ESCUELA DE DOCTORADO
INTERNACIONAL DE LA USC

Manuel
Gago Guillán

Tesis doctoral

HIDROGELES BIODEGRADABLES DE POLISACÁRIDOS PARA LA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS

Santiago de Compostela, 2023

Programa de doctorado en Investigación y Desarrollo de Medicamentos

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL DA USC

TESIS DE DOCTORADO

HIDROGELES BIODEGRADABLES DE POLISACÁRIDOS PARA LA LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS

Autor

Manuel Gago Guillán

Director: Francisco Javier Otero Espinar

Tutor/a: Francisco Javier Otero Espinar

PROGRAMA DE DOUTORAMENTO EN INVESTIGACIÓN E DESENVOLVEMENTO DE MEDICAMENTOS

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2023

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas e instituciones que han contribuido de manera significativa a la realización de esta tesis doctoral. Este trabajo no habría sido posible sin su valiosa colaboración, apoyo y estímulo.

En primer lugar, deseo agradecer a mi director de tesis, Francisco Javier Otero Espinar, por su orientación experta, paciencia y dedicación. Sus valiosos comentarios y sugerencias han sido fundamentales para dar forma a este trabajo y conseguir que finalmente haya llegado a buen puerto. Gracias por todo lo que me has enseñado, que no ha sido poco.

Agradezco también a los profesores y compañeros del Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Santiago de Compostela, cuyos conocimientos y experiencias compartidas han enriquecido mi comprensión del tema y han contribuido al desarrollo, no solo de esta investigación, si no de mis conocimientos galénicos en general.

Además, deseo extender mi más sincero agradecimiento al Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Valencia, por

brindarme la oportunidad de realizar una estancia en sus instalaciones que, aunque corta, ha sido también muy enriquecedora. Agradezco a Virginia Merino Sanjuan y al equipo del centro por su cálida bienvenida, orientación y generosidad al compartir sus conocimientos. Gracias por la inestimable oportunidad de aprender y crecer dentro de un entorno científico tan estimulante.

No puedo dejar de expresar mi gratitud a mis amigos y familiares, quienes han brindado un apoyo incondicional a lo largo de este viaje académico. Sus ánimos y comprensión han sido mi fuerza motriz en momentos desafiantes.

Finalmente, agradezco a todas las personas que, directa o indirectamente, de alguna manera colaboraron en los trabajos realizados. Su participación ha sido esencial para el éxito de esta investigación.

Este trabajo es el resultado de un esfuerzo colectivo, y estoy agradecido/a por la contribución de cada individuo que ha sido parte de este proceso.

¡Gracias a todos!

Manuel Gago Guillán

RESUMEN

RESUMEN

Existen numerosas patologías que afectan a la región terminal del tracto gastrointestinal. Entre estas condiciones se destacan las enfermedades inflamatorias, como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, así como las enfermedades infecciosas causadas por diversos microorganismos. En los últimos años, se ha experimentado un significativo avance en el conocimiento relacionado con la liberación específica de medicamentos en el colon, con el propósito de mejorar el tratamiento de estas patologías. Se han desarrollado diversas estrategias con el objetivo de lograr una mayor concentración del medicamento en el área afectada, lo que conlleva un aumento en la eficacia del tratamiento, al mismo tiempo que se reduce la absorción sistémica del medicamento en las primeras porciones del tracto digestivo, disminuyendo así considerablemente los efectos secundarios.

En la introducción del documento, se trata de una revisión bibliográfica que describe las peculiaridades anatómicas del colon, así como la microflora bacteriana presente en el mismo. Se describe como estas características, en conjunto, convierten el colon en un lugar adecuado para la liberación específica

de fármacos, bien para el tratamiento de enfermedades que afectan a esta sección del tracto digestivo, como a nivel sistémico.

La introducción continúa describiendo las distintas alternativas técnicas disponibles para conseguir una liberación selectiva en el colon. Una de las alternativas más prometedoras implica la creación de formulaciones farmacéuticas de liberación programada basadas en la actividad enzimática mediada por las enzimas presentes en la microflora colónica. Describe el uso de hidrogeles basados en polisacáridos como una alternativa viable para conseguir formulaciones con una liberación específica en el colon.

La investigación documentada en esta tesis se centra en el desarrollo y evaluación de hidrogeles de polisacáridos para la liberación controlada de fármacos en el colon. Aborda la formulación de hidrogeles con goma xantana y goma garrofina diseñados para mejorar el tratamiento de patologías colónicas, como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, aprovechando las propiedades fisiológicas y bioquímicas únicas del colon, enfocándose en dos principios activos: acetónido de triamcinolona y ciprofloxacino. La tesis se divide en cuatro capítulos principales, cada uno con objetivos específicos.

El primer capítulo estudia las interacciones entre los componentes del hidrogel a través de su comportamiento reológico. Estudia su impacto en la velocidad de difusión y liberación de fármacos, concluyendo la posibilidad de modular la liberación del principio activo a través de distintos factores como la aplicación de una presión o temperatura.

El segundo capítulo examina la capacidad bioadhesiva de los hidrogeles, señalando el distinto comportamiento de ambas gomas, así como la viabilidad de modular el efecto con mezclas de ambas en distintas proporciones.

El tercer capítulo evalúa el efecto de la adición de ciclodextrinas en las formulaciones, afectando a las propiedades de liberación de los hidrogeles.

Finalmente, el cuarto capítulo investiga la eficacia de los hidrogeles en un modelo animal de colitis, mostrando su viabilidad para ser utilizados en el tratamiento de esta enfermedad.

La tesis concluye resaltando la importancia de estos sistemas de liberación colónica para el tratamiento de enfermedades del colon y destaca su potencial

para innovaciones futuras en farmacología y mejora de la calidad de vida de los pacientes.

INDICE

OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN *1*

INTRODUCCIÓN *7*

1 EL COLON **9**

1.1 Anatomía del colon 11

1.2 Microbiota intestinal 13

1.2.1 Composición de la microbiota intestinal 13

1.2.2 Funciones de la microbiota intestinal 14

1.2.3 Influencia de la dieta y el estilo de vida en la microbiota intestinal 15

1.3 Enfermedades del colon 15

2 SISTEMAS DE LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS **17**

3 HIDROGELES PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS **21**

4 GOMAS NATURALES **24**

4.1 Goma xantana 27

4.2 Goma Garrofina 30

5 PRINCIPIOS ACTIVOS **32**

5.1 Acetónido de triamcinolona 32

5.2 Ciprofloxacino 36

CAPÍTULO 1 Sinergia inducida por la presión de compresión en hidrogeles de goma xantana y goma garrofina. Efecto en la liberación de fármacos 40

1 INTRODUCCIÓN 42

2 MATERIALES Y MÉTODOS 45

2.1 Materiales 45
2.2 Preparación de dispersiones de polisacáridos 46
2.3 Preparación de xerogeles 46
2.4 Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR) 46
2.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC) 47
2.6 Estudios reológicos 47
2.7 Pruebas de difusión de fármacos 47
2.8 Propiedades de hinchamiento de los xerogeles 48
2.9 Ensayo de liberación 49
2.10 Análisis estadístico 50

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 50

3.1 Análisis de FTIR y DSC 50
3.2 Propiedades reológicas 51
3.3 Ensayos de difusión de fármacos 58

4 CONCLUSIONES 63

CAPÍTULO 2 Caracterización de la bioadhesión de los hidrogeles basados en polisacáridos 65

1 INTRODUCCIÓN 67

2 MATERIALES Y MÉTODOS 69

2.1 Materiales 69
2.2 Preparación de los Xerogeles 69
2.3 Estudios de bioadhesión 69
2.4 Análisis estadístico 70

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN 71

4 CONCLUSIONES 73

CAPÍTULO 3 Efecto de la incorporación de ciclodextrinas en la difusión y liberación de acetónido de triamcinolona a partir de hidrogeles de goma Xantana y Garrofina 74

1 INTRODUCCIÓN 76

2 MATERIALES Y MÉTODOS 78

2.1 Materiales 78

2.2 Preparación de las dispersiones de los polisacáridos ... 78
2.3 Preparación de los xerogeles ... 79
2.4 Estudios de difusión ... 79
2.5 Ensayo de liberación a partir de xerogeles ... 80
2.6 Análisis estadístico ... 81

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN ... 81

4 CONCLUSIONES ... 85

CAPÍTULO 4 Efecto de la administración oral de acetónido de triamcinolona en hidrogeles de polisacáridos en modelo animal de colitis experimental inducida mediante TNBS ... 87

1 INTRODUCCIÓN ... 89

2 MATERIALES Y MÉTODOS ... 92

2.1 Materiales ... 92
2.2 Animales ... 92
2.3 Tratamientos ... 93
2.4 Preparación de los comprimidos de xerogeles ... 93
2.5 Procedimiento experimental de inducción de inflamación colónica ... 94
2.6 Ciclo de tratamiento ... 95
2.7 Evaluación de lesiones e inflamación colónica ... 95
2.7.1 Determinación de la relación peso del colon/peso corporal ... 95
2.7.2 Sistema de puntuación de actividad clínica ... 96
2.7.3 Actividad de la mieloperoxidasa ... 96
2.8 Análisis estadístico ... 97

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN ... 97

4 CONCLUSIONES ... 102

5 ANEXO 1. Resultados del análisis de los cambios fisiopatológicos ... 103

5.1 Grupo tratado con solución placebo ... 103
5.2 Grupo tratado con comprimidos placebo ... 106
5.3 Grupo tratado con solución de acetónido de triamcinolona ... 109
5.4 Grupo tratado con espuma rectal ... 112
5.5 Grupo tratado con comprimido de acetónido de triamcinolona ... 116

DISCUSIÓN GENERAL ... 119

CONCLUSIONES ... 128

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS ... 133

APÉNDICE ... 149

OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN

OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN

Son numerosas las patologías que afectan a la última porción do tracto gastrointestinal. Entre las que podemos destacar las enfermedades inflamatorias, del tipo de la colitis ulcerosa o la Enfermedad de Crohn, así como enfermedades infecciosas provocadas por diferentes microorganismos. En los últimos años se ha avanzado mucho en el conocimiento relacionado con la liberación selectiva de fármacos en el colon con el fin de mejorar el tratamiento de estas patologías. Se han desarrollado distintas estrategias con el fin de alcanzar una mayor concentración del fármaco en la zona dañada, con el consiguiente aumento del efecto, y la disminución de la absorción sistémica del fármaco en las primeras porciones del tracto digestivo, reduciendo de esta forma gran parte de los efectos secundarios. Una de las alternativas más interesantes es el desarrollo de formas farmacéuticas de liberación programada basadas en la actividad enzimática mediada por las enzimas procedentes de la microflora colónica. El principal objetivo del proyecto de tesis será el diseño y evaluación de formulaciones para la liberación colónica de fármacos basadas en esta alternativa.

La investigación se orienta hacia dos metas fundamentales: primero, el desarrollo de hidrogeles capaces de liberar de manera controlada y efectiva principios activos como el acetónido de triamcinolona y el ciprofloxacino, y segundo,

comprender y aprovechar las propiedades fisiológicas y bioquímicas del colon para optimizar la liberación de estos fármacos.

La introducción de la tesis sienta las bases para el estudio, proporcionando una visión detallada del colon humano, su estructura, función y relevancia en el proceso digestivo y en la salud general. Se destaca cómo su papel va más allá de la simple absorción de agua y electrolitos, resaltando su importancia en la inmunidad y en el mantenimiento de una microbiota intestinal saludable. Esta comprensión del colon no solo es crucial para el diseño de sistemas de liberación colónica eficientes sino también para identificar desafíos y oportunidades en el tratamiento de enfermedades específicas del colon.

La siguiente sección de la introducción discute los sistemas de liberación colónica de fármacos. Aquí se examinan los avances recientes en esta área, resaltando cómo estas tecnologías ofrecen un enfoque más dirigido y menos invasivo para el tratamiento de enfermedades del colon, como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn, además de ciertas enfermedades sistémicas. La discusión se centra en la importancia de una liberación precisa de fármacos en el colon, lo que puede mejorar la eficacia del tratamiento y minimizar los efectos secundarios. Se examinan varias estrategias de diseño de sistemas de liberación, incluyendo el uso de recubrimientos sensibles al pH, profármacos y polímeros bioadhesivos, proporcionando un panorama integral de las metodologías actuales y sus limitaciones.

El núcleo de la introducción se centra en los hidrogeles de polisacáridos. Estos materiales, por su alta capacidad de hidratación y porosidad, representan una plataforma prometedora para la liberación controlada de fármacos. Se profundiza en cómo estos hidrogeles pueden ser diseñados para responder a estímulos específicos del colon, como cambios en el pH o la temperatura, permitiendo así una liberación más específica y eficiente de los medicamentos. Se discuten las aplicaciones potenciales de los hidrogeles en diversas formas de administración, desde sistemas orales hasta tópicos y transdérmicos, resaltando su versatilidad y eficacia.

Finalmente, la parte final de la introducción se dedica a las gomas naturales y su papel en la formulación de sistemas de liberación de fármacos. Se examina cómo estas gomas, debido a sus propiedades de gelificación, viscosidad y biocompatibilidad, son esenciales en la mejora de la eficacia, estabilidad y aceptabilidad de los medicamentos. Además, se analiza su biodegradabilidad, lo

que las convierte en opciones atractivas y seguras para aplicaciones farmacéuticas.

El objetivo principal de esta tesis ha sido desarrollar hidrogeles de polisacáridos con la capacidad de liberar diversos fármacos a nivel del colon para el tratamiento de patologías locales. El trabajo se ha dividido en cuatro secciones o capítulos con objetivos específicos.

En el primer capítulo, nos enfocamos en el desarrollo de los hidrogeles de polisacáridos para la liberación local de fármacos en el colon. Se seleccionaron la goma xantana y la goma garrofina como principales componentes, el acetónido de triamcinolona y el ciprofloxacino como principios activos, y se utilizó el método de formación de xerogeles mediante un procedimiento de compresión. Este capítulo aborda el estudio de las interacciones entre los diferentes componentes y su impacto sobre la liberación de los principios activos.

En el segundo capítulo, se examina la capacidad bioadhesiva en mucosas de los xerogeles de polisacáridos. Aunque esta propiedad no es esencial para su uso en la liberación colónica de fármacos, podría abrir la posibilidad de emplearlos en la liberación de fármacos en mucosas como la vaginal o la oral.

El tercer capítulo evalúa el efecto de un tercer excipiente, las ciclodextrinas, en las propiedades de liberación de los hidrogeles. Se estudia su impacto en la difusión de los principios activos a través de los hidrogeles y en su liberación.

Finalmente, en el capítulo 4 se evalúa la efectividad de los hidrogeles de polisacáridos que contienen acetónido de triamcinolona en un modelo animal de colitis inducida mediante TNBS. Se describe el modelo y se compara el efecto sobre la patología de la administración oral de los hidrogeles con una disolución acuosa del corticoide y con una espuma rectal comercial.

La tesis concluye con una evaluación de los resultados obtenidos y su impacto en el campo de la farmacología. Se discuten las implicaciones de estos sistemas de liberación colónica en el tratamiento de enfermedades del colon y cómo pueden ofrecer soluciones más eficientes y menos invasivas que los métodos tradicionales. Además, se plantean futuras direcciones de investigación, incluyendo el desarrollo de hidrogeles inteligentes y la exploración de nuevas aplicaciones terapéuticas.

En resumen, esta investigación no solo proporciona una visión valiosos sobre la liberación colónica de fármacos, sino que también abre caminos para innovaciones futuras en el tratamiento de enfermedades del colon y otras afecciones relacionadas, marcando un avance significativo en la farmacología moderna y en la mejora de la calidad de vida de los pacientes.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

1 EL COLON

El colon, también conocido como intestino grueso, es la parte final del sistema digestivo, que se extiende desde el intestino delgado hasta el recto. Es un órgano tubular de aproximadamente 1,5 metros de longitud que desempeña un papel esencial en la digestión y la salud humana.

Funcionalmente, el colon desempeña roles fundamentales en el proceso digestivo. En comparación con el intestino delgado, el colon no tiene un rol principal en la absorción de alimentos y nutrientes. Las funciones principales del colon son la reabsorción de agua y electrolitos (1–3), así como la fermentación de materiales no absorbidos (4,5). El colon también desempeña un papel importante en el sistema inmunitario (6). Las células del colon producen anticuerpos y otros factores que ayudan a proteger al cuerpo de infecciones.

A medida que los materiales no digeridos avanzan por el colon, el agua se reabsorbe a través de la pared intestinal. Este proceso es necesario para evitar la deshidratación y para formar heces sólidas. Los electrolitos también se

reabsorben en el colon. La reabsorción de agua y electrolitos en el colon se produce por dos mecanismos principales:

- Osmosis: La diferencia de concentración entre el agua del contenido intestinal y el agua de la sangre provoca que el agua se mueva del colon a la sangre.
- Transporte activo: Las células del colon utilizan energía para transportar electrolitos, como el sodio, el potasio y el cloruro, desde el contenido intestinal a la sangre.

El colon también es crucial en la gestión de la microbiota intestinal. Alberga una diversidad de bacterias esenciales para varias funciones, como la fermentación de materiales no digeribles, la producción de vitaminas específicas, la defensa contra patógenos y la modulación del sistema inmunitario. Estas bacterias fermentan los materiales no absorbidos, como la fibra, produciendo una variedad de productos, incluyendo ácidos grasos de cadena corta, gases y otros compuestos. Los ácidos grasos de cadena corta son una fuente de energía para las células del colon y también pueden tener efectos beneficiosos para la salud, como la reducción del riesgo de enfermedades cardíacas y la mejora de la función cognitiva. La fermentación también produce otros compuestos, como vitaminas, aminoácidos y compuestos antimicrobianos.

Desde el punto de vista inmunológico, el colon contiene células que producen anticuerpos y otros factores que ayudan a proteger al cuerpo de infecciones. Estas células también son capaces de detectar y eliminar bacterias dañinas y otros patógenos. La interacción entre la microbiota intestinal y el sistema inmunitario del colon es un campo de estudio activo, considerado vital para la salud general.

El colon desempeña un papel esencial en la digestión y la salud humana. La reabsorción de agua y electrolitos es necesaria para evitar la deshidratación y para formar heces sólidas. La fermentación de materiales no absorbidos produce ácidos grasos de cadena corta, gases y otros compuestos que tienen efectos beneficiosos para la salud. El colon también desempeña un papel importante en el sistema inmunitario.

1.1 Anatomía del colon

Desde el punto de vista anatómico, el intestino grueso se extiende desde el íleon terminal hasta el canal anal. Excluyendo el apéndice vermiforme y el recto, está el colon, que se compone de cinco segmentos principales: el ciego, el colon derecho o ascendente, el colon medio o transverso, el colon izquierdo o descendente y el colon sigmoide (7,8). El colon sigmoide continua con el recto, que termina en el canal anal. El colon proximal se refiere al colon ascendente y dos tercios del colon transverso, mientras que el colon distal se refiere al último tercio del colon transverso junto con los dos últimos segmentos (7).

El ciego es una gran bolsa ciega que surge del segmento proximal del colon ascendente y mide entre 6 y 9 cm de longitud. El colon ascendente mide entre 15 y 20 cm de longitud. La flexura hepática conecta el colon ascendente con el colon transverso. La flexura esplénica conecta el colon transverso con el colon descendente. El colon descendente mide entre 10 y 15 cm de longitud, donde comienza el colon sigmoide que termina en el recto y canal anal (8).

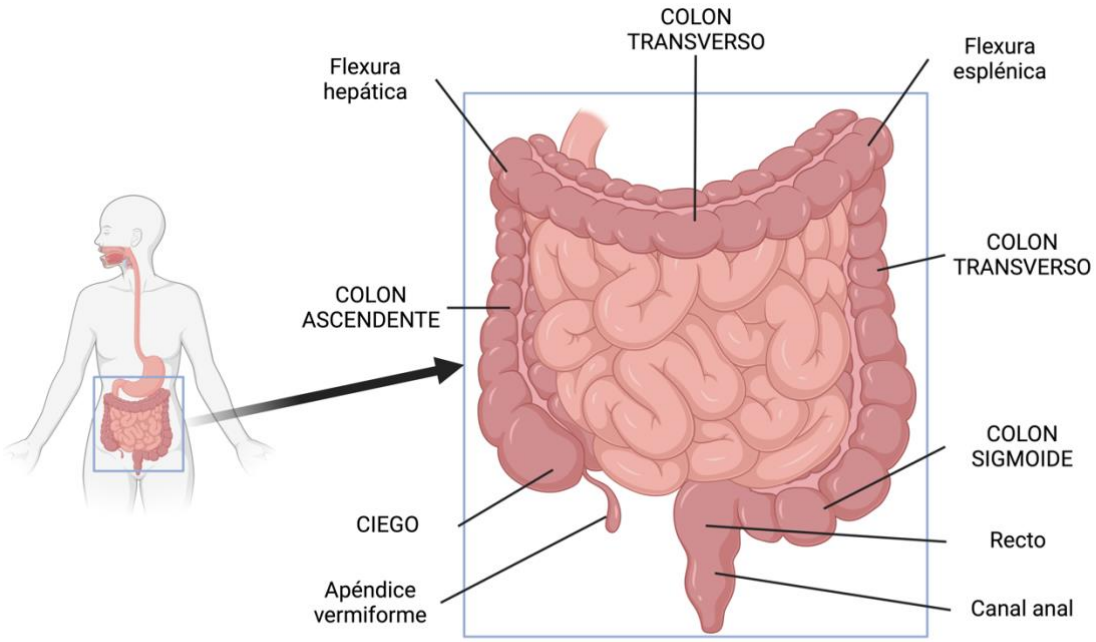


Figura 1 - Representación gráfica del colon e intestino grueso. (creado con BioRender.com)

El ciego y el colon ascendente son los principales sitios en los que se produce el metabolismo bacteriano de carbohidratos, actuando como una cámara de fermentación. En el colon transverso, los patrones de movimiento predominantes retienen el material en el colon proximal para una fermentación adicional o lo expulsan hacia el colon distal. En el colon distal, se almacena el material fecal hasta su eliminación (9).

Histológicamente, el colon se organiza en cuatro capas: la mucosa, la submucosa, la muscularis externa y la serosa (10).

La mucosa del colon incluye el epitelio, la lámina propia y la muscularis mucosae. El epitelio es columnar simple y se encuentra estructurado en criptas tubulares rectas, que son invaginaciones del epitelio mucoso que se extienden hasta la lámina propia. A diferencia del intestino delgado, el colon no posee vellosidades. La composición celular de su epitelio es similar a la del intestino delgado, pero con una mayor proporción de células caliciformes entre las células absorbentes, conocidas como enterocitos. Las células caliciformes se especializan en la secreción de moco, una sustancia viscosa que ayuda a lubricar el tránsito intestinal. Los enterocitos absorben nutrientes a través de la membrana plasmática apical y los exportan a través de la membrana plasmática basal. Además del epitelio, la mucosa del colon también contiene la lámina propia, que es una capa de tejido conectivo suelto que proporciona soporte al frágil epitelio mucoso, facilita su movilidad y ofrece defensa inmunitaria. La lámina propia está infiltrada por glóbulos blancos y contiene capilares y finas hebras de músculo liso.

La submucosa es una capa de tejido conectivo denso que se encuentra debajo de la mucosa. Contiene vasos sanguíneos, linfáticos y nervios que irrigan e inervan la mucosa. También contiene nódulos linfáticos que forman parte del sistema inmunitario.

La muscularis externa es una capa de músculo liso que se encuentra debajo de la submucosa. Se divide en dos capas: la capa circular interna y la capa longitudinal externa. La capa circular interna se contrae para reducir el diámetro del colon, lo que ayuda a impulsar el contenido intestinal hacia el recto. La capa longitudinal externa se contrae para alargar el colon, lo que también ayuda a impulsar el contenido intestinal.

La serosa es una capa de tejido conectivo laxo que se encuentra debajo de la muscularis externa. Es similar a la capa peritoneal que rodea otros órganos abdominales. Éste recubre la cavidad abdominal y reduce la fricción entre los órganos abdominales, facilitando así su movimiento. Esta capa proporciona protección y soporte estructural al colon (10).

Clínicamente, el colon puede verse afectado por diversas condiciones, incluyendo el síndrome del intestino irritable, enfermedades inflamatorias intestinales como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, diverticulitis y cáncer de colon (11). La salud del colon está influenciada por la dieta, el ejercicio, el consumo de fibra y una adecuada hidratación.

En conclusión, el colon es un órgano complejo y esencial que juega un papel clave en la digestión, absorción de nutrientes, homeostasis de agua y electrólitos, función inmunológica y salud de la microbiota intestinal. Su correcto mantenimiento y funcionamiento son cruciales para la salud general del cuerpo.

1.2 Microbiota intestinal

La microbiota intestinal es un ecosistema complejo de bacterias que reside en el intestino. Este ecosistema está formado por billones de bacterias, que representan aproximadamente el 10% del peso corporal total. La microbiota intestinal desempeña un papel fundamental en la salud digestiva, inmunológica y metabólica (12,13).

1.2.1 Composición de la microbiota intestinal

La composición de la microbiota intestinal varía según la edad, la dieta, el estilo de vida y la salud general del individuo. La mayoría de las bacterias en el colon son anaerobias estrictas, derivando energía de la fermentación de sustratos no digeribles como carbohidratos de plantas complejas. Sin embargo, en general, la microbiota intestinal está compuesta por las siguientes bacterias:

- Bacteroidetes: Este grupo de bacterias es el más abundante en la microbiota intestinal, representando aproximadamente el 60% de la

población bacteriana. Las bacterias Bacteroidetes son responsables de la fermentación de los carbohidratos no digeribles, la producción de vitaminas y la modulación del sistema inmunitario.

- Firmicutes: Este grupo de bacterias representa aproximadamente el 30% de la población bacteriana. Las bacterias Firmicutes son responsables de la absorción de nutrientes, la producción de gases y la defensa contra patógenos.
- Actinobacteria: Este grupo de bacterias representa aproximadamente el 5% de la población bacteriana. Las bacterias Actinobacteria son responsables de la síntesis de vitaminas y la producción de antibióticos.
- Otras: Otras divisiones consistentemente encontradas en muestras del colon humano incluyen, Proteobacteria, Fusobacteria y Verrucomicrobia

1.2.2 Funciones de la microbiota intestinal

La microbiota intestinal desempeña una serie de funciones importantes para la salud humana, entre las que se incluyen (12):

- Funciones Metabólicas: Las comunidades microbianas simbióticas en el intestino proporcionan una gran diversidad de genes y funciones metabólicas. Esto incluye la capacidad de ayudar al huésped a adquirir nutrientes del medio ambiente y proveer las vías para la síntesis de compuestos orgánicos esenciales. Estas funciones metabólicas son fundamentales para la digestión y absorción eficiente de nutrientes.
- Funciones protectoras: La microbiota intestinal juega un papel crucial en la protección del huésped contra patógenos y otras amenazas externas. Esto incluye la competencia con microorganismos dañinos por recursos y espacios, así como la estimulación del sistema inmunitario del huésped para una defensa eficaz contra las infecciones.
- Funciones tróficas: Estas funciones se refieren a la influencia de la microbiota en el crecimiento y desarrollo corporal, así como en el mantenimiento de la salud durante la vida adulta. Esto se ha demostrado en estudios con animales libres de gérmenes, donde la colonización microbiana restaura la mayoría de las deficiencias anatómicas y fisiológicas observadas en ausencia de microbiota

1.2.3 Influencia de la dieta y el estilo de vida en la microbiota intestinal

Son muchos los autores que sugieren que la microbiota juega un papel crucial para la salud. Así, los cambios en la composición de las bacterias intestinales o en el ambiente intestinal están asociados con enfermedades inflamatorias intestinales, alergias, enfermedades autoinmunes y algunas enfermedades relacionadas con el estilo de vida (12–15). La dieta y el estilo de vida pueden tener un impacto significativo en la composición y la función de la microbiota intestinal. Por ejemplo, una dieta rica en fibra promueve el crecimiento de bacterias beneficiosas, mientras que una dieta baja en fibra puede favorecer el crecimiento de bacterias perjudiciales. El ejercicio también puede tener un efecto beneficioso sobre la microbiota intestinal, aumentando la diversidad bacteriana.

1.3 Enfermedades del colon

Las enfermedades que inciden en el colon son un aspecto crucial en el campo de la gastroenterología, con una variedad de causas, manifestaciones y tratamientos. Estos trastornos afectan tanto la función como la estructura del colon, un componente esencial del sistema digestivo. Estas enfermedades pueden ser de origen inflamatorio, infeccioso, funcional o neoplásico. A continuación, se detallan algunas de las enfermedades más prevalentes del colon.

- Enfermedad inflamatoria intestinal: Comprende principalmente dos condiciones: la Colitis Ulcerosa y la Enfermedad de Crohn. Ambas implican una inflamación crónica del tracto gastrointestinal. La Colitis Ulcerosa afecta específicamente al colon y recto, con inflamación y úlceras en su revestimiento. Por otro lado, la Enfermedad de Crohn puede afectar cualquier parte del tracto gastrointestinal, incluyendo el colon. Los síntomas típicos son dolor abdominal, diarrea crónica, sangrado rectal, pérdida de peso y fatiga.
- Síndrome del intestino irritable: Es un trastorno funcional caracterizado por dolor abdominal, distensión y cambios en los hábitos intestinales, sin daño subyacente aparente. Es una condición crónica que requiere manejo a largo plazo.
- Cáncer de colon: Representa uno de los cánceres más comunes a nivel mundial. Suele iniciarse como pólipos no cancerosos que pueden

evolucionar a cáncer. Los síntomas incluyen cambios en los hábitos intestinales, presencia de sangre en las heces, dolor abdominal continuo, anemia y pérdida de peso inexplicada. La detección precoz mediante colonoscopia es vital para un tratamiento efectivo.

- Diverticulitis: Se refiere a la inflamación de los divertículos en las paredes del colon. Puede manifestarse con dolor abdominal, fiebre y cambios en los hábitos intestinales. Aunque su causa exacta es incierta, se asocia con dietas bajas en fibra.
- Enfermedades infecciosas del colon: Incluyen colitis infecciosa causada por bacterias, virus y parásitos, que pueden provocar inflamación y diarrea. Ejemplos destacados son la infección por *Clostridium difficile*, la gastroenteritis viral y la amebiasis. Estas condiciones requieren diagnóstico y tratamiento rápidos para evitar complicaciones.
- Colitis isquémica: Ocurre por una disminución del flujo sanguíneo al colon, causando inflamación y daño. Es más frecuente en adultos mayores y puede deberse a aterosclerosis u otras condiciones que afectan la circulación.
- Colitis microscópica: Caracterizada por diarrea crónica y cambios inflamatorios en el colon visibles solo bajo el microscopio. Se divide en colitis colágena y colitis linfocítica.

El tratamiento varía según la enfermedad específica e incluye cambios dietéticos y de estilo de vida, medicación (antiinflamatorios, antibióticos, inmunosupresores) y, en algunos casos, cirugía. Se adopta un enfoque terapéutico personalizado, basado en la gravedad de la enfermedad, los síntomas del paciente y su respuesta al tratamiento previo.

Tabla 1 - Familias farmacológicas de uso más frecuente en el tratamiento de enfermedades colónicas.

Enfermedad colónica	Tratamientos farmacológicos más frecuentes
Enfermedad inflamatoria intestinal	Aminosalicilatos, corticoides y antibióticos entre otros (16–20)
Síndrome del intestino irritable	Agentes antidiarreicos entre otros (21)
Cáncer de colon	Quimioterápicos entre otros (22)
Diverticulitis	Antibióticos y aminosalicilatos entre otros (23)
Enfermedades infecciosas del colon	Antivirales y antibióticos entre otros (24,25)
Colitis isquémica	Antibióticos entre otros (26)
Colitis microscópica	Corticoides y agentes antidiarreicos entre otros (27,28)

En conclusión, las enfermedades del colon abarcan un amplio espectro de condiciones que requieren una evaluación cuidadosa y un enfoque de manejo multidisciplinario. Los avances continuos en la comprensión de la fisiopatología del colon están mejorando las estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento de estas enfermedades.

Aunque existen variedad de fármacos para el tratamiento o mitigación de los síntomas de las enfermedades colónicas, muchos de ellos poseen efectos adversos no deseados cuando se administran a nivel sistémico. Por ello, el desarrollo de sistemas de liberación colónica de fármacos ha suscitado un gran interés. Estos sistemas tienen el objetivo de liberar el principio activo específicamente en el lugar de acción, consiguiendo de esta forma aumentar el efecto farmacológico a nivel local reduciendo, a su vez, la exposición sistémica y, por tanto, la aparición de efectos adversos (29–33).

2 SISTEMAS DE LIBERACIÓN COLÓNICA DE FÁRMACOS

Los sistemas de liberación colónica de fármacos son una tecnología emergente ya que son herramientas prometedoras para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino, como la colitis ulcerosa, la enfermedad de Crohn, el cáncer de colon y la amebiasis, tanto por administración sistémica como tópica.

Se destaca la importancia de la vía oral para la administración de fármacos, siendo el colon un sitio potencial para la liberación de medicamentos, especialmente para tratar enfermedades del colon, aunque también para el tratamiento de determinadas enfermedades sistémicas al proporcionar el colon un ambiente favorable que ofrece ventajas terapéuticas.

El objetivo principal de los sistemas de liberación colónica de fármacos es la entrega precisa y controlada de medicamentos al colon, aprovechando sus características fisiológicas y bioquímicas únicas de éste. Esto asegura un tratamiento directo en el sitio de la enfermedad, permite una menor dosificación de principio activo y reduce los efectos secundarios (32–35).

A continuación, se enumeran las principales características y ventajas de los sistemas de liberación colónica de fármacos.

- Target específico: En el tratamiento de enfermedades colónicas como la colitis ulcerosa, el cáncer colorrectal y la enfermedad de Crohn, los sistemas de liberación colónica de fármacos ayudan a mejorar la eficacia de los tratamientos al conseguir mayores concentraciones de principio activo en el lugar de acción. Esto también ayuda a minimizar los efectos secundarios, al reducir la exposición sistémica al principio activo.
- Entorno favorable para péptidos y proteínas: El colon ofrece un entorno más amigable para los péptidos y proteínas en comparación con el tracto gastrointestinal superior, lo cual es beneficioso para su estabilidad y eficacia y puede favorecer la biodisponibilidad de estos tras su administración oral (36,37).
- Minimización del metabolismo de primer paso de esteroides: Los sistemas de liberación colónica de fármacos permiten evitar en gran medida el metabolismo de primer paso de los esteroides, mejorando su biodisponibilidad (34,38).
- Prevención de la irritación gástrica: Al evitar, tras la administración oral, una liberación significativa de principio activo en el tracto intestinal superior. De esta forma, los sistemas de liberación colónica de fármacos previenen la irritación gástrica que podrían causar algunos medicamentos, como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs).
- Liberación retardada de fármacos: Los sistemas de liberación colónica de fármacos también pueden ser utilizados para la liberación retardada de fármacos en el tratamiento de afecciones como la angina, el asma y la artritis reumatoide (34).

Existen varios métodos para diseñar sistemas de liberación colónica de fármacos, cada uno con sus propias ventajas y desventajas. Los métodos más comunes incluyen:

- Síntesis de profármacos: El objetivo es sintetizar un compuesto inactivo a través de enlaces no degradables por el cuerpo humano. Una vez los profármacos alcanzan el colon, la presencia de enzimas específicas provenientes de la microflora colónica, consiguen romper estos enlaces liberando el fármaco con actividad. Hay varios métodos descritos para la síntesis de profármacos para su liberación en el colon: conjugaciones a través de enlaces azoicos, glicosídicos, o glucurónicos entre otros (38,39).
- Recubrimientos con polímeros sensibles al pH: Utiliza polímeros sensibles al pH para revestir formas de dosificación de forma que liberan el fármaco únicamente en el pH más alto del colon (40).
- Formulación de hidrogeles sensibles al pH: Emplea hidrogeles que se hinchan en el ambiente de pH elevado del colon, liberando el fármaco.
- Uso de polímeros bioadhesivos: Utiliza polímeros bioadhesivos que se adhieren a la membrana mucosa del colon, mejorando la retención y la liberación localizada del fármaco.
- Uso de sistemas basados en polisacáridos: Estos sistemas utilizan polisacáridos que son degradados por la microflora colónica, lo que permite la liberación del fármaco en el colon (41–45).
- Sistemas basados en tiempo: El uso de sistemas de liberación pulsátil que presentan un retraso predeterminado antes de liberar rápidamente el fármaco en el colon, teniendo en cuenta el tiempo de tránsito gastrointestinal (46).
- Sistemas de liberación osmótica: Sistemas que, a través del uso de membranas semipermeables, utilizan la presión osmótica generada dentro de un dispositivo para liberar el fármaco a través de un orificio en el colon (47).

El desarrollo de sistemas de liberación colónica de fármacos no está exento de una serie de desafíos, entre los que se pueden destacar:

- Dificultad para acceder al colon: El colon es una región del tracto gastrointestinal que es relativamente difícil de alcanzar en comparación con otras partes del sistema digestivo.
- Variabilidad en el tiempo de tránsito a través del tracto gastrointestinal: El tiempo de tránsito a través del colon es altamente variable y puede verse

influenciado por numerosos factores, como la dieta, el estrés, las condiciones de la enfermedad y los medicamentos. Estas diferencias podrían afectar a la eficacia de los sistemas de liberación.

- Requisitos de solubilidad del fármaco: El contenido de fluido en el colon es más bajo y viscoso que en el tracto gastrointestinal superior, lo que podría ser un factor limitante para la absorción de fármacos poco solubles.
- Superficie menor y uniones estrechas en el colon: La menor área superficial y la mayor densidad de las uniones estrechas en el colon comparado con otras regiones del tracto gastrointestinal podrían restringir el transporte de fármacos a través de la mucosa hacia la circulación sistémica.
- Interacción con la microbiota: La variabilidad en la composición de la microbiota colónica puede influir en la efectividad del sistema de liberación basados en este principio.

Como se ha descrito anteriormente, la liberación colónica de fármacos está emergiendo como una estrategia prometedora en el tratamiento de enfermedades locales y sistémicas. La investigación continua en el campo se centra en mejorar la precisión de la liberación, aumentar la estabilidad de los fármacos y explorar nuevas aplicaciones terapéuticas. Con el avance de la tecnología y una mejor comprensión de la fisiología del colon y la microbiota, se espera que estos sistemas ofrezcan soluciones innovadoras y más eficientes para el tratamiento de diversas enfermedades. En la actualidad, los sistemas de liberación colónica de fármacos se están investigando para una variedad de aplicaciones clínicas, incluyendo:

- Enfermedades inflamatorias intestinales: Los sistemas de liberación colónica de fármacos se utilizan para el tratamiento de la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. Estos sistemas de liberación pueden liberar fármacos de manera efectiva directamente en el sitio de inflamación en el colon.
- Cáncer de colon: Los sistemas de liberación colónica de fármacos se utilizan para la administración de fármacos quimioterapéuticos para el cáncer de colon buscando también una liberación localizada.
- Amebiasis: Esta es una infección parasitaria que afecta principalmente al intestino grueso, y los sistemas de liberación colónica de fármacos pueden ser útiles para entregar fármacos directamente al colon para tratar esta enfermedad.

- Diversas enfermedades intestinales: Incluyendo diarrea y condiciones asociadas con la inflamación intestinal y el daño a la mucosa.
- Otras enfermedades: Los sistemas de liberación colónica de fármacos se están investigando para el tratamiento de una variedad de otras enfermedades para las que se necesita una absorción sistémica de los fármacos administrados. Entre ellas se encuentran enfermedades como la diabetes, la osteoporosis, la angina de pecho, el asma, la artritis reumatoide o la obesidad.

3 HIDROGELES PARA LIBERACIÓN DE FÁRMACOS

Los hidrogeles, dentro del campo de la tecnología farmacéutica y la ingeniería biomédica, representan un avance significativo como sistemas de liberación de fármacos. Los hidrogeles. son redes poliméricas tridimensionales e hidrofílicas que tienen la capacidad de absorber y retener grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Estas redes están compuestas de homopolímeros o copolímeros y son insolubles debido a la presencia de enlaces cruzados químicos o físicos, como entrelazamientos. Los hidrogeles son notablemente compatibles con el agua, permitiendo que se hinchen en medios acuosos. Además, su alta concentración de agua y consistencia suave los hace parecidos a los tejidos biológicos naturales, contribuyendo a su biocompatibilidad (48).

Los hidrogeles poseen unas características únicas para ser utilizados en la modulación de la liberación de fármacos:

- Alta capacidad de hidratación e hinchamiento: Los hidrogeles tienen una estructura de red tridimensional que les permite absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Pueden hincharse en respuesta a varios estímulos ambientales y fisiológicos como el pH, la temperatura y la fuerza iónica, lo que es esencial para su uso en sistemas de liberación de fármacos sensibles a estímulos.
- Biocompatibilidad: Su alta concentración de agua y su consistencia suave similar a los tejidos naturales les confieren una excelente biocompatibilidad, lo que es fundamental para aplicaciones biomédicas.
- Sensibilidad a estímulos ambientales: Los hidrogeles pueden ser diseñados para responder a cambios específicos en su entorno, como

variaciones en la temperatura, el pH y otros factores, lo que permite una liberación controlada y específica de fármacos.

- Diversidad en la composición y estructura: Existe una amplia variedad en la composición de los hidrogeles, incluyendo diferencias en los grupos laterales (neutros o iónicos) y en la estructura física de las redes (amorfas, semicristalinas, etc.), lo que permite una gran versatilidad en su diseño y funcionalidad.
- Propiedades mecánicas ajustables: Los hidrogeles pueden ser diseñados con diferentes grados de resistencia y elasticidad, lo cual es crucial para mantener su integridad estructural en diversas aplicaciones farmacéuticas.
- Diseño de liberación controlada de fármacos: La estructura de los hidrogeles, incluyendo el tamaño de malla y la densidad de entrecruzamiento, puede ser ajustada para controlar la liberación de fármacos, lo que es fundamental para el diseño de sistemas de liberación de fármacos efectivos.

Estas características hacen que los hidrogeles sean altamente funcionales y adaptables para una amplia gama de aplicaciones, especialmente en el campo de la administración controlada de fármacos al poder ajustar las formulaciones para que respondan a condiciones específicas del cuerpo.

En la actualidad, las aplicaciones de los hidrogeles en la liberación de fármacos son muy variadas. Entre sus usos principales se encuentran los siguientes.

- Sistemas de liberación controlada de fármacos: Los hidrogeles son ideales para el diseño de formulaciones que requieren la liberación sostenida o controlada de medicamentos. Tienen la capacidad de controlar la velocidad y el lugar de liberación del fármaco, lo cual es especialmente útil en tratamientos que requieren dosis precisas y liberación sostenida, reduciendo la frecuencia de administración y mejorando la adherencia al tratamiento.
- Sistemas de liberación de fármacos sensibles a estímulos: Como se ha descrito anteriormente, algunos hidrogeles pueden responder a cambios en el ambiente como el pH, la temperatura y la fuerza iónica, lo que permite la creación de sistemas de liberación que se activan o modifican en respuesta a condiciones específicas del cuerpo o del entorno.
- Liberación de fármacos en sitios específicos: Por su capacidad para hincharse y adherirse a tejidos específicos, los hidrogeles se utilizan para

dirigir fármacos a lugares concretos dentro del cuerpo, como el estómago, intestino delgado, colon y la cavidad oral. En forma de parches o geles, pueden ser aplicados sobre la piel o membranas mucosas, liberando el fármaco de manera controlada a través de la epidermis.

- Aplicaciones en diversas rutas de administración: Su biocompatibilidad convierte a los hidrogeles en compuestos versátiles, ya que pueden emplearse para la administración de fármacos por multitud de vías oral, rectal, ocular, vaginal, epidérmica y subcutánea.
- Liberación de péptidos y proteínas: Los hidrogeles protegen fármacos sensibles de la degradación enzimática, asegurando su entrega efectiva al sitio de acción. Su uso es significativo en la liberación de grandes moléculas como péptidos y proteínas, que son difíciles de administrar eficazmente mediante métodos convencionales.
- Sistemas de liberación localizada: Los hidrogeles pueden usarse para la liberación localizada de fármacos en tratamientos de enfermedades específicas, como enfermedades periodontales, afecciones orales u oculares. Se utilizan en la formulación de lentes de contacto medicados y gotas oculares para la liberación sostenida de fármacos en el tratamiento de afecciones oculares.
- Aplicaciones biomédicas diversas: Además de su uso en la liberación de fármacos, los hidrogeles tienen aplicaciones en áreas como biosensores, materiales para contactos y como componentes en preparaciones de proteínas o enzimas conjugadas.

Estos usos reflejan la versatilidad y eficacia de los hidrogeles en el campo farmacéutico, particularmente en la creación de sistemas avanzados de liberación de fármacos.

La investigación en el campo de los hidrogeles continúa explorando nuevas síntesis y modificaciones químicas para mejorar su funcionalidad y eficacia. El desarrollo de hidrogeles inteligentes, que pueden cambiar sus propiedades en respuesta a estímulos específicos, abre nuevas posibilidades para terapias personalizadas y precisas.

En conclusión, los hidrogeles son sistemas de liberación de fármacos que ofrecen numerosas ventajas, incluyendo la capacidad de liberación controlada, alta biocompatibilidad y sensibilidad a estímulos ambientales. Representan una herramienta prometedora en la mejora de la eficacia y seguridad de los tratamientos farmacológicos, con un potencial considerable para innovaciones

futuras en el campo de la medicina y la farmacia. Su desarrollo y aplicación continúan siendo un área de investigación activa y de gran interés en la búsqueda de soluciones terapéuticas avanzadas.

4 GOMAS NATURALES

Las gomas naturales son polisacáridos de origen natural que se extraen de diversas fuentes. Se caracterizan por su capacidad para formar geles y soluciones viscosas cuando se disuelven en agua. Esta propiedad les confiere un valor único en múltiples aplicaciones, lo que las convierte en un componente significativo con diversas aplicaciones industriales, incluyendo el sector farmacéutico. Las gomas naturales son excipientes ampliamente utilizados tanto en formas de dosificación convencionales como en otras más novedosas. Destaca el interés creciente en los polímeros de origen natural en el mundo farmacéutico y la conformidad con su uso en formulaciones. En años recientes, ha habido un desarrollo significativo en productos naturales para diversos propósitos. Las gomas naturales tienen ventajas sobre las sintéticas, ya que son químicamente inertes, no tóxicas, menos costosas, biodegradables y ampliamente disponibles. Además, pueden ser modificadas de diversas maneras para obtener materiales a medida para sistemas de administración de medicamentos (49,50).

Goswami S. y Naik S. (49), clasifican las gomas naturales en función de los distintos factores descritos a continuación.

- Según la carga:
    - Polisacáridos aniónicos: Incluyen ácido algínico, pectina, goma xantana, ácido hialurónico, sulfato de condroitina, goma arábiga, goma karaya y goma tragacanto.
    - Polisacáridos catiónicos: Como el quitosano y la goma guar catiónica.
    - Polisacáridos no iónicos: Como el almidón, dextrinas y goma guar.
    - Polisacáridos anfotéricos: Como carboximetilquitosano.
    - Polisacáridos hidrofóbicos: Como la cetil hidroxietilcelulosa.
- Según la fuente:
    - Origen marino/algas (algas marinas): Incluyen agar, carragenanos, ácido algínico y laminarina.

    - Origen vegetal: Exudados de arbustos/árboles como goma arábiga, goma ghatti, goma karaya, goma tragacanto, gomas de Khaya y Albizia; gomas de semillas como goma guar y goma garrofina; extractos como pectina y goma de alerce; y gomas de tubérculos y raíces como almidón de patata.
    - Origen animal: Como quitina y quitosano, sulfato de condroitina y ácido hialurónico.
    - Origen microbiano (bacteriano y fúngico): Como la goma xantana, dextrina, curdian, pullulano, emulsan, glicano de levadura, esquizofílan, lentinan, krestin y scleroglucan.
    - Gomas preparadas: Como gomas biosintéticas, almidón y sus derivados, y derivados de celulosa.
- Según la forma:
    - Lineal: Como los alginatos, amilosa, celulosa y pectinas.
    - Reticulada: Con ramificaciones cortas como la goma xantana, xilano, galactomananos; y ramificaciones sobre ramificaciones como amilopectina, goma arábiga y tragacanto.
- Según las unidades monoméricas en la estructura química:
    - Homoglucanos: Como la amilosa, arabinanas y celulosa.
    - Diheteroglucanos: Como los alginatos, carragenanos y galactomananos.
    - Tri-heteroglucanos: Como los arabinoxilanos, gellan y la goma xantana.
    - Tetra-heteroglucanos: Como goma arábiga y goma de semilla de psyllium.
    - Penta-heteroglucanos: Como goma ghatti y tragacanto.

Esta clasificación destaca la diversidad y complejidad de las gomas naturales, así como su amplio rango de aplicaciones en diversas industrias, entre las que se incluye la farmacéutica.

Las características principales de las gomas naturales que las hacen interesantes para su uso en sistemas de liberación de fármacos, son las siguientes:

- Biocompatibilidad y baja toxicidad: Las gomas naturales son biocompatibles y tienen una baja toxicidad, lo que las hace adecuadas para su uso en aplicaciones farmacéuticas. Estas características aseguran que no causarán daño o reacciones adversas cuando se utilicen en sistemas de administración de medicamentos.

- Propiedades hidrofílicas y formación de geles: Son hidrofílicas y forman dispersiones con agua, lo que aumenta la viscosidad de la fase continua. Esto permite que las partículas sólidas se suspendan de manera efectiva para asegurar una dosis uniforme. Cuando entran en contacto con agua, se hidratan y forman un gel, lo que permite un control de la liberación del fármaco a través de un mecanismo de difusión, sosteniendo la liberación del medicamento durante un período prolongado.
- Posibilidad de modificación química: Pueden ser modificadas químicamente para crear materiales a medida para sistemas de liberación de medicamentos. Esta capacidad de modificación permite ajustar las propiedades de las gomas naturales para satisfacer necesidades específicas en la formulación de fármacos y mejorar la eficacia de la liberación del medicamento.
- Disponibilidad y coste: Las gomas naturales son generalmente menos costosas y más disponibles que sus contrapartes sintéticas. Esta accesibilidad y asequibilidad las hacen atractivas para su uso en una variedad de aplicaciones farmacéuticas, especialmente en lugares donde el acceso a excipientes sintéticos puede ser limitado o prohibitivo en términos de coste.

En contraste con otros polímeros de origen sintético, es importante destacar las ventajas de las gomas naturales, como su biodegradabilidad, biocompatibilidad, no toxicidad, bajo costo, procesamiento respetuoso con el medio ambiente, disponibilidad local y mejor tolerancia y aceptación por parte del paciente. Estas características hacen que las gomas naturales sean candidatos potentes para su uso en una variedad de formulaciones farmacéuticas, especialmente en sistemas novedosos de liberación de fármacos. Así, tienen diversas aplicaciones en la industria farmacéutica entre las que se incluyen:

- Excipientes farmacéuticos: Las gomas naturales son utilizadas como excipientes en diversas formulaciones farmacéuticas. Se utilizan como laxantes, agentes gelificantes en supositorios, disgregantes de comprimidos, aglutinantes en comprimidos, agentes espesantes, emulsionantes, y agentes de liberación sostenida.
- Microencapsulación: Las gomas naturales se aplican en la microencapsulación de partículas de fármacos para sostener la liberación del medicamento. Gomas como la de Acacia nilotica delile, Acacia senegal

wild y amizo han sido estudiadas por sus propiedades microencapsulantes utilizando la técnica de spray-drying.

- Agente gelificante: Las gomas tienen la capacidad de formar geles, ya sea solas o en combinación con otros agentes. Esto es resultado de numerosas asociaciones intermoleculares e intramoleculares para producir una red tridimensional en la que se atrapan las moléculas de agua.
- Aplicaciones variadas en farmacéutica: Se utilizan como agentes suspensorios, emulsionantes, agentes gelificantes en supositorios, lubricantes quirúrgicos, disgregantes de comprimidos, medios para cultivos bacterianos, laxantes, aglutinantes en comprimidos, agentes espesantes, emulsionantes, agentes laxantes y agentes de liberación sostenida.

Estas aplicaciones destacan la versatilidad y la importancia de las gomas naturales en el desarrollo y la formulación de productos farmacéuticos modernos.

En resumen, las gomas naturales son materiales poliméricos biodegradables prometedores y han sido objeto de numerosos estudios en campos como la tecnología alimentaria y farmacéutica, en el que desempeñan un papel vital en la debido a sus propiedades únicas de gelificación, viscosidad y biocompatibilidad. Su aplicación en la formulación de medicamentos mejora la eficacia, estabilidad y aceptabilidad de los fármacos, lo que contribuye significativamente al avance de la tecnología farmacéutica. La continua investigación y desarrollo en este campo prometen ampliar aún más su utilidad en el diseño de nuevos y más eficientes sistemas de liberación de medicamentos.

4.1 Goma xantana

La goma xantana, es un polisacárido natural de alto peso molecular predominantemente compuesto de glucosa, manosa y ácido glucurónico. Con una estructura química caracterizada por unidades repetidas de cinco azúcares y una configuración similar a la celulosa. Su estructura incluye una cadena principal de celobiosa y cadenas laterales de un trisacárido compuesto por D-manosa, ácido D-glucurónico y D-manosa. Alrededor de la mitad de las unidades terminales de D-manosa contienen un residuo de ácido pirúvico. La goma xantana es única en su capacidad para formar soluciones viscosas en agua, a

pesar de ser insoluble en solventes orgánicos. Esta propiedad es atribuible a sus grupos aniónicos de ácido glucurónico y pirúvico, lo que la hace eficaz como agente espesante y estabilizador (51,52).

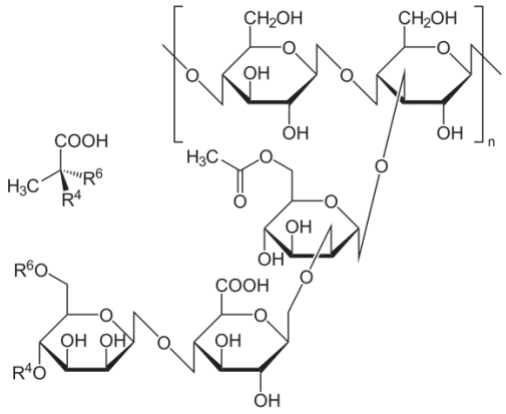


Figura 2 - Estructura molecular de la goma xantana.

Descubierto en la década de 1950, la goma xantana es el polisacárido microbiano más importante comercialmente. Fue aprobado por la FDA en 1969 como un polímero no tóxico y seguro, lo que permitió su uso en muchos productos alimenticios. La producción industrial de xantana comenzó en Estados Unidos en la década de 1960 y, desde 2005, China se ha convertido en uno de los mayores productores (52).

La producción de goma xantana se realiza mediante un proceso de fermentación controlada utilizando la bacteria *Xanthomonas campestris*. Este proceso garantiza la obtención de un producto de alta calidad, que luego se recupera, seca y empaca para su distribución. A pesar de su origen biológico, la goma xantana es considerada segura para su uso, con estudios indicando una baja toxicidad y riesgo de irritación, aunque puede actuar como laxante en dosis elevadas. La goma xantana es un polvo fino, típicamente de color crema o blanco, que forma soluciones altamente viscosas al disolverse en agua. Esta viscosidad es un aspecto crítico de su funcionalidad, especialmente en aplicaciones industriales donde se requiere controlar la textura y la fluidez de los productos. Además, es un material notablemente estable, manteniendo su integridad en un amplio rango de condiciones de (pH 2-12) y a temperaturas de hasta 100°C, y mostrando un comportamiento pseudoplástico que le permite recuperar su viscosidad después de aplicar estrés mecánico. El peso molecular promedio de las cadenas de

xantana puede variar desde 1,3 × 10^6 hasta 20 × 10^6 mol/g, dependiendo de las condiciones de biosíntesis y la asociación intercadena. La goma xantana se comporta como un polianión a pH > 4,5 debido a la desprotonación de los residuos de O-acetilo y piruvilo. Las cadenas de xantana en solución acuosa pueden adoptar una conformación helicoidal o en forma de bobinas, dependiendo de la temperatura y la fuerza iónica (51–54).

En la industria alimentaria, la goma xantana se utiliza ampliamente debido a su eficiencia como espesante y estabilizador de emulsiones. Mejora la estabilidad coloidal de las emulsiones y se usa en productos como aderezos para ensaladas, salsas, rellenos de panadería y productos horneados sin gluten. También se encuentra en formulaciones cosméticas como pastas dentales, lociones y champús. En el ámbito farmacéutico, la goma xantana se ha hecho indispensable debido a su capacidad para mejorar la textura y estabilidad de las formulaciones orales y tópicas. Se utiliza como agente de suspensión y estabilizador de emulsiones, y ha encontrado aplicaciones innovadoras en la creación de hidrogeles para la liberación controlada de fármacos y en vacunas como adyuvante. La goma xantana también se utiliza en formulaciones que requieren una propiedad mucoadhesiva, como los geles para la administración de fármacos oculares, bucales, transdérmicos y vaginales. Su inclusión en farmacopeas importantes como la USP-NF y la PhEur subraya su relevancia y estandarización en la industria (51,52,54).

Regulatoriamente, la goma xantana está bien establecida y aceptada globalmente. Está aprobada para uso en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, evidenciando su versatilidad y la confianza en su seguridad y eficacia.

En resumen, la goma xantana es un polisacárido multifuncional que desempeña un papel crucial en diversas industrias, destacándose por su capacidad única para modificar la textura y estabilidad de una amplia gama de productos. Su producción controlada, seguridad comprobada y amplia aceptación regulatoria subrayan su importancia como un ingrediente clave en muchas formulaciones modernas. La goma xantana es un excipiente versátil y ampliamente utilizado y, por ello, se espera que la goma xantana siga siendo un excipiente importante en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria.

4.2 Goma Garrofina

La goma garrofina, también conocida como goma de algarrobo o goma de Ceratonia, es un producto natural obtenido del endospermo de las semillas del algarrobo (*Ceratonia siliqua*), una planta leguminosa típica de ambientes semiáridos y muy abundante en la región mediterránea. Esta goma se caracteriza por ser un polisacárido de alto peso molecular compuesto principalmente por galactomananos, que son cadenas de β-D-manosa con ramificaciones de α-D-galactosa combinadas a través de enlaces glucosídicos. Esta goma tiene un bajo contenido de galactosa en comparación con otros galactomananos disponibles comercialmente como la goma guar y la goma tara. Su peso molecular es aproximadamente de 310000, pero puede variar significativamente según la fuente de la semilla y el procedimiento de preparación (51,55–57).

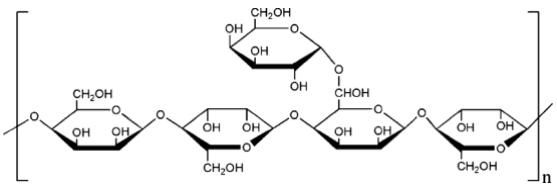


Figura 3 - Estructura molecular de la goma garrofina.

En cuanto a su procesamiento, la goma se obtiene moliendo el endospermo de las semillas de algarrobo, que se separa primero de la cáscara y el germen. Las semillas de algarrobo se tratan con ácido sulfúrico o mediante un proceso térmico para facilitar la eliminación de la cáscara. Posteriormente, el endospermo aislado se muele y se somete a diferentes procesos para eliminar proteínas e impurezas, obteniendo así la goma garrofina comercial (55–57).

La goma garrofina se presenta como un polvo de color verdoso-amarillento o blanco, dependiendo del método de aislamiento de la planta. Es inodoro y sin sabor en forma de polvo seco, pero adquiere un sabor leguminoso cuando se hierve en agua. En cuanto a sus propiedades fisicoquímicas, la goma garrofina tiene baja solubilidad en la mayoría de los disolventes orgánicos, es parcialmente soluble en agua fría y requiere calentamiento a temperaturas superiores a 85°C para alcanzar su máxima solubilidad. Es dispersable en agua caliente, formando una disolución que puede convertirse en gel con la adición de pequeñas

cantidades de borato de sodio. En agua fría, se hidrata muy lenta e incompletamente debido a su contenido generalmente más bajo de galactosa. Sus propiedades incluyen un pH de 5,3 en solución acuosa al 1%. La goma garrofina debe almacenarse en un recipiente bien cerrado en un lugar fresco y seco, y no debe perder más del 15% de su peso al secarse. El calentamiento por encima de 80°C puede resultar en la despolimerización oxidativo-reductiva de la cadena de galactomanano, reduciendo así su viscosidad (51,55).

Presenta un comportamiento reológico no newtoniano en soluciones acuosas, siendo menos viscosa que otros galactomananos como el guar y la tara. La tasa de hidratación de la goma garrofina comercial varía según la granulometría y el contenido de goma. Además, la goma no forma gel bajo condiciones normales, pero puede formar geles débiles mediante tratamiento de congelación-descongelación o en presencia de una gran cantidad de sacarosa (55).

En la industria alimentaria, la goma garrofina se utiliza como agente espesante y estabilizante debido a su capacidad para gestionar la fase acuosa en productos alimenticios. Se emplea en la fabricación de películas o recubrimientos comestibles, que mejoran la vida útil de frutas, verduras y productos cárnicos. También se utiliza en bebidas, productos de panadería, pastas, productos lácteos congelados y yogures bajos en grasa para mejorar la textura y la estabilidad. Su propiedad como fibra soluble viscosa la hace beneficiosa para la regulación del azúcar en sangre y los niveles de insulina, siendo útil en la prevención y tratamiento de la obesidad y la diabetes (58). En la industria farmacéutica, la goma garrofina se utiliza como excipiente de liberación controlada en comprimidos, así como un agente de recubrimiento, emulsionante, gelificante, viscosizante, agente de suspensión, y como aglutinante y disgregante en comprimidos y cápsulas. Su biodegradabilidad, baja toxicidad y bajo costo contribuyen a su creciente utilización en varios campos. Además, se ha utilizado en la fabricación de sistemas de administración de fármacos, como en la liberación controlada de fármacos para el colon, en sistemas de administración ocular y tópica, y en la formación de scaffolds en ingeniería de tejidos. Además, se ha utilizado como una sustancia biológicamente activa para reducir el colesterol plasmático elevado (55–57).

Es generalmente considerada como un material no carcinogénico, no tóxico y no irritante. La goma garrofina también se utiliza ampliamente en productos alimenticios. La OMS no ha especificado una ingesta diaria total aceptable para ella, ya que la ingesta diaria total resultante de su uso a los niveles necesarios

para lograr el efecto deseado y de su fondo aceptable en los alimentos no se consideró un peligro para la salud. En términos de regulación, la goma garrofina está listada como GRAS, incluida en la Base de Datos de Ingredientes Inactivos de la FDA (para comprimidos orales y barras masticables), en medicamentos no parenterales autorizados en el Reino Unido, y aceptada para su uso en Europa como aditivo alimentario. También está incluida en la Base de Datos Canadiense de Ingredientes de Productos Naturales para la Salud. Ha sido utilizada terapéuticamente en formulaciones orales para controlar el vómito y la diarrea en adultos y niños, y se utiliza en formulaciones de liberación controlada aprobadas en Europa y Estados Unidos (51).

En resumen, la goma garrofina es un ingrediente versátil con amplias aplicaciones en las industrias alimentaria y farmacéutica, valorada por sus propiedades de espesamiento, estabilización, y como fibra soluble beneficiosa para la salud.

5 PRINCIPIOS ACTIVOS

5.1 Acetónido de triamcinolona

El acetónido de triamcinolona, de nombre químico (1S,2S,4R,8S,9S,11S,12R,13S)-12-fluoro-11-hydroxy-8-(2-hydroxyacetyl)-6,6,9,13-tetramethyl-5,7-dioxapentacyclo[10.8.0.$0^{2,9}$.$0^{4,8}$.$0^{13,18}$]icosa-14,17-dien-16-one es un polvo cristalino blanco o casi blanco. Muestra polimorfismo. Es prácticamente insoluble en agua y ligeramente soluble en alcohol deshidratado, cloroformo y en alcohol metílico. Debe ser protegido de la luz. Tiene un peso molecular de 434,5 g/mol y la estructura molecular que se muestra en la Figura 4 (59,60).

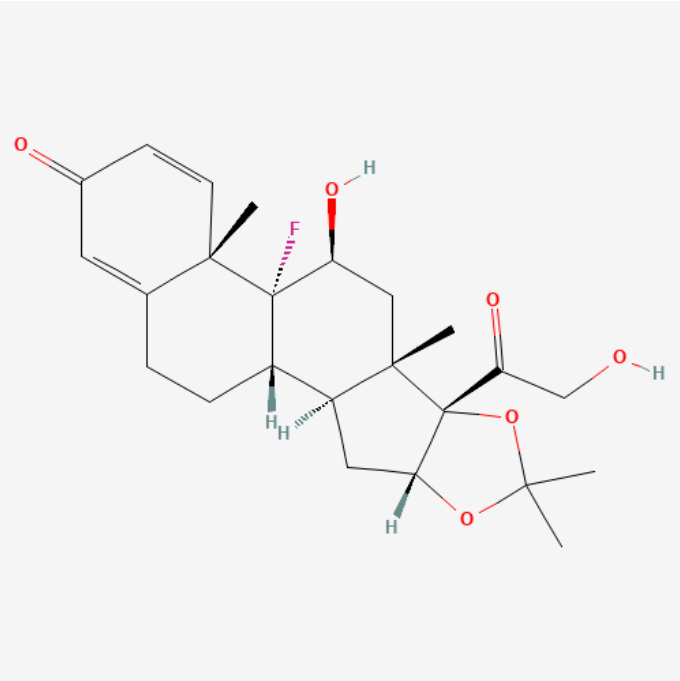


Figura 4 - Estructura molecular del acetónido de triamcinolona (60).

La triamcinolona es un corticoesteroide sintético con actividad principalmente glucocorticoide, un grupo de corticoesteroides que afectan el metabolismo de los carbohidratos (gluconeogénesis, deposición de glucógeno en el hígado, elevación del azúcar en sangre), inhiben la secreción de hormona adrenocorticotrópica y poseen una actividad antiinflamatoria pronunciada. También juegan un papel en el metabolismo de grasas y proteínas, el mantenimiento de la presión arterial, la alteración de la respuesta del tejido conectivo ante lesiones, la reducción en el número de linfocitos circulantes y el funcionamiento del sistema nervioso central.

4 mg de triamcinolona equivalen en actividad antiinflamatoria a aproximadamente 5 mg de prednisolona. Se utiliza, ya sea en forma del alcohol libre o en una de las formas esterificadas (de las que forma parte el acetónido). Está disponible en multitud de formas farmacéuticas, para ser administradas por todo tipo de vías desde la parenteral, intramuscular, intraarticular, a la vía tópica para el tratamiento de todo tipo de procesos inflamatorios y antialérgicos. Posee también actividad inmunosupresora. Estos agentes suprimen la función inmune mediante uno de varios mecanismos de acción. Los inmunosupresores citotóxicos clásicos actúan inhibiendo la síntesis de ADN. Otros pueden actuar a través de la activación de células T o inhibiendo la activación de células auxiliares. Mientras que la inmunosupresión se ha logrado en el pasado

principalmente para prevenir el rechazo de órganos trasplantados, están surgiendo nuevas aplicaciones que involucran la mediación de los efectos de las interleucinas y otros citocinas (59,60).

Los corticosteroides son generalmente bien absorbidos desde el tracto gastrointestinal y también cuando se administran localmente. Después de su uso tópico, especialmente bajo un vendaje oclusivo o en piel lesionada, o su uso rectal como enema, puede absorberse suficiente cantidad para producir efectos sistémicos; esto también puede ocurrir con otras vías de administración local como la inhalación. Las formas solubles en agua de los corticosteroides se administran por inyección intravenosa para una respuesta rápida, mientras que las formas liposolubles se usan para efectos más prolongados mediante inyección intramuscular. Los corticosteroides se distribuyen rápidamente por todos los tejidos del cuerpo, cruzan la placenta en diferentes grados y pueden distribuirse en pequeñas cantidades en la leche materna. En la circulación, la mayoría de los corticosteroides están ampliamente unidos a proteínas plasmáticas, principalmente a globulina y en menor medida a albúmina. La globulina de unión a corticosteroides (transcortina) tiene alta afinidad, pero baja capacidad de unión, mientras que la albúmina tiene baja afinidad pero gran capacidad de unión. Los corticosteroides sintéticos están menos unidos a proteínas que la hidrocortisona (cortisol) y tienden a tener vidas medias más largas. Los corticosteroides se metabolizan principalmente en el hígado, pero también en otros tejidos, y se excretan en la orina. El metabolismo más lento de los corticosteroides sintéticos, junto con su menor afinidad de unión a proteínas, puede explicar su mayor potencia en comparación con los corticosteroides naturales.

Específicamente la triamcinolona tiene una vida media en plasma de aproximadamente 2 a más de 5 horas, y se une a la albúmina plasmática en menor medida que la hidrocortisona. Los ésteres de triamcinolona, como el acetónido, diacetato y hexacetonida, se absorben muy lentamente en los sitios de inyección. También se señala que la triamcinolona atraviesa la placenta. Según Derendorf H. y colaboradores (61), el acetónido de triamcinolona administrado de diferentes maneras, muestra patrones farmacocinéticos distintos. Cuando se administra intravenosamente (2 mg), se elimina rápidamente con una velocidad de 37 L/h y una vida media de 2,0 horas, mientras que la biodisponibilidad oral promedio es del 23%. Por otro lado, la administración oral de 5 mg alcanza niveles máximos de 10,5 ng/mL en una hora.

Siguiendo el sistema de clasificación biofarmacéutico, el acetónido de triamcinolona se clasifica como un BCS clase IV, debido a su baja solubilidad y permeabilidad (62).

Los corticoesteroides pueden causar efectos adversos por su acción mineralocorticoide o glucocorticoide, o por inhibir el eje hipotalámico-pituitario-adrenal. Los efectos mineralocorticoides incluyen retención de sodio y agua, edema, hipertensión y excreción de potasio, pudiendo causar alcalosis hipopotasémica y, en algunos casos, insuficiencia cardíaca. Los efectos adversos glucocorticoides conducen a la movilización de calcio y fósforo, osteoporosis, fracturas espontáneas, atrofia muscular, hiperglucemia y aumento del apetito. También pueden afectar la reparación de tejidos y la función inmune, aumentando la susceptibilidad a infecciones. Otros efectos adversos incluyen irregularidades menstruales, cambios en la piel, alteraciones oculares, mentales y neurológicas, hipertensión intracraneal, pancreatitis aguda, necrosis avascular del hueso y aumento de la coagulabilidad sanguínea. Los corticoesteroides pueden causar síntomas de Cushing y, en altas dosis, colapso cardiovascular. Las reacciones de hipersensibilidad son posibles, especialmente con aplicación tópica. Los efectos adversos deben manejarse reduciendo o retirando gradualmente la dosis de corticoesteroides (59).

En general, las dosis altas de triamcinolona pueden tener una mayor tendencia a producir miopatía proximal y sus efectos en la retención de sodio y agua son menores que los de la prednisolona. Cuando se aplica tópicamente, especialmente en áreas grandes, en piel lesionada, bajo vendajes oclusivos o cuando se administra por vía intranasal, los corticoesteroides pueden absorberse en cantidades suficientes como para causar efectos sistémicos.

Sobre la hipersensibilidad, se han atribuido reacciones locales a las preparaciones tópicas de triamcinolona al contenido de etilendiamina. Sin embargo, también se han reportado casos de shock anafiláctico después de inyecciones intraarticulares o intramusculares de acetónido de triamcinolona.

Estos efectos destacan la importancia de un uso cuidadoso y monitoreado de este medicamento, especialmente en tratamientos prolongados o en dosis altas.

Con todo lo expuesto, el acetónido de triamcinolona se considera un candidato idóneo para ser formulado en sistemas de liberación colónica de fármacos, con el objetivo principal de limitar la absorción en las primeras etapas del tracto gastrointestinal y aumentar la dosis en el lugar de acción.

5.2 Ciprofloxacino

El ciprofloxacino, de nombre químico 1-cyclopropyl-6-fluoro-4-oxo-7-piperazin-1-ylquinoline-3-carboxylic acid, es un polvo cristalino casi blanco o amarillo pálido, ligeramente higroscópico. Prácticamente insoluble en agua; muy ligeramente soluble en alcohol deshidratado y en diclorometano. Almacenar en recipientes herméticos y proteger de la luz. Tiene un peso molecular de 331,34 g/mol y la estructura molecular que se muestra en la Figura 5 (59,63).

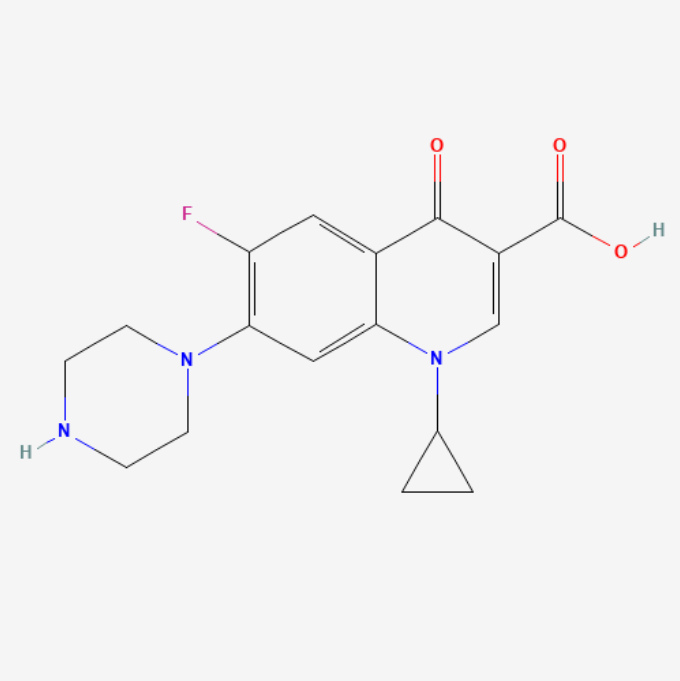


Figura 5 - Estructura molecular del ciprofloxacino (63).

El ciprofloxacino es una fluoroquinolona sintética de segunda generación que ha generado muchos antibióticos derivados. Está presente en productos para administración oral, intravenosa, intratimpánica, oftálmica y ótica para una serie de infecciones bacterianas. El primer producto que contenía ciprofloxacina fue aprobado por la FDA el 22 de octubre de 1987. Está considerado un compuesto antimicrobiano de amplio espectro. La acción bactericida del ciprofloxacino

resulta de la inhibición de las enzimas topoisomerasa II (DNA girasa) y topoisomerasa IV, que son necesarias para la replicación, transcripción, reparación, reparación de superenrollamiento de hebras y recombinación del ADN bacteriano (63).

El ciprofloxacino es un medicamento que se absorbe rápidamente y bien a través del tracto gastrointestinal. Tiene una biodisponibilidad oral de aproximadamente el 70 al 80%, alcanzando una concentración sérica máxima de alrededor de 2,4 microgramos/mL entre 1 y 2 horas después de una dosis oral de 500 mg. La absorción de los comprimidos de ciprofloxacino puede retrasarse por la presencia de alimentos, pero en general no se ve sustancialmente afectada. La unión a proteínas plasmáticas varía entre el 20 y el 40%.

El ciprofloxacino se distribuye ampliamente en el cuerpo y penetra bien en los tejidos. Aparece en el líquido cefalorraquídeo, aunque las concentraciones son solo aproximadamente el 10% de las presentes en el suero cuando las meninges no están inflamadas. Cruza la placenta y se distribuye en la leche materna, alcanzando concentraciones altas en la bilis. Su vida media de eliminación es de aproximadamente 3 a 5 horas, con evidencia de una acumulación modesta. Esta vida media puede prolongarse en casos de insuficiencia renal (se ha informado un valor de 8 horas en enfermedad renal terminal) y en cierta medida en ancianos. Sin embargo, generalmente no es necesario ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia renal a menos que sea grave; de manera similar, se pueden administrar las dosis habituales a personas mayores, excepto en aquellos con insuficiencia renal grave. Hay información limitada sobre el efecto de la insuficiencia hepática; la vida media de la ciprofloxacina se ha informado ligeramente prolongada en pacientes con cirrosis hepática grave. Con una o dos excepciones, la mayoría de los estudios han mostrado que la farmacocinética del ciprofloxacino no se ve afectada significativamente por la fibrosis quística.

El ciprofloxacino se elimina principalmente a través de la excreción urinaria, pero la depuración no renal puede representar alrededor de un tercio de la eliminación e incluye metabolismo hepático, excreción biliar y posiblemente secreción transluminal a través de la mucosa intestinal. Se han identificado al menos 4 metabolitos activos. El oxociprofloxacino parece ser el principal metabolito urinario y el sulfociprofloxacino el principal metabolito fecal. La excreción urinaria se realiza mediante secreción tubular activa, así como por filtración glomerular, y se reduce con probenecid; se completa prácticamente en 24 horas. Alrededor del 40 al 50% de una dosis oral se excreta sin cambios en la orina y

aproximadamente el 15% como metabolitos. Hasta el 70% de una dosis parenteral puede ser excretada sin cambios en 24 horas y el 10% como metabolitos. La excreción fecal en 5 días ha representado el 20 al 35% de una dosis oral y el 15% de una dosis intravenosa (59).

Siguiendo el sistema de clasificación biofarmacéutico, el ciprofloxacino se encuentra entre los BCS clase II y los III, ya que tiene un solubilidad alta por debajo de pH 6 pero baja por encima de este pH (64).

Según la bibliografía consultada (59), el ciprofloxacino es generalmente bien tolerado, pero como con otras fluoroquinolonas, puede provocar una variedad de efectos secundarios. Estos efectos adversos son similares a los de quinolonas anteriores como el ácido nalidíxico. Los efectos más comunes afectan al tracto gastrointestinal, al sistema nervioso central o a la piel.

Los trastornos gastrointestinales incluyen náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal y dispepsia, siendo los efectos adversos más frecuentes. Casos raros de colitis pseudomembranosa, pancreatitis y disfagia también han sido reportados. En relación con el sistema nervioso central, los efectos más comunes son dolores de cabeza, mareos, confusión, insomnio e inquietud. Otros incluyen temblores, somnolencia, pesadillas, trastornos visuales y sensoriales, alucinaciones, reacciones psicóticas, depresión, convulsiones e hipertensión intracraneal. La parestesia y la neuropatía periférica también se han informado. Respecto a la piel, además de erupciones y prurito, se han dado reacciones de hipersensibilidad como vasculitis, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson y necrólisis epidérmica tóxica. La fotosensibilidad puede ocurrir, aunque es más frecuente con otras fluoroquinolonas como la lomefloxacina y esparfloxacina. La ciprofloxacina y algunas otras quinolonas han sido asociadas con casos de anafilaxia.

Otros efectos adversos reportados con el ciprofloxacino incluyen cristaluria, aumentos transitorios en creatinina sérica o nitrógeno ureico en sangre y, raramente, insuficiencia renal aguda secundaria a nefritis intersticial. Se han observado valores elevados de enzimas hepáticas, ictericia y hepatitis, así como trastornos hematológicos como eosinofilia, leucopenia, trombocitopenia y, muy raramente, pancitopenia, anemia hemolítica o agranulocitosis. Los efectos adversos cardiovasculares incluyen taquicardia, hipotensión, edema, síncope, sofocos y sudoración. Algunas fluoroquinolonas pueden causar raramente

prolongación del intervalo QT y arritmias ventriculares, incluyendo torsade de pointes.

Como con otros antibacterianos, la superinfección con organismos poco susceptibles al ciprofloxacino es posible, incluyendo *Candida*, *Clostridium difficile* y *Streptococcus pneumoniae*.

Con todo lo expuesto, el ciprofloxacino se considera un buen candidato para ser formulado en sistemas de liberación colónica de fármacos, con el objetivo de tratar infecciones que afecten a la última porción de tracto gastrointestinal.

CAPÍTULO 1

Sinergia inducida por la presión de compresión en hidrogeles de goma xantana y goma garrofina. Efecto en la liberación de fármacos

CAPÍTULO 1

Sinergia inducida por la presión de compresión en hidrogeles de goma xantana y goma garrofina. Efecto en la liberación de fármacos

1 INTRODUCCIÓN

Los polisacáridos son componentes muy adecuados para la formulación de hidrogeles destinados a aplicaciones farmacéuticas y biomédicas, farmacéuticas o la industria alimentaria (45). La mayoría de los polisacáridos son no tóxicos, biocompatibles y biodegradables, y exhiben propiedades reológicas interesantes en medio acuoso. Ciertas combinaciones de polisacáridos muestran interacciones sinérgicas, lo que lleva a propiedades reológicas mejoradas, capacidades de hinchamiento y rendimiento en la liberación de fármacos. Uno de los primeros ejemplos de tales interacciones sinérgicas se describió para la goma xantana (XAG) y galactomananos en 1971 por Rocks (65), mostrando que la mezcla era capaz de formar geles reversibles a la temperatura. Desde entonces, esta interacción y las propiedades viscoelásticas inherentes de las mezclas han sido ampliamente estudiadas (66–71). XAG (Figura 6) es un polisacárido de alto peso molecular (10^6 Da) producido por bacterias patógenas de plantas del género *Xanthomonas spp.* (72).

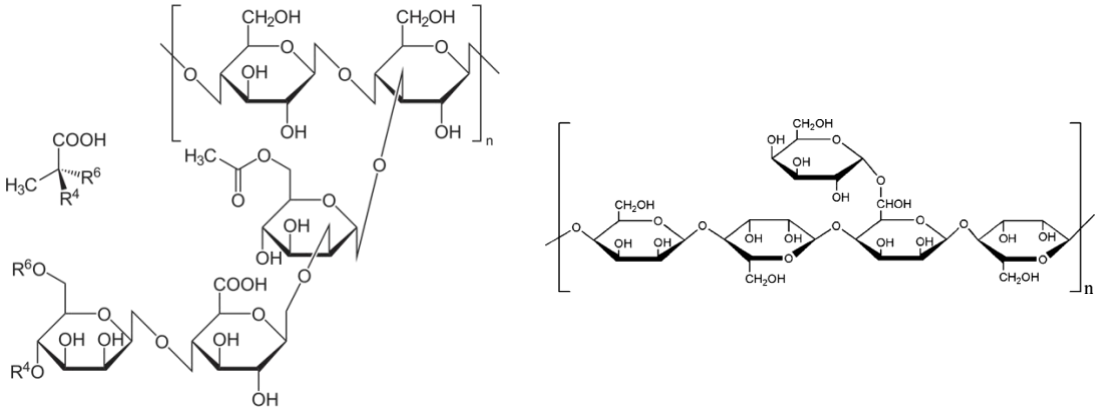


Figura 6 - Representación de las unidades repetidas de goma xantana (izquierda) y goma garrofina (derecha).

La cadena principal del polímero consta de cuatro unidades de β-D-glucosa unidas en las posiciones 1 y 4, por lo que su estructura es idéntica a la celulosa. Las cadenas laterales de tres sacáridos en unidades alternas de anhidroglucosa distinguen a la goma xantana de la celulosa. Cada cadena lateral comprende un residuo de ácido glucurónico entre dos unidades de manosa. La cadena de polímero rígido resultante puede existir en solución como una única, doble o triple hélice que interactúa con otras moléculas de XAG para formar redes complejas y unidas por fuerzas débiles. La estructura secundaria de XAG puede experimentar una sola transición de una configuración desorganizada y aleatoria, con las cadenas laterales orientadas lejos de la cadena principal a una estructura helicoidal rígida donde las cadenas laterales se pliegan a lo largo de la cadena principal. Esta transición depende de la temperatura y la fuerza iónica de la solución; la estructura organizada es estable a bajas temperaturas y alta fuerza iónica. Las asociaciones intra e intermoleculares de las cadenas de XAG hacen útil a este polisacárido como agente espesante y estabilizador en alimentos, cosméticos y productos farmacéuticos, entre otras aplicaciones industriales. A temperatura ambiente (estructura de doble hélice ordenada), la asociación intramolecular implica enlaces de hidrógeno entre el grupo hidroxilo en C-3 y el átomo de oxígeno hemiacetálico de los residuos D-glucosilo, y la interacción de van der Waals entre el grupo metilo del residuo acetilo y el átomo de oxígeno hemiacetálico del residuo D-glucosilo. Los cambios en la estructura secundaria inducidos por un aumento de temperatura (conformación desorganizada) conducen a una modificación significativa de las propiedades reológicas de las soluciones acuosas de xantana debido a la ruptura de la asociación

intramolecular y la formación de nuevas interacciones a través de los grupos metilo piruvato en las cadenas laterales.

Los galactomananos, como la goma garrofina (LBG, Figura 6), pueden interactuar sinérgicamente con las hélices de otros biopolímeros, particularmente XAG, potenciando su capacidad de gelificación (72–75). Debido a estas interacciones, se ha propuesto la combinación de estos polisacáridos para diferentes áreas, incluido el desarrollo de fármacos (74–76), biotecnología (77,78) o en la industria alimentaria (79,80).

LBG es un material vegetal que existe naturalmente obtenido de las semillas de *Ceratonia siliqua*, que consiste en unidades de D-galactosa y D-manosa combinadas a través de enlaces glucosídicos, con un peso molecular total de 310000 Da. Las mezclas binarias de xantana y galactomananos pueden gelificar bajo condiciones donde los componentes individuales no forman geles. La gelificación sinérgica ocurre por interacción directa entre los dos polímeros, en la cual la cadena lateral de D-manosa de la xantana y el grupo hidroxilo en C-2 de la cadena principal de los galactomananos están involucrados. Esto resulta en la inserción de la molécula de xantana en los segmentos no sustituidos de la cadena principal de galactomanano. El efecto y la intensidad de las interacciones sinérgicas dependen de factores relacionados con el tipo de xantana (relación de sustituyente acetilo en las cadenas (80)), galactomanano (grado de ramificación (81)) o la temperatura (conformación de la xantana (80)). Así, controlando la composición de los polisacáridos, su proporción relativa y la conformación de las cadenas de xantana mediante cambios de temperatura, se pueden modular las propiedades mecánicas de los geles (70).

En las industrias farmacéutica y alimentaria, los hidrogeles físicamente entrecruzados son particularmente atractivos ya que su preparación es relativamente fácil y evita el uso de agentes de reticulantes químicos. Algunas moléculas utilizadas para la reticulación química pueden ser tóxicas (82–85) o afectar a la integridad y estabilidad de las moléculas activas cargadas en hidrogeles. Por lo tanto, es necesario eliminar el exceso de estos reticulantes tóxicos que no han reaccionado, antes de la administración al organismo para evitar esta toxicidad. Entre los diversos métodos reportados en la literatura para obtener hidrogeles físicamente reticulados o entrecruzados, la compresión a alta presión es particularmente atractiva (86–88). Este método consiste en comprimir una mezcla de componentes utilizando alta presión para obtener xerogeles. La alta presión favorece las interacciones físicas entre los componentes durante la

etapa de compresión o posteriormente durante la absorción de agua e hinchamiento cuando los xerogeles están en contacto con un medio acuoso. Es posible hipotetizar que la compresión puede ser un método adecuado para promover el entrecruzamiento de sus cadenas, teniendo en cuenta la naturaleza de las interacciones entre XAG y LBG y así obtener hidrogeles con características sinérgicas. Las altas presiones pueden inducir cambios conformacionales en las moléculas y por lo tanto pueden afectar las interacciones entre los polisacáridos.

La alta consistencia, capacidad de absorción de agua y habilidad para controlar la liberación de fármacos de este tipo de hidrogeles tiene el potencial de ser utilizado para la administración local de fármacos a través de rutas vaginales, bucales o rectales, así como para el desarrollo de formas orales de liberación controlada y administración de fármacos específicos para el colon.

En este estudio, se evaluó cómo afecta la compresión al comportamiento reológico, las características estructurales y las interacciones en soluciones acuosas que contienen XAG, LBG y mezcla de ambas. Finalmente, también se estudió el efecto de la compresión sobre la liberación de un fármaco hidrofóbico (acetónido de triamcinolona) y uno hidrofílico (ciprofloxacino) a partir de los geles de polisacáridos.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Goma xantana (XAG) y goma garrofina (LBG) fueron proporcionadas por Inagarbe S.L. (Padrón, España). Ciprofloxacino base (CPX) fue adquirido a UQUIFA (Barcelona, España). El acetónido de triamcinolona (TA) fue adquirido de Roig Farma (Terrassa, España). Dihidrógeno fosfato de potasio y cloruro de sodio fueron comprados en Panreac Química S.A. (Barcelona, España); dihidrógeno fosfato de sodio dodecahidratado y cloruro de potasio de Merck (Darmstadt, Alemania). El agua ultrapura se obtuvo por ósmosis inversa (MilliQ, Millipore; Madrid, España).

2.2 Preparación de dispersiones de polisacáridos

Las dispersiones de XAG, LBG y sus mezclas (Tabla 2) a una concentración del 0,5% p/p fueron preparadas dispersándolas en agua a temperatura ambiente o en agua hirviendo. Las dispersiones se agitaron durante 24 horas.

Tabla 2 - Porcentaje de XAG y LBG en las mezclas de polisacáridos utilizadas para preparar dispersiones acuosas del 0,5% p/p.

	Proporción en las mezclas de polisacáridos (% p/p)						
XAG	100	75	60	50	40	25	0
LBG	0	25	40	50	60	75	100

2.3 Preparación de xerogeles

Los xerogeles de XAG, LBG y sus mezclas se obtuvieron comprimiendo 250 mg de polisacáridos en un molde de matriz IR equipado con un troquel de 12 mm de diámetro, aplicando una fuerza de 5 toneladas durante 5 minutos usando una prensa hidráulica Mega B-20 (Vizcaya, España). Los comprimidos obtenidos se pulverizaron en un mortero y las dispersiones de polisacáridos se prepararon a partir del polvo como se describió anteriormente. Las dispersiones de mezclas de XAG/LBG se prepararon partiendo de los polisacáridos comprimidos por separado (5M5T) o de las mezclas comprimidas juntas (M5M5T).

2.4 Espectroscopía infrarroja transformada de Fourier (FTIR)

Muestras de XAG, XAG comprimida, LBG, LBG comprimida y mezclas comprimidas LBG:XAG 50%-50% fueron escaneadas desde 400 hasta 4000 cm^{-1}, con una resolución de 4 cm^{-1} utilizando un FTIR GladiATRTM (Varian Pike Technologies).

2.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Las propiedades térmicas de XAG, XAG comprimida, LBG, LBG comprimida y mezclas comprimidas LBG:XAG 50%-50% se registraron utilizando un analizador TA Instruments® Q1000 SC/TGA/IR (TA Instruments, Newcastle, EE. UU.). Las muestras se estabilizaron a -50ºC y luego se calentaron hasta 40°C a una tasa de 10°C/min bajo atmósfera de nitrógeno.

2.6 Estudios reológicos

El comportamiento reológico de las dispersiones se caracterizó utilizando un reómetro AR1000-N (TA Instruments, Reino Unido) equipado con una placa Peltier y geometría de cono (6 cm de diámetro, 2 grados). Las pruebas oscilatorias se llevaron a cabo desde 0,05 rad/s hasta 50 rad/s a 0,1 Pa y 25ºC. Los módulos de almacenamiento (G') y pérdida (G'') también se registraron a una frecuencia angular constante de 1 rad/s y una fuerza de 0,1 Pa mientras la temperatura aumentaba de 20 a 80ºC a 3ºC/min. Las pruebas de fluencia y recuperación se realizaron aplicando 0,1 Pa durante 5 minutos y luego registrando la recuperación durante otros 5 minutos. Las pruebas de flujo se realizaron aplicando una rampa de esfuerzo de corte de 0,1 Pa hasta 10 Pa a 25ºC.

2.7 Pruebas de difusión de fármacos

Se prepararon dispersiones de XAG, LBG o sus mezclas al 0.5% p/v como se describió anteriormente, pero agregando acetónido de triamcinolona (20 μg/mL) o ciprofloxacino (50 μg/mL) al medio acuoso. Las dispersiones se almacenaron durante 24 horas antes de la prueba de difusión utilizando células verticales Franz-Chien. El compartimento donante con 1 mL de formulación se separó del compartimento receptor (relleno con 7 ml de solución salina fisiológica NaCl 0,9%) usando una membrana de diálisis de 12000 Da MWCO. El área de difusión fue de 0,7854 cm^2. En intervalos de tiempo preestablecidos, se tomaron muestras del medio receptor para la cuantificación del fármaco y el volumen se reemplazó con medio fresco. Todas las pruebas se realizaron por triplicado a 37ºC mientras

el compartimento receptor se agitaba a 100 rpm. Los coeficientes de difusión, D_{app}, se estimaron aplicando el modelo de Higuchi para sistemas semisólidos.

$$\frac{Q}{A} = 2C_0 \sqrt{\frac{D_{app}\, t}{\pi}} \qquad \text{Ec. (1)}$$

donde Q/A representa la cantidad de fármaco liberado por unidad de área en el tiempo t, y C_0 la concentración inicial del fármaco en el vehículo.

La microviscosidad de las dispersiones se calculó utilizando la ecuación de Stokes-Einstein:

$$D_0 \cdot \eta_0 = D \cdot \eta \qquad \text{Ec. (2)}$$

donde D_0 y η_0 son el coeficiente de difusión del fármaco y las viscosidades en ausencia de polisacáridos, y D y η el coeficiente de difusión del fármaco y la microviscosidad en la dispersión de polisacáridos, respectivamente.

2.8 Propiedades de hinchamiento de los xerogeles

Los xerogeles se obtuvieron por compresión directa de 500 mg de XAG, LBG y sus mezclas al 50% aplicando 5 toneladas durante 5 minutos. Los xerogeles se sumergieron en 250 ml de tampón ácido clorhídrico pH 1,2 y tampón fosfato pH 6,8 a 37 ± 0.5ºC. A las 2, 4, 6, 8, 10, 24, 30, 48 y 72 horas se retiraron los comprimidos del medio, el exceso de agua se secó cuidadosamente con papel y luego se registraron el diámetro, la altura y el peso. El grado de hinchamiento se calculó como la relación del volumen final al volumen inicial. La absorción de agua, expresada como gramos de tampón absorbidos por gramo de polisacárido seco, también se determinó. La prueba se realizó por triplicado.

Para identificar el mecanismo de hinchamiento, los datos de absorción de agua y grado de hinchamiento se ajustaron a un modelo de difusión Fickiana de moléculas de agua hacia los xerogeles utilizando la siguiente ecuación:

$$\frac{V_t}{V_0} = kt^{1/2} \text{ or } \frac{W_t}{W_0} = k't^{1/2} \qquad \text{Ec. (3)}$$

Donde V_t/V_0 y W_t/W_0 representan el grado de hinchamiento y la absorción de agua en diferentes tiempos t, y k y k', son constantes dependientes del coeficiente de difusión del agua en el xerogel.

Además, se investigó la evolución del hinchamiento, la difusión y el frente de erosión en ambos tampones con el tiempo. Para facilitar la detección de los diferentes frentes, se disolvió azul de metileno en los tampones. Los xerogeles se inmovilizaron entre dos láminas de vidrio de modo que el tampón solo penetrara a través de las capas laterales. La evolución de cada frente de las áreas se midió tomando fotografías en diferentes tiempos y analizando los frentes utilizando el software ImagePro Plus 6.0 (Media Cybernetic).

2.9 Ensayo de liberación

Se añadieron 5 mg de acetónido de triamcinolona o 100 mg de ciprofloxacino a los polisacáridos para obtener xerogeles como se describió anteriormente, manteniendo el peso final constante en 500 mg. Los ensayos de liberación se llevaron a cabo en un aparato de disolución USP 2 con palas (Prolabo, París, Francia) conectado mediante una bomba peristáltica (HP 89092A) a un espectrofotómetro de diodo array (HP 8452A; Palo Alto, EE. UU.). El medio de liberación fue 450 ml de tampón de ácido clorhídrico pH 1,2 durante las primeras dos horas, y luego el pH se incrementó a 6,8 con la adición de un pequeño volumen de tampón fosfato pH 8,0 y NaOH 2M. De esta manera, se simuló el tránsito a través del tracto gastrointestinal con un tiempo de vaciado gástrico de 2 horas y un tiempo de tránsito intestinal de 24 horas. El medio se mantuvo bajo agitación a 100 rpm y 37 ± 0.5ºC. Todos los experimentos se llevaron a cabo con seis replicados de cada formulación.

La cinética de liberación del fármaco se ajustó al modelo de Higuchi para formas cilíndricas delgadas:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^{1/2} \qquad \text{Ec. (4)}$$

donde M_t/M_∞ es la fracción de fármaco liberada en cada punto de tiempo t, y K representa la constante cinética de liberación de Higuchi.

2.10 Análisis estadístico

Los perfiles de liberación y de hinchamiento se ajustaron a las cinéticas más habituales y los resultados obtenidos para las diferentes formulaciones se compararon aplicando ANOVA multifactorial.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de FTIR y DSC

No se observaron cambios significativos en los espectros de FTIR ni en las curvas de DSC (Figura 7) de los polisacáridos después del proceso de compresión. De manera similar, la compresión de la mezcla de XAG y LBG tampoco mostró cambios significativos en comparación con los polisacáridos puros. El típico proceso de transición vítrea de los polisacáridos es evidente en las curvas de DSC con valores de temperatura de transición vítrea (Tg) de aproximadamente -10°C a -12°C, pero no se observaron cambios después de la compresión.

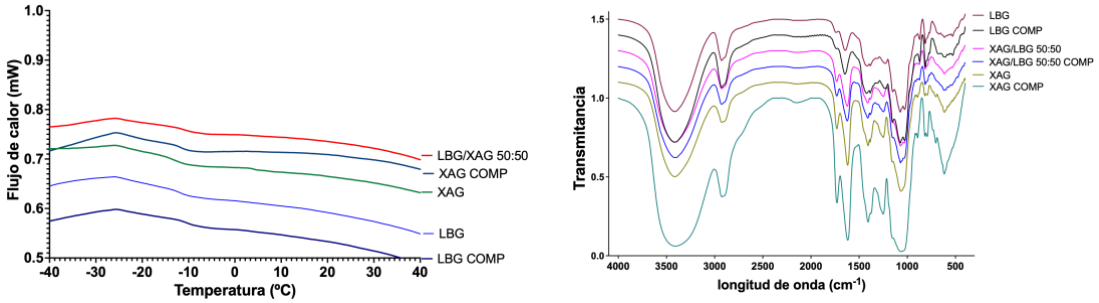


Figura 7 - Gráficos DSC y espectros de FTIR de XAG, LBG y su mezcla 50/50 antes y después de la compresión aplicando una fuerza de 5 toneladas durante 5 minutos en un molde de matriz IR equipado con un troquel de 12 mm de diámetro.

3.2 Propiedades reológicas

La dispersión acuosa de XAG sin comprimir mostró un perfil pseudoplástico de Bingham con un valor de esfuerzo de fluencia de 1,3 Pa (Figura 8). A valores bajos de tasa de cizallamiento (< 0,015 s^{-1}), se observa un ligero aumento en la viscosidad con la tasa de cizallamiento. Por encima del esfuerzo de fluencia, las dispersiones mostraron un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento en el que la viscosidad disminuye gradualmente con el aumento de la tasa de cizallamiento. Sin embargo, la dispersión acuosa de LBG tuvo una viscosidad notablemente más baja con un comportamiento típico de adelgazamiento por cizallamiento (no se observó valor de esfuerzo de fluencia). Por otro lado, todas las mezclas muestran un comportamiento pseudoplástico de Bingham con un esfuerzo de fluencia variable dependiendo de la composición de la mezcla. Solo se observaron algunas diferencias en la viscosidad a valores pequeños de tasa de cizallamiento entre las mezclas de XAG/LBG sin comprimir (Figura 8); los valores de viscosidad a altas tasas de cizallamiento fueron similares para todas las mezclas, mostrando una viscosidad más baja que XAG pero un comportamiento muy diferente al observado para la dispersión de LBG.

Las curvas de viscosidad a altas tasas de cizallamiento (después del esfuerzo de fluencia) se ajustaron al modelo de Ley de Potencia (relación de Ostwald de Waele), se calcularon la constante de ley de potencia *n* (índice de comportamiento del flujo) y el índice de consistencia *K*:

$$\eta = K\gamma^{n-1} \qquad \text{Ec. (5)}$$

donde η es la viscosidad aparente y γ la tasa de cizallamiento. La ecuación se ajusta adecuadamente a la viscosidad aparente después del esfuerzo de fluencia con valores de $R^2 > 0,99$ y MRSE < 0,01. Para mezclas no comprimidas, los valores del índice de comportamiento de flujo *n* fueron < 1, correspondientes a sistemas que adelgazan por cizallamiento (Figura 8). XAG y sus mezclas muestran una mayor desviación del comportamiento newtoniano que LBG, y los valores de *n*

estuvieron bien correlacionados con la proporción de XAG/LBG, de acuerdo con la regla logarítmica aditiva.

El índice de consistencia *K* (Figura 8) nos da una idea de la cohesión del fluido, de modo que cuanto mayor sea el valor de *K*, más viscosa será la dispersión. XAG muestra los valores más altos de *K* y LBG los más bajos. Curiosamente, todas las mezclas de XAG/LBG muestran valores de *K* similares independientemente de la proporción de XAG/LBG en la mezcla.

Las dispersiones obtenidas después de la compresión de LBG apenas modifican el comportamiento reológico. Sin embargo, se observó una disminución en la viscosidad de la dispersión de XAG pre-comprimida, acompañada de una reducción en el índice de consistencia (*K*) de 3,62 a 2,96 Pa. (test F $\alpha < 0,01$). Un comportamiento similar se detectó cuando las dispersiones de XAG se calentaron a temperaturas superiores a 45ºC (89). La viscosidad de las dispersiones de XAG depende de la estructura secundaria del polisacárido en solución. A bajas temperaturas, las cadenas laterales estaban orientadas lejos de la cadena principal, estableciendo interacciones intramoleculares que resultan en una conformación de hélice de cadena única ordenada y, a su vez, en dispersiones de alta viscosidad. Por encima de los 45ºC, se produce una ruptura de estas interacciones intramoleculares, permitiendo nuevas interacciones a través de los grupos metilo piruvato de las cadenas laterales y conduciendo a una estructura helicoidal rígida donde las cadenas laterales se pliegan a lo largo de la cadena principal. Esto resulta en una disminución de la viscosidad de la dispersión (70). De manera similar, el paso de pre-compresión puede haber causado cambios estructurales que persisten después de la dispersión en agua, lo que podría ser responsable de la menor viscosidad.

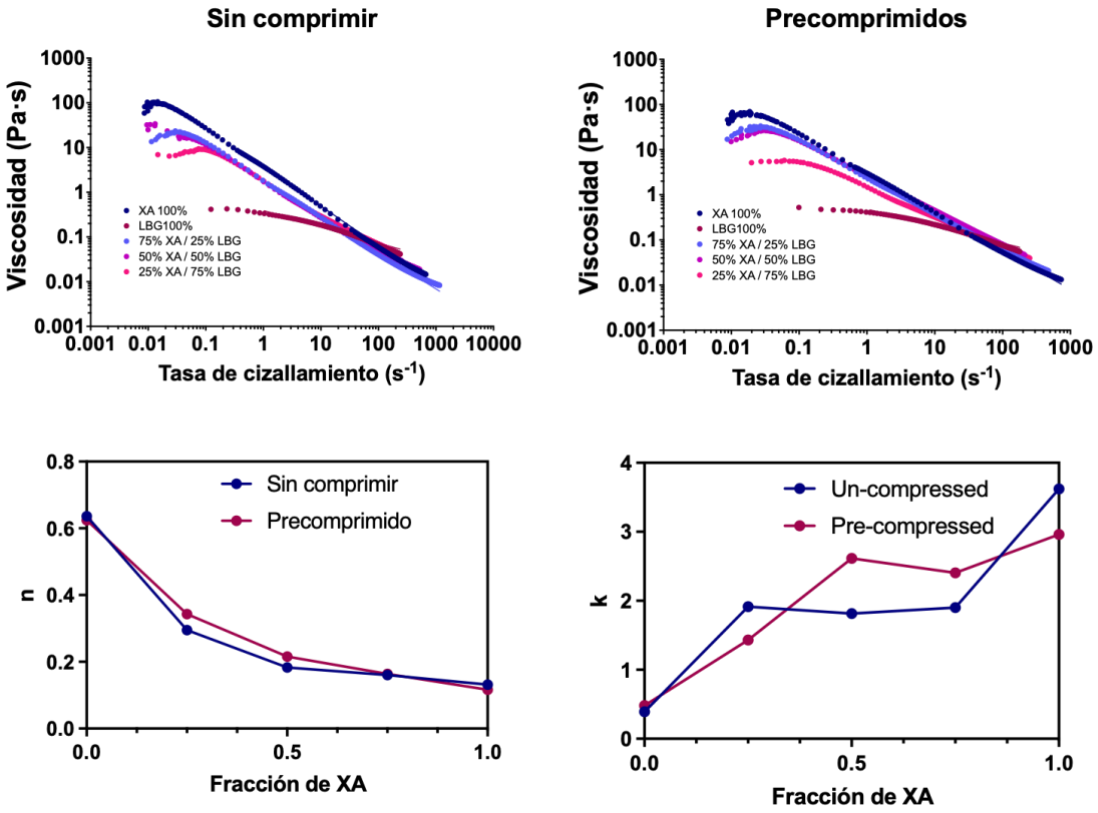


Figura 8 - Curvas de viscosidad versus tasa de cizallamiento para a) dispersiones de polisacáridos no comprimidas y b) comprimidas previamente, y relación y variación del c) índice de comportamiento de flujo "n" y d) el índice de consistencia "K" de las dispersiones de polisacáridos con la proporción XAG/LBG.

En el caso de las mezclas de XAG/LBG, se observó un aumento significativo en los valores de viscosidad, especialmente en aquellas que contenían un 50% y 75% de XAG, lo que sugiere cambios en la interacción entre los dos polisacáridos debido al efecto de la presión. Estos cambios en el comportamiento también se mostraron claramente en la Figura 8 si comparamos las curvas de cambio porcentual en la viscosidad versus el esfuerzo de cizallamiento de polisacáridos no comprimidos y comprimidos previamente, calculados utilizando la ecuación propuesta por Walker y Wells:

$$\%\ cambio\ viscosidad = \frac{viscosidad\ aparente - viscosidad\ media\ calculada}{viscosidad\ media\ calculada} x100 \qquad \text{Ec. (6)}$$

y la viscosidad media calculada ($\overline{\eta_i}$) se estimó utilizando la regla logarítmica aditiva.

$$\log \bar{\eta}_i = X_a \log \eta_a + X_b \log \eta_b \qquad \text{Ec. (7)}$$

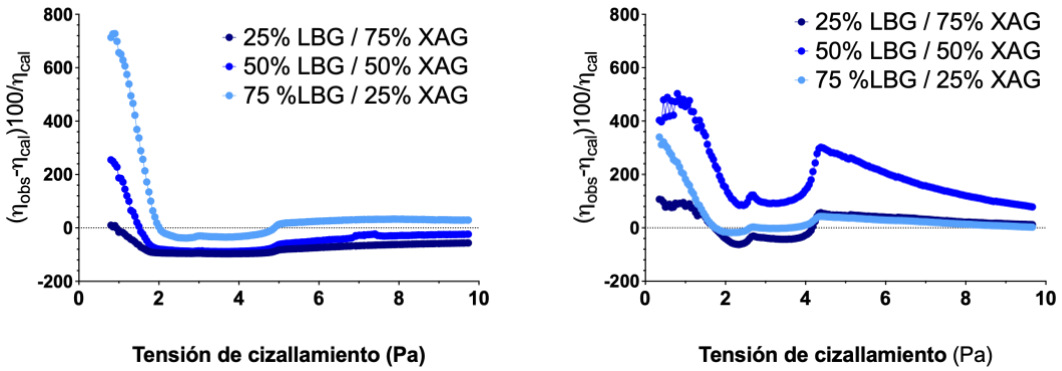


Figura 9 - Cambio porcentual en la viscosidad de las dispersiones de polisacáridos versus esfuerzo de cizallamiento a) muestras no comprimidas, b) muestras comprimidas previamente.

Como se puede ver en los gráficos de la Figura 9, hubo diferencias en el cambio porcentual en la viscosidad tanto en las mezclas no comprimidas como en las pre-comprimidas. En el caso de las mezclas no comprimidas, los cambios se observaron principalmente para valores más bajos de esfuerzo de cizallamiento (< 2). Sin embargo, después de la compresión de las mezclas de polisacáridos, este comportamiento se modificó significativamente, especialmente en las muestras XAG/LBG 50%/50%.

Se realizaron experimentos de reología oscilatoria para investigar los cambios con más detalle. Las pruebas de reología oscilatoria también evidenciaron marcadas diferencias entre las dispersiones de XAG y LBG. La dispersión de LBG sola, tenía valores de módulo de almacenamiento G' inferiores a los del módulo de pérdida G'' en todo el rango de frecuencias angulares evaluadas (Figura 10). Solo en la frecuencia más alta probada (50 rad/s) se observó una superposición de ambos módulos, indicando que los enredos entre las cadenas tienen una vida corta (1/50 = 0,02 s). Por el contrario, las dispersiones de XAG exhibieron valores de G' más altos que los de G'', sin importar la frecuencia angular, lo que sugiere que las cadenas de polímero forman una red tridimensional con uniones de larga duración (> 20 s). Una vez más, a medida que aumentaba el contenido de XAG, los gráficas reológicas de las mezclas cambiaron progresivamente del comportamiento viscoelástico mostrado por LBG al exhibido por XAG.

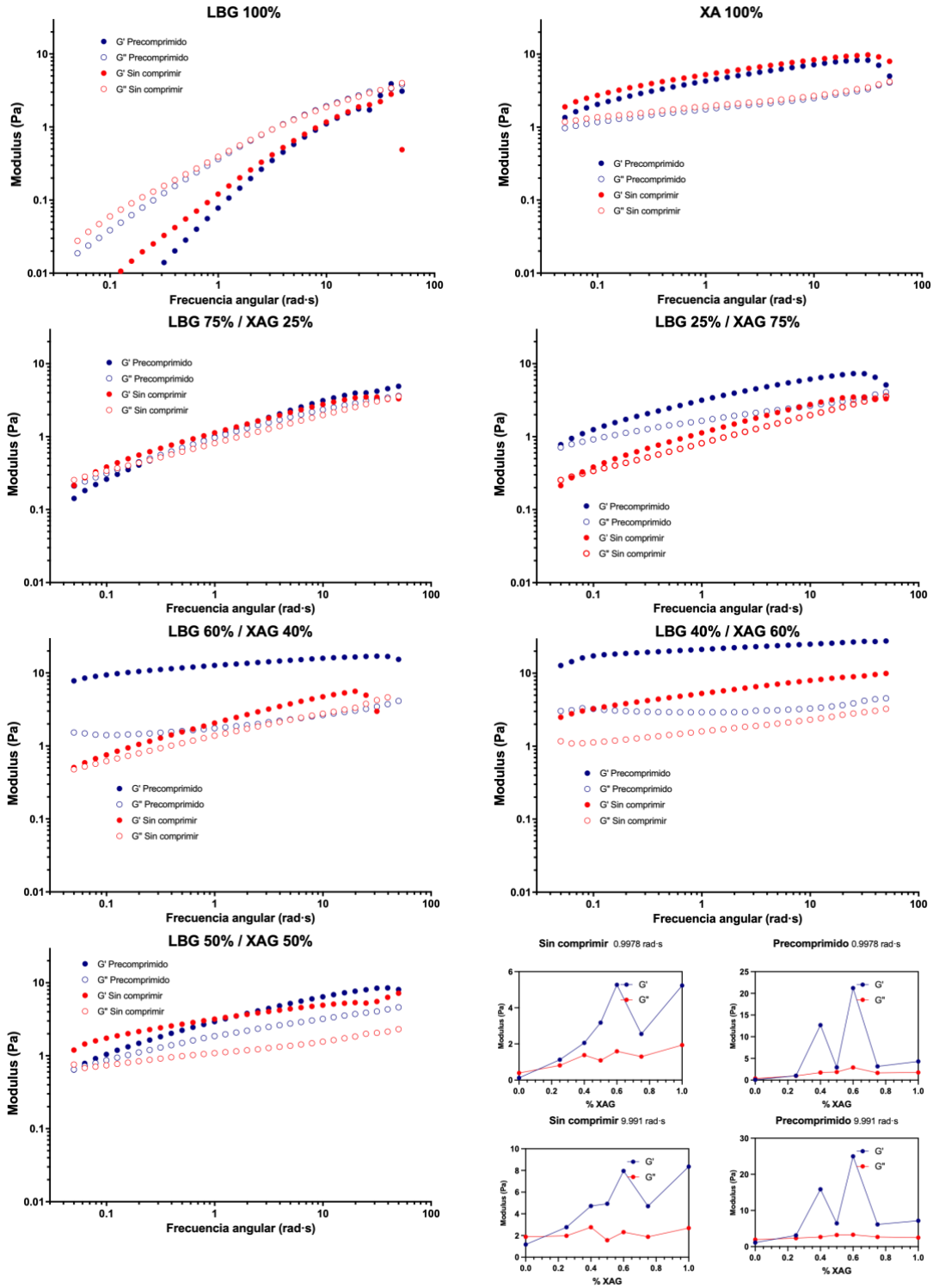


Figura 10 - Gráfico de reología oscilatoria para polisacáridos puros y sus mezclas, y evolución de los módulos de almacenamiento G′ y pérdida G″ en las mezclas.

La pre-compresión de XAG o LBG alteró significativamente el comportamiento reológico de las mezclas, conduciendo a un aumento considerable en los valores

de G' y G'' (Figura 9), obteniendo incluso resultados más altos que los registrados para la dispersión de xantana. Nuevamente, esto sugiere que los cambios en la conformación de los polisacáridos causados por la compresión a alta presión pueden promover interacciones intermoleculares entre ambas gomas, resultando en un efecto sinérgico sobre las propiedades viscoelásticas. Para probar si la compresión conjunta de ambos polisacáridos puede modificar este efecto sinérgico, se comprimieron mezclas de diferentes proporciones de XAG/LBG y se compararon las gráficas reológicas con las obtenidos con las mezclas de los polisacáridos comprimidos por separado (Figura 11).

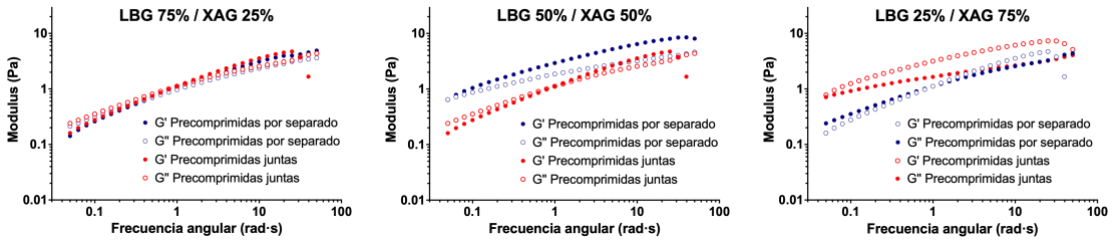


Figura 11 - Comparación de los módulos de almacenamiento G' y de pérdida G" entre mezclas no comprimidas y mezclas preparadas con polisacáridos pre-comprimidos por separado o juntos.

No se observaron diferencias significativas entre la dispersión preparada con los polisacáridos comprimidos juntos y la obtenida a partir de mezclas no comprimidas. Sin embargo, se obtuvieron valores más altos de ambos módulos con mezclas preparadas comprimiendo cada polisacárido individualmente. Los resultados sugieren cambios en el comportamiento reológico probablemente debido a cambios conformacionales en las cadenas de polisacáridos y no al establecimiento de nuevas interacciones intermoleculares entre los diferentes polisacáridos durante la etapa de compresión, especialmente en aquellas con un porcentaje más alto de XAG. Las dispersiones de mezclas pre-comprimidas se prepararon en agua fría y caliente (hirviendo) para obtener una comprensión más profunda del efecto de los cambios conformacionales y se registraron los módulos de almacenamiento y pérdida. Para analizar este comportamiento, se realizaron pruebas de fluencia y recuperación con las dispersiones de mezclas de XAG/LBG preparadas en agua fría y caliente, aplicando una fuerza constante de 0,1 Pa durante 5 minutos y calculando la capacidad de recuperación elástica (%) durante un tiempo de 5 minutos. Las pruebas de fluencia y recuperación caracterizan el comportamiento elástico de las muestras, y cuanto mayor sea la capacidad de recuperar el fluido, más importante será el componente elástico.

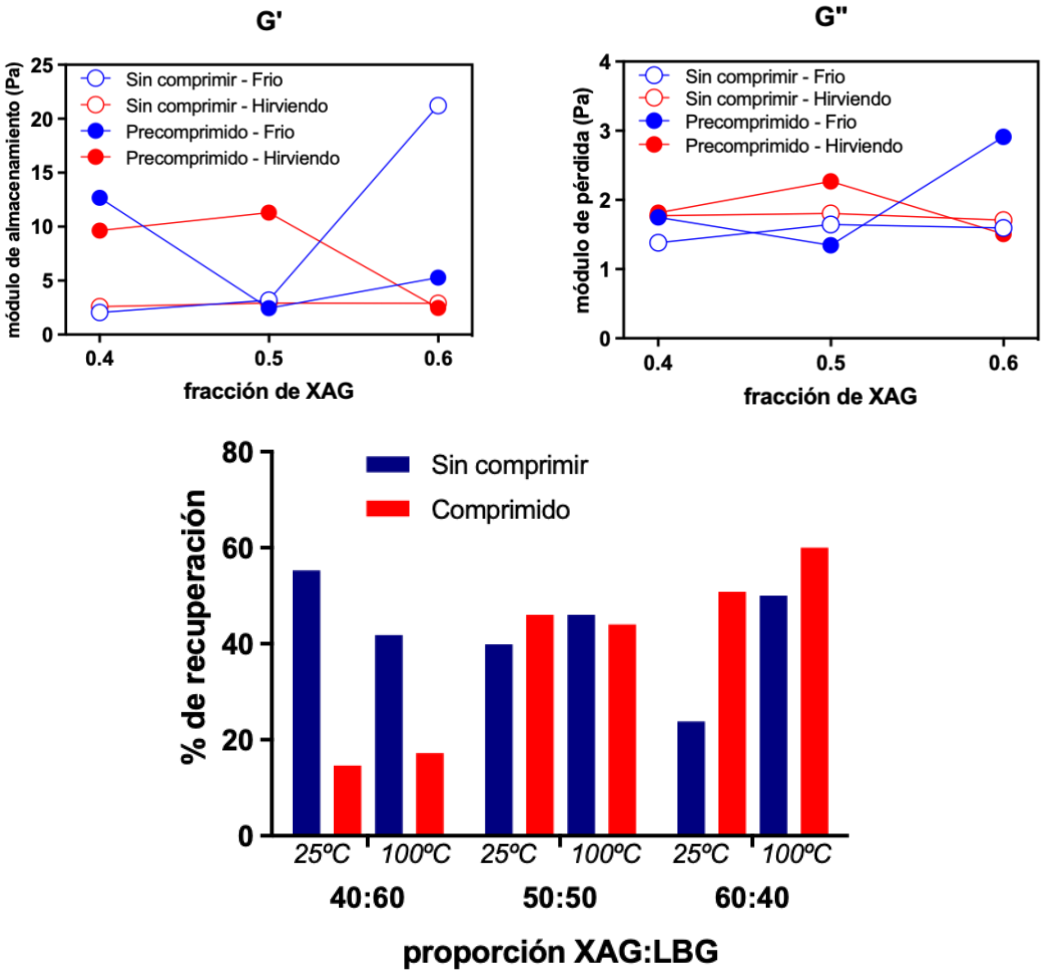


Figura 12 - Módulos de almacenamiento G' y de pérdida G" (frecuencia angular de 1 rad/s) y recuperación elástica de dispersiones de polisacáridos (0,5% p/p) preparadas con mezclas de goma con y sin etapa de compresión en agua fría e hirviendo.

Como se muestra en la Figura 12, se observó un aumento en la capacidad de recuperación elástica con la proporción 40:60 de XAG:LBG. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas entre las muestras preparadas utilizando agua hirviendo (100ºC), las cuales tienen una menor capacidad de recuperación en mezclas con proporciones más altas de XAG y una recuperación más alta para mezclas con más LBG. La etapa de pre-compresión reduce significativamente la capacidad de recuperación de las dispersiones preparadas con una alta proporción de XAG, de manera más pronunciada que el efecto de la temperatura. No obstante, la capacidad de recuperación se mantuvo e incluso aumentó en muestras con 50% o 60% de LBG. Estos resultados indican que los cambios estructurales en la cadena principal de la xantana producen un gel con

componentes elásticos más bajos, pero los cambios en LBG promueven la formación de geles más elásticos. Garcia-Ochoa y colaboradores (66,89,90) observaron cambios en la viscosidad y las interacciones XAG/LBG cuando la disolución de LBG se llevó a cabo a diferentes temperaturas. A bajas temperaturas, se disuelven principalmente las regiones de LBG con una alta relación galactosa/manosa. Sin embargo, a medida que aumenta la temperatura, se disuelven las cadenas de LBG que tienen un contenido más bajo en galactosa. Esta fracción de bajo contenido en galactosa tiene muchas regiones lisas que pueden establecer interacciones fuertes con las moléculas de XAG, especialmente cuando la proporción de LBG en las mezclas es alta. Los mayores valores en la capacidad de recuperación elástica de XAG/LBG 60:40 dispersos en agua caliente deben deberse a las fuertes interacciones entre los polisacáridos a esta temperatura, por lo que el aumento en la capacidad de recuperación elástica para mezclas precomprimidas sugiere que las altas presiones también promueven el establecimiento de interacciones XAG-LBG más fuertes.

3.3 Ensayos de difusión de fármacos

El corticosteroide sintético acetónido de triamcinolona (PM: 434,51 g/mol, prácticamente insoluble en agua a cualquier pH) fue seleccionado para evaluar el coeficiente de difusión en los hidrogeles y la microviscosidad de hidrogeles elaborados con mezclas de polisacáridos pre-comprimidos.

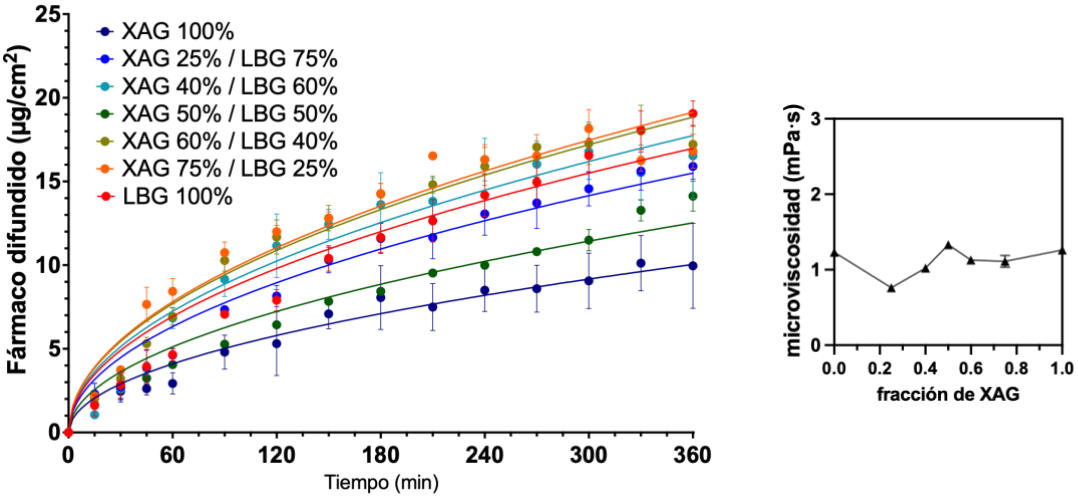


Figura 13 - Perfiles de difusión de acetónido de triamcinolona (izquierda) y evolución de la microviscosidad calculada a partir del coeficiente de difusión del acetónido de triamcinolona en geles versus la proporción de XAG en la mezcla.

La Figura 13 muestra los perfiles de difusión del acetónido de triamcinolona de las dispersiones acuosas de polisacáridos al 0,5% p/v. Se realizó un ANOVA unidireccional y prueba de comparación múltiple de Tukey del fármaco total permeado al final del experimento. Los resultados mostraron variaciones entre los hidrogeles de XAG y LBG (α < 0,01), exhibiendo un comportamiento intermedio cuando se combinan. No se observaron diferencias en la liberación entre las diferentes mezclas de XAG/LBG (α n.s.).

Tabla 3 - Valores del coeficiente de difusión de TA y TA total difundido a partir de dispersiones de polisacáridos al 0,5% p/v.

XAG/LBG	D (cm^2/s)	TA total difundido ($\mu g/cm^2$)
0/100	6,09 $x10^{-6}$	7,53± 2,02
25/75	3,78 $x10^{-6}$	12,49±0,61
40/60	5,02 $x10^{-6}$	12,98±1,3
50/50	6,55 $x10^{-6}$	11,09±0,70
60/40	5,57 $x10^{-6}$	13,52±0,91
75/25	5,50 $x10^{-6}$	13,20±0,82
100/0	6,24 $x10^{-6}$	14,97±0,60

La determinación de la microviscosidad de la dispersión de hidrogel de polisacárido al 0,5% p/v muestra que todas las mezclas tenían microviscosidades similares, en concordancia con los valores de difusión del fármaco. Estos valores eran solo ligeramente superiores a la viscosidad del agua a 37ºC (0,7191 mPa·s).

Se obtuvieron xerogeles de XAG, LBG y sus mezclas para evaluar el potencial de estas mezclas de hidrogeles para la liberación controlada de fármacos. Además, se caracterizaron sus propiedades de absorción de agua, hinchamiento y liberación de fármacos. Después de la compresión, los xerogeles tenían un aspecto blanco y brillante. Una vez sumergidos en el medio tamponado, los discos comenzaron a absorber líquido e hincharse, alcanzando el equilibrio en 24 horas. La Figura 14 muestra la evolución de la absorción de agua del hidrogel y la relación de hinchamiento versus tiempo.

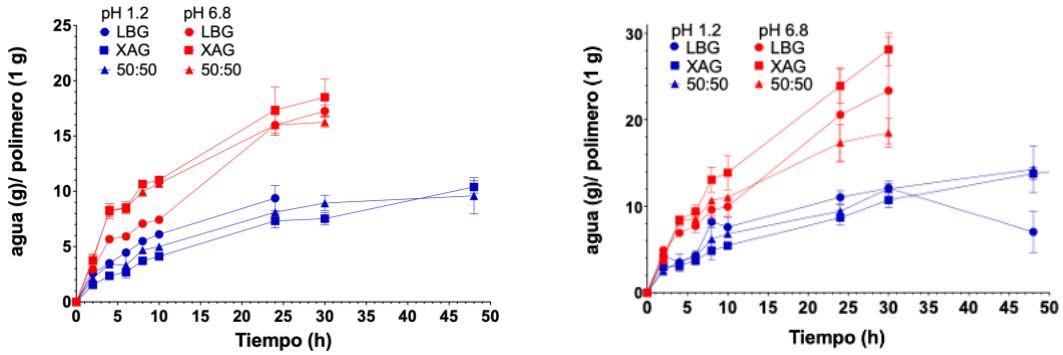


Figura 14 - Perfiles de absorción de agua y de hinchamiento (relaciones de volumen) de mezclas comprimidas de LBG y XAG en fluidos simulados gástricos e intestinales.

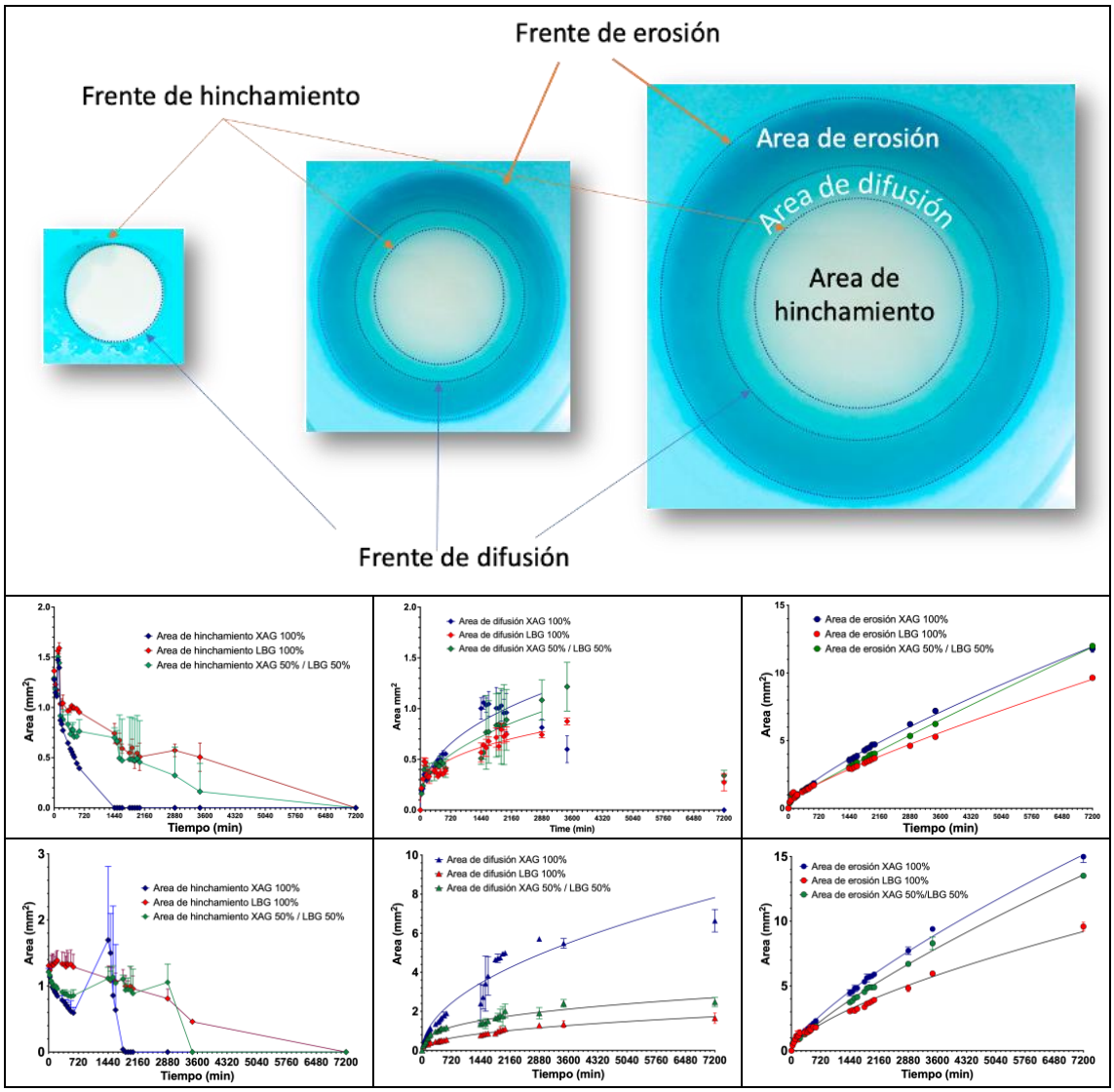


Figura 15 - Evolución de los frentes de difusión, erosión e hinchamiento (áreas) versus tiempo en fluidos simulados gástricos (pH 1.2) e intestinales (pH 6.8).

Como se puede observar en la Figura 15, un tiempo más prolongado en el medio tamponado causó que los discos se disolvieran/erosionaran. El hinchamiento fue notablemente mayor a pH 6,8 que a pH 1,2, como se esperaba debido al contenido de grupos ácidos en las cadenas de XAG. A pH 6,8, estos se ionizan y las cadenas se expanden. En el caso de los geles de LBG, el hinchamiento fue similar en ambos pH durante las primeras 10 horas, pero luego aumentó rápidamente a pH 6,8.

En todos los casos, la ecuación de Higuchi se ajustó bien para la absorción de agua, indicando que la difusión juega un papel principal en el proceso (Tabla 4).

Tabla 4 - Resultados del ajuste de la absorción de agua y el hinchamiento al modelo de difusión de agua Fickiano (ecuación 2).

		pH 1.2			pH 6.8		
		LBG	**XAG**	**50:50**	**LBG**	**XAG**	**50:50**
Agua absorbida	**k'**	1,937	1,536	1,486	3,299	3,47	3,055
	Std. Error	0,06612	0,04413	0,07477	0,1352	0,1399	0,1214
	R^2	0,9783*	0,9798	0,9405	0,9644*	0,9655	0,9664
V_t/V_0	**k**	2,28	1,987	2,127	4,339	5,292	3,47
	Std. Error	0,33	0,10	0,11	0,33	0,19	0,25
	R^2	0,8991	0,9910	0,9850	0,9763	0,9947	0,9745

**Tiempo < 24 hours*

La Figura 16 muestra los perfiles de liberación de CPX y TA de los xerogeles en fluido gástrico simulado pH 1,2 (2 h) y fluido intestinal pH 6,8. Aunque se observó una liberación sostenida en ambos medios, se registraron diferencias dependiendo del fármaco considerado. Los perfiles de liberación de CPX se ajustaron bien a las cinéticas de liberación por difusión (Ecuación 4), obteniendo valores de *K* de 25,73, 18,92 y 20,94 %/$hr^{1/2}$ en medios ácidos ($R^2 > 0,996$) y 24,02, 10,20 y 10,38 %/$hr^{1/2}$ ($R^2 > 0,99$) de los xerogeles de LBG, XAG y LBG:XAG 50:50. Los hidrogeles de LBG proporcionaron la misma tasa de liberación a ambos pH, pero los xerogeles de XAG y LBG:XAG 50:50 mostraron una tasa de liberación menor a pH 6,8. El CPX se protona y es altamente soluble en medios ácidos y básicos pero se convierte en un zwitterión a pH neutro. Las estructuras de zwitterión tienen poca solubilidad en agua, soluciones acuosas neutras y solventes polares como el etanol. Por lo tanto, la menor solubilidad, junto con la posibilidad de interacción del zwitterión con los grupos ácidos de XAG, puede explicar la disminución de la tasa de liberación a pH 6,8 y el cambio de las cinéticas de liberación a pseudo-orden cero, a pesar del alto hinchamiento de los xerogeles a este pH.

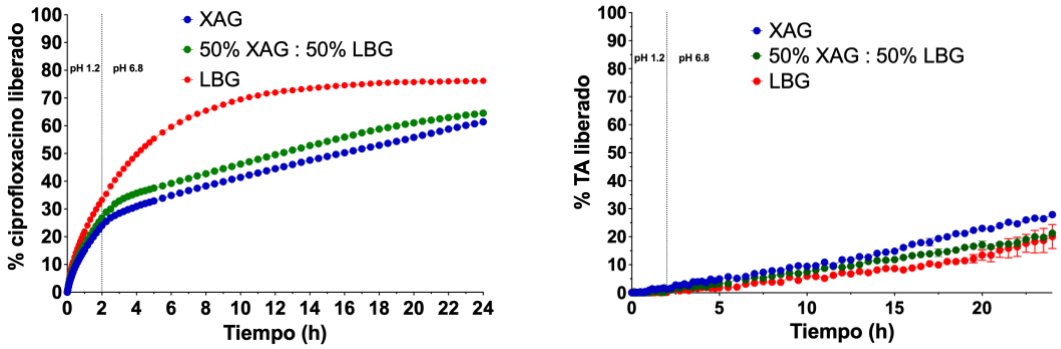


Figura 16 - Cinética de liberación de ciprofloxacino y acetónido de triamcinolona de hidrogeles de polisacárido obtenidos por compresión.

Los xerogeles que contienen acetónido de triamcinolona liberaron el fármaco muy lentamente, independientemente del pH y la composición del xerogel. Los perfiles de liberación mostraron cinéticas de orden pseudo-cero con un 20-25% liberado en 24 horas. La baja solubilidad del acetónido de triamcinolona en agua (17 μg/ml), podría ser la explicación del bajo coeficiente de difusión a través de los hidrogeles. Las enzimas producidas por la flora colónica anaerobia pueden biodegradar polisacáridos. El tiempo de tránsito gastrointestinal para una dosis farmacéutica monolítica es de 5-10 horas, dependiendo del estado de alimentación. Durante este tiempo, los hidrogeles liberaron entre un 2 y un 9% del fármaco inicialmente cargado; por lo tanto, un 91-98% puede llegar al colon. En esta zona, la actividad de la flora colónica anaerobia puede causar la desintegración del hidrogel hidratado, desencadenando la liberación del acetónido de triamcinolona restante. Por lo tanto, estos hidrogeles podrían ser adecuados para el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino grueso. Nuestro grupo está llevando a cabo más investigaciones para confirmar esta hipótesis.

4 CONCLUSIONES

El artículo describe un estudio sobre la viscosidad y el comportamiento reológico de las dispersiones de goma xantana y goma garrofina en agua. Se observó que la goma xantana tiene una mayor viscosidad y exhibe un comportamiento pseudoplástico de Bingham, mientras que la goma garrofina tiene una viscosidad menor y un comportamiento de adelgazamiento por cizalladura. Las mezclas de ambas gomas mostraron un comportamiento pseudoplástico de Bingham con

valores variables de esfuerzo de cizallamiento de rendimiento en función de la composición de la mezcla.

Se observó que la goma xantana y sus mezclas se desviaban más del comportamiento newtoniano que la goma garrofina, y los valores del índice de comportamiento de flujo (n) se correlacionaban con la proporción de goma xantana/goma garrofina en la mezcla. El índice de consistencia (K) mostró que la goma xantana producía la dispersión más viscosa mientras que la goma garrofina daba lugar a la menos viscosa. Sin embargo, todas las mezclas de goma xantana/goma garrofina mostraron valores de K similares, independientemente de la proporción de goma en la mezcla.

La pre-compresión de la goma xantana causó una disminución en la viscosidad de las dispersiones, mientras que la compresión de la goma garrofina apenas alteró su comportamiento reológico. Además, se observó que la temperatura también afectaba la viscosidad de las dispersiones de la goma xantana.

Las pruebas de reología oscilatoria revelaron diferencias marcadas entre las dispersiones de goma xantana y las de goma garrofina. La goma xantana formó una red tridimensional con enlaces duraderos, mientras que la goma garrofina exhibió una red de corta duración. La pre-compresión de las gomas alteró significativamente el comportamiento reológico de las mezclas, aumentando los valores de los módulos de almacenamiento y pérdida.

Las pruebas de difusión de fármacos revelaron que los geles de las mezclas de gomas xantana y garrofina no mostraron diferencias significativas en los perfiles de difusión, y las microviscosidades de las dispersiones de hidrogel eran similares a las del agua. En cuanto a la liberación de fármacos, se observó una liberación sostenida en los geles obtenidos, y las tasas de liberación variaron en función del pH y del fármaco utilizado. La goma garrofina mostró la misma tasa de liberación en ambos niveles de pH, mientras que la goma xantana y las mezclas de goma xantana y goma garrofina mostraron una tasa de liberación más baja a pH 6,8. La liberación del fármaco acetónido de triamcinolona fue lenta e independiente del pH y de la composición del xerogel.

En resumen, el estudio concluye que la pre-compresión de gomas y la temperatura pueden ser parámetros efectivos para la modulación de las propiedades de hinchamiento y liberación de hidrogel.

CAPÍTULO 2

Caracterización de la bioadhesión de los hidrogeles basados en polisacáridos

CAPÍTULO 2

Caracterización de la bioadhesión de los hidrogeles basados en polisacáridos

1 INTRODUCCIÓN

Una de las propiedades que presentan los hidrogeles, es su capacidad de integrarse e interaccionar con el medio en el que se administra (91). Su estructura tridimensional, así como el alto contenido en agua le aportan unas propiedades mecánicas y superficiales ideales para establecer interacciones con mucosas y otros tejidos. Por otra parte, los polisacáridos son macromoléculas de origen natural formadas por la unión de numerosos monosacáridos a través de enlaces glucosídicos, y su capacidad para adherirse a superficies biológicas es una propiedad clave que puede aprovecharse para diversas aplicaciones (43). Las propiedades bioadhesivas de los polisacáridos se refieren a su capacidad para unirse a tejidos biológicos, tales como la mucosas bucal, vaginal u ocular, las membranas mucosas gastrointestinales, la piel, entre otros. Esta propiedad se deriva principalmente de la interacción entre los grupos funcionales presentes en los polisacáridos y las moléculas específicas en las superficies celulares y de sus propiedades mecánica y capacidad de integrar los medios biológicos. Entre los polisacáridos conocidos por su destacada bioadhesión se encuentran el quitosano, el ácido hialurónico, la pectina y los mucopolisacáridos entre otros (92).

La capacidad bioadhesiva de los polisacáridos es muy interesante a la hora de la formulación de sistemas de administración de fármacos, sobre todo en mucosas. Estos polímeros naturales pueden actuar como vehículos que se adhieren a las superficies biológicas, prolongando así el tiempo de contacto con los tejidos y mejorando así la liberación y absorción de los fármacos.

También se están utilizando polisacáridos en el ámbito de la ingeniería de tejidos aprovechando su capacidad bioadhesiva para mejorar la adhesión celular a scaffolds o matrices utilizadas en la regeneración de tejidos (93). La interacción específica entre los polisacáridos y las células facilita la adhesión celular, promoviendo así la proliferación y diferenciación celular en entornos tridimensionales.

Existen diversos aspectos relacionados con la elaboración de los hidrogeles y con los medios biológicos que pueden ser relevantes a la hora de la bioadhesión de estos materiales. Por una parte, las propiedades mecánicas de las uniones bioadhesivas son fundamentales a la hora de establecer enlaces bioadhesivos resistentes. De acuerdo con las teorías de la bioadhesión, la difusión del material de la formulación en la mucosa o en la membrana biológica y el establecimiento de uniones bioadhesivas con él es fundamental para garantizar la bioadhesión (88,94). Los hidrogeles semisólidos menos densos y más fluidos pueden difundir fácilmente en la mucosa, sin embargo, su baja resistencia mecánica puede favorecer el fallo o fractura de la unión bioadhesiva en la superficie, que tiene lugar directamente en el hidrogel. Por otra parte, si se trata de hidrogeles muy rígidos y reticulados, no es posible la difusión del material en las mucosas por lo que no se forman los enlaces adhesivos. Por lo tanto, es importante el balance entre la movilidad de las cadenas del excipiente y su difusividad en el mucus o tejido y las propiedades mecánicas adecuadas y suficientes para sustentar las uniones bioadhesivas.

En esta línea los hidrogeles de goma xantana, goma garrofina o sus mezclas preparadas mediante compresión tienen potencial como sistemas bioadhesivos. Los radicales específicos que poseen con capacidad de interacción con las superficies biológicas, la capacidad de captar e integrar fluidos acuosos e hinchar dando lugar a hidrogeles consistentes y de liberar los principios activos de manera controlada hacen que estos sistemas puedan tener gran interés para la administración de fármacos en mucosas.

El objetivo de este trabajo es la evaluación de la capacidad bioadhesiva de los hidrogeles de goma xantana, goma garrofina a sus mezclas empleando para ello el método de medida de la bioadhesión desarrollado por Blanco y colaboradores (88,94).

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

La goma xantana (XAG) y la goma garrofina (LBG) fueron suministradas por Inagarbe S.L. (Padrón, España). El Carbopol 940 fue un regalo de Lubrizol (Barcelona, España) El acetónido de triamcinolona (TA) fue adquirida a Fagrón (Barcelona, España). El dihidrogenofosfato de potasio, el ácido clorhídrico y el cloruro de sodio se adquirieron a Panreac Química S.A. (Barcelona, España); el dihidrogenofosfato de sodio dodecahidratado y el cloruro de potasio a Merck (Darmstadt, Alemania). El agua ultrapura se obtuvo por ósmosis inversa (MilliQ, Millipore; Madrid, España).

2.2 Preparación de los Xerogeles

Los xerogeles se prepararon comprimiendo 500 mg de las mezclas estudiadas en una matriz de infrarrojos con un troquel de 12 mm de diámetro. Este proceso se llevó a cabo aplicando una fuerza de 7,5 toneladas durante 10 minutos mediante una prensa hidráulica Mega B-20 (Vizcaya, España).

2.3 Estudios de bioadhesión

Para evaluar la bioadhesión, se utilizó piel curtida de cabra como sustrato, demostrando ser un modelo adecuado para determinar la bioadhesión de hidrogeles (94). La capacidad adhesiva se determinó midiendo la fuerza máxima de rotura y el trabajo de adhesión con el analizador de texturas TA-XT Plus Analyzer.

Los xerogeles se adhirieron al soporte superior, conectado a la célula de carga, mientras que el sustrato se unió al soporte inferior con adhesivo de cianoacrilato. Durante el ensayo, se aplicó una fuerza definida durante cierto tiempo, variando si se limitaba la cantidad de agua o si el sustrato e hidrogel estaban sumergidos en agua.

En el primer caso, se depositó un volumen de 50 µl de medio sobre el sustrato, y el xerogel se descendió a una velocidad de 1 mm/s hasta que se estableció una presión de 0,5 N entre el xerogel y el sustrato. Esta presión se mantuvo durante 1 minuto antes de retirar el soporte superior a una velocidad de 1 mm/s, registrando la curva de fuerza frente a desplazamiento.

En el segundo experimento, el sustrato se adhirió a una placa de Petri llena con el medio correspondiente, replicando el proceso anterior, pero con acceso libre de agua a los lados del comprimido durante todo el experimento. Ambos experimentos se realizaron a 37ºC. Se registró la fuerza (N) en función de la elongación para calcular la fuerza máxima antes de la rotura de la unión bioadhesiva y el trabajo de bioadhesión (mJ) como el área bajo el gráfico.

Los ensayos se llevaron a cabo con fluido gástrico simulado pH 1,2, medio entérico pH 4,5 y pH 6,8 según la Farmacopea Europea.

2.4 Análisis estadístico

Los valores de fuerza máxima y trabajo de adhesión en las diferentes condiciones se compararon aplicando ANOVA multifactorial.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

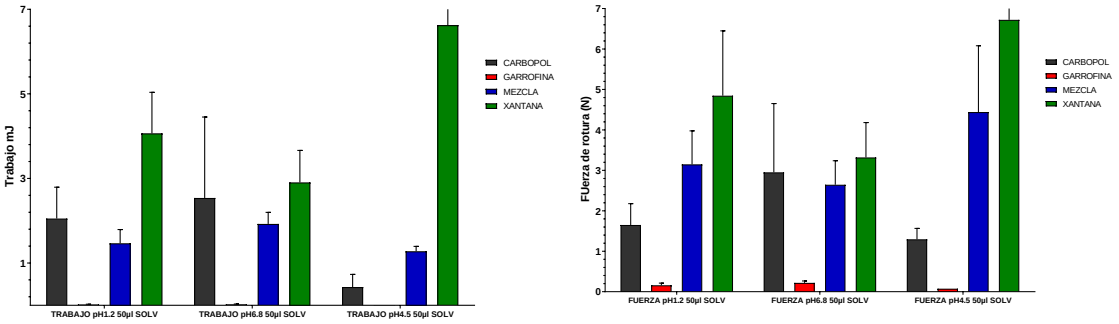


Figura 17 - Resultados de los ensayos de bioadhesión en las condiciones de hidratación controlada de la unión bioadhesiva.

En la Figura 17 se muestran los resultados obtenidos cuando se utilizan 50 µl de medio para la humectación de la superficie. Este experimento imita las condiciones que se puede encontrar una formulación de hidrogel empleada para la administración de fármacos en superficies mucosas como la mucosa bucal o vaginal. En estos casos el hidrogel se coloca ejerciendo una presión sobre la mucosa que contiene cantidad limitada de fluido.

En los resultados destaca la baja capacidad bioadhesiva de la goma garrofina, con valores de trabajo y fuerza máxima prácticamente despreciables a los tres valores de pH. En el lado contrario destaca la goma xantana con valores elevados de fuerza y trabajo, sobre todo a pH 4,5, superiores a los obtenidos con los hidrogeles de Carbopol 940 utilizados como referencia ($\alpha < 0,01$). Las mezclas de goma xantana y goma garrofina poseen un comportamiento mejor que el esperado por los bajos valores obtenidos con la goma garrofina.

En la Figura 18, se presentan los resultados de experimentos sin limitación de medio, simulando condiciones con gran cantidad de medio que baña las mucosas o membranas, como en sistemas administrados por vía oral. Se observa una disminución importante en los valores de fuerza máxima y trabajo de bioadhesión de todos los xerogeles, excepto para el de la goma garrofina, que muestra los mayores valores de fuerza máxima, aunque el trabajo de bioadhesión no presenta diferencias entre los componentes.

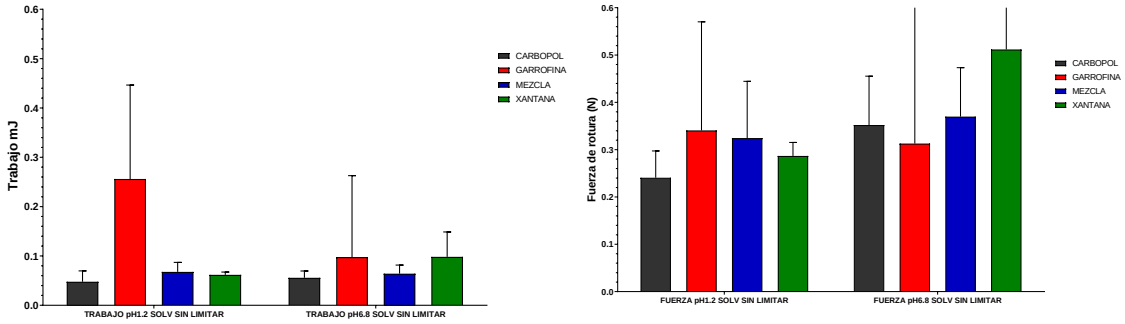


Figura 18 - Resultados de los ensayos de bioadhesión en las condiciones de hidratación controlada de la unión bioadhesiva.

Como se mencionó en la introducción, la capacidad de difusión en el sustrato y la resistencia mecánica son fundamentales para la bioadhesión. Los estudios con volumen limitado a 50 µl mostraron los valores más elevados, excepto para la goma garrofina, sugiriendo que este volumen de medio puede ser insuficiente para una hidratación adecuada y homogénea de la interfase bioadhesiva. En el resto de los componentes y la mezcla de goma xantana y goma garrofina, se forma una interfaz gelificada entre xerogel y sustrato, mostrando niveles de bioadhesión adecuados.

Cuando se realiza el ensayo sumergido en los fluidos, los valores de bioadhesión disminuyen, excepto para la goma garrofina. El exceso de medio favorece el hinchamiento del xerogel y la formación de una interfase más hidratada y menos resistente. Esta situación favorece la rotura de la interfase adhesiva durante la separación del hidrogel y el sustrato, que se produce por el fallo o la fractura del hidrogel en lugar de la rotura de las uniones bioadhesivas.

Los xerogeles de goma garrofina muestran fuerza máxima superior, indicando una interfaz más rígida, aunque las propiedades plásticas y elásticas del resto compensan la menor fuerza necesaria con un aumento del trabajo necesario para la rotura total de la unión bioadhesiva.

En cualquiera de los casos los xerogeles muestran capacidad similar al polímero de referencia Carbopol 940.

4 CONCLUSIONES

Los estudios de bioadhesión revelan que los hidrogeles de goma xantana, goma garrofina y sus mezclas presentan propiedades bioadhesivas adecuadas, dependiendo de las condiciones de hidratación. Estos hidrogeles tienen una bioadhesión similar al Carbopol 940, lo que los hace interesantes para la formulación de medicamentos destinados a la administración en mucosas.

CAPÍTULO 3

Efecto de la incorporación de ciclodextrinas en la difusión y liberación de acetónido de triamcinolona a partir de hidrogeles de goma Xantana y Garrofina

CAPÍTULO 3

Efecto de la incorporación de ciclodextrinas en la difusión y liberación de acetónido de triamcinolona a partir de hidrogeles de goma Xantana y Garrofina

1 INTRODUCCIÓN

La utilización de polímeros biocompatibles en la liberación de fármacos en el colon ha emergido como una estrategia prometedora en el ámbito de la formulación de medicamentos (45). Entre los diversos polímeros disponibles, la goma xantana y la goma garrofina, así como sus mezclas, han destacado por sus notables ventajas en este contexto (95).

La goma xantana, un polisacárido natural producido por la bacteria *Xanthomonas campestris*, exhibe propiedades únicas que la hacen ideal para la liberación controlada de fármacos (96). Su capacidad de formar geles en presencia de sales y su resistencia a la acción enzimática en el estómago e intestino delgado la convierten en una opción valiosa. Además, la goma xantana es conocida por su capacidad para modular la velocidad de liberación de fármacos, permitiendo una entrega sostenida y específica en el colon.

Por otro lado, la goma garrofina, también conocida como goma de algarrobo, es un polisacárido extraído de las semillas de la algarroba (97). Al igual que la goma xantana, la goma garrofina forma geles en presencia de sales, y su resistencia a la degradación en el tracto gastrointestinal la convierte en una opción idónea para la liberación colónica de fármacos. Además, la goma garrofina ha demostrado

poseer propiedades mucoadhesivas, lo que favorece la adhesión a la mucosa colónica, mejorando así la eficacia terapéutica (ver capítulo anterior).

La combinación de goma xantana y goma garrofina en mezclas poliméricas ofrece sinergias que mejoran aún más las propiedades de liberación de fármacos en el colon. Además, tal como hemos demostrado en trabajos previos (95), la compresión de las mezclas de estos polisacáridos promueve su interacción y mejora las sinergias. Estas mezclas comprimidas pueden proporcionar una mayor estabilidad y control en la formación de geles, así como una modulación precisa de la velocidad de liberación. Además, la posibilidad de ajustar la proporción de cada polímero en la mezcla permite adaptar las formulaciones según las necesidades específicas de cada fármaco.

Por otra parte, la inclusión de ciclodextrinas en la formulación de sistemas de liberación de fármacos basados en matrices hidrofílicas e hidrogeles pueden ofrecer diversas ventajas significativas (98,99). Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos derivados de la degradación enzimática del almidón, y su capacidad para formar complejos de inclusión con diversas moléculas las convierte en componentes valiosos en la liberación controlada de fármacos. Cuando se integran en sistemas de hidrogeles, las ciclodextrinas pueden aportan beneficios relacionados con su capacidad de formación de complejos de inclusión con los principios activos y de modificar la interacción entre el fármaco y el polímero formador de hidrogel. Así, por ejemplo, las ciclodextrinas han demostrado que pueden prevenir modificaciones en algunas de las propiedades de hidrogeles de Carbopol debido a las interacciones entre el ácido poliacrílico y algunos fármacos ionizados. En un trabajo realizado en 2002 por Blanco y colaboradores (87), los autores demostraron que la inclusión de β-ciclodextrina en hidrogeles de ácido poliacrílico modula su interacción con clorhidrato de propranolol, por lo que las propiedades del hidrogel permanecen inalteradas.

Además, el aumento de tamaño molecular que supone la formación de complejos de inclusión con respecto al fármaco libre, reduce su velocidad de difusión a través de la malla de hidrogel, por lo que pueden modular la velocidad de liberación a partir de este tipo de sistemas.

En resumen, la utilización de goma xantana, goma garrofina y sus mezclas combinadas con ciclodextrinas puede representar una estrategia prometedora para la liberación de fármacos en el colon. Estos polímeros ofrecen ventajas como su origen natural, capacidad para formar geles en presencia de sales, resistencia

a la degradación en el tracto gastrointestinal y posibilidad de modulación precisa de la liberación. La investigación en este campo podría abrir nuevas vías para el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos más eficaces y personalizados.

El objetivo de este trabajo es estudiar las características de liberación y la capacidad bioadhesiva de hidrogeles de goma xantana, goma garrofina y sus mezclas con ciclodextrinas para la elaboración de sistemas de liberación de fármacos en el colon.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

La goma xantana (XAG) y la goma garrofina (LBG) fueron suministradas por Inagarbe S.L. (Padrón, España). El acetónido de triamcinolona (TA) fue adquirido a Fagrón (Barcelona, España). La hidroxipropil-β-ciclodextrina (sustitución molar 0,65 y peso molecular 1399 Da, Kleptose HPB®) se compró a Roquette Laisa (España). La γ–ciclodextrina fue adquirida a Waker (Estados Unidos). El dihidrogenofosfato de potasio y el cloruro de sodio se adquirieron a Panreac Química S.A. (Barcelona, España); el dihidrogenofosfato de sodio dodecahidratado y el cloruro de potasio a Merck (Darmstadt, Alemania). El agua ultrapura se obtuvo por ósmosis inversa (MilliQ, Millipore; Madrid, España).

2.2 Preparación de las dispersiones de los polisacáridos

Las dispersiones de XAG, LBG y sus mezclas se prepararon en agua a temperatura ambiente o a 70ºC a concentración del 0,5% p/p, manteniéndose en agitación durante 24 horas. A estas mezclas se les incorporaron las ciclodextrinas a diferentes concentraciones.

2.3 Preparación de los xerogeles

Los xerogeles se prepararon mediante la compresión de 500 mg de las mezclas estudiadas en una matriz de infrarrojos provista de un troquel de 12 mm de diámetro, aplicando para ello una fuerza de 7,5 toneladas durante 10 minutos utilizando una prensa hidráulica Mega B-20 (Vizcaya, España).

Algunos xerogeles se pulverizaron en un mortero con la finalidad de preparar dispersiones de polisacáridos a partir del polvo como se ha descrito anteriormente.

2.4 Estudios de difusión

Se prepararon dispersiones de XAG, LBG o sus mezclas al 0,5% p/v como se ha descrito anteriormente, pero añadiendo acetónido de triamcinolona (20 µg/mL) al medio acuoso.

Las dispersiones se almacenaron durante 24 h antes del estudio de difusión utilizando células verticales de Franz-Chien. Un mililitro de estas dispersiones se incorporó al compartimento donador que se separó del compartimento receptor (lleno con 7 ml de solución salina fisiológica NaCl 0,9%) utilizando una membrana de diálisis de 12000Da MWCO. El área de difusión empleada fue de 0,7854 cm^2. A intervalos de tiempo preestablecidos, se tomaron muestras de 1 mL del medio del compartimento receptor y se sustituyó el volumen por medio fresco. Todas las pruebas se realizaron por triplicado a 37ºC y el receptor se agitó a 100 rpm. Los coeficientes de difusión, D_{app}, se estimaron aplicando el modelo de Higuchi para sistemas semisólidos.

$$\frac{Q}{A} = 2C_0 \sqrt{\frac{D_{app}\, t}{\pi}} \qquad \text{Ec. (8)}$$

donde Q/A representa la cantidad de fármaco liberado por unidad de superficie en el tiempo t, y C_0 la concentración inicial del fármaco en el vehículo.

2.5 Ensayo de liberación a partir de xerogeles

Los xerogeles se prepararon de acuerdo con las cantidades reflejadas en la Tabla 5.

Tabla 5 - Composición de las mezclas empleadas para la fabricación de los xerogeles.

Formulación	XAG/LBG 1:1 (%)	Acetónido de triamcinolona (%)	γ–ciclodextrina (%)
1	99	1	
2	98	2	
3	95	3	
4	96	1	3
5	96	1	3*
6	92	2	6*

*malaxado

Para la preparación de los xerogeles, las mezclas se prepararon en mortero. En el caso de la formulación 5 y 6, una vez realizada la mezcla se procedió a su malaxado añadiéndole una cantidad similar de agua y agitando hasta la evaporación del solvente. La masa obtenida se pulverizó antes de proceder a su compresión.

Para el proceso de compresión se pesaron 500 mg de las mezclas y se depositaron en una matriz de infrarrojos de 12 mm de diámetro. La mezcla se sometió a una compresión con una fuerza de 7,5 toneladas durante 10 minutos.

Los ensayos de liberación se llevaron a cabo en un aparato de ensayo de disolución USP 2 con palas (Prolabo, París, Francia) conectado mediante una bomba peristáltica (HP 89092A) a un espectrofotómetro de red de diodos (HP 8452A; Palo Alto, EE. UU.). El medio de liberación empleado fue de 450 ml de tampón clorhídrico pH 1,2 durante las dos primeras horas, y después se aumentó el pH a 6,8 añadiendo un pequeño volumen de tampón fosfato pH 8,0 y NaOH 2M. De este modo, se imitó el tránsito en el tracto gastrointestinal durante un tiempo de vaciado gástrico de 2 horas y un tiempo de tránsito intestinal de 24 horas. El medio se mantuvo en agitación a 100 rpm y 37 ± 0,5ºC. Todos los experimentos se realizaron con seis réplicas de cada formulación.

2.6 Análisis estadístico

Los perfiles de liberación se ajustaron a la cinética más usual y los resultados obtenidos para las distintas formulaciones se compararon aplicando ANOVA multifactorial.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la Figura 19 se presentan los perfiles de difusión de acetónido de triamcinolona a partir de dispersiones elaboradas con goma xantana, goma garrofina y sus mezclas al 50%, conteniendo dos proporciones de hidroxipropil-β-ciclodextrina o de γ-ciclodextrina. Todos los perfiles obtenidos se ajustan a un proceso de difusión del fármaco a través de la dispersión de polisacáridos, con un coeficiente de determinación superior al 99%.

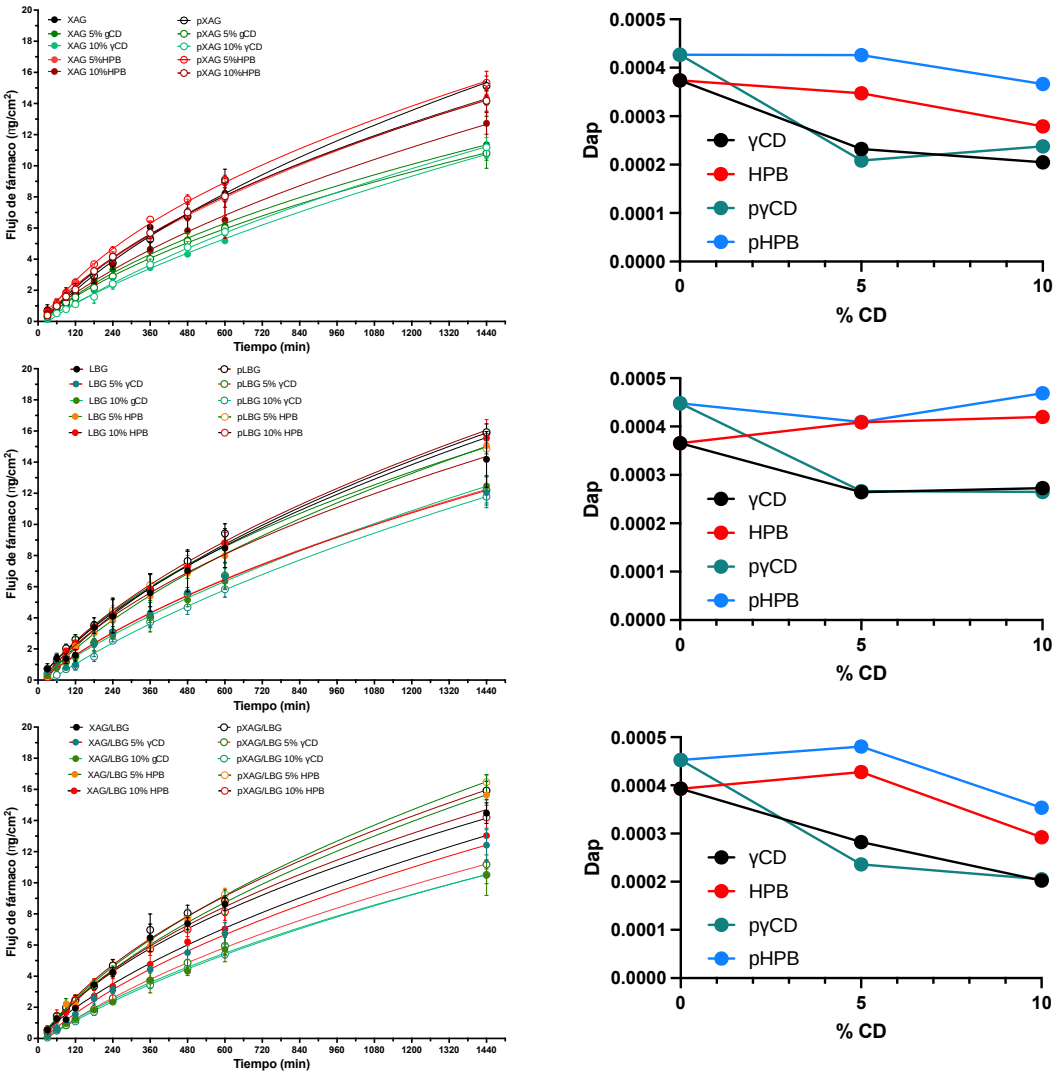


Figura 19 - Perfiles de difusión del acetónido de triamcinolona a través de las suspensiones de polisacáridos que contienen ciclodextrinas, preparados sin comprimir (XAG, LBG y XAG/LBG) o después de ser comprimidos (pXAG, pLBG y pXAG/LBG), junto con los coeficientes aparentes de difusión del fármaco a través de las diferentes dispersiones.

La difusión del fármaco en las dispersiones de polisacáridos, en ausencia de ciclodextrinas, muestra valores similares, con un ligero aumento en la velocidad de difusión después de la precompresión, aunque no significativo. La adición de hidroxipropil-β-ciclodextrina al 5% no modifica la difusividad del fármaco en la dispersión para ninguno de los polisacáridos o sus mezclas. Sin embargo, al incrementar la concentración al 10%, se observa una ligera tendencia a reducir la difusividad, especialmente en el caso de la goma xantana y, sobre todo, en la mezcla de goma xantana/goma garrofina. La incorporación de γ-ciclodextrina provoca una reducción de la difusividad a partir del 5%, en todos los casos, siendo más pronunciada nuevamente para la dispersión de goma xantana y para

la mezcla de ambos polisacáridos. En este escenario, se evidencia una disminución prácticamente lineal de la D_{app} en función de la concentración de γ-ciclodextrina.

Como se demostró en el capítulo 1, las dispersiones de goma garrofina poseen una menor viscosidad, la cual aumenta en el caso de la goma xantana y, especialmente, en las mezclas. La inclusión de ciclodextrinas en la dispersión puede favorecer la interacción con el principio activo, formando complejos de inclusión. Estos complejos tienen un mayor peso molecular y diámetro hidrodinámico que los fármacos libres, lo que resulta en una difusión más lenta, especialmente en medios más viscosos. En este contexto, los complejos de inclusión de γ-ciclodextrina presentan un mayor peso y tamaño molecular que los de hidroxipropil-β-ciclodextrina, posiblemente causando una mayor reducción en la D_{app}, especialmente en los medios más viscosos. Loftsson y colaboradores (100,101) describieron la reducción en la difusión de diferentes fármacos a través de membranas debido a la formación de complejos de inclusión que incrementan la masa y el volumen molecular.

Teniendo en cuenta estos resultados elegimos la γ-ciclodextrina para continuar nuestros estudios y procedimos a la fabricación y estudio de los hidrogeles elaborados mediante compresión de las mezclas de polisacáridos, γ-ciclodextrina y el acetónido de triamcinolona. En la Figura 20 podemos ver los perfiles de liberación de los hidrogeles y en la Tabla 6 los resultados obtenidos de los ajustes a las cinéticas de orden 0, Higuchi o a la ecuación de Korsmeyer y Peppas.

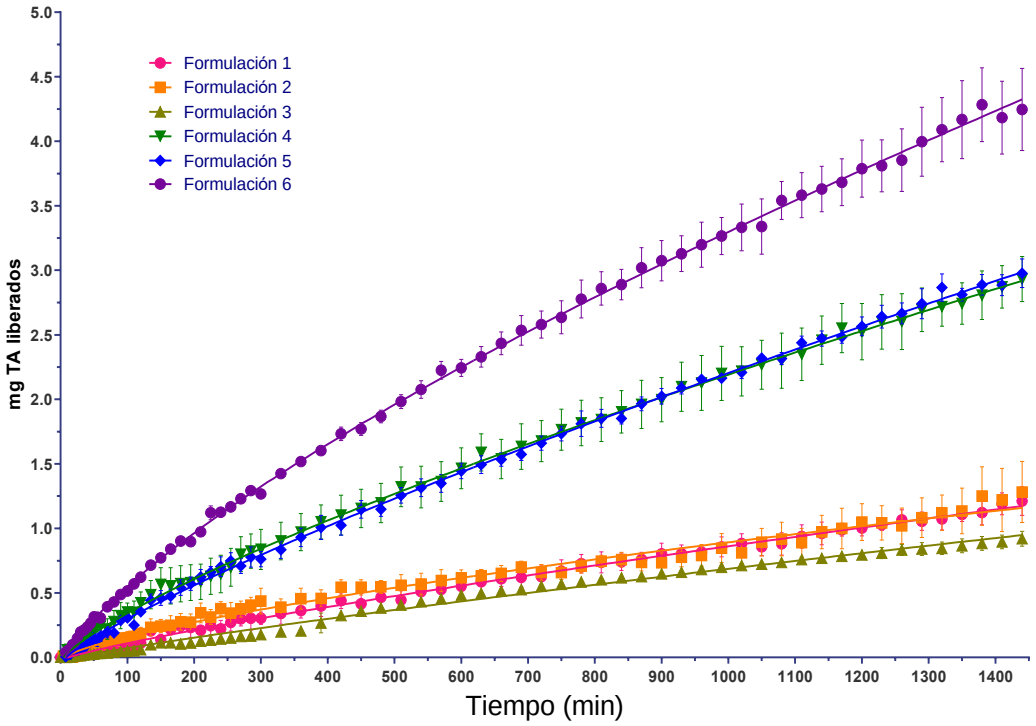


Figura 20 - Perfiles de liberación de triamcinolona acetónido obtenidos empleando fluido gástrico simulado sin enzimas pH 1,2 durante los primeros 120 minutos, y continuando con fluido entérico simulado sin enzimas pH 6,8.

Una primera observación de los perfiles nos indica que la liberación del acetónido de triamcinolona es independiente del pH del medio. No se observa ningún salto significativo en la velocidad de liberación a partir de los 120 minutos, tiempo en el que se produce el cambio de pH. Por otra parte, no se observaron diferencias significativas (α n.s.) entre las formulaciones 1, 2 y 3 lo que nos indica que la velocidad de liberación es independiente de la cantidad de fármaco incluido en los hidrogeles y que probablemente se encuentre controlada por la baja hidrosolubilidad de este fármaco en medios acuosos.

Por otra parte, la incorporación de la γ-ciclodextrina produce un incremento significativo ($\alpha < 0{,}01$) de la velocidad y cantidad de acetónido de triamcinolona liberado en ambos medios, fluido gástrico y entérico simulados sin enzimas. Se observa gran influencia de la cantidad de γ-ciclodextrina incorporada, que aumenta la velocidad de liberación a medida que aumenta su proporción en la mezcla. Sin embargo, el proceso de malaxado no influye sobre la cinética de liberación. Al cabo de las 24 horas se observa la liberación de la mayor parte de acetónido de triamcinolona incorporado en los hidrogeles 4 y 5, con valores del

5%, 13% 25%, 40%, 60% y 60% para las formulaciones 3, 2, 1, 6, 4 y 5 respectivamente.

Los resultados de las cinéticas incluidas en la Tabla 6, muestran que el proceso de liberación del fármaco se ajusta mejor a una cinética de orden 0 que a la cinética de difusión. Los valores del coeficiente *n* obtenido en la ecuación de Korsmeyer-Peppas entre 0,72-0,92 sugieren una gran influencia de la relajación del polímero en el proceso de liberación del fármaco. Probablemente la baja solubilidad del acetónido de triamcinolona en el hidrogel también contribuya a que el peso de la relajación del polímero y la entrada de agua en el hidrogel sea muy importante. La presencia de la γ-ciclodextrina no modifica aparentemente el mecanismo de liberación, si bien aumenta la velocidad de liberación. Este aumento probablemente se produzca por el incremento de la solubilidad del complejo de inclusión que se forma in situ entre el acetónido de triamcinolona y la γ-ciclodextrina. Esta mayor hidrosolubilidad contribuye a minimizar el efecto que el complejo podría provocar sobre la velocidad de difusión, tal como se ha observado en los estudios de difusión realizados. Resultados similares se observaron para otros principios activos (98,99).

Tabla 6 - Ajuste de los perfiles de liberación a la cinética de orden 0, Higuchi y a la ecuación de Korsmeyer-Peppas.

Formulación	$Q = kt$		$Q = k\sqrt{t}$		$Q = kt^n$		
	k	R^2	k	R^2	k	n	R^2
1	0,0008	0,9925	0,03266	0,9693	0,0021	0,872	0,9965
2	0,0008	0,9744	0,03229	0,9771	0,0055	0,737	0,8880
3	0,0007	0,9885	0,02660	0,9580	0,0012	0,920	0,9908
4	0,0020	0,9909	0,08076	0,9789	0,0089	0,797	0,9990
5	0,0021	0,9940	0,08280	0,9729	0,0062	0,851	0,9989
6	0,0030	0,9983	0,12090	0,9848	0,0133	0,766	0,9990

4 CONCLUSIONES

La incorporación de ciclodextrinas a las mezclas de polisacáridos empleadas en la fabricación de los xerogeles influyen de manera significativa en la difusión y liberación del fármaco acetónido de triamcinolona.

La γ-ciclodextrina ha demostrado tener una influencia más pronunciada que la hidroxipropil-β-ciclodextrina en la difusión del acetónido de triamcinolona en los hidrogeles, destacando especialmente en aquellos elaborados con goma xantana o sus mezclas con goma garrofina. Esta diferencia puede atribuirse al mayor tamaño molecular de los complejos de inclusión formados con la γ-ciclodextrina y a la mayor viscosidad de estas mezclas.

La incorporación de la γ-ciclodextrina tiene un efecto significativo en la capacidad de liberación del acetónido de triamcinolona desde los xerogeles. El aumento de la solubilidad del acetónido de triamcinolona, probablemente debido a la formación del complejo de inclusión in situ, parece desempeñar un papel crucial en este proceso.

Los hidrogeles elaborados a partir de estas mezclas son capaces de liberar de manera prácticamente constante su contenido a lo largo de 24 horas, lo cual confiere a estos sistemas un gran potencial para la liberación de fármacos a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, especialmente a nivel del colon.

CAPÍTULO 4

Efecto de la administración oral de acetónido de triamcinolona en hidrogeles de polisacáridos en modelo animal de colitis experimental inducida mediante TNBS

CAPÍTULO 4

Efecto de la administración oral de acetónido de triamcinolona en hidrogeles de polisacáridos en modelo animal de colitis experimental inducida mediante TNBS

1 INTRODUCCIÓN

El colon constituye uno de los segmentos finales del intestino y puede verse afectado por diversas patologías que impactan localmente en este tejido. Recibe el contenido proveniente del íleon y desempeña un papel crucial en la absorción de agua y electrólitos, así como en la formación y almacenamiento de las heces antes de su expulsión a través del recto y el ano. Además, la presencia de bacterias en esta sección facilita la fermentación de sustancias no digeridas, generando algunos nutrientes adicionales y gases.

El colon se divide en diferentes secciones: ciego, colon ascendente, colon transverso, colon descendente y colon sigmoide. Esta zona puede sufrir diversas patologías que pueden afectar localmente a su tejido, generando un espectro amplio de trastornos que van desde los funcionales hasta los inflamatorios y neoplásicos (102).

Una de las condiciones más comunes que afecta al colon es el síndrome del intestino irritable, un trastorno funcional que se caracteriza por la presencia de síntomas como dolor abdominal, distensión y cambios en los hábitos intestinales. En contraste, las enfermedades inflamatorias intestinales, como la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa, afectan el colon de manera más directa,

desencadenando una respuesta inmunológica crónica que produce inflamación y daño tisular (103). La enfermedad de Crohn puede afectar cualquier parte del tracto gastrointestinal, desde la boca hasta el ano, mientras que la colitis ulcerosa se limita al colon y al recto. Estas patologías, a menudo debilitantes, se manifiestan con síntomas como diarrea persistente, sangrado rectal, dolor abdominal y pérdida de peso, afectando tanto la calidad de vida como la salud general de los pacientes.

En cualquier caso, el tratamiento de las patologías locales del colon representa un desafío terapéutico significativo. La especificidad de las afecciones colónicas exige enfoques de tratamiento que no solo aborden los síntomas, sino que también consideren la naturaleza localizada de estas enfermedades. Es en este contexto en donde los sistemas de liberación colónica de fármacos emergen como una estrategia prometedora, permitiendo la administración localizada de medicamentos en el tramo de colon afectado, maximizando la eficacia terapéutica y reduciendo los efectos secundarios.

En esta dirección la liberación colónica de fármacos ha suscitado interés para el tratamiento de patologías específicas del colon (29–31). La administración de medicamentos para tratar estas patologías plantea desafíos importantes debido a la complejidad del entorno gastrointestinal. La liberación indiscriminada de los fármacos a lo largo del tracto digestivo o su absorción sistémica puede generar efectos secundarios no deseados y reducir su eficacia terapéutica. En este contexto, la liberación colónica surge como una herramienta para optimizar la administración de fármacos en el colón mejorando su eficacia y minimizando los efectos adversos.

Este tipo de formulaciones colónicas buscan dirigir la liberación de los principios activos de manera específica en el colon aprovechando para ello las características diferenciales de esta zona del intestino. Para garantizar la liberación precisa de los fármacos en el colon han sido diseñados diversos sistemas de liberación controlada, basados en recubrimientos entéricos, matrices poliméricas de liberación controlada, o los sistemas que se biodegradan de forma específica en el colon. Estos enfoques buscan superar las barreras anatómicas y fisiológicas del tracto gastrointestinal, asegurando que la sustancia activa alcance la región deseada con la concentración terapéutica óptima.

Una de las estrategias que se han utilizado para obtener una liberación selectiva en el colon es la utilización de matrices resistentes a la disgregación en los medios

gástricos e intestinales, elaboradas con materiales susceptibles de ser degradados en el colon. Este es el caso de las elaboradas a partir de polisacáridos (41,42,104). Aquí se presentan algunas de las utilidades más destacadas de los polisacáridos en este contexto:

- Capacidad de Formar Matrices: Como se ha demostrado en los capítulos anteriores, polisacáridos como la goma xantana o la goma garrofina, poseen la capacidad de formar matrices con capacidad de control de la liberación de diferentes principios activos (95). Estas matrices actúan como barreras protectoras, permitiendo que el fármaco viaje a través del tracto gastrointestinal con una baja tasa de liberación y absorción antes de alcanzar el colon.
- Formación de Hidrogeles: tanto la goma xantana como la goma garrofina o sus mezclas pueden formar hidrogeles. Estos hidrogeles son capaces de retener agua y mantener la estabilidad de la matriz, lo que es beneficioso para la liberación controlada de fármacos en el colon.
- Degradación Bacteriana: Algunos polisacáridos, como la pectina, son susceptibles a la degradación bacteriana en el colon. Las bacterias colónicas poseen enzimas capaces de descomponer estos polisacáridos, liberando así el fármaco de manera más intensa en esta región específica del tracto gastrointestinal.

La combinación de estas propiedades permite a los formuladores de medicamentos diseñar sistemas sean capaces de liberar fármacos de manera selectiva en el colon, minimizando la exposición en otras partes del tracto gastrointestinal y mejorando la eficacia terapéutica. En consecuencia, los polisacáridos han emergido como excipientes interesantes para el desarrollo de formulaciones farmacéuticas destinadas al tratamiento de patologías locales del colon.

El objetivo de este trabajo es la evaluación de la efectividad de hidrogeles elaborados con una mezcla al 50% de gomas xantana y goma garrofina y acetónido de triamcinolona en el tratamiento de colitis ulcerosa experimental en modelo animal inducido por ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS).

El modelo de colitis experimental inducido por TNBS es un modelo preclínico ampliamente utilizado para estudiar la patogénesis y evaluar estrategias terapéuticas de enfermedades inflamatorias intestinales (105,106), particularmente la colitis ulcerosa. Este modelo, que involucra la administración rectal de una solución de TNBS, induce una respuesta inflamatoria aguda en el

colon, replicando características clínicas y patológicas similares a las observadas en la colitis ulcerosa humana (106).

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

La goma xantana (XAG) y la goma garrofina (LBG) fueron suministradas por Inagarbe S.L. (Padrón, España). El acetónido de triamcinolona (TA) fue adquirida a Fagrón (Barcelona, España). Ácido 2,4,6-trinitrobenzenosulfónico (TNBS), bromuro de hexadeciltrimetilamonio (HTAB), 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB), peróxido de hidrógeno al 30% y peroxidasa de rábano picante se compraron de Sigma-Aldrich (España). El hidrogenofosfato disódico, dihidrogenofosfato de sodio dodecahidratado, el dihidrogenofosfato de potasio, el cloruro de potasio, el cloruro sódico, el acetato de sodio, el agua oxigenada, la dimetilformamida y el etanol se han adquirido a Merck (Darmstadt, Alemania). El agua ultrapura se obtuvo por ósmosis inversa (MilliQ, Millipore; Madrid, España). Todos los productos y solventes eran de grado analítico.

2.2 Animales

Las ratas macho Wistar de entre 8 y 12 semanas de edad (250-325 g) fueron proporcionadas por el Centro de Investigación Experimental Animal de la Universidad de Valencia, y el estudio fue aprobado por el Comité Ético de Experimentación Animal de la Universidad de Valencia (Valencia, España). Los animales se mantuvieron en un ambiente controlado a 22±3 °C y 55±5% de humedad, con ciclos de 12 horas de luz y oscuridad, proporcionándoles acceso ilimitado a agua y comida de laboratorio durante todo el periodo del estudio.

2.3 Tratamientos

Cinco tratamientos distintos fueron objeto del estudio comparativo de respuesta:

- Comprimidos placebo: comprimido capsular de 30 mg de goma xantana y goma garrofina (1:1).
- Comprimidos de 0,3 mg de TA: comprimido capsular de 30 mg de goma xantana y goma garrofina (1:1) conteniendo 0,3 mg de TA.
- Solución placebo: 0,5 ml de propilenglicol y suero fisiológico (8:2).
- Solución de 0,6 mg/ml de TA: 0,5 ml de propilenglicol y suero fisiológico (8:2) conteniendo 0,6 mg/ml de TA.
- Espuma rectal: 30 mg de espuma rectal adquirida comercialmente (Proctosteroid®), conteniendo 1% de diacetato de triamcinolona

Los ratas se escogieron aleatoriamente, así como el orden de tratamientos, hasta completar 5 grupos de 5 ratas tratadas con cada uno.

2.4 Preparación de los comprimidos de xerogeles

Los xerogeles se prepararon mediante la compresión de 500 mg de las mezclas de goma xantana y goma garrofina en una proporción 1:1, en una matriz de infrarrojos provista de un troquel de 12 mm de diámetro, aplicando para ello una fuerza de 7,5 toneladas durante 10 minutos utilizando una prensa hidráulica Graseby Specac (Londres, Inglaterra). Para la preparación de los comprimidos de 0,3 mg de TA, se añade el 1% de TA a la mezcla de las gomas. Los comprimidos obtenidos se trocean y se moldean por desgaste con una pulidora para obtener comprimidos de forma capsular de 30 ± 0,5 mg de peso y dimensiones aproximadas de 2 x 8 mm (ver Figura 21).

Figura 21 - Imagen de comprimidos de xerogeles para administración a animales (moneda para referencia de tamaño).

2.5 Procedimiento experimental de inducción de inflamación colónica

El modelo de inflamación crónica en el colon de las ratas se estableció siguiendo la metodología descrita por Morris y colaboradores (107,108) con ciertas modificaciones menores. Las ratas se dividieron en grupos de tratamiento de manera aleatoria, se les sometió a un ayuno de 24 horas con acceso constante a agua y posteriormente se les anestesió usando isoflurano. Se introdujo una sonda de goma graduada en el colon de forma que su extremo se ubicara a 8 cm del ano. Se inyectó en el colon una solución de TNBS (40 mg/ml) disuelta en etanol al 50% v/v (81 mg/kg de peso corporal, ajustando el volumen a 0,5 ml para un animal de 250 g y proporcionalmente según el peso del animal). La solución administrada causa daño tisular y desencadena una respuesta inflamatoria localizada en el colon. El TNBS induce una inflamación aguda en el colon, caracterizada por la infiltración de células inflamatorias, como neutrófilos y linfocitos, en la mucosa y submucosa. El modelo conduce a la destrucción del epitelio colónico, con la consiguiente pérdida de la barrera protectora, lo que contribuye a la severidad de la inflamación. El desarrollo de la inflamación se evaluó con respecto a la relación peso del colon/peso corporal, puntaje de actividad clínica, actividad de mieloperoxidasa y cambios histológicos durante la duración del ciclo de tratamiento.

2.6 Ciclo de tratamiento

El día de la administración rectal de la disolución de TNBS se considera el día 0 del ciclo de tratamiento. El tratamiento correspondiente se administró una vez al día durante tres días en el período de inflamación más intensa (los días 3, 4 y 5 tras la inducción de la colitis con TNBS) (108). Los animales se mantienen en observación hasta el noveno día, en el que se procede a su sacrificio y extracción del colon para su posterior evaluación. El orden de los tratamientos se ha aleatorizado.

2.7 Evaluación de lesiones e inflamación colónica

Tras administrarles una dosis letal de anestesia a las ratas, se procedió a abrir su cavidad abdominal para extraer el colon. Se tomaron muestras de la zona afectada para calcular la relación entre el peso del colon y el peso total del animal (índice de edema colónico). Además, se evaluaron diversos criterios para determinar el nivel de daño morfológico aparente (mediante un sistema de calificación de actividad clínica), se midió la actividad de la enzima mieloperoxidasa y se realizó un análisis histológico del tejido.

2.7.1 Determinación de la relación peso del colon/peso corporal

Las ratas fueron sacrificadas con una sobredosis de anestesia, luego se abrió el abdomen y se extirpó rápidamente el colon, que se abrió longitudinalmente a lo largo del borde mesentérico. El colon se lavó con solución salina al 0,9% (p/v) y se colocó con la superficie mucosa hacia arriba sobre una lámina de aluminio y luego se pesó. La relación del peso del segmento de 8 cm de colon frente al peso del animal se calculó como un índice de edema del tejido colónico (índice edema colónico).

2.7.2 Sistema de puntuación de actividad clínica

La actividad de la colitis se cuantificó con una puntuación clínica que evalúa la pérdida de peso, la consistencia de las heces y el sangrado rectal siguiendo el procedimiento descrito por Mura y colaboradores (108). La no pérdida de peso se contó como 0 puntos, 1-5% de pérdida de peso como 1 punto, 5-10% de pérdida de peso como 2 puntos, 10-20% de pérdida de peso como 3 puntos y una pérdida de peso mayor del 20% como 4 puntos. Para la consistencia de las heces, se otorgó 0 punto por gránulos bien formados, 2 puntos por heces pastosas y semiformadas que no se adhieren al ano y 4 puntos por heces líquidas que se adhieren al ano. El sangrado se calificó con 0 puntos por ausencia de sangre, 2 puntos por hallazgo positivo y 4 puntos por sangrado evidente. La suma de estas puntuaciones conformaba la puntuación clínica, que variaba de 0 (saludable) a 12 (actividad máxima de colitis).

2.7.3 Actividad de la mieloperoxidasa

La evaluación detallada de la actividad enzimática de la mieloperoxidasa se llevó a cabo como un método cuantitativo para determinar la gravedad de la colitis inducida. Esta enzima, una peroxidasa, actúa como un indicador fiable del proceso inflamatorio, el cual se caracteriza por la infiltración de neutrófilos activados en el tejido inflamado. La metodología para analizar la actividad de la mieloperoxidasa se basó en los procedimientos establecidos por De Young y colaboradores y otros (108–110). Este proceso implica varios pasos detallados: inicialmente, una muestra de tejido colónico se incorporó en 750 µl de solución tampón HTAB (con una concentración del 0,5% en un tampón de fosfato 80 mM con un pH de 5,4) y se mantuvo en hielo. Posteriormente, esta muestra se sometió a un proceso de homogeneización para garantizar la uniformidad en la mezcla. Tras la homogeneización, la muestra se sometió a centrifugación (Centrífuga Heraeus Fresco 17 de Thermo Electron Corporation, España) operando a una temperatura de 4°C y a una velocidad de 10000 rpm durante un período de 15 minutos (Eppendorf AG 22331, Alemania). El objetivo de este paso era separar el sobrenadante, el cual contiene la mieloperoxidasa activa, del resto de los componentes celulares. La actividad de la mieloperoxidasa presente en el sobrenadante se midió mediante técnicas espectrofotométricas. Para ello, se

preparó una mezcla incubando 25 µl del sobrenadante con 75 µl de tampón de fosfato con un pH de 7,4, 10 µl de buffer de fosfato con un pH de 5,4 y 10 µl de una solución de peróxido de hidrógeno al 0,03%. Esta mezcla se mantuvo a una temperatura constante de 37°C durante un tiempo de 5 minutos. A continuación, se añadieron 20 µl de TMB a una concentración de 18 mM (previamente disuelto en un 8% de DMF) a la mezcla y se dejó incubar por otros 10 minutos. El paso final en la evaluación de la actividad enzimática consistió en detener la reacción añadiendo 15 µl de acetato de sodio a una concentración de 1,5 M y un pH ajustado a 3,0. La absorbancia de la solución resultante se midió a una longitud de onda de 620 nm, proporcionando una medida cuantitativa de la actividad de la mieloperoxidasa.

2.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se compararon aplicando ANOVA multifactorial.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El procedimiento experimental para inducir inflamación intestinal mediante TNBS consiste en la administración directa de una solución de TNBS en el colon mediante la inserción de un catéter o una sonda rectal. Esta mezcla provoca daño tisular y desencadena una respuesta inflamatoria localizada en el colon.

El TNBS induce una inflamación aguda en el colon, caracterizada por la infiltración de células inflamatorias, como neutrófilos y linfocitos, en la mucosa y submucosa. Este modelo conduce a la destrucción del epitelio colónico, resultando en la pérdida de la barrera protectora, lo que contribuye a la gravedad de la inflamación.

Aunque el modelo TNBS presenta similitudes con la colitis ulcerosa humana, es crucial reconocer sus limitaciones y considerar otros modelos que reflejen aspectos específicos de la enfermedad inflamatoria intestinal. Sin embargo, es útil para evaluar la eficacia de fármacos y tratamientos potenciales para la colitis ulcerosa, como antiinflamatorios, inmunomoduladores o agentes dirigidos específicamente a citocinas inflamatorias (105,106).

Una característica asociada a este modelo es el aumento de la producción de citocinas proinflamatorias. Tras la inducción, se observa un aumento en la producción de citocinas como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-α), interleucina-1 beta (IL-1β) e interleucina-6 (IL-6), contribuyendo a la cascada inflamatoria. Además, se producen cambios histológicos en el tejido colónico, incluyendo edema, ulceración, engrosamiento de la mucosa y formación de abscesos, reproduciendo características similares a las observadas en pacientes con colitis ulcerosa. Como consecuencia de estos cambios, la evolución de los animales se acompaña de una significativa pérdida de peso a lo largo de las primeras semanas de inducción.

En la Figura 22 se muestra la pérdida de peso normalizada en los animales sometidos a diferentes tratamientos. La gráfica revela que la mayor disminución de peso en los primeros días corresponde a los animales tratados con la disolución placebo, la disolución de acetónido de triamcinolona y la espuma rectal. Por el contrario, la pérdida más lenta se observa en los casos de los xerogeles que contienen el fármaco, en donde se observaron diferencias significativas frente al suero salino (disolución placebo) y la espuma rectal ($\alpha <$ 0,05). Tanto en el caso de los xerogeles placebo como los que contienen el acetónido de triamcinolona se aprecia una menor pérdida de peso que el resto hasta el quinto día post tratamiento, a partir del que se obtienen niveles similares a los otros animales.

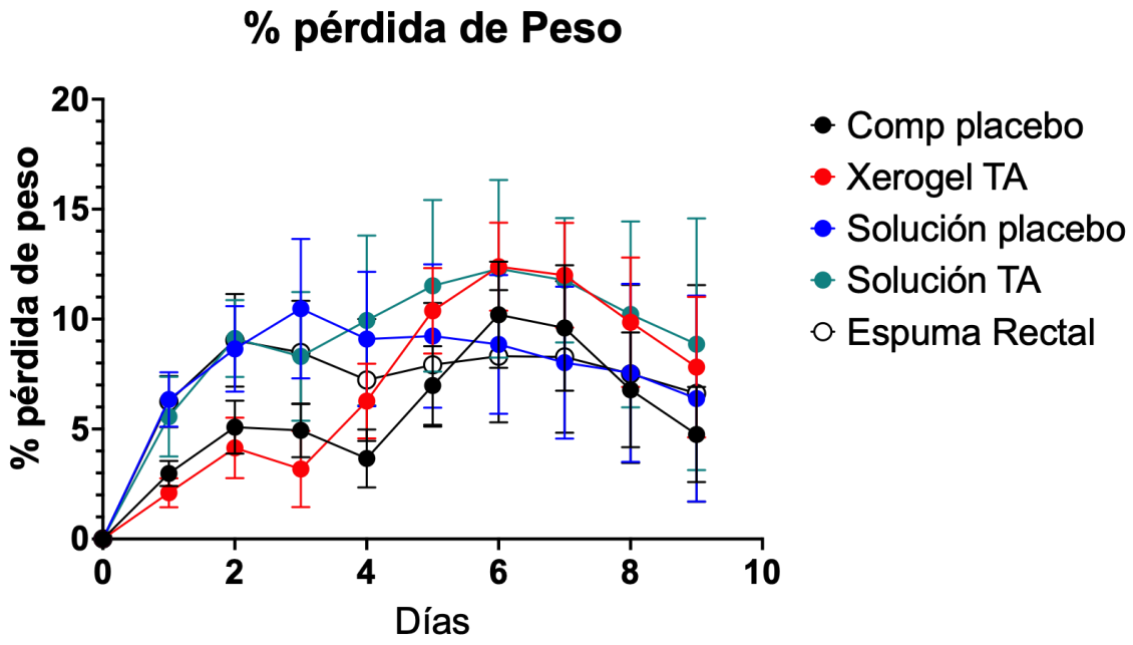


Figura 22 - Pérdida de peso observada en los grupos de animales en función del tratamiento. Los datos se encuentran normalizados por la máxima y mínimo peso alcanzado en cada grupo.

En la Figura 23 se presentan los valores obtenidos para los niveles de mieloperoxidasa y edema colónico. Aunque no se detectaron diferencias significativas debido a la gran variabilidad encontrada entre los animales, tanto la espuma rectal como la solución salina resultan en los mayores valores de ambos parámetros. Para ambos parámetros se observan los valores más bajos en el grupo de animales tratados con el xerogel con acetónido de triamcinolona y la solución del principio activo.

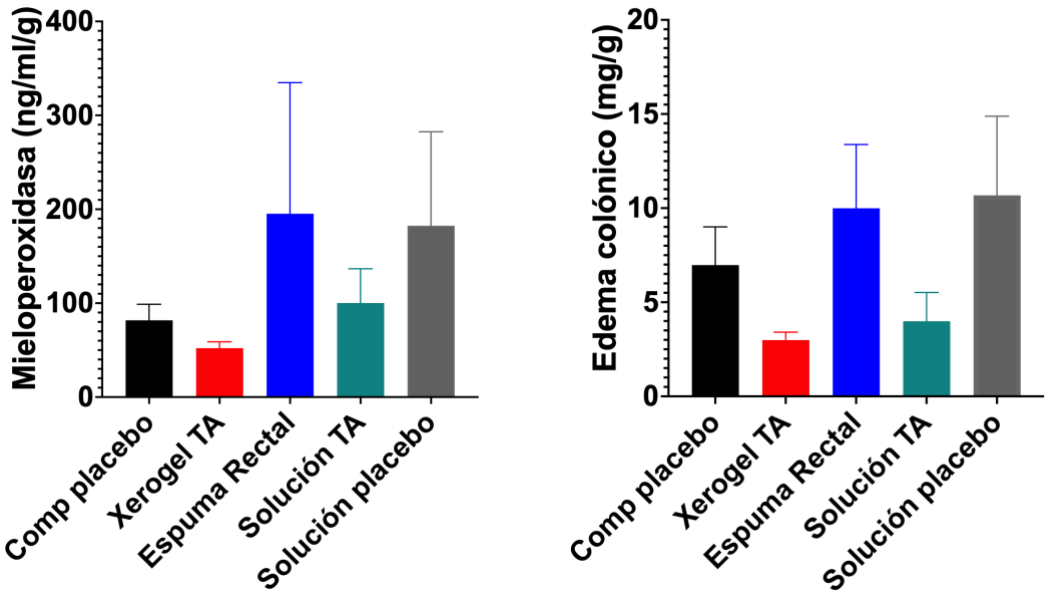


Figura 23 - Niveles de mieloperoxidasa y edema colónico obtenidos para los diferentes grupos de animales.

Los valores obtenidos para el edema colónicos de los animales fueron similares a los obtenidos por Mura y colaboradores en 2011 (108) y por Ferri y colaboradores (111) en modelo experimental de TNBS. En estos trabajos estudiaron el efecto de una suspensión de 5-ASA, un sistema liofilizado conteniendo una mezcla de 5-ASA y succinil quitosano 1:1, micropartículas succinil quitosano cargadas con 5-ASA (108), así como Entocord® y con micropartículas de sílica mesoporosa decoradas con derivados azo y conteniendo budesónida como fármaco (111). Mura y colaboradores (108) obtuvieron valores de edema colónico de alrededor de 20 mg/g para los animales tratados con suero fisiológico y de 17 mg/g en el estudio de Ferri y colaboradores (111). Asimismo, mostraron valores de edema colónico tras los diferentes tratamientos de entre 5 y 10 mg/g, ligeramente superiores a los observados en nuestro estudio. En cuanto a los niveles de mieloperoxidasa fueron similares a los observados por Mura y colaboradores (108) para el sistema liofilizado y las micropartículas.

En la Figura 24 se muestra las puntuaciones de la actividad clínica asignadas a cada grupo de animales en función de su tratamiento. Al igual que lo observado en la pérdida de peso, índice de edema colónico y niveles de mieloperoxidasa, la puntuación indica la tendencia del grupo tratado con los xerogeles conteniendo acetónido de triamcinolona a mostrar las menores puntuaciones comparado con el resto de los animales. Nuevamente los más altos de puntuación se observaron para el grupo tratado con suero salino y la espuma rectal. Llama la atención que

los comprimidos placebo, constituidos solo por los polisacáridos den lugar a valores de mieloperoxidasa, edema y a puntuaciones inferiores a la espuma recta y al suero salino y similares a los obtenidos con la disolución de acetónido de triamcinolona.

La puntuación de la actividad clínica obtenida fue también del mismo orden de los observados por Ferri y colaboradores en 2019 y por Mura y colaboradores en 2011 (108,111) en los animales tratados con suero fisiológico (media de puntuación ≈ 6 y 8 respectivamente) así como los obtenidos con los animales tratados con Entocord (media ≈ 2.5), las micropartículas decoradas de budesónida (media ≈3.5) o las mezclas liofilizadas y micropartículas de succinil quitosano y 5-ASA (media ≈ 1-1.5).

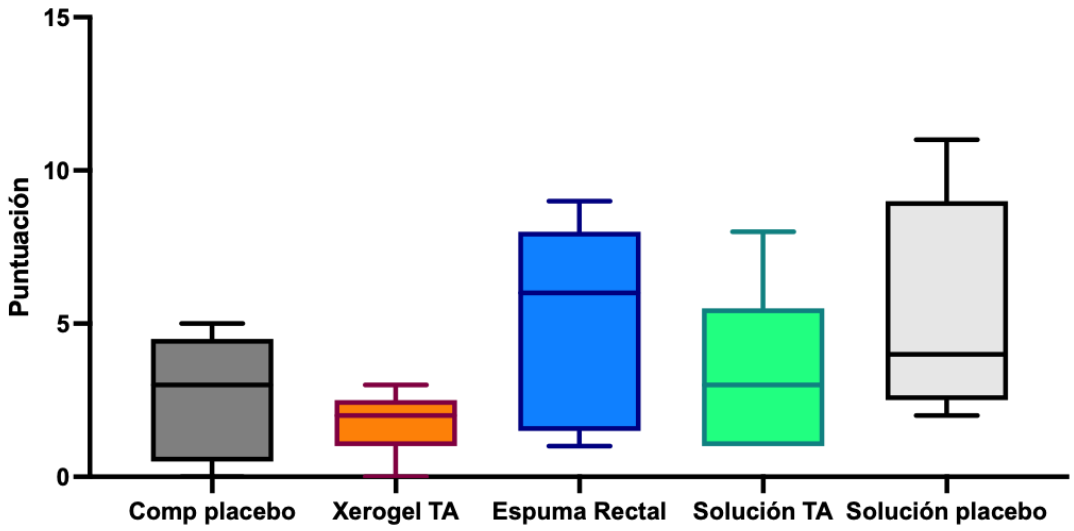


Figura 24 - Puntuación de la actividad clínica obtenidos para los diferentes grupos de tratamientos de los animales con colitis inducida por TNBS.

El conjunto de los resultados sugiere que se produce un incremento de la actividad clínica del acetónido de triamcinolona cuando se administra en forma de xerogel elaborado con la mezcla de polisacáridos. Sorprendentemente el grupo de animales tratados con el xerogel placebo, sin principio activo, muestra un nivel de actividad similar al observado en los animales tratados con la espuma rectal o la solución oral. Este resultado muestra un efecto positivo de los polisacáridos sobre la evolución de la enfermedad.

Existen distintas publicaciones que sugieren la posible actividad terapéutica de los polisacáridos naturales en enfermedad inflamatoria intestinal (112,113). Se cree que la microbiota intestinal y sus productos fermentativos, principalmente los ácidos grasos de cadena corta (AGCC), median en el efecto de los polisacáridos naturales en las enfermedad inflamatoria intestinal. Algunos expertos atribuyen su eficacia a su capacidad para la reparación de la barrera intestinal dañada el mantenimiento del microambiente intestinal y a la mejora de la respuesta inmunitaria de la mucosa del huésped (112).

En el anexo I se recogen las imágenes de las porciones de colon de los animales correspondientes a los diferentes grupos de tratamiento, así como observaciones y comentarios de las alteraciones observadas.

4 CONCLUSIONES

Se ha realizado un estudio de efectividad clínica de los hidrogeles de goma xantana y goma garrofina empleando un modelo de colitis ulcerosa inducida mediante TNBS.

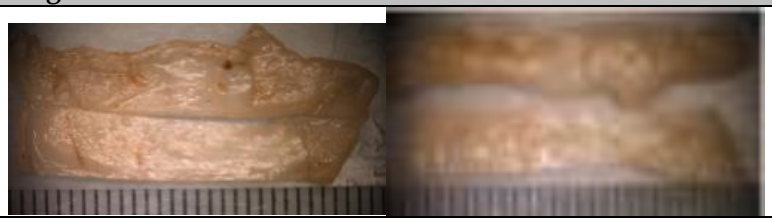
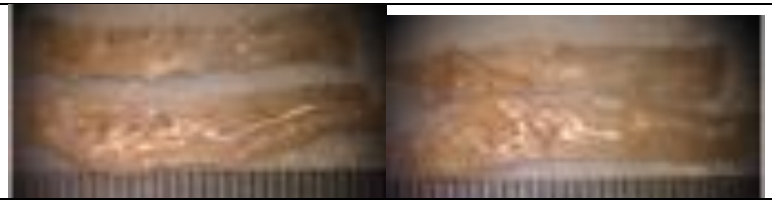
Se ha analizado para ello la variación de peso tras la inducción y durante los diferentes tratamientos, así como los niveles de mieloperoxidasa, el índice de edema y la puntuación de la actividad clínica. Para ello se han estudiado diferentes tratamientos además de los hidrogeles conteniendo el acetónido de triamcinolona.

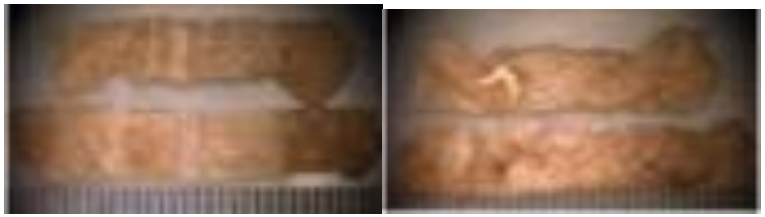
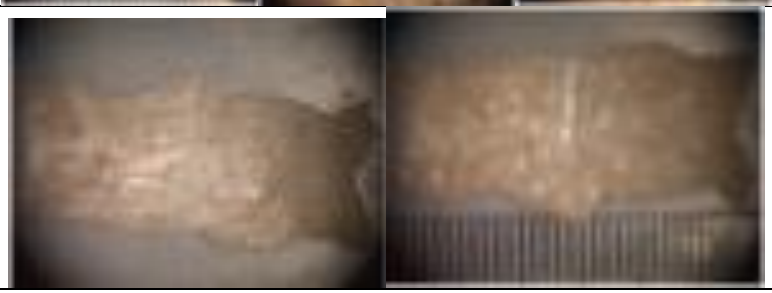
Los resultados muestran la mejor actividad de los hidrogeles frente a la espuma rectal o a la disolución de acetónido de triamcinolona administrada oralmente.

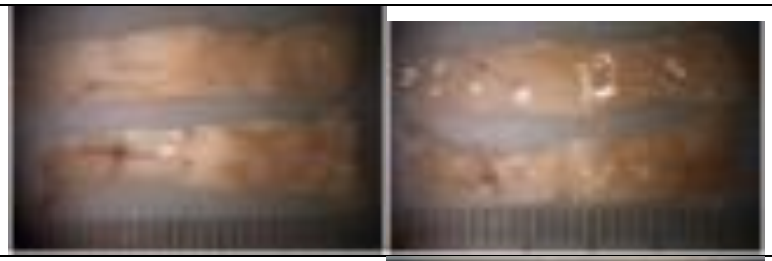
Sorprendentemente el grupo de animales tratados con el xerogel placebo, sin principio activo, mostró un nivel de actividad similar al observado con la espuma o la solución oral. Este resultado muestra un efecto positivo de los polisacáridos sobre la evolución de la enfermedad.

5 ANEXO 1. Resultados del análisis de los cambios fisiopatológicos

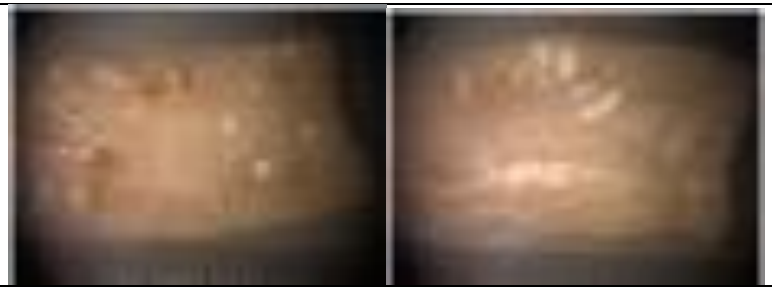
5.1 Grupo tratado con solución placebo

Descripción del fragmento	Imágenes	Evaluación alteraciones
Fragmento intestinal en dos mitades de 3 cm de largo y 2,5 cm de ancho sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada. - Algún punto con infiltrado inflamatorio leve en la lámina propia que no llega a destruir las glándulas.
Fragmento intestinal en dos mitades de 3 x 2,4 cm macroscópicamente con cambios de color a marrón oscuro y que presenta engrosamiento, una de las mitades presenta una lesión de color marrón oscuro intenso y de bordes irregulares.		- Pérdida de la mucosa intestinal por infiltrado inflamatorio moderado/severo con presencia de necrosis. - Grandes zonas de congestión vascular. - Pérdida de submucosa y muscular por infiltrado inflamatorio moderado/severo.
Fragmento intestinal de 3 cm en dos mitades sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada. - En algún punto se observan vasos congestivos muy grandes con infiltrado inflamatorio leve en la lámina propia.

Fragmento intestinal de 2,8 x 1,2 cm macroscópicamente sin lesión.		- Pared intestinal preservada en algunos puntos. - En una zona, erosión de la mucosa intestinal e infiltrado inflamatorio severo de toda la pared intestinal.
Fragmento intestinal en dos mitades, de 3 cm de largo y 2,2 cm de ancho sin lesión macroscópica aparente, pero con un mayor grosor que las muestras descritas sin lesión.		- Mucosa de colón preservada. - Algún punto con infiltrado inflamatorio leve que sustituye a alguna glándula.
Fragmento intestinal que mide 3 x 2,5 cm y con un engrosamiento de aprox. 0,5 cm con zonas de color marrón claro.		- Erosión de la mucosa intestinal por infiltrado inflamatorio severo e infiltrado inflamatorio moderado en submucosa y muscular. - Se observa algunas glándulas respetadas.
Fragmento intestinal en una sola pieza para su procesado de 3 cm sin lesión macroscópica.		- Mucosa de colon preservada. - Algunos puntos con infiltrado inflamatorio leve en la lámina propia. - Algunos puntos con vasos congestivos.

Fragmento intestinal en dos mitades de 2,6 cm con ligeros engrosamientos.		- Pared intestino grueso normal, en uno de los puntos las glándulas de la mucosa se pierden y han sido sustituidas por un infiltrado inflamatorio moderado.
Fragmento intestinal en una sola pieza para su procesado de 3 x 1,6 cm sin lesión macroscópica. Tiene un mayor grosor a diferencia de algunas muestras donde no se observan lesiones macroscópicas aparentes.		- Mucosa de colon preservada. - Algunos vasos congestivos. - En algunos puntos hay infiltrado inflamatorio leve en alguna glándula. - Muscularis y submucosa respetadas.
Fragmento intestinal de 2,8 cm en dos mitades que en la porción central presenta lesión color marrón oscuro y engrosamiento de 1,5 cm.		- Erosión de la mucosa por infiltrado inflamatorio moderado. - Toda la pared presenta infiltrado inflamatorio moderado.

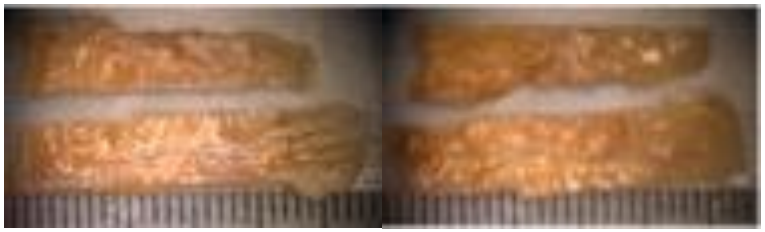
5.2 Grupo tratado con comprimidos placebo

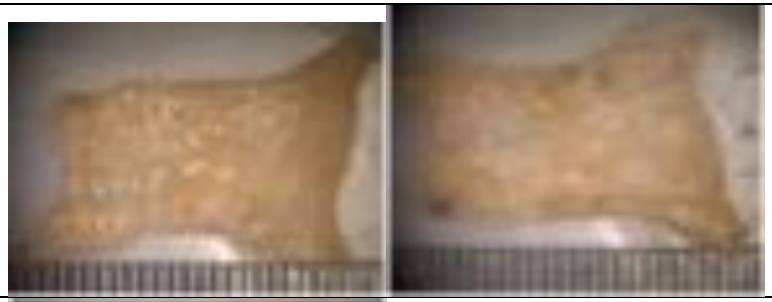
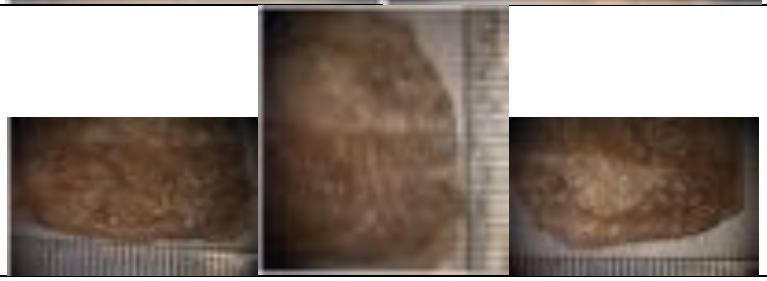
Descripción del fragmento	Imágenes	Evaluación alteraciones
Fragmento intestinal de 3 cm en dos mitades sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada con presencia de un nódulo linfoide en la lámina propia.
Fragmento intestinal en dos mitades de dimensiones irregulares: 3,2 x 2,8 cm en uno de sus extremos y de 1,6 cm en el extremo opuesto.	No realizada	- Pérdida de la mucosa intestinal por infiltrado inflamatorio moderado. - Todavía se observan algunas glándulas. - Infiltrado inflamatorio leve en submucosa y muscular.
Fragmento intestinal de 2,9 cm macroscópicamente normal en una sola pieza.		- Pared intestinal preservada.

Fragmento intestinal en una sola pieza de 2,8 x 1,6 cm con engrosamiento y cambio de color a marrón claro.		- Pared intestinal que en algunas zonas se observa mucosa preservada. - Zonas de la mucosa con algunos vasos congestivos e infiltrado inflamatorio leve en la lámina propia. - Infiltrado inflamatorio severo en forma de nódulos linfoides limitados únicamente en la capa submucosa. - Infiltrado inflamatorio moderado en capa muscular. - Congestión vascular en submucosa.
Fragmento intestinal en dos mitades de 2,5 x 2,8 cm con engrosamiento en toda la muestra.		- Pared de colon preservada en algunos puntos. - En algún punto, pared intestinal con erosión de la mucosa por infiltrado inflamatorio moderado. - Submucosa con infiltrado inflamatorio severo con formación de grandes nódulos linfoides. - Algunos vasos congestivos.
Fragmento intestinal de 3 cm sin lesión macroscópica aparente en un solo fragmento.		- Mucosa de colón preservada en muchos puntos. - Infiltrado inflamatorio leve en algún punto de la mucosa. - En submucosa, infiltrado inflamatorio leve y con presencia de vasos congestivos.

Fragmento intestinal de 2 cm y ligero engrosamiento.		- Pared intestino grueso preservada en muchas zonas. - En algunos puntos hay un infiltrado inflamatorio severo en forma de nódulos linfoides en la submucosa que en algunos puntos alcanzan a la mucosa destruyendo las glándulas. - Vasos congestivos en submucosa.
Fragmento intestinal en una sola pieza de 3,2 x 1,2 cm sin lesión macroscópica.		- Pared intestinal normal con algunos vasos congestivos en la submucosa.
Fragmento intestinal en una sola pieza para su procesado de 3 cm sin lesión macroscópica en la mayor parte de la superficie con excepción de uno de los extremos que se observa un ligero engrosamiento.		- Mucosa intestinal normal, pero con zonas de mucosa con erosión por infiltrado inflamatorio moderado que ha sustituido las glándulas y afecta a submucosa.

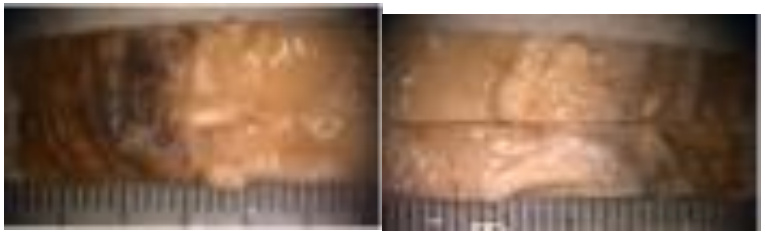
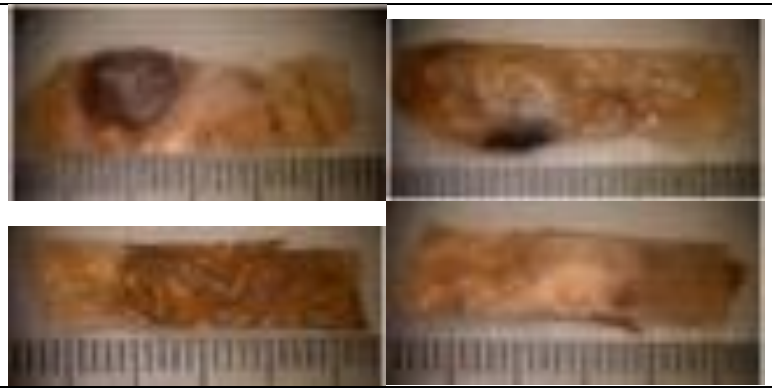
5.3 Grupo tratado con solución de acetónido de triamcinolona

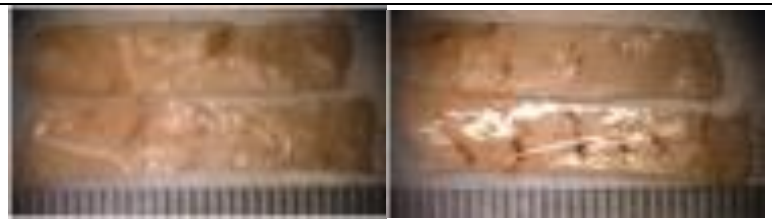
Descripción del fragmento	Imágenes	Evaluación alteraciones
Fragmento intestinal de 2,5 cm en dos mitades, sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada. - Algunos puntos donde se observa infiltrado inflamatorio leve que llega a sustituir alguna glándula. - Submucosa y muscularis respetadas con infiltrado inflamatorio leve.
Fragmento intestinal de 2,7 cm en dos mitades, en una mitad presenta una lesión pequeña con engrosamiento de 0,2 cm en un extremo y en el otro extremo un engrosamiento de color "blanquecino" de 0,5 cm. En la otra mitad presenta dos zonas de engrosamiento de color "blanquecino" en la parte central y en un extremo.		- Necrosis y erosión de la mucosa intestinal por infiltrado inflamatorio severo. - Infiltrado inflamatorio moderado en submucosa. - Puntos donde se observa la presencia de vasos congestivos en submucosa. - En algunas zonas se preserva la mucosa, pero con infiltrado inflamatorio leve y con la sustitución de algunas glándulas por un infiltrado inflamatorio leve.
Fragmento intestinal en dos mitades de 2,5 cm sin lesión macroscópica.		- Mucosa de colón preservada. - Se observa algún punto con infiltrado inflamatorio leve que sustituye a alguna glándula.

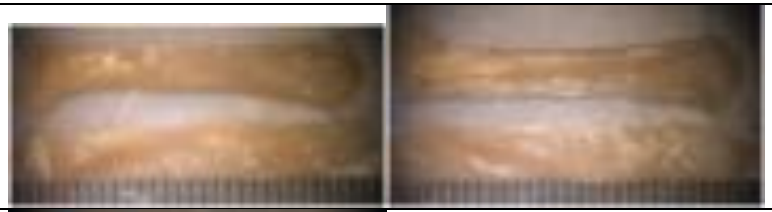
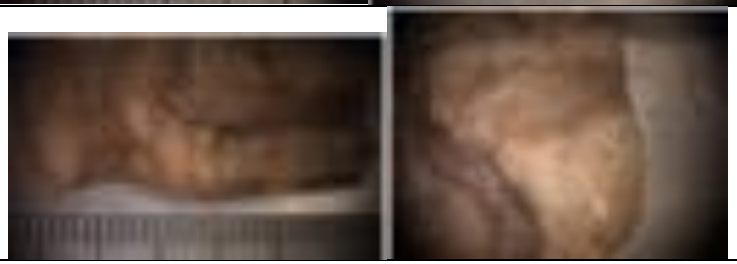
Fragmento intestinal sin lesión macroscópica en una sola pieza de 2,4 cm.		- La mayoría de la pared intestinal está preservada y en un punto de la mucosa hay erosión con pérdida de glándulas. - Infiltrado inflamatorio leve en submucosa.
Fragmento intestinal en dos mitades de 3 x 2,5 cm sin lesión macroscópica, tiene un mayor grosor a diferencia de algunas muestras donde no se observan lesiones macroscópicas aparentes.		- La mayor parte de la pared del colon está preservada. - En algunos puntos se observa infiltrado inflamatorio moderado en la capa muscular externa. - Congestión vascular en muscular.
Fragmento intestinal de 3 x 2 cm con engrosamiento y de color marrón oscuro en toda la muestra.		- Necrosis de la mucosa por infiltrado inflamatorio. - Infiltrado inflamatorio moderado en submucosa y muscular.

Fragmento intestinal sin lesión macroscópica aparente una sola pieza de 2,8 cm con ligero desgarro de la muestra y zonas con engrosamiento de la pared.		- Pared intestino grueso normal. - En algunos puntos se observa un infiltrado inflamatorio severo en forma de nódulos linfoides situados en submucosa y muscular.
Fragmento intestinal sin lesión macroscópica en una sola pieza de 2,3 cm.		- Pared intestinal completamente normal. - Leve infiltrado inflamatorio en lámina propia.
Fragmento intestinal en una sola pieza de 3 x 1 cm sin lesión macroscópica.		- Pared de colón normal. - Leve infiltrado inflamatorio en lámina propia. - En algunos puntos de la submucosa se observan vasos congestivos grandes.
Fragmento intestinal sin lesión macroscópica en una sola pieza de 2,6 cm.		- La mayoría de la pared es normal. - En una pequeña zona hay un infiltrado inflamatorio moderado en la submucosa que se extiende hacia la mucosa, erosionándola, con pérdida de algunas glándulas. - Vasos congestivos en submucosa.

5.4 Grupo tratado con espuma rectal

Descripción del fragmento	Imágenes	Evaluación alteraciones
Fragmento intestinal de 2,5 x 2 cm en dos mitades sin lesión macroscópica tiene un mayor grosor a diferencia de algunas muestras donde no se observan lesiones macroscópicas aparentes.		- Pared intestinal preservada.
Fragmento intestinal de 3 cm en dos mitades con engrasamiento de la pared de 1,5 cm de color marrón oscuro.		- Erosión y necrosis de la mucosa por infiltrado inflamatorio severo. - Infiltrado inflamatorio severo en submucosa. - Algunos puntos donde tanto la mucosa, submucosa y muscular han sido sustituidas por un infiltrado inflamatorio severo. - En algunos puntos las glándulas están preservadas.
Fragmento intestinal de 2,5 cm en dos mitades, con un engrosamiento de 7 mm en una de las mitades y en la otra mitad normal.		- Erosión de la mucosa intestinal por infiltrado inflamatorio severo. - Infiltrado inflamatorio severo en submucosa y muscular.

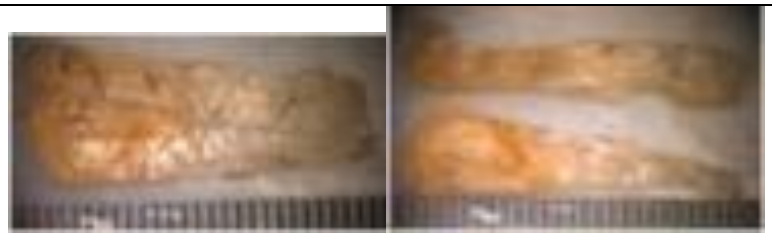
Fragmento intestinal en dos mitades, una de ellas mide 2,8 cm y la otra 2,6 cm, ambas sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada. - Algún punto con infiltrado inflamatorio muy leve que llega a infiltrar a algunas glándulas. - Submucosa y muscular respetadas, sólo en algunos puntos se observa la presencia de vasos congestivos.
Fragmento intestinal de 2,9 cm en dos mitades sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada. - En algún punto donde se observa infiltrado inflamatorio leve que llega a sustituir alguna glándula. - Mucosa y muscularis mucosae respetadas.
Fragmento intestinal de 2,5 cm en dos mitades, que en la porción central presenta lesión de 1,2 cm.		- A nivel de la submucosa se observa en uno de los puntos un infiltrado inflamatorio severo. - Colón preservado en la mayoría de los puntos. Sólo en un punto hay pérdida de glándulas con erosión de estas por un infiltrado inflamatorio moderado que infiltra toda la mucosa.

Fragmento intestinal de 3 cm en dos mitades sin lesiones macroscópicas.		- Mucosa de colón preservada.
Fragmento intestinal en una sola pieza para su procesado con lesión en uno de los extremos de color marrón oscuro y engrosamiento.		- Abundante pared de colon preservada. - En algún punto se observa infiltrado inflamatorio leve/moderado en la submucosa que se extiende hasta la mucosa produciendo erosión y necrosis glandular.
Fragmento intestinal en dos mitades de 2,7 x 2,4 cm presenta lesión y engrosamiento en la mayor parte de la superficie de la muestra, algunas zonas de color marrón oscuro.		- Pared de intestino grueso normal.

Fragmento intestinal de forma irregular en sus dimensiones con lesión macroscópica de color marrón en casi toda la superficie. De aprox. 3 cm de largo y un extremo engrosado de 2,7 cm, el otro extremo de 1,9cm sin cambio de color y sin engrosamiento.		- Necrosis y congestión en toda la pared intestinal con infiltrado inflamatorio moderado.

5.5 Grupo tratado con comprimido de acetónido de triamcinolona

Descripción del fragmento	Imágenes	Evaluación alteraciones
Fragmento intestinal en una sola pieza sin lesión macroscópica aparente excepto en una de las paredes que se observa un ligero engrosamiento.		- Mucosa de colón preservada. - En algún punto hay infiltrado inflamatorio muy leve que sustituye a alguna glándula. - En submucosa y muscularis se observan algunos vasos congestivos.
Fragmento intestinal en dos mitades de 2,9 cm. En la porción superior y media presenta una lesión circular de color marrón en una de las mitades, en la otra mitad presenta en la parte superior y media una lesión circular un poco más pequeña y de color marrón, en la porción inferior sin lesión.		- Mucosa intestinal con algunas zonas preservadas. - En algunos puntos con erosión y necrosis de la mucosa. - En puntos con infiltrado inflamatorio moderado en mucosa que sustituye a alguna glándula.
Fragmento intestinal en una sola pieza de 2,8 x 1,2 cm sin lesión macroscópica aparente excepto en una de las paredes que se observa un ligero engrosamiento.		- Pared de colón preservada.

Fragmento intestinal en dos mitades de 2,6 cm con ligero engrosamiento en un extremo de cada mitad y sin lesión macroscópica aparente.		- Mucosa de colón preservada. - En algún punto hay erosión de la mucosa con pérdida de glándulas e infiltrado inflamatorio moderado/severo. - Submucosa y muscular con infiltrado inflamatorio leve. - Algunas zonas donde se observan vasos congestivos.
Fragmento intestinal en una sola pieza de 2,9 cm con engrosamiento de 1 cm, con lesión de color marrón.		- Necrosis de la mucosa intestinal. - Infiltrado inflamatorio severo en submucosa y leve en muscular.
Fragmento intestinal de 2,8 cm (un solo fragmento) con lesión macroscópica en un extremo y de color marrón oscuro de 1,7 cm.		- Necrosis de la mucosa intestinal. - Infiltrado inflamatorio severo en submucosa y leve en muscular. - En algunas zonas la pared intestinal está preservada.

Fragmento intestinal en una sola pieza para su procesado de 3 x 1 cm aparentemente sin lesión		- Pared intestinal preservada. - En submucosa y en algunos puntos hay un importante infiltrado inflamatorio formando nódulos que protruyen en la mucosa. No se observa lesión.
Fragmento intestinal en una sola pieza de 2,6 x 1 cm sin lesión macroscópica.		- Pared intestinal sin lesiones con mucosa de colon preservada. - Leve infiltrado infamatorio en lámina propia.

DISCUSIÓN GENERAL

DISCUSIÓN GENERAL

Con el objetivo de formular y evaluar la idoneidad de hidrogeles biodegradables de polisacáridos para la liberación colónica de fármacos, en el trabajo realizado se han empleado diversas técnicas *in vitro*, así como estudios *in vivo*.

Se realizaron análisis mediante Espectroscopía por Transformada de Fourier de Infrarrojo (FTIR) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC) para evaluar los efectos de la compresión en la goma xantana y la goma de garrofina. Los resultados obtenidos de ambos análisis no indicaron cambios significativos en las propiedades químicas o estructurales de los polisacáridos tras someterlos al proceso de compresión, ni en los polisacáridos de forma individual ni en la mezcla de ambos.

En el espectro de FTIR, que proporciona información sobre los grupos funcionales presentes en las moléculas y puede indicar cambios en la estructura química, no se detectaron diferencias notables tras la compresión. Esto sugiere que la compresión a la que fueron sometidos los polisacáridos no alteró de manera detectable sus estructuras químicas o conformaciones moleculares.

Por otro lado, el análisis mediante DSC, que evalúa las transiciones térmicas de las muestras, como la transición vítrea, también mostró resultados consistentes

antes y después de la compresión. Las curvas de DSC revelaron los típicos valores de temperatura de transición vítrea (Tg) para estos polisacáridos, situándose entre -10°C y -12°C, sin evidenciar cambios atribuibles al proceso de compresión.

También se analizó detalladamente el comportamiento reológico de dispersiones acuosas de goma xantana y goma garrofina, tanto en forma individual como en mezclas de diferentes proporciones, antes y después de un proceso de compresión. Se observó que la dispersión acuosa sin comprimir de goma xantana exhibe un perfil pseudoplástico de Bingham, caracterizado por un esfuerzo de fluencia inicial de 1,3 Pa, seguido de un comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento con un aumento en la tasa de cizallamiento. En contraste, la dispersión de goma garrofina mostró una viscosidad considerablemente más baja sin un esfuerzo de fluencia aparente y un típico comportamiento de adelgazamiento por cizallamiento. Las mezclas de ambos polisacáridos presentaron comportamientos pseudoplásticos variados, influenciados por la proporción de los componentes en la mezcla.

Se utilizó el modelo de Ley de Potencia para ajustar las curvas de viscosidad después del esfuerzo de fluencia, obteniendo un ajuste excelente. Los resultados mostraron que todas las mezclas y componentes puros exhibieron un índice de comportamiento de flujo menor que 1, indicativo de adelgazamiento por cizallamiento. El análisis reveló que la desviación del comportamiento newtoniano es más pronunciada en las dispersiones de goma xantana y sus mezclas que en las de goma garrofina, y que el índice de consistencia, que refleja la viscosidad de la dispersión, fue mayor para goma xantana comparado con la goma garrofina. Tras la compresión, se notó una disminución en la viscosidad de las dispersiones de goma xantana, atribuible a cambios estructurales en el polisacárido que podrían haber afectado sus propiedades reológicas. Las mezclas de goma xantana y goma garrofina mostraron un aumento en la viscosidad después de la compresión, particularmente en aquellas con un mayor contenido de goma xantana, lo que sugiere cambios en las interacciones entre los polisacáridos debido al proceso de compresión.

Se realizaron además experimentos de reología oscilatoria para explorar en mayor detalle los cambios en el comportamiento reológico. Estos experimentos confirmaron diferencias significativas en el comportamiento de las dispersiones de goma xantana y goma garrofina, con las dispersiones de goma xantana formando una red tridimensional más estable que las de goma garrofina. La

pre-compresión alteró significativamente el comportamiento reológico de las mezclas, indicando un efecto sinérgico potenciado por la compresión.

Se investigó también el efecto de la temperatura en las dispersiones de mezclas pre-comprimidas, preparadas tanto en agua fría como caliente, para entender el impacto de los cambios conformacionales inducidos por la temperatura. Los resultados indicaron que la pre-compresión y la preparación en agua caliente pueden promover interacciones más fuertes entre los polisacáridos, afectando las propiedades viscoelásticas y la capacidad de recuperación elástica de las dispersiones.

También se evaluó el comportamiento de difusión de un corticosteroide sintético, el acetónido de triamcinolona, a través de hidrogeles compuestos por los polisacáridos pre-comprimidos, determinando el coeficiente de difusión en los hidrogeles y la microviscosidad de estos. Los análisis revelaron que no hubo diferencias significativas en los coeficientes de difusión entre los hidrogeles de goma xantana y goma garrofina, ni en sus mezclas, lo cual se determinó a través de pruebas ANOVA y comparaciones múltiples de Tukey. Además, se constató que todas las mezclas presentaban microviscosidades similares, ligeramente superiores a la viscosidad del agua a 37°C, lo que indica que la compresión previa de los polisacáridos no afectó significativamente estas propiedades.

Para profundizar en la capacidad de los hidrogeles para la liberación controlada de fármacos, se prepararon xerogeles de goma xantana, goma garrofina y sus mezclas, evaluando sus propiedades de absorción de agua, hinchamiento y liberación de fármacos. Los xerogeles mostraron un hinchamiento significativamente mayor en un medio a pH 6,8 en comparación con un pH 1,2, reflejando la influencia del pH en la ionización de los grupos ácidos presentes en las cadenas de goma xantana y, por ende, en la expansión de las cadenas.

La liberación de fármacos desde los xerogeles fue estudiada en simulaciones de fluido gástrico e intestinal, mostrando una liberación sostenida de dos fármacos modelo, ciprofloxacino y acetónido de triamcinolona, en ambos medios. Sin embargo, se observaron diferencias en la tasa de liberación según el fármaco y el pH del medio, con ajustes a modelos de difusión y liberación de orden pseudo-cero, según el caso. Estas diferencias pueden atribuirse a la solubilidad variable de los fármacos en los distintos pH y a las posibles interacciones entre los fármacos y los componentes de los xerogeles.

El estudio comparativo de la capacidad bioadhesiva de hidrogeles compuestos por goma xantana, goma garrofina o sus mezclas, reveló resultados significativos bajo diferentes condiciones de humectación. En una simulación que imita la aplicación de hidrogeles en superficies mucosas como la mucosa bucal o vaginal, con una cantidad limitada de fluido, la goma garrofina demostró una baja capacidad bioadhesiva en comparación con la goma xantana y el polímero de referencia Carbopol 940. Por el contrario, la goma xantana exhibió valores notoriamente más altos de fuerza y trabajo de bioadhesión, particularmente a pH 4,5, superando incluso al Carbopol 940. Las mezclas de goma xantana y goma garrofina mostraron un comportamiento bioadhesivo mejorado en relación con la goma garrofina sola, pero aún inferior al de la goma xantana sola. En condiciones simuladas con una gran cantidad de medio que baña las mucosas, como en sistemas administrados por vía oral, se observó una disminución significativa en los valores de fuerza máxima y trabajo de bioadhesión para todos los xerogeles, excepto para el de goma garrofina, que mantuvo los mayores valores de fuerza máxima. Sin embargo, el trabajo de bioadhesión no mostró diferencias entre los componentes.

La capacidad de difusión en el sustrato y la resistencia mecánica son cruciales para la bioadhesión. Los estudios con un volumen limitado de medio sugirieron que la cantidad de medio utilizada podría ser insuficiente para una hidratación adecuada de la interfase bioadhesiva para la goma garrofina. En el resto de los componentes y en la mezcla de goma xantana y goma garrofina, se formó una interfaz gelificada entre el xerogel y el sustrato, con niveles de bioadhesión adecuados. Cuando se realizaron ensayos sumergidos en fluidos, los valores de bioadhesión disminuyeron, salvo para la goma garrofina. El exceso de medio favoreció el hinchamiento del xerogel y la formación de una interfase más hidratada y menos resistente, lo que resultó en una disminución de la capacidad de bioadhesión. Los xerogeles de goma garrofina mostraron una fuerza máxima superior, indicando una interfaz más rígida, pero las propiedades plásticas y elásticas de los otros componentes compensaron la menor fuerza necesaria con un aumento del trabajo necesario para la rotura total de la unión bioadhesiva. En general, los xerogeles demostraron una capacidad de bioadhesión similar al polímero de referencia Carbopol 940 en ambas condiciones simuladas.

El análisis de los perfiles de difusión de acetónido de triamcinolona a través de dispersiones elaboradas con goma xantana, goma garrofina y sus mezclas al 50%, junto con hidroxipropil-β-ciclodextrina y γ-ciclodextrina, reveló varios hallazgos

significativos. Todos los perfiles mostraron un ajuste a un proceso de difusión del fármaco a través de los polisacáridos, con un coeficiente de determinación superior al 99%. En ausencia de ciclodextrinas, la difusión del fármaco en las dispersiones de polisacáridos exhibió valores similares, con un ligero aumento en la velocidad de difusión después de la precompresión, aunque no significativo. La adición de hidroxipropil-β-ciclodextrina al 5% no alteró la difusividad del fármaco en las dispersiones, pero al aumentar la concentración al 10%, se observó una ligera tendencia a reducir la difusividad, especialmente con la goma xantana y sus mezclas. La incorporación de γ-ciclodextrina redujo la difusividad a partir del 5% en todos los casos, siendo más pronunciada en la goma xantana y en sus mezclas. Esta reducción se correlacionó linealmente con la concentración de γ-ciclodextrina. La inclusión de ciclodextrinas en las dispersiones pudo favorecer la interacción con el principio activo, formando complejos de inclusión. Estos complejos, de mayor peso y tamaño molecular que los fármacos libres, causaron una difusión más lenta, especialmente en medios más viscosos (las dispersiones obtenidas con la goma xantana o con las mezclas de goma xantana y goma garrofina). La liberación del acetónido de triamcinolona fue independiente del pH del medio, y no se observaron diferencias significativas entre las formulaciones con distintas cantidades de fármaco. Sin embargo, la incorporación de γ-ciclodextrina aumentó significativamente la velocidad y cantidad de fármaco liberado en ambos medios. La cantidad de γ-ciclodextrina incorporada influyó en la velocidad de liberación, aumentándola con su proporción en la mezcla. El uso de un proceso de malaxado no afectó la cinética de liberación.

Los resultados de las cinéticas indicaron que el proceso de liberación del fármaco se ajustó mejor a una cinética de orden 0 que a la de difusión. La presencia de γ-ciclodextrina no modificó el mecanismo de liberación, pero aumentó la velocidad de liberación debido al incremento de la solubilidad del complejo de inclusión formado entre el acetónido de triamcinolona y la γ-ciclodextrina. Esta mayor hidrosolubilidad minimizó el efecto del complejo sobre la velocidad de difusión.

Todos los resultados obtenidos con técnicas *in vitro* sugieren que los hidrogeles formulados utilizando mezclas de goma xantana y goma garrofina, ofrecen un gran potencial para el desarrollo de sistemas de liberación controlada de fármacos, con aplicaciones específicas como el tratamiento de enfermedades inflamatorias del intestino grueso. Esta aplicación se basa en la capacidad de estos hidrogeles para liberar lentamente el fármaco hasta alcanzar el colon, donde

la actividad de la flora colónica puede desencadenar la liberación del fármaco restante. Además, queda claro el alto grado de flexibilidad de estos sistemas, al permitir un ajuste preciso de la liberación de fármacos a través del ajuste de las proporciones de los componentes, así como a través de distintos factores ambientales, tales como pH o temperatura, que permitirían modular las características del sistema según las características del lugar de liberación. La adición de ciclodextrinas permitiría incluso modular al alza la velocidad de liberación cuando se requiere. Además, las buenas propiedades de bioadhesión obtenidas con los xerogeles, abren la puerta a la formulación de sistemas de liberación controlada para su administración en mucosas, con un posible incremento del tiempo de permanencia en el lugar de liberación.

Finalmente, se ha realizado un estudio de actividad comparativo *in vivo*, utilizando un modelo experimental para inducir inflamación intestinal mediante la administración de TNBS a ratas. Este modelo resulta útil para evaluar la eficacia de fármacos y tratamientos potenciales para la colitis ulcerosa, como antiinflamatorios, inmunomoduladores o agentes dirigidos a citocinas inflamatorias. El aumento de la producción de citocinas proinflamatorias es una característica asociada a este modelo, con un aumento en la producción de citocinas como el TNF-α, IL-1β e IL-6, contribuyendo a la cascada inflamatoria. Además, se producen cambios histológicos en el tejido colónico, incluyendo edema, ulceración y engrosamiento de la mucosa, reproduciendo características similares a las observadas en pacientes con colitis ulcerosa.

La pérdida de peso normalizada en los animales sometidos a diferentes tratamientos muestra que los xerogeles que contienen el fármaco causan una pérdida de peso más lenta en comparación con otros tratamientos. Los niveles de mieloperoxidasa y edema colónico también se ven influenciados por los diferentes tratamientos, con valores más bajos en el grupo tratado con xerogel con acetónido de triamcinolona. Los resultados sugieren un incremento de la actividad clínica del acetónido de triamcinolona cuando se administra en forma de xerogel elaborado con la mezcla de polisacáridos. Además, el grupo de animales tratados con el xerogel placebo, sin principio activo, muestra un nivel de actividad similar a los tratados con la espuma rectal o la solución oral, lo que sugiere un efecto positivo de los polisacáridos sobre la evolución de la enfermedad. Estos resultados sugieren la posible actividad terapéutica de los polisacáridos naturales en la enfermedad inflamatoria intestinal, posiblemente mediada por la microbiota intestinal y sus productos fermentativos, como los

ácidos grasos de cadena corta, que pueden mejorar la respuesta inmunitaria de la mucosa del huésped y reparar la barrera intestinal dañada.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

El capítulo 1 describe un estudio sobre la viscosidad y el comportamiento reológico de las dispersiones de goma xantana y goma garrofina en agua. Se observó que la goma xantana tiene una mayor viscosidad y exhibe un comportamiento pseudoplástico de Bingham, mientras que la goma garrofina tiene una viscosidad menor y un comportamiento de adelgazamiento por cizalladura. Las mezclas de ambas gomas mostraron un comportamiento pseudoplástico de Bingham con valores variables de esfuerzo de cizallamiento de rendimiento en función de la composición de la mezcla.

Se observó que la goma xantana y sus mezclas se desviaban más del comportamiento newtoniano que la goma garrofina, y los valores del índice de comportamiento de flujo (n) se correlacionaban con la proporción de goma xantana/goma garrofina en la mezcla. El índice de consistencia (K) mostró que la goma xantana producía la dispersión más viscosa mientras que la goma garrofina daba lugar a la menos viscosa. Sin embargo, todas las mezclas de goma xantana/goma garrofina mostraron valores de K similares, independientemente de la proporción de goma en la mezcla.

La pre-compresión de la goma xantana causó una disminución en la viscosidad de las dispersiones, mientras que la compresión de la goma garrofina apenas

alteró su comportamiento reológico. Además, se observó que la temperatura también afectaba la viscosidad de las dispersiones de la goma xantana.

Las pruebas de reología oscilatoria revelaron diferencias marcadas entre las dispersiones de goma xantana y las de goma garrofina. La goma xantana formó una red tridimensional con enlaces duraderos, mientras que la goma garrofina exhibió una red de corta duración. La pre-compresión de las gomas alteró significativamente el comportamiento reológico de las mezclas, aumentando los valores de los módulos de almacenamiento y pérdida.

Las pruebas de difusión de fármacos revelaron que los geles de las mezclas de gomas xantana y garrofina no mostraron diferencias significativas en los perfiles de difusión, y las microviscosidades de las dispersiones de hidrogel eran similares a las del agua. En cuanto a la liberación de fármacos, se observó una liberación sostenida en los geles obtenidos, y las tasas de liberación variaron en función del pH y del fármaco utilizado. La goma garrofina mostró la misma tasa de liberación en ambos niveles de pH, mientras que la goma xantana y las mezclas de goma xantana y goma garrofina mostraron una tasa de liberación más baja a pH 6,8. La liberación del fármaco acetónido de triamcinolona fue lenta e independiente del pH y de la composición del xerogel.

En resumen, el estudio concluye que la pre-compresión de gomas y la temperatura pueden ser parámetros efectivos para la modulación de las propiedades de hinchamiento y liberación de hidrogel.

Los estudios de bioadhesión revelan que los hidrogeles de goma xantana, goma garrofina y sus mezclas presentan propiedades bioadhesivas adecuadas, dependiendo de las condiciones de hidratación. Estos hidrogeles tienen una bioadhesión similar al Carbopol 940, lo que los hace interesantes para la formulación de medicamentos destinados a la administración en mucosas.

La incorporación de ciclodextrinas a las mezclas de polisacáridos empleadas en la fabricación de los xerogeles influyen de manera significativa en la difusión y liberación del fármaco acetónido de triamcinolona.

La γ-ciclodextrina ha demostrado tener una influencia más pronunciada que la hidroxipropil-β-ciclodextrina en la difusión del acetónido de triamcinolona en los hidrogeles, destacando especialmente en aquellos elaborados con goma xantana o sus mezclas con goma garrofina. Esta diferencia puede atribuirse al

mayor tamaño molecular de los complejos de inclusión formados con la γ-ciclodextrina y a la mayor viscosidad de estas mezclas.

La incorporación de la γ-ciclodextrina tiene un efecto significativo en la capacidad de liberación del acetónido de triamcinolona desde los xerogeles. El aumento de la solubilidad del acetónido de triamcinolona, probablemente debido a la formación del complejo de inclusión in situ, parece desempeñar un papel crucial en este proceso.

Los hidrogeles elaborados a partir de estas mezclas son capaces de liberar de manera prácticamente constante su contenido a lo largo de 24 horas, lo cual confiere a estos sistemas un gran potencial para la liberación de fármacos a lo largo de todo el tracto gastrointestinal, especialmente a nivel del colon.

Se ha realizado un estudio de efectividad clínica de los hidrogeles de goma xantana y goma garrofina empleando un modelo de colitis ulcerosa inducida mediante TNBS.

Se ha analizado para ello la variación de peso tras la inducción y durante los diferentes tratamientos, así como los niveles de mieloperoxidasa, el índice de edema y la puntuación de la actividad clínica. Para ello se han estudiado diferentes tratamientos además de los hidrogeles conteniendo el acetónido de triamcinolona.

Los resultados muestran la mejor actividad de los hidrogeles frente a la espuma rectal o a la disolución de acetónido de triamcinolona administrada oralmente.

Sorprendentemente el grupo de animales tratados con el xerogel placebo, sin principio activo, mostró un nivel de actividad similar al observado con la espuma o la solución oral. Este resultado muestra un efecto positivo de los polisacáridos sobre la evolución de la enfermedad.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Negussie AB, Dell AC, Davis BA, Geibel JP. Colonic Fluid and Electrolyte Transport 2022: An Update. Cells [Internet]. 2022 May 1 [cited 2024 Jan 5];11(10). Available from: /pmc/articles/PMC9139964/

2. Banks MR, Farthing MJG. Fluid and electrolyte transport in the small intestine. Curr Opin Gastroenterol [Internet]. 2002 [cited 2024 Jan 5];18(2):176–81. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17033283/

3. Irving MH. ABC of Colorectal Diseases ANATOMY AND PHYSIOLOGY OF THE COLON, RECTUM, AND ANUS. BMJ [Internet]. 1992;304. Available from: http://www.bmj.com/

4. Tan J, McKenzie C, Potamitis M, Thorburn AN, Mackay CR, Macia L. The role of short-chain fatty acids in health and disease. Adv Immunol [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 5];121:91–119. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24388214/

5. Flint HJ, Scott KP, Louis P, Duncan SH. The role of the gut microbiota in nutrition and health. Nat Rev Gastroenterol Hepatol [Internet]. 2012 Oct [cited 2024 Jan 5];9(10):577–89. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22945443/

6. Geuking MB, Köller Y, Rupp S, McCoy KD. The interplay between the gut microbiota and the immune system. Gut Microbes [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 5];5(3). Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.4161/gmic.29330

7. Ellis H, Mahadevan V. Anatomy of the caecum, appendix and colon. Surgery (Oxford). 2014 Apr 1;32(4):155–8.

8. Compton CC, Byrd DR, Garcia-Aguilar J, Kurtzman SH, Olawaiye A, Washington MK. Colon and Rectum. AJCC Cancer Staging Atlas [Internet].

2012 [cited 2024 Jan 5];185–201. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4614-2080-4_14

9. Edwards C. Physiology of the colorectal barrier. Adv Drug Deliv Rev. 1997 Nov 10;28(2):173–90.

10. Levine DS, Haggitt RC. Normal histology of the colon. Am J Surg Pathol [Internet]. 1989 [cited 2024 Jan 6];13(11):966–84. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2679155/

11. Hollerweger A. Colonic diseases: the value of US examination. Eur J Radiol [Internet]. 2007 Nov [cited 2024 Jan 6];64(2):239–49. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17889476/

12. Alonso VR, Guarner F. Linking the gut microbiota to human health. Br J Nutr [Internet]. 2013 Jan [cited 2024 Jan 6];109 Suppl 2(SUPPL. 2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23360877/

13. Wang B, Yao M, Lv L, Ling Z, Li L. The Human Microbiota in Health and Disease. Engineering. 2017 Feb 1;3(1):71–82.

14. Kataoka K. The intestinal microbiota and its role in human health and disease. J Med Invest [Internet]. 2016 Apr 1 [cited 2024 Jan 6];63(1–2):27–37. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27040049/

15. O'Keefe SJD. Nutrition and colonic health: the critical role of the microbiota. Curr Opin Gastroenterol [Internet]. 2008 Jan [cited 2024 Jan 6];24(1):51–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18043233/

16. Cheifetz AS. Management of active Crohn disease. JAMA [Internet]. 2013 May 22 [cited 2024 Jan 6];309(20):2150–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23695484/

17. Katz JA. Management of inflammatory bowel disease in adults. J Dig Dis [Internet]. 2007 May [cited 2024 Jan 6];8(2):65–71. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17532817

18. Yang YX, Lichtenstein GR. Corticosteroids in Crohn's disease. Am J Gastroenterol. 2002 Apr 1;97(4):803–23.

19. Pithadia AB, Jain S. Treatment of inflammatory bowel disease (IBD). Pharmacol Rep [Internet]. 2011 [cited 2024 Jan 6];63(3):629–42. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21857074/

20. Chang S, Hanauer S. Optimizing pharmacologic management of inflammatory bowel disease. Expert Rev Clin Pharmacol [Internet]. 2017 Jun 3 [cited 2024 Jan 6];10(6):595–607. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28475384/

21. Jailwala J, Imperiale TF, Kroenke K. Pharmacologic treatment of the irritable bowel syndrome: a systematic review of randomized, controlled trials. Ann Intern Med [Internet]. 2000 Jul 18 [cited 2024 Jan 6];133(2):136–47. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10896640/

22. Alfaro A, Castillo M, García C, Esteban Alfaro Alfaro Á, Murillo Castillo B, Cordero García E, et al. Colon Cancer Pharmacogenetics: A Narrative Review. Pharmacy 2022, Vol 10, Page 95 [Internet]. 2022 Aug 5 [cited 2024 Jan 6];10(4):95. Available from: https://www.mdpi.com/2226-4787/10/4/95/htm

23. Tursi A. Preventing recurrent acute diverticulitis with pharmacological therapies. Ther Adv Chronic Dis [Internet]. 2013 [cited 2024 Jan 6];4(6):277–86. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24179670/

24. Pichler H, Diridl G, Wolf D. Ciprofloxacin in the treatment of acute bacterial diarrhea: a double blind study. Eur J Clin Microbiol [Internet]. 1986 Apr [cited 2024 Jan 6];5(2):241–3. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2941290/

25. Guarino A, Buccigrossi V, Armellino C. Colon in acute intestinal infection. J Pediatr Gastroenterol Nutr [Internet]. 2009 Apr [cited 2024 Jan 6];48 Suppl 2(SUPPL. 2). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19300128/

26. Theodoropoulou A, Koutroubakis IE. Ischemic colitis: Clinical practice in diagnosis and treatment. World Journal of Gastroenterology : WJG [Internet]. 2008 Dec 12 [cited 2024 Jan 6];14(48):7302. Available from: /pmc/articles/PMC2778113/

27. Storr MA. Microscopic colitis: epidemiology, pathophysiology, diagnosis and current management-an update 2013. ISRN Gastroenterol [Internet].

2013 Apr 18 [cited 2024 Jan 6];2013:1–12. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23691336/

28. Wall GC, Schirmer LL, Page MJ. Pharmacotherapy for microscopic colitis. Pharmacotherapy [Internet]. 2007 Mar [cited 2024 Jan 6];27(3):425–33. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17316153/

29. Philip AK, Philip B. Colon Targeted Drug Delivery Systems: A Review on Primary and Novel Approaches. Oman Med J [Internet]. 2010 Apr 1 [cited 2024 Jan 4];25(2):79. Available from: /pmc/articles/PMC3215502/

30. McCoubrey LE, Favaron A, Awad A, Orlu M, Gaisford S, Basit AW. Colonic drug delivery: Formulating the next generation of colon-targeted therapeutics. Journal of Controlled Release. 2023 Jan 1;353:1107–26.

31. Lee SH, Bajracharya R, Min JY, Han JW, Park BJ, Han HK. Strategic Approaches for Colon Targeted Drug Delivery: An Overview of Recent Advancements. Pharmaceutics 2020, Vol 12, Page 68 [Internet]. 2020 Jan 15 [cited 2024 Jan 4];12(1):68. Available from: https://www.mdpi.com/1999-4923/12/1/68/htm

32. Ashique S, Sandhu NK, Chawla V, Chawla PA. Targeted Drug Delivery: Trends and Perspectives. Curr Drug Deliv [Internet]. 2021 Jun 21 [cited 2024 Jan 6];18(10):1435–55. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34151759/

33. Belali N, Wathoni N, Muchtaridi M. Advances in orally targeted drug delivery to colon. J Adv Pharm Technol Res [Internet]. 2019 Jul 1 [cited 2024 Jan 6];10(3):100–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31334090/

34. Qureshi AM, Momin M, Rathod S, Dev A, Kute C. Colon targeted drug delivery system: A review on current approaches. Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research [Internet]. 2013 Oct 31 [cited 2024 Jan 6];1(04):130–47. Available from: http://www.ijpbr.in/index.php/IJPBR/article/view/965

35. McConnell EL, Liu F, Basit AW. Colonic treatments and targets: issues and opportunities. J Drug Target [Internet]. 2009 Jun [cited 2024 Jan 6];17(5):335–63. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10611860902839502

36. Sinha VR, Singh A, Kumar R V., Singh S, Kumria R, Bhinge JR. Oral colon-specific drug delivery of protein and peptide drugs. Crit Rev Ther Drug Carrier Syst [Internet]. 2007 [cited 2024 Jan 12];24(1):63–92. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17430100/

37. Mackay M, Phillips J, Hastewell J. Peptide drug delivery: Colonic and rectal absorption. Adv Drug Deliv Rev. 1997 Nov 10;28(2):253–73.

38. S. Dhaneshwar S, Vadnerkar G. Rational design and development of colon-specific prodrugs. Curr Top Med Chem [Internet]. 2011 Aug 29 [cited 2024 Jan 12];11(18):2318–45. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21671865/

39. Sinha VR, Kumria R. Colonic drug delivery: prodrug approach. Pharm Res [Internet]. 2001 [cited 2024 Jan 12];18(5):557–64. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11465408/

40. Khan MZI, Prebeg Ž, Kurjaković N. A pH-dependent colon targeted oral drug delivery system using methacrylic acid copolymers: I. Manipulation of drug release using Eudragit® L100-55 and Eudragit® S100 combinations. Journal of Controlled Release. 1999 Mar 29;58(2):215–22.

41. Chourasia MK, Jain SK. Polysaccharides for Colon Targeted Drug Delivery. Drug Deliv [Internet]. 2004 Mar [cited 2024 Jan 4];11(2):129–48. Available from: https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10717540490280778

42. Ibrahim IM. Advances in Polysaccharide-Based Oral Colon-Targeted Delivery Systems: The Journey So Far and the Road Ahead. Cureus [Internet]. 2023 Jan 11 [cited 2024 Jan 4];15(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36788847/

43. Sun Y, Jing X, Ma X, Feng Y, Hu H. Versatile Types of Polysaccharide-Based Drug Delivery Systems: From Strategic Design to Cancer Therapy. International Journal of Molecular Sciences 2020, Vol 21, Page 9159 [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2023 Dec 30];21(23):9159. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/21/23/9159/htm

44. Sinha VR, Kumria R. Polysaccharides in colon-specific drug delivery. Int J Pharm. 2001;224(1–2):19–38.

45. Coviello T, Matricardi P, Marianecci C, Alhaique F. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. Journal of Controlled Release. 2007 May 14;119(1):5–24.

46. Time-Dependent Systems for Colonic Delivery. Modified-Release Drug Delivery Technology [Internet]. 2002 Nov 7 [cited 2024 Jan 12];267–72. Available from: https://www.taylorfrancis.com/chapters/edit/10.1201/9780203910337-23/time-dependent-systems-colonic-delivery-wang-wang-lee-gour-mukherji-clive-wilson

47. Verma S, Saini S, Rawat A, Kaul M. Formulation, Evaluation and Optimization of Osmotically Controlled Colon Targeted Drug Delivery System.

48. Peppas NA, Bures P, Leobandung W, Ichikawa H. Hydrogels in pharmaceutical formulations. Eur J Pharm Biopharm [Internet]. 2000 Jul 3 [cited 2024 Jan 7];50(1):27–46. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10840191/

49. Goswami S, Naik S. Natural gums and its pharmaceutical application. Journal of Scientific and Innovative Research [Internet]. 2014 [cited 2024 Jan 7];3(1):112–21. Available from: www.jsirjournal.com

50. Bhardwaj TR, Kanwar M, Lal R, Gupta A. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. Drug Dev Ind Pharm [Internet]. 2000 [cited 2024 Jan 7];26(10):1025–38. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11028217/

51. Rowe R, Sheskey P, Quinn M. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Handbook of pharmaceutical excipients, Sixth edition. 2009;549–53.

52. Petri DFS. Xanthan gum: A versatile biopolymer for biomedical and technological applications. J Appl Polym Sci [Internet]. 2015 Jun 15 [cited 2024 Jan 7];132(23):42035. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/app.42035

53. Urlacher B, Noble O. Xanthan gum. Thickening and Gelling Agents for Food [Internet]. 1997 [cited 2024 Jan 7];284–311. Available from: https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-1-4615-2197-6_13

54. Katzbauer B. Properties and applications of xanthan gum. Polym Degrad Stab. 1998 Jan 3;59(1–3):81–4.

55. Barak S, Mudgil D. Locust bean gum: Processing, properties and food applications—A review. Int J Biol Macromol. 2014 May 1;66:74–80.

56. Prajapati VD, Jani GK, Moradiya NG, Randeria NP, Nagar BJ. Locust bean gum: A versatile biopolymer. Carbohydr Polym. 2013 May 15;94(2):814–21.

57. Dionísio M, Grenha A. Locust bean gum: Exploring its potential for biopharmaceutical applications. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2012 Jul [cited 2024 Jan 7];4(3):175–85. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22923958/

58. Tsai AC, Peng B. Effects of locust bean gum on glucose tolerance, sugar digestion, and gastric motility in rats. J Nutr [Internet]. 1981 [cited 2024 Jan 12];111(12):2152–6. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/7031203/

59. Sweetman SC. Martindale: The Complete Drug Reference [Internet]. Pharmaceutical Press; 2009. (Complete Drug Reference). Available from: https://books.google.es/books?id=Cg9DMwEACAAJ

60. Triamcinolone Acetonide | C24H31FO6 | CID 6436 - PubChem [Internet]. [cited 2024 Jan 7]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/triamcinolone_acetonide

61. Derendorf H, Hochhaus G, Rohatagi S, Möllmann H, Barth J, Sourgens H, et al. Pharmacokinetics of Triamcinolone Acetonide After Intravenous, Oral, and Inhaled Administration. The Journal of Clinical Pharmacology [Internet]. 1995 Mar 1 [cited 2024 Jan 7];35(3):302–5. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/j.1552-4604.1995.tb04064.x

62. Van Tomme SR, Storm G, Hennink WE. In situ gelling hydrogels for pharmaceutical and biomedical applications. Int J Pharm [Internet]. 2008;355(1–2):1–18. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378517308000902\npapers2://publication/uuid/BB7C2C03-5951-4090-AE0E-D71E09B24D28

63. Ciprofloxacin | C17H18FN3O3 | CID 2764 - PubChem [Internet]. [cited 2024 Jan 7]. Available from: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2764

64. Kyriacos SB, Boukarim C, Safi W, Mroueh M, Maroun AB, El-Khoury G, et al. In vitro testing of ciprofloxacin formulations and preliminary study on BCS biowaiver. J Food Drug Anal [Internet]. 2020 Jul 14 [cited 2024 Jan 12];17(2):10. Available from: https://www.jfda-online.com/journal/vol17/iss2/10

65. Rocks JK. Xanthan gum. Food Technol. 1971 Jan 1;25(5):476.

66. CASAS JA, GARCIA-OCHOA F. Viscosity of solutions of xanthan/locust bean gum mixtures. J Sci Food Agric. 1999;79(1).

67. Yaseen EI, Herald TJ, Aramouni FM, Alavi S. Rheological properties of selected gum solutions. Food Research International. 2005 Mar 1;38(2):111–9.

68. Higiro J, Herald TJ, Alavi S, Bean S. Rheological study of xanthan and locust bean gum interaction in dilute solution: Effect of salt. Food Research International. 2007 May 1;40(4):435–47.

69. Pinheiro AC, Bourbon AI, Rocha C, Ribeiro C, Maia JM, Gonalves MP, et al. Rheological characterization of κ-carrageenan/galactomannan and xanthan/galactomannan gels: Comparison of galactomannans from non-traditional sources with conventional galactomannans. Carbohydr Polym. 2011 Jan 10;83(2):392–9.

70. Sandolo C, Bulone D, Mangione MR, Margheritelli S, Di Meo C, Alhaique F, et al. Synergistic interaction of Locust Bean Gum and Xanthan investigated by rheology and light scattering. Carbohydr Polym. 2010 Oct 15;82(3):733–41.

71. Tako M, Teruya T, Tamaki Y, Ohkawa K. Co-gelation mechanism of xanthan and galactomannan. Colloid Polym Sci [Internet]. 2010 Jun 5 [cited 2023 Dec 29];288(10–11):1161–6. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s00396-010-2242-6

72. Sworn G. Xanthan gum. Handbook of Hydrocolloids: Second Edition. 2009 Jan 1;186–203.

73. Renou F, Petibon O, Malhiac C, Grisel M. Effect of xanthan structure on its interaction with locust bean gum: Toward prediction of rheological properties. Food Hydrocoll. 2013 Aug 1;32(2):331–40.

74. Verma A, Tiwari A, Panda PK, Saraf S, Jain A, Jain SK. Locust bean gum in drug delivery application. Natural Polysaccharides in Drug Delivery and Biomedical Applications. 2019 Jan 1;203–22.

75. Benkadri S, Salvador A, Sanz T, Nasreddine Zidoune M. Optimization of Xanthan and Locust Bean Gum in a Gluten-Free Infant Biscuit Based on Rice-Chickpea Flour Using Response Surface Methodology. Foods [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2023 Dec 29];10(1). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33374600/

76. Tian H, Xiang D, Li C. Tea polyphenols encapsulated in W/O/W emulsions with xanthan gum-locust bean gum mixture: Evaluation of their stability and protection. Int J Biol Macromol [Internet]. 2021 Apr 1 [cited 2023 Dec 29];175:40–8. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33548306/

77. Hara S, Inoue Y, Aoki S, Tanaka K, Shirasuna K, Iwata H. Beneficial Effect of Polysaccharide Gel Made of Xanthan Gum and Locust Bean Gum on Bovine Oocytes. Int J Mol Sci [Internet]. 2023 Feb 1 [cited 2023 Dec 29];24(4):3508. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/24/4/3508/htm

78. In J, Kwak M, Min SC. Application of xanthan and locust bean gum mix or sorbitol in the jelly formulation to improved jelly 3D printing using a fused deposition modeling printer. Food Sci Biotechnol [Internet]. 2023 May 8 [cited 2023 Dec 29];1–6. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/s10068-023-01320-2

79. Koedcharoenporn J, Siriwongwilaichat P. Improvement of texture and gel stability of restructured frozen mango pulp by using xanthan gum and locust bean gum. Science, Engineering and Health Studies [Internet]. 2019 Jul 8 [cited 2023 Dec 29];13(2):59–72. Available from: https://li01.tci-thaijo.org/index.php/sehs/article/view/154980

80. Wang F, Wang YJ, Sun Z. Conformational Role of Xanthan in its Interaction with Locust Bean Gum. J Food Sci [Internet]. 2002 Sep 1 [cited 2023 Dec

29];67(7):2609–14. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1365-2621.2002.tb08786.x

81. Dea ICM, Clark AH, McCleary B V. Effect of galactose-substitution-patterns on the interaction properties of galactomannas. Carbohydr Res. 1986 Mar 15;147(2):275–94.

82. Jeong CH, Kim DH, Yune JH, Kwon HC, Shin DM, Sohn H, et al. In vitro toxicity assessment of crosslinking agents used in hyaluronic acid dermal filler. Toxicology in Vitro. 2021 Feb 1;70:105034.

83. Bilardo R, Traldi F, Brennan CH, Resmini M. The Role of Crosslinker Content of Positively Charged NIPAM Nanogels on the In Vivo Toxicity in Zebrafish. Pharmaceutics [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2023 Dec 29];15(7):1900. Available from: https://www.mdpi.com/1999-4923/15/7/1900/htm

84. Jayachandran B, Parvin TN, Alam MM, Chanda K, MM B. Insights on Chemical Crosslinking Strategies for Proteins. Molecules 2022, Vol 27, Page 8124 [Internet]. 2022 Nov 22 [cited 2023 Dec 29];27(23):8124. Available from: https://www.mdpi.com/1420-3049/27/23/8124/htm

85. García-Millán E, Koprivnik S, Otero-Espinar FJ. Drug loading optimization and extended drug delivery of corticoids from pHEMA based soft contact lenses hydrogels via chemical and microstructural modifications. Int J Pharm. 2015 Jun 20;487(1–2):260–9.

86. Blanco-Fuente H, Anguiano-Igea S, Otero-Espinar FJ, Blanco-Méndez J. Kinetics of anhydride formation in xerogels of poly(acrylic acid). Biomaterials. 1996 Jan 1;17(17):1667–75.

87. Blanco-Fuente H, Esteban-Fernández B, Blanco-Méndez J, Otero-Espinar FJ. Use of β-Cyclodextrins to Prevent Modifications of the Properties of Carbopol Hydrogels Due to Carbopol–Drug Interactions. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2002 Jan;50(1):40–6.

88. Blanco-Fuente H, Anguiano-Igea S, Otero-Espinar FJ, Blanco-Méndez J. In-vitro bioadhesion of carbopol hydrogels. Int J Pharm. 1996 Oct 11;142(2):169–74.

89. García-Ochoa F, Santos VE, Casas JA, Gómez E. Xanthan gum: production, recovery, and properties. Biotechnol Adv. 2000 Nov 1;18(7):549–79.

90. Garcia-Ochoa F, Casas JA. Viscosity of locust bean (Ceratonia siliqua) gum solutions. J Sci Food Agric [Internet]. 1992 Jan 1 [cited 2023 Dec 30];59(1):97–100. Available from: https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jsfa.2740590114

91. Thang NH, Chien TB, Cuong DX. Polymer-Based Hydrogels Applied in Drug Delivery: An Overview. Gels 2023, Vol 9, Page 523 [Internet]. 2023 Jun 27 [cited 2023 Dec 30];9(7):523. Available from: https://www.mdpi.com/2310-2861/9/7/523/htm

92. Saha N, Saha N, Sáha T, Öner ET, Brodnjak UV, Redl H, et al. Polymer Based Bioadhesive Biomaterials for Medical Application—A Perspective of Redefining Healthcare System Management. Polymers 2020, Vol 12, Page 3015 [Internet]. 2020 Dec 16 [cited 2023 Dec 30];12(12):3015. Available from: https://www.mdpi.com/2073-4360/12/12/3015/htm

93. Tchobanian A, Van Oosterwyck H, Fardim P. Polysaccharides for tissue engineering: Current landscape and future prospects. Carbohydr Polym. 2019 Feb 1;205:601–25.

94. Blanco-Fuente H, Vila-Dorrío B, Anguiano-Igea S, Otero-Espinar FJ, Blanco-Méndez J. Tanned leather: A good model for determining hydrogels bioadhesion. Int J Pharm. 1996 Jul 12;138(1):103–12.

95. Gago-Guillán M, García-Otero X, Anguiano-Igea S, Otero-Espinar FJ. Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery. J Drug Deliv Sci Technol. 2023 Nov 1;89:105025.

96. Cortes H, Caballero-Florán IH, Mendoza-Muñoz N, Escutia-Guadarrama L, Figueroa-González G, Reyes-Hernández OD, et al. Xanthan gum in drug release. Cell Mol Biol [Internet]. 2020 Jun 25 [cited 2023 Dec 30];66(4):199–207. Available from: http://www.cellmolbiol.org/index.php/CMB/article/view/3723

97. Dionísio M, Grenha A. Locust bean gum: Exploring its potential for biopharmaceutical applications. J Pharm Bioallied Sci [Internet]. 2012 Jul [cited 2023 Dec 30];4(3):175. Available from: /pmc/articles/PMC3425165/

98. Liu J, Tian B, Liu Y, Wan JB. Cyclodextrin-Containing Hydrogels: A Review of Preparation Method, Drug Delivery, and Degradation Behavior. International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol 22, Page 13516 [Internet]. 2021 Dec 16 [cited 2023 Dec 30];22(24):13516. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/22/24/13516/htm

99. Otero-Espinar FJ, Torres-Labandeira JJ, Alvarez-Lorenzo C, Blanco-Méndez J. Cyclodextrins in drug delivery systems. J Drug Deliv Sci Technol. 2010 Jan 1;20(4):289–301.

100. Loftsson T, Konrádsdóttir F, Másson M. Influence of aqueous diffusion layer on passive drug diffusion from aqueous cyclodextrin solutions through biological membranes. Pharmazie [Internet]. 2006 Feb 1 [cited 2023 Dec 30];61(2):83–9. Available from: https://europepmc.org/article/med/16526552

101. Másson M, Loftsson T, Másson G, Stefánsson E. Cyclodextrins as permeation enhancers: some theoretical evaluations and in vitro testing. Journal of Controlled Release. 1999 May 1;59(1):107–18.

102. Nasef NA, Mehta S. Role of Inflammation in Pathophysiology of Colonic Disease: An Update. International Journal of Molecular Sciences 2020, Vol 21, Page 4748 [Internet]. 2020 Jul 3 [cited 2024 Jan 4];21(13):4748. Available from: https://www.mdpi.com/1422-0067/21/13/4748/htm

103. Seyedian SS, Nokhostin F, Malamir MD. A review of the diagnosis, prevention, and treatment methods of inflammatory bowel disease. J Med Life [Internet]. 2019 [cited 2024 Jan 4];12(2):113. Available from: /pmc/articles/PMC6685307/

104. Azehaf H, Benzine Y, Tagzirt M, Skiba M, Karrout Y. Microbiota-sensitive drug delivery systems based on natural polysaccharides for colon targeting. Drug Discov Today [Internet]. 2023 Jul 1 [cited 2024 Jan 4];28(7). Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37146964/

105. Seoane-Viaño I, Gómez-Lado N, Lázare-Iglesias H, García-Otero X, Antúnez-López JR, Ruibal Á, et al. 3D Printed Tacrolimus Rectal Formulations Ameliorate Colitis in an Experimental Animal Model of Inflammatory Bowel Disease. Biomedicines 2020, Vol 8, Page 563 [Internet].

2020 Dec 2 [cited 2024 Jan 4];8(12):563. Available from: https://www.mdpi.com/2227-9059/8/12/563/htm

106. Seoane-Viaño I, Gómez-Lado N, Lázare-Iglesias H, Rey-Bretal D, Lamela-Gómez I, Otero-Espinar FJ, et al. Evaluation of the therapeutic activity of melatonin and resveratrol in Inflammatory Bowel Disease: A longitudinal PET/CT study in an animal model. Int J Pharm [Internet]. 2019 Dec 15 [cited 2024 Jan 4];572. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31593809/

107. Morris GP, Beck PL, Herridge MS, Depew WT, Szewczuk MR, Wallace JL. Hapten-Induced Model of Chronic Inflammation and Ulceration in the Rat Colon. Gastroenterology. 1989;96(2):795–803.

108. Mura C, Nácher A, Merino V, Merino-Sanjuan M, Carda C, Ruiz A, et al. N-Succinyl-chitosan systems for 5-aminosalicylic acid colon delivery: in vivo study with TNBS-induced colitis model in rats. Int J Pharm [Internet]. 2011 Sep 15 [cited 2024 Jan 4];416(1):145–54. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21723929/

109. De Young LM, Kheifets JB, Ballaron SJ, Young JM. Edema and cell infiltration in the phorbol ester-treated mouse ear are temporally separate and can be differentially modulated by pharmacologic agents. Agents Actions [Internet]. 1989 Mar [cited 2024 Jan 4];26(3–4):335–41. Available from: https://link.springer.com/article/10.1007/BF01967298

110. Sato H, Nakayama Y, Yamashita C, Uno H. Anti-inflammatory effects of tacalcitol (1,24(R)(OH)2D3, TV-02) in the skin of TPA-treated hairless mice. J Dermatol [Internet]. 2004 [cited 2024 Jan 4];31(3):200–17. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15187340/

111. Ferri D, Costero AM, Gaviña P, Parra M, Merino V, Teruel AH, et al. Efficacy of budesonide-loaded mesoporous silica microparticles capped with a bulky azo derivative in rats with TNBS-induced colitis. Int J Pharm [Internet]. 2019 Apr 20 [cited 2024 Jan 4];561:93–101. Available from: https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30817986/

112. Li Q, Li L, Li Q, Wang J, Nie S, Xie M. Influence of Natural Polysaccharides on Intestinal Microbiota in Inflammatory Bowel Diseases: An Overview. Foods 2022, Vol 11, Page 1084 [Internet]. 2022 Apr 9 [cited 2024 Jan

4];11(8):1084. Available from: https://www.mdpi.com/2304-8158/11/8/1084/htm

113. Liyanage NM, Nagahawatta DP, Jayawardena TU, Jeon YJ. The Role of Seaweed Polysaccharides in Gastrointestinal Health: Protective Effect against Inflammatory Bowel Disease. Life 2023, Vol 13, Page 1026 [Internet]. 2023 Apr 16 [cited 2024 Jan 4];13(4):1026. Available from: https://www.mdpi.com/2075-1729/13/4/1026/htm

APÉNDICE

APÉNDICE

1. CONFLICTO DE INTERESES

El estudiante de doctorado declara que no hay conflicto de intereses con respecto a la tesis doctoral.

2. EXPERIMENTOS CON ANIMALES

En la presente tesis, se utilizaron ratas macho adultas Wistar de entre 8 y 12 semanas de edad (250-325 g) proporcionadas por el Centro de Investigación Experimental Animal de la Universidad de Valencia (Valencia, España). Durante los experimentos, los animales se mantuvieron en jaulas individuales con acceso ilimitado a agua y comida durante todo el periodo del estudio. Las jaulas se encontraban en una habitación con temperatura controlada (22 ± 3°C) y humedad (55 ± 5%), y con ciclos de luz artificial que seguían un patrón día-noche (12/12 horas). Los animales fueron tratados de acuerdo con las pautas para el cuidado y uso de animales de laboratorio.

Los experimentos fueron aprobados por el Comité Ético de Experimentación y Bienestar Animal de la Comisión de Ética de la Universitat de València (Valencia, España), siguiendo el protocolo de experimentación animal A1327573978123 titulado "Evaluación de al biodisponibilidad y al eficacia de un sistema de liberación controlada de triamcinolona acetónido".

3. ARTÍCULOS DERIVADOS DE ESTA TESIS

1. Gago-Guillán M, García-Otero X, Anguiano-Igea S, Otero-Espinar FJ. Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery. J Drug Deliv Sci Technol. 2023 Nov 1;89:105025
   https://doi.org/10.1016/j.jddst.2023.105025
   ⇒ Corresponde al capítulo 1

4. AUTORÍA DE LAS FIGURAS DEL DOCUMENTO

Todas las figuras incorporadas en el documento son de autoría propia exceptuando las siguientes:

- Figura 1: Creada con la herramienta BioRender.com. Permiso de publicación adjunto a continuación.
- Figuras 4 y 5: extraídas de pubchem.ncbi.nlm.nih.gov. De acuerdo con lo descrito en el sitio web, se permite el uso de las figuras en pubicaciones propias sin un permiso especial de Pubchem. Mas detalles en https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/docs/citation-guidelines#section=Reference-a-particular-data-section-within-a-record

VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA
Vicerectorat d'Investigació i Política Científica

D. Enrique Font Bisier, Profesor Titular de Zoología y Secretario del Comité Ético de Experimentación y Bienestar Animal de la Comisión de Ética en Investigación Experimental de la Universitat de València,

CERTIFICA:

Que, reunido el Comité Ético de Experimentación y Bienestar Animal de la Comisión de Ética de la Universitat de València el día 18 de mayo de 2012, acordó informar FAVORABLEMENTE la realización en sus instalaciones del protocolo de experimentación animal A1327573978123 titulado "Evaluación de la biodisponibilidad y la eficacia de un sistema de liberación controlada de triamcinolona acetónido", cuya investigadora principal es Dña. Virginia Merino Sanjuán.

En Valencia, a 25 de julio de 2012.

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA

Carrer: Blasco Ibañez, 13
VALENCIA 46071

Telèfon: (96) 386 41 09
Fax: (96) 398 32 21
e-mail: vicerec.investigacio@uv.es

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL (EDIUS)

ANEXO 2: Autorización de cada coautor/a doutor/a relacionado no Documento 1

A tese de doutoramento desenvolvida polo *Manuel Gago Guillán*, con título *Hidroxeles biodegradables de polisacáridos para a liberación colónica de fármacos*, se presenta como monográfica con reprodución total ou parcial de publicacións.

D./Da: *Xurxo García Otero*¸ figura como coautor/a da(s) publicación(s) que se relacionan a continuación:

- "Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 89 (2023): 105025

E declara a súa aceptación para que o doutorando/a presente o traballo como parte da súa tese de doutoramento.

En *Santiago de Compostela*¸ *a 19 de decembro de 2023*

Firmado por GARCIA OTERO XURXO - ***4932** el día 19/12/2023 con un certificado emitido por AC FNMT Usuarios

Firmado: *Electronicamente Coautor/a doctor/a do artigo*

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL (EDIUS)

ANEXO 2: Autorización de cada coautor/a doutor/a relacionado no Documento 1

A tese de doutoramento desenvolvida polo *Manuel Gago Guillán*, con título *Hidroxeles biodegradables de polisacáridos para a liberación colónica de fármacos*, se presenta como monográfica con reprodución total ou parcial de publicacións.

D./Da: *Soledad Anguiano Igea*, figura como coautor/a da(s) publicación(s) que se relacionan a continuación:

- "Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 89 (2023): 105025

E declara a súa aceptación para que o doutorando/a presente o traballo como parte da súa tese de doutoramento.

En Santiago de Compostela, a 19 de decembro de 2023

Firmado: Soledad Anguiano Igea

ESCOLA DE DOUTORAMENTO
INTERNACIONAL (EDIUS)

ANEXO 2: Autorización de cada coautor/a doutor/a relacionado no Documento 1

A tese de doutoramento desenvolvida polo *Manuel Gago Guillán*, con título *Hidroxeles biodegradables de polisacáridos para a liberación colónica de fármacos*, se presenta como monográfica con reprodución total ou parcial de publicacións.

D./Da: *Francisco J. Otero Espinar*, figura como coautor/a da(s) publicación(s) que se relacionan a continuación:

- "Compression pressure-induced synergy in xanthan and locust bean gum hydrogels. Effect in drug delivery." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 89 (2023): 105025

E declara a súa aceptación para que o doutorando/a presente o traballo como parte da súa tese de doutoramento.

En *Santiago de Compostela, a 20 de Decembro de 2023*

Firmado: *Electronicamente Coautor/a doctor/a do artigo*

49 Spadina Ave. Suite 200
Toronto ON M5V 2J1 Canada
www.biorender.com

Confirmation of Publication and Licensing Rights

January 6th, 2024
Science Suite Inc.

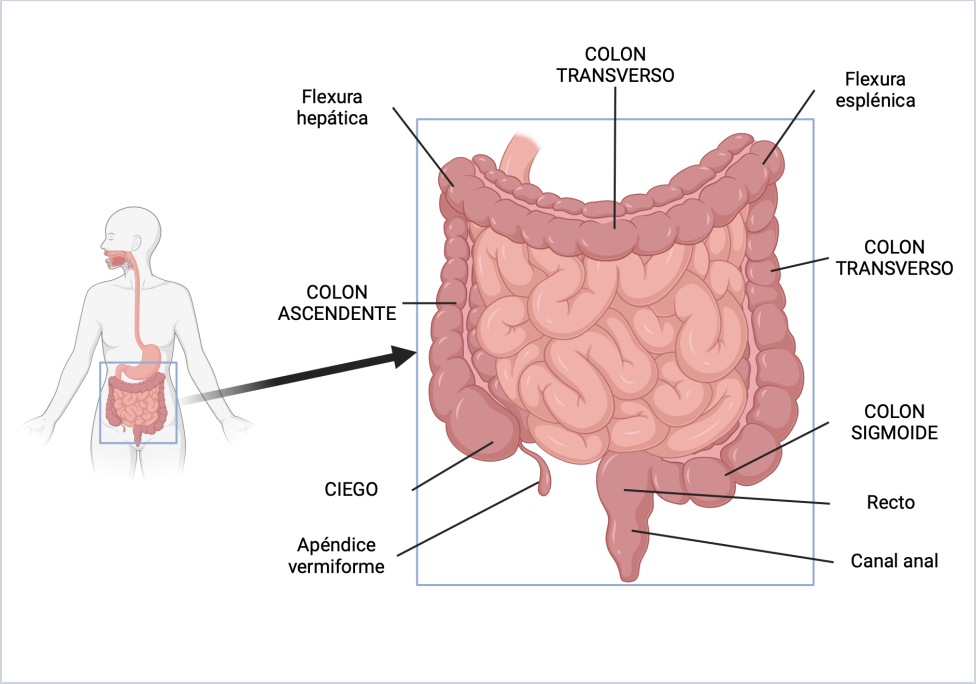
Subscription:	*Student Plan*
Agreement number:	*DC26B2CMSQ*
Journal name:	*Thesis*

To whom this may concern,

This document is to confirm that Manuel Gago has been granted a license to use the BioRender content, including icons, templates and other original artwork, appearing in the attached completed graphic pursuant to BioRender's Academic License Terms. This license permits BioRender content to be sublicensed for use in journal publications.

All rights and ownership of BioRender content are reserved by BioRender. All completed graphics must be accompanied by the following citation: "Created with BioRender.com".

BioRender content included in the completed graphic is not licensed for any commercial uses beyond publication in a journal. For any commercial use of this figure, users may, if allowed, recreate it in BioRender under an Industry BioRender Plan.



For any questions regarding this document, or other questions about publishing with BioRender refer to our BioRender Publication Guide, or contact BioRender Support at support@biorender.com.

Esta tesis se centra en el diseño y evaluación de hidrogeles de polisacáridos para la administración
colónica de fármacos. Estos hidrogeles tienen como objetivo mejorar el tratamiento de
enfermedades colónicas como la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn. La investigación
aborda la preparación y caracterización de estos hidrogeles basados en gomas naturales (xantana
y garrofina), evaluando su bioadhesión y capacidad de liberación de fármacos como el acetónido
de triamcinolona y el ciprofloxacino. Además, explora el impacto de las ciclodextrinas en las
propiedades de liberación de los hidrogeles y su eficacia en modelos animales de colitis. Concluye
discutiendo los resultados y sugiriendo futuras direcciones de investigación para el desarrollo de
hidrogeles inteligentes y nuevas aplicaciones terapéuticas.