética implicó la determinación del ciclo de histéresis de las NPs.

2.1.3. Fototerapia

El estudio de la capacidad de las NPs como agentes de fototerapia se realizó utilizando dispersiones acuosas de nanocompuestos de Fe₃O₄/PCL (2.5, 1, 0.5 y 0.1 mg/mL). Dichas dispersiones fueron sometidas a una irradiación de un láser infrarrojo de 808 nm de 0.1, 0.5 y 1 W×cm⁻². La monitorización de la temperatura se realizó de la parte intermedia de la dispersión con una cámara termográfica durante todo el experimento ($t = 3$ min).

3. Resultados y Discusión

3.1. Propiedades de los nanocompuestos

El tamaño de los nanocompuestos era de 126 ± 25 nm ($PdI = 0.2 \pm 0.03$). Este resultado posibilita, a priori, su administración por vía parenteral. Por otro lado, la carga eléctrica superficial de éstos era de -12 ± 0.6 mV, probablemente por la cubierta de PCL. Dicha hipótesis se confirmó con el mapa HRTEM/EDX de hierro, que mostraba la inclusión homogénea de los núcleos de Fe₃O₄ en la matriz polimérica (Figura 1a).

Finalmente, el ciclo de histéresis permitió identificar que el perfil superparamagnético de los coloides de Fe₃O₄ se mantenía en la nanoestructura final (Figura 1b).

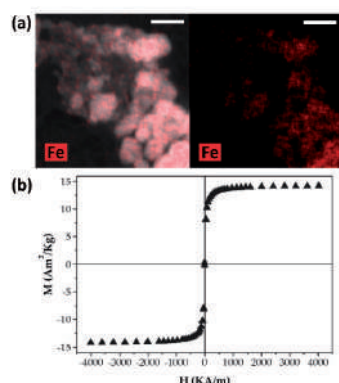


Fig. 1. (a) Mapa de hierro HRTEM/EDX y (b) ciclo de histéresis de los nanocompuestos. Longitud de barra: 50 nm.

3.2. Capacidad de fototerapia

La capacidad de hipertermia (39 a 42 °C) se obtuvo en todas las condiciones estudiadas, excepto para la dispersión de 0.1 mg/mL sometida a una potencia de 0.1 W/cm² (Tabla 1).

El incremento de temperatura obtenido para la dispersión de nanocompuestos de 1 mg/mL resultó ser el más adecuado (Figura 2). Ésta es

Referencias bibliográficas

- Li X, Lovell JF, Yoon J, Chen X. Clinical development and potential of photothermal and photodynamic therapies for cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2020;17(11):657-74.
- García-García G, Fernández-Álvarez F, Cabeza L, Delgado ÁV, Melguizo C, Prados JC, Arias JL. Gemcitabine-Loaded Magnetically Responsive Poly(ϵ -caprolactone) Nanoparticles against Breast Cancer. *Polymers (Basel)*. 2020;12(12):2790.

Este trabajo debe ser citado como:

García García G, Fernández Álvarez F, Iglesias GR, Delgado ÁV, Arias JL. Aplicación de nanocompuestos core/shell (Fe₃O₄/PCL) en fototerapia antitumoral. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):162-3.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):162-3.

la mínima concentración en la que se alcanzan temperaturas de hipertermia en un tiempo inferior a 1 min.

Tabla 1. Incremento de temperatura (t = 200 seg).

Potencia (W/cm ²)	Concentración (mg/mL)			
	2.5	1	0.5	0.1
0.1	6	5.5	4	0.5
0.5	12	9.5	5.5	2.5
1	21	11.5	8	5

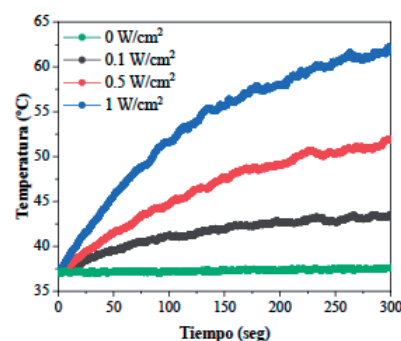


Fig. 2. Incremento de la temperatura (°C) en función del tiempo (seg) de una dispersión de nanocompuestos de 1 mg/mL expuesta a una potencia de láser de 0, 0.1, 0.5 y 1 W/cm².

4. Conclusiones

Los nanocompuestos evaluados presentan unas características fisicoquímicas y magnéticas adecuadas para su aplicación como agentes de fototerapia. Futuros estudios serán necesarios para evaluar su potencial como sistemas de transporte de quimioterápicos y como herramientas para el tratamiento combinado y sinérgico anticancerígeno.

Agradecimientos

Instituto de Salud Carlos III (PI19/01478), programa Operativo FEDER (Junta de Andalucía, A1-FQM-341-UGR18), programa de Ayudas a Proyectos I+D+i (Junta de Andalucía, PY20_00346).

Propuesta de metodología de enseñanza-aprendizaje enfocada al estudio de las formulaciones de medicamentos comercializados en España

Ginés Juan Manuel *, Holgado María de los Ángeles, González Rodríguez María Luisa, Caraballo Isidoro, Rabasco Antonio María

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González, 2. 41012 Sevilla (España).

*Correspondencia: jmgines@us.es

1. Introducción

El Espacio Europeo de Educación Superior requiere actualmente que el alumnado sea capaz de trabajar de forma autónoma [1]. Así, la aplicación del Plan de Estudios aún vigente en nuestra Facultad, recoge entre sus directrices, la necesidad de incorporar una nueva metodología en la adquisición de competencias por parte del alumnado, con el objetivo de lograr una mejora en su capacitación profesional, mejorando así sus posibilidades de inclusión en el mercado laboral. Para ello, además de contar con un profesorado motivado, resulta imprescindible que las nuevas actividades sean lo suficientemente atrayentes para el alumnado. De esta forma, se logra una participación activa que rompe con la inercia de la tradicional clase magistral, donde el alumno se convierte en un mero receptor de información.

En este sentido, tras algunos cursos académicos trabajando con los estudiantes en seminarios sobre formulaciones de algunos medicamentos comercializados en España, se detectaron ciertas limitaciones que nos llevaron a introducir estos estudios como parte de las clases teóricas.

El objetivo de este trabajo es presentar nuestra experiencia con esta nueva distribución, aplicada a la asignatura de Tecnología Farmacéutica II.

2. Material y método

Inicialmente se diseñó una actividad obligatoria

para todos los alumnos de la asignatura, los cuales, tras acceder a las fichas técnicas de los medicamentos, a través del portal CIMA de la AEMPS [2], utilizando los conocimientos adquiridos en las clases teóricas y mediante adecuadas fuentes bibliográficas, en base a las características de preformulación del principio activo y su finalidad terapéutica, trataban de: justificar la forma farmacéutica elegida, asignar las posibles funciones de los excipientes en la formulación y plantear un método factible de elaboración.

En base a los resultados obtenidos los primeros cursos, se consideró necesario implementar un cambio de metodología. Actualmente, los alumnos, tras recibir la explicación teórica de cada tipo de forma farmacéutica, acceden voluntariamente a la plataforma virtual, donde descargan unas fichas de trabajo que incluyen el nombre del medicamento, datos de preformulación, actividad farmacológica, su composición cualitativa, así como diferentes cuestiones de tipo práctico que deben responder.

Durante 6 clases en cada cuatrimestre, esta materia se imparte en clase de teoría, donde el profesor, tras explicar a toda la clase unos fundamentos teóricos aplicados, solicita la contribución de los alumnos que previamente hayan manifestado por correo electrónico su intención de participar, estableciéndose un pequeño debate sobre el trabajo realizado, dando también la oportunidad de intervenir al resto de

compañeros. Las participaciones se recompensan con puntos positivos que sirven para mejorar la calificación final. Con el fin de mantener la actividad tal y como se diseñó inicialmente, en la que el alumno se enfrentaba por sí solo al estudio de un medicamento, sin ninguna información previa por parte del profesor, se oferta una nueva actividad en forma de ABP (aprendizaje basado en problemas), también de forma voluntaria, con una recompensa en la nota final de entre 0 y 1 punto.

El material docente generado queda a disposición de todos los profesores que imparten los aspectos teóricos de la asignatura, para ser utilizado en sus explicaciones docentes en los diferentes temas.

3. Resultados y discusión

Al ser de carácter voluntario, la participación de los estudiantes en el ABP osciló aproximadamente entre el 5 y el 10 % de los alumnos matriculados (con una media alrededor de 20 alumnos por curso), siendo mayor en los grupos de mañana que en los de tarde, dado que la elección de grupo se realiza en función de su nota académica, si bien durante los dos cursos de docencia online, fue ligeramente inferior.

Esta reducción en la participación se ha visto compensada con el grado de implicación e interés por parte del alumnado, que ha llevado a que prácticamente la totalidad de los participantes alcanzara la máxima nota. Además, a medida que los alumnos avanzaban en el trabajo, lo enviaban por correo electrónico al profesor; una vez revisado, se lo devolvía con pequeñas indicaciones de cómo completarlo o mejorarlo, ya que además, otra finalidad de la actividad es conseguir un documento final lo más correcto posible, para ser explicado en las clases del curso siguiente.

En ciertas ocasiones, algunos medicamentos, dada su complejidad, eran objeto de un análisis en profundidad, realizado frecuentemente por los mismos alumnos que los habían estudiado, constituyendo, en algunos casos, materia para realizar su trabajo fin de grado.

Además de los dos objetivos prioritarios, interpretación de las formulaciones y establecimiento de un posible proceso de

fabricación, ya mencionados, se incidió en la necesidad de analizar la información obtenida de las fichas técnicas de los medicamentos con un aspecto crítico, a pesar de haber sido obtenidas de la AEMPS, haciendo especial hincapié en un posible uso erróneo de términos farmacéuticos, o incluso en la denominación de algunos medicamentos.

A modo de ejemplo, se puede citar el caso de Aero-red[®] 100 mg/mL, gotas orales en solución, que contiene en su formulación simeticona como principio activo, por lo que evidentemente la denominación del medicamento es incorrecta.

Por último, queremos destacar que este formato docente aporta una enorme versatilidad, ya que permite abordar aspectos novedosos sin necesidad de modificar el temario establecido. Así, el pasado año, en el estudio de medicamentos de las formas parenterales, se incluyó el estudio de las vacunas comercializadas en España frente a la Covid-19.

4. Conclusiones

Tras los resultados obtenidos durante el periodo de tiempo indicado, el profesorado de la asignatura está plenamente satisfecho con la implantación de esta metodología, ya que se ha comprobado que ayuda a afianzar en mayor grado los conceptos teóricos de la disciplina Tecnología Farmacéutica, aparte de despertar en los estudiantes un espíritu crítico frente al conformismo.

De esta manera, se alcanzan en su totalidad algunos de los objetivos y competencias recogidos en el Proyecto Docente de la asignatura: realizar informes que demuestren sentido crítico en el establecimiento de objetivos, capacidad para sintetizar resultados y para establecer conclusiones, así como estimular el aprendizaje autónomo, incentivar el estudio individual y colectivo y reducir las formas pasivas de enseñanza a fin de motivar al alumnado hacia la formación continuada.

Por otro lado, los alumnos son conscientes de la dificultad de esta materia ya que este tipo de abordaje supone un esfuerzo adicional en su estudio que, no obstante, se ve recompensado en la calificación final.

Referencias bibliográficas

1. de Miguel M. Metodologías para optimizar el aprendizaje. Segundo objetivo del Espacio Europeo de Educación Superior. *Rev Int Form Prof.* 2006;20(3):71-91.
2. Qué es CIMA. Centro de información online de medicamentos de la AEMPS – CIMA [Internet]. Madrid: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios; 2017- [citado 28 septiembre 2021]. Disponible en <https://cima.aemps.es/cima/publico/home.html#quees>

Este trabajo debe ser citado como:

Ginés JM, Holgado MÁ, González Rodríguez ML, Caraballo I, Rabasco AM. Propuesta de metodología de enseñanza-aprendizaje enfocada al estudio de las formulaciones de medicamentos comercializados en España. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):164-6.

Validación de un método de ultrafiltración centrífuga que permita evaluar la carga y la liberación de fármacos incorporados en nanocápsulas lipídicas

Gómez Lázaro Laura ^{*1}, Pérez López Alexandre¹, Martínez Herrera Karen¹, Martín Sabroso Cristina¹, Aparicio Blanco Juan¹, Torres Suárez Ana Isabel¹

¹Dpto. de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Universidad Complutense de Madrid.

*Correspondencia: lgomez14@ucm.es

1. Introducción

A diferencia de las formas farmacéuticas convencionales, para las nanomedicinas, debido a su tamaño coloidal, no existen protocolos estandarizados que permitan determinar la carga y la liberación del fármaco. Aunque existen diferentes métodos para su determinación (diálisis, centrifugación, métodos de detección in situ, etc.), su predictibilidad es dudosa debido a la dificultad de separar de manera eficaz el fármaco libre de los nanosistemas [1].

En este trabajo se valida un método de ultrafiltración centrífuga para lograr la eficiente separación entre fármaco y sistema coloidal, pudiendo así aplicarlo a la determinación de la carga y la liberación del fármaco de una forma reproducible. Como fármaco se escogió el ibuprofeno y como sistema coloidal nanocápsulas lipídicas (LNCs) con tamaño inferior a 100 nm.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Elaboración de las LNCs: Kolliphor HS15, Labrafac WL 1349, Lipoid[®] S75, agua MiliQ, NaCl e ibuprofeno. Filtros Amicon con una capacidad de retención de 10 KDa (15 mL) y 100 KDa (0,5 y 15 mL).

2.2. Métodos

2.2.1. Estudio de solubilidad del ibuprofeno

Cantidades crecientes de ibuprofeno se incorporaron a 10 mL de medio con dos pH diferentes (7,4 y 5,5). Se agitaron 10 minutos, filtraron y analizaron por HPLC a 214 nm.

2.2.2. Elaboración de LNCs

Se prepararon LNCs blancas y cargadas con ibuprofeno al 10 % (p/p) utilizando el método térmico de inversión de fases [2]. El pH de la fase acuosa se ajustó a 5,5

2.2.3. Validación del método de ultrafiltración centrífuga para la separación del fármaco disuelto de las LNCs

Se emplearon los filtros Amicon, y una fuerza de centrifugación de 11.200 g durante 10 minutos. Ensayos realizados:

- Cuantificación del paso de ibuprofeno en solución: Se utilizó una disolución de 1 mg/ml de ibuprofeno en PBS pH 7,4. El ibuprofeno presente en el filtrado se cuantificó por HPLC.
- Cuantificación del paso de LNCs blancas: Se utilizó una suspensión recién preparada de LNCs blancas. Se analizó el filtrado por espectrofotometría ($\lambda=386$ nm). Se definió una recta de calibrado para calcular el porcentaje de LNCs en una muestra, considerando el 100 % la suspensión de LNCs recién preparada.

- c. Cuantificación del paso de fármaco libre en presencia de LNCs blancas: Se centrifugó una suspensión de LNCs recién preparada a la que se añadió ibuprofeno a una concentración de 1 mg/ml. El ibuprofeno presente en el filtrado se cuantificó por HPLC.

2.2.4. Determinación de eficacia de encapsulación (E.E) de LNCs cargadas con ibuprofeno

Se utilizó la suspensión de LNCs cargadas de ibuprofeno diluidas 1:16 en agua a pH 5,5. La E.E. se calculó como:

$$E.E = 100 - \left(\frac{mg \text{ filtrado}}{mg \text{ iniciales}} \right) * 100$$

2.2.5. Determinación del ibuprofeno liberado a partir de las LNCs

Se utilizó la suspensión de LNCs cargadas de ibuprofeno diluidas 1:16 en PBS a pH 7,4. El ibuprofeno liberado se calculó como:

$$\% \text{ liberado} = \left(\frac{mg \text{ filtrado}}{mg \text{ iniciales}} \right) * 100$$

3. Resultados y discusión

3.1. Estudio de solubilidad del ibuprofeno

La solubilidad del ibuprofeno en PBS fue pH-dependiente, con 4 mg/mL a pH 7,4 frente a 0,072 mg/mL a pH 5,5. En consecuencia, en la formulación de las LNCs con ibuprofeno se ajustó el pH de la fase acuosa a 5,5 a fin de favorecer su encapsulación en la fase oleosa, mientras que en la validación de los estudios de liberación se ajustó el pH del medio externo a 7,4 a fin de garantizar condiciones sink.

3.2. Elaboración de LNCs

La caracterización en términos de distribución de tamaño de partícula de las formulaciones elaboradas se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1: Tamaños medios e índices de polidispersión para las formulaciones de LNCs blancas y cargadas con ibuprofeno.

Formulación	Tamaño medio (nm)	PdI
LNCs blancas	88,0 ± 5,1	0,06 ± 0,04
LNCs cargadas con ibuprofeno	70,4 ± 3,9	0,07 ± 0,02

3.3. Validación del método de ultrafiltración centrífuga para la separación del fármaco disuelto de las LNCs

El porcentaje de fármaco en solución recuperado en el filtrado en ausencia de LNCs fue superior al 90 % con todos los filtros Amicon ensayados (Figura 1). Asimismo, el porcentaje de LNCs en el filtrado fue inferior al 4 % en todos los casos. Por último, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) en el porcentaje de ibuprofeno recuperado en el filtrado en presencia de LNCs blancas frente al obtenido en ausencia de las mismas (Figura 1). No se observaron diferencias en los valores de permeación de ibuprofeno y de LNCs para las dos capacidades de retención molecular ni para los diferentes volúmenes de muestra utilizadas en los filtros Amicon.

3.4. Determinación de la E.E de LNCs cargadas con ibuprofeno

Los valores de E.E fueron superiores al 90 % para los dos tamaños de retención molecular y los dos volúmenes de muestra utilizados (Figura 1).

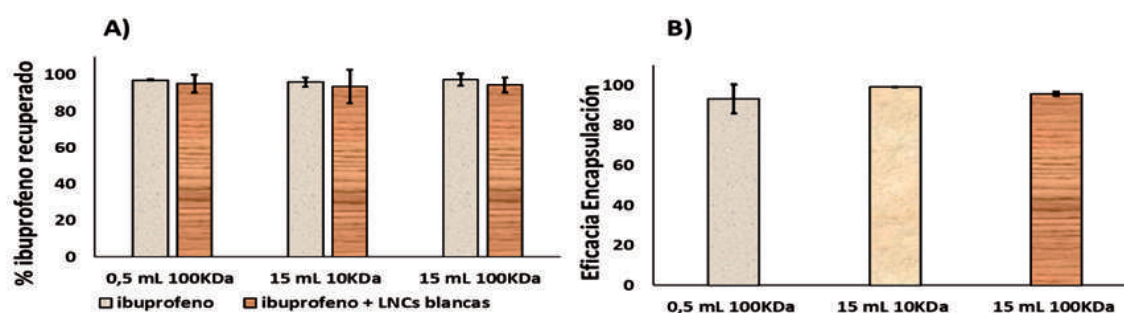


Figura 1. A) % de ibuprofeno en solución recuperado en ausencia y en presencia de LNCs blancas. B) Eficacia de encapsulación de LNCs cargadas al 10 % de ibuprofeno.

3.5. Determinación del ibuprofeno liberado a partir de las LNCs

En contacto con PBS a pH 7,4, las LNCs cedieron un $55,9 \pm 4,3$ % de fármaco, sin existir diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$) entre los distintos filtros utilizados.

4. Conclusiones

La filtración ultracentrífuga con filtros de capacidad de retención de 100 KDa son suficientes para conseguir una separación eficiente entre LNCs y fármaco en solución utilizando velocidades de centrifugación de 11.200 g durante 10 minutos. Asimismo, la técnica anterior es válida para filtros de pequeño volumen (0,5 mL) y de volumen intermedio (15 mL).

Referencias bibliográficas

1. Couvreur P. Nanoparticles in drug delivery: Past, present and future. *Adv Drug Deliv Rev.* 2013;65(1):21–3.
2. Aparicio-Blanco J, Sebastián V, Rodríguez-Amaro M, García-Díaz HC, Torres-Suárez AI. Size-tailored design

Este trabajo debe ser citado como:

Gómez Lázaro L, Pérez López A, Martínez Herrera K, Martín Sabroso C, Aparicio Blanco J, Torres Suárez AI. Validación de un método de ultrafiltración centrífuga que permita evaluar la carga y la liberación de fármacos incorporados en nanocápsulas lipídicas. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):167-9.

Physicochemical considerations of ibuprofen and its sodium salt in different solvents

Peña Fernández M^a Ángeles *, Mathew Barbara, Torres Pabón Norma Sofía

Departamento de Ciencias Biomédicas, U.D. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid.

*Correspondencia: angeles.pena@uah.es

1. Introduction

From a pharmaceutical point of view, one of the most significant actions is the physicochemical information through characterization of the pharmacologically active molecules. This paper deals about characterization of some aspects of racemic compound (R,S)-(\pm)-ibuprofen or (R,S)-(\pm)-2-(4-isobutylphenyl) propionic acid (IBP) and (R,S)-(\pm)-ibuprofen salt, ibuprofen (IBPNa) [1-3], using solvent precipitation method with different types of instrumental analysis, to describe the possible differences detected respect crystallization, polymorphic conversion, desolvation or dehydration [1-3].

2. Methods and materials

IBP and IBPNa were purchased from Sigma-Aldrich and 13 pure solvents were selected, double distilled water, 1,4-dioxane, benzene, 1-pentanol, acetone, chloroform, cyclohexane, absolute ethanol, ethyl acetate, formamide, N,N-dimethyl formamide, N-hexane, N-heptane (spectrophotometric grade. Panreac, Monplet & Esteban), belongs to five different classes, in the ascending order of Hildebrand parameters. Suspensions were prepared adding a small excess of drugs into the solvent selected into a thermostated bath at 25 °C, provided with constant agitation. The solid-state phases were filtered and allowed to recrystallize by spontaneous cooling and evaporation at room temperature. Crystals were stored in the absence of light and in desiccator prior to analysis, so as not to affect the crystal structure or the solvent

retained in the interstices of the network. Differential scanning calorimetry (DSC, Mettler DSC3) and Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR, Perkin Elmer® System 2000FT-IR) determined the polymorphism, crystallinity and drying control of the solid samples. Furthermore, scanning electron microscopy (SEM, Zeiss DSM 950) was used to understand the formation of crystal habit.

3. Results and discussion

Comparing IBP and IBPNa spectrums obtained using FTIR (Fig. 1) there were regions that were identical, such 2, because the presence of a C-O bond, others with slight differences as bond stretching, as in 3 for C=O, overtones in benzene zone 4, and C-H bonds in zone 5. Finally, it was a huge difference in intensity in 6, the O-H bond zone, since its absence in the IBPNa spectrogram [4].

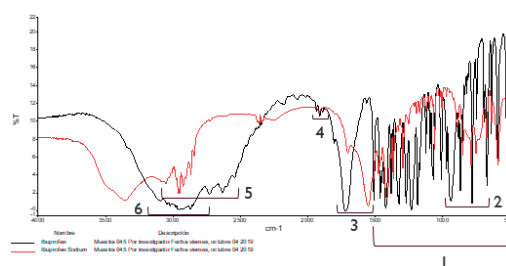


Fig 1. Comparison IBP and IBPNa IR spectrums.

In Table 1 appears the onset (TF, °C) and the molar enthalpy of fusion (ΔH_f , J/mol) of the original powders obtained at different heating rates using DSC, in both cases these peaks

are followed by decomposition caused by the oxidation of organic residue accompanied by a loss of weight, and for IBP the melting point trend slightly increase as the heating rate rise. Purity of 98.5 % and 97.05 % were calculated according Van't Hoff equation with $\Delta H_f = 375$ and 545 kJ/mol for both drugs (Table 1).

Table 1. Onset and molar fusion enthalpy for each drug at different heating rates

Heating rate (°C/min)	IBP		IBPNa		IBPNa	
	Onset, °C	ΔH_f , J/mol	Onset, °C	ΔH_f , J/mol	Onset, °C	ΔH_f , J/mol
5	73.81	333	97.31	549	-	120
10	74.37	371	97.29	510	-	135
20	74.59	375	98.05	-518	172	545

An only sharp event for all samples of IBP, which indicates that, the modified samples are isomorphic with the starting material. These results are in agreement with previous reports indicating that IBP in equilibrium with their saturated solutions in a wide range of solvents exists as a stable crystalline solid exhibiting a typical melting range (75 – 77 °C). In general, salts are characterized by the presence of several peaks, for IBPNa a first endotherm was located at temperatures about 100 °C, are attributed to dehydration of the hydrate, followed by fusion nearby 170 °C (Figs. 2 and 3).

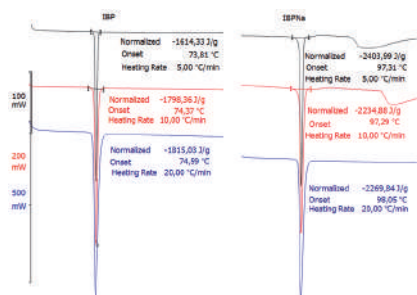


Fig 2. Comparison IBP and IBPNa DSC thermograms (first endothermal event).

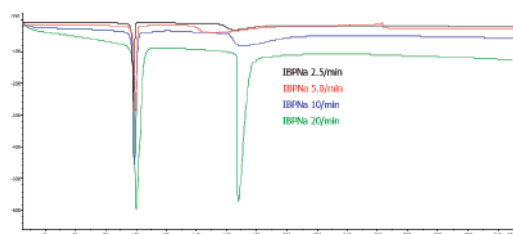


Fig.3. IBPNa thermograms at different heating rates

References

- Jayawardena S, Leyva R, Kellstein D. Safety of a novel formulation of ibuprofen sodium compared with standard ibuprofen and placebo. *Postgrad Med.* 2015;127(1):33-7.

The formation of a hydrate (pseudo polymorphism) was observed in the aqueous solid phase for IBPNa in water (Fig. 4).

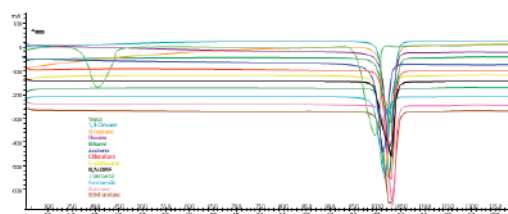


Fig.4. Comparison IBPNa thermograms solid phases in different solvents.

The endothermic event associated with the hydrate disappears when it has been previously heated to 120 °C, but slowly reappears when the anhydrous forms are stored in a humid environment. Salt has a slightly complex decomposition compared to other salts such as diclofenac [5]. When desolvation or dehydration occurs, solvates/hydrates can undergo a phase transition and thus, form non-solvated/anhydrous polymorph or can lose crystallinity and thus, form amorphous. Most strikingly, the melting peak is best evidenced at higher heating rates (Fig. 3).

Finally, these results should be contrasted with the use of new techniques and consider new identifications of polymorphic forms of drug, such as SEM. This technique also provides a qualitative assessment of size, shape, morphology, porosity, size distribution, crystal form. The results are presented using 500 μm resolution, in all cases any significant change was appreciate, as example is included Fig. 5.

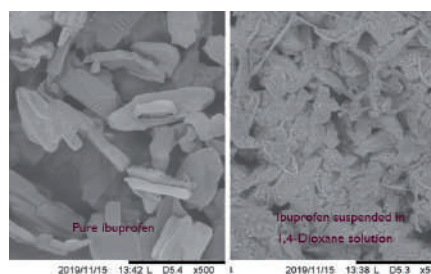


Fig. 5. SEM of IBP and IBP-dioxane.

2. Patrick B, Leyva R, Doyle G, Kellstein D. Onset of analgesia and efficacy of ibuprofen sodium in postsurgical dental pain. A randomized, placebo-controlled study versus standard ibuprofen. *Clin J Pain*. 2015;31(5):444-50.
3. Legg TJ, Laurent AL, Leyva R, Kellstein D. Drugs RD. Ibuprofen sodium is absorbed faster than standard ibuprofen tablets: Results of two open-label, randomized, crossover pharmacokinetic studies. *Drugs R D*. 2014;14(4):283-90.
4. Douglas AS., Holler FJ., Crouch SR. Principios de análisis instrumental. 7ª ed. Madrid. Cengage; 2018.
5. Fini A, Garuti M, Fazio G, Alvarez J, Holgado MA. Diclofenac Salts. I. Fractal and thermal analysis of sodium

Este trabajo debe ser citado como:

Peña Fernández MÁ, Mathew B, Torres Pabón NS. Physicochemical considerations of ibuprofen and its sodium salt in different solvents. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):170-2.

Desarrollo galénico de comprimidos de rosuvastatina cálcica

González Crespo Rocío *, Peña Fernández M^Á Ángeles, Torrado Durán Guillermo

Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá (UAH) Alcalá de Henares, E-28871 Madrid, España.

*Correspondencia: gonzalezcrespo.rocio@gmail.com

1. Introducción

La rosuvastatina cálcica es un fármaco indicado para el tratamiento de la hipercolesterolemia primaria o dislipemia mixta. Es una estatina de alta intensidad que inhibe de forma competitiva la enzima HMG-CoA reductasa disminuyendo los niveles de lipoproteínas LDL de un 50 – 60 %. En consecuencia, disminuye el riesgo de padecer eventos cardiovasculares [1].

La rosuvastatina se administra por vía oral, por lo que existen múltiples factores que afectan a la absorción de este fármaco, solubilidad, permeabilidad, pH y factores de formulación.

Actualmente, más de la mitad de los fármacos se administran en forma de comprimidos orales [2], debido a sus numerosas ventajas sobre otras formas farmacéuticas, en términos de estabilidad, precisión de dosis y facilidad de fabricación, que garantizan la adherencia al tratamiento.

El objetivo principal de este trabajo es el desarrollo de una formulación galénica de comprimidos de rosuvastatina cálcica por el método más simple y económico, la compresión directa, asegurando excelentes propiedades de fluidez, cohesión y lubricación de la mezcla empleada para su elaboración.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Rosuvastatina cálcica (Figura 1); lactosa monohidrato (Guinama); celulosa microcristalina (Vivapur[®] 12, JRS Pharma GmH&CO.K.G.); hidrogeno fosfato de calcio (Emcompress[®],

Fagron Ibérica SAU); crospovidona (PVPP, Sigma-Aldrich) y estearato de magnesio (Guinama).

Máquina de comprimir excéntrica tipo Bonals[®] 40B, con punzones múltiples de diámetro 6,0 mm.

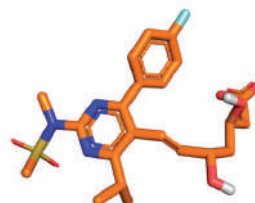


Fig. 1. Rosuvastatina cálcica

2.2. Métodos

La formulación propuesta, después de diferentes ensayos, para la elaboración de los comprimidos de rosuvastatina se describe en la Tabla 1.

Tabla 1. Composición comprimido rosuvastatina cálcica

Rosuvastatina cálcica	20,0 mg (17 %)
Lactosa monohidrato	56,8 mg (47 %)
Celulosa microcristalina	24,0 mg (20 %)
Fosfato de calcio	9,6 mg (8 %)
Crospovidona	6,0 mg (5 %)
Estearato de magnesio	3,6 mg (3 %)
Peso total comprimido = 120,0 mg	

3. Resultados y discusión

Entre los excipientes seleccionados, la lactosa monohidrato es uno de los diluyentes más utilizados por sus buenas propiedades de flujo. En función del grado de cristalización, se pueden encontrar diferentes formas de lactosa cristalina. En la compresión directa se encuentra granulada con pequeñas cantidades de lactosa anhidra; esta mezcla, α -lactosa monohidrato, posee buenas propiedades de flujo y moderada compactabilidad, por lo que

se utiliza en combinación con excipientes que presenten buenas propiedades aglutinantes como la celulosa microcristalina [3]. La celulosa microcristalina (Vivapur® 12) en proporciones del 20% actúa como aglutinante/diluyente en la formulación. Está disponible en tamaños de partícula desiguales y grados de humedad, lo que le confiere distintas propiedades y aplicaciones [4]. En la presente formulación se ha elegido el grado 12, ya que su tamaño de partícula, de aproximadamente 200 µm, le confiere excelentes propiedades de fluidez. El fosfato de calcio (Emcompress®) se utiliza como diluyente en la fabricación de estos comprimidos, presenta buenas propiedades de flujo y compresión, pero es un excipiente abrasivo, por lo que, es necesario la incorporación de un lubricante, como el estearato de magnesio, para la obtención de comprimidos [4].

En la compresión directa se utiliza el fosfato de calcio sin moler, por su buena estabilidad física y química a temperatura ambiente y no es higroscópico. Sin embargo, durante la compresión, estos agregados se rompen, siendo necesario la adición del aglutinante en la fórmula, se aumenta el tamaño de partícula y, en consecuencia, la superficie específica, sin aumento de la porosidad, produciendo mejores propiedades de flujo y compresión [5]. El estearato de magnesio se añade por su excelente acción lubricante, en concentraciones del 0,25

al 5 % [4] y reduce la fricción entre las partículas durante el proceso de compresión. A su vez, sus buenas propiedades antiadherentes, evitan que la formulación quede adherida a los punzones y a la matriz de la máquina de comprimir. Finalmente, la crospovidona (PVPP) es un agente de disolución y superdisgregante que se utiliza a una concentración del 2 al 5 % en comprimidos preparados por compresión directa [4, 6-7]. El tamaño de partícula utilizado, 100 µm, favorece una rápida disgregación del comprimido.

4. Conclusiones

De lo anteriormente expuesto, se deduce la importancia de la correcta selección y cantidad de los excipientes que intervienen en una formulación. La combinación de lactosa monohidrato, celulosa microcristalina y fosfato de calcio, proporcionaron a la mezcla excelentes propiedades de flujo y compactabilidad, a su vez, la incorporación de estearato de magnesio al 3 % evita la fricción entre las partículas favoreciendo el proceso de compresión.

Se concluye que, tanto los excipientes seleccionados y sus proporciones, como el método de elaboración empleado, resultan propicios y con un bajo coste, aspectos de gran valor para la industria farmacéutica.

Referencias bibliográficas

1. Toth PP, Dayspring TD. Drug safety evaluation of rosuvastatin. *Expert Opin Drug Saf.* 2011;10:969-86.
2. Tannebaum EJ. Good design practices for GMP pharmaceutical facilities. 1er ed. New York: Taylor & Francis Group; 2005. Chapter 10, Oral solid dosage facilities; 18 p.
3. Bolhuis GK, Zuurman K. Tableting properties of experimental and commercially available lactose granulations for direct compression. *Drug Dev Ind Pharm.* 1995;21:2057-71.
4. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Handbook of pharmaceutical excipients. 6ª ed. London: APha/Pharmaceutical Press; 2009. 917 p.
5. Arida AI, Al-Tabakha MM, Dababneh BF, Al-Jawad FH, Khanfar MS. Identification of the consolidation mechanisms of Emcompress®. *Jordan J Pharm Sci.* 2008;1:111-25.
6. Hirasawa N, Ishise S, Miyata H, Danjo K. Application of nilvadipine solid dispersion to tablets formulation and manufacturing using crospovidone and methylcellulose as dispersion carriers. *Chem Pharm Bull.* 2004;52:244
7. Gad SC. Pharmaceutical manufacturing handbook: production and processes. 1ª ed. London: Wiley. 2008.

Este trabajo debe ser citado como:

González Crespo R, Peña Fernández MÁ, Torrado Durán G. Desarrollo galénico de comprimidos de rosuvastatina cálcica. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):173-4.

Nuevos hidrogeles para favorecer la cicatrización

Laseca Alejandra¹, Sánchez Dengra Bárbara¹, González Álvarez Isabel¹, Bermejo Marival¹, Merino Sanjuán Virginia², González Álvarez Marta¹

¹ Departamento de Ingeniería, Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, Alicante, 03550, España.

² Departamento de Parasitología y Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Valencia, Burjassot, 46100, Valencia, España.

*Correspondencia: marta.gonzalez@umh.es

1. Introducción

La cicatrización es un proceso biológico natural utilizado para reparar heridas cuando queda comprometida la continuidad de la piel y/o otros tejidos dejando -para el caso de las heridas cutáneas- una cicatriz que puede ser estética o antiestética. Durante el proceso de reparación se lleva a cabo una serie de complejas reacciones bioquímicas que suceden para reparar el daño. Estos fenómenos ocurren con cierto solapamiento temporal y pueden ser divididos para su estudio en las siguientes fases: homeostasis, inflamatoria, proliferativa y de remodelación. Sin embargo, en ocasiones este proceso no se produce de manera correcta. Por este motivo es esencial continuar la búsqueda de nuevas formulaciones que consigan acelerar y mejorar la cicatrización.

El chitosan es un polímero natural muy usado tópicamente en la curación de heridas debido a sus propiedades hemostáticas, antimicrobianas, estimulante de la cicatrización, biocompatible, biodegradable y no tóxico [1]. A estas propiedades se le debe sumar la capacidad de este polímero para ser usado como sistema de liberación sostenida de distintos fármacos [1-3]. Se han realizado numerosos estudios en animales con formulaciones de chitosan en los que se pone de manifiesto los efectos beneficiosos de este polímero, se ha ensayado diferentes modelos animales e incluso se han hecho ensayos clínicos.

Por todo ello, los geles de chitosan con agentes cicatrizantes podrían ser unos buenos candidatos para mejorar la cicatrización y en este trabajo se han obtenido y caracterizado hidrogeles de chitosan cargados con alantoína y gentamicina.

2. Materiales y métodos

2.1. Síntesis de los hidrogeles

Para la preparación del hidrogel disuelve chitosán de peso molecular medio en HCl 0.1 N. Posteriormente se adiciona el principio activo (gentamicina o alantoína) y por último el agente reticulante de tal forma que el porcentaje de entrecruzamiento sea del 275 % y del 550 %. Estos hidrogeles también se obtuvieron vacíos con el fin de caracterizar la nueva formulación.

2.2. Ensayos de liberación

Se cuantifica la liberación del fármaco desde la matriz del hidrogel en un medio a pH 5.5.

2.3. Ensayo de mucoadhesividad

Se prepararon hidrogeles vacíos con un porcentaje de entrecruzamiento del 550 %, se rehidrataron y situaron sobre piel de cerdo en un plano inclinado 45° y se observaron durante 24 horas. Dos hidrogeles se mantuvieron tal cual ("secos") y dos se sometieron a un flujo constante (4 mL/min) con suero fisiológico. Se determinó el tiempo de permanencia del gel sobre la piel.

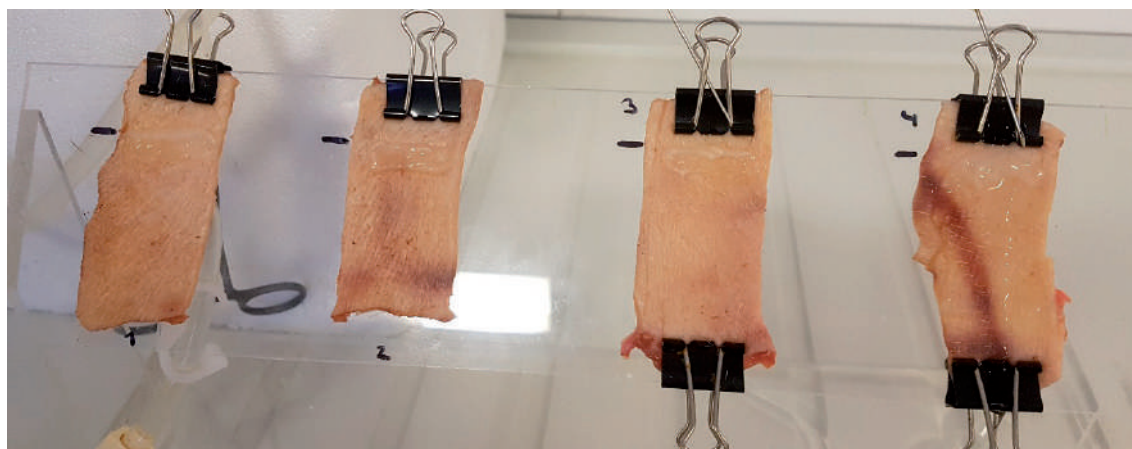


Fig. 2. Montaje del ensayo de mucoadhesividad en plano inclinado

3. Resultados y Discusión

3.1. Ensayos de liberación

Los resultados del perfil de liberación de gentamicina y alantoína se realizan en medio tamponado a pH 5,5. Los resultados indicaron que la nueva formulación permite la liberación controlada de gentamicina y alantoína durante periodos de tiempo prolongados.

3.2. Ensayo de mucoadhesividad

Los resultados indicaron que el gel se adhiere a la piel y permanece adherido durante las 24 horas que duró el ensayo. Sin embargo, el gel se despega frotando durante unos minutos con un algodón.

Este resultado concuerda con los obtenidos para otros hidrogeles de chitosán ya que la

presencia de mucina y otras proteínas favorece la bioadhesión

4. Conclusiones

Los hidrogeles de chitosan son una opción muy conveniente para la obtención de nuevas formulaciones cicatrizantes ya que permiten la liberación prolongada de los ingredientes activos y aumenta el tiempo de residencia

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Agencia Estatal Investigación y la Unión Europea, a través de FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional) con el proyecto: "Modelos in vitro de evaluación biofarmacéutica" [SAF2016-78756 (AEI/FEDER, EU)]. Bárbara Sánchez-Dengra recibió una beca del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España [FPU17/00530].

Referencias bibliográficas

1. St. Denis TG, Dai T, Huang YY, Hamblin MR. Wound-Healing Properties of Chitosan and Its Use in Wound Dressing Biopharmaceuticals. En: Chitosan-Based Systems for Biopharmaceuticals. John Wiley & Sons, Ltd, 2012:429-50.
2. Kumar PT, Lakshmanan VK, Anilkumar TV, Ramya C, Reshmi P, Unnikrishnan AG, et al. Flexible and microporous chitosan hydrogel/nano ZnO composite bandages for wound dressing: in vitro and in vivo evaluation. ACS Appl Mater Interfaces 2012;4(5):2618-29.
3. Weng L, Romanov A, Rooney J, Chen W. Non-cytotoxic, In Situ Gelable Hydrogels Composed of N-carboxyethyl Chitosan and Oxidized Dextran. Biomaterials. 2008;29(29):3905-13.

Este trabajo debe ser citado como:

Laseca A, Sánchez Dengra B, González Álvarez I, Bermejo M, Merino Sanjuán V, González ÁM. Nuevos hidrogeles para favorecer la cicatrización. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):175-6.

Nucleolípido incorporado en liposomas funcionalizados con nanopartículas de oro y sensibles a estímulos de pH y temperatura para liberación controlada de doxorubicina

García Mónica C.^{*1,2,3}, Calderón Montaña José Manuel⁴, Rueda Manuela⁵, Longhi Marcela^{1,2}, Rabasco Antonio María³, López Lázaro Miguel⁴, Prieto Dapena Francisco⁵, González Rodríguez María Luisa³

¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Ciudad Universitaria, Haya de la Torre y Medina Allende, Ed. Cs. II, X5000HUA Córdoba, Argentina.

² Unidad de Investigación y Desarrollo en Tecnología Farmacéutica, CONICET, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, UNITEFA, X5000HUA Córdoba, Argentina

³ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González 2, 41012 Sevilla, España.

⁴ Departamento de Farmacología, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González 2, 41012 Sevilla, España.

⁵ Departamento de Química-Física, Facultad de Química, Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González s/n, 41012 Sevilla, España.

*Correspondencia: mgarcia@unc.edu.ar , malugoro@us.es

1. Introducción

Los liposomas (Lip), fueron el primer tipo de sistema de liberación de fármacos de base nanotecnológica, reportado en los años 70. Desde entonces, han sido ampliamente estudiados y se consideran una de las herramientas más útiles para desarrollar nanosistemas orientados al transporte y liberación de fármacos [1]. Además, los Lip pueden ser funcionalizados con nanopartículas de oro (AuNPs), de utilidad en el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

El gradiente de pH existente entre los tejidos y fluidos normales en comparación con los tejidos tumorales, sumado al metabolismo rápido que presentan las células tumorales, el cual genera hipertermia, ha motivado, en los últimos años, el desarrollo de Lip con capacidad de responder a cambios de pH o temperatura como nanosistemas portadores de fármacos anticancerígenos [2].

Recientemente, los nucleolípidos se han

estudiado como materiales constituyentes de los Lip. Las estructuras supramoleculares que incorporan nucleolípidos presentan capacidades de reconocimiento molecular hacia la base complementaria del ADN, lo que las hace útiles como nanosistemas para el transporte y liberación de fármacos, particularmente contra el cáncer [3].

En este trabajo presentamos, por primera vez, la incorporación del nucleolípido (1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-(citidina difosfato)) (DP-CDP) en Lip constituidos por dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) y colesterol, los cuales fueron, posteriormente, decorados con AuNPs PEGiladas y cargados con doxorubicina (Dox), con vistas a su aplicación en la nanomedicina del cáncer.

2. Materiales y métodos

Previo al desarrollo de los Lip, se analizaron termodinámicamente las isotermas de Langmuir

en monocapas lipídicas mixtas con el fin de determinar la composición óptima de DPPC y DG-CDP, y la proporción de colesterol a utilizar.

2.1. Obtención de los AuNPs-Lip-Dox

Los Lip fueron obtenidos mediante rehidratación del film lipídico. Se utilizaron cantidades predeterminadas de DPPC, DG-CDP y colesterol en proporción 94:3:3 mol %. La encapsulación de Dox se realizó mediante carga remota por gradiente de pH transmembrana utilizando $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Los Lip y Lip-Dox se funcionalizaron con AuNPs PEGiladas cargadas positivamente.

2.2. Caracterización de los AuNPs-Lip-Dox

Se evaluó el diámetro hidrodinámico (Dh), índice de polidispersión (PDI), potencial electrocinético (Z), eficiencia de encapsulación (EE%), morfología por FE-SEM, liberación de Dox en celdas de Franz (medios receptores: solución tampón de fosfatos pH 7,4 y acetato pH 5, simulando condiciones fisiológicas y microambiente tumoral, respectivamente) a 37 °C y 42 °C, temperaturas fisiológicas y de hipertermia, respectivamente). Se analizaron las cinéticas y mecanismos de liberación. Se evaluó la actividad biológica antitumoral frente a células de cáncer de mama y ovario (MDA-MB-231 y SK-OV-3, respectivamente).

3. Resultados y Discusión

Los Lip presentaron Dh entre 400 y 650 nm con PDI aceptables ($\leq 0,35$). El anclaje de las AuNPs o la incorporación de la Dox incrementaron el Dh comparado con los Lip blanco, lo que se corresponde con un aumento de la complejidad del sistema [4]. El anclaje de las AuNPs PEGiladas se hizo por complejación debido al Z negativo conferido por los grupos fosfato del DG-CDP. Los Lip blanco y cargados con Dox, antes y después de la funcionalización con las AuNPs, presentaron Z negativos (-23 - -6,6 mV). Sin embargo, el anclaje de las AuNPs produjo un aumento en el Z de ambas muestras.

Referencias bibliográficas

1. Large DE, Abdelmessih RG, Fink E, Auguste DT. Liposome composition in drug delivery design, synthesis, characterization, and clinical application. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2021;113851.

Lip-Dox presentó una mayor encapsulación de Dox (EE=82 %) comparado con AuNPs-Lip-Dox (EE=78 %), lo que se explica por la desestabilización que pueden inducir las AuNPs en la bicapa de los Lip, facilitando la pérdida de parte de la Dox encapsulada [5].

El análisis mediante FE-SEM mostró que los Lip presentaron forma aproximadamente esférica, en la escala nanométrica, con tamaños comparables a los observados mediante espectroscopía de correlación fotónica.

Los Lip con y sin funcionalización con AuNPs modularon la liberación de Dox en todos los medios evaluados, siendo la difusión del fármaco el principal mecanismo de liberación. En el medio ácido y en condiciones de hipertermia se produjo una activación de la liberación, demostrando la capacidad de los sistemas liposomales para responder a ambos estímulos. La sensibilidad frente a estos estímulos fue más marcada en el sistema AuNPs-Lip-Dox.

La Dox encapsulada en los Lip preservó su actividad antiproliferativa contra las células tumorales evaluadas, presentando una eficacia comparable a la exhibida por Dox pura.

4. Conclusiones

Los Lip desarrollados incorporaron adecuadamente el nucleolípido y la Dox, exhibieron respuesta frente a ambos estímulos (pH y temperatura) y presentaron propiedades prometedoras para ser utilizados en la nanomedicina del cáncer.

Agradecimientos

El trabajo fue financiado por el Ministerio de Ciencia e Innovación de España (CTQ2014-57515-C2-1), la Junta de Andalucía (FQM202 y CTS214), CITIUS y el VI Plan Propio de la Universidad de Sevilla. García MC agradece a la beca AUIP por la beca concedida, y a la UNC y CONICET, Argentina.

2. Franco MS, Gomes ER, Roque MC, Oliveira MC. Triggered Drug Release From Liposomes: Exploiting the Outer and Inner Tumor Environment. *Frontiers in Oncology*. 2021;11:470.
3. Barthélemy P. Nucleoside-based lipids at work: From supramolecular assemblies to biological applications. *Comptes Rendus Chimie*. 2009;12(1-2):171-179.
4. Abraham SA, Waterhouse DN, Mayer LD, Cullis PR, Madden TD, Bally MB. The liposomal formulation of doxorubicin. *Methods in enzymology*. Vol 391. Elsevier; 2005. p. 71-97.
5. Ghosh P, Han G, De M, Kim CK, Rotello VM. Gold nanoparticles in delivery applications. *Advanced Drug*

Este trabajo debe ser citado como:

García MC, Calderón Montaña JM, Rueda M, Longhi M, Rabasco AM, López Lázaro M, Prieto Dapena F, González Rodríguez ML. Nucleolípido incorporado en liposomas funcionalizados con nanopartículas de oro y sensibles a estímulos de pH y temperatura para liberación controlada de doxorubicina. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):177-9.

Estudios sobre el tipo de adsorción y morfología de sistema híbrido a base de sistema vesicular lipídico y mineral de arcilla

Piñar Corral Sergio^{*1}, Orta Cuevas María del Mar², Medina Carrasco Santiago³, Rabasco Antonio María¹, González Rodríguez María Luisa¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Calle Profesor García González, 2. 41012 Sevilla

² Departamento de Química Analítica, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, Calle Profesor García González, 2. 41012 Sevilla

³ Laboratorio Rayos X (CITIUS), Universidad de Sevilla, E-41012. Sevilla, España.

*Correspondencia: sergiopincor@gmail.com

1. Introducción

Los sistemas de administración de fármacos se desarrollan como vehículos de principios activos, ofreciendo características que mejoran actividad terapéutica, biodisponibilidad y reducen efectos secundarios indeseables [1]. Las arcillas de tipo silicato laminar muestran capacidades de adsorción e hinchamiento debido a sus estructuras, demostrando su capacidad de interactuar con fármacos [2]. Actualmente, se diseñan nanoestructuras constituidas por sistemas vesiculares lipídicos (liposomas), adsorbidos en arcillas minerales, sintetizando sistemas binarios con el fin de mejorar la estabilidad de la vesícula lipídica y mantener su integridad [3].

En base a estudios previos sobre distintos tipos de vesículas lipídicas y arcillas, el objetivo del trabajo es verificar tipo de adsorción del liposoma en una arcilla mineral.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Arcilla silicato laminar natural, Montmorillonita, MTT (Castiglioni Pes y Cia); Cloroformo (Panreac); Colesterol, α -Fosfatidilcolina de huevo, Octadecilamina y Metanol (Labbox-Labkem).

2.2. Metodología

A) Formulación de liposomas catiónicos (+) mediante técnica de evaporación en capa fina [4] y formación del sistema binario MTT-liposomas con medio artificial PBS 7.4, agitando en vórtex durante 1 minuto.

B) Verificar formación del complejo mediante ensayo de transmitancia (espectrofotómetro UV-vis, Agilent), realizando medidas sucesivas de las muestras durante 1 hora y media. El ensayo tuvo dos partes; parte 1 hasta los 50 minutos y parte 2, a los 50 minutos se agitó la muestra para llevar al máximo la capacidad de adsorción entre ellos.

C) Parámetros de distribución de tamaños (diámetro hidrodinámico e índice de polidispersión), y carga superficial, que se determinaron mediante un Zetasizer Nano-S.

D) Difracción Rayos X (R-X) empleando un difractómetro Bruker D8 Advance A25.

E) Morfología. Muestras visualizadas mediante Microscopía electrónica de emisión de campo (FE-SEM Hitachi S5200) y TEM (Zeiss Libra 120).

3. Resultados y Discusión

Estudios previos de transmitancia y caracterizaciones fisicoquímicas llevados a cabo en lipo-

somas con distinta carga superficial mostraron que los liposomas catiónicos interaccionan con diferentes arcillas, siendo la MTT, junto con el medio artificial PBS 7.4, los más adecuados para sintetizar una formulación estable [5].

La Figura 1 muestra la evolución de la sedimentación del sistema binario MTT-liposoma (+). En una segunda parte del ensayo, se observa el aumento de la transmitancia (incremento de la pendiente), y con ello, la sedimentación del complejo. La caracterización fisicoquímica del sistema binario se analizó a través de tamaño (nm), PDI, Potencial Z (mV) y pH. La Tabla 1. a), muestra un tamaño algo más pequeño de la MTT-liposoma (+) respecto a la MTT y PDI más heterogéneo mostrando la posible formación de complejos de distintas poblaciones. La Tabla 1.b) muestra valores de pH y potencial Z del sistema binario, el cual es de carácter negativo, correspondiente a la carga negativa total de la MTT [2]. Asimismo, se realizó un estudio de la evolución de la carga superficial a lo largo del tiempo que muestra al principio una carga total positiva y avanzando en el ensayo, el potencial Z se torna a negativo indicando que produce interacción en el tiempo los liposomas (+) con la MTT.

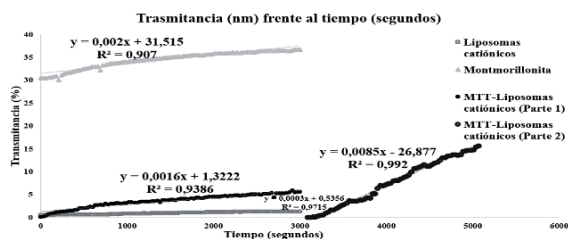


Figura 1. Valores de transmitancia frente al tiempo de MTT, liposoma (+) y MTT-liposoma (+).

Tabla 1. a) Tamaño y PDI de los materiales. b) pH y Potencial Z de los materiales.

a)	Tamaño (nm)	SD	PDI	SD
MTT	2565	33.87	0.24	0.03
Lipos (+)	1199	23.03	0.17	0.11
MTT-Li-pos (+)	2239	34.02	0.22	0.04
b)	pH	SD	Potencial Z	SD
MTT	7.43	0.02	-21.33	0.06
Lipos (+)	7.39	0.02	22.77	1.53
MTT-Li-pos (+)	7.4	0.03	-20.5	1.15

La Figura 2 muestra resultados de R-X, los cuales reflejan interacción de los componentes de liposomas en la superficie de la arcilla mineral [6]. Los resultados morfológicos para determinar el lugar de adsorción del liposoma en la arcilla mineral muestran la estructura interlamina de la MTT (Figura 3.a), liposoma (+) (Figura 3.b) y MTT-liposoma (+) (Figura 3.c), con una aparente morfología irregular. La MTT y liposomas pueden formar esas estructuras por las interacciones entre ambos.

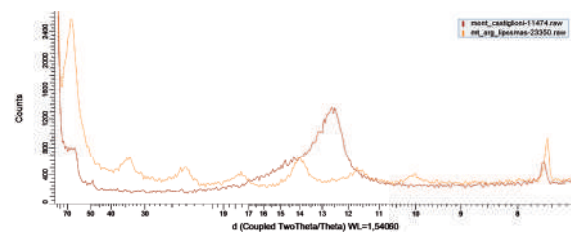


Figura 2. R-X de la MTT y MTT-liposoma catiónico.

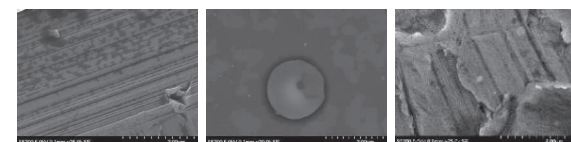


Figura 3. Imágenes de las formulaciones al FE-SEM. a) MTT b) Liposomas (+) c) MTT-Lipos (+)

4. Conclusiones

Estos resultados dan idea de la interacción y adsorción entre los materiales indicando que ésta podría deberse a interacciones electrostáticas entre cargas superficiales del sistema binario MTT-liposoma catiónico [7]. Ello obliga a continuar con estudios para analizar cómo esta interacción afecta a la estabilidad y mecanismo de conservación del sistema.

Agradecimientos

VI Plan Propio de la US. Laboratorio Rayos X del Centro de Investigación, Transferencia e Innovación de la US. Proyecto 640000 de FIUS.

Referencias bibliográficas

1. Davoodi P, Lee Y, Xu Q, Sunil V, Sun Y, Soh S, Hwang C-H. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;132: 104-38.
2. Borrego-Sánchez A, Carazo E, Aguzzi C, Viseras C, Sainz-Díaz CI. *Appl Clay Sci.* 2018;160: 173-9.
3. Zhang Y, Wu X, Mi Y, Li H, Hou W. *J Phys Chem Solids.* 2017;108:125-32.
4. García E, Cózar-Bernal MJ, Rabasco AM, González-Rodríguez ML. *J Microencapsul.* 2018;35(4):357-71.
5. Piñar S, González-Rodríguez ML, Medina-Carrasco S, Orta-Cuevas MM. Lipid vesicle-clay binary systems: preliminary studies about the interaction mechanism of charged-liposomes in the presence of clay particles. XI Foro Internacional CISDEM; octubre 2018; Pamplona, España.
6. Sánchez-Verdejo, T, Undabeytia, T, Nir S, Maqueda C, Morillo E. *Environ Sci Technol.* 2008;42(15):5779-84.
7. García-Villén F, Carazo E, Borrego-Sánchez, A, Sánchez-Espejo R, Cerezo P, Viseras C, Aguzzi, C. Clay minerals in drug delivery systems. En: Mercurio M, Sarkar B, Langella A, editores. *Modified clay and zeolite nanocomposite materials.* Elsevier; 2019. p. 129-66.

Este trabajo debe ser citado como:

Piñar Corral S, Orta Cuevas MM, Medina Carrasco S, Rabasco AM, González Rodríguez ML. Estudios sobre el tipo de adsorción y morfología de sistema híbrido a base de sistema vesicular lipídico y mineral de arcilla. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):180-2.

Estudio de diferentes proporciones de chitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos

Guarnizo Herrero Víctor ^{*1}, Torrado Salmerón Carlos², Torrado Durán Santiago²

¹ Departamento de Ciencias y Tecnologías Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Sergio Livingston P. 1007. Santiago de Chile.

² Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. Madrid 28040.

*Correspondencia: victor08@ucm.es

1. Introducción

La combinación de diferentes proporciones de chitosán (CS) y carboximetilcelulosa (CMC) permite desarrollar complejos polielectrolitos que nos permiten la liberación sostenida de fármacos. El objetivo de este estudio es crear comprimidos con diferentes proporciones de (CS) y (CMC) que permitan obtener diferentes perfiles de liberación sostenida de Claritromicina (CL). La (CL) es un antibiótico oral de amplio espectro pero que está en la primera línea de tratamiento para el *Helicobacter pylori*. La (CL) es poco soluble (Clase II) y su solubilidad depende del pH del medio. Los sistemas de liberación sostenida podrían mejorar la eficacia frente al tratamiento del *Helicobacter pylori*.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Chitosán de alto peso molecular (CS) y carboximetilcelulosa sódica (CMC) de alta viscosidad se adquirieron de Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE. UU.). La claritromicina (CL) fue proporcionada por Normon Pharmaceutical Co., Ltd (Madrid, España). Todos los demás reactivos y productos químicos utilizados fueron de calidad analítica.

2.2. Elaboración de comprimidos de Claritromicina

Se mezcló en mortero la cantidad del principio activo con las diferentes proporciones de CL,

CS y celulosa en proporciones: CL: (CS) 80: (20), 60: (40), 40: (60). Y comprimidos con complejos polielectrolíticos conteniendo diferentes proporciones de CL: (CS: CMC) 80: (18: 2), 80: (10:10), 40: (54: 6) y 40 : (30:30). El peso de los comprimidos se ajustó a 50 mg y 40-80 N de dureza.

2.3. Estudios de liberación *in vitro*

La evaluación se realizó en un baño de disolución (Vankel® VK 700). Se siguió método USP en aparato tipo II a 37 °C, con una velocidad de rotación de 50 rpm y 500 mL de tampón acetato (pH 4.2). Se extraen muestras de 5 mL a los tiempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 min y se filtró a través de un filtro de 0,45 µm (Acrodisc®; Nueva York, EE. UU.). La cantidad de claritromicina se determinó mediante método HPLC.

2.4. Evaluación de los complejos polielectrolitos

Los resultados se analizaron de acuerdo con la ecuación de Korsmeyer-Peppas para $M_t / M_\infty < 0,6$, que se expresan mediante la siguiente ecuación: $M_t / M_\infty = K_d t^n$. Donde M_t / M_∞ es la fracción de fármaco liberada en el tiempo t (h), K_d (h⁻¹) es la constante de disolución y n es un exponente de difusión característico de la liberación en función del tiempo t . Para las evaluaciones matemáticas, caracterizamos la cinética de liberación del fármaco ajustando la liberación estándar al modelo de orden cero [2,3].

3. Resultados y Discusión

La Figura 1 muestra los perfiles de liberación de CL obtenidos en los comprimidos de CL:(CS) y en los complejos polielectrolíticos CL:CS:CMC).

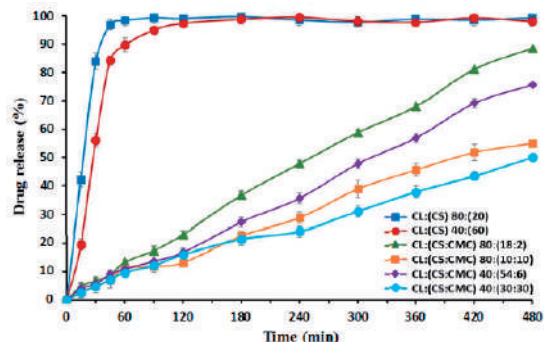


Fig.1: Perfiles de liberación de comprimidos de claritromicina: CL:(CS) 80:(20), 40:(60), CL:(CS:CMC) 80:(18:2), 80:(10:10), 40:(54:6), and 40:(30:30) a (pH 4.2).

Los comprimidos sin CMC experimentaron una liberación muy rápida mientras que altas proporciones CS / CMC en CL: (CS:CMC) 40: (30:30) dio como resultado una estructura densa de complejos polielectrolitos con un modelo cinético que podría atribuirse a una liberación más sostenida.

La figura 2 muestra los resultados del modelo cinético de Korsmeyer-Peppas y de un ajuste cinético de orden cero para los comprimidos: CL:(CS:CMC) 80: (18:2), 40: (54:6), 80: (10:10) y 40: (30:30). Estos resultados indican la existencia de un núcleo de comprimido rodeado por una capa de hidrogel formada por cadenas de CS. La expansión del hidrogel se ve favorecida por la repulsión entre las cargas catiónicas de CS. La presencia de CMC en la matriz dificulta la expansión de las cadenas CS y retrasa la entrada del medio de disolución.

Referencias bibliográficas

1. Panahi, Y.; Gharekhani, A.; Hamishehkar, H.; Zakeri-Milani, P.; Gharekhani, H. Stomach-specific drug delivery of clarithromycin using a semi interpenetrating polymeric network hydrogel made of montmorillonite and chitosan: Synthesis, characterization and in vitro drug release study. *Adv Pharm Bull.* 2019;9(1):159-73.
2. Ata, S.; Rasool, A.; Islam, A.; Bibi, I.; Rizwan, M.; Azeem, M.K.; Iqbal, M.. Loading of Cefixime to pH sensitive chitosan based hydrogel and investigation of controlled release kinetics. *Int J Biol Macromol.* 2020;155:1236-44.
3. Wang, F.; Li, J.; Tang, X.; Huang, K.; Chen Polyelectrolyte three layer nanoparticles of chitosan/dextran sulfate/chitosan for dual drug delivery. *Colloids Surf. B Biointerfaces.* 2020;190:110925.

Este trabajo debe ser citado como:

Guarnizo Herrero V, Torrado Salmerón C, Torrado Durán S. Estudio de diferentes proporciones de chitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):183-4.

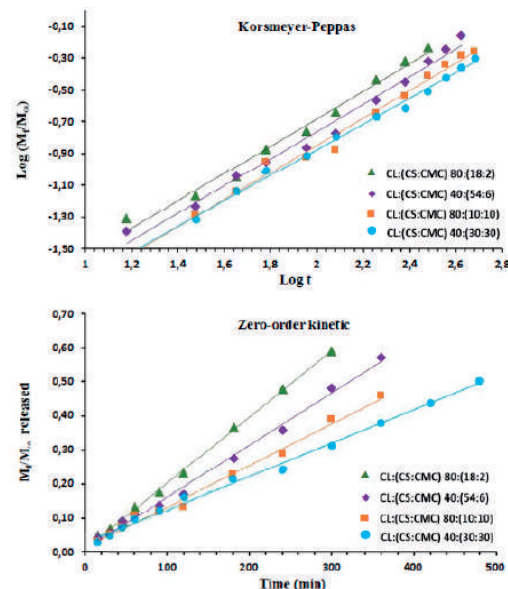


Fig.2: Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas y de orden cero aplicado para la liberación de claritromicina en comprimidos CL: (CS: CMC) 80: (18: 2), 40: (54: 6), 80: (10:10) y 40: (30:30).

4. Conclusiones

Los comprimidos matriciales conteniendo complejos interpolímeros CS/CMC son un sistema fácil y rápido para desarrollar sistemas de liberación sostenida de distintos fármacos.

Los complejos polielectrolíticos de CL: (CS:CMC) 80: (18:2), contienen una baja interacción CS/CMC y producen una expansión significativa de las cadenas de CS que se ajusta a un modelo cinético con una rápida liberación.

Los complejos polielectrolíticos de CL: (CS:CMC) 40: (30:30), presentan altas proporciones CS/CMC producen una estructura interpolimérica densa con un modelo cinético que se ajusta a una liberación más sostenida.

Influencia del método de encapsulación en las propiedades de eritrocitos portadores de fármacos

Gutiérrez Millán Carmen^{*1,2}, Báñez Díaz Celia², Colino Gandarillas Clara Isabel^{1,2}

¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca

² Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca.

*Correspondencia: carmengutierrez@usal.es

1. Introducción

Los sistemas portadores de fármacos basados en eritrocitos, tienen numerosas aplicaciones tanto en terapéutica como en diagnóstico, ya que presentan ventajosas propiedades de biocompatibilidad, biodegradabilidad y prolongados tiempos de permanencia en el organismo.

Si bien pueden incluir en su interior amplia variedad de moléculas de diferente naturaleza y tamaño, las modificaciones en los procesos de carga pueden comprometer su viabilidad al alterar sus propiedades originales, provocando un mayor reconocimiento y retirada de los eritrocitos cargados por el sistema monocito macrófago [1]. Entre los distintos métodos de encapsulación destacan indudablemente los basados en fenómenos de ósmosis.

Nuestro grupo presenta una amplia experiencia en la encapsulación de fármacos mediante diálisis hipotónica, y ha preparado sistemas de administración de distintos fármacos antiinfecciosos basados en eritrocitos [2, 3].

El presente trabajo plantea la posibilidad de reproducir dichos sistemas simplificando el procedimiento de encapsulación. Para ello se ha desarrollado un método de dilución hipotónica para la encapsulación de estavudina como fármaco modelo, comparando los eritrocitos cargados con los obtenidos por el método de diálisis hipotónica habitualmente utilizado.

2. Materiales y métodos

2.1. Encapsulación de fármaco en eritrocitos humanos

Eritrocitos procedentes de concentrados de hematíes humanos del centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León fueron sometidos al procedimiento de diálisis (Figura 1) o al procedimiento de dilución hipotónica con objeto de conseguir la encapsulación del fármaco (Figura 2).

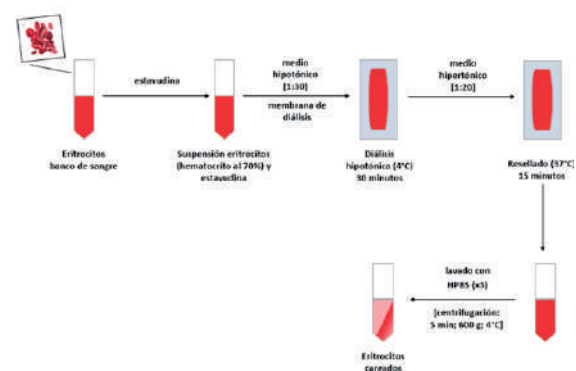


Fig. 1. Esquema del método de encapsulación basado en la diálisis hipotónica.

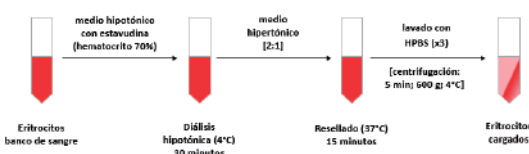


Fig. 2. Esquema del método de encapsulación basado en la dilución hipotónica.

2.2. Evaluación de la eficacia de encapsulación

El fármaco encapsulado se cuantificó mediante un método de HPLC previamente validado, y se calculó la eficacia de encapsulación como el porcentaje de fármaco encapsulado respecto a la concentración inicial disponible para su entrada en los eritrocitos.

2.3. Evaluación de la fragilidad osmótica

Los eritrocitos cargados y sin cargar se enfrentaron a disoluciones de NaCl de osmolalidades decrecientes (0,9-0 % de NaCl v/v) y se cuantificó por espectrofotometría la hemoglobina liberada. Las curvas de fragilidad osmótica se ajustaron utilizando el software GraphPad Prism y el índice de fragilidad osmótica se estimó como la concentración del NaCl que produciría un 50 % de hemólisis conforme a la ecuación de la curva.

3. Resultados y Discusión

La tabla 1 muestra concentración media en eritrocitos cargados y la eficacia de encapsulación obtenidas para ambos métodos.

Tabla 1. Concentración encapsulada y eficacia de encapsulación del fármaco.

Método de encapsulación	Estavudina encapsulada (mg/mL)	Eficacia (%)
Diálisis	0,395 ± 0,219	11,95 ± 6,13
Dilución	0,279 ± 0,104	7,82 ± 2,92

Los valores de fármaco encapsulado no revelan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$) entre los dos métodos, por lo que se puede afirmar que el método de dilución puede dar lugar a resultados de encapsulación similares al basado en la diálisis.

Referencias bibliográficas

1. Hamidi M, Zarrin A, Foroozesh M, Mohammadi-Samani S. Applications of carrier erythrocytes in delivery of biopharmaceuticals. *J Control Release*. 2007;118(2):145-60.
2. Gutiérrez Millán C, Bax BE, Castañeda AZ, Marinero ML, Lanao JM. In vitro studies of amikacin-loaded human carrier erythrocytes. *Transl Res*. 2008 Aug;152(2):59-66.
3. Briones E, Colino CI, Lanao JM. Study of the factors influencing the encapsulation of zidovudine in rat erythrocytes. *Int J Pharm*. 2010 Nov 30;401(1-2):41-6.

Este trabajo debe ser citado como:

Gutiérrez Millán C, Báñez Díaz C, Colino Gandarillas Clara I. Influencia del método de encapsulación en las propiedades de eritrocitos portadores de fármacos. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):185-6.

Las curvas de fragilidad osmótica (Figura 3) de los eritrocitos cargados reflejan un mayor desplazamiento hacia la izquierda de la curva de eritrocitos cargados mediante el procedimiento basado en la dilución hipotónica, que el observado para los cargados por el método de diálisis, así como menor valor del índice de fragilidad osmótica estimado, tal y como se recoge en la Tabla 2.

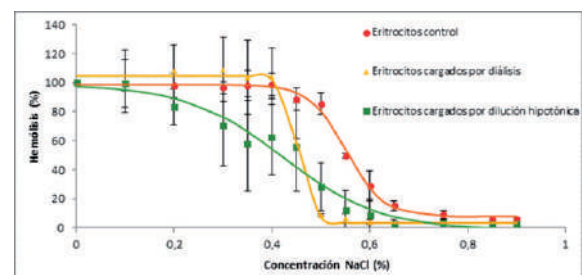


Fig. 3. Curvas de fragilidad osmótica.

Tabla 2: Índices de fragilidad osmótica de los eritrocitos control y cargados por ambos métodos.

Eritrocitos control	Diálisis	Dilución hipotónica
0,56	0,46	0,42

4. Conclusiones

Los resultados de encapsulación obtenidos con ambos métodos no reflejan diferencias estadísticamente significativas, lo cual confirma la posibilidad de simplificar el método de obtención de eritrocitos portadores. Los estudios de fragilidad osmótica parecen revelar mayores alteraciones tras la aplicación del procedimiento de dilución hipotónica, por lo que, si bien los resultados son alentadores, este método deberá estudiarse con mayor profundidad para su optimización.

Hydroxyapatite and graphene oxide on nanocellulose-alginate ink for 3D bioprinting and bone regeneration

Lafuente Merchan Markel ^{*1,2,3}, Ruiz Alonso Sandra ^{1,2,3}, Saenz Del Burgo Laura ^{1,2,3}, Pedraz Jose Luis ^{1,2,3}

¹ NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain.

² Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain.

³ Bioaraba, NanoBioCel Research Group, E-01009 Vitoria-Gasteiz, Spain.

*Correspondencia: marklafu@gmail.com

1. Introduction

The incidence of bone-related diseases has been increasing due to aging of the population. Up to now, therapeutic approaches have been focused on graft and titanium implants, which have been associated with infection, pain and implant rejection [1]. Tissue engineering has become a promising treatment due to the use of scaffolds, which are designed to imitate as closely as possible the native tissue. In addition, three-dimensional (3D) bioprinting has become an emerging additive manufacturing technology in tissue engineering because of its rapid prototyping capacity and the possibility of creating complex structures [2].

This study is focused on the development of nanocellulose-alginate (NC-Alg) based bioinks for 3D bioprinting for bone regeneration. Furthermore, hydroxyapatite (HAP) and graphene oxide (GO) were incorporated as they are biocompatible, bioactive and osteoconductive materials [3].

2. Materials and methods

2.1. Bioink fabrication

To prepare NC-Alg-HAP bioink, Alg and HAP were dissolved in a D-mannitol solution to make an initial 10 % (w/v) and 5 % (w/v) solution, respectively. Then, NC was added. The final bioink proportion of NC:Alg-HAP was 80:20 (v/v). In order to prepare the NC-Alg-GO bioink, Alg

and GO were dissolved in a D-mannitol solution to make an initial 10 % (w/v) and 250 µg/mL solution, respectively. Then, NC was added, being the final bioink proportion of NC:Alg-GO 80:20 (v/v).

2.1. Bioink characterization: Rheology

Two rheological procedures were carried out. Oscillation frequency sweeps from 0.1 to 100 Hz were established to study the bioink storage modulus (G') and the loss modulus (G''). The viscosity value was evaluated through shear rate sweep from 0.1 to 100 s⁻¹ followed by a second sweep from 100 to 0.1 s⁻¹.

2.3. 3D Bioprinting

Circular grid-like scaffolds were bioprinted using a 27 G conical nozzle at 30-32 kPa extrusion pressure and 4 mm/s printing speed. After printing, scaffolds were cross-linked with 100 mM CaCl₂ solution.

2.4. Scaffold characterization

Scaffolds superficial and inner structures were examined by electron microscope. Then, swelling and degradation studies were performed.

2.5. Biological analysis

Cytotoxicity study was assayed using mouse L929 fibroblasts according to ISO 10993-5-2009. Murine D1 mesenchymal stem cells (D1-MSCs) were embedded in bioinks to evaluate cell viability and metabolic activity after bioprinting.

3. Results and Discussion

NC-Alg-HAP and NC-Alg-GO bioinks rheological frequency sweep measurements showed a higher storage modulus (G') than the loss modulus (G''), indicating an elastic solid-like behaviour. The viscosity curves showed a viscosity decrease under shear rate and an increase of viscosity when shear rate returned to initial values, indicating a shear thinning behaviour bioinks with thixotropic properties (Fig 1). These rheological properties suggested good printability through the extrusion bioprinter. No rheological differences were observed comparing to the control bioink (NC-Alg bioink).

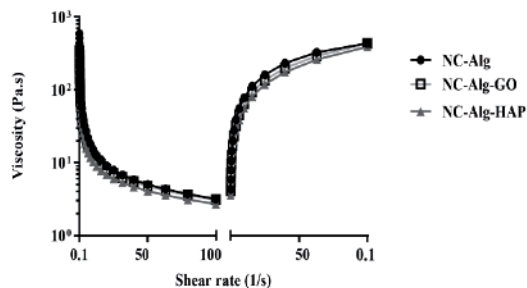


Fig. 1. Rheological properties. Viscosity curves of NC-Alg-HAP and NC-Alg-GO bioinks. NC-Alg bioink was used as a control.

The study on the scaffolds surface and structure demonstrated a good resolution and porous inner structure. In the swelling study water uptake by both printed scaffolds increased over the time until they reached the equilibrium, whereas degradation profiles showed little scaffolds area loss during the 10 days of study. Finally, cytotoxicity study demonstrated that bioinks were no cytotoxic as cell viability was above 70 % in

References

1. Zhang B, Hongyu L, Brochlausen C, He L, et al. Surface-decorated hydroxyapatite scaffold with on-demand delivery of dexamethasone and stromal cell derived factor-1 for enhanced osteogenesis. *Materials Science & Engineering C*. 2018;89:355-70.
2. Derakhshanfar S, Mbeleck R, Xu K, et al. 3D bioprinting for biomedical devices and tissue engineering: A review of recent trends and advances, *Bioactive Materials*. 2018;3:144-56.
3. Li M, Xiong P, et al. An overview of graphene-based hydroxyapatite composites for orthopedic applications. *Bioactive Materials*. 2018;3:1-18.

Este trabajo debe ser citado como:

Lafuente Merchan M, Ruiz Alonso S, Saenz Del Burgo L, Pedraz JL. Hydroxyapatite and graphene oxide on nanocellulose-alginate ink for 3D bioprinting and bone regeneration. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):187-8.

all the assays (Fig.2). In addition, scaffolds with embedded cells showed metabolic activity and high viability after bioprinting.

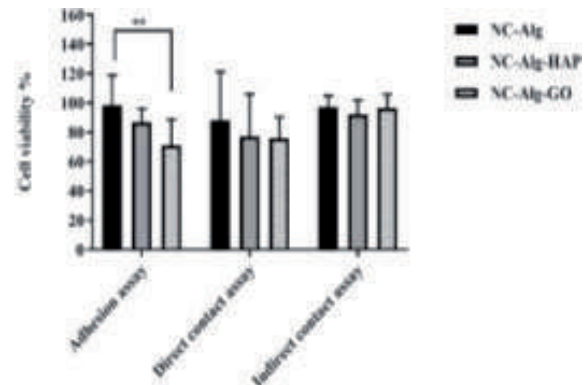


Fig. 2. Cytotoxicity analysis of NC-Alg-HAP and NC-Alg-GO bioinks in adhesion, direct contact and indirect contact assays. NC-Alg bioink was used as a control. Values represent mean \pm SD. **: $p < 0.01$.

4. Conclusions

Developed NC-Alg-HAP and NC-Alg-GO bioinks showed good properties for bioprinting through extrusion. Moreover, cell viability and metabolism of embedded D1-MSC cells have shown that bioprinted scaffolds may become a feasible tissue engineering approach for bone regeneration.

Acknowledgements

Authors thank the Basque Government for granted fellowship to RUIZ-ALONSO, Sandra (PRE_2020_2_0143). 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 Basque Country (UPV/EHU).

Comparison of size and protein decoration between extracellular vesicles isolated from adipose tissue and hair follicle mesenchymal stem cells

Las Heras Kevin^{1,2}, Royo Félix^{3,4}, Garcia Vallicrosa Clara³, Igartua Manoli^{1,2,5}, Santos Vizcaino Edorta^{1,2,5}, Falcon Pérez Juan M^{3,4,6}, Hernández Rosa María^{*1,2,5}

¹ NanoBioCel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy (UPV/EHU).

² Bioaraba, NanoBioCel Research Group, Vitoria-Gasteiz, Spain.

³ Center for Cooperative Research in Biosciences (CIC bioGUNE), Basque Research and Technology Alliance (BRTA), Exosomes Laboratory, 48160 Derio, Spain

⁴ Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd), 28029 Madrid, Spain

⁵ Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

⁶ IKERBASQUE, Basque Foundation for Science, 48013 Bilbao, Spain

*Correspondencia: rosa.hernandez@ehu.eus

1. Introduction

In the current years, extracellular vesicles (EVs) have gained the overall attention in modern regenerative medicine therapeutics. Their demonstrated potential for the treatment of different conditions and their principal role in the efficacy of secretome-based therapies has driven their use [1]. Indeed, mesenchymal stem cells (MSCs)-derived EVs (MSC-EVs) are one of the most popular sources of EVs due to their largely demonstrated regenerative capacity [1, 2].

Some research groups have performed morphological studies of MSC-EVs by electron microscopy (EM) [3]. However, none of them have compared EVs from adipose tissue-derived MSCs (AT-MSCs) – the gold standard in MSC-EVs research – and hair follicle-derived MSCs (HF-MSCs) by using Cryo-transmission electron microscopy (TEM) imaging on rapidly-frozen samples. With this technique, it could be potentially reduced the sample damaging and artefacts caused by the addition of heavy metals, dehydration, or fixation steps. We therefore used cryo-TEM to compare, in their near-native state, the morphology and membrane protein decoration of EVs isolated from AT-MSCs and HF-MSCs.

2. Materials and methods

2.1. EVs isolation and purification

EVs were isolated and purified from the supernatant of HF-MSCs and AT-MSCs after 3 productions of 72 h each on exos-free DMEM. The collected culture medium was first centrifuged at 2,000 × g for 10 min at 4 °C to discard cell debris. Then, it was centrifuged serially at 10,000 × g for 30 min to obtain medium/large-sized EVs – pellet 10K (P10K) – and finally centrifuged at 100,000 × g for 90 min – pellet 100K (P100K) – to obtain small-sized EVs. All pellets were re-suspended in ice-cold PBS and another ultracentrifugation process was performed in order to better purify EVs. Finally, both pellets were immediately re-suspended in 100 µL of ice-cold PBS and freeze at -80 °C until use.

2.2. Cryo-TEM

EVs (3-5 µl) were spotted on glow-discharged lacey grids and cryo-fixed by plunge freezing at -180 ° in liquid ethane with a Vibrobot (FEI, The Netherlands). Grids were observed with a JEM-2200FS/CR TEM (JEOL, Japan), operating at 200 kV. Image measurements were performed with Image J software and between 80-120 single EVs were measured on each group.

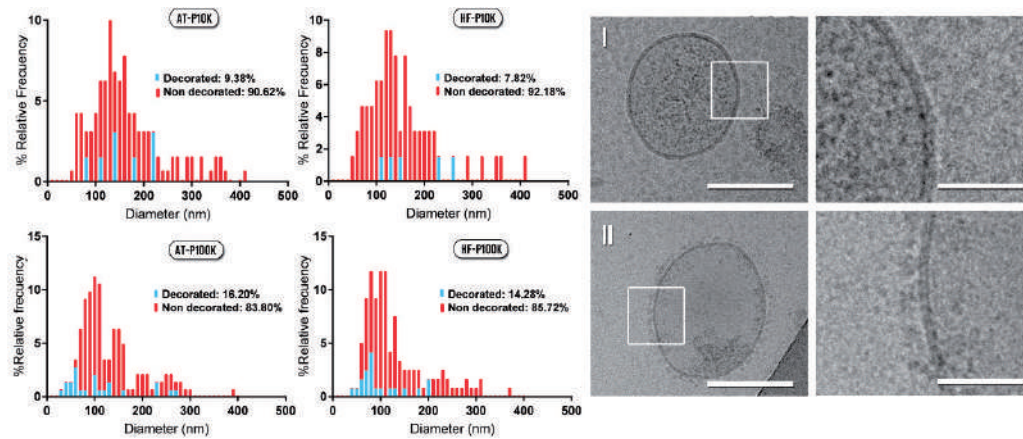


Fig. 1. Protein decoration of EVs and cryo-TEM images. A. Decoration vs relative frequency and diameter of EVs. B(I). Cryo-TEM image of a non-decorated EV. B(II). Cryo-TEM image of a decorated EV. Left images scale bars are 100 nm and right scale bars are 20 nm.

3. Results and discussion

As it can be observed in Fig.1, we obtained a heterogeneous population of mostly round-shaped EVs in both cell types. We found a lower amount of decorated EVs than non-decorated in both groups for both P10K and P100K (Fig.1A). The percentage of decoration was similar for AT-EVs and HF-EVs.

Furthermore, P100K EVs had more membrane protein decoration than P10K on both cell types – 73 % of increase in AT-EVs and 83 % of increase in HF-EVs –. Finally, we did not observe differences in the size of decorated EVs against non-decorated EVs for both cell types (Fig.2).

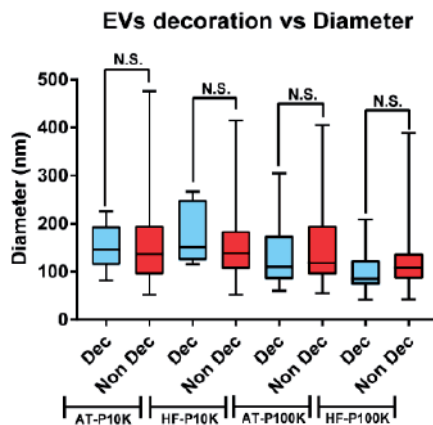


Fig. 2. EVs decoration vs Diameter of EVs. N.S. Non significance.

4. Conclusions

These results depicted that the percentage of protein-decorated EVs isolated by ultracentrifugation from AT-MSCs and HF-MSCs was small. Furthermore, the decoration ratio was higher in P100K EVs than in P10K EVs, but similar for both cell types. These findings suggest that the morphological and structural profile of the EVs isolated from both AT-MSCs and HF-MSCs is very similar.

Acknowledgments

K. Las Heras thanks the Basque Government for the PhD grant (PRE_2018_1_0412).

References

1. Cabral J, Ryan AE, Griffin MD, Ritter T. Extracellular vesicles as modulators of wound healing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018 Apr;129:394-406.
2. Wiklander OPB, Brennan MÁ, Lötvall J, Breakefield XO, El Andaloussi S. Advances in therapeutic applications of extracellular vesicles. *Sci Transl Med.* 2019 May;11(492):eaav8521.
3. Dabrowska S, Del Fattore A, Karnas E, Frontczak-Baniewicz M, Kozłowska H, Muraca M, Janowski M, Lukomska B. Imaging of extracellular vesicles derived from human bone marrow mesenchymal stem cells using fluorescent and magnetic labels. *Int J Nanomedicine.* 2018 Mar;13:1653-64.

Este trabajo debe ser citado como:

Las Heras K, Royo F, Garcia Vallicrosa C, Igartua M, Santos Vizcaino E, Falcon Perez JM, Hernandez RM. Comparison of size and protein decoration between extracellular vesicles isolated from adipose tissue and hair follicle mesenchymal stem cells. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):189-90.

In situ forming implants: selection of the most suitable polymer for the administration of CBD

Lozza Irene ^{*1}, Martín Sabroso Cristina^{1,2}, Torres Suárez Ana Isabel^{1,2}, Fraguas Sánchez Ana Isabel^{1,2}

¹ Department of Pharmaceutics and Food Technology, Complutense University of Madrid.

² Institute of Industrial Pharmacy, Complutense University of Madrid.

*Correspondencia: lozza.1584043@studenti.uniroma1.it

1. Introduction

In situ forming implants (IFIs) that are typically made of a drug, solvent, and a biocompatible polymer, offer an interesting potential for parenteral controlled drug delivery. Also, they have the advantages of a non-complicated preparation and an easy administration using conventional subcutaneous needles. In fact, several IFIs containing doxycycline or leuprorelin are currently approved by FDA and/or EMA [1, 2].

Cannabidiol (CBD), the main non-psychoactive cannabinoid, appears as a potential anticancer drug, but it shows high lipophilicity and instability that complicates its handling and dosing and restricts its use by a parenteral route [3]. The use of IFIs could be a good strategy to develop long-active CBD formulations. The objective of this work was to evaluate, among several biocompatible and biodegradable polymer, the most suitable to develop CBD-ISFIs.

2. Materials and Methods

Poly-D, L-lactide-co-glycolic acid (PLGA) 50:50 (PLGA-502, PLGA-502H and PLGA-503), poly-D, L-lactide (PLA-202 and PLA-203), and polycaprolactone (PCL) were used as polymer, due to their biocompatibility, biodegradability and safety, and N-Methyl-2-pyrrolidone (NMP) was used as a solvent. Formulations loaded with CBD at a drug: polymer ratio of 2.5:100 were elaborated using the direct injection technique.

Firstly, injectability studies (using 23G and 25G needles) were carried out to select the most suitable and manageable polymer, and the optimal polymer:NMP ratio. A polymer: NMP ratio of 100 mg:150 μ L, 100 mg:300 μ L and 100 mg:400 μ L were used. Optimized CBD loaded implants were characterized by scanning electron microscopy (SEM) and drug release was determined.

3. Results and discussion

Injection tests that were carried out in a random way showed that PLGA-502, PLGA-502H, PLA-202 and PCL solutions exhibited good injectability properties, with an easy and continuous injection using 23G and 25G needles, as the prepared formulation would be administered subcutaneously. PLGA-503 and PLA-203 demonstrated a bad injectability properties, especially when a 25G needle was used. This could be attributed to the higher molecular weight of these resomers compared to their counterparts. Due to these injectability properties, PLGA-503 and PLA-203 were discarded. The most suitable polymer: NMP ratio of the selected polymers (PLGA-502, PLGA-502H, PLA-202 and PCL) was 100 mg:400 μ l (Tab. 1).

All the selected polymers led the easy formation of CBD-loaded ISFIs when injected in phosphate buffer solution. As observed in SEM studies, a smooth surface was appreciated in recently prepared *in situ* forming implants (Fig 1).

Tab.1: Median score value of the injection test results. Score 1: Injection very difficult, not flow; Score 2: Injection difficult, flow initially drop wise and then continuous; Score 3: Injection easy, flow continuous; Score 4: Injection very easy, flow continuous.

Polymer	23G		25G	
	Ratio Solvent	Median		Median
502 RG PLGA	150µl	2		2
	300µl	3		2
	400µl	3		3
503 RG PLGA	150µl	1		1
	300µl	3		2
	400µl	3		2
502 H RG PLGA	150µl	2		1
	300µl	4		3
	400µl	4		4
202 RG PLA	150µl	3		3
	300µl	4		3
	400µl	4		4
203 RG PLA	150µl	1		1
	300µl	2		2
	400µl	3		2
PCL	150µl	1		1
	300µl	3		3
	400µl	4		3

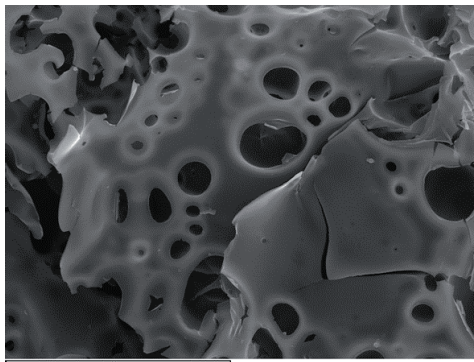


Fig 1. SEM images of a recently prepared in situ forming implant (ISFI-502).

Regarding to drug release studies, a controlled CBD release was obtained in all formulations. As we can noticed from the graphics (Fig 2), ISFIs

References

1. Yang S, et.al. Fabrication of PLGA in situ forming implants and study on their correlation of in vitro release profiles with in vivo performances. *J Biomater Sci Polym.* 2021 Jun;32(8):994-1008.
2. Kempe S, Mäder K. In situ forming implants - an attractive formulation principle for parenteral depot formulations. *Journal of Controlled Release.* 2012;161(2):668-79.
3. Hernan Perez De La Ossa, D., et.al. Poly-ε-caprolactone microspheres as a drug delivery system for cannabinoid administration: development, characterization, and in vitro evaluation of their antitumoral efficacy. *Journal of Controlled Release.* 2012;161(3):927-32.

Este trabajo debe ser citado como:

Lozza I, Martín Sabroso C, Torres Suárez AI, Fraguas Sánchez AI. In situ forming implants: selection of the most suitable polymer for the administration of CBD. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):191-2.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):191-2.

prepared with PLGA showed a faster drug release, as the formulations prepared with PLGA-502 and PLGA-502H exhibited of around 70 % of the CBD released within 2 days. ISFIs elaborated with PLA-202 and PCL exhibited around the 50 % or 30 % of drug released at this time respectively. Except in the implants prepared with PCL, all the formulations exhibited a strong burst effect as more than 25 % of the CBD was released within the first hour. This burst effect was specially marked in the formulations prepared with PLGA-502, with more than 40 % of the CBD released at this point. However, ISFIs prepared with PCL showed a more controlled CBD release for more than 30 days, with a low burst effect (just the 6 % of CBD was released after 1 hour). Due to this better release profile, PCL seems to be the most suitable polymer to prepare a long-acting CBD-ISFI.

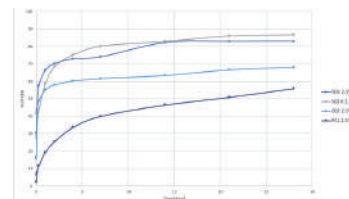


Fig 2. Drug release profiles of CBD loaded ISFIs prepared with the different polymers.

4. Conclusions

The implants prepared with polycaprolactone, using a polymer: solvent ratio of 100 mg:400 µL showed good injectability properties to be administered subcutaneously, being suitable to get a controlled CBD release for more than one month after a single administration.

Acknowledgements

Erasmus+ Traineeship (UE) from University of Rome "Sapienza".

Desarrollo y control de calidad de dos formulaciones de budesonida viscosa para administración oral en pediatría

Magariños Triviño María ^{*1,2}, Suárez González Javier ¹, Santoveña Estévez Ana¹, Fariña Espinosa José B.¹

¹ Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y Salud Pública de Canarias. Universidad de La Laguna, 38203.Tenerife.

² Programa de Doctorado en Ciencias Médicas y Farmacéuticas, Desarrollo y Calidad de Vida. Universidad de La Laguna, 38203. Tenerife.

*Correspondencia: mmagarin@ull.edu.es

1. Introducción

El tratamiento de la Esofagitis Eosinofílica (EoE) consiste en la administración de una formulación oral de budesonida (BUD). En la actualidad no existe comercializada una forma farmacéutica pediátrica para tratar la EoE, a pesar de los recientes estudios realizados para adolescentes y adultos [1].

El objetivo de este estudio ha sido el diseño y control de calidad de dos formulaciones de BUD viscosa oral mediante una estrategia de validación que permita asegurar la calidad de la formulación, la estabilidad química del principio activo (API, del inglés) y la uniformidad de las dosis declaradas.

2. Materiales y métodos

2.1. Selección de las formulaciones

Se elaboraron suspensiones viscosas de BUD para administración oral a dosis pediátricas según la frecuencia de uso en Oficinas de Farmacia y Servicios de Farmacia Hospitalaria. Para ello, se emplearon diferentes excipientes aceptados para pediatría en distintas proporciones, ver composición en Tabla 1.

2.2. Validación del método analítico

Las muestras se analizaron mediante UPLC (Ultra Performance Liquid Chromatography) en un cromatógrafo Acquity UPLC[®] H-Class System (Waters, Corporation Milford, MA). El método fue adaptado y validado de otro método anteriormente publicado [2].

Tabla 1. Composición de la formulación 1(F1), 2(F2) y 3 y (F3) csp: cantidad suficiente para.

	F1	F2	F3
BUD (mg)	20	20	20
Tween 80 (mg)	-	2000	-
Glicerina (ml)	2	-	2
Metilcelulosa (mg)	1000	3000	1000
Sacarina sódica (mg)	50	50	50
Nipagín sódico (mg)	50	40	50
Nipasol sódico	20	20	20
Ácido láctico csp.	pH 4,5	-	-
Sodio citrato (mg)	-	50	50
Ácido cítrico monohidratado	-	100	100
Agua purificada csp, (ml)	100	100	100

2.3. Estabilidad de las formulaciones

Se evaluó la estabilidad química de las formulaciones siguiendo las recomendaciones de la ICH (Q1A(R2)) [5] a diferentes temperaturas y condiciones de almacenamiento: 5 °C ± 0,1 (Nevera-estufa P-selecta. Tipo Wedilow), 25 °C ± 1,32 en una cámara oscura y 40 °C ± 0,1 (Cámara climática ICH110L, Memmert, España). Las muestras se tomaron por duplicado a tiempo 0, 15, 30 y 60 días. Además, se midió el pH de las formulaciones a lo largo de todo el estudio de estabilidad.

2.4. Estudio de homogeneidad de dosis

Se llevó a cabo el ensayo de uniformidad de

Tabla 2. Evolución de las cantidades remanentes de BUD en F1 y F2 expresadas como la variación del % respecto al contenido inicial en función de las condiciones de almacenamiento y tiempo.

Tiempo (días)					
	Temperatura	0 días	15 días	30 días	60 días
F1	5 °C	100 %	101,45 % ± 0,31	101,41 % ± 6,19	82,43 % ± 2,80
	25 °C	100 %	107,59 % ± 1,04	99,12 % ± 2,12	79,78 % ± 1,04
	40 °C	100 %	105,85 % ± 2,67	94,73 % ± 1,71	84,81 % ± 1,92
F2	5 °C	100 %	105,99 % ± 0,40	67,61 % ± 10,61	59,40 % ± 7,20
	25 °C	100 %	112,24 % ± 0,73	65,72 % ± 4,73	42,21 % ± 4,39
	40 °C	100 %	111,74 % ± 4,29	78,99 % ± 21,87	46,11 % ± 17,39

masa 2.9.27 para las preparaciones líquidas multidosis [3], utilizando un dispositivo dosificador (jeringa dosificadora de 5 ml).

Se determinó el contenido de API de cada una de las masas individuales según el ensayo 2.9.40 Uniformidad de masa de las preparaciones unidosis [4].

3. Resultados y Discusión

Ambas formulaciones satisfacen el ensayo de uniformidad de masa de las dosis extraídas en envases multidosis. F1 satisface el ensayo de uniformidad de contenido con un valor de aceptación (VA) de 10,59; a diferencia de F2 con un VA de 22,93. Por lo tanto, solo es posible asegurar la administración de dosis homogéneas en F1 (VA < 15). A lo largo del estudio de estabilidad no hubo variaciones de pH significativas en ambas formulaciones.

El periodo de validez establecido a 25 °C para F1 fue de 30 días (99,12 ± 2,12 % VD) y para F2 de 15 días a la misma temperatura (112,24 ± 0,73 %

VD), ver Tabla 2.

F2, a diferencia de F1, incorpora directamente la proporción exacta de citrato durante la elaboración, esto facilita la elaboración y permite al formulista preparar todas las formulaciones partiendo del mismo valor de pH inicial (pH: 4,23 ± 0,01, a 25 °C), evitando así errores de ajuste de pH.

4. Conclusiones

F1 es la formulación que presenta mejores resultados en términos de uniformidad de contenido y estabilidad química. Por esta razón, se propone una tercera formulación con la misma composición que F1, pero incorporando la proporción de citrato como F2, ver composición de F3 en la Tabla 1. F3 cumple con el ensayo de uniformidad de contenido con un (97,22 ± 1,45 % VD) y VA de 4,76.

Agradecimientos

Este estudio ha sido posible gracias al proyecto de investigación de COFARTE y la Fundación General de la Universidad de La Laguna.

Referencias bibliográficas

1. U.S. Food and Drug Administration Accepts New Drug Application for Review, Grants Priority Review for Takeda's TAK-721 (budesonide oral suspension) for the Treatment of Eosinophilic Esophagitis [Internet]. cited 29/09/2021]. Available from: <https://takeda.info/3oXP7OX>
2. Chavali A, Jenkins T, McConville P. USP Method Transfer and Routine Use Analysis of Budesonide Nasal Spray from HPLC to UPLC. Waters Corporation 2013.
3. Ph. Eur. 2.9.27. Uniformity of mass of delivered doses from multidose containers. 10th ed. Strasbourg, France: EDQM Council of Europe; 2018.
4. Ph. Eur. 2.9.40. Uniformity Of Dosage Units. In: 10th ed. Strasbourg, France: EDQM Council of Europe; 2017.
5. ICH. The International Council for Harmonisation. Stability Testing of New Drug Substances and Products Q1A(R2) [Internet]. Available from: <https://europa.eu/!4Pn7tX>

Este trabajo debe ser citado como:

Magariños Triviño M, Suárez González J, Santoveña Estévez A, Fariña Espinosa JB. Desarrollo y control de calidad de dos formulaciones de budesonida viscosa para administración oral en pediatría. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):193-4.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):193-4.

Variabilidad en el perfil de liberación de diclofenaco, formulado como emulgel 1 %, durante su periodo de validez

Mañez Asensi Andreu*¹, Merino Sanjuan Matilde^{1,2}, Merino Virginia^{1,2}

¹ Dpt. de Farmàcia i Tecnologia Farmacèutica i Parasitologia, Universitat de València, Vicent Andrés Estellés s/n 46100 Burjassot, València, Spain.

² Institut Interuniversitari d'Investigación de Reconeixement Molecular i Desenvolupament Tecnològic (IDM), Universitat Politècnica de València, Universitat de València. Vicent Andrés Estellés s/n 46100, Burjassot, València, Spain.

*Correspondencia: andreomany@gmail.com

1. Introducción

El desarrollo de medicamentos genéricos de administración tópica está en crecimiento. Con todo, todavía no se han descrito completamente los criterios para determinar la bioequivalencia entre formulaciones [1]. La Agencia Europea del Medicamento (EMA) publicó en 2018 un documento donde señala que se podrá valorar la equivalencia terapéutica entre dos formulaciones tópicas cuando la composición cualitativa, cuantitativa y la microestructura entre la formulación de referencia y problema sean equivalentes [2]. En este sentido, el proceso de liberación del fármaco desde la forma farmacéutica que lo contiene cobra especial importancia para establecer equivalencia microestructural. Este trabajo tiene como objetivo analizar la influencia del periodo de conservación en la variabilidad intraensayo e interensayo del proceso de liberación de los activos incorporados en formulaciones semisólidas de uso tópico.

2. Materiales y métodos

2.1. Formulaciones de estudio

Se han utilizado 5 lotes de la formulación diclofenaco emulgel 1 %, proporcionados por el laboratorio Kern Pharma. Concretamente el R030, R031, R032, R033 y R034; fabricados en julio de 2020 y con caducidad en julio de 2022.

2.2. Ensayos de liberación in vitro (IVRT)

Los ensayos de liberación de los 5 lotes de muestras se realizaron en diciembre de 2020 y en septiembre de 2021, es decir a los 5 y 14 meses post-elaboración. Se utilizaron celdas de Franz y se desarrollaron los ensayos de liberación de acuerdo con las directrices de la EMA [2]. La capacidad del compartimento receptor fue de 6 ml, que se completaron con tampón fosfato pH 7,4, las celdas estuvieron en continua agitación a 37 °C. En el compartimento dador se depositaron 0,3 g de diclofenaco emulgel 1 %. Se emplearon filtros de polietilensulfona tamaño de poro de 0,45 µm. Los tiempos de recogida de muestra fueron: 0,5, 1, 2, 3, 4 y 6 horas. Se cuantificó la cantidad de diclofenaco acumulado en el compartimento receptor y se calculó el flujo a través de membrana (J) expresado en µg/cm²·h. Se valoraron 12 replicados por cada lote y tiempo de análisis.

2.3. Cuantificación de diclofenaco en las muestras experimentales

Para la cuantificación de diclofenaco se utilizó cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). La composición de la fase móvil fue tampón acético pH 3 y acetonitrilo en proporción de 30:70. La columna utilizada fue Brisa LC2 C18 5µm 15x0,46. El flujo utilizado fue de 1 ml/min y la longitud de onda para la detección de diclofenaco fue de 280 nm.

2.4. Análisis estadístico

Los flujos obtenidos a los dos tiempos de análisis se han comparado de forma global y lote a lote por medio de la prueba t-student para datos apareados, fijando un nivel de significación $\alpha=0.05$. Así mismo, se ha comparado los resultados como si se tratara de dos formulaciones diferentes, empleando los criterios descritos en el documento de la EMA [2].

3. Resultados y Discusión

En la figura 1 se han representado los valores de las medianas y cuartiles de los flujos obtenidos para cada lote y tiempo de análisis. En la tabla 1 figuran los valores medios de los flujos (J) obtenidos para cada lote ensayado en los ensayos de liberación junto con la variabilidad intralote expresada como coeficiente de variación (CV %).

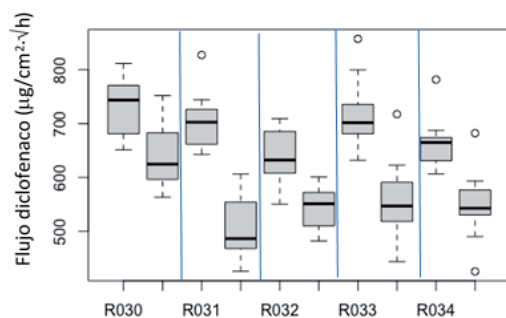


Figura 1. Mediana y cuartiles del flujo de liberación obtenidos en el análisis realizado a los 5 (izquierda) y a los 14 meses (derecha) de la elaboración de los 5 lotes ensayados.

Tabla 1. Valores de flujo medio de cada lote y coeficiente de variación (CV) intralote obtenidos en los 2 tiempos de análisis.

Libera- ción (5 meses)	R030	R031	R032	R033	R034
J medio	729,57	702,65	639,37	717,98	652,07
CV %	7,40	7,40	7,85	8,44	4,33
Libera- ción (14 meses)	R030	R031	R032	R033	R034
J medio	638,73	507,05	546,48	558,89	548,91
CV %	9,30	11,39	7,08	12,25	11,13

La variabilidad total fue de 8,88 % y 12,66 % a los cinco y catorce meses de ensayo, respectivamente.

Durante la conservación se ha observado una disminución, estadísticamente significativa ($p \leq 0,05$) de la velocidad de liberación. Estas reducciones se han producido tanto en términos generales como lote a lote. Cabe destacar que, en todos los casos, tal como se observa en la tabla 1, se ha producido además un aumento de la variabilidad en las medidas.

Las comparaciones de los valores de flujo, obtenidos a los 5 y 14 meses de la elaboración, teniendo en cuenta los criterios propuestos por la EMA para establecer equivalencia de estructura, muestran que éste a los 14 meses es el 80,77 % del inicial (IC 90 %: 78,71-82,89). Así pues, se podrían considerar formulaciones no equivalentes, cuando en realidad se trata de la misma formulación.

La guía mencionada indica que deben emplearse al menos 3 lotes de formulación de referencia para realizar comparaciones, no obstante, estudios previos realizados por el grupo de investigación demostraron que es necesario incluir al menos cinco lotes en las comparaciones de estructura dada la variabilidad observada en los parámetros que se analizaron [3].

En la práctica, debido a la rotación de las formulaciones tópicas en el mercado, no es fácil disponer de cinco lotes de la misma formulación elaborados en el mismo momento, por lo que tener que combinar resultados obtenidos de lotes con diferente periodo de conservación es un problema que deberán afrontar los laboratorios que desarrollen medicamentos genéricos.

Los resultados obtenidos en esta investigación demuestran que la variabilidad de los parámetros representativos de la estructura interna de semisólidos está determinada por la diversidad de periodos de conservación de los lotes que se combinan.

4. Conclusiones

- Durante el transcurso del periodo de validez, se observan disminuciones estadísticamente significativas del flujo representativo del perfil de liberación del fármaco y aumento en la variabilidad de este parámetro.

Agradecimientos

A Kern Pharma, por facilitarnos los lotes estudiados.

Referencias bibliográficas

1. Miranda M, Cova T, Augusto C, Pais AACC, Cardoso C, Vitorino C. Diving into Batch-to-Batch Variability of Topical Products-a Regulatory Bottleneck. *Pharm Res.* 2020 Oct 9;37(11):218.
2. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP). Draft guideline on quality and equivalence of topical product. CHMP/QWP/708282/2018. 2018.
3. Xu Z, Mangas-Sanjuán V, Merino-Sanjuán M, Merino V, García-Arieta A. Influence of Inter- and Intra-Batch Variability on the Sample Size Required for Demonstration of Equivalent Microstructure of Semisolid Dosage Forms. *Pharmaceutics.* 2020 Nov 28;12(12):1159.

Este trabajo debe ser citado como:

Mañez Asensi A, Merino Sanjuan M, Merino V. Variabilidad en el perfil de liberación de diclofenaco, formulado como emulgel 1 %, durante su periodo de validez. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):195-7.

Cannabis-based terpenes loaded in PEG-PLGA nanoparticles for pain management

El Hammadi Mazen M.¹, Small Howard Andrea L², Fernández Arévalo Mercedes¹, Martín Banderas Lucía ^{*1,3}

¹ Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla. C/ Prof. García González nº 2. 41012 Sevilla, España.

² GB Sciences, Inc. (OTCQB:GBLX), 3550 W. Teco Avenue, Las Vegas, NV, USA

³ Instituto de Biomedicina de Sevilla (IBIS)-Campus Hospital Universitario Virgen del Rocío, Sevilla, Spain.

*Correspondencia: luciamartin@us.es

1. Introduction

In the recent decade, more attention has been paid to the cannabis-based extracts and products to fill the gap left by analgesics currently available in the clinic. The resin of Cannabis sativa is highly rich in terpenes, many of which have been found to exert various biological activities. Among terpenes found in cannabis, beta-myrcene, beta-caryophyllene and nerolidol may be promising in pain management¹ However, the volatile and hydrophobic nature, and associated poor solubility and low bioavailability, may limit their suitability as pharmaceutical agents.

We hypothesized that the encapsulation of these terpenes in polymeric nanoparticles may enhance their pharmacological effects, in particular in pain management.

2. Materials and methods

2.1. NPs production and loading capacity

Beta-myrcene (MC), beta-caryophyllene (CPh) and nerolidol (NL) were loaded into poly(ethylene glycol)-poly(lactide-co-glycolide) (PEG-PLGA) nanoparticles (NPs) using the emulsion-solvent evaporation method 2-3.

The encapsulation capacity was measured using a GC-MS method, as previously described.¹⁴ Peaks of MC, CPh, cis-NL, and trans-NL were

observed at a retention time of 6.92, 5.73, 6.77, and 7.16 min, respectively. For quantification purposes, the characteristic ions for terpenes at m/z 69, 93 and 133 were monitored by selected ion monitoring (SIM) mode.

2.2. In vitro cytotoxicity

The cytotoxicity of the terpene-loaded NPs was evaluated by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-3,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) proliferation assay. Briefly, cells seeded into 96-well plates and incubated overnight were treated with various concentrations of free terpenes, terpene-loaded NPs, and blank NPs. After 24 h of incubation, MTT solution (0.5 mg/mL in cell culture medium) was added for 4 h and the resulting formazan crystals were dissolved with DMSO. Untreated cells and cells treated with Triton X 1 % served as controls. Finally, the optical density (OD) at 570 nm was determined using a microplate reader (Synergy HT, BioTek Instruments, Inc., Vermont, USA). The relative cell viability (%) was calculated as [(OD treated cells/OD control (untreated) cells)×100].

2.3. Calcium signaling assay

The terpene-loaded PEG-PLGA NPs were tested in HEK cells that express the nociceptive transient receptor potential vanilloid-1 ion channel (TRPV1), a non-selective ligand-gated cation channel that is involved in pain sensation. The activation of TRPV1 leads to an influx of Ca²⁺,

which was measured by the fluorescent indicator Fluo-4 acetoxymethyl (AM). Fluorescence was measured using a plate reader (Synergy HTX, BioTek, USA), at an excitation/emission wavelengths of 485 nm and of 528 nm, respectively and the intensity of intracellular green fluorescence was observed using Nikon inverted microscope Eclipse Ti (Japan).

3. Results and Discussion

The terpenes were successfully encapsulated in the PEG-PLGA NPs which had a mean size between 250 – 350 nm, a narrow size distribution, and a negative zeta potential of around -20 mV.

The half maximal inhibitory concentration (IC₅₀) values of all terpene-loaded NPs were approximately 4-5-fold less than that of the corresponding free terpene ($p < 0.001$ for all terpenes). Moreover, blank PEG-PLGA NPs exhibited negligible cytotoxicity in this cell line at the dilutions corresponding to that of MC-loaded NPs (particles with the lowest EE%). This finding signifies that the cytotoxicity of the terpene-loaded NPs is mainly caused by the encapsulated terpenes, with minimal or no effect from other formulation components.

The calcium signaling assay showed that the nanoparticle formulations significantly increased

the intensity of fluorescence in comparison with free terpenes.

When combinations of different types of formulations were assayed, we found that in general, all combinations of free terpenes improved the calcium influx in comparison with individual terpenes, and this effect was significant in the combination of MC/NL. Impressively, it was found that all combinations of NP formulations produced remarkably higher calcium responses when compared to combinations of their respective free terpenes

4. Conclusions

Our findings suggest that the newly developed PLGA-based nanosystems can remarkably increase the ability of the tested cannabis-based terpenes to enhance the fluorescence intensity driven by the intercellular calcium ion influx. This effect is correlated with the activation of TRPV1 channels which indicates that the terpene NPs may have great potential for application in pain management.

Acknowledgments

We specially thank Biology and Spectrophotometry Services from Centro de Investigación, Tecnología e Innovación (CITIUS, Universidad de Sevilla) for technical assistance.

References

1. Jansen C, Shimoda LMN, Kawakami JK, et al. Myrcene and terpene regulation of TRPV1. Channels (Austin). 2019;13(1):344-66.
2. El-Hammadi MM, Small-Howard AL, Fernández-Arévalo M, Martín-Banderas L. Development of enhanced drug delivery vehicles for three cannabis-based terpenes using poly(lactic-co-glycolic acid) based nanoparticles. Industrial Crops and Products. 2021;164:113345.
3. A. Small-Howard, L. Martín-Banderas, M. El-Hammadi, M. Fernández-Arévalo. Therapeutic nanoparticles encapsulating terpenoids and/or cannabinoids. International Patent Application No. PCT/ES2019/070765.

Este trabajo debe ser citado como:

El Hammadi MM, Small Howard AL, Fernández Arévalo M, Martín Banderas L. Cannabis-based terpenes loaded in PEG-PLGA nanoparticles for pain management. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):198-9.

CBD-loaded NPs increases glucose uptake and attenuates palmitate-induced lipid accumulation in human HepG2 hepatocytes

El Hammadi Mazen M.¹, Vázquez Bourgon Javier^{2,3}, Berrocoso Esther^{3,4,5}, Crespo Facorro Benedicto^{3,6}, Suárez Pereira Irene^{3,5,7}, Martín Banderas Lucía ^{*1}

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, c/ Prof. García González nº2 41012, Sevilla, Spain.

² Department of Psychiatry, School of Medicine, University Hospital Marqués de Valdecilla - IDIVAL, Santander, Spain.

³ Centro de Investigación Biomédica en Red en Salud Mental (CIBERSAM), Madrid, Spain.

⁴ Neuropsychopharmacology & Psychobiology Research Group, Department of Psychology, University of Cadiz, Cádiz, Spain.

⁵ Biomedical Research and Innovation Institute of Cádiz (INiBICA) Research Unit, Puerta del Mar University Hospital, University of Cádiz, Cádiz, Spain.

⁶ Department of Psychiatry, School of Medicine, University Hospital Virgen del Rocío-IBIS, Sevilla, Spain.

⁷ Neuropsychopharmacology & Psychobiology Research Group, Department of Neuroscience, University of Cadiz, Cádiz, Spain.

*Correspondencia: lmartinnavarro@us.es

1. Introduction

Cannabidiol (CBD) is a non-psychoactive cannabinoid that exhibits pain relief, anti-inflammatory, anti-oxidant, anti-tumor and neuroprotective properties. Furthermore, many studies have concluded that CBD exhibits several effects on both lipid and glucose metabolism through its action on various receptors and several metabolites. Accordingly, it has been found to decrease total cholesterol levels and to increase HDL levels, reduce intracellular lipid content and attenuate liver steatosis. Additionally, CBD has shown the ability to alleviate the symptoms of insulin resistance, minimize incidence of diabetes in mice and reduce the possibility of the metabolic syndrome among cannabis users.

So, the objective of present work is to prepare CBD-loaded PLGA nanoparticles (NPs) and test their ability to increase glucose uptake and inhibit lipid accumulation in human HepG2 hepatocytes.

2. Materials and methods

PEG-PLGA-based nanoparticles were prepared using a nanoprecipitation method. The cytotoxicity of CBD NPs was evaluated by the MTT proliferation assay.

Additionally, glucose uptake was assessed by pre-treatment of HepG2 with the NPs followed by incubation with 2-NBDG (2-(N-(7-nitrobenz-2-oxa-1,3-diazol-4-yl)amino)-2-deoxyglucose) and finally measuring the cellular fluorescence resulted from the internalization of the fluorescent glucose analog. HepG2 cells were seeded at 5×10^4 cell/well in medium supplied with serum, seeded in 96-well black plates with transparent bottom. Cells were incubated for 24 h. After this, cells were divided into groups of 5 wells. Each group receives different treatment (control; Metformin 5 $\mu\text{g/ml}$ (positive control); Free CBD 1 $\mu\text{g/ml}$; Free CBD 5 $\mu\text{g/ml}$; CBD NPs 1 $\mu\text{g/ml}$; CBD NPs 5 $\mu\text{g/ml}$; Cells were incubated for 24 h. On day 3, glucose uptake measurement – fluorescence were carried out. Cells were washed with PBS (200 μl), and incubated with 2-NBDG

50 μ M (glucose analog) in glucose-free medium for 3 h. After incubation, cells were washed with ice-cold PBS twice (200 μ L). 200 μ L ice-cold PBS and fluorescence was measured at Excitation / Emission: 485 nm / 535 nm. Experiment was performed in triplicate.

Furthermore, we explored effects of NPs on lipid accumulation induced by sodium palmitate in HepG2 cells. Cells were seeded on six-well plates at 5×10^5 cells/well, and incubated overnight. Day 2, the cells are incubated with free or encapsulated CBD in the presence of 0.35 mM sodium palmitate for 24 h in serum-free MEM containing 1 % w/v fatty acid free BSA. Day 3 Lipids and protein accumulation are measured via cholesterol and TG reagent kits (Sigma) according to the manufacturer's instructions. Proteins were measured using BCA kit.

3. Results and Discussion

CBD-loaded NPs had a mean diameter of 166.8 ± 5.9 nm, a PdI of 0.245 ± 0.019 and a zeta potential of around -32.8 ± 1.9 .

IC₅₀ of CBD NPs and free CBD was 11.3 ± 1.0 μ g/mL and 9.9 ± 1.9 μ g/mL, respectively, with no significant difference between the two groups.

Cells incubated with CBD NPs showed significant improvement in cellular uptake of glucose, in comparison with control cells, and the effect was similar to that introduced by metformin.

References

1. Bielawiec P, et al. Phytocannabinoids: Useful Drugs for the Treatment of Obesity? Special Focus on Cannabidiol. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2020;11:114.
2. Berrocoso E, Rey-Brea R, Fernández-Arévalo M, Micó JA, Martín-Banderas L. Single oral dose of cannabinoid derivate loaded PLGA nanocarriers relieves neuropathic pain for eleven days. *Nanomedicine*. 2017 Nov;13(8):2623-32.

Este trabajo debe ser citado como:

El Hammadi Mazen M, Vázquez Bourgon J, Berrocoso E, Crespo Facorro B, Suárez Pereira I, Martín Banderas L. CBD-loaded NPs increases glucose uptake and attenuates palmitate-induced lipid accumulation in human HepG2 hepatocytes. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):200-1.

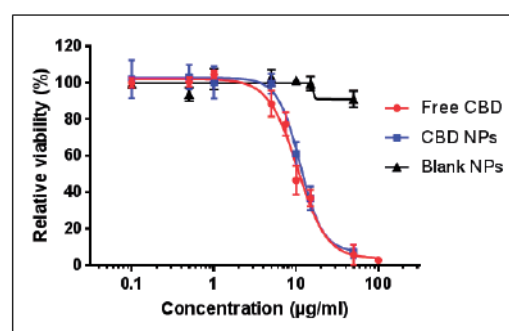


Figure 1. IC₅₀ values for free and CBD loaded-PLGA nanoparticles

Furthermore, treatment with CBD NPs (5 μ g/ml) significantly inhibited palmitate-induced accumulation of triglyceride and cholesterol in HepG2 cells, in comparison with free CBD. Likewise, HepG2 cells incubated with palmitate and CBD NPs and subsequently stained with oil red showed remarkably lower levels of the fat-soluble dye when compared to cells treated with free CBD.

4. Conclusions

The CBD-loaded PLGA NPs may be potentially useful in preventing and treating obesity-associated insulin resistance and elevated levels of cholesterol and triglyceride.

Acknowledgments

We specially thank funding from Instituto de Investigación Sanitaria IDIVAL (Ref. INIVAL18/30). Authors also thank Biology and Microscopy Services from Centro de Investigación, Tecnología e Innovación (CITIUS, Universidad de Sevilla) for technical assistance.

***Caenorhabditis elegans* as a model under hyperglycemic conditions to evaluate insulin-loaded nanoparticles**

Martínez López Ana L. ^{*1}, González Navarro Carlos², Vizmanos José L.³, Irache Juan M³

¹ Department of Chemistry and Pharmaceutical Technology, University of Navarra, Pamplona 31080, Spain

² Center for Nutrition Research, University of Navarra, Pamplona 31080, Spain

³ Department of Biochemistry & Genetics, University of Navarra, Pamplona 31080, Spain.

*Correspondencia: amlopez@unav.es

1. Introduction

The oral bioavailability of peptides therapeutics (e.g. insulin) is hampered by both the harsh gastrointestinal environment and poorly penetrating of biological barriers such as mucus layer. In order to solvent these issues and thus enhance the oral absorption of these macromolecules, one possible strategy may be their encapsulation into polymeric nanoparticles with mucus-penetrating properties [1].

In this context, the aim of this work was to explore the potential of mucus-permeating nanoparticles based on the coating of zein nanoparticles (NP) with a polymer conjugate containing PEG (PPA), as carriers for the oral delivery of insulin. For this purpose, the resulting nanoparticles were characterized and their biodistribution and efficacy evaluated in rats and *Caenorhabditis elegans* (*C. elegans*), respectively.

2. Materials and Methods

2.1. Preparation of nanoparticles

Nanoparticles were prepared from a hydroalcoholic solution of zein and insulin, by desolvation with water. Then, nanoparticles were incubated with the polymer conjugate PPA, purified by tangential filtration and, finally, dried.

2.2. Characterization of zein nanoparticles

The mean diameter, polydispersity index (PDI) and zeta potential of nanoparticles were determined by photo correlation spectroscopy and

electrophoretic laser Doppler anemometry, respectively, using a Zetaplus apparatus. The insulin loading and encapsulation efficacy in zein nanoparticles were calculated by RP-HPLC [1]. To evaluate the surface hydrophobicity of the NP the Rose Bengal test was carried out [2]. The diffusion of nanoparticles through pig intestinal mucus, as an in vitro measurement of their mucus-permeating properties, was assessed by Multiple Particle Tracking (MPT) technique [3].

2.3. Biodistribution of nanoparticles in the gastrointestinal mucosa

The fate of nanoparticles in the gut of male Wistar rats (average weight 225 g) was visualized by fluorescence microscopy.

2.4. In vivo evaluation using *C. elegans*

The therapeutic efficacy of oral insulin nanoparticles was evaluated in *C. elegans* grown under high glucose conditions (50 mM). For this purpose, the lifespan, oxidative stress responses, and lipid metabolism of the worms was assessed. The fat content determination in the worm was realized by the fixative-based Nile red method [4]. Intracellular ROS in *C. elegans* was quantified using the molecular probe H2DCF-DA [4] and the lifespan assay was monitored at 20 °C [5].

3. Results and Discussion

3.1. Characterization of nanoparticles

The influence of coating on the properties of nanoparticles is shown in Table 1. The incorpora-

tion of insulin led to a significant increase of the mean size of the nanoparticles ($p < 0.001$) while the coating with PPA significantly decreased the negative zeta potential of the nanoparticles ($p < 0.001$). The insulin loading was calculated to be about 75 $\mu\text{g}/\text{mg}$ NP, with an encapsulation efficiency of 78 %. Besides, the coating with PPA conjugate modified the surface of zein nanoparticles, reducing their hydrophobicity (2.5-fold lower).

Table 1. Physico-chemical characteristics of empty (NP and PPA-NP) and insulin-loaded nanoparticles (I-NP and I-PPA-NP).

	Size (nm)	PDI	Z-potential (mV)	Insulin content ($\mu\text{g}/\text{mg}$)
NP	217	0.17	-45	-
I-NP	253	0.15	-42	74.33
PPA-NP	225	0.10	-34	-
I-PPA-NP	260	0.18	-32	76.68

The MPT studies also showed that PPA-NP exhibited not only much less obstructed Brownian motion in mucus compared to NP, but also 20-fold improved diffusion properties in porcine intestinal mucus (Figure 1). This greater diffusivity of PPA-NP in the mucus was corroborated in the biodistribution study with fluorescently labelled nanoparticles.

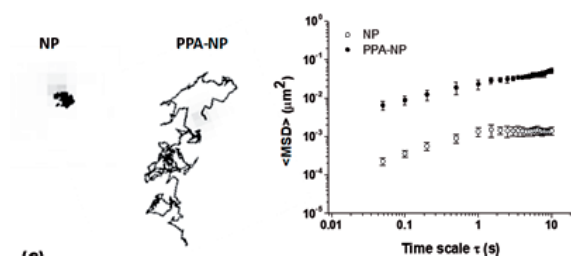


Fig. 1. Transport of bare and PPA-coated nanoparticles in porcine intestinal mucus.

3.2. *In vivo* evaluation using *C. elegans*

The *in vivo* efficacy of insulin-loaded nanopar-

ticles was evaluated in *C. elegans* grown under high glucose conditions, comparable with the blood glucose levels observed in diabetic patients [5]. The high glucose diet shortened the lifespan of *C. elegans*, while insulin protected from damage by extending the lifespan of the worms (figure 2), also reducing intracellular glucose (46 %), ROS levels (44 %) and fat accumulation (25 %). The effect was significantly greater when insulin was nanoencapsulated in PPA-NP than in NP or formulated in solution. The effects involved *daf-2*, *daf-16*, *sod-3* and *skn-1*, all of them genes that code for products implicated in the insulin-signaling pathway of *C. elegans*.

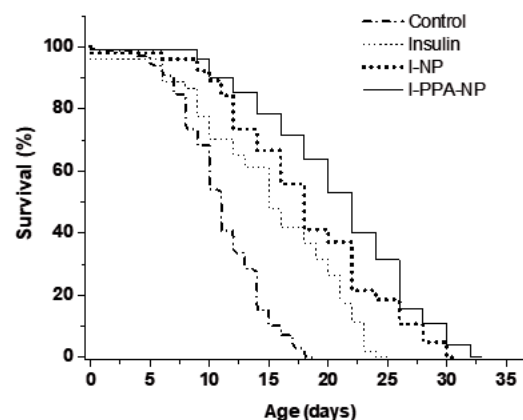


Fig. 2. Effect of insulin (free or encapsulated in bare or PPA-coated nanoparticles) on lifespan in *C. elegans* grown under high glucose conditions.

4. Conclusions

The coating of zein-based nanoparticles with a PPA conjugate resulted in mucus-permeating nanocarriers, without affecting their capability to encapsulate insulin. In the *C. elegans* model, this I-PPA-NP induced a significant reduction in the formation of ROS and the fat accumulated in the body. Besides, I-PPA-NP increased the lifespan of worms by interaction with at least DAF-2 receptor. These results suggest that *C. elegans* offers promising characteristics and valuable tools for evaluating oral insulin delivery systems before moving to more complex model organisms.

References

1. Inchaurrega L, Martínez-López AL, Martín-Arbella N, Irache JM. Zein-based nanoparticles for the oral delivery of insulin. *Drug Deliv Transl Res.* 2020 Dec;10(6):1601-11.

2. Doktorovova S, Shegokar R, Martins-Lopes P, Müller RH. Modified Rose Bengal assay for surface hydrophobicity evaluation. *Eur J Pharm Sci.* 2012;45(5):606–12.
3. Abdulkarim M, Agulló N, Cattoz B, Griffiths P, Borros SG, Nanoparticle diffusion within intestinal mucus. *Eur J Pharm Biopharm.* 2015;97:230–8.
4. Schlotterer A, Kukudov G, Bozorgmehr F, Hutter H, Du X. *C. elegans* as model for the study of high glucose-mediated life span reduction. *Diabetes.* 2009;58(11):2450–6.
5. Mendler M, Schlotterer A, Kukudov G., Fleming T., Bierhaus A, *daf-16/FOXO* and *glod-4/glyoxalase-1* are required for the life-prolonging effect of human insulin under high glucose conditions in *C. elegans*. *Diabetologia.* 2014;58(2):393–401.

Este trabajo debe ser citado como:

Martínez López AL, González Navarro C, Vizmanos JL, Irache JM. *Caenorhabditis elegans* as a model under hyperglycemic conditions to evaluate insulin-loaded nanoparticles. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):202-4.

Cyanocobalamin Ultraflexible Lipid Vesicles: Characterization and In-Vitro Evaluation of Drug-Skin Depth Profiles

Guillot Antonio José ^{*1}, Merino Pablo¹, Garrigues Teresa M¹, Melero Ana¹

¹ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology and Parasitology, Faculty of Pharmacy, University of Valencia.

*Correspondencia: antonio.guillot@uv.es

1. Introduction

Atopic dermatitis (AD) and psoriasis are the most common chronic inflammatory skin disorders, which importantly affect the quality of life of patients who suffer them. Among other causes, nitric oxide has been reported as part of the triggering factors in the pathogenesis of both conditions. Cyanocobalamin (vitamin B12) has shown efficacy as a nitric oxide scavenger and some clinical trials have given positive outcomes in its use for treating skin pathologies [1]. Passive skin diffusion is possible only for drugs with low molecular weights and intermediate lipophilicity. Unfortunately, the molecular weight and hydrophilicity of vitamin B12 do not predict its effective diffusion through the skin. The aim of this work was to design new lipid vesicles to encapsulate the vitamin B12 to enhance its skin penetration

2. Materials and methods

2.1. Preparation of lipid vesicles

Several formulations of liposomes (L), transferosomes (T), and ethosomes (E) were prepared by the classic film-hydration method [2]. Figure 1 redirects to the document where their quantitative composition, reconstitution conditions, and the methods used to purify them are shown.



Fig. 2. QR code for redirecting to the original work [1].

2.2. Characterization of lipid vesicles

The vesicles were characterized in terms of entrapment efficiency (EE), Size, PDI, Z-potential, flexibility, phospholipid content (PC), stability, and drug release. B12 was quantified by HPLC (360 nm; column C18, methanol:water 30:70; flow 1 mL min⁻¹).

2.3. Drug penetration through the skin: Tape -stripping studies

One hundred microliters of each formulation containing lipid vesicles was applied to the delimited application area of skin. The system was then incubated at 32 °C for 2, 4, and 6 h. After incubation, 20 strips of adhesive tape were applied sequentially to the skin, according to the standardized procedure, and then removed [1].

3. Results and Discussion

3.1. Characterization of lipid vesicles

3.1.1. Size, PDI and Z-potential and EE.

Size, PDI and Z-potential results are shown in Table 2. Transferosomes and ethosomes were the smaller in comparison to liposomes, and therefore the most optimal for transdermal de-

Components (% w/v)	Formulations				
	L1	L2	T1d	T2d	E1
Size	283 ± 6	278 ± 13	177 ± 4	171 ± 3	150 ± 5
PDI	0.269 ± 0.07	0.205 ± 0.002	0.223 ± 0.01	0.244 ± 0.03	0.200 ± 0.003
Z-pot (mV)	-11.2 ± 0.12	-10.1 ± 0.30	-5.51 ± 0.17	-5.17 ± 0.37	4.63 ± 0.75
EE (%)	20 ± 2	37 ± 4	24 ± 2	30 ± 1	11 ± 2
PC (%)	80 ± 4	84 ± 7	86 ± 6	82 ± 5	66 ± 2

Table 2. Characterization results of the B12 lipid vesicles in terms of Size, Z-potential, EE and PC.

livery purposes. PDI remained in all cases below 0.3, making all prototypes suitable for pharmaceutical purposes [2]. As expected, Z-potential values were negative due to the negative charge of phospholipids.

3.1.2. Vesicle flexibility

The vesicle size reduction rate and volume loss after cold extrusion as an indirect measurement of the vesicles deformability capacity [2]. Significant differences were obtained between liposomes and ultraflexible vesicles, as expected. Liposomes were retained in the 100 nm filters and forced to split into smaller particles to pass the pores.

3.1.3. Vesicle Stability

Short-term stability was assessed by Turbiscan analysis. TSI results (Figure 2) showed that transferosomes were the most stable formulation since no changes in light transmission and backscattering lines were reported over 24 h. On the contrary, liposomes experienced a notably sedimentation process and they were revealed as the most instable formulation.

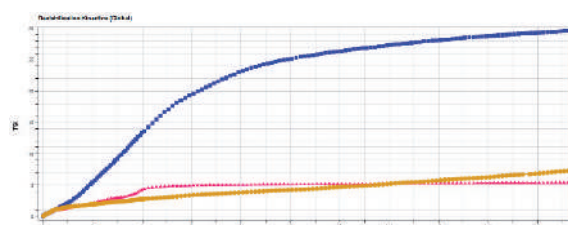


Fig. 2. Short-term stability data. L1 TSI (blue), T1 TSI (red) and E1 TSI (yellow)

3.1.4. Drug release

Figure 3 shows the B12 drug release pattern from all vesicles.

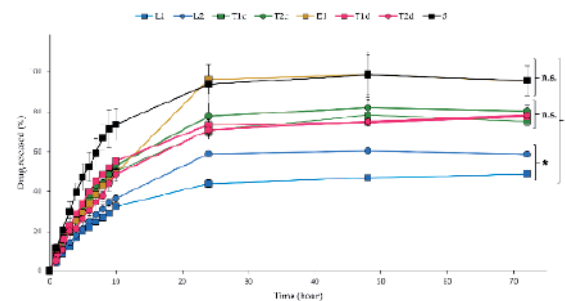


Fig. 3. Drug release pattern from all vesicles. Liposomes (blue), Transferosomes (red), Ethosomes (yellow) and drug solution (black)

A B12 solution 0.05 % w/v (S) was used as a control as it represents the drug diffusion profile without limitations. The rest of the lipid vesicle formulations showed a controlled release of drug, as shown in Figure 3. The long-term percentage of drug released is probably also affected by this vesicle properties. The lowest percentage of drug released corresponded to the liposomes and the highest to the ethosomes.

3.1. Drug penetration through the skin: Tape -stripping studies

The best penetration results were obtained using liposomes and transferosomes. L2 carries less B12 amounts than the other prototypes, consequently showing a considerably lower B12 amounts, only until approximately 15 m depth. Nevertheless, L1, T1d, and T2d vesicles allowed the B12 to reach the dermis (>25 m). L1 and T2d contained similar B12 doses, but after 12 h of incubation, the transferosomes showed higher permeation rates up to the deepest layers.

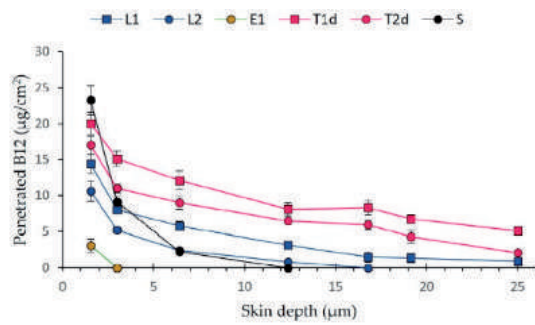


Fig. 4. Penetration profile of B12 delivered from lipid vesicles after 12 h. Liposomes (blue), Transferosomes (red), Ethosomes (yellow) and drug Solution (black)

4. Conclusions

This publication is part of the grant PID2020-114530GA-100 funded by MCIN/AEI/10.13039/501100011033 and by “ERDF A way of making Europe”.

References

1. Brescoll J, Daveluy S. A Review of Vitamin B12 in Dermatology. *Am J Clin Dermatol.* 2015;16:27–33.
2. Guillot AJ, Jornet-Mollá E, Landsberg N, Milián-Guimerá C, Montesinos MC, Garrigues TM, Melero A. Cyanocobalamin Ultraflexible Lipid Vesicles: Characterization and In Vitro Evaluation of Drug-Skin Depth Profiles. *Pharmaceutics.* 2021;13(3):418.

Este trabajo debe ser citado como:

Guillot Antonio J, Merino P, Garrigues TM, Melero A. Cyanocobalamin Ultraflexible Lipid Vesicles: Characterization and In-Vitro Evaluation of Drug-Skin Depth Profiles. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):205-7.

Apósitos de alginato-quitosano elaborados “capa a capa”

Molina Pérez David¹, García García Patricia^{1,2}, Évora Carmen ^{*1,2}, Delgado Araceli^{1,2}, Díaz Rodríguez Patricia^{2,3}

¹ Departamento de Ingeniería Química y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de La Laguna (ULL), Tenerife, España

² Instituto de Tecnología Biomédica, Universidad de La Laguna (ULL), Tenerife, España

³ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Santiago de Compostela (USC), Santiago de Compostela, España

*Correspondencia: cevora@ull.edu.es

1. Introducción

Los apósitos son un pilar en la protección y tratamiento de heridas cutáneas crónicas. En la actualidad, las aplicaciones de estos productos sanitarios han evolucionado hasta el punto de influir en la autólisis, desbridamiento y favorecer la eliminación de tejido necrótico y fibrina, además de mantener constante la temperatura y humedad local.

Dentro de este tipo de apósitos modernos, los hidrogeles de quitosano (CHT) son considerados materiales idóneos para mejorar el proceso de cicatrización debido a sus propiedades antimicrobianas, biocompatibles y hemostáticas. Estos geles pueden combinarse con otros polímeros naturales como el alginato (ALG) por interacciones entre sus grupos carboxilos con los grupos aminos del CHT.

Estas características convierten a dichos polímeros en candidatos idóneos para la elaboración de apósitos por la técnica capa a capa. Esta técnica se basa en la deposición alterna de polielectrolitos con carga opuesta sobre superficies cargadas, dando lugar a películas multicapas.

El objetivo de este estudio es obtener apósitos capaces de incorporar fármacos antiinflamatorios y servir de vehículo para su liberación, con la finalidad de ser utilizados en el tratamiento local de heridas cutáneas. Como fármaco modelo se utiliza la indometacina.

2. Materiales y métodos

2.1. Elaboración de apósitos

Los apósitos se elaboraron por el método capa a capa, depositando capas alternas de disoluciones, de alginato al 0,5 % y de quitosano al 0,25 % en NaCl 0,15 M sobre un soporte de rejilla. Entre cada capa se realizó un lavado con NaCl 0,15 M, retirando el exceso del mismo.

Una vez incorporadas las seis primeras capas, se añade la indometacina, incorporada en gránulos de alginato, como fármaco libre o en microesferas preparadas por la técnica de emulsión simple con evaporación del disolvente. Formándose finalmente un total de 12 capas, con un tiempo de espera de 7 minutos entre cada una de ellas.

2.2. Elaboración de gránulos de alginato

Los gránulos se fabricaron mediante la reticulación de alginato en presencia de CaCl₂. Para ello, se goteó una suspensión acuosa de alginato (1,3 % o 0,7 %) al 8,4 % (p/v) de indometacina sobre 50 ml de una disolución de CaCl₂ 0,15 M o 0,075 M (Fig. 1). Después de 15 minutos bajo agitación magnética, se separaron por filtración y se conservaron húmedos hasta su utilización.

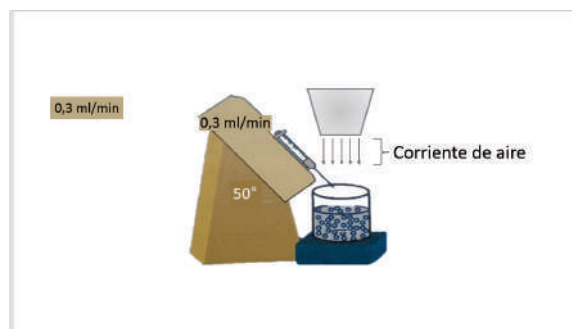


Fig. 1. Esquema del montaje realizado para la preparación de los gránulos de alginato. Adaptada de Delgado J.J., 2009[1].

3. Resultados y Discusión

3.1. Caracterización de gránulos

El diámetro medio de los gránulos de alginato (1,3 %), con indometacina libre (G-ALG(1,3)-IL) o incorporada en microesferas (G-ALG(1,3)-IM), así como los gránulos compuestos de alginato (0,7 %) (G-ALG(0,7)-IL) fue $1,65 \pm 0,19$, $1,40 \pm 0,11$ y $1,33 \pm 0,16$ mm respectivamente (Fig.2).

La cantidad de indometacina perdida durante la elaboración fue indetectable con el método espectrofotométrico utilizado, lo que indicó un alto rendimiento de encapsulación.

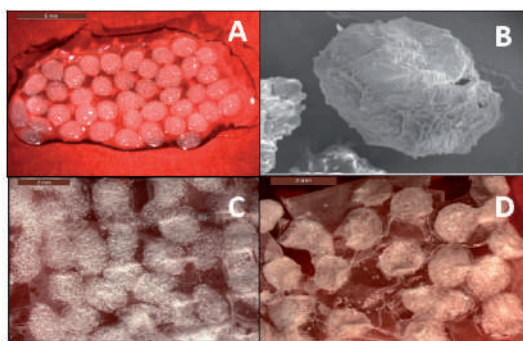


Figura 2. Imágenes de gránulos tomadas con el estereomicroscopio (A) y microscopía electrónica de barrido (B); imágenes de apósitos obtenidas con el estereomicroscopio (C y D).

3.2. Caracterización de apósitos

La porosidad de los apósitos, determinada a partir de la densidad real medida por picnometría de helio, conteniendo gránulos de alginato con indometacina libre fue 48,4 % para los AP-G-ALG(1,3)-IL comparado con los apósitos AP-G-ALG(0,7)-IL que fue del 84,1 %.

El ensayo de captación de agua se realizó en agua o tampón fosfato pH 7,4 a 37 °C. Los apósi-

tos de alginato al 1,3 % y al 0,7 % captaron $114,7 \pm 30,3$ % y $171,0 \pm 15,7$ % de agua y $452,5 \pm 30,3$ % y $895,0 \pm 80,4$ % de tampón, respectivamente. Estos resultados demuestran su potencial para absorber exudados en heridas.

Con respecto a la cesión de la indometacina, en microesferas, fue excesivamente lenta, liberándose un 1 % en 7 días, por tanto, se descartó esta formulación, ya que los apósitos están diseñados para 3-5 días.

Por el contrario, la liberación de indometacina libre fue más rápida. Se cedió un 10 % en agua mientras que en tampón fosfato (pH 7,4 a 37 °C) fue de 5-8 % durante los 2 primeros días, alcanzándose un 20-35 % a los 7 días.

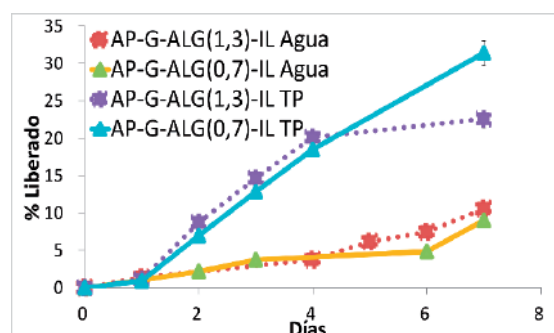


Figura 3. Comparación de los perfiles de liberación de las formulaciones AP-G-ALG (1,3)-IL y AP-G-ALG (0,7)-IL en agua y tampón fosfato

En resumen, la disminución de la concentración de alginato provocó un aumento de la porosidad del apósito y de la captación de agua aunque, no repercute en la velocidad de cesión. Por el contrario, el uso de tampón fosfato, justificado porque se aproxima al pH de las heridas [2], secuestra Ca^{+2} , dando lugar a la rotura del entrecruzamiento de las cadenas de alginato aumentando la porosidad e incrementando la capacidad de captación de líquidos y por ende facilitando la difusión de la indometacina fuera de la red polimérica, lo que se refleja en la velocidad de cesión del fármaco.

4. Conclusiones

La técnica capa a capa permite preparar soportes adecuados de alginato-quitano, para incorporar formulaciones particuladas.

La liberación de la indometacina, como fármaco antiinflamatorio modelo está limitada por su solubilidad.

A pesar de la liberación incompleta de indometacina este apósito puede ser útil para el tratamiento de heridas.

Referencias bibliográficas

1. Delgado JJ. Sistemas osteoinductores conteniendo Factor de Crecimiento Derivado de Plaquetas (PDGF). Tesis Doctoral, 2009. Universidad de La Laguna.
2. Schneider LA, Korber A, Grabbe S, Dissemond J. Influence of pH on wound-healing: a new perspective for wound-therapy? Arch Derm Res. 2007;298(9):413–20.

Este trabajo debe ser citado como:

Molina Pérez D, García García P, Évora C, Delgado A, Díaz Rodríguez P. Apósitos de alginato-quitosano elaborados “capa a capa”. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):208-10.

Adquisición de competencias farmacéuticas asistenciales mediante técnicas de Role Playing

Montejo Rubio Consuelo *¹, Trives Lombardero Carmen¹, Aguilar Ros Antonio¹

¹ Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud, Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo

*Correspondencia: montejo@ceu.es

1. Introducción

La adquisición de competencias relacionadas con el desarrollo profesional farmacéutico con un enfoque asistencial resulta difícil con los métodos tradicionales docentes de las Facultades de Farmacia, como son las clases magistrales, los seminarios e incluso las prácticas de laboratorio. En su lugar, otras metodologías activas, más participativas, como pueden ser los sistemas de "Role-Playing", facilitan no solo el desarrollo de competencias científico-técnicas (saber y saber hacer), sino también competencias transversales como saber estar (habilidades y actitudes que permiten interactuar en el entorno laboral y desarrollar la profesión) y saber ser (competencia personal que posibilita el desempeño de la actividad profesional), tanto en alumnos del Grado en Farmacia como a nivel de Máster.

En el Grado en Farmacia existen materias como Farmacia Clínica, Atención Farmacéutica y Prácticas Tuteladas, con programas que incluyen competencias relacionadas con el desarrollo profesional farmacéutico asistencial. En el Máster Universitario de Atención Farmacéutica-Farmacia Asistencial que se imparte en la Universidad CEU San Pablo se incluyen materias que proporcionan al farmacéutico un conocimiento profundo del enfoque asistencial de la profesión. En todas estas materias se utiliza la metodología de aprendizaje del Método del Caso (resolución de casos clínicos) y en algunas de ellas la de Role Playing.

Estas técnicas metodológicas facilitan la atención y participación del alumno, lo que favorece la adquisición de competencias no solo científico-técnicas, sino también competencias transversales

como el pensamiento crítico y el trabajo en equipo [1].

Así, la metodología del Método del Caso (Casos Clínicos en seguimiento farmacoterapéutico de materias como: Atención Farmacéutica dirigida al paciente con enfermedades del sistema inmunológico, Atención Farmacéutica dirigida al paciente diabético, Atención Farmacéutica en las personas mayores), se complementa con la metodología docente de Role Playing para trabajar la comunicación farmacéutico-paciente [2] y para practicar la dispensación, la indicación y el seguimiento farmacoterapéutico en una situación más real.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

La metodología de aprendizaje de Role Playing se desarrolla en las instalaciones del Aula Práctica de Farmacia de la Universidad CEU San Pablo (Fig. 1) que simula una farmacia real, con robot de medicamentos, estanterías con productos, mostrador para dispensación de medicamentos, etc., presentando un entorno muy semejante a una Farmacia Comunitaria real. Consta de una Zona de Atención Personalizada (ZAP) donde se realizan las entrevistas a los pacientes para el seguimiento farmacoterapéutico (Fig. 2). El ambiente de la farmacia facilita el entrenamiento y simula de la forma más real posible las condiciones habituales de trabajo en una farmacia.

El aula dispone de ordenadores portátiles con conexión a Internet, para el manejo de Bases de Datos de Medicamentos como el BOT Plus. Cada alumno dispone de un ordenador.



Fig. 1. Aula Práctica de Farmacia.



Fig. 2. ZAP del Aula Práctica de Farmacia.

2.2. Metodología Role Playing

El Role Playing consiste en un juego de rol o dramatización donde cada participante interpreta un personaje y debe actuar según las características de su rol [3]. Así, el alumno interpreta el papel de farmacéutico y los profesores de la materia interpretan los papeles de pacientes con características y patologías distintas y previamente definidas.

3. Resultados y Discusión

La metodología de Role Playing permite que los alumnos apliquen los conocimientos previamente

Referencias bibliográficas

1. Morán-Barrios J, Ruiz de Gauna, P, Ruiz Lázaro PM, Calvo R. Metodologías complementarias de aprendizaje para la adquisición de competencias en la formación de especialistas y actividades profesionales confiables. *Educ Med.* 2020;21(5):328-37.
2. Kaul P, Fisher JH, Hanson JL. Medical Students' Acquisition of Adolescent Interview Skills after Coached Role Play. *J Pediatr Adolesc Gynecol.* 2018;31:102-6.
3. Fernández March A. Metodologías activas para la formación de competencias. *Educatio Siglo XXI.* 2006;24:35-56 [consultado 30 Sep 2021]. Disponible en: <https://revistas.um.es/educatio/article/view/152/135>.

Este trabajo debe ser citado como:

Montejo Rubio C, Trives Lombardero C, Aguilar Ros A. Adquisición de competencias farmacéuticas asistenciales mediante técnicas de Role Playing. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):211-2.
Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):211-2.

te adquiridos en un entorno que simula una situación real, disminuyendo los temores e incertidumbres que le pudieran provocar al alumno enfrentarse a la práctica real de su profesión. Esta metodología presenta la ventaja de aunar formación y evaluación. Así, cada intervención del alumno sirve de aprendizaje tanto para él como para el resto de los alumnos que lo presencian, y, además, el profesor puede evaluar in situ la adquisición de competencias asistenciales (como realiza el seguimiento farmacoterapéutico, la indicación, la posible intervención, la comunicación con el paciente, etc.). Los resultados obtenidos en las materias han mejorado de forma significativa ($p < 0,05$) con la aplicación de la metodología de Role Playing (Fig. 3) así como el grado de satisfacción de los alumnos reflejados en las encuestas que se llevan a cabo en cada materia.

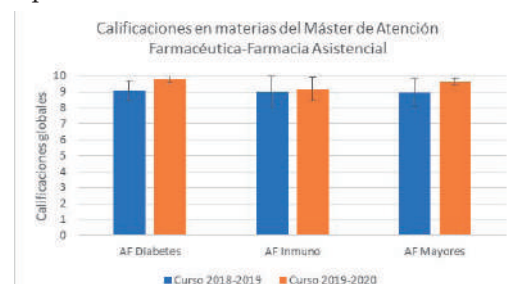


Fig. 3. Calificaciones medias de las materias antes y después de aplicar Role Playing.

4. Conclusiones

Las nuevas metodologías docentes más participativas y activas, como el Role Playing, han mostrado buenos resultados para el desarrollo de competencias asistenciales de los farmacéuticos.

Agradecimientos

Grupo de investigación "Atención Farmacéutica y Desarrollo de Medicamentos" de la Universidad CEU San Pablo (Grupo EC05/0720).

Formulation of a 3D printable hydrogel for the development of solid rectal drug delivery system

Muñoz Pérez Elena¹, Igartua Manoli^{1,2,3}, Santos Vizcaino Edorta^{1,2,3}, Hernández Rosa Maria^{1,2,3}

¹ NanoBioCel Group, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain.

² Bioaraba, NanoBioCel Research Group, Vitoria-Gasteiz, Spain.

³ Biomedical Research Networking Centre in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN).

*Correspondencia: rosa.hernandez@ehu.es

1. Introduction

Since the FDA approved the use of the first formulation manufactured by 3D printing in 2015, the application of this technology to obtain new and improved pharmaceutical formulations is on the rise [1].

Nowadays, 3D printing is considered a reproducible, reliable, fast and easily manageable technique that allows a precise design of formulations. Thus, the high precision in manufacturing allows greater control over the characteristics and behaviour of each printed design [2].

3D printing of solid rectal formulations is particularly interesting as it offers an alternative for their production, obtaining results of greater morphological complexity and modified release profiles [3]. Thus, the design of new printable materials suitable for their application in this field has become necessary [4].

The aim of this project was to design and to evaluate a hydrogel composed by alginate and Laponite XLG as a bioink suitable for the obtainment of 3D-printed rectal formulations.

2. Materials and methods

Hydrogels employed for this study were formulated by mixing ultrapure sodium alginate and different concentrations of Laponite XLG nanoclay in water. For the study, nanoclay concentration was varied from 1.5 % to 10 % (wt) in order to compare and evaluate the behaviour of vari-

ous hydrogel compositions.

Rheological characteristics of the hydrogels were tested and compared in a steady state flow test. Increasing shear rates from 1 to 1000 s⁻¹ were employed.

Frequency sweep test was performed in each of the hydrogel compositions in order to analyse their storage /loss modulus and structure stability. A strain of 1 % within linear viscoelasticity range (LVR) of the hydrogels was employed. This test was used to select the most well-structured hydrogels and discard the less promising ones.

Selected hydrogel compositions were tested in a syringeability assay in order to check their feasibility on the extrusion based 3D-printing process. Using a texturometer the forces required to extrude the hydrogels through a syringe were determined. Three different printing nozzles were tested for each hydrogel composition (22G, 25G and 27G) to predict clogging and resolution changes during the printing process.

The most suitable hydrogel composition and printing nozzle were employed to print solid rectal formulations using a 3D bio-printer.

3. Results and discussion

In a steady-state flow test shear thinning behaviour of all tested hydrogel compositions was observed. Viscosity under small shear rates was higher when nanoclay concentration was

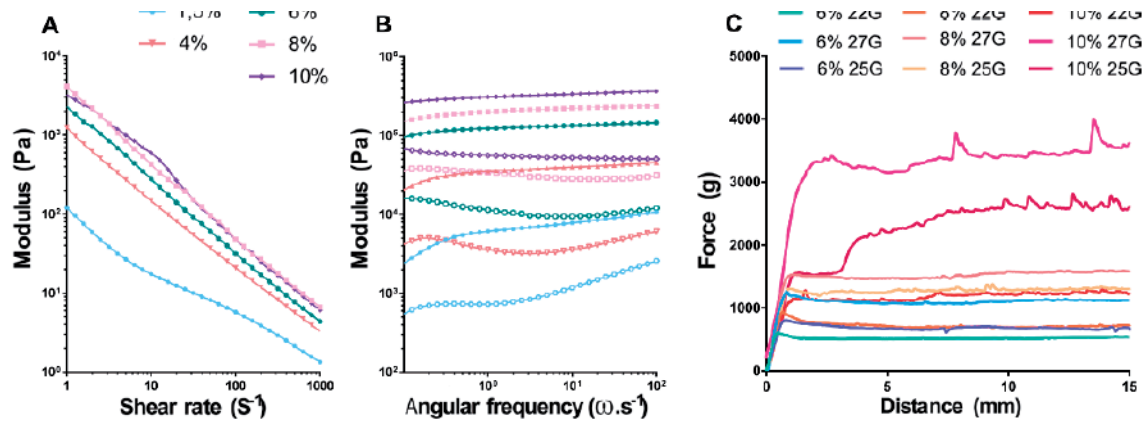


Figure 1. Rheological evaluation and syringeability assay of hydrogels (A) Viscosity curves of hydrogels. (B) Dependence of G' (Solid symbols) and G'' (open symbols) on the angular frequency for the different hydrogel compositions. (C) Syringeability assay of the selected compositions tested with different printing nozzles.

increased. All of the hydrogels presented a progressive decrease in viscosity when increasing shear rate (Fig. 1A).

Frequency sweep test showed solid-like structure of the formulated hydrogels. This structure was more stable in hydrogels containing 6 %, 8 % and 10 % (wt) of nanoclay, being their storage (G') and loss (G'') modulus higher without varying all over the frequency range tested (Fig. 1B). According to these results, hydrogels with 6 % to 10 % of nanoclay were selected for the syringeability assay.

As shown in Fig. 1C extrusion force required for the stable syringeability of the hydrogels with 6 % of nanoclay was notably smaller to forces required for the rest of the compositions tested. Moreover, 22 gauge printing nozzle demonstrated to be the most suitable one for the extrusion, allowing the correct flow of the hydrogels without clogging.

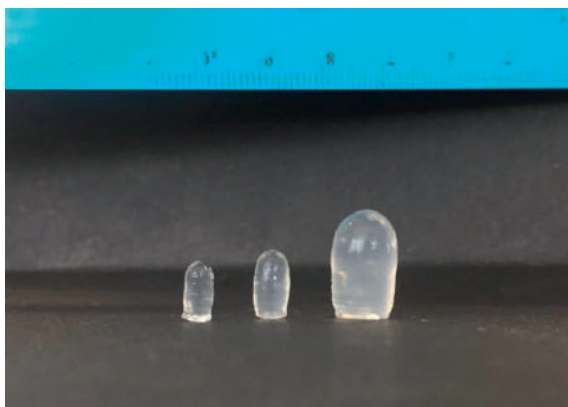


Fig. 2 illustrates the appearance of the solid rectal formulations printed using the hydrogel compound of a 6 % of Laponite XLG. The high resolution in the printing process allowed printing designs of different sizes.

4. Conclusions

The present study details the development and evaluation process of a new 3D-printable hydrogel for its use as a suitable bioink for the obtainment of solid rectal formulations through an extrusion based 3D-printing process. The selected material presented suitable rheological characteristics, promising behaviour against extrusion forces and could be 3D printed in solid rectal formulations of different sizes.

Acknowledgments

E. Muñoz Pérez thanks the Basque Government (Department of Education, Universities and Research) for the PhD grant (PRE_2020_1_0279).

References

1. Eisenstein M. First 3D-printed pill. *Nat Biotechnol.* 2015;33:1014.
2. Trenfield SJ, Awad A, Madla CM, Hatton GB, Firth J, Goyanes A, Gaisford S, Basit AW. Shaping the future: recent advances of 3D printing in drug delivery and healthcare, *Expert Opinion on Drug Delivery.* 2019 Sep 16;10:1081-94.
3. Seoane-Viaño I, Jie Ong J, Luzardo-Álvarez A, González-Barcia M, Basit A, Otero-Espinar FJ, Goyanes A. 3D printed tacrolimus suppositories for the treatment of ulcerative colitis. *Asian J. Pharm. Sci.* 2021 Jan;16:110-119.
4. Dávila JL, Akira d'Ávila M. Laponite as a rheology modifier of alginate solutions: Physical gelation and aging evolution. *Carbohydr. Polym.* 2017 Sep;157:1-8.

Este trabajo debe ser citado como:

Muñoz Perez E, Igartua M, Santos Vizcaino E, Hernandez RM. Formulation of a 3D printable hydrogel for the development of solid rectal drug delivery system. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):213-5.

Pharmacy student's engagement, performance and perceptions in a pilot study of cooperative learning applied to "introduction to the galenic pharmacy" subject

Nardi Ricart A.^{*1,2}, Oliva Herrera M.^{1,2}, Aparicio Pelegrín R.^{1,2}, Suñer Carbó J.^{1,2}, Viscasillas Clerch A.^{1,2}, García Montoya E.^{1,2}, Pérez Lozano P.^{1,2}, Halbaut Bellowa L.^{1,2}

¹ GIDTF of the University of Barcelona, Barcelona, Spain.

² Pharmacy, Pharmaceutical Technology and Physical-Chemical Department, University of Barcelona, Barcelona, Spain. Av. Joan XXIII, 27-31.08028, Barcelona.

*Correspondencia: annanardi@ub.edu

1. Introduction

Introduction to the Galenic Pharmacy (IFG) is a required subject of first-year (2nd semester) of Pharmacy Degree of the University of Barcelona (UB). This subject is very conceptual and descriptive and contains many terms with their corresponding definitions. It is considered the basis for the subjects of pharmaceutical technology that are studied in higher courses.

Due to the absenteeism observed in recent years, the teachers team decided to make a change of methodology in order to recover the classroom presence and encourage the acquisition of deep knowledge. In this way, an active method based on cooperative learning was introduced as innovation teaching during the 2019-20 academic year.

It is known that active learning with oral presentations improves student outcomes and skills [1][2][3].

Cooperative learning is a generic term for various small group interactive instructional procedures. Students work together on academic tasks in small groups to help themselves and their teammates learn together. In general, cooperative learning methods share the following five characteristics [2]:

- Student work together on common tasks or learning activities that are best handled through group work.

- Students work together in small groups containing two to five members.
- Students use cooperative, pro-social behavior to accomplish their common tasks or learning activities.
- Students are positively interdependent. Activities are structured so that students need each other to accomplish their common tasks or learning activities.
- Students are individually accountable or responsible for their work or learning.

This proposal represented a substantial change in the methodology used so far for IFG (lecture-based classes). It replaces a face-to-face modality combined with autonomous work with a modality that combines face-to-face classes with directed non-face team work and autonomous work [4].

2. Methodology

Taking into account the shortcomings mentioned above, in the academic year 2019-20 a voluntary pilot test was started with two of the six IFG theory groups, implementing an active method to encourage learning and improve various skills. It consisted of commissioning students of the pilot groups (133 students among 346 enrolled) to develop the two topics of the program on routes of administration and pharmaceutical forms, in

the form of various knowledge capsules, under the supervision of teachers.

Groups of 2 to 6 students were formed and teachers assigned them a subject (16 subjects were chosen). Individual work was also accepted.

Each work should contain the following four basic sections:

A. Definition and explanation of the administration route assigned.

B. Advantages and disadvantages of the administration route.

C. Indication of the pharmaceutical forms that can be administered by this administration route.

D. Explanation of the characteristics and properties of the pharmaceutical form assigned.

All the necessary information and the recommended bibliography to carry out the work was available on the UB Moodle platform. Additionally, a few days of tutoring were also established to resolve possible doubts.

Each group had to submit the work using computer tools as PowerPoint, Prezi, Video, etc. An exhibition of each one in the classroom was made in order to defend and explain the work done to the rest of the classmates. After the presentation, the teacher emphasized the strengths points and clarified or corrected the weak one's. Suggestive feedback was made so that, if necessary, students could modify the sections that required it.

References

1. López Griselda et al. (2010). El nuevo rol de alumno como "grupo profesor" como herramienta para alcanzar algunos de los objetivos perseguidos en Bolonia. Actas I Jornadas sobre Innovación Docente y Adaptación al EEES en las Titulaciones Técnicas, Granada 2010, pp. 153-158
2. Vergara Rodríguez Diego. (2012). Una experiencia educativa de aprendizaje cooperativo en la universidad. Profesorado Vol. 16, Nº 2 (mayo-agosto 2012).
3. Rubio Alonso, M et al. (2014). Las exposiciones orales como herramienta para mejorar el clima de aprendizaje. XI Jornadas Internacionales de Innovación Universitaria. <http://hdl.handle.net/11268/3563>
4. Imbernon-Muñoz, F., & Medina-Moya, J. (2005). Metodología participativa a l'aula universitària. La participació de l'alumnat. Universitat de Barcelona. Disponible a <http://hdl.handle.net/2445/1041>

Este trabajo debe ser citado como:

Nardi Ricart A, Oliva Herrera M, Aparicio Pelegrín R, Suñer Carbó J, Viscasillas Clerch A, García Montoya E, Pérez Lozano P, Halbaut Bellowa L. Pharmacy student's engagement, performance and perceptions in a pilot study of cooperative learning applied to "introduction to the galenic pharmacy" subject. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):216-7.

In order to properly evaluate each work, a rubric was created.

In each class the presence of the total number of students in the classroom was evaluated through attendance lists.

3. Results

In both pilot groups, a total of 14 works of the 16 proposed were developed, assuming 87.5 % participation.

Of the 28 works carried out, 54 % were presented in powerpoint format and 46 % in a multimedia format. 90 % of the submitted works contained more or less rigorously, the four required basic sections.

For the pilot groups, the absenteeism decreased greatly (there was a class presence of 90 % of the students enrolled) compared with the other groups (60 %).

The exam about these topics was the same for all groups and it allowed to assess the impact of the teaching method on student's learning.

The exam results for the morning pilot group was extraordinary. There was 100 % pass rate and the average grade for the group was 9.05, higher than the average for all groups (which was 8.83). The results of the afternoon group were good. There was a 93 % pass rate and the average grade for the group was 8.50, slightly lower than the average for all groups.

Estudio de diferentes proporciones de chitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos

Guarnizo Herrero Víctor ^{*1}, Torrado Salmerón Carlos², Torrado Durán Santiago²

¹ Departamento de Ciencias y Tecnologías Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas. Universidad de Chile. Sergio Livingston P. 1007. Santiago de Chile.

² Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. Madrid 28040.

*Correspondencia: victor08@ucm.es

1. Introducción

La combinación de diferentes proporciones de chitosán (CS) y carboximetilcelulosa (CMC) permite desarrollar complejos polielectrolitos que nos permiten la liberación sostenida de fármacos. El objetivo de este estudio es crear comprimidos con diferentes proporciones de (CS) y (CMC) que permitan obtener diferentes perfiles de liberación sostenida de Claritromicina (CL). La (CL) es un antibiótico oral de amplio espectro pero que está en la primera línea de tratamiento para el *Helicobacter pylori*. La (CL) es poco soluble (Clase II) y su solubilidad depende del pH del medio. Los sistemas de liberación sostenida podrían mejorar la eficacia frente al tratamiento del *Helicobacter pylori*.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Chitosán de alto peso molecular (CS) y carboximetilcelulosa sódica (CMC) de alta viscosidad se adquirieron de Sigma-Aldrich (Saint Louis, MO, EE. UU.). La claritromicina (CL) fue proporcionada por Normon Pharmaceutical Co., Ltd (Madrid, España). Todos los demás reactivos y productos químicos utilizados fueron de calidad analítica.

2.2. Elaboración de comprimidos de Claritromicina

Se mezcló en mortero la cantidad del principio activo con las diferentes proporciones de CL,

CS y celulosa en proporciones: CL: (CS) 80: (20), 60: (40), 40: (60). Y comprimidos con complejos polielectrolíticos conteniendo diferentes proporciones de CL: (CS: CMC) 80: (18: 2), 80: (10:10), 40: (54: 6) y 40 : (30:30). El peso de los comprimidos se ajustó a 50 mg y 40-80 N de dureza.

2.3. Estudios de liberación *in vitro*

La evaluación se realizó en un baño de disolución (Vankel® VK 700). Se siguió método USP en aparato tipo II a 37 °C, con una velocidad de rotación de 50 rpm y 500 mL de tampón acetato (pH 4.2). Se extraen muestras de 5 mL a los tiempos de 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 min y se filtró a través de un filtro de 0,45 µm (Acrodisc®; Nueva York, EE. UU.). La cantidad de claritromicina se determinó mediante método HPLC.

2.4. Evaluación de los complejos polielectrolitos

Los resultados se analizaron de acuerdo con la ecuación de Korsmeyer-Peppas para $M_t / M_\infty < 0,6$, que se expresan mediante la siguiente ecuación: $M_t / M_\infty = K_d t^n$. Donde M_t / M_∞ es la fracción de fármaco liberada en el tiempo t (h), K_d (h⁻¹) es la constante de disolución y n es un exponente de difusión característico de la liberación en función del tiempo t . Para las evaluaciones matemáticas, caracterizamos la cinética de liberación del fármaco ajustando la liberación estándar al modelo de orden cero [2,3].

3. Resultados y Discusión

La Figura 1 muestra los perfiles de liberación de CL obtenidos en los comprimidos de CL:(CS) y en los complejos polielectrolíticos CL:CS:CMC).

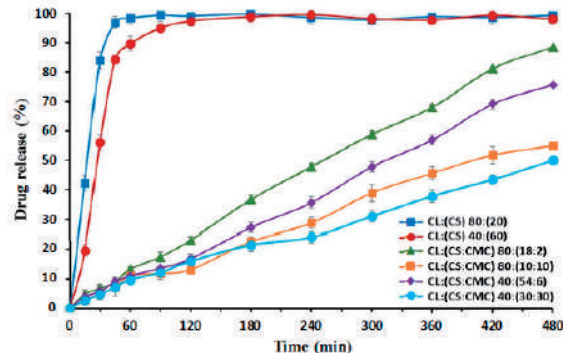


Fig.1: Perfiles de liberación de comprimidos de claritromicina: CL:(CS) 80:(20), 40:(60), CL:(CS:CMC) 80:(18:2), 80:(10:10), 40:(54:6), and 40:(30:30) a (pH 4.2).

Los comprimidos sin CMC experimentaron una liberación muy rápida mientras que altas proporciones CS / CMC en CL: (CS:CMC) 40: (30:30) dio como resultado una estructura densa de complejos polielectrolitos con un modelo cinético que podría atribuirse a una liberación más sostenida.

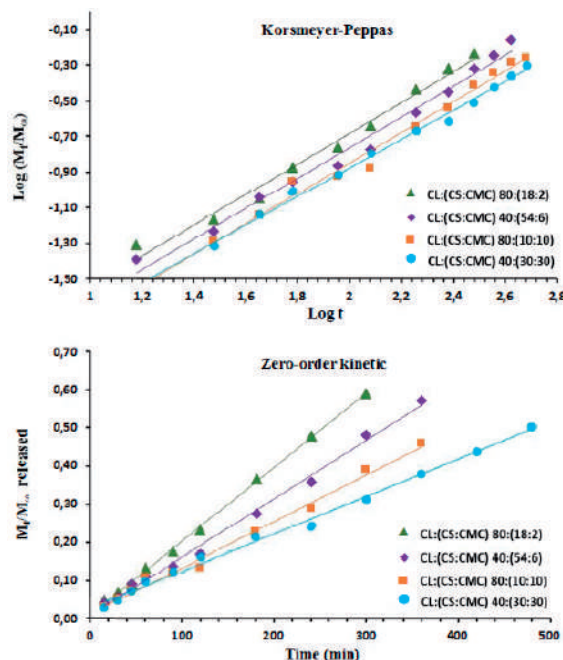


Fig.2: Modelo cinético de Korsmeyer-Peppas y de orden cero aplicado para la liberación de claritromicina en comprimidos CL: (CS: CMC) 80: (18: 2), 40: (54: 6), 80: (10:10) y 40: (30:30).

La figura 2 muestra los resultados del modelo cinético de Korsmeyer-Peppas y de un ajuste cinético de orden cero para los comprimidos: CL:(CS:CMC) 80: (18:2), 40: (54:6), 80: (10:10) y 40: (30:30). Estos resultados indican la existencia de un núcleo de comprimido rodeado por una capa de hidrogel formada por cadenas de CS. La expansión del hidrogel se ve favorecida por la repulsión entre las cargas catiónicas de CS. La presencia de CMC en la matriz dificulta la expansión de las cadenas CS y retrasa la entrada del medio de disolución.

4. Conclusiones

Los comprimidos matriciales conteniendo complejos interpolímeros CS/CMC son un sistema fácil y rápido para desarrollar sistemas de liberación sostenida de distintos fármacos.

Los complejos polielectrolíticos de CL: (CS:CMC) 80: (18:2), contienen una baja interacción CS/CMC y producen una expansión significativa de las cadenas de CS que se ajusta a un modelo cinético con una rápida liberación.

Los complejos polielectrolíticos de CL: (CS:CMC) 40: (30:30), presentan altas proporciones CS/CMC producen una estructura interpolimérica densa con un modelo cinético que se ajusta a una liberación más sostenida.

Referencias bibliográficas

1. Panahi Y, Gharekhani A, Hamishehkar H, Zakeri-Milani P, Gharekhani H. Stomach-specific drug delivery of clarithromycin using a semi interpenetrating polymeric network hydrogel made of montmorillonite and chitosan: Synthesis, characterization and in vitro drug release study. *Adv Pharm Bull.* 2019;9:159.
2. Ata S, Rasool A, Islam A, Bibi I, Rizwan M, Azeem MK, Iqbal M. Loading of Cefixime to pH sensitive chitosan based hydrogel and investigation of controlled release kinetics. *Int J Biol Macromol.* 2020;155:1236–44.
3. Wang F, Li J, Tang X, Huang K, Chen L. Polyelectrolyte three layer nanoparticles of chitosan/dextran sulfate/chitosan for dual drug delivery. *Colloids Surf B Biointerfaces.* 2020;190:110925.

Este trabajo debe ser citado como:

Guarnizo Herrero V, Torrado Salmerón C, Torrado Durán S. Estudio de diferentes proporciones de chitosán y carboximetilcelulosa para el desarrollo de complejos polielectrolíticos que logren la liberación sostenida de claritromicina en comprimidos. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):218-20.

Encapsulación de un compuesto hidrofílico en nanopartículas de PLGA mediante doble emulsión- evaporación del disolvente

Navío Celia, Aberturas María del Rosario, Molpeceres Jesús *

Unidad docente de Tecnología Farmacéutica. Departamento Ciencias Biomédicas, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá.

*Correspondencia: jesus.molpeceres@uah.es

1. Introducción

Las nanopartículas (NP) son sistemas coloidales que se utilizan como sistema de transporte para diferentes tipos de moléculas. Entre ellas, las poliméricas (NPP) y en particular las elaboradas con PLGA, presentan numerosas ventajas frente a otros sistemas transportadores [1].

Son varias las técnicas empleadas para preparar NPP a partir de polímeros preformados, pero resulta necesario combinar éstas con las características del fármaco (solubilidad, estabilidad...) y las del polímero empleado para controlar y modular las propiedades que las NP deben tener conforme a su aplicación terapéutica.

Varios estudios publicados en el último año, empleando diferentes técnicas, muestran que en la actualidad sigue siendo un reto encapsular en NP fármacos o moléculas hidrofílicas [2-4]. Por tanto, existe todavía un área de crecimiento en la mejora de los métodos para formular NP incorporando moléculas hidrófilas.

El objetivo principal de este trabajo es la formulación y caracterización de NP de PLGA cargadas con un compuesto hidrofílico modelo, la bromosulfoftaleína disódica (Bs), con la finalidad de optimizar su eficacia de encapsulación.

2. Materiales y métodos

Las NP se han preparado mediante la técnica de doble emulsión- evaporación.

2.1. Estudios preliminares

Dado que no existe ninguna información previa sobre la elaboración de NP con Bs, se realizaron estudios preliminares, modificando algunos parámetros con la finalidad de determinar las condiciones de elaboración de las NP definitivas.

Tabla 1. Variables evaluadas en los estudios preliminares.

Form	Q _{Bs} (mg)	PVA en fase interna	PF-127	Cs (0,2%) (ml)	Disolvente orgánico	Q _{PLGA} (mg)	HCl ext.	Eliminación del disolvente
1	12,5	2,80%	-	-	Ac. Et.	100	-	R
2	12,5	2,80%	-	-	Ac. Et.	100	-	E
3	12,5	2,80%	-	0,1	Ac. Et.	100	-	R
4	12,5	2,80%	-	0,1	Ac. Et.	100	-	E
5	12,5	2,80%	-	-	DCM	200	-	R
6	12,5	2,80%	-	-	DCM	200	-	E
7	12,5	2,80%	-	0,1	DCM	200	-	R
8	12,5	2,80%	-	0,1	DCM	200	-	E
9	12,5	-	-	-	DCM	200	-	R
10	12,5	-	-	-	DCM	200	-	E
11	25	-	2%	-	DCM	200	-	E
12	25	-	20%	-	DCM	200	-	E
13	12,5	-	20%	-	Ac. Et.	100	-	R
14	12,5	-	20%	-	Ac. Et.	100	-	E
15	5	-	-	-	DCM	100	-	R
16	5	2,80%	-	0,1	DCM	100	-	R
17	5	2,80%	-	0,1	Ac. Et.	100	-	R
18	5	2,80%	-	0,1	DCM	100	0,1M	R
19	5	-	20%	0,1	DCM	100	-	R
20	5	-	20%	0,1	DCM	100	-	R
21	5	-	20%	0,1	Ac. Et.	100	-	R

Los parámetros evaluados fueron los siguientes: cantidad de Bs (Q_{Bs}), tensioactivo empleado en la primera emulsión, cantidad de PLGA incor-

porada, presencia de quitosano (Cs) en la fase interna acuosa, disolvente orgánico empleado (AcEt o DCM) y si éste se eliminaba mediante evaporación 12h a T ambiente (E) o con el rotavapor (R). La tabla 1 resume las formulaciones y los parámetros evaluados.

2.2. Preparación y caracterización de las NP

A partir de los resultados preliminares se prepararon las NP cargadas con Bs siguiendo el esquema de la figura 1.

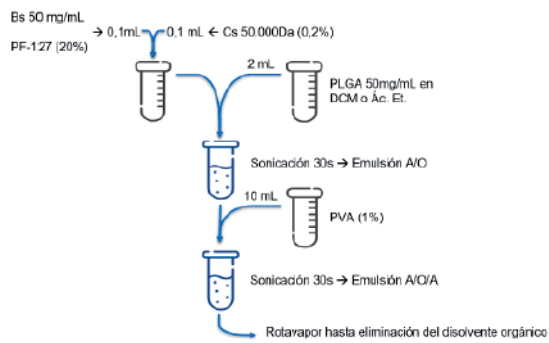


Fig. 1. Protocolo de preparación de las NPBs

Se determinaron la recuperación, la eficacia de encapsulación, el rendimiento, el potencial zeta y la morfología de las mismas.

3. Resultados y Discusión

3.1. Resultados preliminares

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos en los estudios preliminares.

Tabla 2. Resultados de los estudios preliminares.

Form	EE teor %	EE exp %	REC %	PotZ mV	Tamaño nm	%	PDI
1	56,68	3,1	45,42	-12,77	161,5	100	0,085
2	52,43	1,29	48,86	-13,97	199,6	100	0,171
3	52,78	4,22	51,44	-9,33	189,1	97,7	0,199
4	47,23	3,43	56,2	-6,83	187,7	100	0,182
5	26,29	7,09	80,8	-15,30	265	97,6	0,195
6	7,13	-2,31	90,46	-13,00	269,6	95	0,213
7	20,63	17,53	96,9	-13,03	321,1	95,5	0,238
8	36,78	11,79	75,01	-17,23	313,8	95,6	0,307
9	22,09	3,85	81,56	-15,40	257,8	94,8	0,236
10	8,58	0,71	92,13	-14,30	267,7	96,1	0,234
11	29,34	-1,43	69,23	-18,87	345	94,5	0,416
12	25,73	27,01	101,28	-15,50	322,5	100	0,439
13	42,68	24,25	81,57	-15,40	174	98,3	0,187
14	41,83	28,43	86,6	-13,37	176,5	98,6	0,185
15	29,15	17,58	88,43	-17,17	319,1	97,7	0,206
16	46,15	45,57	99,42	-3,83	329,4	95,8	0,258
17	40,06	15,63	75,57	-12,03	192,2	97,3	0,205
18	34,66	14,29	79,63	-1,22	339,1	95,1	0,307
19	52,24	43,91	83,15	-10,30	370,8	95,5	0,326
20	34,21	27,88	91,22	-9,32	300,7	96,3	0,263
21	36,91	48,78	106,87	-8,48	294,2	100	0,258

3.2. Caracterización de las NP definitivas

Las figuras 2, 3 y 4 muestran los resultados de encapsulación de la Bs, la morfología de las NP y la capacidad de retención del fármaco.

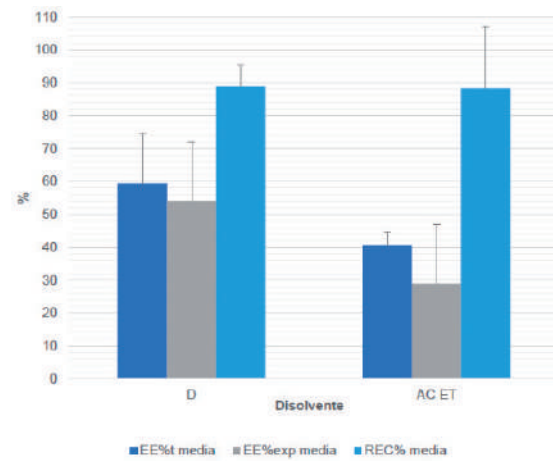


Fig. 2. Encapsulación de Bs en las NP según el disolvente.

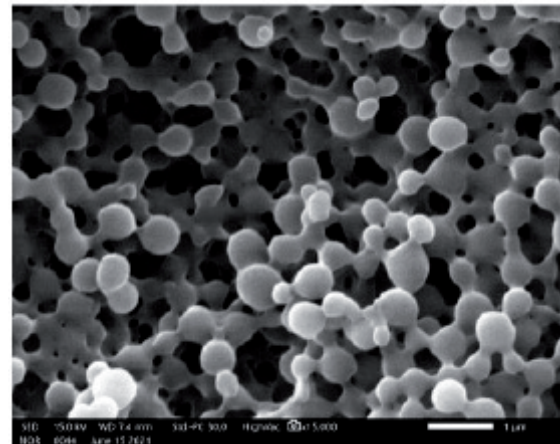


Fig. 3. Microfotografía SEM de las NP.

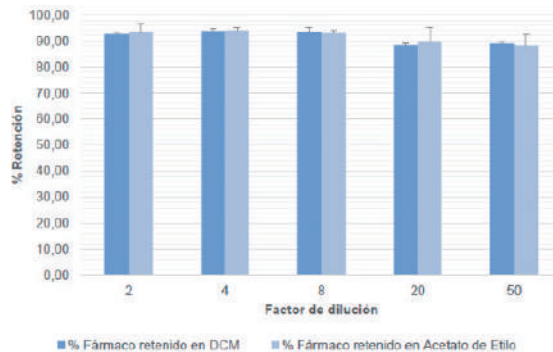


Fig. 4. Retención de Bs en las NP.

4. Conclusiones

Las NP de PLGA encapsulan Bs de forma moderada y dependiente del disolvente empleado. Su morfología es esférica y de superficie lisa, con tamaños similares a los obtenidos por difracción láser. Asimismo, muestran una elevada capacidad de retención del producto encapsulado.

Referencias bibliográficas

1. Mendoza-Muñoz N, Quintanar-Guerrero D, Allémann E. Recent Patents on Drug Delivery & Formulation. 2012;6(3):236.
2. Omar SH, Osman R, Mamdouh W, Abdel-Bar HM, Awad GAS, International Journal of Biological Macromolecules. 2020; 165(Pt A):483-94.
3. Ryu S, Park S, Lee HY, Lee H, Cho C, Baek J. International Journal of Molecular Sciences. 2021;22:2792.
4. Khezri K, Saeedi M, Morteza-Semnani K, Akbari J, Rostamkalaei SS. Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology. 2020; 48(1):841-53.

Este trabajo debe ser citado como:

Navío C, Aberturas MR, Molpeceres J. Encapsulación de un compuesto hidrofílico en nanopartículas de PLGA mediante doble emulsión-evaporación del disolvente. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):221-3.

Exploración de la granulación seca activada por humedad (MADG) para el diseño de comprimidos gastroretentivos

Origoni Suárez M Ximena ^{*1}, Ochoa Andrade Ana T¹, Garcia Montoya Encarna²

¹ Laboratorio de Farmacotecnia, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Química, Universidad de la República, Uruguay, Avda. Gral. Flores 2124, 11800 Montevideo.

² Departamento 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.

*Correspondencia: xorigoni@fq.edu.uy

1. Introducción

En la granulación seca activada por humedad (MADG) se usa una pequeña cantidad de agua para activar la aglomeración de una mezcla de polvos sin requerir calor para secar los gránulos, seguido por la adición de ingredientes que absorben y distribuyen la humedad, lo que resulta en un granulado uniforme y de buen flujo. Las ventajas que presenta este método incluyen tiempos de proceso más cortos, ahorro de energía, aplicación a procesos continuos, evitar la criticidad de la determinación del punto final de granulación de la vía húmeda y la posibilidad de obtener sistemas tanto de liberación inmediata como de liberación modificada [1, 2]. Sin embargo, en la literatura se encuentran pocos trabajos que estudien el uso de MADG en la obtención de sistemas de liberación modificada [3]. El desafío de obtener comprimidos de liberación modificada a través de la tecnología MADG radica en que sus fórmulas suelen contener una alta proporción de polímeros capaces de formar matrices y de absorber agua [4], un ingrediente que, como se comentó anteriormente, se debe utilizar en muy poca cantidad.

Los comprimidos gastroretentivos buscan aumentar el tiempo de residencia gástrico. Surgen por la necesidad de resolver problemas de los comprimidos de liberación inmediata como la baja biodisponibilidad ocasionada por liberación incompleta del fármaco y/o el corto tiempo de permanencia en el sitio de absorción [5]. Los comprimidos flotantes, son un tipo particular de gastroretentivos que, gracias a su capacidad de flotación, permanecen en el estómago por más tiempo que los comprimidos

convencionales. Una estrategia para lograr la flotación se basa en la formación de dióxido de carbono que queda atrapado en la matriz del comprimido, modificando su densidad [6].

El objetivo del trabajo es explorar la implementación del proceso de MADG en la obtención de comprimidos flotantes.

2. Materiales y métodos

2.1. Obtención de granulados y comprimidos

En la preparación de los granulados y comprimidos se utilizó lactosa monohidrato (36,1 - 60,1 %), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) 4M (10 - 30 %), alginato de sodio (7 - 10 %), povidona K15 (2,5 - 10 %), povidona K30 (5 %), copovidona (4 - 7,5 %), bicarbonato de sodio (10 %), agua (3 - 4 %), sílica amorfa (1 %), estearato de magnesio (0,75 %) y colorante (0,15 %).

Los materiales sólidos fueron tamizados. Se mezcló, incluyendo en esta etapa diluyente, agente granulante, colorante, formador de CO₂, y HPMC (una porción) y alginato de sodio como formadores de la matriz. Se asperjó el agua para aglomerar y se utilizó el resto de HPMC seguido de sílica amorfa como primer y segundo absorbentes, respectivamente. Se regularizó y lubricó el granulado para luego compactarlo en máquina de comprimir rotativa.

2.2. Caracterización: métodos

Se utilizaron los métodos establecidos en USP para los ensayos de Farmacopea.

2.2.1. Granulados

Se determinaron la distribución de tamaño de partículas por tamizado analítico, la densidad a granel (aparente y asentada), los índices de compresibilidad (IC) y de Hausner (IH), y el contenido de humedad (analizador halógeno).

2.2.2. Comprimidos

Se ensayaron el tiempo que tarda el comprimido en comenzar a flotar (FLT, floating lag time) y el tiempo de duración de flotación (FD, floating duration), en aparato de disolución II USP [7]. Asimismo, se determinaron los porcentajes de hinchamiento a varios tiempos, uniformidad de peso, friabilidad y dureza.

2.2.2. Análisis de datos

Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) seguido por Test de Tukey.

3. Resultados y Discusión

Todos los granulados obtenidos por MADG presentaron características de flujo y compresibilidad adecuadas. El contenido de humedad de los granulados no superó el 5 %, produciendo lechos relativamente secos para una compactación adecuada.

No obstante, a partir de los granulados se obtuvieron comprimidos de buen aspecto y alta re-

sistencia mecánica.

El valor de FLT, que resultó significativamente diferente en las sucesivas formulaciones, se utilizó, entre otros atributos, para compararlas. Se lograron comprimidos con FLT menores a 1 minuto, conteniendo hasta 20 % de HPMC. Aquellos comprimidos que presentaron mayores valores de FLT corresponden a los que incluyen alginato de sodio y HPMC, en alta proporción, como matriz.

De las 10 formulaciones realizadas, 2 de las que incluyen mayor porcentaje total de agentes granulantes resultaron particularmente prometedoras para seguir explorando la aplicabilidad de MADG a la formulación de comprimidos flotantes, combinando las ventajas del proceso con las propias de la forma farmacéutica.

4. Conclusiones

Se obtuvieron comprimidos flotantes de atributos físicos adecuados mediante MADG. En una etapa futura se prevé incorporar drogas modelo en los comprimidos flotantes para estudiar la liberación de activos desde estos sistemas. Sin embargo, los resultados ya obtenidos son suficientemente prometedores para considerar la MADG como un ventajoso proceso para obtener comprimidos gastrorretentivos.

Referencias bibliográficas

1. Ullah I, Wang J, Chang SY, Wiley GJ, Jain NB, Kiang S. Moisture-activated dry granulation—part I: A guide to excipient and equipment selection and formulation development. *Pharm Tech*. 2009;33(11):62-70.
2. Ullah I. Moisture-activated dry granulation part II: The effects of formulation ingredients and manufacturing-process variables on granulation quality attributes. *Pharm Tech*. 2009;33(12):42-5.
3. AM Railkar, JB Schwartz. Use of a moist granulation technique (MGT) to develop controlled-release dosage forms of acetaminophen. *Drug Dev Ind Pharm*. 2001;27:337-43.
4. Sánchez R, Damas R, Domínguez P, Cerezo P, Salcedo L, Aguzzi C, Viseras C. Uso de La hidroxipropilmetilcelulosa en liberación modificada de fármacos. *Farmespaña Industrial*. 2010;48-51.
5. Pawar VK, Kansal S, Garg G, Awasthi R, Singodia D, Kulkarni GT. Gastroretentive dosage forms: A review with special emphasis on floating drug delivery systems. *Drug Deliv*. 2011;18(2):97-110.
6. Abou Youssef NAH, Kassem AA, El-Massik MAE, Boraie NA. Development of gastroretentive metronidazole floating raft system for targeting *Helicobacter pylori*. *Int J Pharm*. 2015;486(1-2):297-305.
7. United States Pharmacopeial Convention. Disolution, in: U.S. Pharmacopoeia-National Formul. Rockville. 2018: 6895-6906.

Este trabajo debe ser citado como:

Origoni Suárez MX, Ochoa Andrade AT, Garcia Montoya E. Exploración de la granulación seca activada por humedad (MADG) para el diseño de comprimidos gastrorretentivos. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):224-5.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):224-5.

Lipid nanoparticles for the transport of drugs like dopamine through the blood-brain barrier

Ortega Elena, Peralta Sebastián, Ruiz Adolfin, Morales M^a Encarnación

Dpto. Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada.

*Correspondencia: elenaom@ugr.es

1. Introduction

Diseases and disorders of the nervous system, like Parkinson disease (PD) and others neurodegenerative pathologies are widespread in our society. The arsenal of treatments against these pathologies continues to increase, but in many cases its use is limited. This is due to the blood-brain barrier (BBB), which acts by limiting the penetration of drugs into the brain.

Based on this background, this study consists of the design and development of solid lipid nanoparticles (SLNPs) capable of transporting different therapeutic molecules to the cerebral parenchyma affected by neurodegenerative diseases. In addition, due to the prevalence of PD, one of the best drugs that could be used to treat this pathology would be dopamine (DP); however, due to its nature DP is unable to reach its therapeutic targets. So, we have encapsulated the DP inside of these SLNPs and we have studied them to ascertain if this SLNPs loaded with DP retain the same physicochemical properties as the empty ones. Finally, the SLNPs were marked and injected systemically into control animals to demonstrate its ability to cross the BBB and reaching the brain cells successfully.

2. Material and methods

2.1. Synthesis of SLNPs

SLNPs were prepared according to a sonication method followed by the use of the high-speed homogenizer. In a first step, an aqueous phase and an oily phase were mixed. On the one hand, the aqueous phase was composed of 7.5 ml of

Tween[®] 80 solution (0.20 % w/v), 7.5 ml of chitosan solution (0.05 % w/v). In the case of NPs loaded with DP, it was used different concentrations of DP. On the other hand, the oily phase was composed of tripalmitin (0.35 % w/v), octadecylamine (0.134 % w/v), and 1 ml of dichloromethane. The union of both phases is subjected to sonication during 6 min. Subsequently, it was subjected to agitation on a Silent Crusher M stirrer at 5500 rpm for 10 min.

2.2. Microphotographic analysis

The devices used for this study have been transmission electron microscope (TEM) and Scanning Electron Microscope (SEM).

2.3. Experimental animals

The in vivo experimental procedures to assess the penetration of the SLNPs in the brain have been developed in adult male Wistar rats (Charles River).

2.3.1. Histology and microscopy

To assess the efficiency of uptake of SLNPs into the brain parenchyma, rhodamine-123-fluorescence-labeled-SLNPs, prepared following the sonication method previously described, were injected in the animals throughout the radial tail vein. After 2h from the systemic NPs injection, animals were sacrificed; the brains were removed and cut into slices of 20 μ m with a cryostat.

3. Results and discussion

3.1. Physicochemical characterization of NPs: particles size, PDI, and particle zeta potential

Figure 1a shows the SLNPs in SEM microscopy. Large clusters formed by the accumulation of SLNPs are visible. These aggregates may be due both to the treatment for visualization by microscopy and to the high concentration of SLNPs [1], since the polydispersity and size measurements show a high stability parameter. These SLNPs have a spherical and slightly oval shape, with a smooth surface. Homogeneity in sizes is evident. Figure 1b focuses on a single SLNP by TEM microscopy. It has a spherical shape and an approximate equivalent size to the data of the previous Zetasizer, 200-300 nm.

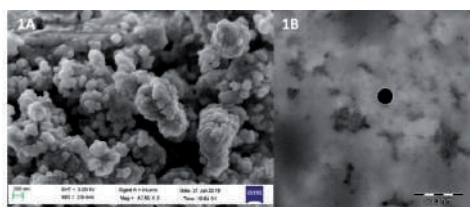


Fig. 1. Empty NPs. a SEM. b TEM

3.2. Estimation of rhodamine fluorescence of e-SLNPs in the cerebral parenchyma

As observed under confocal microscope (Fig. 2), the empty SLNPs are able to cross the BBB; they appear as red vesicles due to the rhodamine fluorescence within the cerebral parenchyma. Despite the short time elapsed since the injection of the SLNPs (2 h), they can be observed inside cytoplasm of the nervous cells, probably associated with the endomembrane cellular system (Fig. 2a); however, some of them are still detected in the lumen of the vessels and inside the vascular wall (Fig. 2b). Different receptors in endothelial cells could be involved in the mechanisms responsible for the capture of the SLNPs to be transported through the BBB to the brain parenchyma [2, 3]. Nevertheless, these mechanisms

are not yet fully known, so more research in this field will be required in the future [3].

4. Conclusions

The SLNPs loaded with concentrations of DP between 0.2 and 0.05 % have sizes below 300nm being suitable for penetration through the blood-brain barrier.

SLNPs show a spherical shape, and the DP release is sustained over time resulting adequate to be used as pharmaceutical preparation. SLNPs labeled and administered systemically to adult male Wistar rats demonstrate their penetration ability into the brain parenchyma.

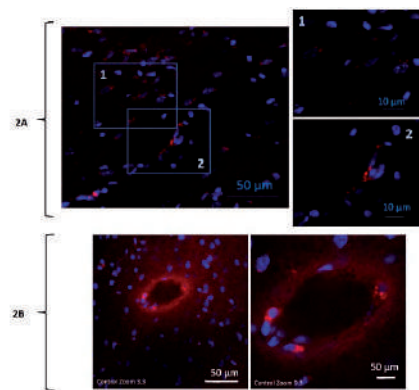


Fig. 2. Confocal microphotographs of a brain sections showing the rhodamine fluorescent SLNPs in the cerebral parenchyma. a The SLNPs as red vesicles inside the nervous cells (probably neurons) (1) and in the vasculature (2). b SLNPs inside the vascular wall and also in nervous cells

Acknowledgement

- We received financial support from project BFU201680316-R of Ministerio de Economía y Competitividad (MEC).
- This work was supported by Ministry of Universities (FPU18/ 00446) - Government of Spain.

References

1. Chantaburanan T, Teeranachaideekul V, Chantasart D, Jintapattanakit A, Junyaprasert VB. Effect of binary solid lipid matrix of wax and triglyceride on lipid crystallinity, drug-lipid interaction and drug release of ibuprofenloaded solid lipid nanoparticles (SLN) for dermal delivery. *J Colloid Interface Sci.* 2017;504:247–56.
2. Alyautdin R, Khalin I, Nafeeza MI, Haron MH, Kuznetsov D. Nanoscale drug delivery systems and the blood-brain barrier. *Int J Nanomedicine.* 2014;9:795–811.
3. Trapani A, De Glio E, Cafagna D, Denora N, Agrimi G, Cassano T, Gaetani S, Cuomo V, Trapani G. Characterization and evaluation of chitosan nanoparticles for dopamine brain delivery. *Int J Pharm.* 2011;419(1):296–307.

Este trabajo debe ser citado como:

Ortega E, Peralta S, Ruiz A, Morales ME. Lipid nanoparticles for the transport of drugs like dopamine through the blood-brain barrier. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):226-7.

Estabilidad de nanorods de oro en presencia de proteínas

Parera Beatriz*¹, Rica Raúl², Plaza Vanesa¹, López Viota Julián², López Viota Margarita¹

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Campus de Cartuja S/N 18071. Granada. España.

² Departamento de Física Aplicada, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada, Campus Universitario de Fuentenueva S/N. 18071. Granada. España.

*Correspondencia: bparera@correo.ugr.es

1. Introducción

Los nanomateriales han adquirido recientemente un gran interés debido a la gran variedad de aplicaciones que pueden llegar a tener en el ámbito de la biomedicina.

Las nanopartículas alargadas de oro, conocidas como nanorods, presentan, en principio, una baja toxicidad y unas propiedades peculiares e increíblemente interesantes, las cuales pueden ser modificadas mediante su funcionalización con múltiples ligandos, con la finalidad de obtener nanosistemas óptimos para las distintas aplicaciones terapéuticas.

El objetivo de este trabajo se ha centrado en el estudio de la estabilidad de este tipo de nanosistema y en su conjugación con distintos ligandos y proteínas, para su posterior utilidad en aplicaciones biomédicas.

2. Materiales y métodos

Todas las disoluciones realizadas se prepararon en medio acuoso, utilizando agua desionizada en un sistema Milli-Q Academic, de Millipore® (Francia).

Los materiales empleados han sido los siguientes: bromuro de hexadeciltrimetilamonio (98 %) (CTAB), ácido L-ascórbico (AA), nitrato de plata (AgNO_3), borohidruro de sodio (99 %) (NaBH_4), ácido cloroáurico trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$). Han sido obtenidos de Sigma-Aldrich. Para la síntesis del sistema propuesto, hemos emplea-

do el protocolo de crecimiento por "semillas" en presencia de CTAB, descrito por B. Nikoobakht y M.A. El-Sayed [1], con el fin de obtener nanopartículas de oro con forma alargada.

Posteriormente, mediante un análisis espectrofotométrico, se procedió a la conjugación con las distintas proteínas de estudio (BSA, GB, caseína), determinando la estabilidad del sistema a lo largo del tiempo

3. Resultados y discusión

3.1. Tamaño y morfología de nanopartículas

Como se puede apreciar en la Figura 1, obtenida mediante Microscopía Electrónica de Transmisión, la morfología de los nanorods obtenidos alcanzó un tamaño de aproximadamente 50 ± 15 nm.

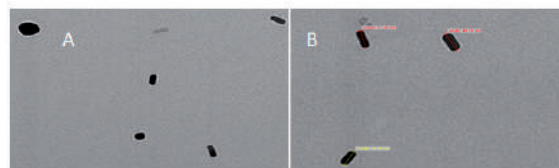


Figura 1: Microfotografía de los nanorods mediante TEM (Microscopía Electrónica de Transmisión).

3.2. Análisis de la absorbancia óptica

Tras poner en contacto el sistema con cada una de las proteínas, se procedió a comprobar su correcta adsorción sobre la superficie de las nanopartículas mediante la medida de adsorción óptica del sobrenadante resultante de la centri-

fugación a lo largo del tiempo.

Los resultados muestran cómo cada una de las proteínas se va incorporando a lo largo del tiempo a la superficie del sistema, pues en todos los casos, transcurridas las 6 h (tiempo máximo de espera), la absorbancia óptica del sobrenadante es mínima (ver figuras 2-4).

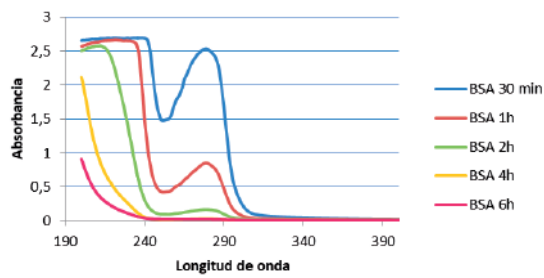


Figura 2: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo del sobrenadante resultante de la conjugación de los nanorods con BSA.

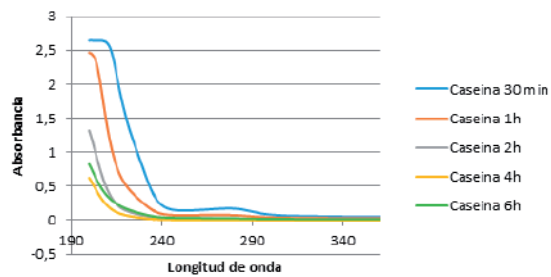


Figura 3: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo del sobrenadante resultante de la conjugación de los nanorods con caseína.

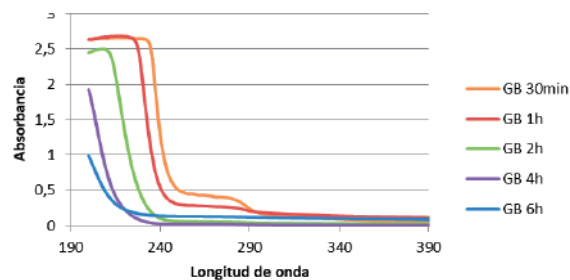


Figura 4: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo del sobrenadante resultante de la conjugación de los nanorods con GB.

A continuación, y para completar nuestro estudio, se procedió a la determinación de la estabilidad del sistema a lo largo del tiempo mediante medidas espectrofotométricas.

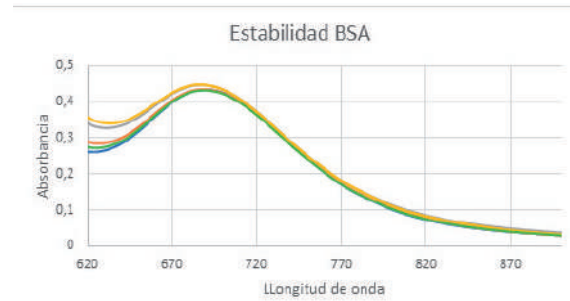


Figura 5: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo de los nanorods con BSA.

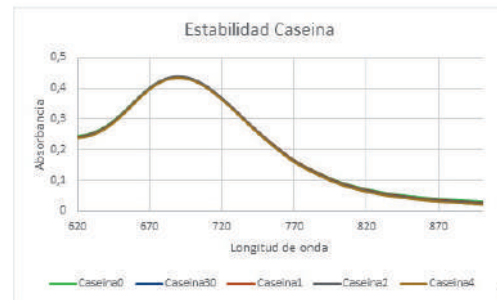


Figura 6: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo de los nanorods con caseína.

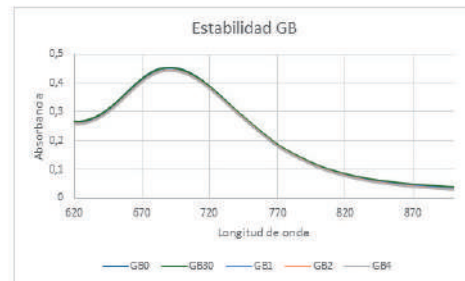


Figura 7: Medidas de la absorbancia óptica a lo largo del tiempo de los nanorods con GB.

Muestra de la estabilidad que presentó el sistema diseñado, cabe destacar que visualmente las nanopartículas no cambiaron en ningún momento su color, ni se observó ningún tipo de precipitado durante el ensayo (ver figuras 5-7).

Tras la realización del ensayo, pudimos comprobar que, efectivamente, no se mostraban cambios significativos en el sistema pese al paso del tiempo.

4. Conclusiones

La conjugación de nanopartículas de oro (nanorods) con proteínas, no solo da lugar a la estabilización del sistema, sino que introduce funciones biocompatibles en estas nanopartículas para que

puedan utilizarse en otros tipos de interacciones o acoplamientos biológicos.

Agradecimientos

El trabajo realizado fue financiado gracias a la concesión de los proyectos I+D+I de la Junta de Andalucía 2018, concretamente gracias al proyecto P18-FR-3583.

Referencias bibliográficas

1. Nikoobakht B, El-Sayed MA. Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chemistry of Materials*. 2003 May;15(10):1957-62.

Este trabajo debe ser citado como:

Parera B, Rica R, Plaza V, López Viota J, López Viota M. Estabilidad de nanorods de oro en presencia de proteínas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):228-30.

Doxycycline microparticles for potential use in neurodegenerative diseases

Rahmani Mahdiah*¹, Barcia Hernández Emilia María¹, Paccione Basmadji Nicola¹, Negro Álvarez María Elisa Sofía¹

¹ Department of Pharmaceutics and Food Technology. School of Pharmacy. Complutense University of Madrid, Madrid, Spain.

*Correspondencia: mahdiera@ucm.es

1. Introduction

Neurodegenerative diseases are a group of chronic, progressive disorders characterized by the gradual loss of neurons that affect specific regions of the brain, leading to deficits in memory, movement and cognition functions.

Doxycycline (DOX) has proven to be able to reduce the progression and severity of disease in different experimental models of neurodegeneration, mainly due to its anti-inflammatory effects [1], which include the reduction of cytokine release and the inhibition of MMPs [2]. Previous studies have shown that doses ranging between 20-40 mg/day while maintaining the anti-inflammatory effect do not cause bacterial susceptibility. According to this if the drug is encapsulated within microparticles, the desired therapeutic effect could be achieved with very small amounts and the risk of side effects and bacterial resistance could be prevented. However, commonly used techniques for the elaboration of microparticles usually lead to low encapsulation efficiency values (EE) of hydrophilic drugs. In this study various parameters were investigated to enhance DOX encapsulation within poly (D, L-lactide-co-glycolide) (PLGA) microspheres prepared by solvent extraction-evaporation and double emulsion (water/oil/water) techniques.

2. Materials and methods

For the preparation of DOX microparticles different amounts of PLGA 502 were dissolved in

2 ml DCM or a co-solvent ratio composed of 0:1, 1:3 or 1:5 (EtOH: DCM).

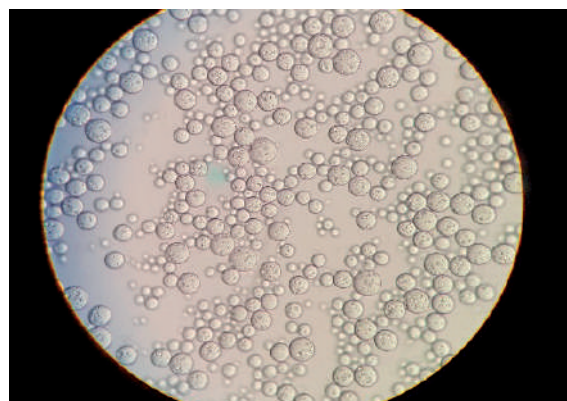


Fig. 1. Doxycycline microparticles

DOX was dissolved in 0.5 ml PBS and added to the polymer solution. The mixture was emulsified for 2 min at 5,000 rpm to form the (W1/O) emulsion and then slowly added into an aqueous solution containing polyvinyl alcohol (PVA) with NaCl and emulsified again at 5,000 rpm for 3 min at room temperature to form the W1/O/W2 emulsion. The pH of the external phase was adjusted to 5.5, 7.0 and 9.0 by adding NaOH or HCl solutions. Solvent removal and hardening of the particles were achieved by stirring in a magnetic stirrer for 2.5 h at 300 rpm. Then, the microspheres were isolated by filtration using 3.0 µm filters and washed with distilled water three times to remove the excess PVA. The microspheres were then freeze-dried at -55 °C in a vacuumed sealed flask for 24 h and stored at -20 °C for further analysis (encapsulation efficacy, particle size and DOX in vitro release). Particle

size was measured in a microtrac s3500 device. The amount of drug encapsulated after extraction with methanol was quantified in a spectrophotometer at 355 nm.

3. Results and Discussion

3.1. Particle size analysis

Particle size ranged from 19.20-68.36 μm being influenced by w/v percentage of polymer used in the formulation and the emulsion time. However, the overall results showed that the size of the microparticles did not have a significant effect on encapsulation.

3.2. Encapsulation efficacy (EE)

EE ranged from 0.6 % to 94.10 % being influenced by the amounts of co-solvent and electrolyte used in the preparation of the formulations.

3.3. In vitro release study

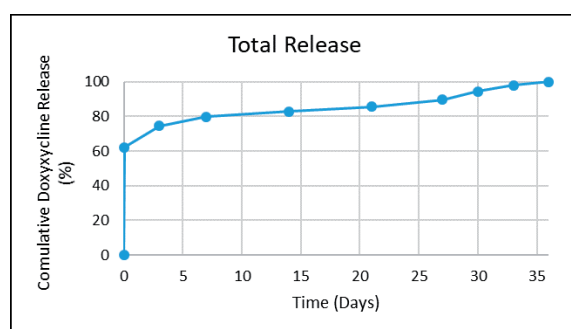


Fig. 2. In vitro DOX release from a formulation of PLGA microparticles.

All DOX formulations exhibited high burst releases during the first hr with a slow and controlled release occurring (Fig.2). The lowest

burst release was 28.07 % and the highest 74.16 %. The most influential factor in reducing this burst release was the pH of the W2 phase, with the lowest value in the formulations prepared in acidic pH. On the other hand, increasing the percentage of PVP in the external phase accelerated the release of DOX within the first hour.

4. Conclusions

Due to the hydrophilic nature of DOX, a significant amount of the drug is lost during the double emulsion method when preparing PLGA microparticles. Moreover, some of the formulations obtained which presented high EE values, did not show adequate results in the vitro release tests due to the high initial burst effect obtained which could be explained by the large amount of the drug that is adsorbed onto the surface of the particles. In this study, by providing an electrolyte-containing basic environment, the solubility of the drug in aqueous medium was minimized. In addition, the initial burst was controlled as well as the in vitro release of DOX for at least one month. The results of this study provide the conditions for entering the next phase of research, namely animal studies, kinetic studies, evaluation of drug penetration into the CNS and evaluation of the neuroprotective effects of this new delivery system developed for DOX.

Acknowledgments

This work was partially supported by Universidad Complutense Research Group "Formulation and Bioavailability of New Drugs" (UCM 910939).

References

1. Santa-Cecilia FV et al. The Neuroprotective Effect of Doxycycline on Neurodegenerative Diseases. *Neurotoxicity Research*. 2019;35(4):981-6.
2. Meli DN et al. Doxycycline reduces mortality and injury to the brain and cochlea in experimental pneumococcal meningitis. *Infection and immunity*. 2006;74(7):3890-6.
3. Howard R et al. Minocycline at 2 different dosages vs placebo for patients with mild Alzheimer disease: a randomized clinical trial. *JAMA neurology*. 2020;77(2):164-74.

Este trabajo debe ser citado como:

Rahmani M, Barcia Hernández EM, Paccione Basmadji N, Negro Álvarez MES. Doxycycline microparticles for potential use in neurodegenerative diseases. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):231-2.

Aplicación de la técnica de granulado matricial para la obtención de una formulación líquida pediátrica de omeprazol

Rouaz Khadija ^{*1}, Chiclana Rodríguez Blanca, Nardi Ricart Anna¹, Suñé Pou Marc^{1,2}, Mercadé Frutos Débora¹, Suñé Negre Josep María^{1,2}, Pérez Lozano Pilar ^{1,2}, García Montoya Encarna^{1,2}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Av. Joan XXIII, 27-31, 08028 Barcelona, España

² Grupo de Investigación en Farmacoterapia, Farmacogenética y Tecnología Farmacéutica, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge (IDIBELL), Av. Gran via de l'Hospitalet, 199-203, 08090 L'Hospitalet de Llobregat, España.

*Correspondencia: khrouazr11@alumnes.ub.edu

1. Introducción

Los pacientes pediátricos requieren formas farmacéuticas adaptadas a sus necesidades, debido a que son una población heteromorfa y en proceso de maduración, caracterizado por cambios constantes. Ante esta situación y, de forma frecuente, en los entornos hospitalarios se recurre a la formulación magistral como método para elaborar formulaciones adaptadas y apetecibles por los pacientes pediátricos [1, 2].

El omeprazol es uno de los principios activos más usados en formulación magistral para el tratamiento de alteraciones gastrointestinales en pacientes pediátricos. Su estabilidad depende del pH: se degrada rápidamente en medio ácido, pero permanece prácticamente estable en condiciones alcalinas. Por esta razón, se administra por vía oral, en forma de cápsulas que contienen gránulos con cubierta entérica, para prevenir su ionización por el medio ácido gástrico y favorecer su absorción en el duodeno [3-7]. Ahora bien, en la mayoría de las formulaciones pediátricas se utiliza el omeprazol sin recubrimiento entérico, -como es el caso de la formulación de omeprazol 2 mg/mL en suspensión de goma xantana [8]-, lo que influye, directamente, en su eficacia terapéutica y estabilidad [9].

En este trabajo se aportan los resultados de la

aplicación de la técnica de granulado matricial para la obtención de una formulación pediátrica de omeprazol con recubrimiento entérico. Cabe decir que el proceso de la elaboración de dicho granulado está pensado para que su ejecución tenga lugar en los servicios de farmacia hospitalaria, de forma magistral, sin la necesidad de equipos industriales [10].

2. Materiales y métodos

Los materiales usados han sido: Omeprazol micronizado (Laboratorios Dr. Esteve S. A. (Barcelona)), Polivinilpirrolidona, Eudragit[®] NE 30 D, Etilcelulosa y Alginato de sodio.

Para la obtención del granulado matricial, se sigue la tecnología de granulación por vía húmeda.

3. Resultados y Discusión

En relación con la polivinilpirrolidona (aglutinante) se ha usado para favorecer el amasado y la formación del granulado.

Para conferir características de gastro-resistencia a la formulación de omeprazol, se ha optado por los excipientes Eudragit[®] NE 30 D, etilcelulosa y alginato de sodio, en distintas concentraciones.

Tabla 2. Granulado matricial con Eudragit® NE 30 D.

Excipiente	Porcentaje (%)
Omeprazol micronizado	64,67
Eudragit® NE 30 D	31,65 (en seco)
Polivinilpirrolidona	3,88

Al realizar esta prueba es de especial relevancia destacar que el Eudragit® NE 30 D es una dispersión líquida de un copolímero neutro a base de acrilato de etilo y metacrilato de metilo. Al ser así, no se ha podido añadir más cantidad de este excipiente que la expuesta en la Tabla 1. Se ha intentado humectar la mezcla en fases sucesivas para, poder añadir más cantidad, pero no ha sido posible ya que el granulado final tenía una consistencia muy dura lo que impedía su tamizado manual.

Con las condiciones de la prueba (Tabla 1) no se han conseguido resultados óptimos de gastro-resistencia. Al hacer el análisis HPLC de los minigránulos conseguidos, después de haberlos sometido a un medio ácido (pH 1,2) durante una hora, éstos se degradan en un porcentaje del 56 %, aproximadamente.

Tabla 2. Granulado matricial con etilcelulosa.

Excipiente	Porcentaje (%)
Omeprazol micronizado	50,00
Etilcelulosa N 100	47,00
Polivinilpirrolidona	3,00

Referencias bibliográficas

1. Cañete CR, García MP, García BP, Cabañas MJP. Formulación magistral y excipientes en pediatría. *El Farmacéutico. Hospitales*. 2018;213:22-8.
2. Rouaz K, Chiclana BR, Nardi AR, Suñé MP, Mercadé DF, Suñé JMN, Pérez PL, García EM. Excipients in the Paediatric Population: A Review. *Pharmaceutics*. 2021;13(3):387.
3. Flórez JB, Armijo JAS, Mediavilla AM. *Farmacología Humana*. 6a ed. Elsevier España SL, editor. 2014; p. 708-722.
4. Strand DS, Kim D, Peura DA. 25 years of proton Pump Inhibitors: A Comprehensive Review. *Gut Liver*. 15 Jan 2017;11(1):27-37.
5. RFE. RFE Omeprazol [Internet]. BOE. 2013.
6. USP-NF. Omeprazole [Internet]. 2020.
7. Rang H, Dale M. *Farmacología*. 10a ed. Elsevier España SLU, editor. 2020; p. 395-407.

En este caso, el usar etilcelulosa N 100 tampoco ha permitido elaborar un granulado matricial. Debido a las características reológicas de los componentes de la fórmula (Tabla 2), el granulado final no ha sido lo suficientemente consistente por lo que se deshacía fácilmente. Cabe mencionar que la utilización de dispersiones acuosas de etilcelulosa ha supuesto los mismos problemas que con el Eudragit® NE 30 D.

Tabla 3. Granulado matricial con alginato de sodio.

Excipiente	Porcentaje (%)
Omeprazol micronizado	50,00
Alginato de sodio	47,00
Polivinilpirrolidona	3,00

Por último, se ensayó la fórmula de la Tabla 3, pero no se ha alcanzado la elaboración de un granulado, ya que el amasado con agua provocó la gelificación del alginato de sodio y el amasado final ha adquirido una consistencia de gel. Para evitarlo se usó etanol para la elaboración del amasado, pero la mezcla tampoco compactaba.

4. Conclusiones

Con los resultados expuestos no ha sido posible conseguir un recubrimiento entérico del omeprazol. Por tanto, se debe continuar con la experimentación.

Agradecimientos

Se agradece a Laboratorios Dr. Esteve S. A. (Barcelona) por la cesión desinteresada del principio activo.

8. Fagron. Omeprazol base en suspensión Oral. 2010.
9. Rouaz K, Chiclana BR, Amorós LG, Nardi AR, Suñé MP, Mercadé DF, Suñé JMN, Pérez PL, García EM. Stability omeprazole 2 mg/ml suspension for use in paediatrics in different acidic media. PBP World Meeting. 2021.
10. Suñé JM. Preparación de cápsulas de gelatina duras entéricas en la Oficina de Farmacia (II). OFFARM. 1990;9(8):49-52.

Este trabajo debe ser citado como:

Rouaz K, Chiclana Rodríguez B, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre J, Pérez Lozano P, García Montoya E. Aplicación de la técnica de granulado matricial para la obtención de una formulación líquida pediátrica de omeprazol. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):233-5.

Stability omeprazole 2 mg/ml suspension for use in paediatrics in different acidic media

Rouaz Khadija ^{*1}, Chiclana Rodríguez Blanca, Nardi Ricart Anna¹, Suñé Pou Marc^{1,2}, Mercadé Frutos Débora¹, Suñé Negre Josep María^{1,2} Pérez Lozano Pilar^{1,2}, García Montoya Encarna^{1,2}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Físicoquímica, Facultad de Farmacia y Ciencias de la Alimentación, Universidad de Barcelona, Av. Joan XXIII, 27-31, 08028 Barcelona, España

² Grupo de Investigación en Farmacoterapia, Farmacogenética y Tecnología Farmacéutica, Instituto de Investigaciones Biomédicas de Bellvitge (IDIBELL), Av. Gran via de l'Hospitalet, 199-203, 08090 L'Hospitalet de Llobregat, España.

*Correspondencia: khrouazr11@alumnes.ub.edu

1. Introduction

Compounding formulas are used in hospital settings to be able to cover the needs of special patients, such as paediatric, geriatric, or other patients with inability to swallow [1]. According to data provided by the Vall d'Hebron Maternity and Children's Hospital, omeprazole is one of the most active principles used in compounding formulas, for the treatment of gastrointestinal disorders in paediatric patients. The Omeprazole 2 mg/mL formulation in xanthan gum suspension (Table 1) is frequently used in hospital pharmacy services. Omeprazole is one of the Proton Pump Inhibitors (PPIs); the most widely used antisecretory drugs due to its efficacy and lack of significant adverse effects. Its stability depends on the pH: the degradation is fast in acidic medium but remains practically stable under alkaline conditions. For this reason, it is administered orally, in capsules containing enteric-coated granules, to prevent its ionization by the gastric acidic environment and promote its absorption in the duodenum [2].

Omeprazole 2 mg/mL Suspension	
Omeprazol base	0,2 %
Sodium bicarbonate	8,4 %
Xanthan gum 1 % aqueous solution	50 mL
Vanilla essence	0,1-0,2 %
Sodium saccharin	0,1-0,3 %
Purified water q.s.	100 mL

Table 1. Omeprazole 2 mg/mL Suspension in xanthan gum.

2. Objectives

In the scientific literature, there is a lack of stability studies for the compounding formulation of Omeprazole 2 mg / mL in xanthan gum suspension. Thus, in this study it is proposed to determine the behaviour of this suspension in different pH media (1.2; 2.2 and 4.5), simulating, in this way, the variations in stomach pH.

3. Methodology

The Omeprazole 2 mg/mL formulation in xanthan gum suspension is prepared, according to the preparation protocol provided by the pharmacy service of the Vall d'Hebron Maternity and Children's Hospital [3]. And in parallel, 3 pH media (1.2; 2.2 and 4.5) are elaborate. After that, 10 mL of the suspension, an amount equivalent to 20 mg of omeprazole, are added to each of the pH media. Finally, its behaviour is observed for 2 hours.

A placebo is also prepared to verify that the change in colour of the pH media is not the result of the degradation of any excipient. Three pH 1.2 media are prepared: in the first one, 10 mL of the placebo is added, in the second, 20 mg of omeprazole pellets and in the third, 20 mg of omeprazol base. These media are also observed for 2 hours. Thus, it is intended to show that the colour changes observed in the pH media are due to the degradation of omeprazole in acidic pH [4].

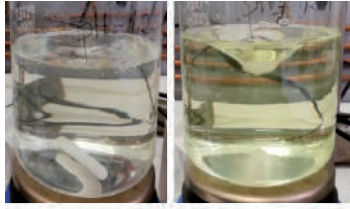


Figure 1. pH 1.2 medium. Left image: Omeprazole 2 mg/mL suspension in xanthan gum, time 0 minutes. Right image: Omeprazole 2 mg/mL suspension in xanthan gum, time 5 minutes.

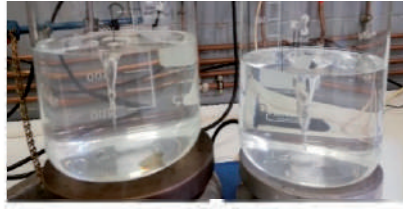


Figure 2. Left image: pH 2.2 medium; Omeprazole 2 mg/mL suspension in xanthan gum, time 5 minutes. Right image: pH 4.5 medium; Omeprazole 2 mg/mL suspension in xanthan gum, time 5 minutes.

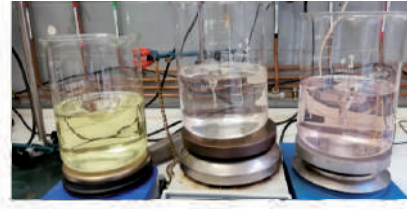


Figure 3. The 3 pH media after 1 h and 15 min: Left: pH 1.2 medium; Middle: 2.2 pH medium and Right: 4.5 pH medium.

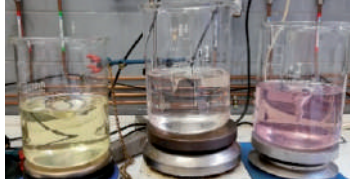


Figure 4. The 3 pH media after 2 h: Left: pH 1.2 medium (yellow colour); Middle: pH 2.2 medium (light brown colour) and Right: pH 4.5 medium (pink colour).

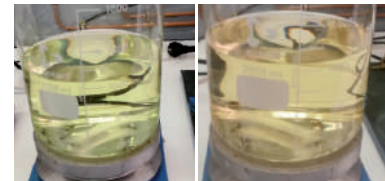


Figure 5. pH 1.2 medium with Omeprazole Base. The image on the left is after 10 minutes of adding 20 mg of Omeprazole Base. The image on the right is after 2 h of adding 20 mg of Omeprazole Base.

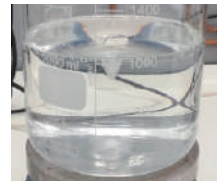


Figure 6. pH 1.2 medium with placebo. Not colour change is observed after 2 h.

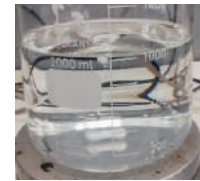


Figure 7. pH 1.2 medium with enteric coated omeprazole pellets. Not colour change is observed after 2 h.

4. Results and Discussion

Omeprazole degrades rapidly in an acidic medium, for this reason when the 10 ml of the suspension are added in pH 1.2 medium, in less than 1 minute a colour change is observed, from transparent to slightly yellow. This coloration intensifies after 5 minutes, as shown in Figure 1. Respect to pH 2.2 and 4.5 media (Figure 2) after 5 minutes, they are not completely transparent, and a slight change begins to be observed. Figures 3 and 4 show how the colour changes produced in each of the pH media intensify with time. The different colours, which are observed in pH media, are probably because of the degradation of omeprazole in different metabolites, depending on the pH. Figures 5 and 6 suggest that colour change

in the pH 1.2 medium is due to the degradation of omeprazole and not to formulation excipients.

The results obtained suggest that the administration of Omeprazole 2 mg/mL formulation in xanthan gum suspension will not be effective, because omeprazole is degraded in the stomach acidic environment.

5. Conclusion

The results obtained show the instability of the suspension of Omeprazole 2 mg/mL in acidic medium. Colour changes of different acidic pH media show the omeprazole degradation. Therefore, the therapeutic efficacy of this formulation is compromised.

References

1. Cañete CR, García MP, García BP, Cabañas MJP. Formulación magistral y excipientes en pediatría. *El Farmacéutico. Hospitales*. 2018;213:22-8.
2. Flórez J, Esplugues JV, Martí-Cabrera M. *Farmacología Humana*. 6a ed. Elsevier España SL, editor. 2014; p. 708-722.
3. FAGRON. Omeprazol Base. 2010.
4. Della MG, Iesce MR, Previtera L, Rubino M, Temussi F, Brigante M. Degradation of lansoprazole and omeprazole in the aquatic environment. *Chemosphere*. 2006;63:1087-93.

Este trabajo debe ser citado como:

Rouaz K, Chiclana Rodríguez B, Nardi Ricart A, Suñé Pou M, Mercadé Frutos D, Suñé Negre J, Pérez Lozano P, García Montoya E. Stability omeprazole 2 mg/ml suspension for use in paediatrics in different acidic media. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):236-7.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):236-7.

Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration

Ruiz Alonso Sandra ^{*1,2,3}, Lafuente Merchan Markel^{1,2,3}, Gallego Idoia^{1,2,3}, Saenz del Burgo Laura^{1,2,3}, Pedraz Jose Luis^{1,2,3}

¹ NanoBiocel Group, Laboratory of Pharmaceutics, School of Pharmacy, University of the Basque Country (UPV/EHU), Vitoria-Gasteiz, Spain

² Biomedical Research Networking Center in Bioengineering, Biomaterials and Nanomedicine (CIBER-BBN), Vitoria-Gasteiz, Spain

³ Bioaraba Health Research Institute, NanoBioCel Research Group, E-01009 Vitoria-Gasteiz, Spain.

*Correspondencia: sandra.ruiz@ehu.eus

1. Introduction

Tendon injuries represent a clinical burden on health systems globally [1]. 3D bioprinting could help for the development of scaffolds whose characteristics resemble those of the native tendon [2].

In this study, an ink based on natural materials was developed for tendon tissue regeneration. That ink was characterized and used to print scaffolds by 3D printing. Swelling and degradation rate assays were performed to predict the possible behaviour of the scaffolds in vivo. Finally, tenocytes were incorporated into the inks and 3D bioprinted. The viability and metabolic activity of tenocytes in the scaffold were analyzed.

2. Materials and methods

2.1. Development and characterization of the ink for 3D printing

Hyaluronic acid, alginate, fibrinogen and gelatine were mixed and dissolved in DMEM culture medium to obtain the ink. Its characterization was made by two different rheological tests in the Rheometer AR1000 (TA instruments, New Castle, USA). For the oscillation test a frequency ramp was performed (-0,1Hz to 100Hz). For the rotational test a shear rate sweep was performed (0.1s⁻¹ to 100s⁻¹/100s⁻¹ to 0.1s⁻¹).

2.2. 3D printing of scaffolds

2.2.1. 3D printing

The developed ink was used to print scaffolds using a BIO X 3D printer (CELLINK, Gothenburg, Sweden).

2.2.2. Swelling capacity of the scaffolds

Scaffolds were lyophilized and weighed. Then, they were immersed in PBS and kept for up to 3 days at 37 °C. The wet scaffolds were reweighed.

2.2.3. Degradation rate

Scaffolds were weighed at different times after printing, thereby controlling their weight loss after incubation in culture medium at 37 °C for several weeks.

2.3. 3D bioprinting of scaffolds

Mouse tenocytes were incorporated into the developed ink (5·10⁶ cel/ml). Bioinks were used to obtain scaffolds by 3D bioprinting.

2.3.1. Cell viability assay

To analyse the cell viability a Live/Dead test was performed. Scaffolds were then observed on a Nikon Eclipse TE2000-S confocal microscope.

2.3.2. Bioactivity assay

Cell metabolic activity was studied using a CCK8

assay. Scaffolds were incubated with the CCK8 reagent for 4 hours at 37 °C and subsequently the absorbance measurement was carried out in an Infinite M200 Tecan plate reader, at a wavelength of 450 nm.

3. Results and Discussion

The rotational test allowed establishing that the ink had non-Newtonian behaviour. Its shear thinning behaviour made it ideal for 3D printing. The initial viscosity at low shear rates was 1020 Pa/s. This ink was not very thixotropic, since after applying and removing the force, the initial viscosity was not recovered. The oscillatory test made it possible to establish that the elastic modulus (G') of the ink was greater than the viscous modulus (G'') (elastic solid-like behaviour) (Fig. 1).

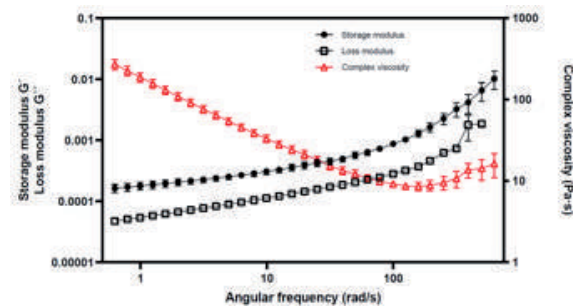


Fig. 1. Oscillation test.

As indicated by the rheological studies, the ink could be properly printed. The pressure and speed selected were 40 kPa and 7 mm/s respectively. The obtained scaffolds had dimensions very similar to those of the CAD design.

The swelling test made it possible to establish that after one hour, the lyophilized scaffold had practically recovered its initial weight (93 %) (Fig. 2A). In the degradation assay, it was observed that the highest percentage of weight loss occurred during the first two days. From day 3 to day 35, there was a very slight gradual degradation (Fig. 2B).

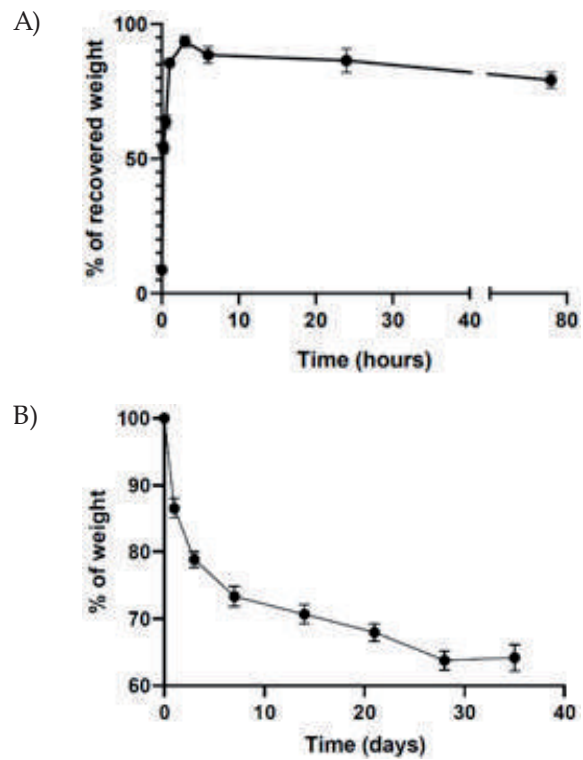


Fig. 2. A) Swelling test. B) Degradation test.

After the incorporation of the tenocytes in the ink, the viability and activity of the cells within the scaffolds were analyzed. The viability of the cells at different times was good (no cell death was observed) (Fig. 3B). This result was related to the one obtained for cellular activity in which an increase in activity could be seen over time (Fig. 3A).

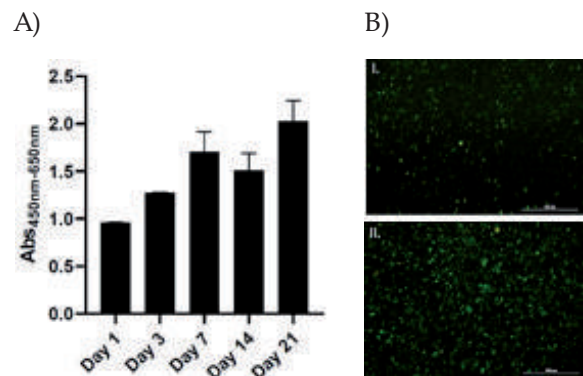


Fig. 3. A) Assay of metabolic activity. B) Cell viability of tenocytes at day 1 (I) and day 21 (II). Scale Bar=500µm

4. Conclusions

The ink based on hyaluronic acid, alginate, gelatin and fibrinogen presented adequate rheological behaviour. In addition, the swelling values indicated a good rehydration capacity and the

degradation values indicated a maintenance of the scaffold structure for the appropriate time. The viabilities and cellular functionality showed that the scaffold was biocompatible. On the one hand, these good results suggest that the developed ink is optimal for its use in 3D bioprinting technology applied to tendon regeneration. On the other hand, the developed scaffolds could have a positive effect on the regeneration of damaged tendons. In future studies, the effect of these scaffolds in vivo will be analyzed.

Acknowledgements

Authors thank the Basque Government for granted fellowship to S. Ruiz-Alonso (PRE_2020_2_0143). The Basque Country Government (IT907-16) and the University of the Basque Country (UPV/EHU)-Fundación VITAL Fundazioa (VITAL20/25) financially supported this study. 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 Basque Country.

References

1. Steinmann S, Pfeifer CG, Brochlausen C, Docheva D. Spectrum of Tendon Pathologies: Triggers, Trails and End-State. *Int J Mol Sci.* 2020;21(3):844.
2. Ma X, Liu J, Zhu W, Tang M, Lawrence N, Yu C, Gou M, Chen S. 3D bioprinting of functional tissue models for personalized drug screening and in vitro disease modeling. *Adv Drug Deliv Rev.* 2018;132:235-51.

Este trabajo debe ser citado como:

Ruiz Alonso S, Lafuente Merchan M, Gallego I, Saenz del Burgo L, Pedraz JL. Development of scaffolds based on natural materials for tendon tissue regeneration. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):238-40.

Desarrollo de una IVIVC basada en disolución dinámica en el aparato USP IV aplicada a diferentes formulaciones de Montelukast

Prieto Escolar Mercedes¹, Torrado Juan J.¹, Álvarez Covadonga¹, Ruiz Picazo Alejandro², Govantes Carlos³, Frias Jesús⁴, García Arieta Alfredo⁵, Gonzalez Alvarez Isabel², Bermejo Marival²

¹ Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid

² Departamento Ingeniería of Área Farmacia, Universidad Miguel Hernández de Elche

³ Laboratorios Normon SA, Tres Cantos, 28760 Madrid

⁴ Clinical Pharmacology Service, Hospital Universitario la Paz, School of Medicine, Universidad Autónoma de Madrid

⁵ Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, 28022 Madrid.

*Correspondencia: alejandro.ruizp@umh.es

1. Introducción

Montelukast es un fármaco ácido débil caracterizado por su baja solubilidad en el rango de pH de 1,2 a 4,5 (de 0,18 g / mL a pH 1,2 a 0,24 mg / mL a pH 7,5 [1]), lo que puede conducir a una absorción limitada por disolución.

Las pruebas de disolución convencionales in vitro pueden no ser útiles para predecir el comportamiento in vivo de los productos de montelukast, ya que no reflejan los cambios fisiológicos del pH durante el tránsito intestinal o los volúmenes reales de líquido luminal.

El objetivo de este artículo es desarrollar un método de disolución predictiva in vivo para montelukast y comprobar su rendimiento mediante el establecimiento de una correlación de nivel A in vitro-in vivo (IVIVC).

2. Materiales y métodos

2.1. Ensayos de disolución USP II

Los estudios de disolución se realizaron usando un aparato de paleta giratoria método 2 de la Farmacopea Europea 6^a ed. (Erweka DT80, Heu-semstamm, Alemania) y un método 4 de flujo a través de células grandes de la Farmacopea Europea (Sotax, Aesch, Suiza).

Los estudios de disolución en el equipo de pale-
Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):241-2.

ta giratoria se llevaron a cabo a una velocidad de rotación de 50 rpm utilizando 900 ml de varios medios de disolución a pH 1,2, 4,5 y 6,8.

2.2. Ensayos de disolución USP IV

Los estudios de disolución en la celda de flujo continuo se realizaron a un flujo medio de 5 ml / min en un diseño abierto con los siguientes medios de disolución:

- De 0 a 15 min medio de pH 1,2;
- De 15 a 60 min acetato 4,5 pH con 1,5 % p / v SDS; y
- De 60 a 210 min a un tampón de acetato de pH 6,8 con SDS al 0,2 % p / v.

2.3. Estudio In Vivo

Se realizaron dos estudios clínicos de bioequivalencia diferentes en la Unidad de Ensayos Clínicos Fase I del Hospital La Paz, Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Madrid. Ambos ensayos se diseñaron como aleatorizados, abiertos y de dosis única. Las muestras de sangre se centrifugaron y el plasma se recogió y se almacenó a ~ 20 °C hasta su análisis. Los niveles plasmáticos de montelukast fueron analizados mediante un procedimiento de cromatografía de fluorescencia validado por el departamento de Investigación y Desarrollo de Laboratorios Normon S.A. (Madrid, España).

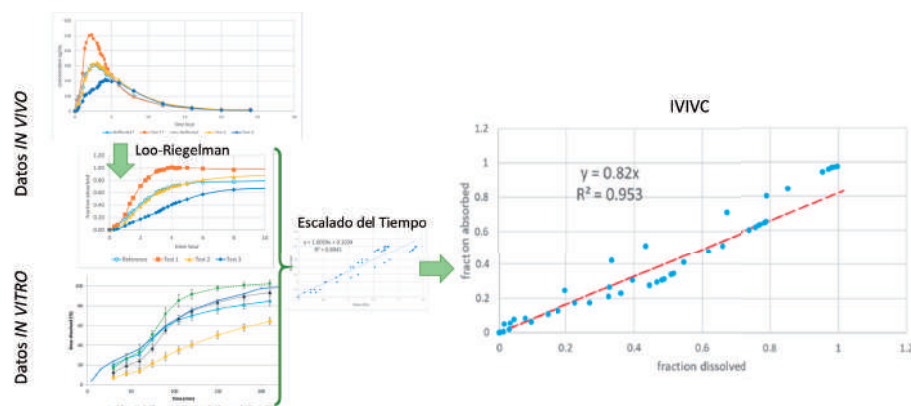


Fig. 1. Esquema de la construcción de una Correlación In Vitro-In Vivo en dos etapas a partir de los datos In Vitro e In Vivo de diferentes formulaciones de Montelukast

3. Resultados y Discusión

El presente estudio propone un método de disolución dinámico basado en un aparato USP IV para probar las formulaciones de montelukast ya que una sola condición de pH no es adecuada para predecir el comportamiento in vivo de un fármaco ionizable con una velocidad de disolución dependiente del pH. Este hecho se observó para otros ácidos y bases poco solubles [2, 3].

En un trabajo anterior, Okumu et al. [1] desarrolló un método biopredictivo basado en el aparato IV y la transición de pH con medios biorelevantes para la disolución de montelukast. Una limitación de ese estudio es que solo se utilizó una formulación de referencia; por tanto, no se demostró la capacidad del método para discriminar entre formulaciones con diferentes velocidades de liberación. El fundamento del desarrollo del método se basó en la solubilidad del montelukast dependiente del pH, y la inclusión de tensioactivos naturales mejoró las predicciones in vivo. En este trabajo, el objetivo era probar un método similar, pero evitar el uso de sa-

les biliars y lecitinas basándose en la hipótesis de que podría utilizarse un tensioactivo sintético para imitar el efecto de solubilización de las sales biliars y las micelas de lecitina.

En la figura 1 se pueden ver los pasos para construir la correlación in vitro-in vivo en dos etapas a partir de los datos in vitro e in vivo.

4. Conclusiones

El método desarrollado mostró resultados similares a un método biopredictivo propuesto previamente para montelukast, y como valor agregado mostró la capacidad de discriminar entre diferentes tasas de liberación in vitro, coincidiendo con los resultados de bioequivalencia clínica in vivo.

Agradecimientos

Este trabajo fue parcialmente financiado por una la U.C.M. al grupo de investigación 910939 y parcialmente por la Agencia Estatal de Investigación y la Unión Europea a través de FEDER, subvención número SAF2016-78756 (AEI / FEDER, EU).

Referencias bibliográficas

1. Okumu A, DiMasio M, Löbenberg R. Dynamic Dissolution Testing To Establish In Vitro/In Vivo Correlations for Montelukast Sodium, a Poorly Soluble Drug. *Pharm Res* [Internet]. 2008;25:2778–2785. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11095-008-9642-z>.
2. Zane P, Gieschen H, Kersten E, et al. In vivo models and decision trees for formulation development in early drug development: A review of current practices and recommendations for biopharmaceutical development. *Eur J Pharm Biopharm* [Internet]. 2019 [cited 2020 Dec 6];142:222–231. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31233862/>.
3. Kostewicz ES, Abrahamsson B, Brewster M, et al. In vitro models for the prediction of in vivo performance of oral dosage forms. *Eur J Pharm Sci* [Internet]. 2014 [cited 2019 Feb 19];57:342–366. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23988843>.

Este trabajo debe ser citado como:

Prieto Escolar M, J. Torrado J, Álvarez C, Ruiz Picazo A, Govantes C, Frias J, García Arieta A, Gonzalez Alvarez I, Bermejo M. Desarrollo de una IVIVC basada en disolución dinámica en el aparato USP IV aplicada a diferentes formulaciones de Montelukast. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):241-2.

Aplicación del modelo experimental full factorial 2^3 para el desarrollo de un comprimido recubierto conteniendo montelukast y desloratadina

Salas Ospino Sirce¹, Garzón Díaz Juliana¹, Morales Carmona Luis¹, Mena Utria Egberto²

¹ Grupo de investigación en control y tecnología farmacéutica, (GITECFAR). Facultad de Química y Farmacia. Universidad del Atlántico - Colombia.

² Desarrollo de nuevos productos. Laboratorio Farmacéutico Novamed S.A.S.

*Correspondencia: sircesalas@mail.uniatlantico.edu.co

1. Introducción

La prevalencia del asma y la rinitis alérgica ha aumentado en todo el mundo [1, 2]. El tratamiento farmacológico de elección para este tipo de alergias se basa en la administración conjunta de antagonistas de receptores histamínicos y antagonistas receptores de leucotrienos administrados por separado [3]. En el presente estudio se elaboró un comprimido recubierto que contenía dos principios activos utilizados en el tratamiento de alergias respiratorias, montelukast y desloratadina, mediante la aplicación de un diseño experimental (DoE) full factorial 2^3 .

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

API 1. Montelukast Chemo S.A; API 2. Desloratadina Chemo S.A; E1. Lactosa SD (Unired Químicas S.A.S); E2. Celulosa microcristalina (Unired Químicas S.A.S); E3. Croscarmelosa sódica (Unired Químicas S.A.S); E4. Dióxido de silicio coloidal. (Silicar Ltda); E5. Estearato de magnesio (Silicar Ltda); Cubierta: Opadry QX White referencia 321A180025. Colorcon®.

2.2. Métodos

2.2.1. Ensayos de compatibilidad Fármaco – Excipiente.

Se realizaron pruebas de compatibilidad en mezclas binarias de fármacos-excipientes. Almace-

nadas a 40 °C y 75 % de humedad relativa (HR) durante 7 semanas. Finalmente, las mezclas fueron leídas en un equipo infrarrojo (Espectrofotómetro IR, Agilent, Cary 630 FTIR).

2.1.2. Aplicación del Diseño Experimental DoE.

Se elaboraron formulaciones como se describe en la tabla No.1.

Tabla 1. Formulación DoE, niveles altos y bajos. C.S.: cantidad suficiente.

Formulación DoE	Bajo -1	Centro 0	Alto +1
Materia prima	mg/Comp	mg/Comp	mg/Comp
API 1	10.58	10.58	10.58
API 2	5.00	5.00	5.00
E3	5.2	10.4	15.6
E1	26.0	122.2	218.4
E2	C.S.	C.S.	C.S.
E4	2.6	2.6	2.6
E5	2.6	2.6	2.6

Se aplico un DoE full factorial 2^3 con 3 variables (E1, E3 y el recubrimiento del comprimido) y 2 niveles. La tabla 2 muestra las combinaciones posibles según las variaciones de los factores.

Según USP 43 NF 38, en cada formulación se evaluó: Índice de Carr <616>; Índice de Hausner <616>; Friabilidad <1216>; Dureza <1217>; Desintegración <701> y Disolución: se empleó una

técnica analítica previamente validada según recomendaciones de FDA, ICH, USP 43 NF 38, Capítulo. <711>. El análisis de datos y análisis estadístico se realizó con ayuda del software de análisis estadístico The Unscrambler X 10.3

Tabla 2. Matriz experimental DoE, utilizada. %A: porcentaje de desintegrante; %B: porcentaje de diluyente; %C: porcentaje de cubierta; +: Valor máximo; -: valor mínimo; 0: valor central.

Formulación	%A	%B	%C	Codificación DoE
1	-	-	-	1
2	+	-	-	a
3	-	+	-	b
4	+	+	-	ab
5	-	-	+	c
6	+	-	+	ac
7	-	+	+	bc
8	+	+	+	abc
9	0	0	0	Central 1
10	0	0	0	Central 2

3. Resultados y Discusión

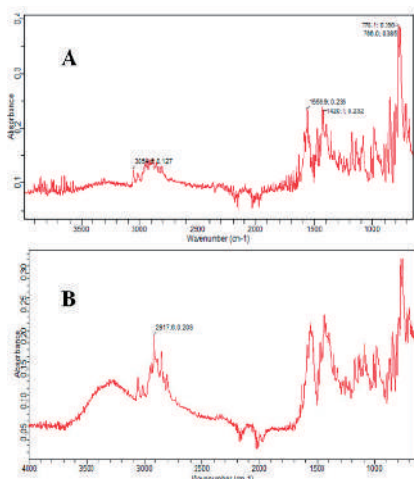


Figura 1: Espectro IR de montelukast - desloratadina (1:1). 1A: Inicio de la estabilidad acelerada; 1B: Final de la estabilidad acelerada

En la figura 1 no se observan incompatibilidades entre el API 1 y API 2, el espectro similar al inicio y al final del estudio. La figura exhibe picos característicos, en el caso de montelukast aparece a los 3054.6 cm-1 con una absorbancia de 0.127, lo cual

indica la presencia de la amina terciaria y el grupo sulfuro. Para desloratadina se evidencia un pico de mayor absorbancia en el espectro con 0.390 a 778.1 cm-1 característico de los enlaces C-Cl. Los grupos aromáticos de doble enlace de ambas moléculas también aparecen en el espectro, absorbiendo en longitudes de onda de 1400 a 1600 cm-1 [4].

Del ensayo de disolución, para montelukast el software arrojó el siguiente modelo matemático:

$$f(x) = []_1 B \text{ Ec. (1)}$$

Dónde: []1= concentración de desintegrante en la tableta recubierta; B= valor obtenido en el b-coefficient para %diluyente.

El modelo matemático resultante para la cuantificación de desloratadina en el presente estudio es:

$$Y = (31.47 x Abs_1) + (-11.27 x Abs_2) + 0.16 \text{ Ec. (3)}$$

Finalmente se definieron los espacios de diseño en donde se obtendrían los mejores resultados de la tableta recubierta de montelukast-desloratadina. Como se puede observar en la figura 2, en este estudio, se pueden optimizar los resultados de las formulaciones en los siguientes rangos: Índice de Carr 16.40-18.40; Índice de Hausner entre 1.17-1.20; Friabilidad 0.04-0.63 %; Dureza 7.81-8.60 Kp; Desintegración 29.13-35.13; Disolución API1: 98.41-103.71 % y Disolución API2: 91.51-100.52 %

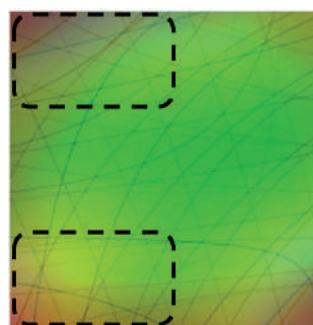


Figura 2. Grafica de espacios de diseño obtenido

4. Conclusiones

Las formulaciones que mejor rendimiento arrojaron fueron aquellas en las que había un equilibrio entre diluyente y desintegrante, estas son la numero 1 (factores variables bajo), ab (desintegrante y diluyente alto) y los puntos centrales. los cuales fueron escogidos como espacios de diseño donde se pueden optimizar las formulaciones de los comprimidos

Referencias bibliográficas

1. Pullerits T, et al. The triad of current asthma, rhinitis and eczema is uncommon among adults: Prevalence, sensitization profiles, and risk factors. *Respiratory Medicine*. 2021;176:106250.
2. Lundbäck B, Backman H, Lötval J, Rönmark E. Is asthma prevalence still increasing?. *Expet Rev Respir Med*. 2016;10:39-51.
3. Toral Pérez MT, Moral Gil L, Bosque García M. Farmacoterapia de las enfermedades alérgicas. *Protoc Diagn Ter Pediatr*. 2019;2:35-49.
4. Skoog D, Holler F, Nieman T. principles of instrumental analysis. 5a ed. U.S.A.: McGraw Hill; 2001. p. 410, 435-439.

Este trabajo debe ser citado como:

Salas Ospino S, Garzón Díaz J, Morales Carmona L, Mena Utria E. Aplicación del modelo experimental full factorial 23 para el desarrollo de un comprimido recubierto conteniendo montelukast y desloratadina. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):243-5.

Método alternativo para el estudio *in vitro* de la distribución de fármacos en cerebro

Sánchez Dengra Bárbara *¹, González Álvarez Isabel¹, González Álvarez Marta¹, Bermejo Marival¹

¹ Departamento de Ingeniería, Área de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad Miguel Hernández, San Juan de Alicante, Alicante, 03550, España.

*Correspondencia: barbarasanchezdengra@gmail.com

1. Introducción

El sistema nervioso central (SNC) es uno de los órganos más importantes de los seres vivos ya que se encarga de recibir y procesar la información, así como de generar respuestas frente a los estímulos recibidos del exterior. Este hecho, ha provocado que, además, el SNC sea uno de los órganos más protegidos. Concretamente, en los seres humanos se encuentran 4 tipos de estructuras de protección: los huesos (cráneo y columna vertebral), las meninges, el líquido cefalorraquídeo (LCR) y la barrera hematoencefálica (BHE) [1].

La BHE es la encargada de limitar el acceso de microorganismos y sustancias tóxicas al SNC. Sin embargo, también es la responsable de la falta de eficacia de muchos de los fármacos diseñados para el tratamiento de enfermedades neurológicas [2].

La cada vez mayor prevalencia de estas enfermedades y la falta de éxito mencionada con anterioridad hace necesario el desarrollo de nuevas estrategias de cribado que permitan seleccionar aquellos fármacos o formulaciones más prometedores en estadios tempranos de su desarrollo. En este sentido, en el año 2013, Mangas-Sanjuan et al. [3] desarrollaron un sistema de evaluación *in vitro* con el que se podían predecir los principales parámetros que describen el acceso y la distribución de fármacos en el SNC:

- La $K_{p_{u,u,brain}}$ relación entre la concentración de fármaco libre en plasma y la concentración de fármaco libre en cerebro.
- La $f_{u,plasma}$ la fracción libre de fármaco en plasma.

- La $f_{u,brain}$ la fracción libre de fármaco en el cerebro.
- El volumen aparente de distribución de fármaco en el cerebro ($V_{u,brain}$), la relación entre la cantidad de fármaco y su concentración libre en el cerebro.

La metodología propuesta por Mangas-Sanjuan et al., que en el año 2021 fue validada en otra línea celular [4], aún siendo una metodología *in vitro*, empleaba homogeneizado de cerebro de cerdo en los ensayos realizados para obtener los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$. Así, el objetivo de este trabajo fue desarrollar una formulación alternativa sustituta del homogeneizado de cerebro que permitiese la obtención de los dos parámetros mencionados previamente con un mayor cumplimiento de los principios de las 3Rs (refinamiento, reducción y reemplazo).

2. Materiales y métodos

Se desarrolló una emulsión con la misma proporción en lípidos y proteínas que el homogeneizado de cerebro y se llevaron a cabo 3 tipos de ensayos de permeabilidad con 9 fármacos en dos líneas celulares (MDCK y MDCK-MDR1):

1. Estándar - en dirección basolateral-apical (BA).
2. Homogeneizado de cerebro - BA.
3. Emulsión - BA.

Combinando las permeabilidades de los ensayos 1 y 2, pudieron calcularse los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$ tal cual propusieron Mangas-Sanjuan et

al. Por su parte, combinando las permeabilidades de los ensayos 1 y 3 se obtuvieron estos mismos parámetros para la nueva emulsión.

Finalmente, los valores obtenidos fueron comparados y correlacionados con sus equivalentes *in vivo* extraídos de la literatura.

3. Resultados y Discusión

La Tabla 1 muestra un resumen de los coeficientes de determinación (r^2) obtenidos en las correlaciones de $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$ (parámetro *in vitro* frente a parámetro *in vivo* de 9 fármacos) cuando se emplea la línea celular MDCK.

Tabla 1. Coeficientes de determinación obtenidos con la línea celular MDCK.

	MDCK – r^2	
	Homogeneizado	Emulsión
$f_{u,brain}$	0.621	0.586
$V_{u,brain}$	0.559	0.584

La Tabla 2 es equivalente a la Tabla 1, pero, en este caso, muestra los resultados obtenidos para la línea celular MDCK-MDR1.

Tabla 2. Coeficientes de determinación obtenidos con la línea celular MDCK-MDR1.

	MDCK-MDR1 – r^2	
	Homogeneizado	Emulsión
$f_{u,brain}$	0.640	0.559
$V_{u,brain}$	0.493	0.547

Los resultados de ambas tablas reflejan, dada la escasa diferencia entre los valores de r^2 , que el uso de la nueva emulsión propuesta como sustituta al homogeneizado de cerebro permite obte-

ner correlaciones equivalentes a aquellas que se obtienen cuando se hace uso del homogeneizado.

Por su parte, la comparación de ambas tablas, permite deducir que, el uso de una línea celular u otra no es relevante a la hora de obtener estos parámetros. Esto puede deberse a que la principal diferencia entre la línea celular MDCK y la línea celular MDCK-MDR1 es la presencia del transportador de excreción, glicoproteína P, en esta segunda. No obstante, los parámetros $f_{u,brain}$ y $V_{u,brain}$, son parámetros que caracterizan la distribución del fármaco en el cerebro una vez cruza la BHE, por lo que no se verían influidos por la presencia o ausencia de transportadores con independencia de cuál sea el mecanismo de acceso del fármaco.

4. Conclusiones

Se ha desarrollado una nueva formulación que puede emplearse como sustituta del homogeneizado de cerebro en el cribado del acceso y distribución de fármacos en el SNC. Este hecho contribuye a mejorar el bienestar animal y a reducir las pérdidas económicas derivadas de los fracasos en el desarrollo de fármacos dirigidos hacia este órgano, ya que sólo los fármacos y formulaciones más prometedores avanzarían a fases posteriores tras su estudio *in vitro*.

Agradecimientos

Esta investigación fue financiada por la Agencia Estatal Investigación y la Unión Europea, a través de FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional) con el proyecto: “Modelos *in vitro* de evaluación biofarmacéutica” [SAF2016-78756 (AEI/FEDER, EU)]. Bárbara Sánchez-Dengra recibió una beca del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades de España [FPU17/00530].

Referencias bibliográficas

1. Telano LN, Baker S. Physiology, Cerebral Spinal Fluid (CSF); StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, United States of America, 2018.
2. Abbot NJ, Patabendige AAK, Dolman DEM, Yusof SR, Begley DJ. Structure and function of the blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2010;37:13–25.
3. Mangas-Sanjuan V, González-Álvarez I, González-Álvarez M, Casabó VG, Bermejo M. Innovative *in vitro* method to predict rate and extent of drug delivery to the brain across the blood-brain barrier. *Mol Pharm.* 2013;10:3822–31.
4. Sánchez-Dengra B, González-Álvarez I, Sousa F, Bermejo M, González-Álvarez M, Sarmento B. *In vitro* model for predicting the access and distribution of drugs in the brain using hCMEC/D3 cells. *Eur J Pharm Biopharm.* 2021;163:120–6.

Este trabajo debe ser citado como:

Sánchez Dengra B, González Álvarez I, González Álvarez M, Bermejo M. Método alternativo para el estudio *in vitro* de la distribución de fármacos en cerebro. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):246-7.

Investigación sobre servicios profesionales farmacéuticos asistenciales en el marco de los trabajos fin de grado desarrollados durante las prácticas tuteladas

Solinis María Ángeles ^{*1}, del Pozo Rodríguez Ana¹, Calvo Begoña¹, Zarate Jon¹, Lopez de Ocariz Milagros², Erazo Flavia³, Gastelurrutia Miguel Ángel⁴, Isla Arantxa¹

¹ Departamento de Farmacia y Ciencias de los Alimentos, Facultad de Farmacia, Universidad del País Vasco (UPV/EHU).

² En representación del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Álava.

³ En representación del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Bizkaia.

⁴ En representación del Colegio Oficial de Farmacéuticos de Gipuzkoa.

*Correspondencia: marian.solinis@ehu.eus

1. Introducción

En la actualidad se están dando cambios importantes en el ámbito de las profesiones sanitarias, incluida la farmacia, por lo que es necesario considerar nuevos modelos para ofrecer una asistencia centrada en las y los pacientes. Por ello, la profesión farmacéutica, atendiendo a su misión de búsqueda y mantenimiento de resultados positivos en salud, debe avanzar en la promoción e innovación en farmacia asistencial. La atención farmacéutica es una pieza clave para mejorar, además de los resultados en salud, la gestión sanitaria y promover el ahorro sanitario. De hecho, el Consejo de Europa aprobó la Resolución CM/Res(2020)3 sobre implementación de la atención farmacéutica en el sistema sanitario con el fin de beneficiar a los y las pacientes y a los servicios de salud [1]. En este sentido, la implantación de servicios profesionales farmacéuticos asistenciales (SPFA) supone una gran oportunidad para la mejora de la salud pública mediante la provisión de servicios de cuidados de la salud y el uso racional del medicamento.

Los estudios universitarios deben contribuir a la formación integral del alumnado, asegurando su preparación profesional. Asimismo, en la actual sociedad del conocimiento, la innovación y el desarrollo tecnológico y social, se hace imprescindible la implantación en el Grado en

Farmacia de metodologías que fomenten la cooperación, la participación y la divulgación de la investigación [2].

En este escenario, el objetivo del presente estudio es explorar el desarrollo de trabajos fin de grado (TFG) sobre SPFA durante la realización de las prácticas tuteladas en farmacias comunitarias, mediante la colaboración entre la Universidad, los Colegios Oficiales de Farmacéuticos (COF) de Euskadi y las farmacias.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño y planificación de las acciones de inserción curricular

Se analizan, en colaboración con los COF de Euskadi, las necesidades de las farmacias comunitarias, de cara a determinar qué aspectos se pueden abordar en el desarrollo curricular del TFG en relación con los SPFA.

2.2. Realización y seguimiento de los TFG

Se ofrece al alumnado la posibilidad de realizar un TFG de tipo experimental sobre SPFA durante las prácticas tuteladas en farmacias comunitarias. Aplicando la metodología del aprendizaje basado en la investigación/indagación (RBL/IBL, Figura 1), se forma al alumnado y se realiza su seguimiento a lo largo de todo el TFG.

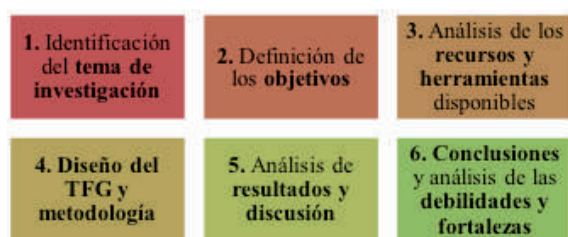


Fig. 1. Esquema de trabajo para la realización del TFG con metodología RBL/IBL.

2.3. Análisis de los resultados

Se ha valorado la calificación obtenida en los TFG y se han preparado cuestionarios específicos dirigidos al alumnado, instructores e instructoras de las farmacias y profesorado responsable de la dirección de los TFG (escala de 1 a 5).

3. Resultados y Discusión

Han participado 9 estudiantes, que han defendido su TFG (tabla 1) en el curso académico 2020/2021 bajo la supervisión de 9 instructores en las farmacias donde realizaban sus prácticas tuteladas y de 5 docentes de la Facultad de Farmacia de la Universidad del País Vasco. La nota media obtenida en los TFG ha sido de 8,8 (rango 7,8-9,6).

Tabla. 1. TFG defendidos.

Diseño de un protocolo de atención farmacéutica para pacientes con asma y EPOC en tratamiento con terapia inhalada
La importancia de la farmacia asistencial en la atención sanitaria a pacientes que acuden a la oficina de farmacia con problemas de ansiedad durante la pandemia COVID-19.
Servicio de conciliación de medicamentos en pacientes geriátricos que han sido hospitalizados
Servicio de conciliación en pacientes en tratamiento con medicamentos de alto riesgo
Atención farmacéutica de los síntomas menores de la menopausia en la farmacia comunitaria
Farmacia asistencial en dermatología: cosmética y tratamiento de síntomas menores
Discrepancias en las prescripciones electrónicas en farmacia comunitaria: análisis de la situación y estrategias de mejora
Formulación magistral, asistencia y asesoramiento dirigido a pacientes con alopecia en farmacia comunitaria
Optimización del servicio de dispensación de medicamentos para la el tratamiento de la fertilidad en mujeres

La valoración global de la actividad fue alta (puntuación media $\geq 4,7/5$). Para el alumnado, colaborar con el personal de la farmacia fue una experiencia positiva y enriquecedora (4,7/5) y será útil para su futuro profesional (4,6/5), habiéndose potenciado su visión sobre la necesidad y posibilidad de llevar a cabo actividades de investigación en la farmacia comunitaria (4,3/5). Por otro lado, tanto el alumnado, como las y los instructores de las farmacias y el profesorado consideran que se han desarrollado diferentes competencias de manera relevante: autonomía, trabajo en equipo, compromiso social, comunicación, ética y responsabilidad profesional y pensamiento crítico (puntuaciones $>4,1/5$).

4. Conclusiones

La estrecha colaboración entre la universidad, los COF y las farmacias para el desarrollo de TFG en el área de los SPFA supone un avance importante para la formación del alumnado en el ámbito de la Farmacia asistencial. La codirección del TFG entre el profesorado de la UPV/EHU y el personal de la farmacia comunitaria ha permitido que este último conozca de primera mano el trabajo y la investigación realizada desde la universidad en el área de la farmacia asistencial, ampliando las posibilidades de futuras colaboraciones en este campo. Sin embargo, la colaboración mejoraría si se elaborase un listado o red de farmacias implicadas en el fomento de la farmacia asistencial y los SPFA, y en la realización de TFG en este área.

El alumnado destaca la necesidad de recibir formación específica en atención farmacéutica. Asimismo, en opinión de todos los agentes, sería beneficioso continuar en un futuro con este tipo de colaboraciones, para incrementar el conocimiento y la innovación en este ámbito en sucesivas promociones del Grado en Farmacia e impulsar el desarrollo de tesis doctorales en este campo. De hecho, este tipo de proyectos de innovación promueve la investigación aplicada, una actividad de gran importancia en la práctica farmacéutica.

Agradecimientos

Trabajo financiado por la UPV/EHU (Convocatoria de Proyectos de Innovación IKDi3 Laborategia, 2020 y grupos UPV/EHU, GIU 17/32).

Referencias bibliográficas

1. Resolution CM/Res(2020)3 on the implementation of pharmaceutical care for the benefit of patients and health services, https://search.coe.int/cm/pages/result_details.aspx?objectid=09000016809c-df26; 2020 [consultada 10/09/2021].
2. Abril-Gallego AM, Romero-Ariza M, Quesada-Armenteros A, García-García FJ. Creencias del profesorado en ejercicio y en formación sobre el aprendizaje por investigación. Rev. Eureka enseñ. divulg. cienc. 2016;11:22-33.

Este trabajo debe ser citado como:

Solinis MA, Del Pozo Rodríguez A, Calvo B, Zarate J, Lopez De Ocariz M, Erazo F, Gastelurrutia MA, Isla A. Investigación sobre servicios profesionales farmacéuticos asistenciales en el marco de los trabajos fin de grado desarrollados durante las prácticas tuteladas. Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):248-50.

Diseño y desarrollo de un sistema de entrega de fármaco autoemulsificable (SEDDS) de ibuprofeno en cápsula dura de gelatina

Sotomayor Pino Reinaldo G. *¹, Salas Ospino Sirce¹, Ramirez Castillo Luis¹, Ospina Garcia Dener¹

¹ Grupo de investigación en control y tecnología farmacéutica, (GITECFAR), Programa de Farmacia, Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico - Colombia.

*Correspondencia: reinaldosotomayor@mail.uniatlantico.edu.co

1. Introducción

En la actualidad el principal problema que presentan los fármacos administrados por vía oral es la baja solubilidad acuosa, lo que lleva a una pobre biodisponibilidad de estos y, lo cual afecta al 40 % de principios activos que se encuentran en el mercado actual. Los medicamentos que se presentan en una forma de dosificación sólida y que sus principios activos se encuentren como Clase II dentro del Sistema de clasificación biofarmacéutica (SBC), como por ejemplo el ibuprofeno (IBU), presenta muchos desafíos para lograr un desarrollo exitoso. Se ha utilizado estrategias en formulación para mejorar el perfil de disolución de fármacos como el ibuprofeno, entre las que tenemos técnicas como: micronizado de sólidos cristalinos, formulación de dispersiones sólidas o amorfas, formulaciones basadas en lípidos [1]. Entre las cuales se destacan las formulaciones de sistema de entrega de fármacos autoemulsificables (SEDDS), compuesta de aceites, cosolventes, tensioactivos y co-tensioactivos, estos generalmente se dispersan rápidamente seguida de la administración oral y producen una emulsión o micro emulsión que contiene el fármaco solubilizado, presentando una ventaja determinante al entregar el fármaco a la mucosa gastrointestinal en estado disuelto y que será fácilmente accesible para su absorción [2]. El objetivo de esta investigación fue desarrollar un SEDDS para superar la baja solubilidad intrínseca de este ingrediente farmacéutico activo.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Acido clorhídrico 0,1 N, fosfato tribásico de sodio, hidróxido de sodio, ibuprofeno, estándar de ibuprofeno, aceites esenciales (menta, limón, anís, soya), Cremophor RH40®, Tween 80®.

2.2. Métodos

2.2.1 Selección del aceite.

La solubilidad del IBU en distintos aceites fue determinada por el método termodinámico (shake flash). Las muestras se prepararon por triplicado y fueron leídas en un espectrofotómetro UV/Vis a 222 nm. Las muestras fueron tomadas y analizadas en las siguientes 2, 24 y 48 horas, hasta verificar que se alcanzara un valor constante de absorbancia en las lecturas, y de esta forma su equilibrio.

2.2.2 Selección de la formulación.

Se realizó un diseño factorial evaluando así 27 formulaciones. A partir de las pruebas de autoemulsificación se construyeron diagramas de fases que permitieron identificar los porcentajes de las mezclas que producen soluciones isotrópicas, es decir, las mejores zonas de autoemulsificación. Ocho formulaciones fueron seleccionadas y se sometieron a distintas pruebas de desempeño: robustez, tiempo de autoemulsificación y perfil de disolución del SEDDS líquido incorporado en una capsula dura y contra un producto de referencia.

3. Resultados y Discusión

El aceite de soya permitió disolver un máximo de IBU de 28,399 mg/mL, mientras que los aceites esenciales de menta, anís y limón mostraron una mayor solubilidad del ibuprofeno, pero muy similar entre ellos, 36,489; 36,868 y 36,660 mg/mL, respectivamente. Estos resultados coinciden con otras investigaciones, donde se estableció que la capacidad de los triglicéridos como solvente para fármacos se da principalmente por la concentración de grupos éster en sus estructuras [3]. A pesar de los resultados similares se escogió el aceite de menta por presentar mejores características de estabilidad y manejo. La mezcla de aceite esencial de menta (20 % aprox.), Tween 80(40 % aprox.), Cremophor RH40(40 % aprox.) en las combinaciones de la fórmula 1(F1) dieron los mejores resultados. La Figura 1 representa un diagrama de fases, donde se identificó las zonas de mayor transparencia, indicando la presencia de correspondiendo a formulas tipo IIIB según Pouton.

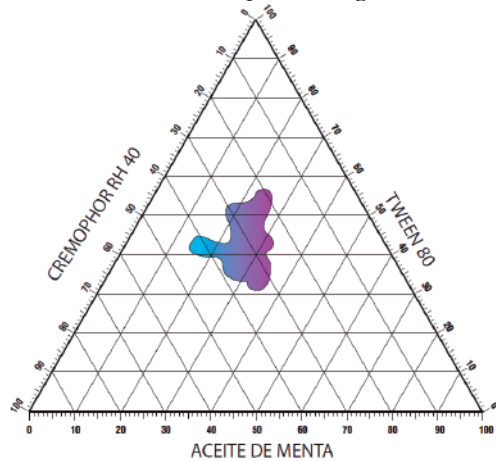


Fig. 1. Diagrama de fases pseudoternario.

Referencias bibliográficas

1. Pouton CW, Porter CJH. Formulation of lipid-based delivery systems for oral administration: Materials, methods and strategies. *Eur J Pharm Sci.* 2008;60(6):625-37.
2. Pouton CW. Lipids formulations for oral administration of drugs: non-emulsifying, self-emulsifying and 'self-microemulsifying' drug delivery systems. *Eur J Pharm Sci.* 2000;11(2):93-8.
3. Cao Y, Marra M, Anderson BD. Predictive relationships for the effects of triglyceride ester concentration and water uptake on solubility and partitioning of small molecules into lipid vehicles. *J Pharm Sci.* 2004;93(11):2768-79.
4. Sierra A, Clares B, Calpena A, Aróztegui M, Barbé C, Halbaut L. Design and optimization of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) for enhanced dissolution of gemfibrozil. *Int J Pharm.* 2012;431(1-2):161-75.

Este trabajo debe ser citado como:

Sotomayor Pino RG, Salas Ospino S, Ramirez Castillo L, Ospina Garcia D. Diseño y desarrollo de un sistema de entrega de fármaco autoemulsificable (SEDDS) de ibuprofeno en cápsula dura de gelatina. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):251-2.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):251-2.

El tiempo de emulsificación para F1 fue cercano a un minuto y la robustez a la dilución para asemejar las condiciones gastrointestinales: en términos generales fue más favorable en un pH alcalino (6,8), que para un pH ácido (1,2) hasta las 24 horas; hecho relacionado a que el fármaco permanece en un estado supersaturado hasta por 24 horas después del evento inicial de emulsificación. [4]. Estos resultados indican una tendencia a una la formación espontánea de micro emulsiones. El perfil de disolución en capsula dura arrojó un valor promedio de Q% de 94 a los 45 minutos y la evaluación del perfil de disolución cumplió con los factores de similitud y diferencia, indicando ser comparable con el producto de referencia de características similares.

4. Conclusiones

Un sistema SEDDS para IBU fue exitosamente desarrollado y caracterizado. Los componentes en las proporciones establecidas permitieron formulaciones estables y capacidad de automicroemulsificar el sistema, con la posibilidad de mejorar la biodisponibilidad del fármaco que ilustra el potencial uso de esta estrategia de formulación.

Agradecimientos

Los autores manifiestan su agradecimiento a la Universidad del Atlántico, Facultad de Química y Farmacia y a Laboratorios Procaps SAS por la colaboración prestada en esta investigación.

Sistemas multiparticulares de ezetimiba y atorvastatina en el tratamiento de hiperlipidemia inducida en ratas diabéticas

Torrado Salmerón Carlos¹, Guarnizo Herrero Víctor², Torrado Durán Santiago¹

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid. Plaza Ramón y Cajal s/n. Madrid 28040.

² Departamento de Ciencias y Tecnología Farmacéuticas, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas, Universidad de Chile. Sergio Livingston P. 1007. Santiago de Chile.

*Correspondencia: ctorrado@ucm.es

1. Introducción

La ezetimiba y la atorvastatina son fármacos de baja solubilidad (clase II según el BCS) utilizados en tratamiento de la hiperlipidemia.

La elaboración de dispersiones sólidas y sistemas micelares mejora la solubilidad de estos principios activos, aumentando la eficacia en el tratamiento de hiperlipidemia con sistemas multiparticulares de ezetimiba y atorvastatina.

2. Objetivos

Mejorar la eficacia en el tratamiento de la hiperlipidemia, reduciendo la dosis de ambos fármacos, mediante la elaboración de sistemas multiparticulares de ezetimiba y atorvastatina.

3. Materiales y métodos

3.1. Preparación de las formulaciones

Las mezclas físicas (PM-EZ 1:2,5; PM-ATV 1:1) se desarrollaron mediante la mezcla del principio activo con croscarmelosa sódica.

Las dispersiones sólidas (SD-EZ 1:2,5; SD-EZ 1:5; SD-ATV 1:1; SD-ATV 1:3) se elaboraron disolviendo el principio activo en etanol e incorporando sobre croscarmelosa, con el posterior secado a 40 °C durante 24 h. Para la elaboración de los sistemas micelares de ezetimiba (MS-EZ 1:0,25; MS-EZ 1:1) se incorporó Kolliphor RH40 a la solución de ezetimiba en etanol.

El sistema multiparticular MPS-I está formado por el sistema micelar de ezetimiba MS-EZ (1:1) y la dispersión sólida de atorvastatina SD-ATV (1:1). El sistema MPS-II incluye ambas formulaciones en una dosis inferior (2/3 de la dosis de MPS-I).

3.2. Estudios *in vitro* e *in vivo*

3.2.1. Ensayos de velocidad de disolución

La velocidad de disolución de ezetimiba y atorvastatina se realizó en condiciones no sink con 50 mL de un medio biorelevante (FaSSiF) a pH 6,5 y posterior análisis mediante HPLC [1, 2].

3.2.2. Estudio de eficacia

El análisis de los niveles de colesterol y lípidos en ratas diabéticas Goto-Kakizaki (GK) con 8 semanas de dieta grasa, compara un grupo Control frente a un grupo con dieta grasa sin tratamiento (HFD) y distintos grupos con tratamientos de ezetimiba y atorvastatina.

4. Resultados y Discusión

4.1. Ensayos de velocidad de disolución

Los perfiles de disolución de la ezetimiba muestran diferencias significativas entre las distintas formulaciones (Fig. 1A), con unas mayores concentraciones de ezetimiba disuelta en la MS-EZ (1:1) respecto al resto de las dispersiones sólidas y al sistema micelar en proporción 1:0,25 [1].

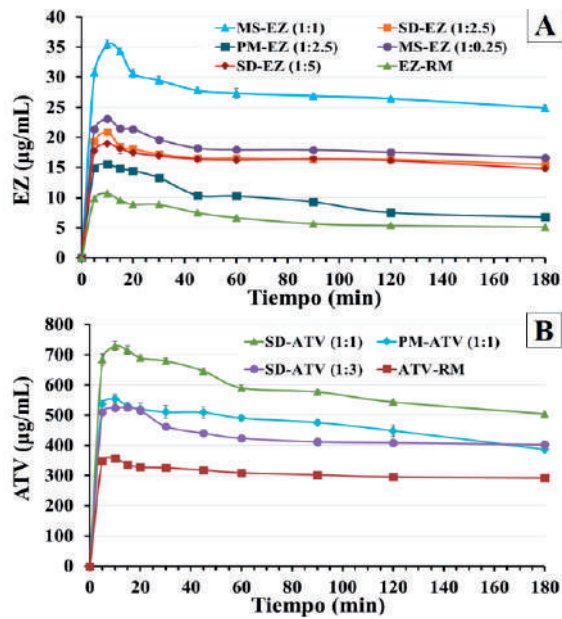


Fig. 1. Perfiles de disolución (no sink) con medio FaSSIF a pH 6,5. (A): EZ materia prima (EZ-RM), mezcla física (PM-EZ), dispersiones sólidas (SD-EZ), sistemas micelares (MS-EZ). (B): ATV materia prima (ATV-RM), mezcla física (PM-ATV), dispersiones sólidas (SD-ATV).

La dispersión sólida de atorvastatina SD-ATV (1:1) en estos ensayos de disolución presenta una mejora (Fig. 1B) a diferencia de la dispersión sólida SD-ATV (1:3) y la mezcla física, con diferencias significativas entre las distintas formulaciones y la atorvastatina materia prima (ATV-RM).

4.2. Estudio de eficacia

Al analizar los niveles bioquímicos a las 8 semanas de tratamiento, el grupo EZ/ATV-RM presentó mejoras frente al grupo HFD sin llegar a alcanzar los valores del grupo Control. Los grupos de tratamiento con MPS-I y MPS-II muestran resultados bioquímicos similares, alcanzando las concentraciones del grupo Control en colesterol y lípidos [3].

El desarrollo de la formulación MPS-II, a partir de un sistema micelar de ezetimiba y una dispersión sólida de atorvastatina, permite disminuir la dosis de ambos principios activos, reduciendo sus posibles efectos adversos [3].

5. Conclusiones

El desarrollo de una velocidad de disolución en un medio biorelevante (FaSSIF), permite observar mejoras significativas en MS-EZ (1:1) y SD-ATV (1:1) en condiciones de supersaturación, respecto al resto de formulaciones.

El desarrollo de un sistema multiparticular de ezetimiba/atorvastatina administrado en ratas diabéticas con dieta grasa, reduce los niveles lipídicos de forma eficaz con una menor dosis administrada de ambos principios activos.

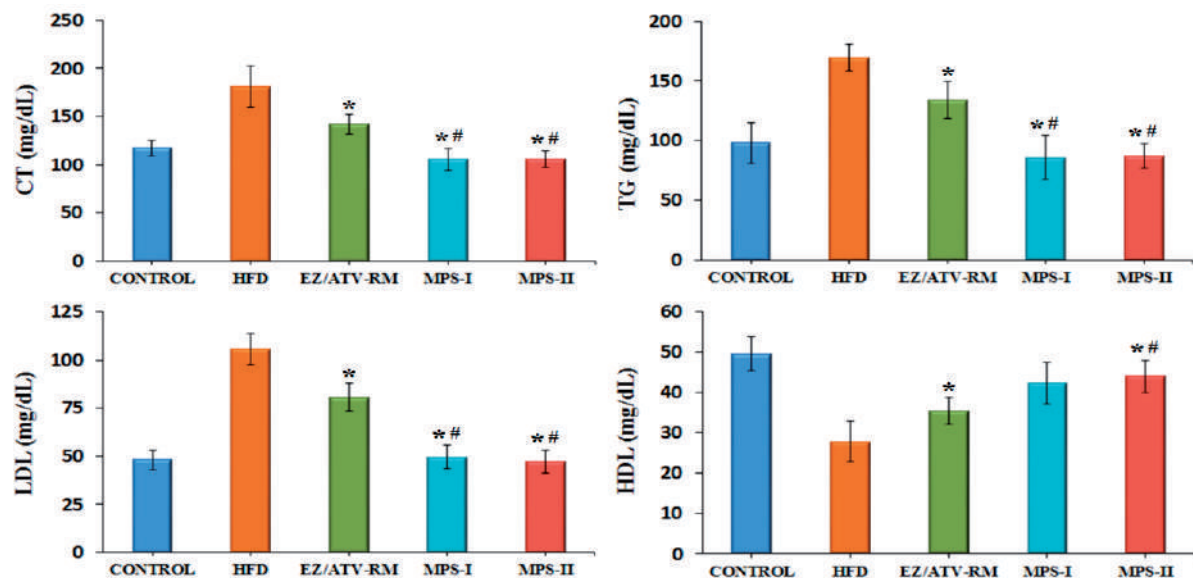


Fig. 2. Niveles de colesterol total (CT), triglicéridos (TG), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad (HDL). Media y desviación estándar (n=6) de los siguientes grupos de ratas GK: grupo control (CONTROL), dieta grasa (HFD), ezetimiba/atorvastatina materia prima (EZ/ATV-RM) y sistemas multiparticulares (MPS-I y MPS-II).

Referencias bibliográficas

1. Dash RN, Mohammed H, Humaira T. Design, optimization, and evaluation of ezetimibe solid supersaturatable self-nanoemulsifying drug delivery for enhanced solubility and dissolution. *J Pharm Investigation*. 2016;46:153-68.
2. França MT, Pereira RN, Riekes MK, Pinto JMO, Stulzer HK. Investigation of novel supersaturating drug delivery systems of chlorthalidone: The use of polymer-surfactant complex as an effective carrier in solid dispersions. *Eur J Pharm Sci*. 2018;111:142-52.
3. Sharma M, Mehta I. Surface stabilized atorvastatin nanocrystals with improved bioavailability, safety and antihyperlipidemic potential. *Sci Rep*. 2019;9(1):16105.

Este trabajo debe ser citado como:

Torrado Salmerón C, Guarnizo Herrero V, Torrado Durán S. Sistemas multiparticulares de ezetimiba y atorvastatina en el tratamiento de hiperlipidemia inducida en ratas diabéticas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):253-5.

Vehiculación del fármaco antifúngico clotrimazol en liposomas

Usach Iris *, Martínez Paula, Peris José Esteban

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España.

*Correspondencia: iris.usach@uv.es

1. Introducción

Las infecciones fúngicas de la piel son patologías de carácter benigno frecuentes en la práctica clínica. Diferentes tipos de hongos son los agentes causales de este tipo de infecciones, siendo *Candida albicans* uno de los más habituales. El tratamiento usual de la candidiasis superficial consiste en la utilización de antifúngicos pertenecientes al grupo de los azoles. A este respecto, las preparaciones tópicas de clotrimazol se consideran efectivas y con buena tolerancia cutánea [1].

A lo largo de las últimas décadas, se han publicado diversos estudios destinados a mejorar la eficacia antifúngica del clotrimazol tras su aplicación tópica. Así, formulaciones de nanoemulsiones, etosomas o vesículas híbridas estructuradas en tres dimensiones han mostrado una mejoría en la actividad antifúngica en comparación con el preparado comercial de referencia, Canesten® [2, 3]. En este sentido, el objetivo principal del presente trabajo ha sido la formulación de liposomas de clotrimazol y el estudio de su efecto frente a *C. albicans*, utilizando como referencia Canesten®.

2. Materiales y métodos

2.1. Preparación de los liposomas

Los liposomas se prepararon con 50 mg de fosfolipón 90G y 0,25 ml de una disolución de clotrimazol (10 mg/ml) en DMSO. La mezcla se hidrató con 4,25 ml de agua y se sometió a la acción de un desintegrador ultrasónico de alta intensidad

durante 2 ciclos de 1,5 minutos cada uno (5 segundos "encendido" y 2 segundos "apagado", 60 % de amplitud). La concentración de clotrimazol en la mezcla final fue de 0,5 mg/ml.

2.2. Caracterización de los liposomas

La formación de las vesículas liposomales y su morfología se evaluaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM). El diámetro medio (DM), el potencial zeta (PZ) y el índice de polidispersión (IP) se obtuvieron con un equipo Malvern Nano ZS Zetasizer.

2.3. Estudio antimicrobiano

El estudio antimicrobiano consistió en la evaluación de las curvas de crecimiento de *C. albicans* en presencia de diferentes formulaciones de clotrimazol. Para ello, se utilizaron viales que contenían 500 µl de clotrimazol en dispersión acuosa, liposomas o Canesten®. La concentración de clotrimazol fue, en todos los casos, 100 µg/ml. Seguidamente, se adicionó a los viales 500 µl de inóculo de *C. albicans* (1-5 x 10⁴ UFC/ml), por lo que la concentración de clotrimazol en el medio final fue de 50 µg/ml. Además, se preparó un control de crecimiento positivo, en ausencia de clotrimazol, y se evaluó el efecto de los liposomas vacíos (sin clotrimazol) en la curva de crecimiento. Los viales se incubaron a 36 °C, tomándose muestras a diferentes tiempos prefijados (9, 24, 33 y 48 h). Las muestras se sembraron en placas Petri con agar dextrosa Sabouraud (SDA) y se incubaron a 36 °C durante 48 h. Después de este periodo, se realizó el recuento de las colonias observadas.

3. Resultados y Discusión

3.1. Preparación y caracterización de liposomas

Tanto los liposomas cargados con fármaco como los vacíos presentaron una estructura multilaminar. Además, los cargados presentaron una forma ligeramente esférica, mientras que los vacíos fueron más irregulares (Fig. 1).

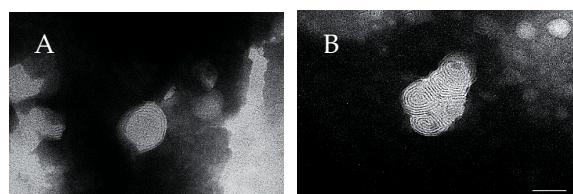


Fig. 1. Micrografía de TEM de liposomas cargados con clotrimazol (A) y liposomas vacíos (B). Las barras corresponden a 50 nm.

La caracterización de los liposomas mostró un ligero aumento, no significativo, en el tamaño promedio de los liposomas al incorporar el fármaco, de 90,6 nm a 102,2 nm (Tabla 1). Además, el valor de IP indicó cierta homogeneidad del sistema. Sin embargo, no puede predecirse una gran estabilidad física de los liposomas formulados, ya que el valor de PZ no se situó fuera del intervalo +30 a -30 mV, que es lo requerido habitualmente para predecir una buena estabilidad física [4].

Tabla 1. Potencial Z (PZ), diámetro medio (DM) e índice de polidispersión (IP) de liposomas vacíos y cargados con clotrimazol. Media \pm D.E., n=6.

Muestra	DM (nm)	IP	PZ (mV)
Liposomas vacíos	90,6 \pm 4,8	0,30 \pm 0,01	-4,32 \pm 0,89
Liposomas con clotrimazol	102,2 \pm 12,4	0,32 \pm 0,04	0,07 \pm 0,03
P*	NS	NS	P < 0,001

*Significación estadística (prueba ANOVA).

NS: No significativo.

3.2. Curvas de crecimiento de *C. albicans*

Las curvas de crecimiento de *C. albicans* en presencia de los distintos preparados de clotrimazol ensayados se muestran en la figura 2.

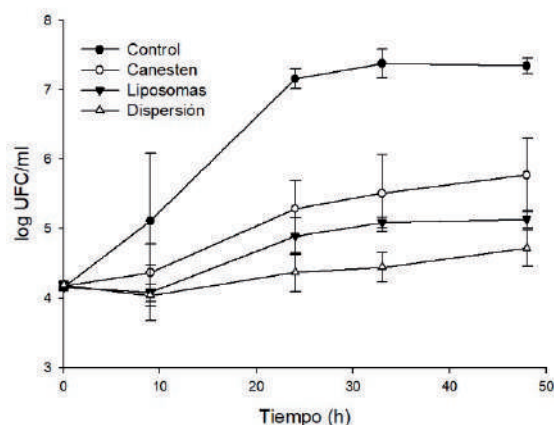


Fig. 2. Curvas de crecimiento de *C. albicans* obtenidas en ausencia (control) y en presencia de diferentes formulaciones de clotrimazol (50 μ g/ml). Media \pm D.E., n=6.

Los liposomas dieron lugar a una mayor inhibición del crecimiento de *C. albicans* que el Canesten[®], aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. La mayor inhibición del crecimiento se obtuvo con la dispersión del clotrimazol en el medio de cultivo. No se detectó una diferencia estadísticamente significativa entre los liposomas y la dispersión. Sin embargo, la diferencia entre la dispersión y el Canesten[®] sí que fue significativa.

El estudio realizado con liposomas vacíos mostró que el crecimiento de *C. albicans* no se veía afectado por los mismos (Fig. 3).

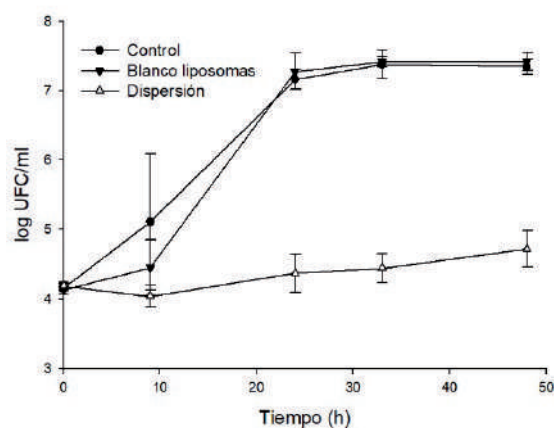


Fig. 3. Curvas de crecimiento de *C. albicans* correspondientes al control (sin clotrimazol), liposomas vacíos y dispersión de clotrimazol. Media \pm D.E., n=6.

4. Conclusiones

La formulación de clotrimazol en liposomas no da lugar a un incremento significativo en la actividad antifúngica del mismo frente a *C. albicans* en comparación al producto comercial Canesten[®]. Sin embargo, una dispersión acuosa simple del clotrimazol puede resultar ligeramente más efectiva que el Canesten[®].

Referencias bibliográficas

1. Manca ML et al. *Colloids Surf B Biointerfaces*. 2014;117:360-7.
2. Soriano-Ruiz JL et al. *Int J Pharm*. 2019;554:105-15.
3. Manca ML et al. *Pharmaceutics*. 2019;11(6):263.
4. Manaia EB et al. *Int J Nanomed*. 2017;12:4991–5011.

Este trabajo debe ser citado como:

Usach I, Martínez P, Peris José E. Vehiculación del fármaco antifúngico clotrimazol en liposomas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):256-8.

Adaptación de la asignatura Tecnología Farmacéutica en tiempos de COVID-19

Usach Iris *, Nacher Amparo, Taléns Visconti Raquel

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y Parasitología, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, España.

*Correspondencia: iris.usach@uv.es

1. Introducción

La adaptación inesperada a una docencia no presencial consecuencia de las medidas de confinamiento producidas durante el segundo semestre del curso 2019-2020, requirió mucha coordinación y esfuerzo personal por parte de los profesores, quienes tuvieron que cambiar de forma inmediata su metodología de enseñanza-aprendizaje [1]. Fruto de esta problemática surgió el objetivo principal de este trabajo, adaptar la docencia teórica, así como las prácticas de laboratorio, de la asignatura Tecnología Farmacéutica I a la modalidad de enseñanza que planteaba la Universidad de Valencia para el curso académico 2020-2021 de una forma más organizada y perfeccionada. Esta modalidad, basada en un modelo híbrido, consistía realizar las clases teóricas de forma virtual durante el primer semestre y de forma presencial durante el segundo, siendo los exámenes presenciales en ambos casos. En base a

esto, se estableció el segundo objetivo: comparar el rendimiento académico de los estudiantes en función de la modalidad empleada.

2. Materiales y métodos

2.1. Participantes

Esta investigación ha implicado la participación de aproximadamente 200 estudiantes del Grado en Farmacia y Doble Grado en Nutrición Humana y Dietética (DG), matriculados en Tecnología Farmacéutica I, asignatura de 12 créditos ECTS, ubicada en 4º curso.

2.2. Temporalización

La figura 1 muestra la temporalización de este trabajo, iniciado en mayo de 2020 con la encuesta de satisfacción del alumnado y finalizado en junio de 2021 tras la realización de exámenes.

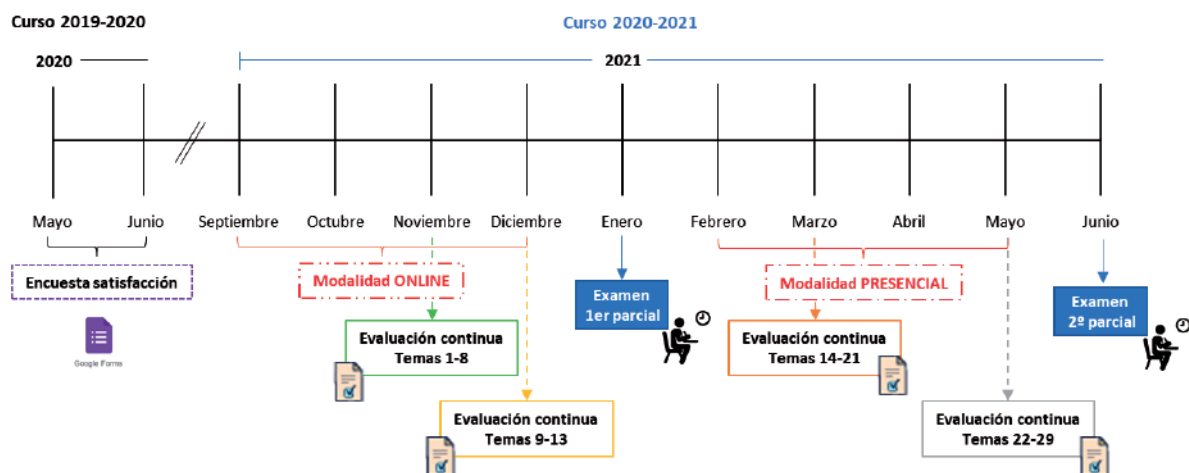


Figura 1. Temporalización del trabajo realizado.

2.3. Herramientas utilizadas

Las herramientas empleadas fueron: "Google Forms", para la realización de una encuesta anónima sobre las preferencias del alumnado en cuanto al recurso docente más adecuado para abordar los contenidos teóricos de forma online; la herramienta "cuestionario" del aula virtual, para la ejecución de exámenes de evaluación continua; y las calificaciones obtenidas en los exámenes teóricos realizados al finalizar cada semestre.

3. Resultados y Discusión

3.1. Adaptación de las clases teóricas a la modalidad online

Los resultados obtenidos en la encuesta de satisfacción del alumnado realizada tras finalizar el curso 2019-2020 se muestran en la figura 2.

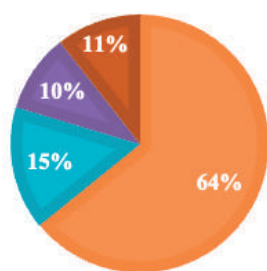


Figura 2. Opinión del alumnado sobre qué recurso considera más adecuado para la docencia online. Temas locutados, Temas por escrito, Videoconferencias sincronas, Presentaciones PowerPoint con notas aclaratorias.

Como se puede observar, el 64 % de los estudiantes preferían temas locutados, por ello esta fue la estrategia seleccionada para las clases teóricas virtuales del curso 2020-2021. Los vídeos obtenidos se subieron a MMedia (<https://mmedia.uv.es/>) y los enlaces generados se compartieron con los estudiantes a través del aula virtual.

3.2. Adaptación de las prácticas laboratorio a la modalidad online

Se rediseñaron las prácticas de laboratorio como consecuencia de la reducción del número de estudiantes por grupo a la mitad (de 16 a 8). Cada subgrupo realizó 3 sesiones presenciales, 3 sesiones de trabajo autónomo (destinados a la realización de cálculos y a la interpretación de resultados) y en la última sesión se realizó el examen de forma presencial conjuntamente a los dos subgrupos.

3.3. Implantación de la evaluación continua

Se modificó la guía docente de la asignatura introduciéndose la evaluación continua con un peso del 5 % de la nota final. Esta herramienta proporcionó al docente un feedback inmediato del proceso de aprendizaje del estudiante que le permitió identificar aquellos conceptos que debían ser trabajados más ampliamente. La evaluación continua tuvo una buena aceptación por parte del alumnado, ya que el 74,5 % realizó al menos 3 de los 4 cuestionarios planteados.

3.4. Análisis del rendimiento académico

Las calificaciones obtenidas en los exámenes teóricos realizados tras finalizar el primer semestre (online) y el segundo semestre (presencial) así como las obtenidas en la evaluación continua se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Calificaciones medias obtenidas clasificadas por grupo.

Grupo	Examen 1 ^{er} parcial	Examen 2 ^o parcial	Evaluación continua
ARA	5,04	6,84	6,25
DG	7,46	7,76	7,37
B	6,35	7,39	6,72
C	5,43	6,2	5,91
Media	6,07	7,05	6,56

ARA: Alto rendimiento académico. DG: Doble grado en Farmacia y Nutrición Humana y Dietética.

Como se muestra en la tabla, en todos los grupos las calificaciones logradas en el examen realizado en el semestre cuya modalidad de enseñanza fue presencial son superiores. Además, la nota media obtenida en los dos exámenes coincide con la correspondiente a la evaluación continua, 6,56. Por ello, se puede afirmar que la evaluación continua nos permite predecir la calificación media correspondiente al examen teórico de la asignatura. Asimismo, si se realiza una comparación por grupos, se observa dicha correspondencia, siendo el grupo con mejores calificaciones en los exámenes parciales el que mejor nota consiguió en la evaluación continua, es decir, el grupo DG.

4. Conclusiones

La adaptación a la modalidad virtual de la asignatura Tecnología Farmacéutica I ha sido una

labor ardua, sobre todo por el gran peso de la vertiente práctica, que ha supuesto mejoras tales como la implantación de la evaluación continua. Sin embargo, ha quedado de manifiesto la im-

portancia de la presencialidad debido a su efecto positivo en el rendimiento académico del estudiante.

Referencias bibliográficas

1. Moreno-Correa SM. *Salutem Scientia Spiritus*. 2020;6(1):14-26.

Este trabajo debe ser citado como:

Usach Iris, Nácher Amparo, Taléns Visconti, Raquel. Adaptación de la asignatura Tecnología Farmacéutica en tiempos de COVID-19. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):259-61.

Vectorización de agentes antiinflamatorios a macrófagos para potenciar su actividad utilizando micropartículas

Villa Hermosilla Mónica Carolina¹, Negro Álvarez Sofía¹, Montejo Rubio Consuelo², Hurtado Marcos Carolina², Fernández Carballido Ana¹

¹ Departamento de Farmacia Galénica y Tecnología Alimentaria, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid, Plaza de Ramón y Cajal, s/n, 28040 Madrid, España.

² Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de Salud. Universidad San Pablo-CEU Universities, Av. de Montepríncipe, s/n, 28668 Madrid, España.

*Correspondencia: mcvhermosilla@ucm.es

1. Introducción

El sistema inmunitario, frente a una lesión en los tejidos, se activa produciendo una respuesta inflamatoria regulada por macrófagos [1]. Una estrategia interesante para el tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas es dirigir micropartículas (MPs) de PLGA cargadas con agentes antiinflamatorios a macrófagos. Entre los agentes empleados en el tratamiento de enfermedades inflamatorias como la artritis reumatoide [2, 3] o la artritis idiopática juvenil [4, 5], se encuentran el celecoxib y la sulfasalazina. El celecoxib (CXB) es un antiinflamatorio no esteroideo selectivo de la ciclooxigenasa-2 (COX-2), que constituye en este momento una excelente opción para el manejo de los síntomas tanto en artritis reumatoide como en osteoartritis y dolores agudos. La sulfasalazina (SSZ) es un antiinflamatorio no esteroideo y se engloba dentro de los fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (DMARD). Puede disminuir el dolor y la hinchazón de la artritis, prevenir el daño articular y reducir el riesgo de discapacidad a largo plazo. El objetivo del presente trabajo es desarrollar dos formulaciones de micropartículas, una con SSZ y otra con CXB; cuyas características sean óptimas para ser fagocitadas por macrófagos [6] y ejercer su actividad antiinflamatoria en su interior.

2. Material y métodos

2.1. Elaboración y caracterización de micropartículas

Para la elaboración de las formulaciones se empleó el polímero PLGA Resomer[®] 502. El método utilizado fue la evaporación-extracción del solvente a partir de una emulsión O/A. Se prepararon MPs blancas (MPs-0), MPs cargadas con SSZ (MPs-S) y MPs cargadas con CXB (MPs-X). También se prepararon MPs con fluoresceína-5-isotiocianato (FITC) (MPs-F), para los estudios de fagocitosis. Las formulaciones cargadas con los agentes antiinflamatorios (MPs-S, MPs-X), incorporaron el activo en un porcentaje del 5 % respecto al polímero. Mientras que las MPs-F la FITC se incorporó al 10 %. Las MPs se caracterizaron atendiendo a su diámetro medio y distribución de tamaño (difracción de rayo láser), aspecto morfológico (microscopía de barrido), eficacia de encapsulación (EE %) y estudios de cesión. Los ensayos de cesión se realizaron a una temperatura de 37 °C con agitación constante, y como medio de disolución para los estudios de las MPs-S se empleó únicamente tampón fosfato (PBS) a pH=7,4 y para las MPs-X se adicionó lauril sulfato sódico (LSS) al 3 %. Los estudios de cesión se realizaron durante 72 h, por ser el tiempo empleando en la evaluación de la actividad antiinflamatoria en macrófagos.

2.2. Estudios en macrófagos

La línea celular de macrófagos de ratón RAW264,7 fue la seleccionada para todos los es-

tudios en macrófagos. Las células fueron previamente tratadas con lipopolisacárido.

La evaluación de la captación de MPs por parte de macrófagos se realizó con la formulación cargada con agente fluorescente (MPs-F). Para ello, los macrófagos fueron incubados con las MPs durante 2, 3 y 5 horas. Las muestras obtenidas a estos tiempos se analizaron utilizando un microscopio de fluorescencia.

La evaluación de la actividad antiinflamatoria de ambas formulaciones se realizó en cultivos celulares de macrófagos cuantificando el Factor de Necrosis Tumoral- α (TNF- α). Se evaluaron las formulaciones cargadas con los activos (MPs-S y MPs-X), y sus correspondientes soluciones (SSZ-sol y CXB-sol). Para ello, los macrófagos se incubaron con las diferentes formulaciones durante 72 horas. En todos los casos, la concentración del activo empleado fue de 1 mg/mL. El medio de cultivo se analizó mediante ELISA para cuantificar la concentración TNF- α . Por último, para evaluar la inhibición de la expresión génica de los macrófagos tras las 72 h, se realizó un análisis de PCR-RT con cebadores específicos y cuantificados por software de densitometría ImagenJ a partir de una electroforesis en gel de agarosa.

3. Resultados y discusión

Las cuatro formulaciones de MPs (MPs-S, MPs-X, MPs-0 and MPs-F) presentaron una superficie lisa y homogénea. En todos los casos se observaron poblaciones monodispersas con tamaños de partícula óptimos para ser fagocitados por macrófagos [6]: $3,99 \pm 0,41 \mu\text{m}$ para MPs-0, $3,98 \pm 0,91 \mu\text{m}$ para MPs-F, $4,09 \pm 0,64 \mu\text{m}$ para MPs-S y $4,40 \pm 0,57 \mu\text{m}$ para MPs-X. Los valores de eficacia de encapsulación obtenidos fueron del 1 % para las MPs-F, 80 % para las MPs-S y del 85 % para las MPs-X.

En los ensayos de cesión, se muestra un burst inicial a las 6 h de más del 60 % para la formulación MPs-S y de 7 % para la formulación MPs-X. Esa liberación va seguida de una liberación prácticamente total a las 72 horas para la MPs-S. Sin embargo, para la MPs-X la liberación inicial va seguida de una liberación sostenida de manera que las 72 horas sólo se ha liberado el 20 % del CXB.

En los ensayos de captación de las micropartículas cargadas con el agente fluorescente FITC (MPs-F), se observó la presencia de las MPs en el interior del macrófago a las 2 h de la incubación.

La actividad antiinflamatoria de las formulaciones (MPs-S, MPs-X, SSZ-sol y CXB-sol) se evaluó midiendo la concentración de TNF- α a las 72 horas (Fig.1). La presencia de MPs blancas (MPs-0) da lugar a un ligero incremento en la concentración de TNF- α a las 72 h respecto al control negativo. Por el contrario, se observó una reducción significativa ($p < 0,05$) cuando se evaluaron los activos en solución (SSZ-sol y CXB-sol) y en las MPs (MPs-S y MPs-X). Los mejores resultados se obtuvieron cuando los agentes antiinflamatorios se incluyeron en las micropartículas.

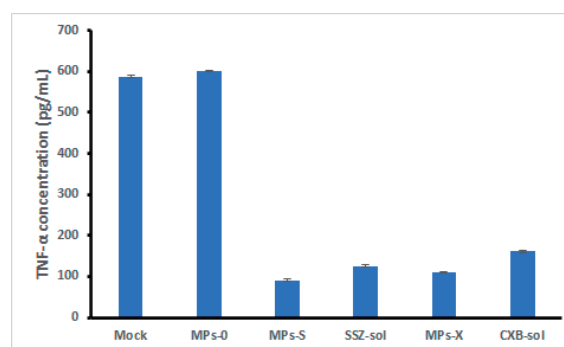


Fig. 1: Valores medios de TNF- α a las 72 horas, de las formulaciones MPs blancas (MPs-0) MPs con SSZ (MPs-S), SSZ en solución MPs con CXB (MPs-X), CXB en solución y el control (Mock).

Los resultados obtenidos concuerdan con la reducción en los valores relativos de la expresión génica de TNF- α , obtenidos tras las 72h por ser parte del mecanismo de acción de los activos.

4. Conclusiones

Las micropartículas de sulfasalazina y celecoxib elaboradas con PLGA son rápidamente fagocitadas por los macrófagos RAW 264,7. En las condiciones estudiadas, las micropartículas de sulfasalazina y las de celecoxib consiguen una mejor respuesta antiinflamatoria, cuando son fagocitadas por los macrófagos, que cuando estos fármacos son evaluados en solución.

Agradecimientos

Grupo de investigación "Administración Parenteral de Medicamentos" de la Universidad Complutense de Madrid (Grupo 910939).

Referencias bibliográficas

1. Pan F, et al. *Lupus*. 2018;27:1898-902.
2. Weinblatt, ME. et al. *J Rheuma*. 1999;26: 2123-30.
3. Fidahic M, et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. Accessed 01 September 2021.
4. Van Rossum MA, et al. *Annu. Rheum Dis*. 2007;6:1518-24.
5. Shi CL, et al. *Indian Pediatr*. 2021;58:162-8.
6. Hirota K, et al. *J Control Release*. 2017;119:69-76.

Este trabajo debe ser citado como:

Villa Hermosilla MC, Negro Álvarez S, Montejo Rubio C, Hurtado Marcos C, Fernández Carballido A. Vectorización de agentes antiinflamatorios a macrófagos para potenciar su actividad utilizando micro-partículas. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):262-4.

Estudio de la estabilidad de un sistema semisólido turba/agua para aplicación en Hidrología Médica

Sánchez Espejo Rita^{1,2}, García Villén Fátima¹, Borrego Sánchez Ana¹, Cerezo Pilar¹, Viseras César^{*1,3}

¹ Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España.

² Turbera del Agia, S.L., Padul, Granada, España.

³ Instituto Andaluz de Ciencias de la Tierra (Consejo Superior de Investigaciones Científicas-Universidad de Granada), Armilla, Granada, España.

*Correspondencia: cviseras@ugr.es

1. Introducción

La turba, en razón de su composición, tiene un potencial empleo en el ámbito de la salud, asociado principalmente a los efectos de los ácidos húmicos y fúlvicos administrados por vía tópica [1-4]. La turba se emplea como excipiente de formas semisólidas de uso en Hidrología Médica, en la formulación de peloides [5-6]. El objetivo de este trabajo ha sido estudiar la estabilidad de un sistema disperso turba/agua purificada para evaluar su posible uso en este ámbito.

2. Materiales y métodos

2.1. Materiales

Se ha utilizado una turba (fracción < 1 mm y secada en estufa a 40 °C) previamente caracterizada [7] y suministrada por la empresa Turbera del Agia, S.L. (Padul, Granada), además de agua purificada.

2.2. Métodos

2.2.1. Elaboración del sistema disperso

Se preparó una suspensión de turba/agua al 50 % (m/m), utilizando un agitador (Silverson® L5T, UK; 6000 rpm, 5 min.). Se caracterizó dicho sistema a tiempo 0 (t0), 48 horas (t48h), 15 días (t15d) y transcurrido un mes (t1m) desde la preparación.

2.2.2. Determinación del pH y contenido de agua

El pH se determinó usando un pHmetro (Crisson®, pH25+) equipado con un sensor para semisólidos (5052T). El contenido de agua se determinó por pérdida de peso al secar 1 g de muestra.

2.2.3. Determinación de la extensibilidad

Se llevó a cabo siguiendo el procedimiento descrito en el Formulario Nacional (PN/L/CP/003/00) [8].

2.2.4. Estudio de las propiedades reológicas

Los análisis reológicos se llevaron a cabo mediante un viscosímetro rotacional (Thermo Scientific® HAAKE, RV1) y un sensor plato/plato (P20 TiL). Las medidas se realizaron a 25 °C y en un rango de 0-600 s-1. La caracterización reológica incluyó las curvas de flujo y la viscosidad aparente.

3. Resultados y Discusión

3.1. pH y contenido de agua

El pH se mantuvo en torno a 4 durante todo el periodo de estudio, pH cercano al de la piel, y, por tanto, adecuado para evitar un desequilibrio fisiológico del manto cutáneo.

La posible disminución del contenido de agua

debe controlarse y tenerse en cuenta en las propiedades reológicas, ya que influye de forma directa. Como era de esperar, el sistema en estudio presentó un contenido en agua en torno al 50 % y que no varió de forma significativa durante el periodo de estudio.

3.2. Extensibilidad

La extensibilidad resulta dependiente del tiempo (Fig. 1). Los valores a tiempo 48 horas y 15 días fueron similares y algo mayores que a tiempo 0, y disminuyeron notablemente transcurrido 1 mes, lo que indica que el sistema adquiere mayor consistencia.

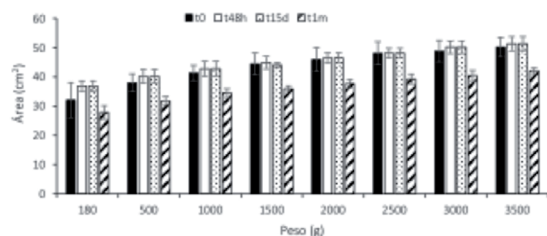


Fig. 1. Ensayo de extensibilidad del sistema a los distintos tiempos de estudio.

3.3. Propiedades reológicas

Las curvas de flujo de la suspensión a los distintos tiempos de estudio fueron las típicas de fluidos no-Newtonianos, mostrando un comportamiento reopéctico (Fig.2).

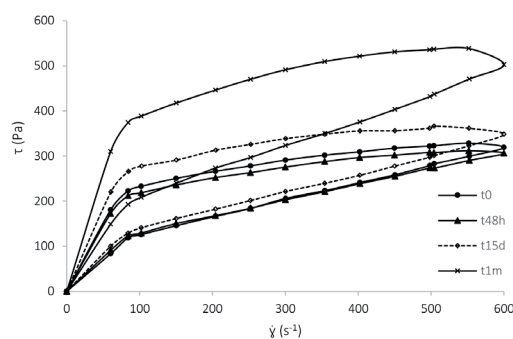


Fig. 2. Curvas de flujo del sistema a los distintos tiempos de estudio.

Referencias bibliográficas

1. Snyman JR, Dekker J, Malfeld SCK, Van Rensburg CEJ. Pilot study to evaluate the safety and therapeutic efficacy of topical oxifulvic acid in atopic volunteers. *Drug Dev Res.* 2002;57:40-3.
2. Van Rensburg CEJ, Malfeld SCK, Dekker J. Topical application of oxifulvic acid suppresses the cutaneous immune response in mice. *Drug Dev Res.* 2001;53:29-32.

A partir de las curvas de flujo se obtuvieron los valores de viscosidad aparente (Tabla 1), observándose un aumento de viscosidad transcurrido un mes.

Tiempo	η (Pa·s) (350 s^{-1} , $25 \text{ }^\circ\text{C}$)
t_0	0.63 ± 0.020
t_{48h}	0.62 ± 0.005
t_{15d}	0.68 ± 0.018
t_{1m}	0.97 ± 0.004

Tabla 1. Valores de viscosidad aparente del sistema a los distintos tiempos de estudio (valores medios \pm s.d.).

4. Conclusiones

La formulación estudiada no mostró cambios de pH ni de contenido en agua durante el periodo de estudio, es decir, durante la denominada fase de maduración del sistema [5]. Sin embargo, se produjo una mejora de las propiedades reológicas, con el consiguiente aumento de viscosidad, por tanto, de la disminución de la extensibilidad, transcurrido un mes de estudio.

A la vista de los resultados se puede concluir que se puede emplear como formulación semi-sólida tópica de tipo peloide. En etapas siguientes del estudio se formulará la suspensión con aguas mineromedicinales para conocer las propiedades térmicas de cesión de calor y químicas de liberación de iones.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado por el Proyecto P18-RT-3786, de la Junta de Andalucía, por la ayuda PTQ2018-010245 y el grupo de investigación CTS-946.

3. Gandy JJ, Snyman JR, Van Rensburg CEJ. Randomized, parallel-group, double-blind, controlled study to evaluate the efficacy and safety of carbohydrate-derived fulvic acid in topical treatment of eczema. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 2011;4:145-8.
4. Sabi R, Vrey P, Van Rensburg CEJ. Carbohydratederived fulvic acid (CHD-FA) inhibits carrageenan-induced inflammation and enhances wound healing: efficacy and toxicity study in rats. *Drug Dev Res*. 2012;73:18-23.
5. Viseras C, Cerezo P. Aplicación de peloides y fangos termales. En: Hernández Torres A, editor. *Técnicas y tecnologías en hidrología médica e hidroterapia*. Madrid: AETS-Instituto de Salud Carlos III; 2006. p. 141-46.
6. Veniale F, Bettero A, Jobstraibizer PG, Setti M. Thermal muds: Perspectives of innovations. *Appl Clay Sci*. 2007;36:141-7.
7. García-Villén F, Sánchez-Espejo R, Carazo E, Borrego-Sánchez A, Aguzzi C, Cerezo P, Viseras C. Characterization of Andalusian peats for skin health care formulations. *Appl Clay Sci*. 2018;160:201-5.
8. *Formulario Nacional*. (Ed. Ministerio de Sanidad y Consumo. Madrid, 2007).

Este trabajo debe ser citado como:

Sánchez Espejo R, García Villén F, Borrego Sánchez A, Cerezo P, Viseras C. Estudio de la estabilidad de un sistema semisólido turba/agua para aplicación en Hidrología Médica. *Rev Esp Cien Farm*. 2021;2(2):265-7.

Hybrid lipid/clay carrier system containing *Bixa orellana* L.: a tool for drug delivery

Barbosa Raquel ^{*1}, García Villén Fátima², Raffin Fernanda¹, Viseras Cesar ^{**2,3}, Moura Tulio¹

¹ Laboratory of Drug Development, Department of Pharmacy, Federal University of Rio Grande do Norte, Natal-RN, Brazil;

² Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, School of Pharmacy, University of Granada, Granada, Spain;

³ Andalusian Institute of Earth Sciences, CSIC-University of Granada, Granada, Spain.

Correspondencia: *raquel.barbosa@dca.ufrn.br; **cviseras@ugr.es

1. Introduction

Nanocomposite systems attract considerable interest in the pharmaceutical and cosmetic fields due to the wide range of advantageous properties compared to free polymers, such as the high potential to provide predictable, accurate, and reproducible patterns of controlled release and specific delivery of bioactive molecules [1]. Studies have shown the hybridization of different clays with polymers or surfactants by strong secondary interactions of the mineral compounds with their guests. Nanostructured lipid carriers (NLC) associated with clays have gained attention in pharmaceutical areas due to their ability to transport hydrophobic drugs. Additionally, lipid-based nanoparticles are considering “nano-safety, stable, biocompatible, and have low dermal toxicity [2]. In this context, *Bixa orellana* L. or “annatto,” has been proposed as a potential active ingredient in pharmaceuticals by its biological activity as healing, antioxidant, antibacterial, and anti-leishmaniasis properties [3]. The purpose of the present study was to produce and characterize NLCs with AO in association with Laponite (L) nanoparticles ($\text{Na}^+_{0.7}[(\text{Si}_8\text{Mg}_{5.5}\text{Li}_{0.3})\text{O}_{20}(\text{OH})_4]^{-0.7}$) [4][5].

2. Materials and methods

2.1. Preparation of nanoparticles

The production of NLC (n) was performed by the fusion-emulsification’s method, where the

structural lipids cetyl palmitate (CP) or myristyl myristate (MM, 10 % (w/w)), AO (2 and 4 %, w/w), and the colloidal stabilizer Poloxamer 188 (PL, 11.7 % (w/w)) were used. Hybrid compounds contained Lipid-based nanoparticles plus L (3 %, w/w) were prepared by a simple mix of clay into the lipid colloidal system for 24 hours and stored after the process at 25 °C.

2.2. Physicochemical characterization

Particle size, polydispersity index (PDI), and zeta potential (ZP) were measured by photon correlation spectroscopy (PCS). The morphology of uranyl-stained samples was analyzed by ultra-high-resolution transmission electron microscope with HAADF FEI TITAN G2 (UHRTEM) coupled with X-ray spectroscopy (EDX) detector.

3. Results and Discussion

Fig. 1 shows Structural properties of lipid-based nanoparticle and hybrid systems with and without AO (0-4 %, wt). DLS measurements were presented in terms of (a) size (nm), polydispersity index (PDI), and (b) zeta potential and pH values. The sizes and polydispersity of nanoparticles and hybrid systems were around 180nm, and PDI > 0.3. Zeta potential (mV) of samples ranged from -16.23 ± 0.60 to -42.73 ± 0.29 . The pH values differed according to the change in liquid lipid (AO) concentration, ranging between 5.30 and 6.91 to the samples without L and around 8.52-8.61 to

the samples with L. Formulations without clay are more sensitive to the presence of AO. In addition, Fig. 1b shows that the presence of AO was the most important factor that generated changes in zeta potential values. The hybrid systems demonstrated stability over ten weeks in terms of size, zeta potential, and polydispersity.

Morphology of the nanohybrids also was assessed by TEM was found to be very similar to DLS results: spherical structures, with well-delimited shape and size of around 200 - 250 nm. Fig. 2 shows the microphotographs, the XEDS spectra, and elemental X-Ray maps of the systems containing MM.

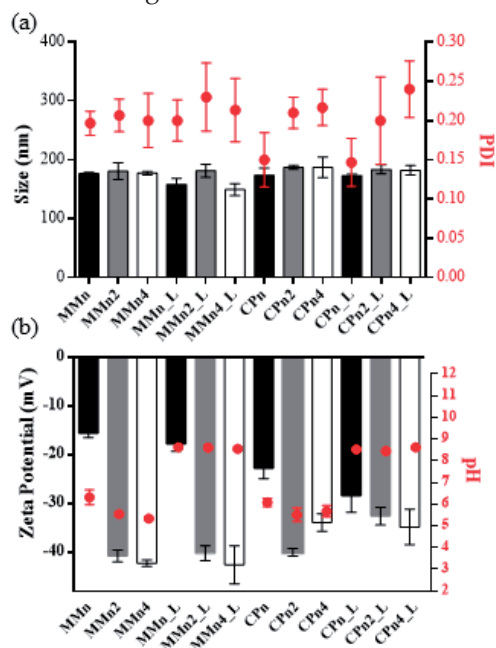


Fig. 1. Structural properties of lipid-based nanoparticle and hybrid system.

References

1. Kotal, M.; Bhowmick, A. K. Polymer Nanocomposites from Modified Clays: Recent Advances and Challenges. *Prog Polym Sci.* 2015;51:127–87.
2. Battaglia, L.; Gallarate, M. Lipid Nanoparticles: State of the Art, New Preparation Methods and Challenges in Drug Delivery *Expert Opin Drug Deliv.* 2012;9(5):497–508.
3. Vilar, D. de A. et al. Traditional Uses, Chemical Constituents, and Biological Activities of *Bixa orellana* L.: A Review. *Sci World J.* 2014, 2014.
4. Labanda, J.; Llorens, J. Effect of Aging Time on the Rheology of Laponite Dispersions. *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng Asp.* 2008;329(1–2):1–6.
5. Da Silva, M. A.; Dreiss, C. A. Soft Nanocomposites: Nanoparticles to Tune Gel Properties. *Polym Int.* 2016;65(3):268–79.

Este trabajo debe ser citado como:

Barbosa R, García Villén F, Raffin F, Viseras C, Moura T . Hybrid lipid/clay carrier system containing *Bixa orellana* L.: a tool for drug delivery. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):268-9.

The selected areas in Fig. 2a show peaks of lipids (organic components, C and O) in a green graph (inside NLC), and clay (inorganic components, O, Mg, and Si) and C in a blue graph. A weak Cu peak corresponding to the support (grids) used to prepare the samples was observed also. The Fig. 2a, at region pointed by arrows, showed L outside of nanoparticle and no changes in shape or size. The same was observed at Fig. 2b and 2c for MMn2_L and MMn4_L formulations respectively. In addition, X-ray map presented in Fig. 2c highlights Si and Mg revealing the elemental composition of L and its distribution in the hybrid systems. No changes were observed in nano-hybrid prepared with CP.

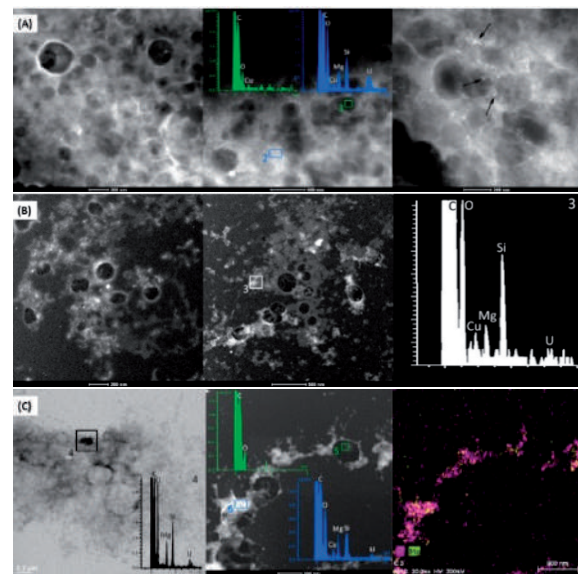


Fig.2. UHRTEM microphotographs, XEDS analysis and elemental X-Ray maps of MMn_L (a), MMn2_L (b) and MMn4_L (c). scale bars =200 nm.

Optimización de la preparación de quitosomas de quercetina

Colino Gandarillas Clara Isabel ^{*1}, García Quintero Patricia¹, Gutiérrez Millán Carmen¹

¹ Departamento Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad de Salamanca.

* Correspondencia: ganda@usal.es

1. Introducción

La quercetina es un flavonoide con actividad antiinflamatoria y antioxidante [1, 2]. Sin embargo, es una molécula muy insoluble e inestable con muchos problemas de biodisponibilidad. Por ello su adecuada formulación es imprescindible para su uso terapéutico [3].

En el presente trabajo se propone su formulación en liposomas recubiertos de quitosán para la administración oral.

2. Materiales y métodos

2.1. Influencia de los componentes de la formulación en las propiedades de los liposomas

Se realizó un análisis estadístico mediante un diseño de Box-Behnken, de la influencia de los componentes de la formulación en las propiedades de los liposomas utilizando Minitab[®] Statistical Software.

Las variables independientes seleccionadas fueron la proporción de fosfatidilcolina, colesterol y Tween 20 y las variables dependientes fueron el diámetro del liposoma y la eficacia de encapsulación (EE).

2.2. Preparación de los liposomas y quitosomas

Los liposomas se prepararon mediante la técnica de sonicación siguiendo el procedimiento descrito en la Figura 1.

Una vez optimizada la formulación de liposomas, se prepararon los quitosomas mediante la adición de una disolución de quitosán (Figura 1).

2.3. Determinación de la eficacia de encapsulación (EE)

Para la estimación de la EE, los liposomas se separaron por centrifugación y se trataron con etanol para estimar el EE. La muestra obtenida se analizó mediante un método de HPLC previamente validado.

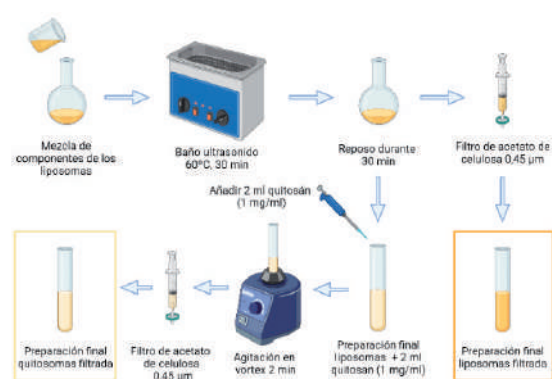


Figura 1. Preparación de liposomas y quitosomas

2.4. Determinación del tamaño de los liposomas y quitosomas por DLS

El análisis del tamaño de las nanopartículas, se llevó a cabo por espectrofotometría de correlación fotónica usando el equipo NanoBrook 90 Plus (Brookhaven Instruments).

2.5. Ensayo de estabilidad

Las preparaciones de quitosomas y una solución de quercetina se irradiaron con luz ultravioleta y se determinó la cantidad remanente de quercetina a los intervalos de tiempos predeterminados: 30 minutos, 1, 2 y 3 horas.

3. Resultados y discusión

Los valores de diámetro para los liposomas elaborados oscilaron entre 117,57 nm y 536,62 nm. Se encontró una asociación inversa entre el diámetro de las nanopartículas y las concentraciones de colesterol y de Tween 20.

La eficacia de encapsulación (EE) es la variable mejor explicada por el modelo. El valor máximo obtenido para este parámetro fue de 79,51 %. La EE está afectada por todas las variables incluidas en el modelo y la ecuación incluye un término cuadrático para la fosfatidilcolina (Figura 4). Un incremento en la proporción del surfactante o de colesterol disminuye la cantidad encapsulada. Solo el término lineal de la fosfatidilcolina tiene un efecto positivo sobre el EE. Por lo tanto, si bien la presencia de Tween 20 podría incrementar la solubilidad de la quercetina en la dispersión acuosa que se prepara inicialmente para la preparación de los liposomas, parece tener más importancia la posible competición entre ambas moléculas por situarse en el interior de la bicapa. Esto podría explicar también el efecto del colesterol.

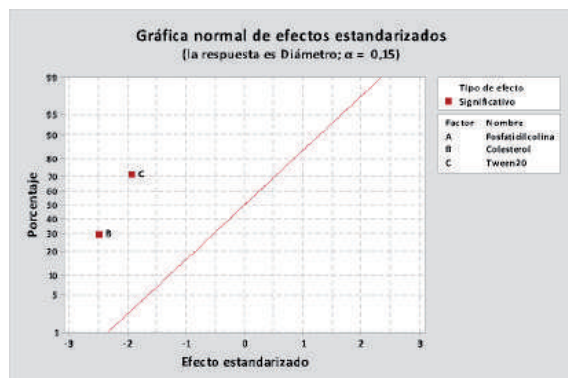


Fig. 2. Gráfica normal de efectos estandarizados para el diámetro

Empleando el modelo construido se optimizó la respuesta para diseñar la formulación que resulte en liposomas con valores máximos de EE. La solución proporcionada sugiere preparar los liposomas con 44 mg de fosfatidilcolina y sin colesterol ni Tween 20.

Se prepararon tres réplicas de esta formulación de liposomas encontrándose errores del 3,1 % en los valores obtenidos y predichos para la EE.

Los quitosomas preparados con la formulación de liposomas optimizada presentaron un diámetro mayor que los liposomas. No se encontraron

diferencias estadísticamente significativas en los valores de EE observados. Por lo tanto, la incorporación de quitosano no parece afectar a la EE de la quercetina.

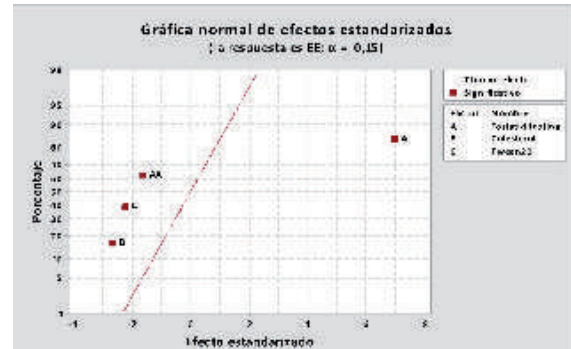


Fig. 3. Gráfica normal de efectos estandarizados para el EE

La cantidad remanente de quercetina cuando está encapsulada en quitosomas es muy superior a la obtenida cuando está en forma de solución. Por lo tanto, el quitosano ejerce un efecto estabilizador de la quercetina. (Figura 3)

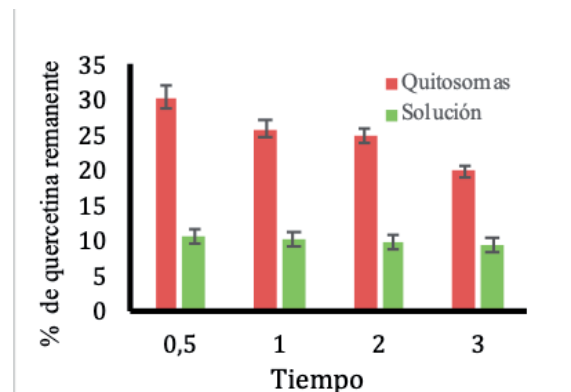


Fig. 4 Porcentaje remanente de quercetina tras la irradiación con luz ultravioleta

4. Conclusiones

En este estudio se ha desarrollado un método para la preparación de liposomas por sonicación para encapsular una sustancia insoluble como la quercetina. Este procedimiento permite obtener vesículas de distribución monomodal y elevada EE sin utilizar solventes orgánicos.

Se ha optimizado la EE de quercetina en liposomas para distintos componentes de la formulación mediante el diseño Box-Behnken de superficie de respuesta, utilizando el programa Minitab. La formulación optimizada incluye 44 mg de fosfatidilcolina para 2 mg de quercetina.

El recubrimiento de los liposomas con quitosano no modificó la EE, obteniéndose quitosomas que permitieron incrementar la estabilidad de quercetina frente a la luz.

Referencias bibliográficas

1. Kotal, M.; Bhowmick, A. K. Polymer Nanocomposites from Modified Clays: Recent Advances and Challenges. *Prog Polym Sci.* 2015;51:127–87.
2. Battaglia, L.; Gallarate, M. Lipid Nanoparticles: State of the Art, New Preparation Methods and Challenges in Drug Delivery. *Expert Opin Drug Deliv.* 2012;9(5):497–508.
3. Vilar, D. de A. et al. Traditional Uses, Chemical Constituents, and Biological Activities of *Bixa orellana* L.: A Review. *Sci World J.* 2014, 2014. Este trabajo debe ser citado como:

Colino Gandarillas C, García Quintero P, Gutiérrez Millán C. Optimización de la preparación de quitosomas de quercetina. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):270-2.

Impresión 3D de supositorios de tacrolimus para el tratamiento de la colitis ulcerosa

Seoane Viaño Iria ^{*1}, Ong Jun Jie², Luzardo Álvarez Asteria¹, González Barcia Miguel³, Basit Abdul W.², Otero Espinar Francisco J.¹, Goyanes Álvaro^{2,4}

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela (USC), 15782, España.

² Department of Pharmaceutics, UCL School of Pharmacy, University College London, 29-39 Brunswick Square, London WC1N 1AX, UK.

³ Servicio de Farmacia Hospitalaria. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela (CHUS), 15706, España.

⁴ FabRx Ltd., 3 Romney Road, Ashford, Kent, TN24 0RW, UK.

* Correspondencia: i.seoane.viano@usc.es

1. Introducción

La tecnología de impresión 3D permite la producción de objetos a medida capa por capa. Esta tecnología ofrece beneficios únicos para la fabricación de productos farmacéuticos, como el desarrollo de medicamentos a medida del paciente, con geometrías complejas, cargadas con múltiples API y con cinéticas de liberación de medicamentos personalizadas (1). En particular, la extrusión semisólida (SSE) se basa en la deposición de semisólidos (geles o pastas), y es especialmente útil para imprimir objetos usando materiales suaves, como excipientes a base de lípidos (2). Los sistemas de administración de fármacos autoemulsionantes (SEDDS) son mezclas isotrópicas basadas en lípidos, tensioactivos y cotensioactivos que forman emulsiones de aceite en agua (O/W) cinéticamente estables con agitación suave. Este enfoque es especialmente útil para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles en agua, los cuales se solubilizan en las pequeñas gotas de aceite. El tacrolimus es un antibiótico macrólido con potentes propiedades inmunosupresoras que se utiliza habitualmente en el tratamiento de la colitis ulcerosa (CU) que es una afección inflamatoria que afecta el sistema digestivo. La baja biodisponibilidad oral y la baja solubilidad en agua del tacrolimus lo convierten en un candidato adecuado para su inclusión en una forma de dosificación rectal basada en lípidos. En este es-

tudio se desarrollaron supositorios cargados con tacrolimus, con una dosis personalizada para el paciente, y con propiedades autoemulsionantes (SES) para el tratamiento de la CU utilizando una impresora 3D de semisólidos.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño 3D

Para diseñar las plantillas de los supositorios con tres tamaños diferentes se utilizó el software 123D Design (Autodesk Inc., EE. UU.) El tamaño más pequeño fue de 8 mm de diámetro x 24,77 mm de alto, el tamaño mediano fue de 9 mm x 27,87 mm y el tamaño más grande fue de 12 mm x 36 mm (Fig 1).

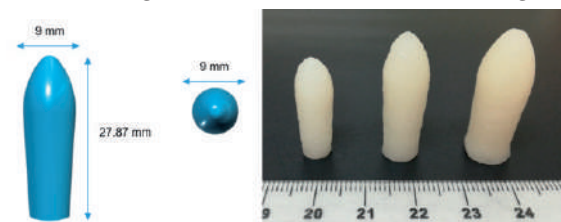


Fig. 1. Modelo 3D del supositorio de tamaño mediano (izquierda) y supositorios impresos en 3D finales en tres tamaños diferentes (derecha).

2.2. Impresión 3D de semisólidos

Proporciones preseleccionadas de excipientes lipídicos y fármaco se mezclaron en un vaso de precipitados. Las mezclas se calentaron hasta el punto de fusión de cada mezcla bajo agitación

magnética hasta la completa solubilización del fármaco en los excipientes lipídicos. La masa se transfirió inmediatamente a una jeringa de extrusión de 5 ml con una punta de extrusión (orificio de 0,58 mm) y se dejó solidificar a temperatura ambiente. Luego, la jeringa se colocó en la impresora 3D con la herramienta de extrusión semisólida (FabRx Ltd, Reino Unido).

Formulation	Gelucire 44/14 (% w/w)	Gelucire 48/16 (% w/w)	Aceite coco (% w/w)	Tacrolimus (%w/w)
Gel 44	79.94	0	19.94	0.12
Gel 48	0	79.94	19.94	0.12

Tabla 1. Composición de las formulaciones.

2.3. Caracterización de los supositorios impresos en 3D

Los supositorios impresos en 3D se caracterizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), electrón de barrido (SEM) y espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR). Además, se obtuvieron los perfiles de liberación de fármaco in vitro, el contenido de fármaco y el tiempo de desintegración de los supositorios finales. Además, para caracterizar la emulsión formada, también se determinaron el tiempo de autoemulsificación, el tamaño de partícula y el potencial ζ .

3. Resultados y Discusión

Si bien trabajos anteriores han demostrado el potencial de la impresión 3D para adaptar medicamentos orales a pacientes individuales y la viabilidad de esta tecnología para preparar medicamentos a medida en entornos hospitalarios (1), en este estudio hemos demostrado que es factible preparar supositorios cargados de fármaco sin un molde u otro soporte físico utilizando impresión 3D. Los supositorios impresos estaban bien definidos y tenían una consistencia aceptable para su manipulación normal. Se probaron dos composiciones diferentes de material de impresión. Durante el proceso de im-

presión, la temperatura de la jeringa se fijó en 42 °C para la formulación Gel 44 y en 48 °C para Gel 48. Los supositorios se imprimieron en dos posiciones, horizontal y verticalmente (Fig 2) y en tres tamaños diferentes (Fig 1). El tiempo de impresión para los supositorios impresos verticalmente fue de 4min 30s y 2min 16s para los impresos horizontalmente.

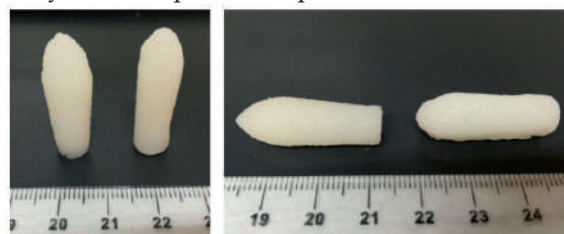


Fig 2. En cada imagen, Gel 44 SES impreso en posición horizontal (derecha) o posición vertical (izquierda).

Los perfiles de liberación de fármacos in vitro mostraron que Gel 44 liberó fármaco a un ritmo más rápido que Gel 48. Gel 44 mostró un tiempo de microemulsificación más rápido que Gel 48 SMES, lo que también justifica su menor tiempo de desintegración. Además, el tamaño medio de las gotas de lípidos de ambas formulaciones estaba entre 1-1,5 μm , y la estabilidad de la emulsión estaba dada por el potencial ζ de las gotas de emulsión, que era -14 mV para Gel 44 y -20 mV para Gel 48, lo que significa que la emulsión Gel 48 era más estable. Los espectros FT-IR mostraron que los principales picos infrarrojos de los activos no cambiaron dentro de las formulaciones en comparación con los espectros de control de tacrolimus solo, lo que significa que no hubo interacciones detectables entre el fármaco y los excipientes lipídicos.

4. Conclusiones

En el presente estudio, hemos preparado con éxito por primera vez supositorios a base de lípidos, con diferentes tamaños y que contienen una dosis específica del fármaco, que puede adaptarse a las necesidades de dosis de cada paciente reduciendo el riesgo de efectos adversos.

Referencias bibliográficas

- Goyanes A, Madla CM, Umerji A, Piñeiro GD, Montero JMG, Diaz MJL, et al. Automated therapy preparation of isoleucine formulations using 3D printing for the treatment of MSUD: first single-centre, prospective, crossover study in patients. *Int J Pharm.* 2019;118497.
- Vithani K, Goyanes A, Jannin V, Basit AW, Gaisford S, Boyd BJ. A Proof of Concept for 3D Printing of Solid Lipid-Based Formulations of Poorly Water-Soluble Drugs to Control Formulation Dispersion Kinetics. *Pharm Res.* 2019;36(7):10

Este trabajo debe ser citado como:

Seoane Viaño I, Ong Jun J, Luzardo Álvarez A, González Barcia M, Basit AW, Otero Espinar FJ, Goyanes A. Impresión 3D de supositorios de tacrolimus para el tratamiento de la colitis ulcerosa. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):273-4.

Rev Esp Cien Farm. 2021;2(2):273-4.

Evaluación preclínica empleando imagen PET/CT de formulaciones impresas en 3D para el tratamiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal

Seoane Víaño Iria ^{*1}, Gómez Lado Noemí², García Otero Xurxo^{1,2}, Aguiar Pablo², Basit Abdul W.³, González Barcia Miguel⁴, Otero Espinar Francisco J.¹, Luzardo Álvarez Asteria¹, Fernández Ferreiro Anxo^{4,5}, Goyanes Álvaro^{3,6}

¹ Departamento de Farmacología, Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela (USC), 15782, España.

² Servicio de Medicina Nuclear y Grupo de Imagen Molecular. Hospital Clínico Universitario y Centro de Investigaciones Sanitarias de Santiago de Compostela (CHUS) (IDIS), 15706, España.

³ Department of Pharmaceutics, UCL School of Pharmacy, University College London, 29-39 Brunswick Square, London WC1N 1AX, UK.

⁴ Servicio de Farmacia Hospitalaria. Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela (CHUS), 15706, España.

⁵ Grupo de Farmacología Clínica. Instituto de Investigaciones Sanitarias de Santiago de Compostela (IDIS), 15706, España.

⁶ FabRx Ltd., 3 Romney Road, Ashford, Kent, TN24 0RW, UK

* Correspondencia: i.seoane.viano@usc.es

1. Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (EII) es un grupo de trastornos crónicos de etiología desconocida que provocan una inflamación prolongada del tracto gastrointestinal (GI). El tacrolimus es un antibiótico macrólido con potentes propiedades inmunosupresoras que se utiliza habitualmente en el tratamiento de la EII. Sin embargo, su biodisponibilidad oral es baja debido al efecto de primer paso. Este problema podría minimizarse mediante la inclusión de tacrolimus en supositorios. La impresión 3D, y en particular, la extrusión semi-sólida (SSE), podría ser especialmente útil para imprimir formulaciones basadas en lípidos con una dosis definida adaptada a las necesidades de cada paciente (1). El uso de formulaciones lipídicas es especialmente útil para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles en agua, como tacrolimus, que se solubilizan en las pequeñas gotas de aceite. El objetivo de este estudio es evaluar si los supositorios de tacrolimus impresos en 3D serían efectivos para tratar la CU en un modelo animal de colitis inducida mediante TNBS previamente desarrollado y validado (2). Además, se empleó la imagen médica PET/CT (tomografía por emisión

de positrones / tomografía computarizada) para monitorear la progresión de la enfermedad y la respuesta terapéutica en el modelo animal a través de la cuantificación del valor de captación estandarizado (SUVmax), un biomarcador comúnmente utilizado en la práctica clínica actual para la evaluación de enfermedades inflamatorias.

2. Materiales y métodos

2.1. Diseño 3D

Se utilizó el software 123D Design (Autodesk Inc., EE. UU.) para diseñar las plantillas de los supositorios, tamaño 2,7 mm de diámetro x 8,35 mm de altura (Fig 1).

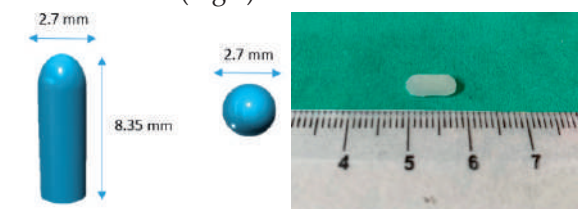


Fig. 1. Modelo 3D de los supositorios desde diferentes ángulos (izquierda), supositorio impreso en 3D (derecha).

2.2. Impresión 3D de semisólidos

Se mezclaron tacrolimus (0,9 % p/p) con Gelucire 44/14 (79,55 % p/p) y aceite de coco (19,55 % p/p) para obtener una dosis final de 2 mg/kg. La mezcla se calentó hasta el punto de fusión de la mezcla (42 °C) con agitación magnética hasta la completa solubilización del fármaco en los excipientes lipídicos. La masa se transfirió inmediatamente a una jeringa de 5 ml con una punta de extrusión (orificio de 0,58 mm) y se colocó en la impresora 3D (FabRx Ltd, Reino Unido).

2.3. Modelo animal de EII

Este estudio se llevó a cabo en ratas macho Sprague-Dawley con un peso promedio de 250 g. Los animales se mantuvieron en jaulas individuales en condiciones de temperatura (22 ± 1 °C) y humedad (60 ± 5 %) y se alimentaron ad libitum. El modelo animal de EII inducida por TNBS se obtuvo mediante la administración rectal de TNBS en una dosis de 50 mg/kg de peso corporal disuelto en etanol al 50 % (v/v), a través de un catéter insertado rectalmente 8 cm en el colon, bajo anestesia con isoflurano (2 %).

2.4. Evaluación de la eficacia del tratamiento con tacrolimus

Los supositorios de tacrolimus se administraron diariamente a 6 ratas con una dosis de 2 mg/kg bajo anestesia con isoflurano (2 %). El tratamiento se inició 3 días después de la inducción de la colitis, y las imágenes PET/CT con [18F]FDG se realizaron antes de la inducción de la EII (condición basal) y 1, 3, 7, 10, 13 y 15 días después de la administración de TNBS. Cada animal se pesó diariamente. Todas las imágenes se analizaron con el software AMIDE. El valor de absorción estandarizado (SUVmax) se calculó como el valor máximo de absorción de [18F]FDG normalizado por la actividad inyectada y el peso corporal del animal.

Referencias bibliográficas

1. Seoane-Viaño I, Ong JJ, Luzardo-Álvarez A, González-Barcia M, Basit AW, Otero-Espinar FJ, et al. 3D printed tacrolimus suppositories for the treatment of ulcerative colitis. *Asian J Pharm Sci.* 2021;16(1):110–9.
2. Seoane-Viaño I, Gomez-Lado N, Lazare-Iglesias H, Barreiro-de Acosta M, Silva-Rodríguez J, Luzardo-Alvarez A, et al. Longitudinal PET/CT evaluation of TNBS-induced inflammatory bowel disease rat model. *Int J Pharm.* 2018;549(1-2):335-42.

Este trabajo debe ser citado como:

Seoane Viaño I, Gómez Lado N, García Otero X, Aguiar P, Basit AW, González Barcia M, Otero Espinar FJ, Luzardo Álvarez A, Fernández Ferreiro A, Goyanes A. Evaluación preclínica empleando imagen PET/CT de formulaciones impresas en 3D para el tratamiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal. *Rev Esp Cien Farm.* 2021;2(2):275-6.

3. Resultados y Discusión

En este estudio, se evaluó la actividad terapéutica de tacrolimus en el tratamiento de la EII experimental mediante imagen PET/CT cuando se incluye en supositorios impresos en 3D. La Figura 2 muestra imágenes longitudinales de PET/CT fusionadas a lo largo del tiempo de ratas sin tratamiento después de la inducción de colitis (3) y tratadas con los supositorios de tacrolimus. En los grupos de animales tratados, se puede notar claramente la alta captación de [18F]FDG alrededor del colon (valores más altos de SUVmax) los días 1-3 y su posterior reducción cuando se inicia la administración del tratamiento el día 3. Por el contrario, el grupo no tratado no logra una reducción en la captación de [18F]FDG hasta el día 15, cuando ocurre la remisión espontánea de la enfermedad.

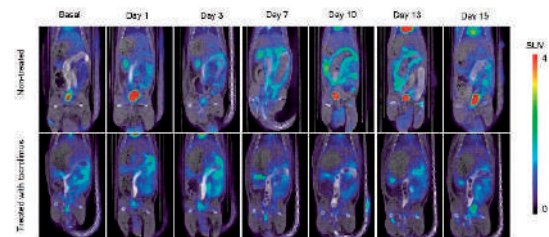


Fig. 2. Imágenes de PET / CT fusionadas a lo largo del tiempo de animales tratados y no tratados.

4. Conclusiones

En este estudio preclínico, se demostró la viabilidad de tratar la EII experimental con supositorios de tacrolimus impresos en 3D. Además, la versatilidad de 3DP permitió producir supositorios con dosis, forma y tamaño definidos adaptados a los animales. Además, la imagen médica PET/CT, una técnica no invasiva, ha demostrado ser una herramienta útil para el seguimiento de las diferentes etapas de la enfermedad en el modelo animal.

