UNIVERSIDAD DE
SANTIAGO DE COMPOSTELA

Facultad de Farmacia

Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica

"Peletización de diferentes mezclas de almidones y sus derivados. Caracterización mediante técnicas de análisis de imagen"

Sergio Almeida Prieto

Santiago de Compostela, 2004.

Francisco Javier Otero Espinar, y **José Blanco Méndez**, Profesor Titular y Catedrático respectivamente en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica de la Universidad de Santiago de Compostela,

INFORMAMOS: Que la presente memoria titulada ***"Peletización de diferentes mezclas de almidones y sus derivados. Caracterización mediante técnicas de análisis de imagen"***, ha sido elaborada bajo nuestra dirección, por Sergio Almeida Prieto en el Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica y, hallándose concluida, autorizamos su presentación a fin de que pueda ser juzgada por el tribunal correspondiente.

Santiago de Compostela, a 22 de Diciembre del 2004.

Prof. Dr. José Blanco Méndez. Prof. Dr. Francisco Javier Otero Espinar

Casi sin darme cuenta he llegado a este punto de la tesis en la que ya todo es una carrera contrarreloj en la uno se mete prácticamente sin darse cuenta. Todo esto se lo debo en un porcentaje muy elevado a mis dos directores de tesis, Francisco Javier Otero Espinar, y José Blanco Méndez, ya que evidentemente sin ellos, por muchas ganas que yo pusiera en el trabajo, éste no sería posible. Porque además de aclararme cualquier cosa sobre la que les he preguntado (y de verdad que he preguntado mucho) siempre han estado dispuestos a enseñarme, pero además de eso, les agradezco aun más el haberme ofrecido su confianza, y de forma más importante, su amistad.

Evidentemente no voy a olvidarme de esas personas que cuando entré en el departamento, y comencé esta aventura, eran desconocidos, y rápidamente comenzaron a darme su amistad, gracias a todos vosotros: Rafa, Asteria, "Marquitos", Jose (que desgracia la nuestra con el celta este año), Portu, María José, Ana López, Helen,...y todos los que no he nombrado pero saben que los recuerdo.

También tengo que acordarme de Juanjo, que de forma tan fácil y rápida hizo las gestiones para que pudiese disponer de todos los almidones, dextrinas, etc...que tanto trabajo me han dado. A Romario que tan importante fue, sobre todo en el aspecto informático de este trabajo. Y ya que me acuerdo de él tengo que hacerlo también de todos los miembros del MAS club de fútbol que si no se enfadan conmigo (parece mentira que hayan pasado ya 10 años desde la fundación de semejante "institución").

Dejo para el final de estos agradecimientos a las personas más importantes y a quienes les debo todo: mis padres y mi hermana, que siempre me han ayudado en todo lo que han podido, y evidentemente a Verónica, mi novia, que ha sido otra "sufridora" de estos años de trabajo.

Gracias nuevamente a todos, y por supuesto un recuerdo especial a los que no estarán el día que tenga que defender esta memoria, pero que siempre llevo conmigo (mis abuelos).

CAPÍTULO 1: LA PELETIZACIÓN

1.1 Introducción 1
1.1.1 Evolución histórica: Definición de pelet 1
1.1.2 Ventajas 2
1.1.3 Métodos de peletización 3
1.2 Extrusión-esferonización 3
1.2.1 Mezclado 4
1.2.2 Malaxado 5
1.2.2.1 Reometría de torsión 6
1.2.2.2 Capacidad de retención de agua 9
1.2.3 Extrusión 10
1.2.4 Esferonización 14
1.2.5 Secado 17
1.3 Materiales empleados en la peletización 17

1.3.1 Materiales empleados en la realización de esta memoria 21
1.3.1.1 Excipientes 21
1.3.1.2 Principios activos 23
1.4 Análisis de imagen 24
OBJETIVOS 29
BIBLIOGRAFÍA 31

CAPÍTULO 2: ANÁLISIS DE IMAGEN DE LA FORMA DE GRÁNULOS

2.1 Resumen 55
2.2 Introducción 56
2.3 Definición de los factores de forma 59
2.4 Materiales y métodos 61
2.4.1 Materiales 61
2.4.2 Métodos 61
2.4.2.1 Pelets 61
2.4.2.2 Obtención de imágenes 61
2.4.2.3 Análisis de imagen 62
2.5 Resultados y discusión 63
2.5.1 Evaluación: caracterización morfológica de formas simuladas 63
2.5.2 Caso práctico: caracterización morfológica de partículas reales 74
2.6 Conclusiones 79
ANEXO I 81
ANEXO II 82
BIBLIOGRAFIA 85

CAPÍTULO 3: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE PARTÍCULAS MEDIANTE AI (I): FACTORES QUEINFLUYEN EN EL PROCESO

3.1 Resumen 89

3.2 Introducción 90
3.3 Materiales y métodos 91
3.4 Resultados y discusión 92
3.4.1 Influencia de la iluminación 92
3.4.2 Influencia del establecimiento del valor umbral de la escala de grises durante la conversión binaria de la imagen binaria digitalizada (t*hreshold*) 94
3.4.3 Precisión del método 97
3.4.4 Influencia del tamaño de píxel 98
3.4.5 Influencia del tipo de archivo utilizado para almacenar la imagen, así como la compresión empleada 103
3.4.6 Influencia del color 106
3.4.7 Influencia del número de partículas medidas 107
3.5 Conclusiones 108
BIBLIOGRAFIA 109

CAPÍTULO 4: CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE PARTÍCULAS MEDIANTE AI (II): NECESIDAD DE HOMOGENIZACIÓN DE CRITERIOS

4.1 Resumen 111
4.2 Introducción 112
4.3 Materiales y métodos 117
4.3.1 Análisis de imagen 117
4.3.2 Obtención de imágenes 117
4.3.3 Peletización 117
4.4 Resultados y discusión 118
4.5 Conclusiones 130
BIBLIOGRAFIA 132

CAPÍTULO 5: MEZCLAS DE ALMIDONES Y DEXTRINAS EN PELETIZACIÓN MEDIANTE EXTRUSIÓN-ESFERONIZACIÓN

5.1 Resumen 137
5.2 Introducción 138
5.3 Materiales y métodos 140
5.3.1 Materiales 140
5.3.2 Métodos 141
5.3.2.1 Caracterización de los sólidos pulverulentos 141
5.3.2.2 Estudios de humectación 141
5.3.2.3 Extrusión-esferonización 143
5.3.2.4 Análisis de imagen 143
5.4 Resultados y discusión 144
5.4.1 Caracterización física de los excipientes 144
5.4.2 Capacidad de retención y absorción de agua de los diferentes excipientes 146
5.4.3 Caracterización mediante reometría de torsión de cada excipiente por separado 148
5.4.4 Caracterización mediante reometría de torsión de mezclas entre almidones nativos y agentes aglutinantes 151
5.4.5 Extrusión-esferonización 154
5.5 Conclusiones 158
BIBLIOGRAFIA 160

CAPÍTULO 6: ESTUDIO DE LAS CARACTERÍSTICAS DE LIBERACIÓN DE PELETS ELABORADOS A PARTIR DE ALMIDONES Y DEXTRINAS MEDIANTE EXTRUSIÓN-ESFERONIZACIÓN

6.1 Resumen 165
6.2 Introducción 166
6.3 Materiales y métodos 169

6.3.1 Materiales....169
6.3.2 Métodos....169
6.3.2.1 Elaboración de pelets....169
6.3.2.2 Caracterización morfológica mediante análisis de imagen....170
6.3.2.3 Estudios de disolución in vitro....170
6.3.2.4 Microscopía electrónica de barrido....172
6.4 Resultados y discusión....173
6.4.1 Análisis morfológico....173
6.4.2 Estudio de los perfiles de liberación....175
6.4.2.1 Partículas con acetónido de triamcinolona....175
6.4.2.2 Partículas con teofilina....181
6.5 Conclusiones....183
ANEXO I....185
BIBLIOGRAFIA....196

CAPITULO 7: DISCUSIÓN GENERAL....203

CAPITULO 8: CONCLUSIONES....209

Capítulo 1

La peletización

1.1 INTRODUCCIÓN

1.1.1 Evolución histórica: Definición de pelet

Los pelets son formas multiparticulares que no sólo presentan aplicaciones en el campo de la industria farmacéutica ya que también son utilizados por las industrias alimentaria y agrícola (Vervaet y col., 1995). A modo de ejemplo, en el último caso se recurre a estas formas para la elaboración de fertilizantes y herbicidas.

Empezaron a desarrollarse a finales de los años 40 y principios de los 50, inicialmente eran fabricados por escasos grupos de investigadores y de forma muy artesanal, aunque comenzaron a tener una mayor divulgación a partir de los años 70 gracias fundamentalmente a los trabajos de Conine y col., 1970; y Reynolds 1970.

Además fue gracias al desarrollo y perfeccionamiento del proceso de esferonización (ideado en Japón por Nakahara en 1966) cuando comenzaron a aparecer equipos especializados, como el esferonizador, pudiendo entonces fabricarse lotes mayores de partículas de un modo mucho más rápido y sencillo (Ghebre Sellassie 1989).

Entendemos por peletización un proceso de aglomeración que convierte un sólido pulverulento o gránulos de principios activos y diferentes excipientes en pequeñas unidades esféricas o semiesféricas de flujo libre conocidas como pelets. El rango del tamaño de partícula de los pelets está comprendido entre 0.5 y 1.5 mm., aunque pueden ser preparados otros tamaños en función de la tecnología empleada durante el proceso de producción (Ghebre Sellassie 1989).

El rápido crecimiento en el empleo de estas partículas, hay que explicarlo en función de la facilidad con la que se puede controlar la velocidad de liberación del principio activo, objetivo que se puede alcanzar de dos formas diferentes: a) Recubriendo las partículas con una película de un material que retenga al principio activo en el interior del pelet, retrasando así su liberación (Bianchini y col., 1989); b) Modificando el interior del pelet mediante la adición de sustancias que influyan en su comportamiento (Tapia y col., 1993; Rodríguez Gómez y col., 1997a).

1.1.2 Ventajas

Las principales ventajas de estas partículas, podemos clasificarlas en dos grupos claradamente diferenciados. Por un lado las ventajas tecnológicas entre las que podemos citar: presentan flujo libre, forma esférica, superficie exenta de aristas y baja friabilidad, lo que las hace idóneas para ser sometidas a un proceso de recubrimiento y poder controlar la liberación del principio que lleven incluido (Erkoboni 1997; Noché y col., 1994), ser comprimidos o incluidos en el interior de cápsulas de gelatina dura (Rowe 1985); se obtienen distribuciones de tamaño de partícula estrechas y bien definidas (Hellén y col., 1994a; Jalal y col., 1972).

Desde el punto de vista biofarmacéutico también presentan otra serie de ventajas, entre las que se pueden citar: liberación del principio activo en zonas específicas del tracto gastrointestinal (Follonier y col., 1992), dispersándose libremente y de forma homogénea, por lo que como consecuencia disminuirá la aparición de picos plasmáticos, y por lo tanto se minimizarán algunos efectos secundarios pero sin disminuir a su vez la biodisponibilidad. Todo esto favorece una mayor absorción del medicamento y disminuye la concentración local por lo que se evitan problemas de toxicidad debido a la irritación a nivel local (Sirca y col., 1995); además, puede incrementarse o disminuirse el tiempo de tránsito intestinal en función de su densidad (Clarke y col., 1995; Devereus y col., 1990); finalmente también son menos susceptibles al efecto *dumping* con los alimentos del estómago.

1.1.3 Métodos de peletización

De todas las técnicas de peletización la extrusión esferonización es de las más utilizadas en la industria farmacéutica (Hellén y col., 1993a), aunque existen otras que se pueden clasificar en dos grupos en función de la frecuencia con la que se emplean (Villar López 1999): Dentro de las menos utilizadas podríamos citar la criopeletización, la aglomeración rotatoria y la atomización por frío; mientras que entre las más comunes se encuentran el recubrimiento de núcleos con una disolución o suspensión, el recubrimiento de un polvo, y la granulación.

A partir de este momento nos centraremos en describir de un modo más preciso las etapas en que consiste la peletización por extrusión-esferonización.

1.2 EXTRUSIÓN-ESFERONIZACIÓN

Una ventaja importante de la extrusión-esferonización respecto de otras técnicas de peletización consiste en que las partículas obtenidas de este modo no se disgregan tan rápidamente al ser incluidas en un medio acuoso y por lo tanto presentan una menor

velocidad de liberación del principio activo que llevan incluido (Robinson y col., 1991; Zhang y col., 1990; Zhang y col., 1991).

La finalidad última de esta técnica es transformar mediante aglomeración una mezcla de sólidos pulverulentos homogéneamente distribuidos en pelets por medio de las siguientes 5 etapas (O'Connor y col., 1989): mezclado, malaxado, extrusión, esferonización y secado (Figuras 1 y 2). Aunque esta técnica termina con esta última

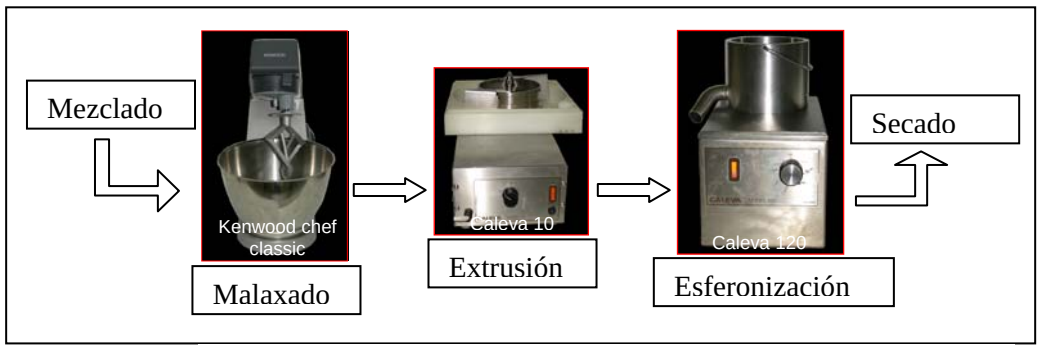


Figura 1: *Etapas en la peletización por extrusión-esferonización*

etapa, son otros los procesos a los que pueden someterse las partículas una vez elaboradas como por ejemplo la compresión o el llenado de cápsulas de gelatina dura.

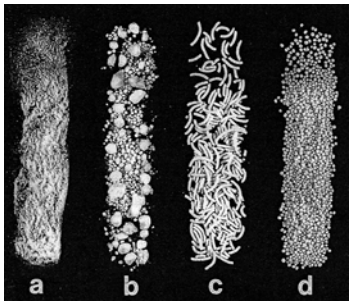


Figura 2: *Productos obtenidos en las cuatro primeras etapas en un proceso de extrusión-esferonización. A)mezclado; B)malaxado; C)extrudido D)esferonizado (Erkoboni 1997)*

1.2.1 Mezclado

En esta fase el objetivo es intentar conseguir una mezcla de productos lo más homogéneamente distribuidos, ya que lo más normal es partir de varios productos y no de uno solo.

1.2.2 Malaxado

En esta etapa se obtiene una masa constituida por los materiales de partida y el líquido de humectación seleccionado. Es uno de lo pasos más importantes en la extrusión-esferonización y en muchos casos la etapa limitante en la calidad final de las partículas obtenidas. Sin lugar a dudas el parámetro más importante a controlar durante el malaxado es la cantidad de líquido de humectación que es necesario añadir para llevar a buen término el proceso. Hay una extensa bibliografía en la que se estudia este factor (Baert y col., 1992a; Baert y col., 1992b; Baert y col., 1993a; Baert y col., 1993b; Bains y col., 1991; Fielden y col., 1992a; Fielden y col., 1993; Hasznos y col., 1992; Hellén y col., 1993a; Kleinebudde y col., 1994; Malinowski y col., 1975; Otsuka y col., 1994; Pinto y col., 1992: Remon y col., 1987; Wan y col., 1993; Zhang y col., 1991) ya que es uno de los que contribuye en gran medida a la plasticidad que presenta la masa, cualidad indispensable para ser extrundida y posteriormente esferonizada, pudiendo dar lugar a pelets esféricos de tamaño adecuado. Además hay algunos autores como Baert y col., 1993a y Sousa y col., 1996 que relacionan los perfiles de liberación con la cantidad de humectante añadido.

Sin embargo este último factor tan ampliamente estudiado se ve influenciado a su vez por otros que podríamos clasificar en dos tipos: a) inherentes a los equipos empleados; así Schmidt y col., 1999 afirman sobre la influencia de diferentes equipos de mezclado en el requerimiento cuantitativo de líquido de humectación por parte de la formulación; y b) la naturaleza de los sólidos empleados (Holm 1996 y Holm y col., 1996). Así por ejemplo en este último caso Heng y col., 1995 o Newton y col., 1992 demuestran como diferentes tipos de celulosa cristalina no pueden ser intercambiados en una misma formulación sin modificar la cantidad de agua necesaria para la peletización. De todos modos la naturaleza de los materiales empleados no sólo afecta a los excipientes, sino que también hay que tener en cuenta el principio activo que se quiera añadir, como algunos autores demostraron al relacionar la solubilidad del fármaco incluido con los requerimientos de agua generados en la masa para obtener una correcta

extrusión-esferonización (Hileman y col., 1997; Lusting-Gustafsson y col., 1999; Sousa y col., 2002; Tomer y col., 2001a; Tomer y col., 2002).

Finalmente, otros investigadores se han centrado en el tipo de agente humectante, más concretamente en el caso de mezclas hidroalcohólicas (Chopra y col., 2001; Torrado-Santiago y col., 1995), ya que a medida que se incrementa el contenido en etanol, los pelets presentan una menor dureza (Elbers y col., 1992; Millili y col., 1990). Otros autores han probado sin embargo la humectación con mezclas glicerina agua (Boutell y col., 2002) o alcohol isopropílico (Rodríguez-Gómez y col., 1996; Vila Jato y col., 1995)

Una vez llegados al punto en el que se ha expuesto la importancia del líquido de humectación, podemos seguir dos estrategias diferentes para conocer los requerimientos de las formulaciones: por un lado preparar lotes con distinto contenido en humedad, y evaluar las propiedades de las partículas obtenidas; sin embargo, en vez de este modelo ensayo-error, se nos presenta la posibilidad de evaluar el comportamiento de los sólidos empleados en función de la cantidad o tipo de líquido de humectación añadido. Para ello podemos recurrir a técnicas tales como la reometría de torsión, la medida de la capacidad de retención de agua de un sólido, o utilizar un reómetro capilar o un extrusor de pistón (Fielden y col.,1992b; Harrison y col., 1987; Lukkonen y col., 2001a). A continuación comentaremos las dos primeras técnicas ya que fueron las utilizadas en la elaboración de esta memoria.

1.2.2.1 Reometría de torsión

En 1987 Rowe y Sadeghnejad la utilizan para registrar la torsión recogida frente a la cantidad de líquido humectante añadido y demostrar así las distintas etapas de saturación líquida en las que se basa la teoría de la granulación (Newit y col., 1958). Ésta es una técnica idónea para la monitorización del proceso de granulación (Faure y col., 1999; Hariharan y col., 2002; Janin y col., 1990; Parker y col., 1990a). Otros autores como Kristensen y col., 1999 emplean también el reómetro para controlar la peletización en roto-granuladores, o como será el caso de esta memoria, para intentar establecer la

cantidad óptima de líquido humectante necesario para elaborar pelets de calidad mediante extrusión-esferonización. Son varios los investigadores que han relacionado la cantidad de líquido a la que aparece el pico de torsión máxima con la que debe emplearse para llevar a cabo la extrusión (Chatlapalli y col., 1998; Rowe y col., 1987).

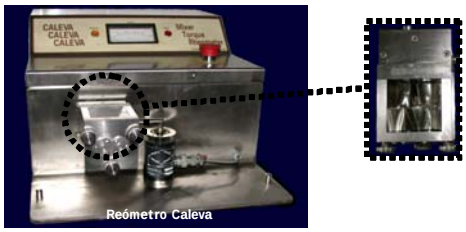


Figura 3: *Reómetro de torsión Caleva, con detalle de la cámara o reactor en la que giran las palas que miden la consistencia de la masa.*

El reómetro de torsión consiste en una cámara en la que están incluidas dos palas que giran a diferente velocidad y están conectadas a un dinamómetro en el que se recoge la resistencia que la masa incluida en la cámara ejerce contra el movimiento de las palas. Los valores obtenidos están directamente relacionados con los diferentes estados de saturación líquida del material objeto de estudio. Es decir, a medida que se incrementa la cantidad de líquido humectante (figura 4) las partículas del sólido comienzan a estar rodeadas por una mayor cantidad de puentes líquidos entre ellas y con menor espacio para el aire incluido en la mezcla (estados pendular y funicular). A medida que sigue incrementándose la cantidad de líquido, la fuerza que deben ejercer las palas del reómetro para romper las uniones generadas entre las partículas del sólido y el líquido es mayor, ya que se llega al estado capilar en el que el número de uniones es máximo. A partir de este punto la resistencia generada por el material es más baja ya que hay una sobre-humectación en la que simplemente se tienen partículas del sólido dispersas en el seno de un líquido (Parker y col., 1990a;

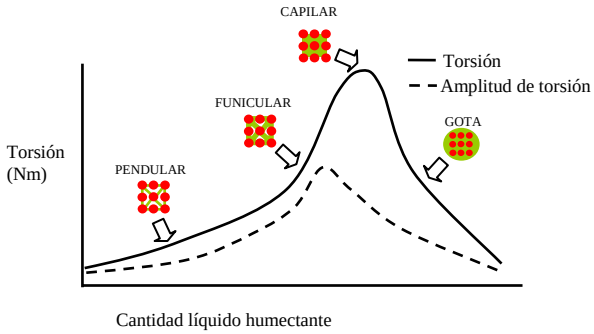


Figura 4: *Evolución de la amplitud de torsión y torsión media en función de la adición de líquido humectante.*

Rowe y col., 1987).

Rowe y col., 1994, y Hancock y col., 1994 hacen una revisión muy interesante respecto a la interpretación de los resultados que nos proporciona esta técnica. Son dos los parámetros obtenidos por el reómetro de torsión y que nos dan gran información sobre la masa objeto de estudio: la torsión media y la amplitud de torsión. La primera será máxima cuando el sistema pase por el estado capilar, y la segunda en el estado funicular, ya que es cuando las palas del reómetro, que se mueven a través de la masa, romperán los puentes líquidos aunque también se encontrarán huecos con aire, con lo cual la heterogeneidad de esas fuerzas será elevada, por lo que la amplitud presentará los picos máximos en esta fase. Esto trae como consecuencia que los requerimientos de agua para ambos parámetros sean diferentes, presentándose el pico máximo de la amplitud a menores niveles de líquido que en el caso de la torsión. Sin embargo, en sistemas en el que el agente aglutinante no humecte adecuadamente al material sólido, aunque se alcance igualmente el estado funicular y la amplitud sea máxima, se alcanzará un pseudo estado capilar en el que debido a la mala humectación del sistema, se ha ido quedando aire atrapado, con lo que el pico máximo de la torsión estará más cercano al de la amplitud. Además, las magnitudes de los dos parámetros también proporcionan información importante: la torsión presentará un pico mayor si hay una elevada interacción entre el aglutinante y el polvo; mientras que si la amplitud también es elevada, será indicativo de que entre los componentes del sistema hay fuertes interacciones, aunque heterogéneamente distribuidas.

El reómetro de torsión está configurado para poder trabajar sobre cuatros modos de operación básicos (Rowe 1996a):

- ✓ Medir la consistencia de una masa. Así lo hacen por ejemplo Faure y col., 1995, para controlar el proceso de peletización con un roto-granulador.
- ✓ Medida de la torsión media y de la amplitud tras la adición de una única cantidad de agente aglutinante.
- ✓ Medidas de la torsión media y de la amplitud tras la adición de múltiples cantidades de agente aglutinante: es el test más ampliamente utilizado.

- ✓ Medidas de la torsión media y de la amplitud a diferentes tiempos de mezclado, tras la adición de una única cantidad de humectante: representa la torsión media frente al tiempo de amasado. Bastante utilizado en la monitorización de la etapa de mezclado del aglutinante con la fase sólida (Hancock y col., 1992; Schildcrout 1984).

Las variables que afectan a las mediciones con el equipo pueden clasificarse en dos grupos fundamentales: las dependientes de los materiales, y las dependientes del equipo.

Dentro de las dependientes de los materiales podemos encontrarnos con las siguientes posibilidades: a) la cantidad del agente aglutinante empleado (Hancock y col., 1992); b) la naturaleza del agente humectante empleado (Chatlapalli y col., 1998; Hancock y col., 1992; Hancock y col., 1993; Hancock y col., 1994a,b; Parker y col., 1987; Parker y col., 1990b; Parker y col., 1991a; Parker y col., 1992); c) la naturaleza de los sólidos utilizados, ya que por ejemplo la reometría de torsión se ha empleado para caracterizar (Luukkonen y col., 1999) diferentes materiales de distintos orígenes (Chatlapalli y col., 2002; Parker y col., 1991b; Parker y col., 1992).

Dentro de las variables dependientes del equipo nos encontramos en la bibliografía dos grupos fundamentales: a) las que hacen referencia a la geometría y velocidad de las palas (Hancock y col., 1991; Landín y col., 1995; Rowe 1996b); y b) otro tipo de reómetros (Luukkonen y col., 2001a,b; Kapsidou y col., 2001; Malamataris y col., 1997).

1.2.2.2 Capacidad de retención de agua

Como se dijo anteriormente, en el malaxado como etapa previa a la extrusión es importante conocer el comportamiento de los componentes sólidos con el líquido de humectación. Esto es porque en muchos casos durante la extrusión hay una migración de líquido en la masa humectada, llegándose incluso a producir una separación entre el sólido y el líquido que pone en peligro su extrusión y posterior esferonización

satisfactoria. Por ello la enorme importancia que adquiere un determinado excipiente como es la celulosa microcristalina dentro de este campo, debido a la facilidad que tiene para conservar el agua fuertemente unida a su estructura.

Para estudiar este fenómeno, Tomer y col., 1999a y 2001b diseñaron un sistema para medir la capacidad de retención de agua (MRC) que presentan los sólidos pulverulentos. Para ello, se prepara una masa adecuadamente humectada que se deposita en un recipiente especial, denominado portador, que forma parte de un sistema diseñado (figura 5) para ser incluido en los huecos de un rotor de centrífuga. El sistema se somete a una etapa de centrifugación, a la velocidad adecuada. El agua de la masa, como consecuencia de la fuerza centrífuga, migrará hacia la base del sistema, atravesando el filtro que conforma la base del recipiente portador, que impide el paso de los sólidos. Posteriormente se retira el portador en el que permanecerán los componentes sólidos de la masa húmeda con el agente humectante unido que ha soportado el proceso de centrifugación. Estamos entonces en condiciones de poder calcular la MRC en función de la siguiente expresión:

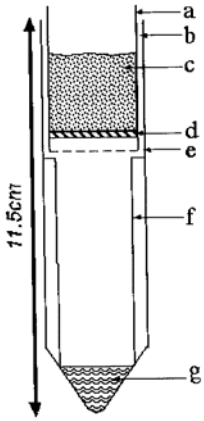


Figura 5: *Sistema diseñado por Tomer y col., 1999 para determinar la MRC de un sólido. a) cápsula, b) portador, c) masa humectada d) filtro de membrana, e) base perforada f) espaciador y g) zona recolectora del líquido de humectación.*

$$MRC = \frac{Wpre}{Wpost} \cdot 100$$

Dónde Wpre y Wpost son el peso de la humedad antes y después de la centrifugación respectivamente.

1.2.3 Extrusión

Es una etapa que puede ser considerada una granulación por vía húmeda especializada (O'Connor y col., 1989). Básicamente la extrusión consiste en forzar una masa para hacerla pasar a través de un orificio estrecho. Dado que el diámetro de este orificio está ya predeterminado, la longitud del extrudido suele ser la única variable,

pudiendo variar ésta en función de las características físicas del material que ha de ser extrudido, del método de extrusión, y de cómo las partículas sean tratadas posteriormente (Hicks y col., 1989).

Para que una masa pueda ser extrudida, debe tener las siguientes características (Conine y col., 1970; Erkoboni 1997; Reynolds 1970; Tomer y col., 2002):

- ✓ Presentar cierta consistencia.
- ✓ Debe ser fuerte desde un punto de vista mecánico para que no se desmorone cuando se recoja del extrusor, pero a la vez tiene que ser suficientemente frágil como para romperse en unidades pequeñas en el esferonizador.
- ✓ Debe ser suficientemente plástica para que se deforme en esferas durante la esferonización, pero rígido a la vez para que conserven su forma.
- ✓ No debe ser adhesiva para evitar la formación de aglomerados.
- ✓ No debe quedarse adherida a las paredes ni al plato del esferonizador si se quiere trabajar en continuo.
- ✓ Debe poseer cierta autolubrificación para facilitar la extrusión.

Los diferentes tipos de extrusores pueden clasificarse en (Hicks y col., 1989; Rodríguez-Gómez y col.,1997b; Rowe 1985):

- ✓ Extrusores de tornillo (axiales y radiales).
- ✓ Extrusores de tamiz (de tamiz y de canasta).
- ✓ Extrusores de cilindros o rodillos (de cilindros perforados, cilindros dentados y cilindros acoplados a un tamiz).
- ✓ Extrusores de pistón o émbolo.

Para la realización del trabajo incluido en la parte experimental de esta memoria, se recurrió a un extrusor de cilindros (figura 6) acoplados a un tamiz circular de 15 cm. de diámetro y orificios que presentan un diámetro de 1 mm. Los cilindros presionan la masa a extrundir contra el tamiz. Esto lo consiguen porque presentan dos movimientos: uno de rotación sobre si mismos; y otro de traslación sobre el perímetro interno de la circunferencia que dibuja el tamiz. Al final la masa que sale por los orificios pequeños es

cortada por unas cuchillas que a su vez giran por la parte exterior de la pared de dicho tamiz.

La etapa de extrusión ha sido estudiada por numerosos investigadores, viendo su influencia sobre la calidad del producto final obtenido sea el extrudido propiamente dicho o tras haber sido esferonizado y transformado en pelets. En los primeros trabajos publicados la mayor parte de los estudios se realizaron empleando extrusores de pistón o de tornillo (Fielden y col., 1989; Harrison y col., 1984, 1985a, b, y 1987; Raines y col., 1987) para caracterizar la reología de las masas húmedas que son extrudidas, y conocer si son aptas para este proceso o no. La ventaja de estos extrusores es que registran las fuerzas empleadas durante la extrusión, lo que los hace idóneos para un seguimiento del proceso. Debido a las elevadas presiones que se ejercen con estos extrusores, se producen movimientos del líquido de humectación en el seno de la masa, que tienen una gran importancia sobre la calidad final del extrudido y pelets obtenidos (Baert y col., 1992b; Tomer y col., 1999a, b). Actualmente estos equipos siguen empleándose de forma asidua en la caracterización de masas y fabricación de pelets (Baylac y col., 1995; Chatchawalasasin y col., 2004; Kleinebudde y col., 1994; Kleinebudde 1995; Luukkonen y col., 2001a; MacRitchie y col., 2002; Nakamichi, y col., 2001; Sousa y col., 2002). Incluso se han hecho modificaciones (Pinto y col., 2001) que permiten la coextrusión o extrusión simultánea de dos o más materiales, creando un extrudido de múltiples capas.

Figura 6: *Extrusor de rodillos*

Además de conocer las variables que afectan al proceso de extrusión también es bastante habitual encontrar en la bibliografía estudios cuyo objetivo es la comparación de diferentes extrusores. Schmidt y col., 1997 y 1998 estudiaron las diferencias entre un extrusor de tornillo y uno de rodillos, observando que el extrudido producido tiene diferentes requerimientos de agua, necesitando más el primer caso. Por otra parte, Baert y col., 1993c también compararon un extrusor de tornillo y uno de rodillos, llegando a la

misma conclusión que los anteriores, es decir, que los resultados del segundo pueden ser extrapolados al primero pero con la salvedad de que la región en la que se obtienen esferas de la calidad adecuada es más pequeña para el caso del extrusor de tornillo. Baert y col., 1992b, y Fielden y col., 1992c estudiaron las diferencias entre un extrusor de pistón con diferentes extrusores de rodillos y concluyeron que los contenidos de agua son diferentes para cada caso. Finalmente, Thoma y col., 1998a, b compararon tres extrusores diferentes (uno de rodillos, uno de tornillo axial y otro de tornillo radial) y vieron que también había diferencias en el extrudido obtenido, y aunque el peor era el del extrusor de tornillo axial, al final los pelets obtenidos eran de buena calidad, y junto con los del extrusor de cilindros los de mayor densidad.

Una vez aclarada la importancia del equipo empleado para la extrusión, comenzaremos a comentar la influencia de ciertas variables que afectan a este proceso. Evidentemente, como ya se comentó anteriormente, el parámetro más importante es la cantidad de líquido de humectación empleado. Sin embargo, en la bibliografía es posible encontrar múltiples estudios en los que se examina la importancia de ciertas variables como la velocidad de extrusión en diferentes extrusores (Chariot y col., 1987; Hasznos y col., 1992; Hellén y col., 1993b; Hileman y col., 1993; Kleinebudde y col., 1993; Lövgren y col., 1989; Malinowski y col., 1974; Pinto y col., 1992), y temperatura de extrusión (Malinowski y col., 1975; Shah y col., 1994). Pero por encima de estos factores una de las variables más estudiadas es el diseño de los orificios a través de los cuales tiene lugar la extrusión (Vervaet y col., 1996), ya que su diámetro es el que va a determinar en gran medida el tamaño final de las partículas obtenidas (Chariot y col., 1987; Connie y col., 1970; Hileman y col., 1993). Además también se ha visto que tiene una gran importancia la relación longitud/diámetro en estos orificios (Hellén y col., 1992 y 1993c; Pinto y col., 1992; Vervaet y col., 1994) ya que al aumentar esta relación, se obtiene un extrudido más largo y liso que dará lugar a pelets de mayor tamaño y densidad, llegando la importancia a ser tal que Vervaet y col., 1994 sugieren trabajar con elevadas relaciones longitud/diámetro en extrusores de canasta cuando los pelets sean de baja calidad, antes de probar modificaciones en la formulación.

1.2.4 Esferonización

La esferonización es una técnica que data de 1966 con la patente de Nakahara. Su importancia reside en que las partículas esféricas obtenidas presentan la ventaja geométrica de su baja relación superficie/volumen, lo que las hace idóneas para ser sometidas a procesos de recubrimiento (Hicks y col., 1989). El objetivo final de esta etapa es transformar, mediante deformación plástica, los cilindros obtenidos durante la extrusión en pelets esféricos, para lo cual la masa debe tener las propiedades adecuadas (Shah y col., 1995) enumeradas en el punto anterior.

El esferonizador (figura 7) consiste en un cilindro hueco dispuesto de forma vertical, en cuya base se encuentra un plato de fricción que presenta una serie de rugosidades. El extrudido se deposita en el interior de dicho cilindro, y al girar el plato comenzarán a formarse pequeñas partículas esféricas si las propiedades de los materiales lo permiten.

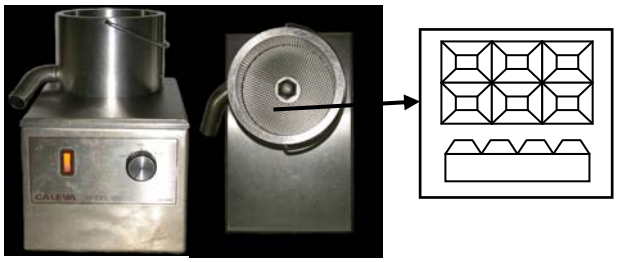


Figura 7: *Detalle frontal y superior de un esferonizador Caleva 120, junto con esquema de las rugosidades del plato de fricción.*

Esto se consigue gracias al movimiento que las partículas adquieren dentro del esferonizador. El movimiento de las partículas comienza cuando empieza a girar el plato de fricción debido a la fuerza centrípeta generada por la rotación del plato. Las partículas son entonces arrojadas contra la pared del esferonizador y debido al impulso adquirido suben por ella hasta una determinada altura y vuelven a caer adoptando una forma de cuerda, por esta razón muchos autores definen este movimiento “de cuerda” o “collar”. Por lo tanto surgen diferentes fuerzas de fricción como consecuencia de los choques de las partículas con ellas mismas, con la pared y el plato del esferonizador.

Son dos los mecanismos propuestos para la formación de pelets mediante extrusión-esferonización (figura 8). Por un lado Baert y col., 1993a proponen primero una deformación del extrudido en forma de cilindro, que debido al movimiento "de cuerda" que siguen las partículas dentro del esferonizador, "se retuercen" hasta romperse en dos unidades con una pequeña cavidad central que posteriormente se redondea hasta convertirse en esferas. El segundo de ellos lo propone Rowe en 1985 y consiste en lo siguiente: en los primeros veinte segundos el extrudido se rompe en pequeños cilindros angulosos, los cuales, a medida que va girando el plato de fricción se van transformando en cilindros con bordes redondeados, figuras fusiformes, elipses y finalmente formas esféricas.

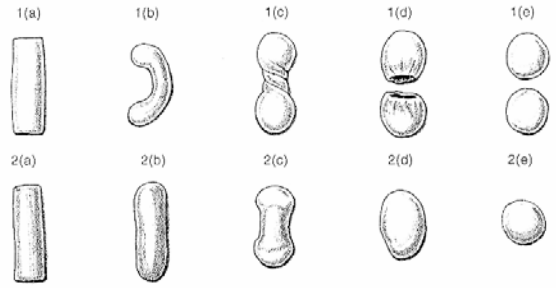


Figura 8: *Mecanismo de formación de pelets propuestos por Baert y col., 1993a (1); y Rowe 1985 (2). Fotografía extraída de Erkoboni 1997.*

De entre todas las variables que afectan al proceso, al igual que en la extrusión, la cantidad de agente humectante y la naturaleza de los materiales empleados son los parámetros que mayor influencia van a ejercer sobre la esferonización. Sin embargo, también hay otras variables que no dependen de los materiales y si de las diferentes posibilidades que ofrecen los equipos.

Han sido numerosos los grupos de investigación que han ideado diseños experimentales para comprobar la influencia de diversos parámetros durante la esferonización y que afectan a la calidad final de los pelets (Chariot y col., 1987; Hasznos y col., 1992; Malinowski y col., 1974 y 1975). A continuación comentaremos las variables tecnológicas más importantes de este proceso.

Uno de los factores importantes es la velocidad a la que gira el plato de fricción, ya que para algunos autores (Hellén y col., 1993d) este factor junto con la carga del esferonizador y el tiempo de esferonización van a determinar como se romperá el

extrudido. Además al aumentar la velocidad también se incrementará la evaporación del líquido humectante de las partículas, pudiendo solucionarse esto con una mayor carga del esferonizador (Hellén y col., 1993a). Este punto es importante porque puede dar lugar a partículas que parezca que hayan sido poco humectadas y por lo tanto presenten un tamaño menor del esperado. Otro aspecto importante sobre el que influye la carga del esferonizador es que al aumentarla se verá incrementada a su vez la densidad de las partículas (Hellén y col., 1993a y 1994b). La velocidad de esferonización, también está directamente relacionada con la esfericidad (Hileman y col., 1993; Hellén y col., 1994b; Lövgren y col., 1989; Woodruff y col., 1972), aunque Umprayn y col., 1999 además afirman que junto con un incremento del tiempo de esferonización se disminuye la rugosidad superficial e incrementa el tamaño de partícula. Otros autores como Kleinebudde y col., 1999 afirman que si se emplean velocidades de esferonización elevadas no se da tiempo a las partículas de que se rompan, por lo que comienzan a deformarse antes de tiempo dando lugar a formas cilíndricas de bordes redondeados. Sin embargo si se trabaja a menores velocidades el extrudido se rompe pero la energía aplicada no es suficiente para la deformación plástica, y ésta es la razón por la que estos autores recomiendan el uso de velocidades intermedias. Sin embargo, por otro lado Wan y col., 1993 indican que un aumento en el tiempo y velocidad de esferonización dan lugar a partículas de menor tamaño. Precisamente el tiempo de esferonización es otra variable importante. Hellén y col., 1994a afirman que el tamaño de las partículas disminuye variando bastante en los primeros cinco minutos, aunque posteriormente se mantiene constante la primera media hora. Además si se incrementa el tiempo de esferonización se obtienen partículas más esféricas (Baert y col., 1993b) y disminuyen la friabilidad y el tamaño de los pelets (O'Connor y col., 1984), aunque para Ier y col., 1996 el aumentar este tiempo significa obtener tamaños de partícula en un intervalo más estrecho. Como norma general, puede concluirse que al incrementar el tiempo o la velocidad de esferonización se incrementa la densidad de las partículas y disminuye su friabilidad (Hileman y col., 1993).

Finalmente, también hay que tener en cuenta la rugosidad del plato de fricción, ya que cuanto más rugoso sea, más rápidamente se romperá el extrudido en fragmentos más pequeños. Sin embargo este hecho combinado con elevadas velocidades de giro puede producir una abrasión sobre la superficie de las partículas haciendo que ésta presente una mayor rugosidad.

1.2.5 Secado

Ésta es la última etapa del proceso, y en ella trata de eliminarse de forma directa la humedad residual o el líquido de humectación que fuera añadido a la formulación durante su elaboración. Esta etapa puede realizarse en una estufa de aire caliente (Jalal y col., 1972; Zhang y col., 1990) o en un lecho fluido, siendo éste el método más rápido y eficaz (Dyer y col., 1994). Precisamente este último grupo de investigadores observó como las partículas secadas en lecho fluido presentaban un perfil de liberación más lento que las secadas en una estufa de aire caliente, siendo la causa de este fenómeno el mayor tiempo que lleva secar las partículas mediante este último método, por lo que el principio activo tiene tiempo suficiente para “migrar” hacia la superficie de las partículas. Han surgido diferentes estudios en los que se ha tratado de profundizar en la importancia de esta etapa en la calidad final de las partículas, así, por ejemplo Berggren y col., 2001a, b ponen de manifiesto como un incremento en la velocidad de secado no influye en la rugosidad superficial, o cómo influye la naturaleza del agente humectante en el secado. También hay otros estudios (Kleinebudde 1994) sobre la reducción de tamaño que sufren los pelets fabricados con celulosas, y que es dependiente del método de secado utilizado.

1.3 MATERIALES EMPLEADOS EN LA PELETIZACIÓN

Mientras que las condiciones y equipamientos para la peletización son factores críticos para la obtención de pelets, no es menos cierto que las características de los productos empleados son los que van a posibilitar o impedir en última instancia la producción de las partículas (Harris y col., 1989).

A lo largo de la bibliografía son muchos los autores en afirmar que el principal y esencial excipiente para la peletización mediante extrusión-esferonización es la celulosa microcristalina (MCC) (Connie y col., 1970; Reynolds 1970; Rowe 1985; Newton 1990) ya que debido a la elevada capacidad de retener agua que posee es capaz de proporcionar la lubricación y plasticidad necesaria durante la extrusión y esferonización respectivamente para que el extrudido se deforme en partículas esféricas. De hecho hay trabajos en los que se ha estudiado la capacidad de la MCC para "atrapar" agua (Fielden y col., 1988; Khan y col., 1988) en su estructura, por lo que han surgido incluso dos teorías sobre esta interacción que tan importante resulta para la extrusión-esferonización: en la primera teoría se supone que la MCC actúa igual que una esponja que capta agua (Ek y col., 1998), mientras que la segunda es el modelo del sistema cristal-gel (Kleinebudde 1997).

Referente a los materiales empleados en la peletización, se presentan dos grupos claramente diferenciados, ya que por un lado están una serie de trabajos en los que se utiliza la MCC y sus diferentes grados, sola o con otros derivados de la celulosa; y por otro lado se plantea el uso de materiales alternativos a los derivados celulósicos, intentando sustituirlos total o parcialmente en la formulación.

En cuanto a este primer grupo, indicamos en la tabla 1 los distintos tipos de celulosas empleadas más frecuentemente.

Respecto al empleo de otros derivados de la celulosa, Chatlapalli y col., 1998 utilizan HPMC (Metocel), o HEC (Natrusol 250 HHX) humectados con isopropil alcohol y en ausencia de MCC para la fabricación de pelets. Por otra parte, Kleinebudde en 1994 emplea hidroxipropilcelulosa de baja sustitución en diferentes mezclas con MCC, mientras que Law y col., 1998 utilizan la hidroxipropilmetilcelulosa, hidroxipropilcelulosa, carboximetilcelulosa sódica y polivinilpirrolidona, pero en este caso como agentes aglutinantes y en menor proporción.

Tipo de celulosa	Nombre	Grado	Bibliografía
MCC	Avicel	pH101	Heng y col., 1995; Heng y col., 2001; Koo y col., 2001; Newton y col., 1992; Saleh y col., 2000; Sienkiewicz y col., 1997
	Avicel	pH102	Heng y col., 2001; Koo y col., 2001; Newton y col., 1992; Rodríguez y col., 2001; Saleh y col., 2000; Sienkiewicz y col., 1997
	Avicel	pH103	Newton y col., 1992
	Avicel	pH105	Newton y col., 1992; Saleh y col., 2000
	Avicel	pH200	Sienkiewicz y col., 1997; Saleh y col., 2000
	Avicel	pH301	Heng y col., 2001; Koo y col., 2001; Saleh y col., 2000
	Avicel	pH302	Heng y col., 2001; Koo y col., 2001;
	Avicel	955	Jover y col., 1996
	Emocel		Heng y col., 2001; Heng y col., 1995
	Microcel	MC101	Bataille y col., 1997
	Microcel	3E200	Bataille y col., 1997
	Ceolus	KG801	Koo y col., 2001
	Pharmacel	101	Heng y col., 2001
	Pharmacel	102	Heng y col., 2001
	Celex	101	Heng y col., 2001
	Vivapur	101	Heng y col., 2001
	Unimac	MG100	Newton y col., 1992
	Unimac	MG22	Newton y col., 1992
MCC con dióxido de silicona	Prosolv	50M	Heng y col., 2001
	Prosolv	SMC650	Saleh y col., 2000
MCC con CMCNa	Avicel	RC501	Newton y col., 1992
	Avicel	RC581	Ghali y col., 1989; Newton y col., 1992; O'Connor y col., 1985
	Avicel	RC591	Newton y col., 1992; Saleh y col., 2000
	Avicel	Cl611	Newton y col., 1992; O'Connor y col., 1985
Celulosa microfina	Elcema	P050	Saleh y col., 2000
	Elcema	P100	Jumaa y col., 2000; Linder y col., 1994; Saleh y col., 2000
	Elcema	F150	Saleh y col., 2000
	Elcema	G250	Linder y col., 1994; Saleh y col., 2000

Tabla 1: *Diferentes tipos de celulosas con sus grados empleadas en peletización.*

Finalmente, dentro del último grupo en el que no se emplean derivados de la celulosa, o si se utilizan es en combinación con otros elementos mayoritarios que no tienen nada que ver con ésta se nos presenta la siguiente situación. Basit y col., 1999, consiguen fabricar pelets sin la presencia de MCC, a partir de ranitidina (como principio activo), sulfato de bario (como componente mayoritario) y monoesterato de glicerina

como agente humectante. Edimo y col., 1993 recurren a las mezclas entre MCC y sustancias lipofílicas como el Precirol ato 5 y Gelucire 50/02 (Flament y col., 2004). El quitosano es otro material empleado en la peletización (Goskonda y col., 1993; Santos y col., 2002; Steckel y col., 2004; Tapia y col., 1993) y que ha sido asociado con el alginato sódico (Chatchawalasasin y col., 2004) o el avicel RC 581 (Goskonda y col., 1993) ya que no puede ser utilizado como componente mayoritario, aunque Steckel y col., 2004 han conseguido pelets con cargas de quitosano de hasta un 50%. También aparecen trabajos en los que se emplean mezclas de avicel y derivados del ácido poliacrílico: Noveon AA1 (Awad y col., 2002; Rodríguez Gómez 1996), Carbopol 971P, Carbopol 974P (Neau y col., 1996; Neau y col., 2000) o Carbopol 934 (Gómez-Carracedo y col., 2001). En cuanto a las ciclodextrinas, Gazzaniga y col., 1998, consiguieron fabricar pelets a partir de 8 partes de betaciclodextrina y una de avicel, aunque Villar-López y col., 1999 elaboraron las partículas pero sin necesidad de recurrir a la MCC. También se han empleado recientemente en peletización las pectinas con diferentes grados de metoxilación, llegando a obtener pelets sin la presencia de MCC (Tho y col., 2002a, b, y 2003). En cuanto a los almidones, ya se han empleado de diversos modos para la fabricación de pelets: como agentes aglutinantes formando una suspensión en agua y gelatina para humectar el Avicel pH101 (Varshosaz y col., 1997); Zhang y col., 1990 intentaron conseguir las partículas a partir de mezclas de almidón de maíz y sacarosa como excipientes mayoritarios, aunque comprobaron que no era posible. Sin embargo, Junnila y col., 1998 y 2000 ya fueron capaces de emplear almidón de maíz y almidón ceroso de maíz en diferentes proporciones junto con MCC, obteniendo pelets de diferentes calidades. Por otro lado diferentes autores también han recurrido a la utilización de almidones junto con mezclas de otros almidones modificados, maltodextrinas y diferentes ceras, aunque en este caso la peletización se llevó a cabo en un granulador de alta velocidad (Zhou y col., 1996, 1997, 1998a, b).

1.3.1 Materiales empleados en la realización de esta memoria

1.3.1.1 Excipientes

AVICEL PH 101

Es una celulosa purificada y parcialmente despolimerizada que se presenta como un polvo cristalino blanco carente de olor y sabor constituida por partículas porosas y obtenida a partir de la hidrólisis ácida de la pulpa de diferentes plantas. Comercialmente está disponible en varios grados (Weller 2003) y en el campo de la Tecnología Farmacéutica, se emplea como agente diluyente y lubricante, aunque es un excipiente de elección en el caso de recurrir a procesos de compresión y peletización mediante extrusión-esferonización.

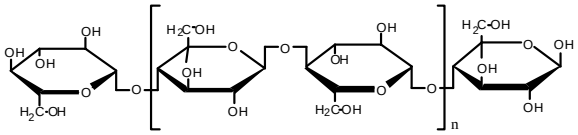


Figura 9: *Estructura de la celulosa microcristalina*

TALCO

Es un excipiente, que aunque tiene la siguiente fórmula empírica: $Mg_6(Si_2O_5)_4(OH)_4$, puede presentar pequeñas cantidades de aluminio y hierro. Es un polvo muy fino, de color blanco-grisáceo, que no presenta ningún olor, pero se adhiere rápidamente a la piel y es muy suave al tacto (Kibbe 2003). Se utiliza como agente lubricante, pero además mejora las propiedades plásticas de la masa, para obtener pelets con una mayor esfericidad (Deasy y col. 1994).

ALMIDONES Y SUS DERIVADOS

Los almidones son el carbohidrato de reserva de las plantas, presentándose en forma de gránulos que varían tanto en forma como tamaño en función de la especie vegetal de la que proceda (Swarbrick y col., 1996), y que se presentan como un polvo blanco carente de olor y sabor. Sus funciones principales en las formas de dosificación

sólidas son actuar como agentes aglutinantes, disgregantes y diluyentes (Rowley 2003a). Están constituidos por dos polímeros fundamentales (figura 10) (Belitz y col., 1988). La amilosa es una cadena lineal constituida por unidades de glucosa unidas por enlaces α(1→4). La amilopectina también está constituida fundamentalmente por unidades de glucosa unidas por enlaces α (1→4) con ramificaciones α (1→6) cada 24 ó 30 unidades de glucosa aproximadamente (Arilla 1991) y es el componente mayoritario del almidón (Kainuma 1988). En función de la especie vegetal de la que procedan los almidones presentarán diferentes proporciones en las cadenas de los dos polímeros, así para el caso del almidón de maíz la cantidad de amilosa está en torno a un 28%, y en el caso del almidón de trigo entre un 26-31% aproximadamente (Galliard 1987). El almidón de maíz céreo o ceroso (WAM) prácticamente sólo contiene amilopectina (Rowley 2003b) y al igual que todos los almidones puede gelatinizarse mediante procesos tanto físicos como químicos dando lugar al almidón pregelatinizado, que aparte de presentar una mayor solubilidad en agua posee mejores propiedades de flujo que los almidones nativos, y pueden formar matrices hidrofílicas que prolongan la liberación del principio activo (Bhardwaj y col., 2000). Esta gelatinización consiste en introducir los gránulos de almidón en agua bajo agitación constante y con calor. En estas condiciones los gránulos captan agua y comienzan a hinchar perdiendo su identidad estructural y formando una pasta viscosa y transparente (Zapsalis y col., 1986).

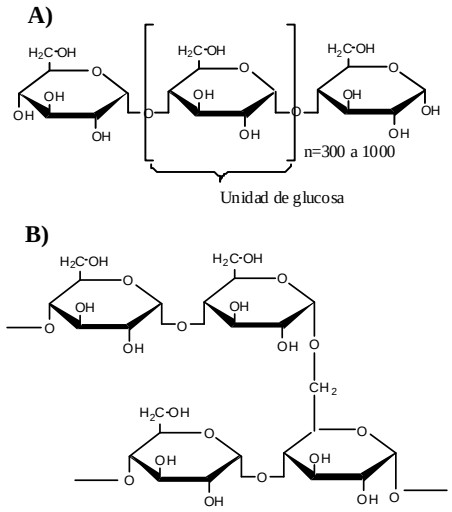


Figura 10: *Estructura de los dos polímeros fundamentales constituyentes de los almidones nativos: A) amilosa; B) amilopectina.*

Las dextrinas (figura 11) son productos intermedios de la degradación del almidón. Esta degradación consiste en una hidrólisis enzimática, para la que son necesarias las α y β amilasas que rompen las uniones α (1→4) pero dejan intactas las

α(1→6) , por lo que se obtienen pequeños fragmentos de las cadenas del almidón que todavía no han sido alterados (Belitz y col., 1988; Zapsalis y col., 1986) y se conocen como dextrinas. En función del grado de despolimerización sufrido se presentan diferentes tipos de dextrinas, siendo más solubles y más dulces a medida que los fragmentos que las constituyen son más pequeños. Las empleadas en esta memoria fueron la dextrina blanca y amarilla, que a parte de presentar los colores que indican sus nombres y de ser más solubles en agua que los almidones de los que proceden, presentan también un olor muy característico. Son entonces polímeros de la dextrosa que la Tecnología Farmacéutica emplea como agentes diluyentes, aglutinantes, viscosizantes y adhesivos o plastificantes en recubrimiento con azúcares (Day 2003).

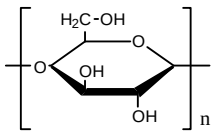


Figura 11: *Estructura básica de las dextrinas.*

1.3.1.2 Principios activos

ACETÓNIDO DE TRIAMCINOLONA

El acetónido de triamcinolona o 9α-fluoro-11β, 16 α, 17 α, 21-tetrahidroxipregna-1,4-dieno-3,20 diona, tiene un peso molecular de 434.5 y presenta la fórmula estructural indicada en la figura 12. Es un polvo cristalino blanco e inodoro prácticamente insoluble en agua (Martindale 2002a) perteneciente al grupo de los glucocorticoides (Sieh 1982) por lo que presenta sus típicas acciones antiinflamatorias e inmunosupresoras (Manso y col., 1992). Su vida media en plasma es de 2 a 5 horas y se une a proteínas plasmáticas.

TEOFILINA

La teofilina o 1,3-dimetilxantina tiene un peso molecular de 180.2 (figura 13) (Martindale 2002b). Es un polvo blanco sin olor característico y con un sabor amargo, además es ligeramente soluble en agua (8.3 mg/ml) (Cohen 1975). Relaja la musculatura lisa bronquial por lo que se utiliza como broncodilatador en el asma (Murcillo y col., 1992). Existen en el mercado formulaciones de liberación controlada con las que el t_{max}

en plasma suele ser de 4 horas, siendo eliminada por metabolización en el hígado e inalterada por el riñón un 10% de la dosis (Martindale 2002b).

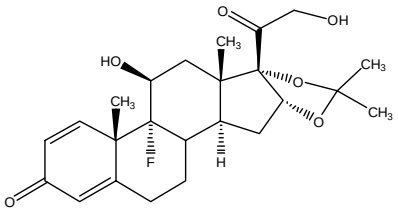


Figura 12: *Estructura química del acetónido de triamcinolona.*

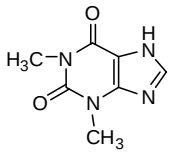


Figura 13: *Estructura química de la teofilina.*

1.4 ANÁLISIS DE IMAGEN

Como se dijo anteriormente hay dos factores fundamentales en la naturaleza de los pelets que marcarán en gran medida sus ventajas, y no son otras más que la forma y el tamaño que presentan. Es precisamente en este punto donde la caracterización de los pelets adquiere una gran importancia, siendo fundamental una descripción lo más completa posible de las poblaciones de partículas obtenidas durante los procesos de peletización. Una de las primeras aproximaciones para caracterizar ambas variables morfológicas, forma y tamaño, fue la combinación de técnicas como la tamización y observación microscópica de las partículas, que dan únicamente una idea de la distribución de tamaño de las partículas. Aunque se han empleado también técnicas más sofisticadas como el método Coulter, difracción láser y velocidad de sedimentación, éstas sólo proporcionan información sobre el tamaño y no sobre la forma de las partículas medidas, es más, para hacer medidas del tamaño presuponen una determinada forma para dichas partícula (Hundal y col., 1997).

Como alternativa surgieron las técnicas basadas en el análisis de imagen (AI), a través del cual se calculan una serie de parámetros (Lövgren y col., 1989) que permiten relacionar de un modo relativamente sencillo, rápido y reproducible, la forma y tamaño de los pelets con una serie de variables tecnológicas. En consecuencia y asociado al desarrollo de los sistemas de AI y de los soportes informáticos, en la última década

comenzaron a publicarse trabajos muy interesantes como los de Linder y col., 1993 y Zingerman y col., 1992 sobre el empleo de los métodos de AI para la evaluación de los tamaños y formas de partícula, describiendo las características peculiares del método en función del software y hardware empleados. Las técnicas de AI, debido a su importante desarrollo, incluso han sido utilizadas de referencia para la puesta a punto de otros métodos de medida (Kanerva y col., 1993a, b). Por otra parte, se ha publicado algún trabajo como el de Kennedy y col., 1997 en el que se recurre al AI no sólo para el estudio de la forma y tamaño de los pelets, sino también para la evaluación de la uniformidad y grosor de la cubierta de las partículas, en función de las medidas de saturación óptica que conforman los píxeles que constituyen las proyecciones de las partículas. Se ha empleado también para medir el hinchamiento de partículas (Davidson y col., 1994) debido a la gran exactitud que ofrecen estos métodos para el cálculo del tamaño.

Es importante destacar como el avance de la informática no sólo a nivel de software, sino también en la creación de microprocesadores más potentes y rápidos, permite mejorar y facilitar enormemente la utilización de estas técnicas. Así a modo de ejemplo, Wan y col., en 1990 para evaluar el hinchamiento de unas partículas lo que hacen es registrar el proceso en un vídeo VHS y evaluar, fotograma a fotograma, toda la secuencia de hinchamiento. Para ello, mediante la congelación del movimiento van calcando en una transparencia colocada sobre el monitor los diferentes perfiles de las partículas. Las correspondientes medidas de área las determinaron mediante el uso de un planímetro. Frente a éste método tan laborioso y poco exacto, nos encontramos con las

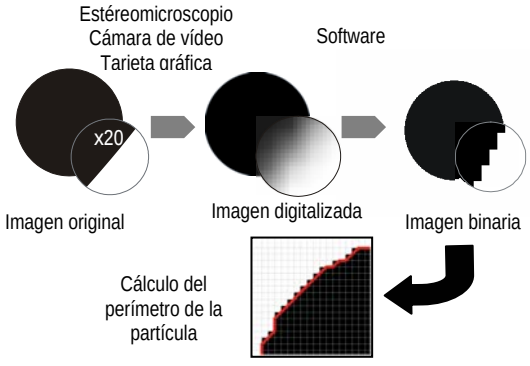


Figura 14: *Esquema de las etapas empleadas en la obtención de una imagen, para la determinación de los parámetros morfológicos mediante análisis de imagen.*

facilidades que nos brinda actualmente la informática, gracias a lo que pueden realizarse de forma muy rápida, cálculos más complejos y de manera más sencilla para el análisis morfológico y de la rugosidad superficial de las partículas. Para ello se ha recurrido al cálculo de la dimensión fractal y los factores o descriptores de Fourier (Cartilier y col., 1993; Hickey y col., 1997; Kaye 1998; Seville y col., 1997). La dimensión fractal es un índice de la rugosidad superficial y que en el campo de la Tecnología Farmacéutica puede ser de gran utilidad (Koch 1993) ya que se ha comenzado a medir no sólo para el caso de sólidos pulverulentos (Fini y col., 1998; Holgado y col., 1995; Tawashi 1990) sino también para gránulos (Li y col., 1998) y pelets (Schröeder y col., 1995; Vertommen y col., 1997). El cálculo de los descriptores de Fourier también está en la misma situación, ya que han sido utilizados para la descripción morfológica de diferentes excipientes (Bergeron y col., 1986; Dubuc y col., 1987; Thibert y col., 1988a), microesferas (Ramadan y col., 1990 y 1991) y gránulos (Thibert y col., 1988b).

Para desarrollar un método de medida basado en el análisis de imagen es necesario disponer como mínimo de: un estéromicroscopio conectado a una cámara de vídeo o de fotos, que es la encargada de enviar una parte del campo de visión captado por el estéromicroscopio a un sistema informático. La señal de vídeo es captada por una tarjeta vídeo que la decodifica y la envía al ordenador, a través de cuyo monitor vemos la imagen ya digitalizada (figura 14) y transformada en una escala de grises (Barber 1996) en función del tipo del tipo de cámara, de la tarjeta de vídeo o del software utilizados. Lo normal es que la imagen digital se encuentre en un formato de escala de grises de 8 bits (256 niveles de gris diferentes) ya que las cámaras que se emplean en estos sistemas son en blanco y negro. Este tipo de dispositivos presentan el inconveniente de que se pierde la información del color del objeto, pero poseen una mayor resolución. Una vez digitalizada la imagen, el software asigna un valor de gris a cada uno de los píxeles que conforman la imagen. En la siguiente etapa se escoge el valor umbral de gris por encima del cual el programa de AI considera a esos píxeles negros y por debajo blancos, constituyendo por lo tanto una imagen binaria de dos colores. Eso se consigue de un modo muy sencillo ya que el software asigna un valor de cero a un color y de uno a otro color para cada uno de

los píxeles. Entonces el programa de AI cuenta el número de puntos asociados al valor de cero o uno, estando este número en estrecha relación con el valor umbral de escala de gris que hayamos seleccionado. Este hecho hace que esta etapa sea fundamental llevarla a cabo de manera correcta ya que nos va a permitir diferenciar entre el fondo del campo de visión y la proyección de la partícula. Finalmente, el ordenador una vez contado el número de píxeles que conforman el borde y área de la proyección de la partícula, los multiplica por un factor de calibración obteniendo así el perímetro y área, e incluso también puede proporcionarnos las coordenadas de los puntos que conforman el contorno de la partícula (figura 15) y su centro de masas, datos muy importantes para la estimación de algunos factores de forma.

Para la determinación de la forma y el tamaño, los programas de AI disponibles en la actualidad miden una serie de parámetros directos a partir de los cuales se calculan otros indirectos. Dentro de los directos se encuentran las medidas de longitud de cuerdas como son el diámetro de Feret y el de Martin, el perímetro y la superficie; mientras que dentro de los indirectos aparecen entre otros: la relación de aspectos (AR), la circularidad (C), o el diámetro de Feret cuando se entiende como la media de varias cuerdas de las partículas. Es importante que el programa de AI no sólo proporcione medidas de estas cuerdas radiales que definen el radio o diámetro de una partícula, ya que para el caso de proyecciones formadas por pocos píxeles, el error por exceso o defecto a la hora de contabilizar unos pocos píxeles en estos diámetros o radios va a desembocar en errores muchos mayores que en el caso de programas que calculen el área, perímetro o múltiples diámetros para una misma proyección, ya que entra en juego un mayor número de píxeles y por lo tanto el error se minimiza.

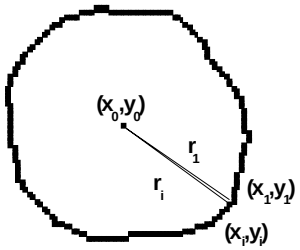


Figura 15: *Representación gráfica de las coordenadas de los píxeles del perímetro de una partícula real y su centro de masas, así como de varias cuerdas radiales. Datos extraídos con el programa de AI Sigma Scan Pro.*

Finalmente, un problema importante pero en un principio al margen del programa de AI utilizado, es el tipo de factor que se escogerá para llevar a cabo la descripción morfológica, y es precisamente en esta etapa del proceso donde surge el mayor debate entre investigadores sobre cual es el parámetro más sensible y eficaz para determinar y comparar la forma de las partículas, y que se discutirá en los próximos tres capítulos de forma exhaustiva.

OBJETIVOS

En los últimos años las formas sólidas multiparticulares como las obtenidas mediante extrusión-esferonización, han adquirido una enorme importancia debido a las ventajas tanto tecnológicas como biofarmacéuticas que presentan. Tradicionalmente para la fabricación de estas partículas se recurre al empleo de la celulosa microcristalina siendo la variedad Avicel pH 101 la más utilizada ya que da lugar a la formación de masas con las propiedades plástico-elásticas necesarias para ser sometidas a un proceso de extrusión y posterior esferonización. Una alteración cuantitativa de este componente mayoritario en la formulación, o la sustitución incluso por otro excipiente, da lugar a cambios importantes en la cantidad de líquido humectante utilizado, llegando incluso a

imposibilitar la obtención de los pelets. Es precisamente este punto, en donde se ha fijado la principal finalidad de este trabajo: es decir buscar uno o varios excipientes que bien por sí solos o en combinación presenten una alternativa a la celulosa microcristalina en la extrusión-esferonización. Para ello fue necesario dividir la estructura de este trabajo en dos partes fundamentales claramente diferenciadas.

En la primera parte se establecen y describen dos nuevos factores morfológicos que nos permitirán un estudio y evaluación más efectiva de la forma de las diferentes poblaciones de pelets obtenidos mediante los procesos de extrusión y esferonización, ya que esta es una parte importante para la caracterización de los pelets obtenidos. El establecimiento de los nuevos parámetros, su validación y su comparación con otros ya existentes se realizará en los capítulos 2, 3 y 4 de esta memoria.

En la segunda parte se estudiará la capacidad de varios almidones y sus derivados para la elaboración de pelets mediante extrusión-esferonización. Para ello inicialmente se realizará una caracterización de estos excipientes y sus mezclas empleando reometría de torsión y estudios de captación de agua. A partir de estos datos se establecerán las cantidades de agua necesarias para la fabricación de los pelets. A continuación se prepararán partículas con estos excipientes, seleccionando aquellas mezclas que proporcionen pelets con adecuada morfología. Tomando como base estos resultados se elaborarán diferentes lotes de pelets incluyendo dos principios activos con propiedades fisicoquímicas diferenciadas: uno insoluble en agua (acetónido de triamcinolona) y otro de mayor solubilidad en agua (teofilina anhidra), estudiando los perfiles de liberación obtenidos a partir de las diferentes formulaciones. Esta parte del trabajo se expondrá en los capítulos 5 y 6.

BIBLIOGRAFÍA

Arilla, E. 1991. Oligosacáridos y polisacáridos. Glicoproteínas, cartílago en *"Bioquímica aspectos estructurales y vías metabólicas. Vol. I"*. Ed. Herrera, E., New York, pp391-425.

Awad, G.A.S., Charrueau, C.A.A., Allain, P., Chaumeil, J.C. 2002. Formulation and evaluation of bioadhesive pellets containing different carbomers made by extrusion-spheronization. *STP Pharma. Sci.* 12, (157-162).

Baert, L., Fanara, D., Remon, J.P., Massart, D. 1992a. Correlation of extrusion forces, raw materials and sphere characteristics. *J. Pharm. Pharmacol.* 44, (676-678).

Baert, L., Remon, J.P. 1993a. Influence of amount of granulation liquid on the drug release rate from pellets made by extrusion spheronization. *Int. J. Pharm.* 95, (135-141).

Baert, L., Remon, J.P., Elbers, J.A.C., VanBommel, E.M.G. 1993c. Comparison between a gravity feed extruder and a twin screw extruder. *Int. J. Pharm.* 99, (7-12).

Baert, L., Remon, J.P., Knight, P., Newton, J.M. 1992b. A comparison between the extrusion forces and sphere quality of a gravity feed extruder and a ram extruder. *Int. J. Pharm.* 86, (187-192).

Baert, L., Vermeersch, H., Remon, J.P., Smeyers-Verbeke, J., Massort, D.L. 1993b. Study of parameters important in the spheronization process. *Int. J. Pharm.* 96, (225-229).

Bains, D., Boutell, S.L., Newton, J.M. 1991. The influence of moisture content on the preparation of spherical granules of barium sulphate and microcrystalline cellulose. *Int. J. Pharm.* 69, (233-237).

Barber, T.A. 1996. Image analysis (Automated Microscopy) for Particle analysis en *"Liquid and* surface *borne particle measurement handbook"*. Eds. Knapp, J.Z., Barber, T.A., Lieberman, A. New York, pp61-112.

Basit, A.W., Newton, J.M., Lacey, L.F. 1999. Formulation of ranitidine pellets by extrusion-spheronization with little or no-microcrystalline cellulose. *Pharm. Dev. Tech.* 4, (499-505).

Bataille, B., Amourdedieu, A., Sonaglio, D., Terol, A., Cassanas, G., Jacob, M., Puech, A. 1997. Preformulation in extrusion-spheronization : behavioural study of two microcel® cellulose grades. *Pharmazie*, 52, (138-144).

Baylac, G., Delalonde, M., Bataille, B., Jacob, M., Puech, A. 1995. Conception et développement d'un appareil de mesure appliqué à la rhéologie des poudres humidifieés: le compresso-rhéomètre. *STP Pharm. Pract.* 5, (495-501).

Belitz, H.D., Grosch, W. (Eds.) 1988. Carbohidratos en "*Química de los alimentos"*. Zaragoza, pp211-269.

Bergeron, M., Laurin, P., Tawashi, R. 1986. Effect of particle morphology in selecting pharmaceutical excipients. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 12, (915-926).

Berggren, J., Alderborn, G. 2001a. Effect of drying rate on porosity and tabletting behaviour of cellulose pellets. *Int. J. Pharm.* 227, (81-96).

Berggren, J., Alderborn, G. 2001b. Drying behaviour of two sets of microcrystalline cellulose pellets. *Int. J. Pharm.* 219, (113-126).

Bhardwaj, T.R., Kanwar, M., Lal, R., Gupta, A. 2000. Natural gums and modified natural gums as sustained-release carriers. *Drug Dev. Ind. Phar*. 26, (1025-1038).

Bianchini, R., Vecchio, C. 1989. Oral controlled release optimization of pellets prepared by extrusion-spheronization processing. *Il Farmaco* 44, (645-654).

Boutell, S., Newton, J.M., Bloor, J.R., Hayes, G. 2002. The influence of liquid binder on the liquid mobility and preparation of spherical granules by the process of extrusion/spheronization. *Int. J. Pharm.* 238, (61-76).

Cartilier, L.H., Tawashi, R. 1993. Effect of particle morphology on the flow and packing properties of lactose. *STP Pharma Sci.* 3, (213-220).

Chariot, M., Francés, J., Lewis, G.A., Mathieu, D., Phan-Tan-Luu, R., Stevens, H.N.E. 1987. A factorial approach to process variables of extrusion-spheronization of wet powder masses. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 13, (1639-1649).

Chatchawalasasin, J., Podczeck, F., Newton, J.M. 2004. The influence of chitosan and sodium alginate and formulation variables on the formation and drug release from pellets prepared by extrusion/spheronisation. *Int. J. Pharm.* 275, (41-60).

Chatlapalli, R., Rohera, B.D. 1998. Rheological characterization of diltiazem HCl/cellulose wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 175, (47-59).

Chatlapalli, R., Rohera, B.D. 2002. Study of effect of excipient source variation on rheological behaviour of diltiazem HCl-HPMC wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 238, (139-151).

Chopra, R., Newton, J.M., Alderborn, G., Podczeck, F. 2001. Preparation of pellets of different shape and their characterization. *Pharm. Dev. Tech.* 6, (495-503).

Clarke, G.M., Newton, J.M., Short, M.B. 1995. Comparative gastrointestinal transit of pellets systems of varyng density. *Int. J. Pharm.* 114, (1-11).

Cohen, J.L. 1975. Theophylline en *"Analitical profiles of drug substances. Vol 4"*. Ed. Florey, K. New York, pp467-487.

Conine, J.W. y Hadley, H.R. 1970. Preparation of pharmaceutical spheres. *Drug and Cosmet. Ind.* 90, (38-41).

Davidson, R., Ek, R., Ragnorsson, G. 1994. Determination of the expansion characteristics of porous cellulose matrices by image analysis. *Int. J. Phar.* 112, (153-163).

Day, A. 2003. Dextrins en "*Handbook of pharmaceutical excipients"* Eds. Rowe, R.C., Weller, P.J. London. pp197-199.

Deasy, P.B., Law, M.F.L. 1994. Application of pharmaceutical excipients in spheronization. *Proc. Int. Symp. Control. Rel. Bioact. Mat.* 21, (680-681).

Devereus, J.E., Newton, J.M., Short, M.B. 1990. The influence of density on the gastrointestinal transit of pellets. *J. Pharm. Pharmacol.* 42, (500-501).

Dubuc, B., Piché, J., Darveau, R., Tawashi, R. 1987. Des descripteurs de contour de particules solids appliqués à l'étude de systémes pharmaceutiques. *Pharm. Acta helv.* 62, (81-87).

Dyer, A.M., Khan, K.A., Aulton, M.E. 1994. Effect of the drying method on the mechanical and drug release properties of pellets prepared by extrusion. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, (3045-3068).

Edimo, A., Leterme, P., Denis, J., Traisnel, M., Gayot, A.T. 1993. Capacity of liophilic auxiliary substances to give spheres by extrusion-spheronization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19, (827-842).

Ek, R., Newton, J.M. 1998. Microcrystalline cellulose as a sponge as an alternative concept to the crystallite-gel model for extrusion and spheronization. *Pharm. Res.* 15, (509-512).

Elbers, J.A.C., Bakkenes, H.W., Fokkens, J.G. 1992. Effect of amount and composition of granulation liquid on mixing, extrusion and spheronization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18, (501-517).

Erkoboni, D.F. 1997. Extrusion-spheronization as a granulation technique in *"Handbook of pharmaceutical granulation technology"*. Ed. Parikh, D.M. New York. pp333-368.

Faure, A., Grimsey, I.M., Rowe, R.C., York, P., Cliff, M.J. 1999. Process control in a high shear mixer-granulator using wet mass consistency: the effect of formulation variables. *J. Pharm. Sci.* 88, (191-195).

Fielden, K.E., Newton, J.M., O'Brien, P., Rowe, R.C. 1988. Thermal studies on the interaction of water and microcrystalline cellulose. *J. Pharm. Pharmacol.* 40, (674-678).

Fielden, K.E., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1989. The effect of lactose particle size on the extrusion properties of microcrystalline cellulose-lactose mixtures. *J. Pharm. Pharmacol.* 41, (217-221).

Fielden, K.E., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1992a. The influence of lactose particle size on spheronization of extrudate processed by a ram extruder. *Int. J. Phar.* 81, (205-224).

Fielden, K.E., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1992b. Movement of liquids through powder beds. *Int. J. Pharm.* 79, (47-60).

Fielden, K.E., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1992c. A comparison of the extrusion and spheronization behaviour of wet powder masses processed by a ram extruder and a cylinder extruder. *Int. J. Phar.* 81, (225-233).

Fielden, K.E., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1993. The influence of moisture content on spheronization of extrudate processed by a ram extruder. *Int. J. Pharm.* 97, (79-92).

Fini, A., Fazio, G., Holgado, M.A., Fernández-Hervás, M.J. 1998. Fractal and reactive dimensions of some ursodeoxycholic acid salts. *Int. J. Pharm.* 171, (45-52).

Flament, M.P., Dupont, G., Leterme, P., Farah, N., Gayot, A. 2004. Development of 400 µm. pellets by extrusion-spheronisation application with Gelucire 50/02 to produce a sprinkle form. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 30, (43-51).

Follonier, N., Doelker, E. 1992. Biopharmaceutical comparison of oral multi-unit and single-unit sustained-release dosage form. *STP Pharma. Sci.* 2, (141-158).

Galliard, T. (Ed) 1987. Starch availabalibity and utilization en *"Starch: properties and potential. Vol 13"*. New York, pp1-15.

Gazzaniga, A., Sangalli, M.E., Bruni, G., Vecchio, C., Giordano, F. 1998. The use of β-cyclodex. As a pelletization agent in the extrusion-spheronization process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, (869-873).

Ghali, E.S., Klinger, G.H., Schwartz, J.B. 1989. Modified drug release from beads prepared with combinations of two grades of microcrystalline cellulose. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (1455-1473).

Ghebre-Sellassie, I. 1989. Pellets: a general overview in "*Pharmaceutical pelletization technology"*. Ed. Ghebre-Sellassie, I. New York, pp1-15.

Gómez-Carracedo, A., Alvarez-Lorenzo, C., Gómez-Amoza, J.L., Martínez-Pacheco, R., Souto, C., Concheiro, A. 2001. Extrusion-spheronization of blends of carbopol 934 and microcrystalline cellulose. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27, (381-391).

Goskonda, S.R., Upadrashta, S.M. 1993. Avicel RC 591/ chitosan beads by extrusion/spheronization technology. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19, (915-927).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1992. Characterization of wet masses using a mixer torque rheometer II: mixing kinetics. *Int. J. Pharm.* 83, (147-153).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1993. An assessment of substrate-binder interactions in model granule systems. Part III: linear elastis fracture mechanics. *J. Mate. Sci.* 28, (6729-6736).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1994a. An assessment of substrate-binder interactions in model wet masses I: mixer torque-rheometry. *Int. J. Pharm.* 102, (167-176).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1994b. An assessment of substrate-binder interactions in model granule systems. Part II: scanning electron microscopy. *Eur. J, Pharm. Sci.* 2, (205-211).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C., Parker, M.D. 1991. Characterization of wet masses using a mixer torque rheometer I: effect of instrument geometry. *Int. J. Pharm.* 76, (239-245).

Hariharan, M., Mehdizadeh, E. 2002. The use of mixer torque rheometry to study the effect of formulations variables on the properties of wet granulations, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 28, (253-263).

Harris, M.R., Ghebre-Sellassie, I. 1989. Formulation variables in *"Pharmaceutical pelletization technology"* Ed by Ghebre-Sellassie, I. New York, pp217-239.

Harrison, P.J., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1984. Convergent flow analysis in the extrusion of wet powder masses. *J. Pharm. Pharmacol.* 36, (796-798).

Harrison, P.J., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1985a. Flow defects in wet powders mass extrusion. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, (81-83).

Harrison, P.J., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1985b. The characterization of wet powder masses suitable for extrusion/spheronization. *J. Pharm. Pharmacol.* 37, (686-691).

Harrison, P.J., Newton, J.M., Rowe, R.C. 1987. The application of capillary rheometry to the extrusion of wet powder masses. *Int. J. Pharm.* 35, (235-242).

Hasznos, L., Langer, I., Gyarmathy, M. 1992. Some factors influencing pellet characteristics made by an extrusion/spheronisation process part I: effects on size characteristics and moisture content decrease of pellets. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 18, (409-437).

Hellén, L., Poutanen, J., Yliruusi, J., Merkku, P., Kristoffersson, E. 1994a. Changes in size and size distribution of pellets during spheronization. Part I. *Boll. Chim. Farm.* 133 (80-87).

Hellén, L., Poutanen, J., Yliruusi, J., Merkku, P., Kristoffersson, E. 1994b. Changes in shape and shape distribution, surface morphology and density of pellets during spheronization. Part II. *Boll. Chim. Farm.* 133, (88-94).

Hellén, L., Ritala, M., Yliruusi, J., Palmroos, P., Kristoffersson, E. 1992. Process variables of the radial screen extruder. Part I. Production capacity of the extruder and properties of the extrudate. *Pharm. Tech. Int.* November, (50-60).

Hellén, L., Yliruusi, J., Kristoffersson, E. 1993d. Process variables of instant granulator and spheoniser:II. Size and size distributions of pellets. *Int. J. Pharm* 96, (205-216).

Hellén, L., Yliruusi, J., Merkku, P., Kristoffersson, E. 1993a. Process variables of instant granulator and spheroniser: I. Physical properties of granules, extrudate and pellets. *Int. J. Pharm.* 96, (197-204).

Hellén, L., Yliruusi, J., Merkku, P., Kristoffersson, E. 1993b. Process variables of the radial screen extruder III: shape, surface and flow properties of pellets. *Pharm Tech. Int.* 5, (38-48).

Hellén, L., Yliruusi, J., Muttonen, E., Kristoffersson, E. 1993c. Process variables of the radial screen extruder part II: size and size distributions of pellets. *Pharm Tech. Int.* January, (44-53).

Heng, P.W.S., Koo, O.M.Y. 2001. A study of the effects of the physical characteristics of microcrystalline cellulose on performance in extrusion spheronization. *Pharm. Res.* 18, (480-487).

Heng, P.W.S., Wan, L.S.C., Ling, B.L. 1995. Asessment of powder cohesiveness in spheronization studies. *Int. J. Pharm.* 116, (119-123).

Hickey, A.J., Concessio, N.M. 1997. Descriptors of irregular particle morphology and powder properties. *Adv. Drugs Deliv. Rev.* 26, (29-40).

Hicks, D.C., Freese, H.L. 1989. Extrusion and spheronizing equipment en *"Pharmaceutical pelletization technology"*. Ed, Ghebre-Sellassie, I. New York, pp71-101.

Hileman, G.A., Gosconda, S.R., Spalitto, A.J., Upadrashta, S.M. 1993. A factorial aproach to high dose product development by an extrusion/spheronization process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 19, (483-491).

Hileman, G.A., Upadrashta, S.M., Neau, S.H. 1997. Drug solubility effects on predecting optimun conditions for extrusion and spheronization of pellets. *Pharm. Dev. Tech.* 2, (43-52).

Holgado, M.A., Fernández-Hervás, M.J., Fernández-Arévalo, M., Rabasco, A.M. 1995. Use of fractal dimensions in the study of excipients: application to the characterization of modified lactoses. *Int. J. Pharm.* 121, (187-193).

Holm, P. 1996. Pelletization by granulation in a roto-processor RP-2. Part II: effects of process and product variables on agglomerates' shape and porosity. *Pharm. Tech. Eur.* October, (38-45).

Holm, P., Bonde, M., Wigmors, T. 1996. Pelletization by granulation in a rotor-processor-RP2. Part I: Effects of process and product variables on granule growth. *Pharm. Tech. Eur.* (21-36).

Hundal, H.S., Rohani, S., Wood, H.C., Pons, M.N. 1997. Particle shape characterization using image analysis and neural networks. *Pow. Tech.* 91, (217-227).

Iyer, R.M., Augsburger, L.L., Pope, D.G., Shah, R.D. 1996. Extrusion/spheronization effect of moisture content and spheronization time on pellet characteristics. *Pharm. Dev. Tech.* 1, (325-331).

Jalal, I.M., Malinowski, H.J., Smith, W.E. 1972. Tablet granulations composed of spherical-shaped particles. *J. Pharm. Sci.* 61, (1466-1467).

Janin, V., Parker, M.D., Rowe, R.C. 1990. Monitoring production scale granulation processes using an instrumented mixer torque rheometer. *STP Pharma* 6, (233-237).

Jover, I., Podczeck, F., Newton, J.M. 1996. Evaluation, by a statiscally designed experiment, of an experimental grade of microcrystalline cellulose, avicel 955, as a technology to aid the production of pellets with high drug loading. *J. Pharm. Sci.* 85, (700-705).

Jumaa, M., El Saleh, F., Hassan, I., Müller, B.W., Kleinebudde, P. 2000. Influence of cellulose type on the properties of extruded pellets. Part I. Physicochemical characterization of the cellulose types after homogenisation. *Colloid Polym. Sci.* 278, (597-607).

Junnila, R., Heinämäk, J., Yliruusi, J. 1998. Effects of surface-active agent on the size, shape and hardness of microcrystalline cellulose-maize starch pellets prepared by an extrusion-spheronization technique. *STP Pharma Sci.* 8, (221-226).

Junnila, R., Palviainen, P., Heinämäk, J., Myllärinen, P., Forssell, P., Yliruusi, J. 2000. Waxy corn starch: a potent cofiller in pellets produced by extrusion-spheronization. *Pharm. Dev. Tech.* 5, (67-76).

Kainuma, K., 1988. Structure and chemistry of the starch granules en *"The biochemistry of plants. A comprehensive treatise. Vol 14"*. Eds. Stumpf, P.K., Conn, E.E. New York, pp141-180.

Kanerva, B.H., Kiesvaara, J., Muttonen, E., Yliruusi, J. 1993a. Evaluation of the capability of laser diffraction to determine the size distributions of spherical particles. *Pharm. Ind.* 55, (775-779).

Kanerva, B.H., Kiesvaara, J., Muttonen, E., Yliruusi, J. 1993b. Use of laser light diffraction in determinig the size distributions of different shaped particles. *Pharm. Ind.* 55, (849-853).

Kapsidou, T., Nikolakakis, I., Malamataris, S. 2001. Agglomeration state and migration of drugs in wet granulations during drying. *Int. J. Pharm.* 227, (97-112).

Kaye, B.H. 1998. Characterization of powders and aerosols. *Part. Part. Syst. Charact.* 15, (281-298).

Kennedy, J.P., Niebergall, P.J. 1997. Preliminary assesment of an image analisysmethod for the evaluation of pharmaceutical coatings. *Pharm. Dev. Tech.* 2, (205-212).

Khan, F., Ingham, S. 1988. The effect of moisture on the density, compaction and tensile strength of microcrystalline cellulose. *Pow. Tech.* 54, (161-164).

Kibbe, A.H. 2003. Talc en "*Handbook of pharmaceutical excipients*" Eds. Rowe, R.C., Weller, P.J. London, pp641-643.

Kleinebudde, P. 1994. Shrinking and swelling properties of pellets containing microcrystalline cellulose and low substitued hydroxypropylcellulose: I shrinking properties. *Int. J. Pharm.* 109, (209-219).

Kleinebudde, P. 1995. Use of a power-consumption-controlled extruder in the development of pellets formulations. *J. Pharm. Sci.* 84, (1259-1264).

Kleinebudde, P. 1997. The crystallite- gel model for microcrystalline cellulose in wet granulation, extrusion and spheronization. *Pharm. Res.* 14, (804-809).

Kleinebudde, P., Linder, H. 1993. Experiments with an instrumented twin-screw extruder using a single-step granulation-extrusion process. *Int. J. Pharm.* 94, (49-58).

Kleinebudde, P., Schröeder, M., Schultz, P., Müller, B.W., Waaler, T., Nymo, L. 1999. Importance of the fraction of microcrystalline cellulose and spheronization speed on the properties of extruded pellets made from binary mixtures. *Pharm. Dev. Tech.* 4, (397-404).

Kleinebudde, P., Solvberg, J., Linder, H. 1994. The powder-consumption controlled extruder: A tool for pellet production. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, (542-546).

Koch, H.P. 1993. The concept of fractals in the pharmaceutical sciences. *Pharmazie* 48, (643-659).

Koo, O.M.Y., Heng, P.W.S. 2001. The influence of microcrystalline cellulose grade on shape and shape distributions of pellets produced by extrusion-spheronization. *Chem. Pharm. Bull.* 49, (1383-1387).

Landin, M., Rowe, R.C., York, P. 1995. Characterization of wet powder masses with a mixer torque rheometer 3. Non linear effects of shaft speed and sample weight. *J. Pharm. Sci.* 84, (557-560).

Law, M.F.L., Deasy, P.B. 1998. Use of hydrophilic polymers with microcrystalline cellulose to improve extrusion-spheronization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 45, (57-65).

Li, T., Park, K. 1998. Fractal analysis of pharmaceutical particles by atomic force microscopy. *Pharm. Res.* 15, (1222-1232).

Linder, V.H., Kleinebudde, P.K. 1993. Anwendung der automatischen bildanalyse zur charakterisierung von pellets. *Pharm. Ind.* 55, (694-701).

Linder, V.H., Kleinebudde, P.K. 1994. Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, (2-7).

Lövgren, K., Lundberg, P.J. 1989. Determination of sphericity of pellets prepared by extrusion/spheronization and the impact of some process parameters. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (2375-2392).

Lusting-Gustafsson, C., Johal, H.K., Podczeck, F., Newton, J.M. 1999. The influence of water content and drug solubility on the formulaiton of pellets by extrusion and spheronisation. *Eur. J. Pharm. Sci.* 8, (147-152).

Luukkonen, P., Newton, J.M., Podczeck, F., Yliruusi, J. 2001a. Use of a capilary rheometer to evluate the rheological properties of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses. *Int. J. Pharm.* 216, (147-157).

Luukkonen, P., Schaefer, T., Hellén, L., Juppo, A.M., Yliruusi, J. 1999. Rheological characterization of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 188, (181-192).

Luukkonen, P., Schaefer, T., Podczeck, F., Newton, J.M., Hellén, L., Yliruusi, J. 2001b. Characterization of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses using a powder rheometer. *Eur. J. Pharm. Sci.* 13, (143-149).

MacRitchie, K.A., Newton, J.M., Rowe, R.C. 2002. The evaluation of the rheological properties of lactose/microcrystalline cellulose and water mixtures by controlled stress rheometry and the relationship to the production of spherical pellets by extrusion/spheronization. *Eur. J. Pharm. Sci.* 17, (43-50).

Malamataris, S., Kiortsis, S. 1997. Wettability parameters and deformational behaviour of powder-liquid mixes in the funicular agglomeration phase. *Int. J. Pharm.* 154, (9-17).

Malinowski, H.J., Smith, W.E. 1974. Effects of spheronization process variables on selected tablet properties. *J. Pharm. Sci.* 63, (285-288).

Malinowski, H.J., Smith, W.E. 1975. Use of factorial design to evaluate granulations prepared by sphernozation. *J. Pharm. Tech.* 64, (1688-1692).

Manso, G., Hidalgo, A. 1992. Corticosteroides naturales y sintéticos en *"Velázquez. Farmacología"*. Eds. Velasco-Martín, A., Lorenzo-Fernández, P., Serrano-Molina, S.S., Andrés-Trelles, F. New York, pp839-855.

Martindale 2002a. Ed. Sweetman, S.C. London, pp1080-1081.

Martindale 2002b. Ed. Sweetman, S.C. London, pp777-785.

Millili, G.P., Schwartz, J.B. 1990. The strength of microcrystalline cellulose pellets: the effect of granulating with water/ethanol mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16, (1411-1426).

Murcillo, E., Cortijo, J., Perpiña, M. 1992. Farmacología de las vías respiratorias: antitusígenos y expectorantes, mucolíticos y broncodilatadores en *"Velázquez. Farmacología"*. Eds. Velasco-Martín, A., Lorenzo-Fernández, P., Serrano-Molina, S.S., Andrés-Trelles, F. New York, pp743-751.

Nakahara, N. 1966. U.S. Patent 3277520

Nakamichi, K., Yasuura, H., Fukui, H., Oka, M., Izumi, S. 2001. Evaluation of a floating dosage form of nicardipine hydrochloride and hydroxypropylmethyl cellulose acetate succinate prepared using a twin-screw extruder. *Int. J. Pharm.* 218, (103-112).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Durrani, M.J. 1996. Fabrication and characterization of extruded and spheronized beads containing Carbopol® 974P, NF resin. *Int. J. Pharm.* 131, (47-55).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Hileman, G.A., Durrani, J., Gheyas, F., Evans, B.A. 2000. Formulation and process considerations for beads containing Carbopol® 974P, NF resin made by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 199, (129-140).

Newit, D.M., Conway Jones, J.M. 1958. A contribution to the theory and practice of granulation. *Trans. Ins. Chem. Eng.* 36, (422-442).

Newton, J.M. 1990. The preparation of spherical granules by extrusion/spheronisation. *STP Pharma.* 6, (396-398).

Newton, J.M., Chow, A.K., Jeewa, K.B. 1992. The effect of excipient source on spherical granules made by extrusion/spheronization. *Pharm. Tech. Int.* October, (52-58).

Noché, C., Barochez, B.H., Brossard, C., Horvath, S., Cuiné, A. 1994. Optimizing the manufacturing process for controlled release pellets. *Pharm. Tech. Eur.* April, (39-46).

O'Connor, R.E., Holinez, J., Schwartz, J.B. 1984. Spheronization I: Processing and evaluation of spheres prepared from commercially available excipients. *Am. J. Pharm.* 150, (80-87).

O'Connor, R.E., Schwartz, J.B. 1985. Spheronization II: drug release from drug-diluent mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 11, (1837-1857).

O'Connor, R.E., Schwartz, J.B. 1989. Extrusion and spheronization technology in "*Pharmaceutical pelletization technology*" Ed by Ghebre-Sellassie, I. New York, pp 187-239.

Otsuka, M., Gao, J., Matsuda, Y. 1994. Effect of amount of added water during extrusion-spheronization process on pharmaceutical properties of granules. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 20, (2977-2992).

Parker, M.D., Rowe, R.C. 1991b. Source variation in the wet massing (granulation) of some microcrystalline celluloses. *Pow. Tech.* 65, (273-281).

Parker, M.D., Rowe, R.C., Upjohn, N.G. 1987. Use of granulation rheology in identifying interactions between microcrystalline cellulose and typical polymer binders. *J. Pharm. Pharmacol.* 39, (89P)

Parker, M.D., Rowe, R.C., Upjohn, N.G. 1990a. Mixer torque rheometry: A new method for quantifying consistency of wet granulations. *Pharm. Tech. Int.* September, (50-64).

Parker, M.D., York, P., Rowe, R.C. 1990b. Binder-substrate interactions in wet granulations 1: the effect of binder characteristics. *Int. J. Pharm.* 64, (207-216).

Parker, M.D., York, P., Rowe, R.C. 1991a. Binder-substrate interactions in wet granulations 2: the effect of binder molecular weight. *Int. J. Pharm.* 72, (243-249).

Parker, M.D., York, P., Rowe, R.C. 1992. Binder-substrate interactions in wet granulations 3: the effect of excipient source variation. *Int. J. Pharm.* 80, (179-190).

Pinto, J.F., Buckton, G., Newton, J.M. 1992. The influence of four selected processing and formulation factors on the production of spheres by extrusion and spheronisation. *Int. J. Pharm.* 83, (187-196).

Pinto, J.F., Lameiro, M.H., Martins, P. 2001. Investigation on the co-extrudability and spheronization properties of wet masses. *Int. J. Pharm.* 227, (71-80).

Raines, C.L., Newton, J.M. 1987. The extrusion rheology of various grades of microcrystalline cellulose. *J. Pharm. Pharmacol.* 39, (90P).

Ramadan, M.A., Tawashi, R. 1990. Effect of surface geometry and morphic features on the flor characteristics of microsphere suspensions. *J. Pharm. Sci.* 79, (929-933).

Ramadan, M.A., Tawashi, R. 1991. An automatic system for the classification and identification of microspherical particles using morphological and surface geometry parameters. *STP Pharma Sci.* 1, (242-247).

Remon, J.P., Schwatz, J.B. 1987. Effect of raw materials and processing on the quality of granules prepared from microcrystalline cellulose-lactose mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 13, (1-14).

Reynolds, A.D. 1970. A new technique for the production of spherical particles. *Mfg. Chem. Aerosol News* 40, (40-43).

Robinson, R.L., Hollenbeck, R.G. 1991. Manufacture of spherical acetaminophen pellets: Comparison on rotary processing with multiple step extrusion and spheronization. *Pharm. Tech.* 80, (48-56).

Rodríguez, E.C., Torrado, J.J., Nikolakakis, I., Torrado, S., Lastres, J.L., Malamataris, S. 2001. Micrometric and packing properties of diclofenac pellets and effects of some formulations variables. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 27, (847-855).

Rodríguez Gómez A., Anguiano Igea S., Otero Espinar F.J., Blanco Méndez J. 1996. Effect of bioadhesives polymers on pellets obtained by extrusion-spheronization. *3rd European Congress of Pharmaceutical Sciences. Edinburg* (15-17).

Rodríguez Gomez, M.A., Anguiano Igea, S., Otero Espinar, F.J., Vila Jato, J.L., Blanco Méndez, J. 1997a. Obtención de pelets por extrusión-esferonización (I): Etapas del proceso y evaluación del producto. *Industria Farmacéutica.* (73-78).

Rodríguez-Gomez, M.A., Anguiano Igea, S., Otero Espinar, F.J., Vila Jato, J.L., Blanco Méndez, J. 1997b. Obtención de pelets por extrusión-esferonización (II): Equipos y variables tecnológicas. *Industria Farmacéutica.* (43-49).

Rowe, R.C. 1985. Spheronization: a novel pill-making process? *Pharm. Int.* May, (119-123).

Rowe, R.C. 1996a. Mixer torque-rheometry-further advances. *Pharm. Tech. Eur.* 8, (38-48).

Rowe, R.C. 1996b. Characterizationof wet powder masses using a mixer torque rheometer 4. Effect of blade orientation. *Int. J. Pharm.* 133, (133-138).

Rowe, R.C., Sadeghnejad, G.R. 1987. The rheology of microcrystalline cellulose powder/water mixes-measurement using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 38, (227-229).

Rowley, G. 2003a. Starch en *"Handbook of pharmaceutical excipients"* Eds. Rowe, R.C., Weller, P.J. London, pp603-608.

Rowley, G. 2003b. Starch pregelatinized en *"Handbook of pharmaceutical excipients"* Eds. Rowe, R.C., Weller, P.J. London, pp609-611.

Saleh, F.E., Jumaa, M., Hassan, I., Kleinebudde, P. 2000. Influence of cellulose type on the properties of extruded pellets II. Production and properties of pellets. *STP Pharma. Sci.* 10, (379-385).

Santos, H., Veiga, F., Pina, M., Podczeck, F., Sousa, J. 2002. Physycal properties of chitosan pellets produced by extrusion-spheronisation: influence of formulation variables. *Int. J. Pharm.* 246, (153-169).

Schildcrout, S.A. 1984. Rheology of pharmaceutical granulations. *J. Pharm. Pharmacol.* 36, (502-505).

Schmidt, C., Kleinebudde, P. 1998. Comparison between a twin-screw extruder and rotary ring die press. Part II: influence of process variables. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 45, (173-179).

Schmidt, C., Kleinebudde, P. 1999. Influence of the granulation step on pellets prepared by extrusion/spheronization. *Chem. Pharm. Bull.* 47, (405-412).

Schmidt, C., Linder, H., Kleinebudde, P. 1997. Comparison between a twin-screw extruder and rotary ring die press. Part I: influence of formulation variables. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 44, (169-176).

Schröeder, M., Kleinebudde, P. 1995. Structure of disintegrating pellets with regard to fractal geometry. *Pharm. Res.* 12, (1694-1700).

Seville, J., Tüzün, U., Clift, R. (Eds) 1997. Particle characterization en "*Processing of particulate solids"*. London, pp21-24.

Shah, R.D., Kabadi, M., Pope, D.G., Augsburger, L.L. 1994. Physico-mechanical characterization of the extrusion-spheronization process. Part I: Instrumentation of the extruder. *Pharm. Res.* 11, (355-360).

Shah, R.D., Kabadi, M., Pope, D.G., Augsburger, L.L. 1995. Physico-mechanical characterization of the extrusion-spheronization process. Part II: Rheological determinants for successful extrusion and spheronization. *Pharm. Res.* 12, (496-507).

Sieh, D. H. 1982. Triamcinolone acetonide en *"Analytical profiles of drug substances. Vol 11"*. Ed. Florey, K. New York, pp615-649.

Sienkiewicz, G., Pereira, R., Rudmic, E.M., Lausier, J.M., Rhodes, C.T. 1997. Spheronization of theophylline-avicel combinations using a fluidized-bed rotogranulation technique. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23, (173-182).

Sirca, J., Kerc, J., Srcic, S., Kofler, B. 1995. Preparation of neutral and ketoprofen pellets by extrusion/spheronisation technology. *Proc. 1st World Meet. APV/APV* 9, (369-370).

Sousa, J.J., Sousa, A., Podczeck, F., Newton, J.M. 1996. Influence of process conditions on drug release from pellets. *Int. J. Pharm.* 144, (159-169).

Sousa, J.J., Sousa, A., Podczeck, F., Newton, J.M. 2002. Factors influencing the physical characteristics of pellets obtained by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 232, (91-106).

Steckel, H., Mindermann-Nogly F. 2004. Production of chitosan pellets by extrusion spheronization. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 57, (107-114).

Swarbrick, J., Boylan, J.C. (Eds). 1996. Starches and starch derivates in *"Encyclopedia of pharmaceutical technology"*. New York, pp223-248.

Tapia, C., Buckton, G., Newton, J.M. 1993. Factors influencing the mechanism of release form sustained release matrix pellets, produced by extrusion/spheronisation. *Int. J. Pharm.* 92, (211-218).

Tawashi, R. 1990. Particle size, shape and surface analysis of pharmaceutical powders. *STP Pharma.* 6, (299-302).

Thibert, R., Akbarich, M., Tawashi, R. 1988a. Morphic features variation of solid particles after size reduction: sonification compared to jet-mill grinding. *Int. J. Pharm.* 47, (171-177).

Thibert, R., Akbarich, M., Tawashi, R. 1988b. Application of fractal dimension to the study of the surface ruggedness of granular solids and excipients. *J. Pharm. Sci.* 77, (724-726).

Tho, I., Andersen, E., Dyrstad, K., Klinebudde, P., Sande, S.A. 2002a. Quantum chemical descriptors in the formulation of pectin pellets produced by extrusion/spheronization. *Eur. J. Pharm. Sci.* 16, (143-149).

Tho, I., Sande, S.A., Klinebudde, P. 2002b. Pectinic acid, a novel excipient for production of pellets by extrusion/spheronisation: preliminary studies. *Eur. J. Pharm. Sci.* 54, (95-99).

Tho, I., Sande, S.A., Klinebudde, P. 2003. Disintegrating pellets from a water-insoluble pectin derivate produced by extrusion/spheronization. *Eur. J. Pharm. Sci.* 56, (371-380).

Thoma, K., Ziegler, I. 1998a. Investigations on the influence of the type of extruder for pelletization by extrusion-spheronization I. Extrusion behaviour of formulations. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, (401-411).

Thoma, K., Ziegler, I. 1998b. Investigations on the influence of the type of extruder for pelletization by extrusion-spheronization II. Sphere characteristics. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, (413-422).

Tomer, G., Newton, J.M. 1999a. A centrifuge technique for the evaluation of the exent of water movement in wet powder masses. *Int. J. Pharm.* 188, (31-38).

Tomer, G., Newton, J.M. 1999b. Water movement evaluation during extrusion of wet powder masses by collecting extrudate fractions. *Int. J. Pharm.* 182, (71-77).

Tomer, G., Patel, H., Podczeck, F., Newton, J.M. 2001b. Measuring the water retention capacities (MRC) of different microcrystalline cellulose grades. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12, (321-325).

Tomer, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 2001a. The influence of type and quantity of model drug on the extrusion spheronization of mixtures with microcrystalline cellulose I. Extrusion parameters. *Int. J. Pharm.* 217, (237-248).

Tomer, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 2002. The influence of model drugs on the preparation of pellets by extrusion/spheronization: II spheronization parameters. *Int. J. Pharm.* 231, (107-119).

Torrado-Santiago, J.J.T., Cadorniga, R. 1995. Effect of diferent excipients on release characteristics of acetylsalicylic acid from compressed pellets. *Pharmazie* 50, (476-478).

Umprayn, K., Chitropas, P., Amarekayorn, S. 1999. Influence of process variables on physical properties of the pellets using extruder and spheronizer. *Drug Dev, Ind. Pharm.* 25, (45-61).

Varshosaz, J., Kennedy, R.A., Gipps, E.M. 1997. Effect of binder level and granulating liquid of phenylbutazone pellets prepared by extrusion-spheronization. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 23, (611-618).

Vertommen, J., Rombaut, P., Kinget, R. 1997. Shape and surface smoothness of pellets made in rotary processor. *Int. J. Pharm.* 146, (21-29).

Vervaet, C., Baert, L., Remon, J.P. 1995. Extrusion-spheronizastion. A literature review. *Int. J. Pharm.* 116, (131-146).

Vervaet, C., Baert, L., Risha, P.A., Remon, J.P. 1994. The influence of the extrusion screen on pellet quality using an instrumented basket extruder. *Int. J. Pharm.* 107, (29-39).

Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Influence of impeller deesign, method of screen perforation and geometry on the quality of pellets made by extrusion-spheronisation. *Int. J. Pharm.* 133, (29-37).

Vila Jato, J.L, Blanco Méndez, J. Otero Espinar, F.J., Anguiano Igea, S. Amela J. *1995*. Obtention of bioadhesive pellets by extrusion/spheronisation. 1st World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Budapest, (821-822).

Villar-López, M.E. 1999. Evaluación de pelets recubiertos de etilcelulosa/pectinas como sistemas de liberación colónica de triamcinolona. *Tesis doctoral.* Santiago de Compostela.

Villar-López, M.E., Nieto-Reyes, L., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F.J., Blanco-Méndez, J. 1999. Formulation of triamcinolone acetonide pellets suitable for coating and colon targeting. *Int. J. Pharm.* 179, (229-235).

Visavarungroj, N., Remon, J.P. 1992. Starches and modified starches in tablet formulations. *Pharm. Tech. Int.* Feb, (26-33).

Wan, L.S.C., Heng, W.P.W., Liew, C.V. 1993. Spheronization conditions on spheroid shape and size. *Int. J. Pharm.* 96, (59-65).

Wan, L.S.C., Prasad, K.P.P. 1990. A study of the swelling of tablet excipients using video recording. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 16, (921-933).

Weller, P.J. 2003. Cellulose microcrystalline en *"Handbook of pharmaceutical excipients"* Eds. Rowe, R.C., Weller, P.J. London, pp108-111.

Woodruff, C.W., Nuessle, N.O. 1972. Effect of processing variables on particles obtained by extrusion-spheronization processing. *J. Pharm. Sci.* 61, (787-790).

Zapsalis, C. Bech, R.A. (Eds). 1986. Polysaccharides en *"Food chemistry and nutritional biochemistry"*. New York, pp343-364

Zhang, G., Schwartz, J.B., Schnaare, R.L. 1990. Effect of spheronization technique on drug release from uncoated beads. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 16, (1171-1184).

Zhang, G., Schwartz, J.B., Schnaare, R.L., Wigent, R.J., Sugita, E.T. 1991. Bead coating II: Effect of spheronization technique on drug release from coated spheres. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 17, (817-830).

Zhou, F., Vervaet, C., Massart, D.L., Massart, B., Remon, J.P. 1998a. Optimization of the processing of matrix pellets based on the combination of waxes and starch using experimental design. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 24, (353-358).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Matrix pellets based on the combinations of waxes, starches and maltodextrins. *Int. J. Pharm.* 133, (155-160).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1997. Influence of processing on the characteristics of matrix pellets based on microcrystalline waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 147, (23-30).

Zhou, F., Vervaet, C., Schelkens, M., Lefebre, R., Remon, J.P. 1998b. Bioavailabity of ibuprofen from matrix pellets based on the combination of waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 168, (79-84).

Zingerman, J.P., Mehta, S.C., Salter, J.M., Radebaugh, G.H. 1992. Validation of a computerized image analysis system for particle size determination. Pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 88, (303-312).

Capítulo 2

Análisis de imagen de la forma de gránulos

Publicada en el J. Pharm. Sci 2004,. 93, (621-634)

2.1 RESUMEN

En este estudio se presentan y evalúan dos nuevos factores de forma para la caracterización de micropartículas usando técnicas de análisis de imagen. El primer factor denominado Vr expresa en forma de porcentaje la variación existente entre el radio medio de la partícula y cada uno de los radios medidos para la misma partícula determinados a pequeños intervalos angulares. El segundo factor de forma Vp expresa en forma de porcentaje, la variación del perímetro real de la proyección de una partícula con respecto a una circunferencia perfecta con idéntico radio medio. Los factores de forma propuestos fueron comparados con otros parámetros ampliamente descritos en la bibliografía,

empleando diferentes formas geométricas simuladas en el ordenador así como partículas reales obtenidas mediante extrusión-esferonización. Nuestros resultados indican que Vr y Vp permiten evaluar eficazmente lo que una partícula o población de partículas se alejan de la forma de una esfera perfecta. Además los dos factores facilitan la identificación de formas geométricas básicas a las que se asemejan las proyecciones de las partículas (especialmente elípticas, rectangulares, e irregulares). Por lo tanto estos dos factores presentan un gran interés para la caracterización y monitorización en el proceso de peletización.

Palabras clave: análisis de imagen, forma, textura, extrusión-esferonización.

2.2 INTRODUCCIÓN

En la caracterización morfológica de una partícula mediante análisis de imagen (AI) son de interés tres cuestiones básicas (Barret 1980; Bowman y col., 2001). Primero, ¿cuál es la forma básica que presenta la proyección de una partícula? Segundo ¿qué grado de esfericidad muestra la partícula? ¿presenta vértices suaves y redondeados o angulosos? Tercero ¿cuál es su textura superficial?

La aproximación más frecuente es considerar lo que una partícula dada se acerca o aleja de una forma ideal con la que se intenta identificar. En el contexto de la Tecnología Farmacéutica y más concretamente en el campo de la granulación y peletización, una aproximación típica es considerar básicamente como esféricas a las partículas, y como consecuencia caracterizarlas en términos de la desviación que sufren con respecto a esa forma básica ideal. Sin embargo una revisión de la literatura indica que numerosos y diferentes factores de forma han sido propuestos para la evaluación de la esfericidad, estando esos parámetros definidos de diversos modos y basados en diferentes procedimientos de medida.

Estos factores de forma incluyen el o los factores de Heywood (Heywood 1963), que clasifican la forma de las partículas en diferentes categorías. Por su parte, Chapman y col., 1988 proponen la caracterización de la esfericidad de los pelets en base a un plano

crítico de estabilidad, siendo adoptada esta aproximación en posteriores estudios (Eriksson y col., 1997; Pinto y col., 1992). Otros autores (Hellén y col., 1993) han propuesto la evaluación conjunta de varios parámetros para evaluar la elongación, esfericidad, rugosidad, *pellips*, rectangularidad, *modelx*, circularidad, *roundnes*.

Estos tres últimos términos son empleados por diferentes autores con muy diversos significados. Así el parámetro $4\pi\cdot$área/perímetro^2 propuesto por Cox en 1927 es llamado "circularidad" (C) por algunos investigadores (Hellén y col., 1993), mientras que otros recurren a diferentes nombres (Wan y col., 1993; Deasy y col., 1997) siendo esta situación mucho más complicada cuando otros autores realizan pequeñas modificaciones en la fórmula de ese parámetro (Deasy y col., 1997; Shah y col., 1995; Iyer y col., 1996; Hileman y col., 1997). Otros incluso se han referido a tales modificaciones en la fórmula de la circularidad como *roundness o roundness factor* (Deasy y col., 1997; Shah y col., 1995; Iyer y col., 1996; Hileman y col., 1997), invitando a la confusión con otros parámetros que reciben el mismo nombre pero hacen referencia a otra fórmula, como por ejemplo la *roundness* de Hellén y col.,1993 y el *roundness index* de Baert y col.,1993.

Similares confusiones tienen lugar con los términos elongación y relación de aspectos (AR). Algunos autores usan los dos términos como sinónimos, mientras que otros los utilizan haciendo referencia a parámetros diferentes (Hellén y col., 1993; Baert y col., 1993; Lövgren y col., 1989). Por ejemplo, algunos autores definen AR como el cociente entre el diámetro máximo y mínimo de una partícula, sin especificar el tipo de diámetro o método para estimarlo (pudiendo estos dos factores variar en función del programa de análisis de imagen utilizado). Otra definición habitual de AR que podemos encontrar en la bibliografía es el cociente entre la longitud y la anchura. Nuevamente esa definición puede verse afectada en función del programa de análisis de imagen utilizado. En general, la longitud se toma como la distancia máxima existente entre dos puntos del perímetro de la partícula (independientemente de la orientación), pero la anchura puede ser definida de diversos modos: a) como la distancia máxima entre dos puntos del perímetro unidos por una línea perpendicular a la longitud (Schneiderhöhn 1954) o b)

como la distancia entre los dos puntos del perímetro por los que pasa la mediatriz de la longitud. En otros artículos la anchura no es definida o simplemente se define como un diámetro perpendicular a la longitud (Linder y col., 1994).

Recientemente en un intento por resolver algunos de estos problemas Podczeck y col., 1994, 1995, 1999 han definido y desarrollado un nuevo factor de forma de nominado e_r, en el que se combinan estimaciones del perímetro y con las de la longitud y anchura. Este grupo ha comenzado a aplicar e_r en casos prácticos (Boutell y col., 2002; Lusting-Gustafsson y col., 1999; Sousa y col., 1996; Sousa y col., 2002; Tomer y col., 2002), en vista de las ventajas que presenta con respecto a otros factores de forma, como son su elevada sensibilidad a la rugosidad superficial y a las diferencias a la hora de distinguir una forma circular de una más elíptica. El factor e_r puede presentar valores comprendidos entre 0 y 1, indicando este último una perfecta circularidad por parte de la proyección de la partícula. En la práctica e_r es tan sensible para desviaciones de la forma circular y la rugosidad superficial, que un valor de 0.6 puede ser considerado como indicativo de una buena esfericidad (Podczeck y col., 1999).

Una característica común de muchos de los factores de forma mencionados anteriormente es su dependencia del método de estimación y cálculo de las dimensiones de la partícula por parte del programa de análisis de imagen usado. Además, la mayoría de los parámetros mencionados están diseñados para cuantificar la desviación en la forma de una partícula respecto a una esfera. Sin entrar en evaluaciones detalladas, ninguno de estos factores de forma es eficaz para la descripción de partículas cuya forma básica no sea esférica. En el contexto práctico de la microencapsulación, granulación y peletización es de gran interés el poder identificar y caracterizar las diferentes formas de partícula que se pueden presentar en cualquiera de estos procesos, particularmente si el objetivo es conocer el porque no se pueden obtener partículas con una buena esfericidad. Tal caracterización podría permitir una mejor monitorización, racional y detallada del proceso de producción.

En este trabajo presentamos y evaluamos dos nuevos factores de forma que de manera conjunta permitan definir los tres aspectos principales asociados al análisis

morfológico partículas (forma básica, redondez de los bordes, y rugosidad superficial). Y cuyo cálculo sea lo más independiente posible de las particularidades del programa de análisis de imagen. Estos factores evalúan la esfericidad, pero al mismo tiempo también facilitan la identificación de otras formas de partículas que pueden aparecer durante los procesos de producción. En concreto tomaremos como modelo la peletización por extrusión-esferonización.

2.3 DEFINICIÓN DE LOS FACTORES DE FORMA

Los dos factores de forma propuestos en este trabajo son Vr (una medida estadística de la variabilidad del radio, indicativa de la forma) y Vp (una medida geométrica del perímetro indicativa de la rugosidad superficial). Vr es una medida de variabilidad de la longitud de una serie de cuerdas radiales. Dependiendo del programa de análisis de imagen utilizado, hay tres posibles procedimientos para la obtención de las "muestras" de estas cuerdas radiales (Barber 1996): a) una exhaustiva identificación de todos los píxeles que conforman la proyección de la partícula, junto con cada una de las distancias que separan a estos puntos del centro de masas de la partícula; b) determinación de la longitud de todas las cuerdas que pasan por el centro de masas e interceptan el perímetro, y c) determinación de los diámetros entre el perímetro y el centro de masas mediante el giro de las coordenadas de la proyección de la partícula en pequeños saltos angulares sobre el centro de masas ("*callipering*"). El programa utilizado en este trabajo (SigmaScan Pro Image Analysis 5.0.0) permite el procedimiento (a): concretamente, el programa permite la obtención de las coordenadas (x_i, y_i) de cada uno de los píxeles que conforman la proyección de la partícula en el plano con respecto a su centro de masas (x_0, y_0) calculado en función del área medida. Con estas coordenadas podemos calcular las n distancias r_i entre el pixel del centro de masas y los n píxeles del perímetro (ecuación 1); entonces podremos determinar la media de todas las longitudes radiales r_m (ecuación 2), y como consecuencia el porcentaje medio de desviación sobre sobre r_m: Vr (ecuación 3).

$$r_i = (x_i - x_0)^2 + (y_i - y_0)^2 \quad (1)$$

$$r_m = \frac{\sum_{i=1}^{n} r_i}{n} \quad (2)$$

$$Vr = \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{|r_i - r_m| \times 100}{r_m}}{n} \quad (3)$$

Por lo tanto, Vr más que un índice puramente geométrico presenta una naturaleza estadística hecho que lo diferencia de los anteriores factores de forma. Evidentemente si Vr presenta un valor de cero, entonces la proyección de la partícula es un círculo perfecto; y a medida que se incremente su valor se traduce en una desviación de la circularidad. Además aunque este factor es sensible a la forma, no lo es tanto a la rugosidad superficial, ya que ésta tiene un efecto muy reducido en las longitudes de las cuerdas radiales.

Esta rugosidad superficial es medida por nuestro segundo parámetro, Vp (ecuación 4), que expresa en forma de porcentaje la diferencia existente entre: a) el perímetro real de la proyección en el plano de la partícula (P_{obs}) determinado como la suma de distancias entre cada píxel adyacente que conforma la proyección de la partícula y b) el perímetro de un círculo perfecto con radio r_m:

$$Vp = \frac{|2\pi r_m - P_{obs}|}{2\pi r_m} \times 100 \quad (4)$$

Vp es cero cuando la proyección de la partícula es perfectamente circular, y aumenta su valor a medida que también lo hace la rugosidad superficial. Además como en el cálculo de este factor se asume que estamos ante una partícula esférica, su valor también se verá influenciado por la forma.

2.4 MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1 Materiales

Los materiales utilizados para la fabricación de pelets fueron: Avicel PH101 (FMC International, Irlanda), talco (J. Escuder, Barcelona, España), almidón de trigo, almidón de maíz, dextrina blanca, dextrina amarilla y agua destilada como líquido de humectación. Los almidones y dextrinas fueron suministrados gratuitamente por Inagarbe S.L. (Padrón, A Coruña, España).

2.4.2 Métodos

2.4.2.1 Pelets

Los sólidos pulverulentos empleados en la producción de pelets fueron mezclados en una Túrbula T2C mezclando durante 5 minutos. El malaxado duró 15 minutos y tuvo lugar en una mezcladora orbital Kenwood Chef Classic, utilizando agua destilada como agente de humectación. Las masas obtenidas fueron introducidas en bolsas plásticas herméticamente cerradas durante 24 horas para permitir una distribución del agua lo más homogénea posible. Para la extrusión se utilizó un extrusor Caleva modelo 10 (a una velocidad de 6 rpm, y un tamiz con orificios de 1 mm). La esferonización (de 100 g de extrudido) tuvo lugar en un esferonizador Caleva modelo 120 (a una velocidad de 2000 rpm, durante 15 minutos). Finalmente, los pelets se secaron hasta peso constante en una estufa Haraeus a 40°C. Se fabricaron tres replicados de pelets por cada formulación.

2.4.2.2 Obtención de imágenes

Las imágenes de las partículas fueron obtenidas con un estéreomicroscopio Olympus SZ-CTN equipado con una cámara de video JVC TK-S350, y un sistema de luz fría Olympus Europe Highlight 2000 La iluminación de la muestra se hizo perpendicularmente desde arriba y sobre un fondo negro. Las imágenes fueron

digitalizadas con una tarjeta de vídeo Matrox Comet, utilizando el software PC Image VGA 24 (Foster Finlay Ass.).

Además, generamos imágenes simuladas para la evaluación y validación de los nuevos factores de forma, empleando para ello el programa CorelDRAW Suite 9 con una escala de grises de 8 bits (256 tonos de gris) en una resolución de 702 x 420 píxeles (lo que supone imágenes de 294840 píxeles, similares a aquellas utilizadas por el PC Image). La mayoría de las partículas simuladas presentaban entre 50 y 100 píxeles, correspondiéndose con un tamaño real de partícula de 0.6 a 1.3 mm. con las ampliaciones utilizadas para la obtención de imágenes reales de pelets. Así mismo, fueron obtenidas diferentes formas variando la excentricidad entre 0 y 0.8 en el caso de las elipses, o la relación longitud-anchura entre 1 y 2 en el caso de partículas rectangulares e irregulares.

2.4.2.3 Análisis de imagen

La circularidad (ecuación 5) y el diámetro de Feret fueron calculados con el PC Image. AR (ecuación 6), e_r (ecuación 7) y nuestros parámetros (Vp y Vr) fueron estimados con el software SigmaScan Pro Image Analysis 5.0.0, y con los correspondientes cálculos matemáticos realizados mediante macros diseñadas para el Microsoft Excel 2000.

$$circularidad = \frac{4 \cdot \pi \cdot área}{perímetro^2} \qquad (5)$$

$$AR = \frac{longitud}{anchura} \qquad (6)$$

donde la longitud es la distancia máxima entre dos puntos del perímetro y la anchura la distancia máxima entre dos puntos del perímetro unidos por una línea recta perpendicular a la longitud.

$$e_r = \frac{2\pi}{P}\frac{r_e}{f} - \sqrt{1-\left(\frac{b}{l}\right)^2} \qquad (7)$$

donde r_e es el radio medio calculado a partir de la media de las distancias existentes entre el centro de gravedad y el perímetro estimado mediante una separación angular de 5 grados entre cada una de las distancias. P es el perímetro medido, b y l la longitud y la anchura y f es un factor de corrección (ecuación 8).

$$f = 1.008 - 0.231\left(1-\frac{b}{l}\right) \qquad (8)$$

Para el cálculo del parámetro Vr utilizamos todas las coordenadas estimadas en el perímetro por el SigmaScan Pro Image Analysis 5.0.0.

Fue necesario utilizar dos programas diferentes de análisis de imagen porque: a) el PC Image no permite la determinación de las longitudes de un elevado número de cuerdas radiales, necesarias para el cálculo de los diferentes factores de forma, y b) la estimación del diámetro de Feret con el SigmaScan Pro no es la correcta (concretamente, el valor determinado es el diámetro de una esfera perfecta que presente el área de la proyección de la partícula medida: por lo que en realidad se está calculando el diámetro equivalente de superficie). Finalmente, en el caso de las imágenes de partículas reales se midieron 300 por lote para el cálculo de Vr, Vp, Ar y e_r y 600 para el caso de la circularidad y el diámetro de Feret.

2.5 RESULTADOS Y DISCUSION

2.5.1 Evaluación: caracterización morfológica de formas simuladas

Cuando se caracterizan objetos de dos dimensiones en términos de forma, es muy útil considerar tres formas básicas (círculo, cuadrado y triángulo) a partir de las cuales se puede derivar a otras más complejas (elipses, rectángulos, trapecios, etc.). Sin embargo, en el campo de la Tecnología Farmacéutica (procesos como la microencapsulación,

granulación y peletización), no todas esas formas presentan el mismo interés. Durante estos procesos, y dependiendo de las condiciones de procesado y los productos requeridos, pueden ser obtenidas partículas con formas esféricas, esferoides, cilíndricas o con formas irregulares características, como sucede en el caso de la extrusión-esferonización (cilindros redondeados, partículas fusiformes). Debería de tenerse en cuenta que las técnicas de análisis de imagen empleadas en la caracterización de partículas farmacéuticas trabajan con las proyecciones en el plano de las partículas, y no con datos en tres dimensiones: por lo tanto, el rango de partículas observadas es más simple que en la realidad. No obstante, el principal interés práctico de este trabajo es la caracterización de la forma de las partículas en base a sus proyecciones en el plano.

En la tabla 1a se indican los valores de Vr y Vp para varias formas ideales, determinados para imágenes simuladas de diferentes tamaños y relaciones de aspecto, y en todos los casos sin rugosidad superficial. Como se discutió anteriormente circunferencias perfectas darán lugar a que los valores de Vr y Vp sean cero (para ver los valores de formas perfectas en las que se calcularon sus coordenadas, ir a la tabla 5, en el anexo I). El hecho de que los valores de estos parámetros para las formas simuladas no presente este valor es debido a que el proceso de digitalización de la imagen convierte el perímetro de las partículas en pequeños tramos rectos (que son los píxeles) y que el programa de análisis de imagen asocia con una ligera variación del radio y por lo tanto en rugosidad. Como consecuencia son obtenidos valores por encima de 2 para el caso de Vr y mayores de 5.5 para Vp, con mayores diferencias todavía para el caso de las partículas más pequeñas, ya que éstas tienen una peor resolución, y por lo tanto están definidas por menos píxeles.

Vr y Vp muestran una elevada sensibilidad a desviaciones de la circularidad. Así, Vr aumenta rápidamente a medida que crece la excentricidad y por lo tanto la relación de aspectos. Este factor discrimina claramente entre formas circulares y cuadradas. Vp presenta un comportamiento similar.

Es evidente como la mayoría de las formas simuladas en la tabla 1a son discriminadas de modo efectivo por Vr, presentándose un solapamiento de valores únicamente en el caso de elipses y rectángulos con una elevada relación de aspectos. Así,

		Vr y Vp (%)								
Forma	Factor	0	5	10	15	20	25	30	35	40
Círculo	Vr									
	Vp									
Elipse	Vr									
	Vp									
Cuadrado	Vr									
	Vp									
Rectángulo	Vr									
	Vp									
Forma irregular	Vr									
	Vp									

Tabla 1a: *Intervalos de valores que Vr y Vp presentan para diferentes formas simuladas (los rectángulos y elipses presentan varias relaciones de aspecto; además en los cuadrados y rectángulos se suavizaron las bordes en diferentes medidas; los valores fueron calculados con la única rugosidad debida a la digitalización).*

los valores de Vr en el caso de elipses con una excentricidad mayor de 0.65 (≈AR> 1.3) comienzan a solaparse con aquellos rectángulos de relación de aspectos cercana a 1. Para el caso de las formas irregulares Vr presenta valores muy diferentes y generalmente elevados, volviendo a solaparse en algunos casos con los valores de los rectángulos.

Para mejorar la precisión en las estimaciones será necesario recurrir al uso conjunto de Vr y Vp. En condiciones normales las elipses, incluso aquéllas con una elevada excentricidad, dan lugar a valores de Vp claramente inferiores en el caso de formas cuadradas y rectangulares. Igualmente, la mayoría de formas irregulares presentan

valores mucho mayores de Vp que para el caso de rectángulos, pudiendo ser fácilmente diferenciadas excepto cuando AR es cercana a 1 o la irregularidad de la forma es menor.

Forma		AR	C	e_r	Vr	Vp
Círculo	1	1.00	0.97	0.87	1.36	5.13
Cuadrado	2	1.00	0.80	0.89	9.42	9.62
Elipse	3	1.15	0.97	0.47	4.72	6.19
	4	1.51	0.92	0.23	13.26	8.47
Rectángulo	5	1.38	0.77	0.23	14.00	11.25
	6	1.96	0.71	0.04	22.56	13.51
Cuadrado redondeado	7	1.00	0.89	0.92	7.65	7.73
	8	1.00	0.95	0.93	5.9	6.37
Rectángulo redondeado	9	1.37	0.86	0.28	13.66	8.19
	10	1.39	092	0.29	11.77	6.37
	11	1.40	0.94	0.28	10.91	7.06
Fusiforme	12	1.42	0.84	0.23	15.19	11.19
	13	1.23	0.81	0.28	16.84	15.89
	14	1.44	0.72	0.12	20.68	21.71
	15	1.04	0.87	0.63	7.80	11.57
Rectángulo doblado	16	1.16	0.76	0.49	13.27	13.91
	17	2.01	0.67	0.01	24.91	16.03
	18	1.79	0.65	0.01	25.24	19.67

Tabla 1b: *Valores que presentan los factores de forma para diferentes proyecciones simuladas (los rectángulos y elipses presentan varias relaciones de aspecto; además en los cuadrados y rectángulos se suavizaron las bordes en diferentes medidas; los valores fueron calculados con la única rugosidad debida a la digitalización).*

Los valores obtenidos fueron para imágenes simuladas con una superficie perfectamente lisa, pero hay que tener en cuenta que las partículas reales presentarán rugosidades superficiales. Debido al modo en que nuestro parámetro Vp fue definido, debería de ser más sensible que Vr a la rugosidad superficial. Para evaluar los efectos de esta rugosidad sobre Vr y Vp, se recurrió a la simulación de dos formas habituales en procesos de extrusión-esferonización (un círculo de 2 mm. de diámetro, y una elipse de 2 mm. de longitud y 1.7 mm de anchura); usando las ecuaciones geométricas

correspondientes calculamos, para cada caso, las longitudes de 360 cuerdas radiales dibujadas a intervalos de un grado; para simular la rugosidad superficial restamos una cantidad $f \cdot r$ a la longitud de cada cuerda radial, dónde f es un factor que abarca valores desde 0 (sin rugosidad) hasta 1 (máxima rugosidad), manteniéndose constante para cada imagen, y r es un número generado aleatoriamente para cada radio y comprendido entre 0 y 0.1. Los valores de Vr y Vp obtenidos se muestran en la figura 1. Puede verse como Vr permanece prácticamente constante a pesar de la rugosidad superficial; ya que como se esperaba, estas pequeñas variaciones aleatorias en la longitud de los diferentes radios no ejercen un importante efecto en la desviación media del radio. Por el contrario, Vp se ve influenciado prácticamente de forma exponencial a medida que se incrementa f; nuevamente este era un comportamiento esperado ya que estas pequeñas variaciones aleatorias en la longitud de los diferentes radios ejercen un importante efecto en la longitud del perímetro. En la práctica, es improbable ver valores de Vp tan elevados como los obtenidos en esta simulación, aunque las partículas reales presenten mayoritariamente efectos moderados de rugosidad en la superficie.

Las simulaciones anteriores sugieren que Vr y Vp son útiles para detectar desviaciones de la esfericidad y para identificar las principales formas de partículas que puedan aparecer en la producción de diversos procesos farmacéuticos. Para comprobar esta utilidad, a continuación, compararemos los valores obtenidos para Vr y Vp (igualmente con partículas simuladas) con los que presentan

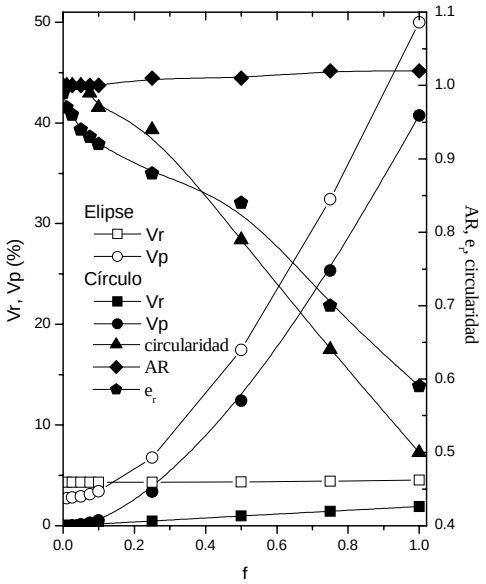


Figura 1: *Influencia de la rugosidad superficial en los valores de diferentes factores de forma obtenidos para un círculo (2 mm. de diámetro) y una elipse (2x1.7 mm.) Como se detalla en texto, f=0 indica cero rugosidad y f=1 el mayor nivel de rugosidad.*

otros factores de forma que son utilizados en la Tecnología Farmacéutica: C, AR, y e_r. Para el cálculo de estos factores hemos utilizado la longitud definida como la distancia máxima entre puntos del perímetro de la partícula, y la anchura definida como se dijo en la introducción (es decir, como la máxima distancia entre dos puntos del perímetro unidos por una recta perpendicular a la longitud). Todos los factores de forma fueron calculados para un total de 18 formas (tabla 1b).

Como queda claro en esta tabla, AR y e_r son incapaces de discriminar entre varias formas con la misma relación longitud/anchura: así por ejemplo ninguno de esos factores es capaz de diferenciar entre un círculo y un cuadrado. Esto es un resultado esperado, ya que ambos parámetros incluyen en su definición una relación entre la longitud y la anchura, pero además en el caso de e_r también presenta otra relación entre el perímetro real de la partícula y el equivalente a un círculo con el mismo radio medio. En contra Vr y Vp son altamente sensibles a estas diferencias en las formas, incluso cuando también presentan relaciones de aspecto muy similares.

Sin embargo nuestros resultados para e_r no son los mismos que los propuestos por Podczeck y col., 1994 en dónde definen su parámetro. Aunque el valor de 0.89 que nosotros obtenemos para el caso del cuadrado está cerca del que ellos proponen de 0.85, nuestros resultados para el círculo ponen de manifiesto diferencias significativas (0.87 vs 0.93-0.95). Observando los resultados de Podczeck y col., 1994 nos permite establecer las posibles causas de estas discrepancias. Círculos con AR=1.001 dan lugar a valores de e_r de 0.942-0.952, mientras que aquellos con AR=1.002 presentan valores de e_r menores (0.937-0.926). Esto parece indicar que pequeñas diferencias en la relación de aspecto de las proyecciones de las partículas inducen importantes diferencias en los valores de e_r. Para confirmar esta hipótesis generamos diez nuevos círculos con un radio equivalente comprendido entre 300-1100 µm y estimamos sus factores de forma (tabla 2). Como podemos observar el problema se centra en la gran influencia que tanto la longitud como la anchura ejercen sobre el cálculo de e_r. Por esta razón pequeñas diferencias en la estimación de estos dos parámetros (“b” y “l”) por parte del programa de análisis de imagen conduce a importantes cambios en el valor de e_r. De hecho, diferencias menores

de un 0.2% (por ejemplo: círculo 7, AR = 1.00195), hacen disminuir e_r desde 0.94 a 0.88. Concretamente la esfera de la tabla 1b con un valor para e_r de 0.87 presenta un AR=1.002. Estos dos errores en la estimación de esas dos dimensiones tienen su origen durante las etapas de elección del valor umbral en la escala de grises y digitalización. Es más, este comportamiento del programa de AI es más común en formas redondeadas que en proyecciones constituidas a base de líneas rectas, como por ejemplo los cuadrados, porque en el caso de las primeras la proyección no está bien definida por el programa de AI debido a que se basa en un sistema de detección de píxeles.

Círculo	Número de coord. del perímetro[a]	Rm[b]	Re[c]	Vr	Vp	Anchura	Longitud	AR	e_r	C
1	140	305.20	305.22	1.93	4.25	606.34	610.28	1.0065	0.83	0.98
2	168	366.78	366.86	1.60	4.27	732.74	732.74	1	0.94	0.98
3	200	428.85	429.08	1.40	5.23	855.91	855.91	1	0.95	0.98
4	230	490.16	490.19	1.25	5.65	973.00	985.03	1.0123	0.79	0.97
5	256	550.96	551.06	1.13	5.25	1098.54	1105.62	1.0064	0.83	0.98
6	280	611.08	611.27	0.99	4.66	1221.19	1221.19	1	0.94	0.97
7	340	734.57	734.77	0.80	5.19	1466.41	1469.27	1.0019	0.88	0.98
8	390	857.75	857.40	0.68	5.07	1713.32	1713.32	1	0.95	0.98
9	452	978.86	978.70	0.60	5.21	1956.38	1956.38	1	0.94	0.97
10	508	1102.7	1102.3	0.54	5.05	2202.60	2202.60	1	0.94	0.98

Tabla 2: *Comparación de valores entre los diferentas factores de forma para 10 círculos simulados y de varios tamaños.*
[a]*Número de coordenadas estimadas por el Sigmascan Pro.*
[b]*Radio medio estimado empleando todas las coordenadas del perímetro.*
[c]*Radio medio derivado de 72 medidas radiales (cada una de ellas separada 5º.*

Por otro lado, los errores de estimación pueden minimizarse cuando empleamos estimaciones múltiples en vez de una sola medida (como en el caso de la longitud y anchura). Ésta es una de las ventajas que proporciona el uso de Vr, porque funciona en condiciones normales con un número de entre 200 a 500 coordenadas, dependiendo del tamaño de la proyección de la partícula.

Otra característica morfológica importante es el grado de suavizado que presentan los vértices de las partículas. Para comparar las respuestas de los diferentes índices de forma frente a esta característica de las partículas, hemos comparado

rectángulos con sus esquinas redondeadas en diferente medida (ver tabla 1b, figuras 2, 5, 7, 8, 9, 10, 11). Vr, Vp y la circularidad fueron los más sensibles en este apartado, aunque a medida que los vértices de las proyecciones de los rectángulos estaban más suavizados, los valores de estos factores se acercaban más a los casos de las elipses. En contraste, AR y e_r apenas muestran pequeñas variaciones como respuesta a esta característica.

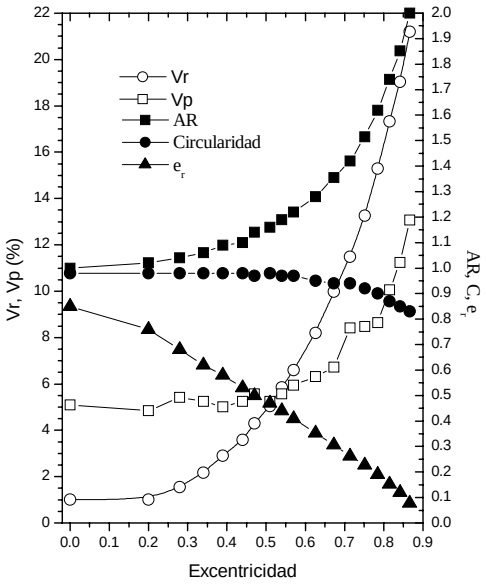


Figura 2: *Influencia de los valores en la excentricidad de diferentes elipses sobre los parámetros de forma.*

Es evidente que mientras e_r, Vr y Vp son bastante sensibles a la relación de aspectos, la circularidad no lo es (el valor de la circularidad para una elipse de AR=1.15 es el mismo que para un círculo). Es un resultado sorprendente teniendo en cuenta la gran frecuencia con la que se emplea este parámetro para evaluar la esfericidad de los pelets. En la figura 2 se muestran los datos de un estudio más detallado en el que se observan los efectos de diferentes niveles de excentricidad en varias elipses y su influencia en los parámetros de forma. De este modo se confirma fácilmente que la circularidad no es un indicador adecuado para definir este tipo de formas.

Varios autores han propuesto diferentes valores de circularidad como umbrales mínimos por encima de los cuales pueda considerarse una partícula como esférica [0.85 (Baert y col., 1993), 0.90 (Kanerva y col., 1993), o 0.93 (Deasy y col., 1997)]. Esto implica que esos autores aceptan como “esféricas” elipses con una relación de aspectos de 2. Otros autores han definido la “esfericidad” en función de los valores de la relación de aspectos [1.1 (Kleinebudde 1995; Podczeck y col., 1999; Schmidt y col., 1997) ó 1.2 (Baert y col., 1992; Vervaet y col., 1996)] o e_r [0.60 (Podczeck y col.,1995)], pero

nuevamente vemos como la circularidad apenas se muestra sensible entre estos límites y un círculo.

Hasta este momento hemos considerado partículas en las que la única rugosidad presente era la debida a la digitalización de la imagen (que no es más que una "pixelización" de un perímetro liso). Sin embargo, se ha constatado que la rugosidad real presente sobre la superficie de las partículas afecta a los factores de forma, como por ejemplo el e_r (Podczeck y col., 1994). Con el propósito de comparar la efectividad de los factores de forma para diferenciar variaciones en la textura superficial hemos propuesto dos análisis. Primero, recurrimos al procedimiento empleado para comprobar el efecto de la rugosidad sobre Vr y Vp (figura 1). Segundo, creamos una serie de polígonos (abarcando de 3 a 25 lados) inscritos en una circunferencia que tiene por radio 45 píxeles.

Los resultados del primer análisis se muestran en la figura 1. Como puede verse, los factores que son más sensibles a este tipo de rugosidad son aquellos que incluyen la longitud del perímetro en su cálculo, como por ejemplo Vp, e_r y la circularidad; AR y Vr no son afectados.

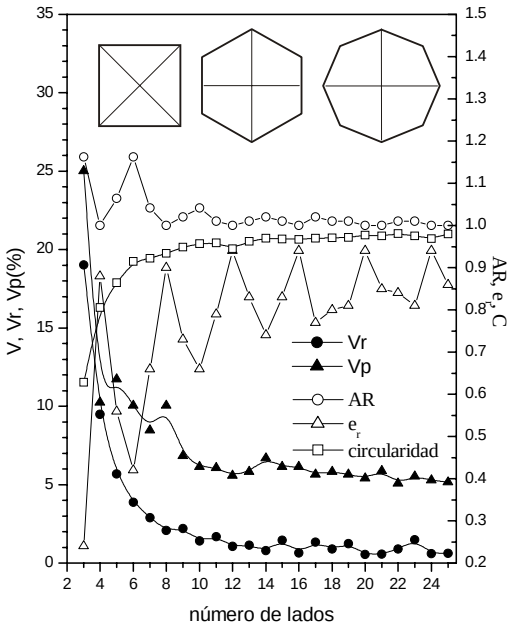


Figura 3: *Influencia sobre los factores de forma del número de lados que constituyen diferentes polígonos circunscritos en una circunferencia de 45 píxeles de radio. Los tres polígonos de la parte superior de la figura indican como procede el programa de AI para la estimación de la longitud y la anchura.*

Los resultados del segundo análisis están expuestos en la figura 3. Los máximos valores de Vr y Vp (los obtenidos para los polígonos de 3 y 4 lados) son muy diferentes de aquellos correspondientes al círculo; a medida que incrementamos el número de lados ambos factores disminuyen su valor de forma muy marcada, y a partir de polígonos con 10 lados

o más presentan valores en torno a 0.5 y 5 respectivamente; estos niveles están dentro del rango de los obtenidos para los círculos (ver tabla 1). La circularidad presenta un comportamiento similar, pero con la salvedad de que sus valores comienzan a ser prácticamente constantes para polígonos por encima de 6 lados (C≈0.9). Es curioso sin embargo el comportamiento de e_r, que no se parece en nada a los anteriores, ya que presenta una oscilación regular (máxima con múltiplos de 4 lados, y mínima a valores intermedios: 6, 10, 14…) Este comportamiento es atribuible al procedimiento utilizado para estimar la longitud y anchura (ver polígonos superiores de la figura 3): para múltiplos de 4, ambas medidas son iguales al diámetro de la correspondiente circunferencia en la que están circunscritos los polígonos, por lo tanto AR es 1 y e_r máximo; en el resto de casos, para números intermedios, la anchura es más corta que el diámetro de la correspondiente circunferencia, por lo tanto AR>1 y e_r presenta un valor mínimo. Al mismo tiempo, a medida que se incrementa el número de lados, la longitud del perímetro se incrementa, acercándose más al de la correspondiente circunferencia, por lo que el valor de e_r se incrementa.

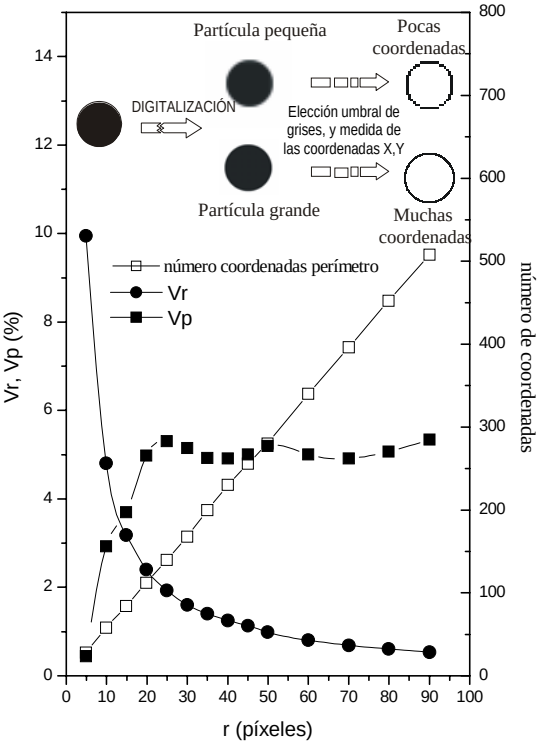


Figura 4: *Influencia del tamaño de partícula (expresando el radio de la proyección de la partícula en función del número de píxeles que lo constituye) y número de píxeles que definen su perímetro sobre los valores de diferentes factores de forma.*

Este análisis demuestra la importancia de asegurar un número suficiente de píxeles que definan adecuadamente el perímetro de la partícula. La imagen digitalizada de una partícula esférica pequeña comprende únicamente un escaso número de píxeles, por

lo que parecerá un polígono con un elevado número de lados; los factores de forma adoptarán entonces valores diferentes a los que debieran de obtenerse para una esfera. La importancia de este problema dependerá de la resolución del sistema: en otras palabras, de la calidad óptica de la imagen original, y del procedimiento de procesado del programa de AI. Sin embargo, independientemente de la imagen y del sistema de AI utilizado es necesario un tamaño mínimo de partícula (número mínimo de píxeles) para una evaluación más exacta de la forma. Para determinar este tamaño mínimo calculamos los valores de Vr y Vp para círculos de diferentes tamaños (figura 4). En esta figura se muestran el número de coordenadas que constituyen el perímetro de cada circunferencia (en función del número de píxeles) determinadas por el programa de AI. De forma clara puede comprobarse como la longitud del perímetro está ligeramente relacionada con la longitud del radio. De este modo se confirma que bajos niveles de "pixelización" dan lugar a valores extremos y anómalos para Vr y Vp: elevados valores en el caso de Vr (parecidos a los de figuras rectangulares), y bajos en el caso de Vp. Además en la gráfica de la figura 4 puede verse como para realizar una medida correcta a la hora de evaluar la forma de las proyecciones, es necesario estar por encima de un radio mínimo que puede estar en torno a los 25-30 píxeles.

Podczeck y col., 1999 sugieren que si se quiere realizar una caracterización precisa de la forma para partículas de entorno a 1 mm. de diámetro utilizando e_r, entonces es necesario un tamaño mínimo de píxel efectivo de al menos 30 μm. Sin embargo el tamaño mínimo de píxel dependerá de: la resolución óptica del sistema de imagen; y del procedimiento de digitalización empleado por el software de AI. Con el sistema utilizado en esta memoria la ampliación óptica mínima proporciona un tamaño de píxel de 12.25 μm. lo que permite caracterizar adecuadamente partículas de 0.3 mm. de radio o mayores. Para partículas de menor tamaño es necesario incrementar la ampliación óptica: por ejemplo, con nuestro estéreomicroscopio la mayor ampliación disponible (sin ópticas suplementarias como convertidores 2x) proporciona tamaños de píxel de 2.1 μm. por lo que puede ser adecuado para caracterizar partículas de 50 μm. de radio. Por supuesto este

límite inferior puede ser incrementado empleando un microscopio y/o un sistema de digitalización que proporcione resoluciones mayores que las obtenidas en este estudio (702 x 420 píxeles).

2.5.2 Caso práctico: caracterización morfológica de partículas reales

Hasta el momento, los estudios realizados se encaminaron hacia la evaluación de la capacidad de los nuevos parámetros para distinguir y clasificar diferentes formas geométricas, para lo que nos basamos en formas teóricas y en formas simuladas mediante ordenador. Sin embargo, aunque los resultados muestran aspectos prometedores, llegados a este punto es necesario contrastar si se mantiene el excelente comportamiento cuando se evalúan partículas reales. En primer lugar, y con vistas a su aplicación práctica, hemos establecido los límites esperados para Vr y Vp en función de las características morfológicas de las partículas (tabla 3), sobre la base de los resultados obtenidos hasta el momento. La clasificación empleada en esta tabla, se intenta que cubra las formas de las proyecciones de las partículas que se pueden presentar durante la manufacturación de un proceso farmacéutico (incluye rectángulos de bordes suavizados que se corresponden básicamente con las partículas cilíndricas parcialmente deformadas durante la esferonización, pero que no han podido ser deformadas completamente hasta alcanzar una forma esférica). Se observa además un solapamiento de Vr y Vp, como se esperaba, entre rectángulos muy redondeados y elipses.

Seguidamente, se elaboraron tres formulaciones mediante extrusión esferonización, obteniéndose tres lotes de cada una de ellas. Las tres formulaciones se elaboraron a partir de mezclas de diferente composición, con el objeto de obtener diferencias en la forma y aspecto de los pelets. Tras la estimación de las condiciones óptimas de medida (iluminación, digitalización…) se procedió a la realización del análisis morfológico de las tres formulaciones de pelets mediante el cálculo de Vr, Vp, AR, circularidad y e_r (resultados mostrados en la tabla 4). Todos los pelets fabricados presentaron un diámetro medio de Feret comprendido entre 0.8 y 1 mm. Las primeras

diferencias encontradas entre Vr y Vp con respecto a los otros parámetros de forma determinados se refieren a la distribución que adoptan las poblaciones de pelets. Con estos dos parámetros se obtuvieron distribuciones logarítmico-normales, frente al ajuste normal obtenido para e_r, circularidad y AR, aunque estos dos últimos presentan asimetría, negativa y positiva respectivamente, ya que sus valores medios se encuentran cercanos a 1, que actúa como límite superior para la circularidad e inferior para AR.

Forma de partícula	Forma de la proyección			Vr	Vp[e]
Esfera	Círculo		AR = 1	0-2	3-5.3
Esferoide	Formas elípticas	Casi circular	AR< 1.1 Ec[a] < 0.45[b]	2-4.0	4.5-5.5
		Ligeramente elíptica	AR: 1.1-1.2 Ec: 0.45-0.55	4-6	5-6
		Elipse	AR: 1.2-1.5 Ec: 0.55-0.75	6-13	5.5-8.5
Cilíndrica	Altamente elípticas o elipses alargadas[c]		AR: 1.5-2 Ec: 0.75-0.9	13-22	8.5-13
	Cuadrado		AR =1	9-9.8	8.7-9.8
	Cuadrado redondeado[d]		AR =1	5.5-9.5	6.3-11
	Rectángulo		AR: 1-2	9.8-28	9.8-14
	Rectángulo redondeado[c, d]		AR: 1-1.5	6-15	6.5-11
	Rectángulos curvos	Fusiformes	AR: 1-1.5	>7.5	>11

Tabla 3: *Valores esperados de Vr y Vp para diferentes formas de partículas, basados en imágenes simuladas, y considerando las formas de partículas que suelen obtenerse en procesos de extrusión-esferonización.*
[a]Los datos proporcionados de AR y excentricidad fueron los empleados para obtener las imágenes, y no datos medidos.
[b]Excentricidad: distancia focal / eje mayor.
[c]Diferentes grados de elongación.
[d]Diferentes grados en la suavización de los bordes.
[e]Valores esperados sin la presencia de rugosidad superficial significativa.

También es importante resaltar que en el caso de las formulaciones 2 y 3, tres de

los índices (Vr, Vp, y circularidad) se ajustan a distribuciones bimodales, por lo que en la tabla 4 se dan los resultados para cada una de estas poblaciones (en las gráficas 6-23 del anexo II se muestran los ajustes poblacionales de Vr y Vp para cada formulación). Por el contrario, AR y e_r muestran distribuciones unimodales para estas formulaciones, sugiriendo por lo tanto que Vr, Vp, y la circularidad discriminan poblaciones de manera más efectiva que AR y e_r.

	Formulaciones											
	1				2				3			
	Población 1		Población 2		Población 1		Población 2		Población 1		Población 2	
	media±SD	%	media±SD	%	media±SD	%	media±SD	%	media±SD	%	media±SD	%
C	0.96±0.02	100	-	-	0.96±0.02	66	0.93±0.01	34	0.91±0.03	31	0.85±0.06	69
AR	1.10±0.00	100	-	-	1.20±0.04	100	-	-	1.32±0.05	100	-	-
e_r	0.54±0.01	100	-	-	0.44±0.05	100	-	-	0.34±0.05	100	-	-
Vr	3.32±0.23	100	-	-	3.98±0.91	76	9.72±3.31	24	5.72±2.43	29	12.80±5.98	71
Vp	7.09±0.09	100	-	-	7.72±1.03	77	10.74±1.78	23	11.44±4.64	37	19.71±10.56	63

Tabla 4: *Valores medios de los factores de forma para las tres formulaciones estudiadas. En algunos casos el análisis de los datos indica que la distribución de los factores es bimodal, y en estos casos se indican las medias y desviaciones estándar (SD) para cada una de las poblaciones, así como el porcentaje total que representan en la formulación . Todas las formulaciones fueron replicadas por triplicado.*

El análisis de estos datos en función de los criterios aceptados para interpretar la circularidad presenta resultados contradictorios para algunos casos como AR y e_r.

Asumiendo un valor de corte para la circularidad de 0.93 (Deasy y col., 1997), se pueden considerar como esféricas todas las poblaciones excepto la 3.

Si el valor de corte para AR lo establecemos en 1.2 (Baert y col., 1992; Vervaet y col., 1996), pueden considerarse las poblaciones 1 y 2 como esféricas, pero no la 3. Si hacemos como Kleinebudde y col., 1995; Podczeck y col., 1999; Schmidt y col., 1997 y establecemos el corte en un valor de 1.1, sólo la formulación 1 podría ser considerada como la formada por partículas esféricas. Aquí reside la importancia de saber que estos valores umbrales provienen de estudios que emplean diferentes métodos para estimar AR: por esta razón (el caso de AR también debe extenderse al cálculo de cualquier parámetro) es necesario interpretar los datos con precaución ya que la elección de un valor límite u otro afectará de forma marcada a las conclusiones finales.

Los valores del índice e_r dieron resultados completamente distintos. Así, ninguna

de las formulaciones estudiadas dio valores por encima del mínimo de 0.6 establecido por Podczeck y col., 1999 siendo la formulación 1 la más se aproxima a ese valor. Sin embargo al igual que los factores de forma, e_r clasifica en el mismo orden las formulaciones en función de su esfericidad: 1 > 2 > 3.

Independientemente de poder clasificar si las partículas pertenecientes a una población son o no esféricas, ninguno de estos índices es capaz de identificar de modo efectivo las formas predominantes en cada población o intentar aclarar la razón por la que no son consideradas esféricas.

El valor medio para Vr en la formulación 1 fue de 3.32, perteneciente a la categoría "casi circular" de la tabla 3. El valor medio de Vp fue de 7.09, ligeramente mayor que el esperado para las partículas lisas de esta categoría, lo que sugiere que la textura superficial de éstas no es completamente lisa. La formulación 1 se preparó a partir de Avicel pH101 como material único, y agua destilada como agente humectante. La superficie de éstas partículas mostraba la rugosidad típica de estas formulaciones debido a las pobres propiedades viscoelásticas del Avicel pH101 durante la esferonización sin la presencia de otros excipientes adicionales. Por lo tanto, el elevado valor de Vp está en consonancia con lo esperado en torno a la rugosidad superficial de este tipo de partículas. La figura 5a muestra una de las fotografías seleccionadas al azar de todas las empleadas en la caracterización de la formulación 1, después de la digitalización y elección del valor umbral de grises: como puede verse las proyecciones de las partículas coinciden con la morfología básica que se interpreta a partir de los valores obtenidos para Vr y Vp, es decir, partículas casi circulares con significativa rugosidad superficial.

Como se puede observar, las distribuciones de Vr y Vp para la formulación 2 eran bimodales. Considerando la primera población (76-77% de las partículas; tabla 4) el valor medio de Vr era de 3.98 y el de Vp 7.72. Esta población es lo por tanto similar a la formulación 1: partículas casi circulares con una significativa rugosidad superficial. Considerando la segunda población (23-24% de las partículas; tabla 4), el valor medio de Vr era de 9.72, y el de Vp de 10.74. Este valor medio de Vr podría ser indicativo de varias formas; sin embargo, el valor relativamente elevado de Vp nos permite descartar

las formas cuadriláteras, excepto aquéllas en las que exista una elevada rugosidad superficial. Estas partículas podrían clasificarse como rectángulos redondeados aunque el valor de Vp parece indicar la aparición de figuras fusiformes (con una baja AR y escasa rugosidad). La imagen representativa en la figura 5b se muestra de acuerdo con estas observaciones, indicando la presencia de una población de partículas ligeramente elípticas, y otra de rectángulos redondeados con lados ligeramente cóncavos y largos. La presencia de estas dos poblaciones sugiere que las partículas son formadas por la fractura de los cilindros obtenidos en la extrusión y posterior deformación plástica de éstos que hace que adquieran una forma redondea; sin embargo, el extrudido carece de la suficiente plasticidad para una correcta y completa esferonización, por ello muchas partículas permanecen como rectángulos redondeados.

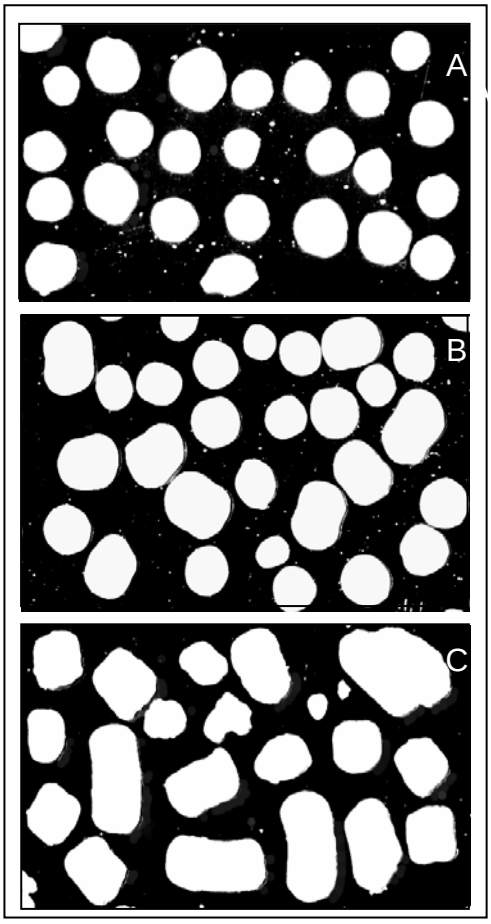


Figura 5: *Ejemplos de fotografías digitalizadas para las tres formulaciones analizadas (mirar métodos): A) formulación 1; B) formulación 2; C) formulación 3. Estas imágenes fueron seleccionadas aleatoriamente entre todas las utilizadas para la estimación de los valores de los factores de forma.*

Finalmente las distribuciones de Vr y Vp para la formulación 3 son igualmente bimodales. Considerando la primera población (63-71% de las partículas; tabla 4), el valor medio de Vr era 5.72 y el de Vp 11.44. Las partículas de esta población pueden clasificarse entonces como rectángulos redondeados, aunque el valor de Vr es indicativo de que son formas de escasa elongación. En la segunda población (29-37% de las partículas; tabla 4), ambos valores

de Vr y Vp son muy elevados. El valor de Vr sugiere la presencia de formas muy alargadas, mientras que el valor de Vp indica la presencia de partículas fusiformes o rectángulos curvos. La imagen representativa mostrada en la figura 5c está de nuevo en la dirección de estas interpretaciones, indicando la presencia de una población de cilindros curvos y alargados (correspondiente al extrudido apenas modificado y redondeados durante la esferonización), y otra población de partículas cilíndricas más cortas de bordes redondeados y en algunos casos presentando formas muy irregulares. La presencia de la primera población sugiere que esta mezcla no tiene las propiedades plásticas y viscoelásticas necesarias que favorezcan la correspondiente fractura y posterior deformación del extrudido durante la esferonización.

2.6 CONCLUSIONES

Los estudios planteados ponen de manifiesto que el parámetro de forma más empleado, la circularidad, es incapaz de diferenciar cambios de forma relacionados sobre todo con modificaciones en la relación entre la longitud y anchura de las partículas, si bien es sensible a todas las alteraciones superficiales de las mismas, que produzcan variaciones en el perímetro. Por lo tanto nuestros resultados están de acuerdo con lo que Chapman y col., 1989 proponen, confirmando que la circularidad es totalmente inadecuada para la caracterización y comparación de la forma de pelets, si se emplea como único parámetro. Más adecuado sería su empleo conjuntamente con el AR, o con otros factores sensibles a la relación de aspectos.

En cuanto al e_r nuestros estudios muestran que es un parámetro adecuado para determinar lo que un pelet se aleja de la forma esférica, si bien los límites establecidos para su empleo (0.6 según Podczeck y col., 1995), son quizás demasiado restrictivos. La gran sensibilidad que presta a la rugosidad superficial y AR hace que partículas ligeramente elípticas y con rugosidad superficial fácilmente no superen ese límite. Por otra parte se ha puesto de manifiesto que este parámetro comete errores al comparar formas con una relación de aspecto similar, y es menos sensible a la redondez: por

ejemplo, no distingue bien entre círculos y otras formas con una relación de aspecto de 1.

Los dos nuevos parámetros propuestos en este trabajo se han mostrado muy adecuados tanto a la hora de estudiar la esfericidad de los pelets, como para establecer la geometría predominante en las poblaciones de pelets. La enorme ventaja que han mostrado, de identificar la existencia de varias poblaciones de partículas, y al mismo tiempo caracterizar cada población en términos de forma predominante y aspectos relacionados con la textura y redondez, nos permitirá en un principio emplearlos para monitorizar los procesos de peletización, con la ventaja que ello conlleva, sobre todo en las etapas de diseño y desarrollo de una formulación.

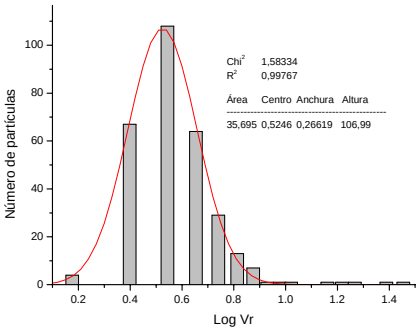
Finalmente, debemos de enfatizar que Vr y Vp son calculados a partir de longitudes radiales. El único requerimiento sobre su cálculo, es que el programa de AI empleado sea capaz de determinar un número suficiente de radios para asegurar una adecuada representación de la partícula.

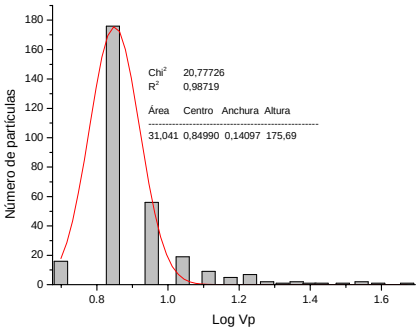
ANEXO I

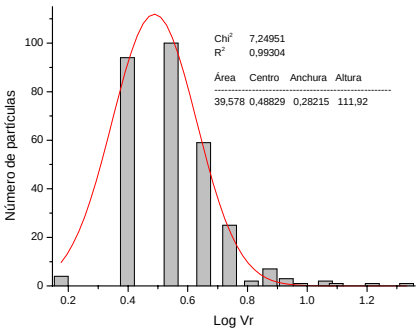
Forma geométrica	Alto[a] x Ancho[b]	Área[c]		r_{eq}[d]	P_{eq}[e]	Perímetro calculado teniendo en cuenta la forma[f]		Vr	Vp	C	e_r	AR
Círculo	1	$\pi \cdot r^2$	0.785	0.5	3.14	$2 \cdot \pi \cdot r$	3.14	0	0	1.00	0.99	1
Elipse	1,14x1	$\pi \cdot a \cdot b$	3.58	1.07	6.71	$\geq \pi \cdot (a+b)$	≥6.72	4.34	0.21	1.00	0.54	1.14
							≤6.74	4.34	0.43	0.99	0.54	
	1,50x1		4.71	1.22	7.70	$\leq \pi \cdot \sqrt{2} \cdot \sqrt{a^2+b^2}$	≥7.85	13.9	2.06	0.96	0.31	1.50
							≤8.01	13.9	4.08	0.92	0.27	
	2x1		6.28	1.41	8.89		≥9.42	21.4	6.07	0.89	0.19	2.00
							≤9.93	21.4	11.8	0.80	0.14	
Cuadrado	1x1	$l \cdot l$	1.00	0.56	3.54	$4 \cdot l$	4.00	9.4	12.8	0.79	0.88	1.00
Rectángulo	1,14x1	$a \cdot b$	1,14	0,60	3,77	$2 \cdot (a + b)$	4.28	17.9	13.0	0.78	0.42	1.14
	1,50x1		1.50	0.69	4.34		5.00	33.6	15.1	0.75	0.19	1.50
	2x1		2.00	0.80	5.01		6.00	34.7	19.6	0.70	-0.23	2.00

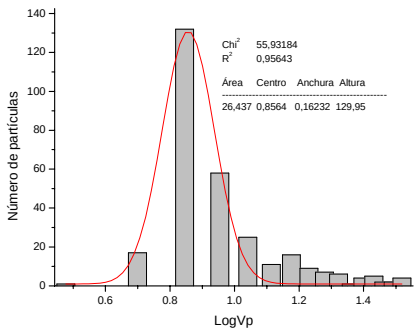
Tabla 5: *Influencia de la forma geométrica sobre los parámetros propuestos Vr Vp y su comparación con la circularidad, AR y e_r sobre diferentes formas cuyas coordenadas fueron calculadas como se indica en la tabla, y que por lo tanto no fueron obtenidas mediante simulación con un programa de dibujo vectorial. P_{eq} y r_{eq} son el perímetro y radio equivalentes para una circunferencia del área indicada respectivamente.*
[a,b,d,e,f] *expresados en mm.*
[c] *expresado en mm^2.*

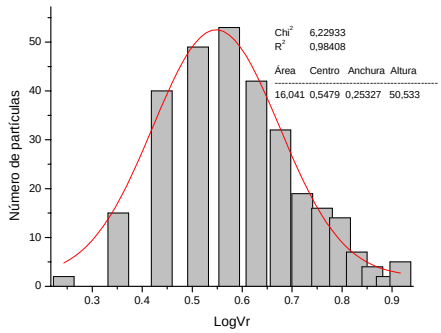
ANEXO II











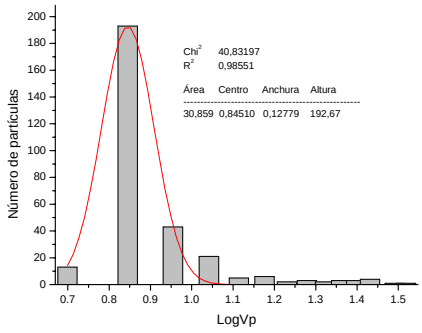
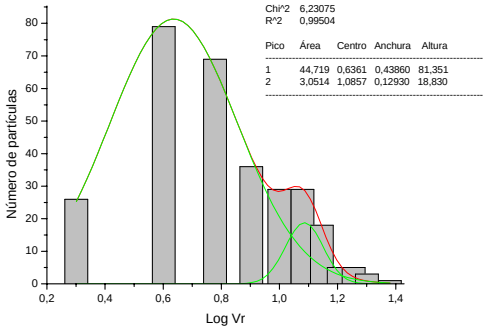
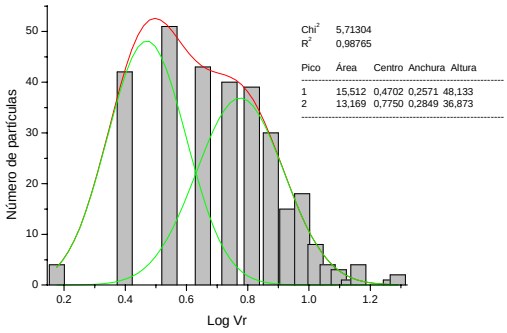


Figura 6, 7, 8: *Distribuciones logarítmico-normales de Vr a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 1.*

Figura 9, 10, 11: *Distribuciones logarítmico-normales de Vp a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 1.*





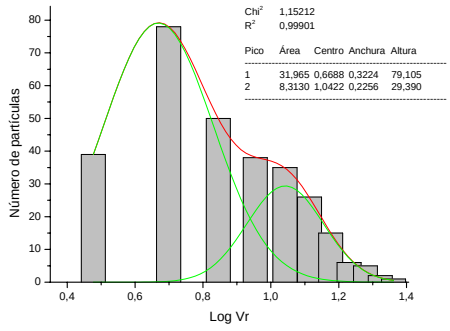
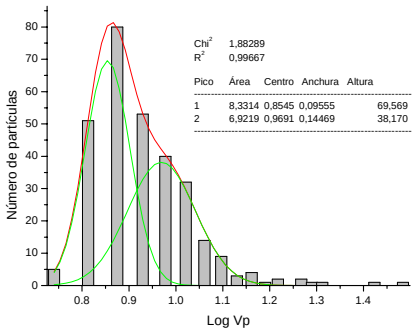
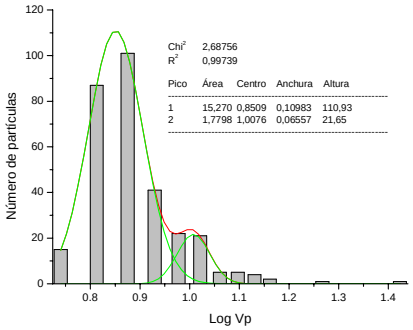


Figura 12, 13, 14: *Distribuciones logarítmico-normales de Vr a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 2.*





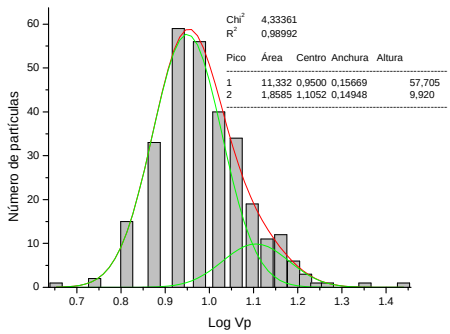
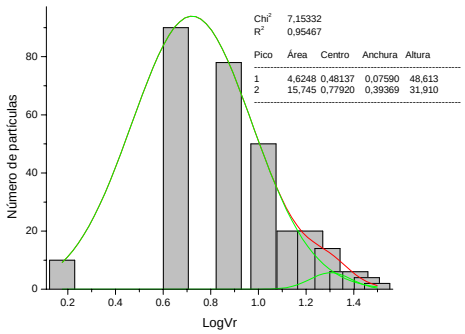
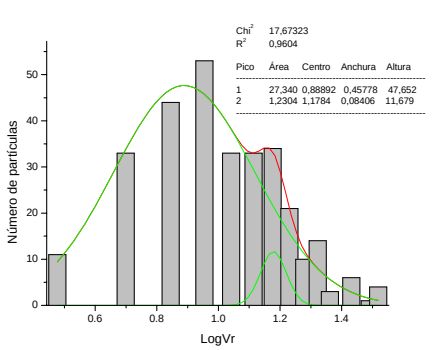


Figura 15, 16, 17: *Distribuciones logarítmico-normales de Vp a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 2.*





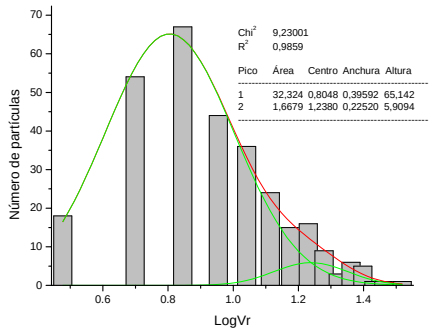
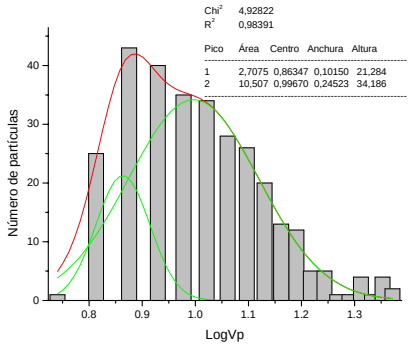
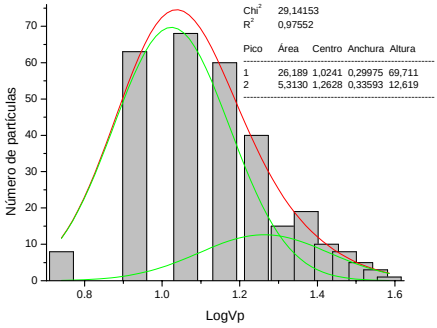


Figura 18, 19, 20: *Distribuciones logarítmico-normales de Vr a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 3.*





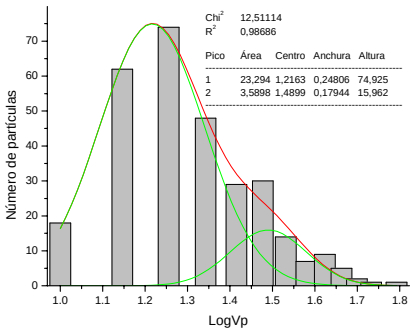


Figura 21, 22, 23: *Distribuciones logarítmico-normales de Vp a las que se ajustan las poblaciones de los replicados 1, 2 y 3 respectivamente para la formulación 3.*

BIBLIOGRAFÍA

Baert, L., Remon, J.P., Knight, P., Newton, J.M. 1992. A comparison between the extrusion forces and sphere quality of a gravity feed extruder and a ram extruder, *Int. J. Pharm.* 86, (187-192).

Baert, L., Vermeersch, H., Remon, J.P., Smeyers-Verbeke, J., Massort, D.L. 1993. Study of parameters important in the spheronization process, *Int. J. Pharm.* 96, (225-229).

Barber, T.A. 1996. Image analysis (Automated Microscopy) for particle analysis. in *"Liquid and surface borne particle measurement handbook"* Ed. by Knapp, J.Z., Barber, T.A., Lieberman, N.Y. pp61-112.

Barret, P.J. 1980 The shape of rock particles, a critical review, *Sedimentology* 27, (291-303).

Boutell, S., Newton, J.M., Bloor, J.R., Hayes, G. 2002. The influence of liquid binder on the liquid mobility and preparation of spherical granules by the process of extrusion/spheronization, *Int. J. Pharm.* 238, (61-76).

Bowman, E.T., Soya, K., Drummond, T.W. 2001. Particle shape characterization using Fourier analysis, *Geotechnique* 51, (545-554).

Chapman, S.R., Rowe, R.C., Newton, J.M. 1988. Characterization of the sphericity of particles by the one plane critical stability, *J. Pharm. Pharmacol.* 40, (503-505).

Cox, E.P. 1927. A method of assigning numerical and percentage values to the degree of roundness of sand grains, *J. Paleontology* 1, (179-183).

Deasy, P.B., Law, M.F.L. 1997. Use of extrusion-spheronization to develop an improved oral dosage form of indomethacin, *Int. J. Pharm.* 148, (201-209).

Eriksson, M., Alderborn, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 1997. Comparison between and evaluation of some methods for the assessment of the sphericity of pellets, *Int. J. Pharm.* 148, (149-154).

Hellén, L., Yliruusi, J. 1993. Process variables of instant granulator and spheroniser: III. Shape and shape distributions of pellets, *Int. J. Pharm.* 96, (217-223).

Heywood, H. 1963. The evaluation of powders, *J. Pharm. Pharmacol.* 15, (56T-74T).

Hileman, G.A., Upadrashta, S.M., Neau, S.H. 1997. Drug solubility effects on predecting optimun conditions for extrusion and spheronization of pellets, *Pharm. Dev. Tech.* 2, (43-52).

Iyer, R.M., Augsburger, L.L., Pope, D.G., Shah, R.D. 1996. Extrusion/spheronization effect of moisture content and spheronization time on pellet characteristics, *Pharm. Dev. Tech.* 1, (325-331).

Kanerva, B.H., Kiesvaara, J., Muttonen, E., Yliruusi, J. 1993. Use of laser light diffraction in determining the size distributions of different shaped particles, *Pharm. Ind.* 55, (849-853).

Kleinebudde, P.K. 1995. Use of a power-consumption-controlled extruder in the development of pellets formulations, *J. Pharm. Sci.* 84, (1259-1264).

Linder, H., Kleinebudde, P. 1994. Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization, *J. Pharm. Pharmacol*. 46, (2-7).

Lövgren, K., Lundberg, P.J. 1989. Determination of sphericity of pellets prepared by extrusion/spheronization and the impact of some process parameters, *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (2375-2392).

Lusting-Gustafsson, C., Johal, H.K., Podczeck, F., Newton, J.M. 1999. The influence of water content and drug solubility on the formulation of pellets by extrusion and spheronisation, *Eur J. Pharm. Sci.* 8, (147-152).

Pinto, J.F., Buckton, G., Newton, J.M. 1992. The influence of four selected processing and formulation factors on the production of spheres by extrusion and spheronisation, *Int. J. Pharm.* 83, (187-196).

Podczeck, F., Newton, M.J. 1994. A shape factor to characterize the quality of spheroids, *J. Pharm. Pharmacol*. 46, (82-85).

Podczeck, F., Newton, M.J. 1995. The evaluation of a three-dimensional shape factor for the quantitative assessment of the sphericity and surface roughness of pellets, *Int. J. Pharm.* 124, (253-259).

Podczeck, F., Rahman, S.H., Newton, M.J. 1999. Evaluation of a standardised procedure to assess the shape of pellets using image analysis, *Int. J Pharm.* 19, (123-138).

Schmidt, C., Linder, H., Kleinebudde, P. 1997. Comparison between a twin-screw extruder and rotary ring die press. Part I: Influence of formulation variables, *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 44, (169-176).

S**chneiderhöhn, P.** 1954. Eine verleichende studie über methoden zur quantitativen bestimmung von abrundung und form an sandkörnern, *Heidelberger Beiträge zur Mineralogie und Petrographie* 4, (172-191).

Shah, R.D., Kabadi, M., Pope, D.G., Augsburger, L.L. 1995. Physico-mechanical characterization of the extrusion-spheronization process. Part II: Rheological determinants for successful extrusion and spheronization, *Pharm. Res.* 12, (496-507).

Sousa, J.J., Sousa, A., Podczeck, F., Newton, J.M. 1996. Influence of process conditions on drug release from pellets, *Int. J. Pharm.* 144, (159-169).

Sousa, J.J., Sousa, A., Podczeck, F., Newton, J.M. 2002. Factors influencing the physical characteristics of pellets obtained by extrusion-spheronization, *Int. J. Pharm.* 232, (91-106).

Tomer, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 2002. The influence of model drugs on the preparation of pellets by extrusion/spheronization: II Spheronization parameters, *Int. J. Pharm.* 231, (107-119).

Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Influence of impeller design, method of screen perforation and perforation geometry on the quality of pellets made by extrusion-spheronisation, *Int. J. Pharm.* 133, (29-37).

Wan LSC, Heng WPW, Liew CV. 1993. Spheronization conditions on spheroid shape and size, *Int. J. Pharm.* 96, (59-65).

Capítulo 3

Caracterización morfológica de partículas mediante AI (I): factores que influyen en el proceso

Enviada para su publicación

3.1 RESUMEN

Debido a los enormes avances que se han producido en la informática y la fotografía digital en los últimos años, junto con la gran heterogeneidad existente de factores para el análisis morfológico, se hace evidente que es necesario un estudio de las diferentes variables tecnológicas que puedan influir sobre el análisis de imagen, y por lo tanto sobre los parámetros estimados con esta técnica. Es un apartado importante dentro del análisis morfológico, y sin embargo, sobre el que pocos autores han trabajado con detenimiento. En este capítulo se ha comprobado como influyen ciertas variables

tecnológicas sobre algunos de los parámetros de forma más utilizados como la circularidad, AR, e_r, o sobre los propuestos más recientemente Vr y Vp. Entre las variables estudiadas están: el tipo de cámara empleada; la intensidad de la luz; la elección de un correcto umbral mínimo de escala de grises (*threshold*); el tipo de archivo en el que se almacenan o transforman las imágenes junto con la compresión a la que han sido sometidas; la influencia de hacer las fotografías en color o en blanco y negro; el número de partículas mínimo que ha de ser medido y finalmente, la importancia en la elección del tamaño de píxel a la que se quiere trabajar, ya que será fundamental en la metodología de trabajo empleada. Para ello puede recurrirse al empleo de diferentes ampliaciones ópticas o bien al uso de varias resoluciones a la hora de escoger el formato de las microfotografías realizadas.

Palabras clave: análisis de imagen, forma, extrusión-esferonización, tamaño de píxel.

3.2 INTRODUCCIÓN

El análisis de forma y tamaño de diferentes tipos de partículas, no es un campo exclusivo de la Tecnología Farmacéutica, ya que muchos de los factores de forma empleados para el análisis morfológico de las partículas están tomados de otras disciplinas (como por ejemplo la geología: Barret 1980, Schneiderhöhn, 1954) que llevan años utilizándose: la relación de aspectos (Schneiderhöhn, 1954), y circularidad (Cox, 1927; Hausner 1966; Exner y col., 1977). En la mayoría de los casos, estos parámetros han sido adoptados sin más a la investigación farmacéutica y pocos han sido los trabajos en los que se ha estudiado la influencia que las diferentes variables tecnológicas puedan mostrar sobre los factores de forma utilizados, al margen de la naturaleza de estos últimos. Esto puede ser fácilmente explicado por el escaso desarrollo que las técnicas de análisis de imagen digital presentaban hace años. Sin embargo, debido a las enormes posibilidades que este tipo de análisis comienza a proporcionar, pocos han sido los trabajos en los que se ponga de manifiesto la influencia que ciertas variables tecnológicas

ejercen sobre el sistema de captación de imágenes. Lövgren y col., en 1989 ya comenzaron a hablar de la precisión de un método de análisis de imagen basado en el reconocimiento de imágenes digitalizadas con un ordenador. Zingerman y col., 1992 hacen una validación de un sistema de análisis de imagen para la estimación del tamaño de partícula, mientras que Podczeck y col., 1999 introducen la influencia de la iluminación (Podczeck y col., 1995) , o la importancia en la elección del umbral de grises, junto con el tamaño de píxel proporcionado por el sistema.

Por lo tanto, el objetivo principal de este trabajo será el estudio que la influencia de las diferentes variables tecnológicas que se pueden presentar en el AI debido a los avances en fotografía digital e informática. Así por ejemplo se verá como influyen sobre algunos parámetros de forma la intensidad de la luz, *threshold*, tamaño de píxel, tipo de archivo y compresión, o el hecho de partir de fotografías en color o escala de grises, y número de partícula medidas.

3.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Los pelets fueron fabricados por extrusión-esferonización, a partir de diferentes mezclas de almidones y dextrinas y agua como líquido de humectación, con el objeto de obtener un lote de partículas esféricas y otro lote de partículas más irregulares. Para ello, se siguió una etapa de mezclado (mezcladora en túrbula T2C durante 15 minutos); una etapa de amasado o malaxado (malaxadora Kenwood chef classic durante 15 minutos); extrusión en un extrusor Caleva 10 (1 mm de abertura de tamiz y a 6 rpm); esferonización en un esferonizador Caleva 120 (2000 rpm durante 15 minutos); y finalmente secado en estufa Haraeus hasta peso constante.

Las imágenes empleadas en la realización de las medidas fueron tomadas por un estéreomicroscopio Olympus SZ-CTV equipado con un equipo de luz fría Hihglight 2000 Olympus Europe que iluminaba la muestra perpendicularmente desde arriba y sobre un fondo negro y con tres cámaras diferentes: una cámara de vídeo JVC TK-S350; microscope camera system Olympus DP11; y microscope camera system Olympus DP12.

En todos los casos, se fotografiaron 50 partículas de un lote de pelets esféricos, y por otro lado otras 50 partículas de un grupo de pelets de forma irregular. Para no variar la posición de las partículas entre ellas en el campo de visión, fueron pegadas al fondo negro empleado para las medidas. Los cálculos realizados, fueron establecidos a partir de los datos obtenidos con el software SigmaScan, y posteriormente a partir de unas macros especialmente diseñadas con el Microsoft Excel XP.

Para estudiar la influencia del tipo de compresión en el archivo, se midieron 20 de las partículas esféricas (siempre las mismas). Esto se hizo siempre por sextuplicado. Para ello se utilizó la microscope camera system Olympus DP12, con la que pueden almacenarse archivos JPEG y TIFF con diferentes compresiones. A partir de estos datos se hizo un Anova de dos vías para cada uno de los factores de forma estudiados tras comprobar previamente la homogeneidad y normalidad de varianzas. Posteriormente los diferentes grupos fueron comparados con un test de comparación múltiple SNK (Student-Newman-Keuls) con el Sigmastat 1.0.

3.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.4.1 Influencia de la iluminación

Hay dos aspectos fundamentales relacionados con la iluminación del campo de visión donde se encuentran las partículas que influyen sobre las medidas realizadas mediante el análisis de imagen.

El primero de ellos ha sido ya tratado de manera eficaz por Podzeck y col., 1995 y 1999 y está relacionado con la dirección de la fuente luminosa. Estos autores comprobaron que la iluminación inferior del campo de medida (que es la que se emplea tradicionalmente) genera una serie de sombras debidas a la difracción de la luz que llega a las partículas. Puesto que la imagen obtenida en estas condiciones estará formada por las proyecciones de las partículas, oscuras, sobre un fondo claro y una serie de sombras del mismo color que las partículas, éstas sombras se sumarán a la superficie real de las partículas produciendo una sobreestimación del área y el perímetro de las partículas. Por

esta razón y tras la realización de varias experiencias llegaron a la conclusión que el empleo de una fuente luminosa situada en la parte superior del campo es la mas adecuada ya que genera sombras oscuras sobre un fondo oscuro y una proyección clara de las partículas, evitándose así el problema.

El otro factor a tener en cuenta, es la intensidad de la fuente luminosa que se utilice. Esto es importante ya que, si la luz es tenue, la digitalización presentará mucho ruido de fondo dificultando la estimación correcta del valor umbral de grises o de color

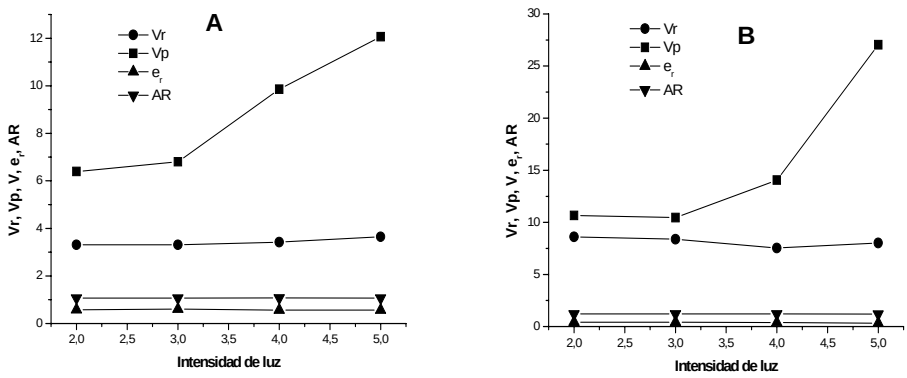


Figura 1: *Influencia de la intensidad de luz sobre los diferentes factores de forma para las formulaciones A y B respectivamente.*

empleado en la generación de la imagen binaria utilizada para la determinación de las medidas. Por el contrario, con una iluminación excesiva, se producirá una elevada reflexión de la luz por parte de las partículas claras, obteniéndose imágenes con un contraste excesivo que disminuyen drásticamente la definición de los contornos de las proyecciones de las partículas, hecho que se agrava por la dificultad de realizar un enfoque adecuado a causa del alto contraste. Como consecuencia de la menor definición de los contornos, el programa de AI es incapaz de identificar eficazmente las coordenadas que conforman el perímetro de las partículas. En la figura 1 se muestran los resultados empleados para seleccionar el valor óptimo de la intensidad de iluminación, cuando se utiliza la cámara de vídeo JVC TK-S350, partiendo de los factores obtenidos para dos formulaciones con diferente forma (a: partículas relativamente esféricas; b: formas más

irregulares). Como se observa, el efecto de la iluminación es muy diferente en función del parámetro morfológico. Así Vr, AR y e_r se mantienen constantes independientemente de la intensidad de luz, mientras tanto el valor de Vp se incrementan notablemente en intensidades de luz superiores a 3 (escala arbitraria empleada por el sistema de luz fría Highlight Olympus). La obtención de imágenes de alto contraste debido a fuertes intensidades de luz, dificulta el establecimiento de las coordenadas del perímetro sin afectar apenas a las principales medidas de la partícula (radio, longitud, anchura, área), siendo ésta la causa fundamental de que se vea afectado Vp. En función de estos resultados vemos por lo tanto que con una intensidad de luz de 3 se llega a un compromiso entre el ruido y el contraste de la imagen, al margen de la naturaleza de la forma de las partículas por lo que es el que se utilizará en adelante.

3.4.2 Influencia del establecimiento del valor umbral de la escala de grises durante la conversión binaria de la imagen digitalizada (*Threshold*)

Para el calculo de las dimensiones empleadas en el análisis morfológico de las partículas los programa informáticos de AI deben procesar y convertir la imagen analógica en una imagen binaria de un bit por píxel (el bit tiene el valor 0 ó 1). Es a partir de aquí cuando el software mide y cuenta el número de píxeles que conforman las distintas dimensiones (área, perímetro etc..) que se obtienen finalmente multiplicándolos por un factor de escala (calibración).

Cuando se forma una imagen digital adquirida mediante una cámara o un escáner, ésta se transforma en un mapa de bits formada por una serie de píxeles cuyo tamaño variará en función de la resolución. Cada uno de los píxeles tiene asignados unos valores relacionados con el color y que dependen del modo de color en el que estamos trabajando (B&W, escala de grises, RGB, etc...). Estas imágenes deberán convertirse en binarias para lo que será necesario establecer el valor umbral de color (*threshold*) que permita transformar las imágenes en color o escala de grises en imágenes en blanco y negro de un bit.

La elección del valor del *threshold* va influir directamente sobre las principales dimensiones de las proyecciones. Esto es así porque nos va a delimitar y definir los píxeles que en función de los valores de color e intensidad formarán parte de la proyección de la partícula o del fondo del campo de visión tras la binarización de la imagen. El establecimiento del valor de *threshold*, es diferente si se trabaja con imágenes en escala de grises o imágenes en color y sobre todo si deseamos realizar un análisis de los diferentes colores de una imagen o simplemente evaluar la intensidad de luz de la misma.

En una imagen de escala de grises de 8 bits por píxel el proceso de *threshold* es sencillo y consiste en asignar un valor límite de intensidad de gris (valores que se encuentran en una escala de 0 a 255) a partir del cual se le asigna al píxel el valor 0 (blanco) o 1 (negro). Sin embargo las imágenes de color real de 24 bit por píxel (RGB) o 32 bit por píxel (CMYK) están formadas por 3 (rojo, verde y azul) o 4 canales (cian, magenta, amarillo o negro) respectivamente, cada uno formado por 8 bits que incorporan una gama de 256 niveles de intensidad de color por canal. Esto hace que sea necesario establecer el valor límite de intensidad para cada uno de los canales, lo que complica la etapa de *threshold*.

Sin embargo, en el caso del análisis de la forma y tamaño de las partículas, es más importante realizar una buena definición de los bordes de las partículas que permita establecer el área y el perímetro de forma precisa que poseer una amplia información sobre el mapa de color de las partículas. Este hecho simplifica enormemente la etapa de *threshold* ya que nos permite despreciar la información del color contenida en los diferentes canales de las imágenes de 24 o 32 bit por píxel, que no es necesaria para una buena definición de las proyecciones de las partículas, y tener en cuenta simplemente los valores de intensidad de luz de las imágenes que pueden almacenarse en un único canal (imagen de 8 bit). Esta modificación se consigue bien transformando las imágenes de color, generalmente de 24 bit por píxel (RGB) en imágenes en escala de grises de 8 bits, mediante las herramientas de conversión que incorporan los programas de AI, o bien, si el programa de AI lo permite, tal como es el caso de SigmaScan, realizar el *threshold* en

función de la intensidad del color de la imagen en el que obvia la información relacionada con el color actuando como si de una imagen en escala de grises se tratara, pero sin necesidad de transformarla. En concreto el programa empleado nos permite seleccionar un *threshold* relativo (expresado como porcentaje) que tiene en cuenta la intensidad global de la imagen (sombras y luces).

En la figura 2 vemos el resultado de emplear diferentes valores de *threshold* relativo, para el análisis de una formulación con partículas relativamente esféricas (a) y otra más irregulares (b). De forma similar a lo que ocurre con la intensidad de luz salvo el parámetro Vp, todos apenas varían en el intervalo de *threshold* elegido, indicando que en los límites estudiados una modificación de este parámetro apenas afecta a la determinación de las variables relacionadas en con el tamaño de las partículas, como pueden ser los radios de las partículas (empleados en el cálculo de Vr y e_r) o en

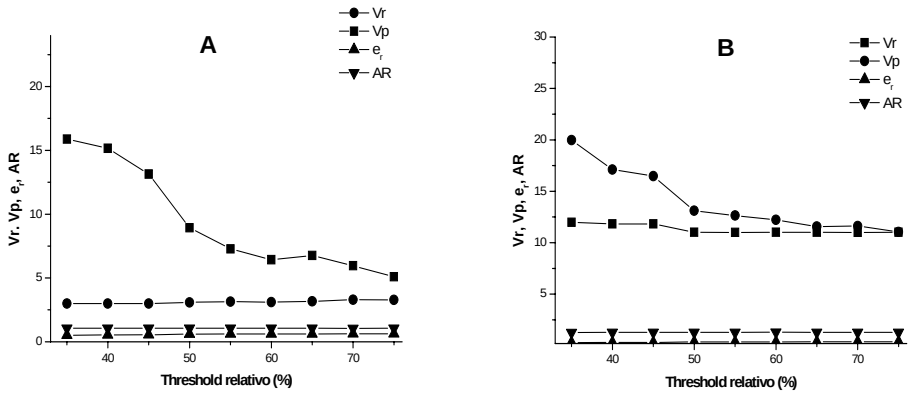


Figura 2: *Influencia del threshold sobre los diferentes factores de forma para las formulaciones A y B respectivamente.*

dimensiones como la longitud y anchura (empleadas en la estimación del AR y e_r). Nuevamente es el parámetro Vp el más afectado por la variación en los parámetros del método empleado. En este caso valores de *threshold* inferiores al 55-60% dan lugar a valores superiores de Vp. La causa es que el *threshold* influye directamente sobre el proceso de estimación de las coordenadas del perímetro de las proyecciones de las

partículas (*traking*), por lo que con valores inferiores al 55% el programa no es capaz de distinguir correctamente todos los píxeles que forman parte del perímetro de la partícula. Como consecuencia en muchas de ellas se interrumpe el proceso de estimación de las coordenadas del perímetro. Esto sucede nuevamente para ambos lotes de partículas, con la salvedad, como es lógico, de que para el caso de las más irregulares los valores de los factores de forma son más elevados.

3.4.3 Precisión del método

Una vez estimadas las condiciones de medida óptima en cuanto a la iluminación del proceso de digitalización y binarización de la imagen se procedió a evaluar la precisión del método de AI.

La precisión del método fue evaluada en función del día del análisis del siguiente modo. Seleccionamos dos formulaciones (una con partículas más irregulares y menos esféricas que otra: la “a” y “b” respectivamente) de las que fueron seleccionadas de modo aleatorio 10 partículas. Se obtuvieron las correspondientes imágenes de video que fueron digitalizadas con una cámara de vídeo JVC TK-S350l, a partir de las cuales se realizaron las medidas. Las imágenes fueron captadas una vez al día durante tres días consecutivos. Los resultados obtenidos indican que hay una variación máxima de un 5-8% entre las medidas de los parámetros realizados en diferente día. Esta variabilidad no debe asociarse al error cometido por el método, sino que está relacionado con la posición relativa que ocupan las partículas en el campo de análisis que modifica el ángulo de incidencia de la fuente de iluminación sobre ellas. Este tipo de error se minimiza al aumentar el número de partículas medidas ya que la posición relativa de las mismas en el campo de visón va a ser aleatoria. Una prueba de que el error depende de la posición y luz reflejada por las partículas es que si se toman varias imágenes sin desplazar ni mover las muestras apenas hay diferencia alguna en las medidas obtenidas.

3.4.4 Influencia del tamaño de píxel

Tal como pusieron de manifiesto Zingerman y col., 1992 y Podczeck y col., 1999 un aspecto muy importante en los métodos de análisis de imagen es el tamaño de píxel que conforman las imágenes y por lo tanto el número de píxeles que forman la proyección de las partículas. El tamaño de píxel de las imágenes de las partículas puede variarse bien modificando la magnificación del sistema óptico o bien modificando la resolución de la imagen digital. Hasta el momento, en este trabajo todas las imágenes fueron captadas empleando una cámara de video JVC TK-S350 conectada a una tarjeta de video Matrox Comet, mediante el software PC Image VGA 24, empleando además los mínimos aumentos (1x) que proporciona el estereomicroscopio Olympus SZ-CTV. El sistema de vídeo consta de un *interline-transfer* CCD (con un tamaño de 1/3 pulgadas) con un número efectivo de píxeles de 430000 que permite obtener imágenes en escala de grises con una resolución de 753x582 y 176x105 ppi (tabla 1). En estas condiciones y empleando la mínima magnificación óptica se obtienen imágenes con un tamaño de píxel constante de 12.25 micras (teniendo en cuenta la calibración), que puede aumentarse a 2.08 micras empleando la máxima magnificación óptica de 6.3x. Sin embargo, como ya constataron Zingerman y col., 1992 el empleo de altas magnificaciones presenta el inconveniente de que reduce drásticamente la profundidad de campo, dificultando el enfoque simultáneo de todas las partículas y la perfecta definición de los bordes que las conforman, por lo que las dimensiones suelen sobreestimarse. Además, el aumento de la magnificación también reduce el tamaño del campo de trabajo empleado para las medidas y por lo tanto el número de partículas por imagen, haciendo que el proceso sea más lento y tedioso al necesitar captar un número significativamente mayor de imágenes. Por este motivo, sobre todo con partículas relativamente grandes como suelen ser los pelets, se prefiere utilizar la mínima magnificación óptica posible. Por esto, cuando se emplean sistemas con imágenes de resolución fija como es el caso de de la cámara de video empleada, no es posible modificar el tamaño efectivo de píxel.

Tipo de cámara	Calidad de la cámara	Resolución[a]	Ppi[b]	Tamaño de imagen (mm)	Tamaño real de píxel (µm)	Factor de calibración (µm/píxel)	Tipo de archivo	Nivel de compresión	Tamaño de Archivo (MB)
JVC TK-S350	-	704*420	176*105	101.6x101.6	144.3x241.9	12,25	TIFF	Ninguno	0.29
Olympus DP11	SQ	640*512	72*72	225.8x180.6	352.8	25,64	JPG	Bajo	0.15
	SQ	1280*1024	144*144	225.8x180.6	176.4	12,82	JPG	Bajo	0.42
	HQ	1712*1368	144*144	301.9X241.3	176.4	9,69	JPG	Alto	0.54
	SHQ	1712*1368	144*144	301.9X241.3	176.4	9,69	JPG	Medio Bajo	1.7 6.9
Olympus DP12	SQ	640*480	72*72	225.7X169.3	352.8	20,69[c] 39,98 39,98	JPG	Bajo Alto Bajo	0.20 0.06 0.20
	SQ	1024*768	72*72	361.2X270.9	352.8	13,89[c] 27,02 27,02	JPG	Bajo Alto Bajo	0.5 0.15 0.5
	HQ	2048*1536	72*72	722.5X541.9	352.8	7,04[c] 13,33	JPG	Ninguno Ninguno	0.7 0.7
	SHQ	2048*1536	72*72	722.5X541.9	352.8	13,33 13,33	JPG TIFF	Bajo Ninguno	1.88 9.25

Tabla 1: *Diferentes características del tipo de archivos que proporcionan las distintas cámaras empleadas para la realización de las fotos, así como las diferentes calidades con las que trabajan las cámaras: SQ: small quality; HQ: high quality; SHQ: super high quality.*
[a] *expresada en píxeles.*
[b] *puntos por pulgada.*
[c] *en estos casos, el objetivo acoplado al estéromicroscopio era de 1X*

Sin embargo, en los últimos años se han registrado grandes avances en el campo de la fotografía digital que han hecho que en los nuevos sistemas de AI las videocámaras y las tarjetas gráficas capturadoras se vean desplazadas por las cámaras fotográficas digitales. La facilidad en el volcado de las imágenes al ordenador y la gran resolución de las fotografías digitales hacen que presenten numerosas ventajas. Además, las cámaras digitales presentan la posibilidad de elegir entre varias calidades de imagen y los tipos de

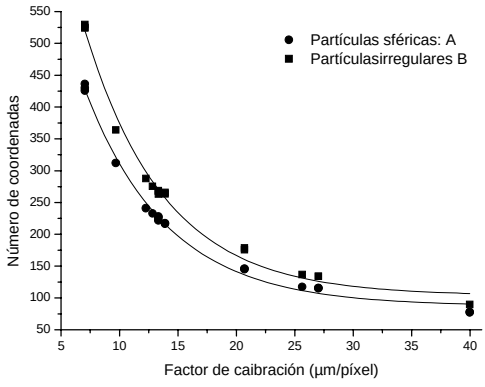


Figura 3: *Numero de píxeles que conforman el perímetro de la proyección de la partícula en función de tamaño de píxel obtenido teniendo en cuenta la calibración (factor de calibración del sistema).*

archivo en que se almacena la información. Podría pensarse que en estas condiciones lo ideal sería emplear siempre la máxima resolución (tamaño de píxel más pequeño). Sin embargo, las fotografías capturadas a resoluciones elevadas dan lugar a archivos de trabajo muy grandes (ocupan mucho espacio) con gran cantidad de información, por lo que el programa de AI deberá manejar una gran cantidad de píxeles, lo que ralentiza mucho el tiempo de análisis. Por ello lo ideal sería determinar cual es la mínima resolución con la que es posible obtener los resultados óptimos.

Para estudiar y comparar el efecto de la resolución de las imágenes y el tipo de archivo empleado para su almacenamiento, sobre los parámetros empleados en la caracterización morfológica de pelets, capturamos varias imágenes de 50 pelets empleando para ello dos cámaras fotográficas digitales diferentes, ambas de la casa Olympus, utilizando el mismo sistema óptico a diferentes resoluciones y almacenándolas en dos de los formatos fotográficos más utilizados, TIFF y JPG, con diferentes niveles de compresión de datos (tabla 1). Además, se capturaron también algunas fotografías de los pelets instalando en la lupa un accesorio (objetivo 0.5X) que permite aumentar el campo de visión e incluir mayor número de partículas por imagen, dividiendo por dos los aumentos del sistema óptico.

Como podemos observar en la tabla 1, con los tres sistemas se pueden obtener cuatro tamaños de píxel real que dependen de la resolución que tenga el sistema empleado. En el caso de la cámara digital Olympus DP12 es la que posee mayor tamaño de píxel real al presentar 72x72 ppi (352.8µm). Desde el punto de vista del factor de calibración (tamaño de píxel teniendo en cuenta la calibración del software de AI) es sin embargo esta misma cámara la que proporciona menor tamaño ya que pese a que tiene un menor número ppi, lo compensa con su mayor resolución y por lo tanto con imágenes de mayor tamaño (contienen mayor número de píxeles). Llama la atención la cámara de video ya que pese a presentar una resolución más baja 704x420 y por lo tanto un tamaño de imagen más pequeño, la mayor nitidez de las imágenes con un elevado numero de puntos por pulgada (ppi), hace que tras la calibración se obtengan tamaños de píxel más pequeños (tanto reales como teniendo en cuenta la calibración) que en la mayoría de las

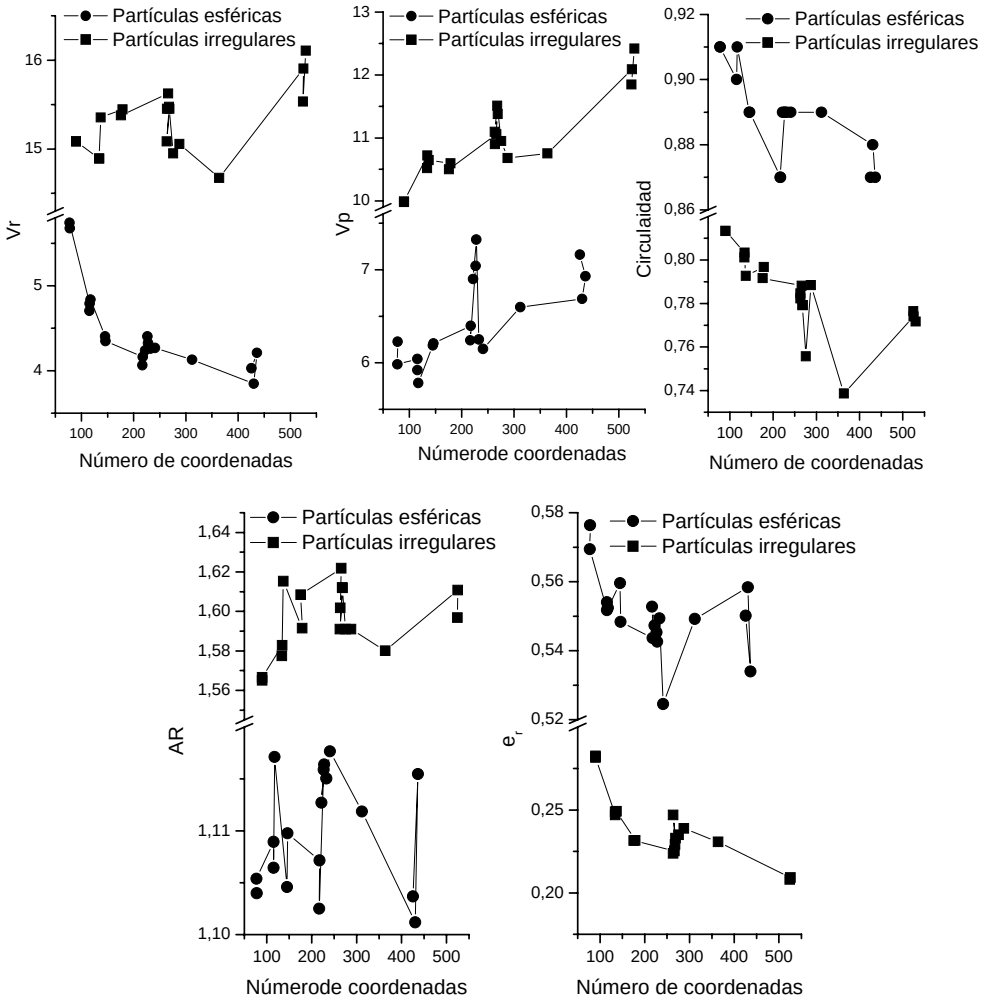


Figura 4: *Influencia del número de coordenadas sobre diferentes factores de forma: Vr, Vp, Circularidad, AR y* e_r

resoluciones posibles de las cámaras digitales. De todas maneras todas las resoluciones empleadas salvo la más baja de la cámara DP12 (640*480) cuando se emplea el accesorio 0.5X proporciona tamaños de píxeles, teniendo en cuenta la calibración, inferiores a las 30 micras que es el límite establecido por Podczeck y col., 1999 para la determinación de la forma de pelets de tamaños próximos al milímetro.

En la figura 3, queda reflejado como disminuye exponencialmente el número de píxeles que conforman el perímetro de las partículas al ir aumentando el tamaño de píxel. Teniendo en cuenta los resultados previos obtenidos por Almeida-Prieto y col., 2004, para obtener una buena exactitud es necesario que las partículas posean un radio mínimo formado por 25-30 píxeles, o lo que es lo mismo un perímetro conformado por más de 150 píxeles. Sobre esta base, vemos por lo tanto que habría que desechar todas aquellas resoluciones que proporcionan un factor de calibración inferior a 20 µm/píxel.

Para comprobar esta afirmación en la figura 4 se representan varios de los factores de forma más utilizados en el análisis de las partículas así como algunos de los propuestos recientemente. Como podemos observar salvo el AR todos los parámetros se ven afectados en mayor o en menor medida por el número de píxeles que conforman su perímetro, aunque depende también de la forma de las partículas. Observamos como para los parámetros Vr y e_r, en el caso de partículas esféricas, se produce una disminución significativa en sus valores a medida que aumenta el número de coordenadas, y esto es significativo sobre todo hasta los 150-200 píxeles a partir de los que tienden a mantenerse un poco más constantes. Para el Vp y circularidad observamos respectivamente un aumento y una disminución en sus valores al aumentar el número de coordenadas.

Un aumento en el número de píxeles del perímetro como consecuencia de la disminución en su tamaño, proporciona un mayor número de radios efectivos para el cálculo de Vr y permite una mejor definición de la rugosidad de la superficie de las partículas, por lo que provoca un descenso en los parámetros sensibles a esta propiedad (circularidad y e_r) y aumentos en Vp. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos podemos confirmar que el empleo de factores de calibración inferiores a 20 µm/píxel serian adecuados para el calculo de la mayoría de los parámetros con exactitud. Por tanto en las cámaras digitales DP 11 y DP 12, empleando una ampliación óptica 1x, podrían utilizarse cualquier resolución salvo la menor (640*512 y 640*480 en DP11 y DP12 respectivamente) aunque con la DP12 si empleamos la ampliación 0.5X seria necesario utilizar siempre la mayor resolución de 2048*1536.

3.4.5 Influencia del tipo de archivo utilizado para almacenar la imagen, así como la compresión empleada

Otro aspecto importante a la hora de almacenar las imágenes para trabajar es el tipo de archivo empleado. En el caso del sistema formado por la videocámara, no es un aspecto tan importante ya que no es necesario trabajar sobre imágenes salvadas, sino que es posible congelar la señal y medir las partículas. Sin embargo con las cámaras digitales es necesario primero almacenar las imágenes, y descargarlas en el disco duro del ordenador para posteriormente realizar las medidas. En estas condiciones el tamaño del archivo es importante ya que condiciona el tiempo de descarga, el espacio necesario para su almacenamiento y su posterior tratamiento. Habitualmente este tipo de cámaras trabajan con dos tipos de formato de archivo de imagen, TIFF y JPEG. *Tagged-Image File Format* (TIFF) es un formato de almacenamiento no comprimido de alta calidad que admite una profundidad de color de hasta 64 bits, con el inconveniente de que los archivos TIFF pueden llegar a ser muy grandes (hasta un tamaño máximo tamaño posible de 4GB). En este tipo de archivos se almacena toda la información posible presente en la imagen (colores, intensidad, etc.). El formato jpg –o jpeg- (*Join Photographic Experts Group)* por el contrario se trata de un archivo comprimible de manera variable que presenta un tamaño en kbytes considerablemente menor al formato TIFF. El jpg tiene en cuenta la falta de perfección del ojo humano en la captación de todos los colores, contrastes, etc de una imagen, para así eliminar parte de esa información para que ocupen menos. Por consiguiente, el algoritmo de compresión del JPEG está diseñado para desechar pequeñas cantidades de información de color entre píxeles adyacentes, ya que supone que de todas formas no podremos percibir la pérdida, aunque si el nivel de compresión es muy elevado también puede borrar parte de lo que sí, con lo que la calidad fotográfica puede disminuir de forma importante. Sin embargo, como hemos comentado con anterioridad para realizar un análisis correcto de la forma de las partículas no es necesario tener en cuenta la mayor parte de la información del color por lo que, el almacenamiento de las imágenes en formato JPEG siempre y cuando no se exceda en la

compresión del archivo, no debería influir sobre los resultados. Para comprobar estas suposiciones, se planteó un estudio consistente en realizar idénticas fotografías a un campo formado por 20 pelets, empleando diferentes resoluciones y formatos de archivo. Cada una de éstas se realizó por sextuplicado. El estudio se llevó a cabo empleando la cámara Olymps DP 12 ya que permite obtener diferentes resoluciones, almacenar los archivos en formato TIF y JPG y emplear diferentes compresiones de este último. (tabla 1).

Se analizaron los resultados obtenidos tras el análisis morfológico (Tabla 2) de las 20 partículas mediante un análisis de la varianza introduciendo como factores la resolución y la calidad del archivo empleado. En el caso de Vr se observaron diferencias significativas ($\alpha<0.01$) entre las resoluciones de 2048 x 1536 y 1024 x 768, pero no con los diferentes niveles de compresión, ni tipos de archivos. Sin embargo, para los parámetros Vp, e_r, y circularidad, ademas de la influencia de la resolución se encontraron diferencias para el tipo y compresión de archivo empleado en el almacenamiento de los datos. Por último, para el parámetro AR no influye ninguno de los factores introducidos. Para determinar el origen de las diferencias encontradas, realizamos el mismo estudio sobre los parámetros que estima directamente el programa de AI, a partir de los que calcula los parámetros de forma: área, perímetro y radio medio. El análisis de la varianza indica que tanto el área como el radio medio son independientes de las variables estudiadas, sin embargo el perímetro estimado ($\alpha<0.05$) es sensible tanto a la resolución como al tipo de archivo empleado y su compresión. Es por ello que, precisamente son los parámetros que lo emplean en su cálculo, Vp, er y circularidad los que se ven afectados por estos factores. La causa de las diferencias de estimación en el perímetro, están relacionadas con la determinación de las coordenadas de las partículas, por el programa de AI. Un aumento en la resolución o en la información almacenada en los archivos dificulta, en las condiciones de iluminación y *threshold* empleado, de manera significativa el proceso de identificación de los píxeles que conforman el perímetro de la proyección de la partícula. Esto es así porque al aumentar la información de la imagen (más píxeles con diferentes colores o intensidades) hace que la transición entre la

superficie de la partícula y el fondo, sea mucho más progresiva y suave, dificultando enormemente el proceso de estimación del programa. Esto se traduce en que, tal como se observa el la tabla 2, el número de partículas en las que se estima el perímetro de manera completa disminuyan considerablemente al aumentar la calidad de la imagen. Para intentar solucionar este problema habría que volver a estudiar la influencia de la iluminación y determinación del nivel umbral de grises para estas resoluciones.

	Características del archivo			
	Resolución-Tipo de archivo-Compresión			
	1024x768 JPEG Low	1024x768 JPEG High	2048x1536 JPEG -	2048x1536 TIFF -
Partículas medidas	120	120	97	72
Coordenadas medidas	115.13 ±0.23	114.99 ±0.13	233.80 ±3.80	237.99 ±3.87
Rmedio[a]	547.79 ±0.18	548.35 ±0.17	541.12 ±7.85	546.62 ±7.14
e_r	0.57 ±0.005	0.56 ±0.006	0.53 ±0.011	0.55 ±0.018
Vr	4.56 ±0.06	4.51 ±0.04	4.23 ±0.32	4.13 ±0.37
Vp	6.31 ±0.23	5.84 ±0.01	7.96 ±0.49	8.75 ±1.15

Tabla 2: *Resumen de los datos obtenidos para diferentes medidas con distintos tipos de archivos y compresiones. Los datos están expresados como media±desviación estándar.*
[a]expresado en mm.

De todos modos, aunque efectivamente se detecten diferencias estadísticamente significativas entre algunos de los parámetros de forma, éstas no son importantes desde un punto de vista práctico ya que suponen modificaciones en los valores de los parámetros menores a un 5% en todos los casos (1.32%, 4%, 0.43% y 2.91% para Rmedio, e_r, Vr y Vp respectivamente). Finalmente, teniendo en cuenta estas consideraciones, para el análisis morfológico de las partículas empleando los equipos descritos, no es aconsejable emplear las máximas resoluciones ya que la proporción de partículas a las que se le estima el perímetro correctamente, disminuye

considerablemente, lo que obliga al aumento en el muestreo. Además, supone que el operador deba mantener especial atención en eliminar aquellas proyecciones en las que el perímetro se establece de forma incorrecta.

3.4.6 Influencia del color

	Partículas esféricas					
	Color Resolución			B&N Resolución		
	640x480	1024x768	2048x1536	640x480	1024x768	2048x1536
Nº coordenadas	77.55 ±0.33	115.44 ±0.06	225.36 ±3.05	75.10 ±0.14	112.72 ±0.14	224.99 ±1.65
Radio medio	546.39 ±0.34	549.29 ±0.56	531.24 ±0.75	530.81 ±0.24	536.00 ±0.11	525.34 ±1.78
Vr	5.71 ±0.05	4.75 ±0.06	4.32 ±0.08	5.52 ±0.05	4.95 ±0.05	4.34 ±0.01
Vp	6.10 ±0.17	5.98 ±0.08	7.09 ±0.22	5.52 ±0.29	6.05 ±0.10	6.55 ±0.11
e_r	0.57 ±0.004	0.55 ±0.001	0.55 ±0.002	0.57 ±0.005	0.56 ±0.001	0.55 ±0.001
	Partículas irregulares					
	Color Resolución			B&N Resolución		
	640x480	1024x768	2048x1536	640x480	1024x768	2048x1536
Nº coordenadas	90.01 ±0.32	134.07 ±0.16	266.53 ±2.91	89.65 ±0.58	133.93 ±0.24	270.09 ±1.34
Radio medio	607.10 ±0.04	611.41 ±0.31	595.38 ±2.83	604.87 ±1.69	609.42 ±0.27	601.06 ±2.39
Vr	15.08 ±0.004	14.89 ±0.001	15.34 ±0.22	15.23 ±0.13	14.99 ±0.01	14.97 ±0.24
Vp	9.99 ±0.007	10.62 ±0.14	11.33 ±0.21	10.09 ±0.06	10.59 ±0.20	11.45 ±0.28
e_r	0.28 ±0.001	0.25 ±0.001	0.24 ±0.009	0.26 ±0.008	0.25 ±0.002	0.24 ±0.008

Tabla 3: *Influencia del color y el B&N a diferentes resoluciones sobre algunos de los factores de forma. Datos indicados como media* ±SD.

Otro aspecto relevante es si el almacenamiento de las imágenes en formato de color real de 24 bit por píxel (RGB) o en escala de grises de 8 bit por píxel modifica de manera importante los valores de estos parámetros. A priori, teniendo en cuenta que se mantiene la información del brillo e intensidad de píxel y que lo único que se pierde es la

información del color, puede esperarse una mínima variación en estos valores. Para la realización de este experimento se utilizó nuevamente la cámara Olympus DP 12, empleando las resoluciones 640x480, 1024x768, y 2048x1536, con la que se fotografiaron 50 partículas esféricas y otras 50 irregulares en color y en escala de grises, mostrándose los resultados en la tabla 3.

Teniendo en cuenta los valores obtenidos es evidente que la eliminación de la información correspondiente al color produce mínimas diferencias en la estimación de los parámetros de forma.

3.4.7 Influencia del número de partículas medidas

Por último, para establecer el modo de operación adecuado en los estudios morfológicos de las partículas, es necesario determinar el número mínimo de partículas que deben emplearse para que la muestra sea representativa de la población. Para estimar el número mínimo de partículas es necesario tener en cuenta la variabilidad poblacional representada por la varianza muestral, y establecer las mínimas diferencias que pretenden detectarse estadísticamente entre dos poblaciones para un nivel de significación y de potencia establecido. De este modo, es posible calcular la diferencia mínima "∂" en función del número de partículas muestreadas "n", para un nivel de significación y potencia de 0.05 empleando la siguiente expresión (Walpole y col.,1998):

$$n \approx \frac{\left(z_\alpha + z_\beta\right)^2 \sigma^2}{\delta^2}$$

Para realizar estos cálculos, es necesario establecer la varianza muestral de las poblaciones que pretendemos estudiar. Para ello elegimos el lote de pelets, empleado en el capítulo 2 para establecer de forma práctica la utilidad de Vr y Vp, que presentaba la mayor dispersión poblacional para los valores de Vr, y Vp. Los resultados obtenidos muestran que con un tamaño muestral de 300 partículas, podrían ser detectadas diferencias entre medias de 1.25, y 0.73 para Vr y Vp respectivamente. Estos valores son claramente suficientes para realizar un análisis correcto de la morfología de las partículas.

3.5 CONCLUSIONES

Como algunos autores han comentado anteriormente, la influencia de ciertas variables tecnológicas como son la luz (bien sea por la posición de la fuente de iluminación, como por su intensidad), el valor umbral de grises, *threshold*, o el tamaño de píxel pueden condicionar de manera muy importante los valores de los parámetros empleados en el análisis morfológico de las partículas. Por esta razón es muy importante, antes de comenzar cualquier tipo de estudio, establecer las condiciones idóneas de medida para el equipo que se dispone. Además el avance en la fotografía digital y programas informáticos permite la posibilidad de almacenar las fotografías de las partículas en múltiples formatos, resoluciones y niveles de compresión de almacenamiento. El trabajo nos ha permitido constatar que no siempre la mejor solución es emplear la máxima resolución del equipo. En este sentido y empleando nuestro sistema de análisis fotográfico hemos podido constatar que empleando resoluciones medias y fotografías en modo de escala de grises se facilitan mucho etapas como: el establecimiento del *threshold y* de las coordenadas correspondiente al perímetro de las proyecciones de las partícula por parte del software de AI empleado.

BIBLIOGRAFÍA

Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J. 2004. Image analysis of the shape of granulated powder grains. *J. Pharm. Sci.* 93, (621-634).

Barret, P.J. 1980 The shape of rock particles, a critical review, *Sedimentology* 27, (291-303).

Cox, E.P. 1927. A method of assigning numerical and percentage values to the degree of roundness of sand grains. *J. Paleont.* 1, (179-183).

Exner, H.E., Link, E. 1977. Image analysis for characterization of size and shape distribution of load powders. *Pow. Met. Int.* 9, (131-133).

Hausner, H.H. 1966. Characterization of the powder particle shape. *Planseeberichte für pulvermetallurgie* 14, (75-84).

Lövgren, K., Lundberg, P.J. 1989. Determination of sphericity of pellets prepared by extrusion/spheronization and the impact of some process parameters. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (2375-2392).

Podczeck, F., Newton, M.J. 1995. The evaluation of a three-dimensional shape factor for the quantitative assessment of the sphericity and surface roughness of pellets, *Int. J. Pharm.* 124, (253-259).

Podczeck, F., Rahman, S.H., Newton, M.J. 1999. Evaluation of a standardised procedure to assess the shape of pellets using image analysis, *Int. J Pharm.* 19, (123-138).

S**chneiderhöhn, P.** 1954. Eine verleichende studie über methoden zur quantitativen bestimmung von abrundung und form an sandkörnern, *Heidelberger Beiträge zur Mineralogie und Petrographie* 4, (172-191).

Walpole, R.E., Myers, R.H., Myers, S.L. 1998. One and two sample test of hypotheses in *"Probability and stastatistics"*. Ed by Heath, A., New Jersey, pp 290-357.

Zingerman, J.P., Mehta, S.C., Salter, J.M., Radebaugh, G.H. 1992. Validation of a computerized image analysis system for particle size determination. Pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 88, (303-312).

Capítulo 4

Caracterización morfológica de partículas mediante AI (II): necesidad de homogenización de criterios

Enviada para su publicación

4.1 RESUMEN

El objetivo de este trabajo es poner de manifiesto la gran dificultad que plantea el hecho de comparar los resultados obtenidos por diferentes autores en el estudio de la forma de sistemas multiparticulares empleando métodos de análisis de imagen. En él se describen y discuten parte de los factores de forma que han sido empleados hasta este momento, sobre todo en la literatura farmacéutica. Partiendo de las fotografías obtenidas para 16 pelets, elaborados mediante extrusión-esferonización, que presentan diferentes formas, se ha intentado analizar la influencia que los diferentes modos de cálculo y el

empleo de diferentes software de análisis de imagen poseen sobre varios de los parámetros más empleados en la literatura. El análisis de los resultados permite ver la gran influencia que poseen sobre los resultados tanto los algoritmos empleados en el cálculo de los factores de forma, como el modo de estimación usado por los programas de AI para las principales dimensiones (como son el perímetro o los diámetros máximo y mínimo). Incluso, tal como se pone de manifiesto en el trabajo, si no se tienen en cuenta cuidadosamente el modo de determinación de estos factores, en algún caso pueden establecerse conclusiones erróneas, sobre todo si se pretenden comparar datos procedentes de diferentes laboratorios.

Palabras clave: análisis de imagen, forma, armonización, extrusión-esferonización, software.

4.2 INTRODUCCIÓN

Las propiedades morfológicas de las partículas desempeñan una papel crítico en el comportamiento de los sólidos pulverulentos y sistemas multiparticulares ya que influyen directamente sobre las diferentes etapas de fabricación y propiedades de las formas farmacéuticas elaboradas a partir de éstas. Esto es debido a la enorme influencia que la forma y geometría superficial de las partículas tienen sobre estos sistemas (Bergeron y col., 1986). Por esta razón, la caracterización morfológica de partículas es de una gran importancia en el campo de la Tecnología Farmacéutica.

Una de las primeras aproximaciones para caracterizar las dos principales variables morfológicas de las partículas, forma y tamaño, fue la combinación de técnicas como la tamización y su observación microscópica. Posteriormente, y como alternativa, surgieron las técnicas basadas en el análisis de imagen (AI), a través del cual se calculan una serie de parámetros cuya finalidad es relacionar la forma y tamaño de los pelets con una serie de variables tecnológicas. En 1996, Barber, publicó una excelente revisión sobre los aspectos técnicos de la caracterización morfológica de las partículas mediante AI.

Para desarrollar un método de AI es necesario emplear un sistema mínimo que consta de: un sistema óptico conectado a una cámara de vídeo o fotográfica encargada de enviar una parte del campo de visión a un sistema informático. El programa informático procesa y convierte la imagen en una imagen binaria a partir de la que mide y cuenta el número de píxeles que conforman el borde de la proyección de la partícula, y los multiplica por un factor de escala (calibración) obteniendo así el perímetro. De igual modo también cuenta los píxeles "atrapados" dentro de ese perímetro para calcular el área. Todo este proceso es llevado a cabo siempre en función del valor umbral mínimo de escala de grises establecido por el usuario. El cálculo de otro tipo de dimensiones como son los diámetros depende del programa de AI empleado. En general existen tres modalidades de trabajo (Barber 1996): a) recuento y determinación de las coordenadas de situación de los píxeles que componen la imagen binaria de la proyección de la partícula; b) trazado de las cuerdas radiales que pasan por el centro de masas de la partícula a diferentes ángulos que interceptan con el perímetro de la proyección; c) la última posibilidad consiste en que el programa mide diferentes diámetros de la partícula mientras va girando todas sus coordenadas (*callipering*), lo que permite establecer un mayor número de medidas que con el empleo de las cuerdas.

Basándonos en los conceptos descritos por Barrett en 1980 a la hora de realizar la caracterización morfológica de la forma de una partícula hay que tener en cuenta que ésta debe realizarse desde tres aspectos diferentes (figura 1). En primer lugar debe identificarse la proyección de la partícula con la forma geométrica original a la que más se asimile. En segundo lugar, el análisis morfológico debe incluir un examen de la redondez de la partícula que indique lo angulosos o suaves que son sus vértices, aristas y lados que forman los perfiles de la de la partícula. Finalmente debe definirse su textura superficial, entendiéndola como pequeñas rugosidades o irregularidades que afectan a nivel local sobre la superficie de la partícula. En definitiva, planteando el problema desde estos tres puntos de vista, junto con la determinación del tamaño podremos hacernos una idea muy aproximada de la morfología que la partícula posee realmente.

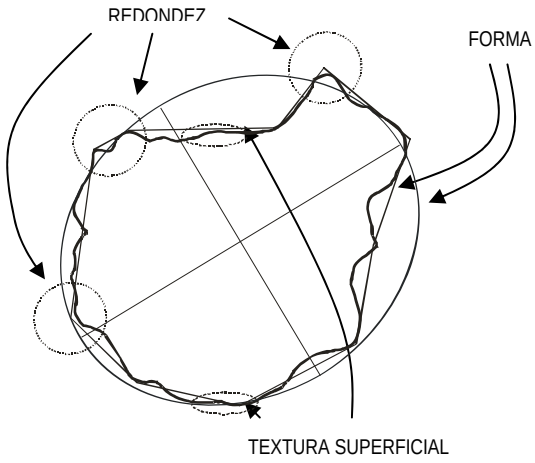


Figura 1: *Factores que deben tenerse en cuenta para la evaluación de la forma de la proyección de una partícula. Esquema basado en el de Barret (1980).*

Hasta este punto, la mayoría de los autores están de acuerdo, sin embargo, los problemas comienzan cuando se desea seleccionar el o los parámetros geométricos encargados de definir los tres aspectos morfológicos y establecer su cálculo. Si observamos detenidamente la bibliografía publicada sobre el tema, es fácil darse cuenta de la absoluta falta de homogeneidad en los parámetros geométricos propuestos para la evaluación morfológica. No solo por su cantidad, sino sobre todo por la confusión creada acerca de su definición, nominación y establecimiento de las ecuaciones para su cálculo (tabla 1). Esto hace muy difícil el establecimiento de límites operativos que permitan clasificar las partículas por su forma e imposibilita la comparación entre los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios. Este problema no es reciente ni afecta solamente al campo de la Tecnología Farmacéutica, de hecho las bases del desarrollo del análisis morfológico proceden en gran medida de otros campos como la geología o la metalurgia. Así Barret en 1980 ya puso de manifiesto la enorme confusión existente entre muchos de los parámetros empleados en el ámbito de la geología para el cálculo de la forma de partículas de roca y de su definición. En su revisión crítica, compara y comenta numerosos parámetros, basados la mayoría en estimaciones tridimensionales, evaluando su utilidad. Si bien los parámetros descritos en su mayoría nunca han sido utilizados en Tecnología Farmacéutica, el artículo pone de manifiesto idénticos problemas a los que se pretende describir en este trabajo.

Definición	Modificaciones	Nombre	Referencia
$\frac{4\pi A}{P^2}$	A: Área P: Perímetro	CIRCULARITY	Exner y col., 1977; Héllen y col., 1993a, PCImage[a]
		FORM FACTOR	Wan y col.,1993
		FACTOR SPHERICITY	Deasy y col., 1997.
		SHAPE FACTOR	SigmScapro[a]; ImageProPlus[a].
		APPEARANCE FACTOR	Awad y col., 2002.
		ROUNDNESS	Cox 1927; Wu y col., 2001
	x 100	ROUNDNESS	Linder y col., 1994
	Inverso	SHAPE FACTOR	Shah y col., 1995; Ramadan y col., 1990.
		SPHERICITY INDEX	Iyer y col., 1996
		ROUNDNESS FACTOR	Dasy y col., 1997
		SURFACE FACTOR	Hausner 1966
	Inverso x factor de digitalización: $\frac{P^2}{4\pi A}\times 0.9399;\ \frac{P^2}{4\pi A}\times\frac{1}{1.064};\ \frac{P^2}{4.256\pi A}$	ROUNDNESS	Junnila et al., 1996, Hileman y col., 1997; Neau y col., 1996, Neau y col., 2000, Rashid y col., 1999.
	P^2/A	COMPACNES	SigmaScanPro[a]
$\frac{D_{\max}}{D_{\min}}$	Dmax: Diámetro de Feret máximo Dmin: Diámetro de Feret mínimo	ELONGATION	Héllen y col., 1993a
		ASPECT RATIO	Kleinebudde 1995.
	Dmax: Diámetro de Feret máximo Dmin: Diámetro de Feret perpendicular a D_{max}	ASPECT RATIO	Schmidt y col., 1997, Eriksson y col., 1997
	R_1/R_2 R_1 Radio máximo R_2 Rádio mínimo	ROUNDNESS INDEX (E value)	Baert y col., 1992a, b y 1993, Vervaet 1996
		ELONGATION	Koo y col., 2001
	$\frac{l}{b}$ l: Longitud – distancia máxima entre 2 puntos del perímetro b: Anchura - distancia entre 2 puntos unidos por una línea perpendicular a la longitud, y que pasa por el punto medio de ese eje	ASPECT RATIO	Lövgren y col., 1989; Junnila y col., 1996
	$\frac{b}{l}$ l: Longitud – distancia máxima entre 2 puntos del perímetro b: Anchura - distancia máxima entre 2 puntos unidos por una línea perpendicular a la longitud	ASPECT RATIO	Schneiderhöhn. 1954; Podczeck y col., 1999
$\frac{2\pi \mathrm{Re}}{Pf}\sqrt{1-\left(\frac{b}{l}\right)^2}$	Re: Distancia media entre centro de masas y el perímetro, medido cada 1 ó 5 grados f: 1.008-0.231[1-(b/l)].	e_r	Podczeck y col., 1994 , 1999
$\frac{P}{cP}-\sqrt{1-\left(\frac{1}{AR}\right)^2}$	P: Perímetro cP: Convexo perímetro AR: Relación de aspectos	e_r	Junnila y col., 1998
$A/\pi\times R_{\max}^2$		ROUNDNESS	Koo y col., 2001
$\frac{P}{cP}$		ROUGHNESS	Héllen y col., 1993a, Junnila y col., 1996

$\frac{P}{\pi D_{max}}$	D_{max}: Diámetro máximo o 2 x radio máximo	PELLIPS	Héllen y col., 1993a, Koo y col., 2001
$\frac{A}{D_{min} D_{max}}$	D_{max}: Diámetro máximo D_{min}: Diámetro mínimo También -4 x radio máximo x radio mínimo-	RECTANG	Héllen y col., 1993a, Koo y col., 2001
$\frac{PD_{min}}{4A}$		MODELX	Héllen y col., 1993a.
$\frac{A}{\pi\left(\frac{D_{max}}{2}\right)}$		ROUNDNESS	Héllen y col., 1993a
$\sqrt{Area/cArea}$	cArea: Área convexa	FULLRATIO	Junnila y col., 1996
$Vr = \frac{\sum_{i=1}^{n} \frac{\lvert r_i - r_m \rvert}{r_m} \times 100}{n}$	r_m – Radio medio, r_i radio individual de cada uno de los n vectores establecidos entre las coordenadas del perímetro y el centro de la partícula	Vr	Almeida y col., 2004
$Vp = \frac{\lvert 2\pi r_m - P \rvert}{2\pi r_m} \times 100$	r_m – Radio medio, P- perímetro	Vp	Almeida y col., 2004

Tabla 1: *Algunos factores de forma que han sido utilizados en la caracterización morfológica de partículas. Ver como en muchos casos el mismo término es empleado con diferentes significados.*
[a] *Manuales de instrucciones de los correspondientes programas de AI.*

Además la confusión asociada a los parámetros se complica si tenemos en cuenta que un aspecto común a la mayor parte de los factores de forma, es su estrecha dependencia del modo de estimación y cálculo que emplee el programa de AI para la determinación de las principales dimensiones de las partículas. Además la gran mayoría de estos parámetros, han sido propuestos con el fin de evaluar lo cerca que se encuentra la forma de una partícula de la de una esfera perfecta. Por esta razón, y sin entrar en consideraciones sobre su eficacia la mayoría presentan el inconveniente de ser incapaces de identificar otras proyecciones de geometría diferente a la de un círculo.

Basándonos en lo expuesto, el objetivo de este trabajo es poner de manifiesto la absoluta falta de homogeneidad en la evaluación de la forma de partículas y plantear la necesidad de alcanzar unos criterios comunes mínimos que permitan universalizar estas técnicas y por lo tanto poder contrastar los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios.

4.3 MATERIALES Y MÉTODOS

4.3.1 Análisis de imagen

Para la caracterización morfológica de las partículas hemos empleado tres software de AI diferentes: PCImage VGA 24 (Foster Finlay Ass.), ImagePro Plus v4.5.0.29 (Media Cybernetics Inc.), SigmaScan Pro Image Analysis 5.0.0 (SPSS Inc.). En todos los casos para la obtención de las imágenes binarias a partir de las imágenes digitalizadas empleamos un valor umbral mínimo de grises prefijado (*threshold*) de 210.

4.3.2 Obtención de imágenes

Las imágenes de las partículas fueron obtenidas con un estéreomicroscopio Olympus SZ-CTN equipado con una vídeo cámara JVC TK-S350 y un sistema de iluminación de luz fría Olympus Europe Highlight 2000 que incide sobre la muestra de forma perpendicular sobre un fondo negro. Las imágenes analógicas fueron digitalizadas con una tarjeta de vídeo Matrox Comet, utilizando para ello el software PC Image VGA 24 (Foster Finlay Ass.).

4.3.3 Peletización

Se emplearon diferentes mezclas de excipientes y humectante para obtener pelets de características morfológicas diferenciadas. Los sólidos pulverulentos empleados fueron mezclados en una Turbula T2C durante 15 minutos. Para la humectación se recurrió a una malaxadora orbital Kenwood Chef Classic durante 15 minutos, empleando agua destilada como agente humectante. La extrusión se realizó con un extrusor Caleva modelo 10 (el diámetro de los orificios del tamiz fue de 1 mm.). La esferonización (de 100 g de extrundido) fue llevada a cabo con un esferonizador Caleva modelo 120 (2000 r.p.m., 15 minutos). Finalmente, los pelets fueron sometidos a un proceso de secado hasta alcanzar peso constante en una estufa Haraeus a 40°C.

4.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 1 podemos ver algunos de los parámetros basados en métodos de AI que han sido empleados hasta este momento para la caracterización de la forma de partículas por diferentes investigadores. Un análisis inicial permite constatar el elevado número de parámetros propuestos, sin embargo un vistazo mas detallado pone de manifiesto la similitud entre muchos de éstos que presentan idéntica base o bien son pequeñas modificaciones de la misma ecuación. Esta gran cantidad de factores y nombres empleados generan gran desconcierto a la hora de seleccionar un método de análisis morfológico basado en técnicas de AI. La confusión es tal que uno de los parámetros más empleados, conocido comúnmente como circularidad, aparece denominado con 6 nombres diferentes, que se amplían a 10 si incluimos pequeñas modificaciones en su cálculo que si bien darían lugar a valores numéricos diferentes, reflejan idénticos aspectos de la forma basados en la relación entre área y perímetro de la proyección de la partícula. Yendo aún mas lejos, alguno de los parámetros como la *roudness* aparecen definidos a partir de múltiples ecuaciones, que si bien en algún caso reflejan idénticos aspectos (similares a la circularidad) empleando ligeras variaciones en sus cálculos, en otros se calculan a partir de dimensiones más próximas a las utilizadas para la estimación de otros parámetros como la elongación y relación de aspectos o bien a partir de estimaciones de dimensiones totalmente diferentes a éstos. Algo similar ocurre con los otros términos que figuran en la tabla como la elongación y relación de aspectos.

Basándonos en estos hechos, el primer problema importante que nos encontramos a la hora de emplear técnicas de análisis de imagen para la evaluación morfológica de partículas, es la selección del o de los parámetros más eficaces y que proporcionen la información más adecuada a nuestros estudios. Así por ejemplo, es diferente estudiar cuanto se acerca una forma a la de una esfera, a determinar cual es la forma básica de una partícula. La utilidad de uno u otro parámetro en principio depende principalmente del tipo de estudio planteado y del material que queramos evaluar. Así por ejemplo Chapman y col., 1988, muestran que la circularidad es incapaz de diferenciar pelets de distintas

formas, además Podczeck y col., 1999 llegan a la conclusión de que este parámetro no debería ser utilizado como un factor de forma para caracterizar partículas esféricas porque errores en el reconocimiento de las imágenes pueden influir de manera notable en la aplicación de este factor. Lógicamente esto debe ampliarse a todos los factores basados en la relación perímetro/área que figuran en la tabla 1 independientemente de su denominación o pequeñas modificaciones en el cálculo. Estos autores además indican que para estos casos es preferible emplear parámetros como AR o e_r.

Sin embargo, la selección del parámetro más adecuado es sólo una pequeña parte de los problemas que van presentarse. Una vez nos decantamos por uno de los factores de forma, es necesario definir perfectamente las dimensiones y ecuación que vamos a emplear para su cálculo. Para poner de manifiesto las dificultades que podremos encontrarnos en este punto, hemos seleccionamos 16 pelets individuales de diferentes formas, elaborados mediante extrusión esferonización. Las proyecciones digitalizadas de las partículas (figura 2) fueron obtenidas empleando el equipo descrito en materiales y métodos, y se estimaron las principales dimensiones de estas proyecciones empleando para ello tres software de AI. En la tabla 2, mostramos algunas de las dimensiones más relevantes determinadas para las partículas. En base a estas estimaciones se calcularon los diferentes parámetros de forma que comentaremos a continuación, empleando algunas de las expresiones descritas en la bibliografía.

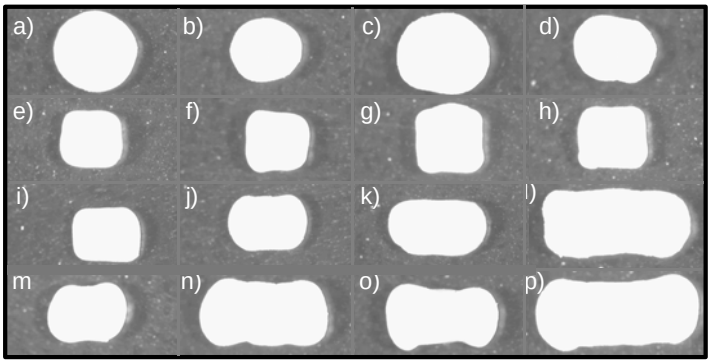


Figura 2: *Imágenes captadas mediante el sistema de AI de partículas de diferente forma obtenidas mediante extrusión esferonización.*

Parámetros			Proyecciones							
			A	B	C	D	E	F	G	H
Área (mm^2)	Sigmascan		1.106	0.756	1.578	0.938	0.673	0.725	0.900	0.848
	PCImage		1.106	0.755	1.576	0.937	0.676	0.724	0.899	0.847
	ImagePro		1.106	0.756	1.578	0.938	0.677	0.725	0.900	0.848
Perímetro (mm)	Sigmascan		4.013	3.377	4.907	3.816	3.164	3.295	3.718	3.665
	PCImage		3.823	3.202	4.644	3.611	3.037	3.167	3.561	3.502
	ImagePro	1	3.723	3.103	4.485	3.49	2.975	3.101	3.489	3.419
		2	4.001	3.363	4.88	3.797	3.155	3.283	3.696	3.646
Longitud (mm)	Sigmascan		1.231	1.051	1.510	1.217	1.013	1.044	1.190	1.180
	PCImage		1.227	1.047	1.518	1.217	1.010	1.043	1.189	1.176
	ImagePro		1.203	1.044	1.491	1.206	0.910	0.933	1.141	1.011
Anchura (mm)	Sigmascan		1.184	0.921	1.317	0.948	0.988	1.045	1.173	1.147
	PCImage		1.180	0.914	1.328	0.942	0.979	1.039	1.168	1.133
	ImagePro		1.163	0.917	1.303	0.947	0.843	0.908	1.126	0.912
Feret medio (mm)	Sigmascan		1.186	0.981	1.418	1.093	0.926	0.961	1.071	1.039
	PCImage		1.198	0.991	1.430	1.117	0.938	0.982	1.095	1.066
	ImagePro		1.185	0.984	1.426	1.109	0.945	0.986	1.108	1.084
R_{max} (mm)[a]	PCImage		0.624	0.526	0.766	0.617	0.507	0.532	0.598	0.594
	ImagePro		0.614	0.526	0.765	0.609	0.507	0.534	0.602	0.596
R_{min} (mm)[b]	PCImage		0.564	0.442	0.610	0.442	0.407	0.417	0.464	0.429
	ImagePro		0.564	0.447	0.613	0.448	0.410	0.417	0.472	0.434
D_{max} (mm)[c]	ImagePro		1.216	1.043	1.505	1.208	1.006	1.035	1.185	1.173
D_{min} (mm)[d]	ImagePro		1.151	0.904	1.280	0.910	0.824	0.840	0.962	0.88

Parámetros			Proyecciones							
			I	J	K	L	M	N	O	P
Área (mm^2)	Sigmascan		0.715	0.805	0.997	1.920	0.839	1.594	1.281	2.131
	PCImage		0.714	0.804	1.006	1.917	0.837	1.591	1.279	2.127
	ImagePro		0.715	0.805	1.008	1.920	0.839	1.594	1.281	2.131
Perímetro (mm)	Sigmascan		3.292	3.543	4.091	6.021	3.625	5.324	4.910	6.198
	PCImage		3.176	3.375	3.869	5.783	3.449	5.097	4.674	6.439
	ImagePro	1	3.114	3.301	3.788	5.603	3.375	4.978	4.537	6.056
		2	3.280	3.536	4.037	6.009	3.607	5.307	4.888	6.427
Longitud (mm)	Sigmascan		1.099	1.151	1.437	2.176	1.196	1.867	1.643	2.375
	PCImage		1.095	1.147	1.428	2.174	1.193	1.864	1.645	2.373
	ImagePro		1.005	1.141	1.430	2.144	1.169	1.863	1.639	2.364
Anchura (mm)	Sigmascan		0.990	0.847	0.852	1.181	1.009	1.021	1.189	1.201
	PCImage		0.926	0.809	0.809	1.005	0.939	0.979	0.962	1.048
	ImagePro		0.811	0.802	0.815	1.023	0.900	0.975	0.962	1.040
Feret medio (mm)	Sigmascan		0.954	1.012	1.127	1.564	1.033	1.425	1.277	1.165
	PCImage		0.975	1.038	1.190	1.740	1.065	1.546	1.410	1.888
	ImagePro		0.989	1.047	1.204	1.774	1.069	1.574	1.427	1.918
R_{max} (mm)[a]	PCImage		0.555	0.581	0.721	1.108	0.601	0.944	0.843	1.190
	ImagePro		0.554	0.575	0.719	1.09	0.600	0.936	0.849	1.192
R_{min} (mm)[b]	PCImage		0.374	0.378	0.380	0.447	0.386	0.450	0.381	0.430
	ImagePro		0.379	0.388	0.386	0.452	0.39	0.449	0.385	0.439
D_{max} (mm)[c]	ImagePro		1.092	1.143	1.428	2.161	1.191	1.855	1.641	2.368
D_{min} (mm)[d]	ImagePro		0.774	0.782	0.791	0.952	0.79	0.915	0.778	0.915

Tabla 2: *Principales dimensiones de las partículas de la figura 2, obtenidas empleando diferentes software de AI y modos de estimación.*
[a] Radio máximo. [b] Radio mínimo. [c] Diámetro máximo. [d] Diámetro mínimo.

Quizás el parámetro más significativo en donde podemos ver de forma más clara la necesidad de establecer con rigor las dimensiones y ecuaciones empleadas para su

cálculo es la elongación también denominado generalmente como relación de aspecto (AR). Este factor básicamente nos relaciona las dimensiones máximas y mínimas de la proyección de una partícula.

Sin embargo dependiendo de cual sea el parámetro utilizado para definir estas dimensiones máximas y mínimas y el modo empleado para su estimación y cálculo, podremos obtener resultados muy diferentes (figura 3). En la tabla 3 se muestran los valores de AR o elongación obtenidos para las proyecciones de las partículas de la figura 2, estimados a partir de los resultados obtenidos con los tres software de AI, así como los calculados por uno de los programas empleando diferentes medidas de las longitudes máximas y mínimas. Tal como se aprecia, los resultados obtenidos dependen de la morfología de la partícula y del modo de cálculo del parámetro. Si observamos las tres primeras columnas, vemos que para las partículas con proyecciones circulares, elípticas o incluso cercanas al cuadrado, apenas existen diferencias entre los valores de AR obtenidos para cada una empleando los tres software de AI, sin embargo a medida que las proyecciones se vuelven más alargadas e irregulares, comienzan a obtenerse valores de este factor significativamente diferentes dependiendo del programa (ej. a partir de la forma H en adelante). Las diferentas se deben sobre todo a la diferente forma de determinar la anchura ya que aunque la definición de longitud también difiere de un

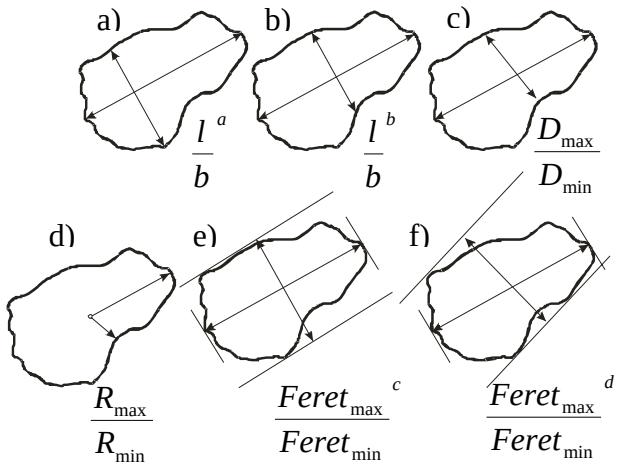


Figura 3: *Esquema de cuatro diferentes formas de cálculo del parámetro denominado normalmente elongación o relación de aspectos: a) b (anchura) – distancia máxima entre dos puntos del perímetro unidos por una línea perpendicular a la longitud (l); b) b (anchura) - distancia entre dos puntos del perímetro unidos por una línea perpendicular a la longitud (l) y que pasa por el punto medio de ésta última; c) diámetro de Feret mínimo perpendicular al diámetro de Feret máximo; d) en este caso el diámetro mínimo de Feret no es necesario que sea perpendicular al máximo.*

software a otro, en esencia los valores numéricos estimados son más parecidos. El Sigmascan determina la longitud como la distancia máxima entre dos puntos del perímetro, y la anchura como la distancia máxima entre dos puntos del perímetro unidos por una línea perpendicular a la longitud (Figura 3a). El ImagePro calcula la longitud como el diámetro de Feret del eje mayor de la proyección de la partícula, y la anchura como el diámetro de Feret del eje menor de la proyección (Figura 3e), por último, el PCImage determina la longitud como la cuerda máxima de la partícula independientemente de la orientación pero que pasa por el centro del área, y la anchura como una proyección ortogonal a la longitud de la proyección del objeto (Figura 3b). En estas condiciones si las proyecciones son regulares los valores de anchura coinciden para los tres modos de cálculo por lo que los valores de AR son similares. Sin embargo la presencia de irregularidades provoca que estas medidas difieran significativamente, dando lugar a diferencias en el AR que serán tanto mayores cuanto más irregular sea el perímetro de las proyecciones.

Imagen	Relación de aspecto o elongación					
	Long./anch.[a]	Long./anch.[b]	Long./anch.[c]	D_{max}/D_{min}[c]	$Feret_{max}/Feret_{min}$[c]	R_{max}/R_{min}[c]
A	1.04	1.04	1.03	1.06	1.06	1.08
B	1.14	1.15	1.14	1.15	1.15	1.18
C	1.15	1.14	1.14	1.18	1.16	1.25
D	1.28	1.29	1.27	1.33	1.29	1.36
E	1.03	1.03	1.08	1.22	1.24	1.24
F	1.00	1.00	1.03	1.23	1.16	1.28
G	1.01	1.02	1.01	1.23	1.19	1.28
H	1.03	1.04	1.11	1.33	1.29	1.37
I	1.11	1.18	1.24	1.41	1.38	1.46
J	1.36	1.42	1.42	1.46	1.41	1.50
K	1.69	1.76	1.75	1.79	1.75	1.85
L	1.84	2.16	2.07	2.23	2.10	2.40
M	1.19	1.27	1.30	1.51	1.37	1.54
N	1.83	1.90	1.91	2.03	1.90	2.08
O	1.38	1.71	1.70	2.11	1.71	2.21
P	1.98	2.26	2.27	2.59	2.18	2.71

Tabla 3: *Valores de elongación o relación de aspectos obtenidos empleando diferentes dimensiones máximas y mínimas de las partículas de la figura 2.*
[a] *calculado con PC Image.*
[b] *calculado con SigmaScan.*
[c] *calculado con Image Pro Plus.*

Sin embargo, si tenemos en cuenta otros modos de cálculo establecidos en la bibliografía para la elongación o AR estas diferencias se acentúan. En las cuatro últimas columnas de la tabla 3 observamos los valores obtenidos para este factor de forma empleando algunas de las diferentes relaciones descritas, a partir de las dimensiones de las proyecciones determinadas con el software ImagePro. En este caso observamos como los valores de AR sólo coinciden para las formas más circulares (imágenes A y B), obteniéndose valores diferentes para el resto de las formas.

Pese a que por las dimensiones que se utiliza en su estimación cabe pensar que no se producirán estas variaciones, el cálculo de la circularidad o de sus parámetros análogos está también muy influenciado por el modo de estimación. En este caso, las diferencias entre los valores de circularidad estimados por los diferentes programas dependen exclusivamente de la forma de cálculo del perímetro, ya que todos estiman el área de manera similar, de forma que sólo depende del nivel umbral de grises (*threshold*) seleccionado para transformar la imagen digitalizada en una imagen binaria de dos colores. Los programas de AI calculan el área de una forma muy sencilla, sobre la imagen binaria asignan valor “cero” a un color y “uno” al otro color, contando el número total de píxeles con el valor asociado de cero o de uno, que finalmente se multiplica por un factor de escala (calibración). En estas condiciones, empleando idénticos niveles de *threshold*, obtendremos valores de área similares aunque utilicemos diferentes software. Este hecho se ve confirmado tras la observación de los resultados obtenidos para las 16 proyecciones, en donde se aprecia que para cada partícula individual se obtienen idénticos valores de área a partir de los 3 software de AI empleados (tabla 2). Sin embargo, donde si se obtienen valores netamente diferentes es para el perímetro, ya que cada programa emplea diferente metodología para su estimación. Incluso algunos de ellos, como por ejemplo el Image Pro, propone diferentes perímetros estimados de modos diferentes, sin incluir otro tipo de perímetros alternativos como el *convex perimeter* o el perímetro equivalente de una elipse. En la figura 4 se esquematiza la base de las diferencias de cálculo empleada por los tres software utilizados. De forma simplificada, el Image Pro determina el perímetro 1 estimando la suma de las distancias entre el centro de coordenadas de los

píxeles adyacentes que constituye el perímetro de la proyección, el SigmaScan por el contrario determina estas distancias por la parte exterior de los píxeles, por lo que proporciona valores de perímetro ligeramente superior y cuyas diferencias con el anterior dependerán del tamaño de píxel utilizado. Por último el PCImage y el Image Pro en su *perimeter 2* realizan un suavizado de la superficie para contrarrestar el efecto del pixelado probablemente empleando un factor de corrección de manera similar al método utilizado por Junnila y col., 1996, Hileman y col., en 1997; Neau y col., en 1996 y 2000, o Rashid y col., en 1999.

La importancia del modo de estimación del perímetro sobre los valores de circularidad queda reflejada en la tabla 4, donde se aprecia que para una partícula que proporciona una proyección muy cercana a la de un círculo, como es el caso de la microfotografía A, se obtienen valores de circularidad comprendidos entre 0.99 y 0.87 dependiendo del perímetro empleado. Hay que tener en cuenta que estas diferencias en la circularidad son similares a las que presentan partículas muy circulares como la A y otras muy elípticas o cilíndricas como la K empleando el mismo software, Ej. ImagePro Plus con perímetro 1.

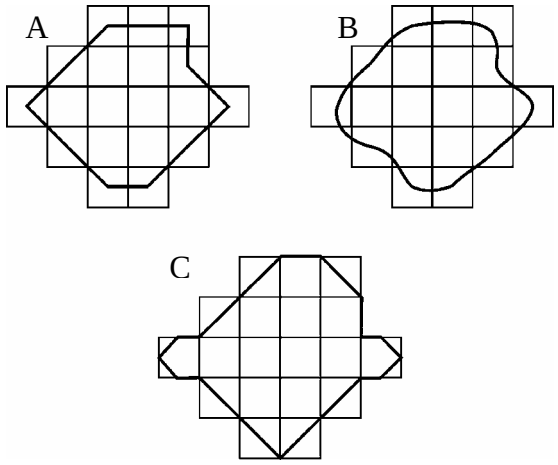


Figura 4: *Esquema del modelo de estimación empleado para la cálculo del perímetro de una partícula a partir de su proyección digitalizada. a) Image Pro (perimeter1), b) PCImage e Image Pro (perimeter 2); c) Sigmascan.*

Las grandes diferencias encontradas entre los distintos modos de cálculo del AR y circularidad son suficientes para inducirnos a errores y crear gran confusión. Una prueba de ello son los comentarios realizados por Podczeck y col., en 1999, en donde cuestionan los límites de AR y circularidad propuestos por varios autores para considerar una partícula como esférica. En este artículo y basándose en su

experiencia indican que el valor límite de AR para considerar pelets adecuadamente esféricos debe fijarse en 1.1 y que los valores anteriormente propuestos por otros autores de 1.2 (Baert y col., 1992a,b y 1993; Vervaet y col., 1994, 1996) o de 1.55 Hellén y col., 1993a son muy elevados e indicativos de baja esfericidad. Sin embargo para realizar estas afirmaciones, Podczeck y col., 1999 no tienen en cuenta las diferencias en las ecuaciones empleadas por cada autor para el cálculo de estos parámetros. Así, Baert y col., (1992 y 1993) calculan lo que ellos denominan *Roudness index* o *E value* como la relación entre el radio mayor y el menor estimado manualmente a partir de fotografías de

Proyecciones	CIRCULARIDAD			
	PCImage	SigmaScan	ImagePro	
			Perímetro 1	Perímetro 2
A	0.95	0.94	0.99	0.87
B	0.93	0.88	0.98	0.84
C	0.92	0.87	0.98	0.83
D	0.90	0.81	0.96	0.82
E	0.92	0.84	0.95	0.85
F	0.91	0.85	0.94	0.85
G	0.89	0.81	0.92	0.83
H	0.87	0.78	0.90	0.80
I	0.89	0.76	0.92	0.84
J	0.89	0.78	0.92	0.81
K	0.85	0.62	0.88	0.78
L	0.72	0.52	0.76	0.67
M	0.88	0.75	0.92	0.81
N	0.77	0.58	0.80	0.71
O	0.74	0.60	0.78	0.67
P	0.70	0.48	0.72	0.65

Tabla 4: *Valores de circularidad de las partículas de la figura 2 estimadas a partir de los diferentes valores obtenidos con los tres programas de AI.*

partículas, Vervaet y col., 1994 sin embargo empleando la misma denominación utilizan la relación entre el diámetro mayor y mínimo medidos en la proyección. Por último Podczeck y col., 1994 utilizan la relación entre la longitud (longitud de la elipse) y la mayor distancia perpendicular al eje de la longitud (anchura de la elipse) que es básicamente similar al modo de cálculo utilizado por el software Sigmascan. Está claro, a

la vista de los resultados mostrados en la tabla 2 y 3, que para una misma partícula los valores que pueden obtenerse de AR empleando estos tres métodos de cálculo pueden variar en un margen amplio de valores que incluye variaciones entre los límites comentados de 1.1 ó 1.2.

De manera similar, Podczeck y col., en el mismo artículo ponen en duda el valor de circularidad (0.88) que Hellén y col., 1993a aceptan como esfericidad; el de Wan y col., (0.93, 1993) o la inversa del valor de la circularidad de 1.2 que se equivale con una circularidad de 0.83, como valor límite para una redondez aceptable (Hileman y col., 1997). Para apoyar su tesis, basan su razonamiento en tres proyecciones de partículas, un círculo de AR y circularidad 1 y dos elipses una con un valor de AR de 1.2 y otra con un

Partícula [a]	CIRCULARIDAD				
	Hellén y col., 1993b	Image Pro Perímetro1	Image Pro Perímetro2	SigmaScan	PCImage
A	0.61	0.68	0.61	0.61	0.65
B	0.79	0.81	0.73	0.73	0.77
C	0.84	0.89	0.79	0.79	0.84
D	0.88	0.93	0.83	0.83	0.90
E	0.89	0.98	0.87	0.87	0.95
F	0.88	0.99	0.88	0.88	0.97

Tabla 5: *Comparación de los valores del parámetro circularidad obtenidos por Hellen and Yliruusi y los obtenidos con los tres software para las imágenes digitalizadas de las partículas.*
[a] datos obtenidos a partir de las digitalizaciones de las fotografías de la figura 2 proporcionadas por Hellén y col., 1993b. Para ello, se procedió a escanearlas con un escáner plano de sobremesa HP Scanjet 5p a 300x300 ppp.

valor de circularidad de 0.90 (estimados según su modo de cálculo). De nuevo, en la discusión de resultados no tiene en cuenta las posibles diferencias empleadas en el cálculo del perímetro de las partículas, ni las particularidades de las ecuaciones utilizadas para determinar la circularidad (por ejemplo Hielman y col., l997 calculan el factor que denominan “roundness” como el inverso de la circularidad modificada con un factor de corrección de 0.9399 para corregir en el perímetro el efecto de la pixelización producido en la digitalización de la imagen. Apoyándonos en los resultados obtenidos en la tabla 4 podemos afirmar que parte importante de las diferencias entre los valores citados, pueden

deberse a los modos de cálculo del perímetro utilizados por diferentes sistemas de AI y no a verdaderas diferencias de criterios entre los autores sobre la forma o aspecto ideal de las partículas. Por otra parte, Hellén y col., 1993b no afirman que esos valores sean límites indicativos de esfericidad. De hecho estos autores, evaluando la forma de 6 pelets individuales indican que la circularidad no es muy adecuada para evaluar la forma ya que es incapaz de distinguir entre los tres pelets más esféricos, pero nunca indican cual de estos tres se consideraría esférico.

Para comprobar y justificar la validez de estas afirmaciones, nos propusimos determinar los valores de circularidad de los seis pelets utilizados por Hellén y col., 1993b en su estudio y para ello procedimos a escanear las imágenes binarias publicadas de estos pelets (parte II de la serie). Para ello empleamos un escáner de sobremesa HP Scanjet 5p en modo de escala de grises, empleando una resolución de 300 x 300 ppp. A partir de estas imágenes calculamos la circularidad empleando los tres software de AI. Los resultados (tabla 5) muestran como dependiendo del perímetro empleado podemos obtener valores de circularidad para una misma partícula de 0.88 o de 0.99. El caso del límite 1.2 propuesto por Hileman y col., 1997 para su "roundness" es diferente ya que teniendo en cuenta el factor de corrección del proceso de digitalización, este límite se equivaldría a una circularidad de 0.78 (no 0.83 como afirma Podczeck) que en nuestro caso y tomando el valor de circularidad estimado con el SigmaScan, que es el software que proporciona valores menores de circularidad, equivaldría a la obtenida para la partícula J de la figura 1, bastante alejada de la forma circular. Sin embargo habría que conocer el modo de estimación del perímetro para poder tener conclusiones válidas.

En esta última etapa del trabajo nos propusimos evaluar la influencia del software de AI empleado para los parámetros de forma propuestos más recientemente. Nos referimos al e_r propuesto por Podczeck y col., 1994 y su variante utilizada por Junnila y col. 1998 y el Vr y Vp propuesto recientemente por nuestro grupo de investigación.

Comenzaremos a analizar los resultados obtenidos para las partículas de la figura 1 y que están reflejados en la tabla 6. Para calcular el parámetro e_r empleamos tanto el perímetro, "*convex perimeter*" como la longitud y anchura estimada por cada programa.

En el caso del radio medio, este fue determinado para el Sigmasca Pro y el Image Pro plus como la media de las distancias entre las coordenadas de los píxeles que definen el perímetro y el centro de masas de la proyección de la partícula, y en el caso del PCImage se tomó el valor de radio medio que estima como la media de 64 valores de radio determinados en un número equivalente de orientaciones de la partícula. Tal como se observa, la diferencia entre los valores de e_r estimados de los diferentes modos puede llegar a ser muy importante, si tenemos en cuenta los valores que de este parámetro se suelen obtener. Así, si empleamos el límite de 0.6 propuesto por sus autores como un

	e_r[a]				e_r[b]			Vr		Vp				
	SScan	IP 1[c]	IP 2[d]	PCI	IP 1	IP 2	PCI	SScan	IP	Sscan 1[e]	Sscan 2[f]	IP 1	IP 2	PCI
A	0.66	0.74	0.67	0.70	0.74	0.82	0.73	1.50	1.47	7.34	7.03	0.30	7.78	2.85
B	0.45	0.49	0.42	0.50	0.53	0.61	0.53	4.16	3.90	9.26	7.55	1.01	9.47	4.36
C	0.42	0.48	0.41	0.49	0.52	0.60	0.53	5.17	5.01	9.92	8.24	0.81	9.69	4.65
D	0.31	0.32	0.24	0.36	0.38	0.47	0.39	8.03	7.71	10.75	8.56	0.98	10.47	5.51
E	0.68	0.59	0.53	0.73	0.63	0.69	0.79	5.14	4.52	8.41	6.97	0.63	6.70	4.83
F	0.83	0.74	0.68	0.90	0.77	0.83	0.96	5.93	5.09	8.92	8.08	0.90	6.80	5.63
G	0.72	0.80	0.75	0.77	0.84	0.90	0.84	5.86	5.78	10.36	9.06	2.47	8.53	6.45
H	0.62	0.50	0.44	0.69	0.57	0.64	0.78	7.23	7.28	11.98	12.13	2.73	9.34	7.77
I	0.40	0.33	0.28	0.52	0.41	0.46	0.57	8.87	7.59	9.24	8.07	1.48	7.46	6.37
J	0.24	0.18	0.12	0.31	0.29	0.36	0.33	11.72	9.77	10.85	10.30	1.04	7.22	6.58
K	0.12	0.06	0.00	0.21	0.18	0.25	0.20	17.72	15.52	13.82	10.55	0.73	7.36	8.12
L	0.02	0.10	0.15	0.13	0.13	0.20	0.19	26.74	22.12	24.82	22.74	5.28	12.91	14.56
M	0.31	0.27	0.21	0.43	0.37	0.44	0.47	10.97	9.67	11.35	9.71	2.85	9.95	6.65
N	0.05	0.04	0.09	0.15	0.15	0.22	0.18	22.36	21.24	20.34	19.42	6.16	13.17	12.37
O	0.05	0.01	0.05	0.23	0.20	0.28	0.34	22.61	20.91	20.02	17.96	8.82	17.24	15.01
P	0.06	0.12	0.17	0.10	0.11	0.17	0.15	29.28	23.54	22.78	21.26	5.00	11.43	15.67

Tabla 6: *Valores de e_r, Vr y Vp obtenidos para las partículas de la figura 2 empleando diferentes modos de cálculo.(SScan: SigmaScan; IP: ImagePro Plus; PCI: PC Image).*
[a] *calculado con la ecuación propuesta por Podczeck y col., 1994.*
[b] *calculado con la modificación introducida por Junnilla y col., 1998.*
[c] *estimado empleando el perímetro 1 del ImagePro Plus.*
[d] *estimado empleando el perímetro 2 del ImagPpro Plus.*
[e] *estimado a partir del perímetro que calcula el SigmaScan Pro.*
[f] *estimado a partir de la suma de las distancias existentes entre el centro de las coordenadas de los píxeles que conforman el perímetro de las proyecciones de la misma forma que el perímetro 1 del Image Pro Plus.*

valor adecuado para clasificar las partículas como adecuadamente esféricas vemos que según el modo de cálculo en varias de las partículas estableceríamos diferentes conclusiones. Por otra parte, tal como ya indicamos en el capítulo 2, si observamos todos los valores de e_r calculados, podemos ver que independientemente del modo de cálculo, este parámetro es extremadamente sensible a cambios en la relación de aspecto de las

partículas, por lo que disminuye de manera importante al evolucionar de esferas a elipses. Por el contrario, se confunde sistemáticamente en aquellas formas cuya relación l/b es próxima a 1, dando incluso valores superiores para proyecciones cuadradas procedentes de pequeños cilindros como es el caso de las formas F y G que para proyecciones circulares (forma a). Por último, las modificaciones en el cálculo propuestas por Junnila, dan lugar a un aumento sistemático de los valores de e_r con respecto al original aunque dependen también del software empleado.

Por último comentaremos los resultados obtenidos para el Vr y Vp. En este caso el Vr no pudo ser estimado con el PCImage ya que si bien el software es capaz de estimar hasta 64 valores diferentes del diámetro de una partícula, solo proporciona su media y no los valores individuales necesarios para el cálculo de Vr. Los resultados obtenidos muestran que los valores de Vr estimados con el SigmaScan Pro y el ImagePro Plus son muy parecidos no existiendo diferencias importantes salvo en partículas muy irregulares tal como es el caso de la P, aunque irrelevantes desde un punto de vista práctico. En ambos casos los radios se determinan a partir de las coordenadas estimadas para los píxeles que conforman el perímetro de la proyección, que depende sobre todo de la calidad de la imagen obtenida durante la etapa de elección del umbral en la escala de grises, por lo que los valores obtenidos son parecidos. Sin embargo existen pequeñas diferencias que tienen su origen

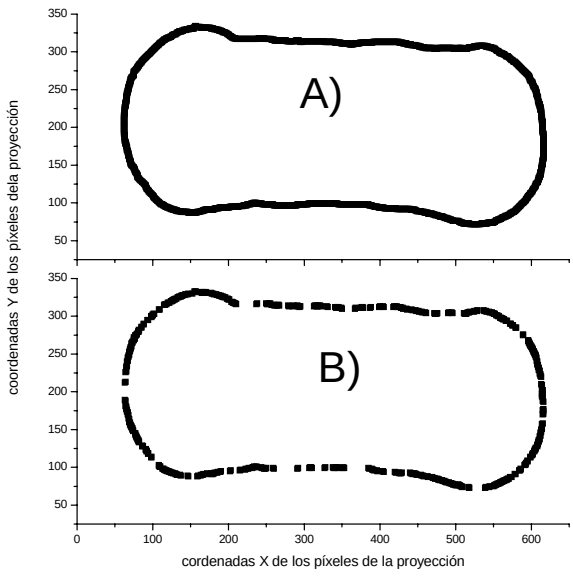


Figura 5: *Coordenadas correspondientes al perímetro de la partícula P estimada por A) SigmaScan y B) ImagePro Plus.*

en el diferente número de coordenadas estimadas por cada software (Ej Figura 5). Así, el SigmaScan estima y proporciona las coordenadas de todos los píxeles que conforman el perímetro (aproximadamente 1400 en la figura 5) mientras que el Image Pro Plus, elimina gran parte de ellos sobre todo aquellos que considera están en línea recta con sus píxeles contiguos (aproximadamente 500 en la figura 5). Estas diferencias no son importantes a la hora de estimar el Vr salvo en formas muy irregulares en donde se eliminen las coordenadas de forma sistemática (en determinadas zonas) y no homogéneas.

Sin embargo, para el segundo factor propuesto Vp si encontramos diferencias importantes entre los cálculos estimados a partir de los diferentes perímetros, si bien tomando de forma rigurosa la definición propuesta para su cálculo solo podríamos considerar el determinado por el modo dos con el SigmaScan y con el perímetro 1 del ImagePro Plus. Sin embargo es interesante compararlo con otros perímetros para evaluar su influencia. Como podemos observar los valores de Vp más parecidos se obtienen con los dos perímetros suministrados por el SigmaScan Pro y con los determinados con el perímetro 2 del ImagePro Plus salvo en las partículas más irregulares que presentan una relación de aspectos elevada. La razón de que se obtengan diferencias mínimas con los dos perímetros estimados por el SigmaScan se debe a la relación entre el tamaño de píxel y el de las partículas, que hace que influya muy poco el hecho de determinar las distancias por el centro o el exterior del píxel. En cuanto al ImagePro Plus las grandes diferencias observadas para las partículas más irregulares se deben al diferente número de coordenadas, sin embargo para la mayoría de las partículas este hecho apenas influye. Por último el PCImage y el perímetro 1 del ImagePro Plus da lugar a valores muy diferentes de los obtenidos con los tres modos anteriores.

4.5 CONCLUSIONES

A la vista de lo expuesto se pone de manifiesto la enorme variabilidad y la absoluta falta de criterios homogéneos en el establecimiento de una metodología adecuada para realizar los estudios morfológicos de partículas mediante técnicas de

análisis de imagen. La confusión y heterogeneidad es tal, que es imposible contrastar y comparar los resultados obtenidos entre diferentes laboratorios. Esto hace que si bien se estén publicando trabajos muy interesantes, sobre la influencia de la forma sobre las diferentes propiedades de las partículas, en los que se establecen interesantes conclusiones, debido a la heterogeneidad de factores empleados no puedan generalizarse ni integrarse los resultados.

Por lo tanto, en nuestra modesta opinión, pensamos que es necesario realizar un esfuerzo, tanto a nivel de diseñadores y programadores de software de AI, como de los investigadores que emplean esta metodología para establecer unas bases y criterios comunes, que permitan hacer de esta utilísima técnica de estudio una potente herramienta científica para evaluar los aspectos morfológicos y su influencia en las etapas de desarrollo de medicamentos.

BIBLIOGRAFÍA

Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J. 2004. Image analysis of the shape of granulated powder grains. *J. Pharm. Sci.* 93, (621-634).

Awad, G.A.S., Charrueau, C.A.A., Allain, P., Chaumeil, J.C. 2002. Formulation and evaluation of bioadhesive pellets containing different carbomers made by extrusion-spheronization. *STP Pharma. Sci.*12, (157-162).

Baert, L., Fanara, D., Remon, J.P., Massart, D. 1992a. Correlation of extrusion forces, raw materials and sphere characteristics. *J. Pharm. Pharmacol.* 44, (676-678).

Baert, L., Remon, J.P., Knight, P., Newton, J.M. 1992b. A comparison between the extrusion forces and sphere quality of a gravity feed extruder and a ram extruder. *Int. J. Pharm.* 86, (187-192).

Baert, L., Vermeersch, H., Remon, J.P., Smeyers-Verbeke, J., Massart, D.L. 1993. Study of parameters important in the spheronisation process. *Int. J. Pharm.* 96, (225-229).

Barber, T.A. 1996. Image analysis (Automated Microscopy) for particle analysis. in *"Liquid and surface borne particle measurement handbook"* Ed. by Knapp, J.Z., Barber, T.A.,, Lieberman, N.Y. pp61-112.

Barret, P.J. 1980. The shape of rock particles, a critical review. *Sedimentology* 27, (291-303).

Bergeron, M., Laurin, P., Tawashi, R. 1986. Effect of particle morphology in selecting pharmaceutical excipients. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 12, (915-926).

Chapman, S.R., Rowe, R.C., Newton, J.M. 1988. Characterization of the sphericity of particles by the one plane critical stability. *J. Pharm. Pharmacol.* 40, (503-505).

Cox, E.P. 1927. A method of assigning numerical and percentage values to the degree of roundness of sand grains. *J. Paleont.* 1, (179-183).

Deasy, P.B., Law, M.F.L. 1997. Use of extrusion-espheronization to develop an improved oral dosage form of indomethacin. *Int. J. Pharm.* 148, (201-209).

Eriksson, M., Alderborn, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 1997. Comparison between and evaluation of same methods for the assessment of the sphericity of pellets. *Int. J. Pharm.* 148, (149-154).

Exner, H.E., Link, E. 1977. Image analysis for characterization of size and shape distribution of load powders. *Pow. Met. Int.* 9, (131-133).

Hausner, H.H. 1966. Characterization of the powder particle shape. *Planseeberichte für pulvermetallurgie* 14, (75-84).

Hellén, L., Yliruusi, J. 1993a. Process variables of instant granulator and spheroniser: III. Shape and shape distributions of pellets. *Int. J. Pharm.* 96, (217-223).

Hellén, L., Yliruusi, J., Kristofferson, E. 1993b. Process variables of instant granulator and spheroniser: II. Size and size distributions of pellets. *Int. J. Pharm*. 96, (205-216).

Hileman, G.A., Upasdrashta, S.M., Neau, S.H. 1997. Drug solubility effects on predicting optimum conditions for extrusion and spheronization of pellets. *Pharm. Dev. Tech.* 2, (43-52).

Iyer, R.M., Augsburger, L.L., Pope, D.G., Shah, R.D. 1996. Extrusion/spheronization-Effect of moisture content and spheronization time on pellet characteristics. *Pharm. Dev. Tech.* 2, (325-331).

Junnila, R., Heinämäki, J., Yliruusi, J. 1998. Effects of surface-active agent on the size, shape and hardness of microcrystalline cellulose/maize starch pellets prepared by an extrusion/spheronization technique. *STP Pharma. Sci.* 8, (221-226).

Kleinebudde, P. 1995. Use of a power-consumption-controlled extruder in the development of pellet formulations. *J. Pharm. Sci*. 84, (1259-1264).

Koo, O.M.Y., Heng, P.W.S. 2001. The influence of microcrystalline cellulose grade on shape and shape distribution of pellets produced by extrusion-spheronization. *Chem. Pharm. Bull.* 49, (1383-1387).

Linder, H., Kleinebudde, P. 1994. Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, (2-7).

Lövgren, K., Lundberg, P.J. 1989. Determination of sphericity of pellets prepared by extrusion/spheronization and the impact of some process parameters. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (2375-2392).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Hileman, G.A., Durrani, J. 1996. Fabrication and characterization of extruded and spheronized beads containing Carbopol® 974 P, NF resin. *Int. J. Pharm.* 131, (47-55).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Hileman, G.A., Durrani, J., Gheyas, F., Evans, B.A. 2000. Formulation and process considerations for beads containing Carbopol® 947 P, NF resin made by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 199, (129-140).

Podczeck, F., Newton, J.M. 1994. A shape factor to characterize the quality of spheroids. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, (82-85).

Podczeck, F., Rahman, S.R., Newton, J.M. 1999. Evaluation of a standardised procedure to assess the shape of pellets using image analysis. *Int. J. Pharm.* 192, (123-138).

Ramadan, M.A., Tawashi, R. 1990. Effect of surface geometry and morphic features on the flow characteristics of microsphere suspensions. *J. Pharm. Sci.* 79, (929-933).

Rashid, H.A., Heinämäki, J., Antikainen, O., Yliruusi, J. 1999. Effects of process variables on the size, shape, and surface characteristics of microcrystalline cellulose beads prepared in a centrifugal granulators. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 25, (605-611).

Schmidt, C., Linder, H., Kleinebudde, P. 1997. Comparison between a twin-screw extruder and a rotary ring die press I. Influence of formulation variables. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 44, (169-176).

Schneiderhöhn, P. 1954. Eine vergleichende studie über methoden zur quantitativen bestimmung von abrundung und form an sandkörnern. Heidelb. *Beitr. Miner. Petrogr.* 4, (172-191).

Shah, R.D., Kabadi, M., Pope, D.G., Augsburger, L.L. 1995. Physico-mechanical characterization of the extrusion-spheronization process. Part II: Rheological determinants for successful extrusion and spheronization. *Pharm. Res.* 12, (496-507).

Vervaet, C., Baert, L., Risha, P.A., Remon, J.P. 1994. The influence of the extrusion screen on pellet quality using an instrumented basket extruder. *Int. J. Pharm.* 107, (29-39).

Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Influence of impeller design method of screen perforation and perforation geometry on the quality of pellets made by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 133, (29-37).

Wan, L.S.C., Heng, P.W.S., Liew, C.V. 1993. Spheronization conditions on spheroid shape and size. *Int. J. Pharm.* 96, (59-65).

Wu, J.S., Ho, H.O., Sheu, M.T. 2001. A statistical design to evaluate the influence of manufacturing factors on the material properties and functionalities of microcrystalline cellulose. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12, (417-425).

Capítulo 5

Mezclas de almidones y dextrinas en peletización mediante extrusión-esferonización

En prensa en el Eur. J. Pharm. Biopharm.

5.1 RESUMEN

En el campo de la peletización mediante extrusión-esferonización se emplea fundamentalmente la celulosa microcristalina (MCC) como componente mayoritario de las formulaciones, ya que da lugar a partículas de muy buena calidad. Cada vez son más los autores que proponen nuevos productos para la elaboración de estas partículas, aunque en la mayoría de los casos: son derivados de la celulosa (p. ej. diferentes grados de Avicel®), o bien son mezclados en distintos porcentajes con la celulosa microcristalina. En este trabajo planteamos la utilización de mezclas de almidones con productos como la

dextrina amarilla, dextrina blanca y almidón de maíz ceroso (*waxy*), como sustitutos de la celulosa microcristalina, en la fabricación de pelets, con el fin de dotar a éstos de propiedades más adecuadas para la obtención de ciertas formas de liberación de medicamentos. Para evaluar la utilidad de estos excipientes se procedió a la realización de un examen de sus propiedades morfológicas y reológicas. Posteriormente y empleando reología de torsión, se estudió el comportamiento de estos materiales y sus mezclas durante la etapa de granulación, estableciéndose las cantidades optimas de líquido de humectación. Adicionalmente y con la ayuda de otros métodos de estudio se intentó establecer la capacidad de captación de agua que presentan cada uno de los materiales propuestos. En base a los resultados obtenidos se fabricaron lotes de pelets con las distintas mezclas de excipientes, evaluando su morfología mediante técnicas de análisis de imagen. Los resultados mostraron que algunas de las mezclas seleccionadas (en concreto la formada por almidón y 20% de dextrina blanca) permiten la obtención, en ausencia de principios activos, de partículas de gran calidad, con una forma y tamaño muy adecuados. Además las diferentes propiedades de los materiales que fueron empleados en las mezclas, sugieren la posibilidad de obtener pelets con propiedades muy diferentes.

Palabras clave: peletización, extrusión-esferonización, reometría de torsión, almidones, dextrinas, análisis de imagen

5.2 INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la fabricación de pelets como formas multiparticulares, ha adquirido una enorme importancia debido a las múltiples ventajas tecnológicas y biofarmacéuticas que poseen. El principal excipiente utilizado en su preparación, es la MCC (Reynolds 1970; Connie y col., 1970). Esto es debido a que tras la etapa de humectación da lugar a masas con las propiedades plásticas necesarias para ser sometidas a procesos de extrusión y esferonización. En el momento en que se sustituye una gran cantidad de MCC por otro material, el intervalo de cantidades de agua necesaria para

obtener los pelets es menor, complicando el proceso, ya que aumenta la dificultad para poder controlar el tamaño y forma final de las partículas. A lo largo de los años se han presentado alternativas a la MCC en forma de diferentes derivados celulósicos: (Newton y col., 1992), recurriendo a diferentes grados de Avicel (pH101, pH102, pH103, pH105, rc501, rc581, rc591, cl611), Emocel, y Unimac (mg100, mg200); En 1996 Jover y col., emplean Avicel 955 para facilitar la producción de pelets con cargas elevadas de principio activo; Chatlapalli y col., 1998a utilizan hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), o hidroxietilcelulosa (HEC) como agentes mayoritarios en la extrusión, sustituyendo en la etapa de malaxado el agua por isopropil alcohol; o incluso Linder y col., 1994 recurren al uso de Elcema G 250, y Elcema P 100.

Sin embargo también aparecen alternativas a la MCC y derivados celulósicos con el ánimo de sustituirlos sino en su totalidad, si en parte. Por ejemplo: Tho y col., 2002a,b utilizaron pectinas; Gazzaniga y col., 1998 consiguen partículas con ocho partes de β-ciclodextrina y una de MCC; mientras que Villar-López y col., 1999 obtienen pelets en ausencia de MCC, únicamente con β-ciclodextrina; Zhou y col., 1996; Zhou y col., 1997; Zhou y col., 1998a,b emplean diferentes derivados de los almidones y ceras microcristalinas, aunque para la obtención de los pelets recurren a granuladores de alta velocidad y no a la extrusión-esferonización; Junnila y col., 1998 logran obtener pelets con un 67.5% de MCC y 30% de almidón de maíz, aunque ese porcentaje de almidón induce la aparición de defectos en la forma y superficie de las partículas. Posteriormente este mismo grupo de trabajo, Junnila y col., 2000, proponen el uso del maíz ceroso como coadyuvante para pelets producidos por extrusión-esferonización, afirmando que con él es posible llegar a sustituir un 40% en peso de la MCC, disminuyendo por lo tanto el precio de la formulación de forma considerable.

Dentro de la metodología empleada para conocer el comportamiento de los excipientes durante la etapa de granulación, se encuentra la reometría de torsión. Este método fue el empleado por varios autores para caracterizar el comportamiento de celulosas microcristalinas de diferentes grados, (Parker y col., 1991; Parker y col., 1992) y poder relacionarlo con sus propiedades físicas, (Luukkonen y col., 1999; Luukkonen y

col., 2001a, b; Rowe y col., 1987). Debido a las ventajas de la técnica, ésta ha sido empleada para optimizar las mezclas de excipientes y humectantes en los procesos de granulación (Hariharan y col., 2002; Janin y col., 1990; Schildcrout 1984) extrusión esferonización (Schildcrout 1984), y en otros procesos de peletización (Kristensen y col., 2000).

Por ello hemos seleccionado esta técnica como principal método de caracterización de nuestros materiales durante la etapa de malaxado (Chatlapalli y col., 1998b; Hancock y col., 1991; Hancock y col., 1992; Parker y col., 1990; Rowe y col., 1987). La caracterización puede realizarse a partir de dos parámetros fundamentales: la torsión media y la amplitud de la torsión (Hancock y col., 1994; Rowe y col., 1994). Empleando el máximo valor de la torsión media como referencia es posible calcular la cantidad de agua necesaria para llevar a cabo la extrusión (Chatlapalli y col., 1998b), o en su defecto estudiar el comportamiento esperado de las masas para valores de torsión cercanos al punto óptimo de agente humectante, como por ejemplo hacen Faure y col., 1999 en el caso de la granulación.

El objetivo de este trabajo será por lo tanto, la evaluación de los almidones y las dextrinas como sustitutos de la MCC para la elaboración de pelets mediante extrusión-esferonización. Estos excipientes presentan la ventaja de ser una materia prima mucho más barata que la MCC y presentan unas características diferentes por lo que pueden emplearse para la elaboración de formas de liberación con características diferentes a las obtenidas con la celulosa microcristalina.

5.3 MATERIALES Y MÉTODOS

5.3.1 Materiales

Los materiales empleados en la elaboración de partículas para este trabajo fueron: Avicel pH 101 suministrado por FMC. International; Almidón de maíz (AM) (Meritena 100); Almidón de trigo (AT) (Meritena 200); Maíz ceroso o *waxy* que no es más que almidón de maíz pregelatinizado y reticulado (WAM) (Merigel 341); Dextrina Amarilla

A-2000 (DA); Dextrina blanca (DB) y talco (T) (J. Escuder, Barcelona, España). Todos los almidones y dextrinas fueron proporcionados gratuitamente por Inigarbe s.l., Padrón (A Coruña, España).

El líquido de humectación empleado en todos los casos fue agua destilada.

5.3.2 Métodos

5.3.2.1 Caracterización de los sólidos pulverulentos

La estimación del tamaño de partícula se hizo a partir del rechazo obtenido en tamices de diferente apertura de malla (20 µm a 500 µm) colocados en cascada en un equipo Alpine 200LS-AC. El cálculo de las densidades reales de los materiales se llevó a cabo con un picnómetro de helio Micropycnometer MPY-2 (Quantachrome Corporation, Soysset, New York, EE.UU).

Las propiedades reológicas fueron estimadas por un lado mediante un equipo Powder Tester Hosokawa (Micron Corp) con el que se determinaron la densidad aireada, y la densidad de consolidación, a partir de las cuales se obtuvieron los valores de la compresibilidad. Además también se empleó una célula de cizalla rotacional ITP-RO-200 Automatic, para calcular el factor de flujo (FF) para cada uno de los materiales, a tres fuerzas normales distintas.

Todos los excipientes empleados fueron sometidos a un proceso de sombreado para poder ser fotografiados con un microscopio electrónico de barrido Leo Electron Microscopy 435 UP Ltd. (U.K.).

5.3.2.2 Estudios de humectación

Para estudiar el modo en que los materiales o sus mezclas se comportan con el agua se procedió de los siguientes modos: examinando la capacidad de captación de agua empleando para ello una máquina universal de caracterización de materiales; recurriendo a la reometría de torsión a través de los ensayos de adición múltiple y medidas de

consistencias; por último también se recurrió al cálculo de la capacidad de retención de agua propuesto por (Tomer y col., 1999 y 2001).

Para el cálculo de la captación de agua se utilizó una prensa de materiales Lloyd Instruments LR 5K conectada a una célula de carga NLC Lloyd Instruments de 5N de la que se colgó un pequeño recipiente con una muestra de 5 g para cada uno de los excipientes, ésta se puso en contacto con agua durante 10 minutos registrándose la ganancia de peso consecuencia de la captación de agua por parte del material (Otero-Espinar y col., 1998).

Para el cálculo de la capacidad de retención de agua de los materiales o de sus mezclas, se prepararon muestras a las que se adicionaron distintas cantidades de agua, procediéndose a su malaxado en un mortero. Las masas humectadas se incorporaron sobre un pequeño tubo que presentaba un filtro en su parte inferior (con un diámetro aproximado de 5 mm.). Esta pequeña cámara se introdujo en tubo de centrífuga, sobre el cual se recogió el agua extraída durante la centrifugación. Para ello se utilizó una centrífuga Sigma 2-15 durante 30 minutos a 3079 g (6020 r.p.m.). Tras secar hasta peso constante la masa en una estufa Haraeus, se calculó la capacidad de retención de agua (MRC) de dos formas distintas:

$MRC_{(LL)}$ = Wpost / Wpre

$MRC_{(LS)}$ = Wpost / Wpolvo

En donde $MRC_{(LL)}$ es la capacidad de retención de agua expresada como el cociente entre la cantidad de agua presente en la masa después de la centrifugación (Wpost), y la cantidad de agua presente en la masa antes de la centrifugación (Wpre); y $MRC_{(LS)}$ es la capacidad de retención de agua expresada como el cociente entre la cantidad de agua presente en la masa después de la centrifugación (Wpost), y la cantidad inicial de polvo presente en la mezcla (Wpolvo). Cada punto de las curvas obtenidas para $MRC_{(LS)}$ y $MRC_{(LL)}$ se realizaron 5 replicados.

Para llevar a cabo los ensayos de reometría de torsión, se utilizó un reómetro de torsión modelo Caleva Mixer Torque (Inglaterra) con el que se realizaron medidas de adición múltiple (para las mezclas de los diferentes excipientes utilizados, así como para

cada uno por separado) y consistencia de masas (sólo en los casos que fueron sometidos a un proceso de extrusión-esferonización). En el primer caso el tiempo de mezclado para una muestra inicial de 30 g y adiciones de 1.5 ml de agua fue de un minuto. En algunos casos fue necesario modificar la cantidad inicial del sólido ya que debido a su densidad no era capaz de cubrir completamente los brazos del reómetro, o bien el hinchamiento producido por la adición del agua, aumentaba su volumen provocando que la masa se saliera del reactor del reómetro en el cual tenía lugar el malaxado. La medida de la consistencia de masas se llevó a cabo únicamente en aquellas mezclas que se prepararon para obtener pelets, basándonos para ello en las medidas de torsión máxima obtenidas en los ensayos de adición múltiple. Las mezclas de sólidos se prepararon en una mezcladora en túrbula T2C durante 15 minutos. y, las masas humectadas se prepararon en una mezcladora orbital Kenwood chef classic empleando agua destilada como líquido de humectación, teniendo también una duración de 15 minutos y se introdujeron en bolsas de plástico herméticamente cerradas durante 24 horas para que el agua se distribuyese lo más homogéneamente posible. Todas las medidas realizadas en el reómetro de torsión, fueron repetidas por triplicado.

5.3.2.3 Extrusión-esferonización

La extrusión se realizó en un extrusor Caleva modelo 10 con un tamiz de 1 mm. de abertura de malla a 6 rpm. Posteriormente se esferonizaron 100 g del extrudido en un esferonizador caleva modelo 120 a 2000 rpm durante 15 minutos, dejando secar las partículas obtenidas en una estufa Heraeus hasta alcanzar peso constante. Cada una de las formulaciones se repitió por triplicado.

5.3.2.4 Análisis de imagen

El equipo empleado para estimar la forma y el tamaño de los pelets consta de un estéreomicroscopio Olympus SZ-CTV unido a una cámara de vídeo B&W JVC TK-350 y un equipo de luz fría Hihglight 2000 Olympus Europe que ilumina la muestra

perpendicularmente desde arriba y sobre un fondo negro. A partir de las fotos tomadas se calcularon los parámetros de forma Vr y Vp (Almeida-Prieto y col., 2004).

5.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.4.1 Caracterización física de los excipientes

En la tabla 1 quedan reflejados las principales características físicas de los materiales empleados para la realización de de este estudio. El Avicel pH101 y el WAM, parecen ser los sólidos que presentan un mayor tamaño medio con distribuciones menos homogéneas y formas más irregulares. Tal como se observa en las microfotografías obtenidas en el microscopio de barrido (figura 1) es patente la forma alargada y fibrosa típica de la celulosa, así como la irregular y angulosa del WAM. El resto de materiales presentan tamaños más pequeños y homogéneos con aspectos más suaves y regulares. Por supuesto, estos aspectos morfológicos de los materiales van a ejercer su influencia sobre las propiedades reológicas.

	Excipientes					
	Almidón de maíz	**Almidón de trigo**	**Almidón ceroso de maíz**	**Dextrina amarilla**	**Dextrina blanca**	**Avicel pH 101**
Tamaño (µm.)[a]	11.46±6.24	24.9±13.01	52.62±24.89	20.98±8.03	30.42±9.91	53.42±30.7
Densidad real (g/cc)[a]	1.513±0.032	1.530±0.083	1.481±0.022	1.534±0.05	1.520±0.05	1.563±0.06
Densidad de consolidación / Densidad aireada (g/cc) /(g/cc)	0.769/0.409	0.756/0.396	0.720/0.494	0.786/0.471	0.790/0.44	0.462/0.28
Compresibilidad (%)	46.81	47.62	31.32	40.08	43.78	38.83
Indice Hausner	1.88	1.9	1.45	1.66	1.77	1.63
Factor de flujo	2.89	5.82	7.51	4.96	7.87	5.64
Captación de agua (%)	69.4	48.3	26.4	8	49.2	244.0

Tabla 1: *Propiedades físicas básicas de los excipientes considerados en este estudio.*
[a] Media±desviación estándar (para seis determinaciones).

Salvo el WAM, que presenta valores ligeramente inferiores, todos los excipientes presentan densidades reales similares, aunque es el Avicel pH101 el que posee los valores más bajos para las densidades aireada y de consolidación. Sin embargo es el WAM el que pone de manifiesto una menor compresibilidad y mayor factor de flujo, indicando por lo tanto que es el excipiente que presenta mejores propiedades de flujo de los seis, aunque los valores obtenidos para todos ellos son característicos de materiales con flujo deficiente. A pesar de ello y de acuerdo con Chatlapalli y col., 1998a, estos valores de compresibilidad se encuentran dentro un intervalo aceptable para su utilización en la obtención de pelets densos y poco friables mediante extrusión-esferonización. Las diferencias existentes en la compresibilidad entre WAM y Avicel con respecto al resto de los almidones y dextrinas pueden estar relacionadas con el tamaño de las partículas, que hace que presenten mejores propiedades de flujo, al ser mayores.

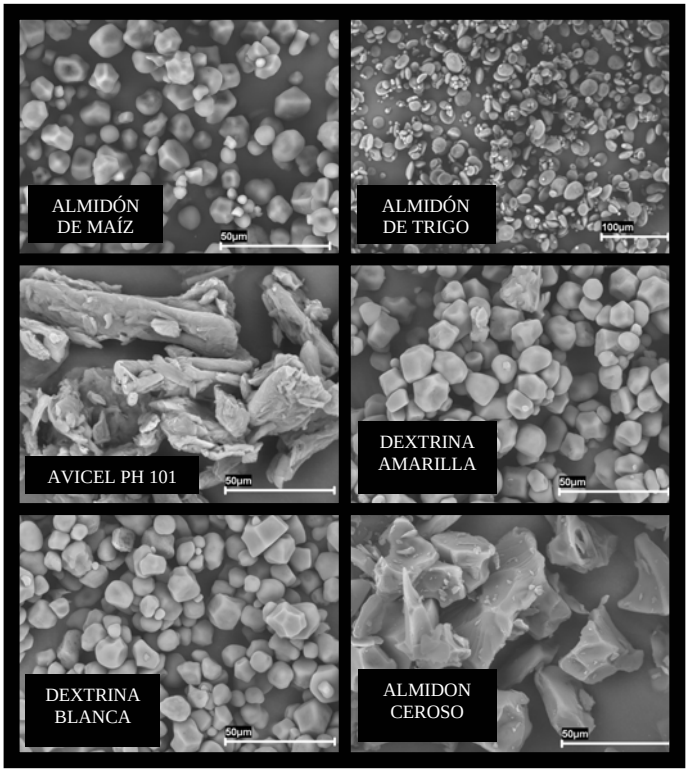


Figura 1: *Microfotografías de microscopía electrónica de barrido de los diferentes materiales empleados en este trabajo*

5.4.2 Capacidad de retención y absorción de agua de los diferentes excipientes.

En la última fila de la tabla 1 se muestran los resultados del ensayo de captación de agua. Se observan diferencias marcadas entre los excipientes, destacando la gran capacidad de absorción de agua del Avicel pH101, sobradamente descrita en la bibliografía y la baja proporción de agua incorporada por la DA. Los otros cuatro excipientes aunque presentan ligeras diferencias entre ellos son de menor magnitud que los dos referidos.

Por otra parte, tan importante como la cantidad de agua absorbida por los materiales, lo es la capacidad de éstos para retenerla en su estructura. Esta propiedad va a depender de las interacciones entre el agua y el material, y por lo tanto si el agua se encuentra en su forma libre o ligada. Para determinarlo se calculó la capacidad de retención de agua (MRC) de cada material tomando como referencia los trabajos de Tomer y col., 1999 y 2001. Las diferentes dimensiones de las cápsulas empleadas por nosotros para la realización de estos estudios con respecto a las utilizadas por los autores originales hacen que no podamos comparar nuestros resultados con los suyos aunque si que nos permite la comparación de las propiedades y características entre nuestros materiales. Para todos los excipientes se calculó la MRC hasta la máxima carga de agua que era capaz de soportar el polvo sin

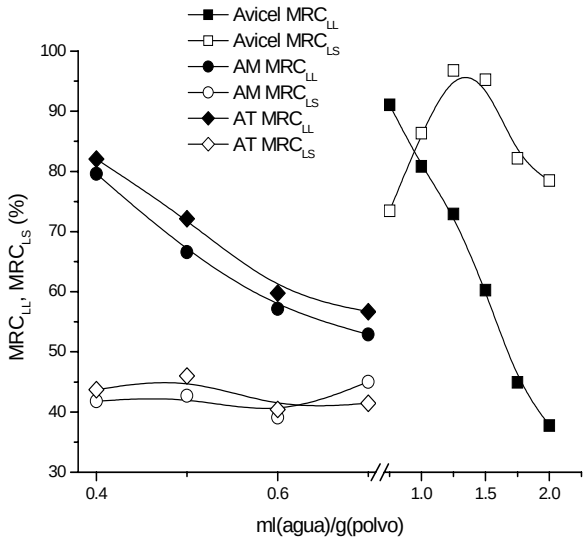


Figura 2: *Capacidades de retención de agua para el Avicel pH101 y los diferentes tipos de almidones.*

que aparecieran restos de excipiente en el agua recuperada tras la centrifugación. Los resultados para la celulosa microcristalina y los almidones nativos se muestran en la

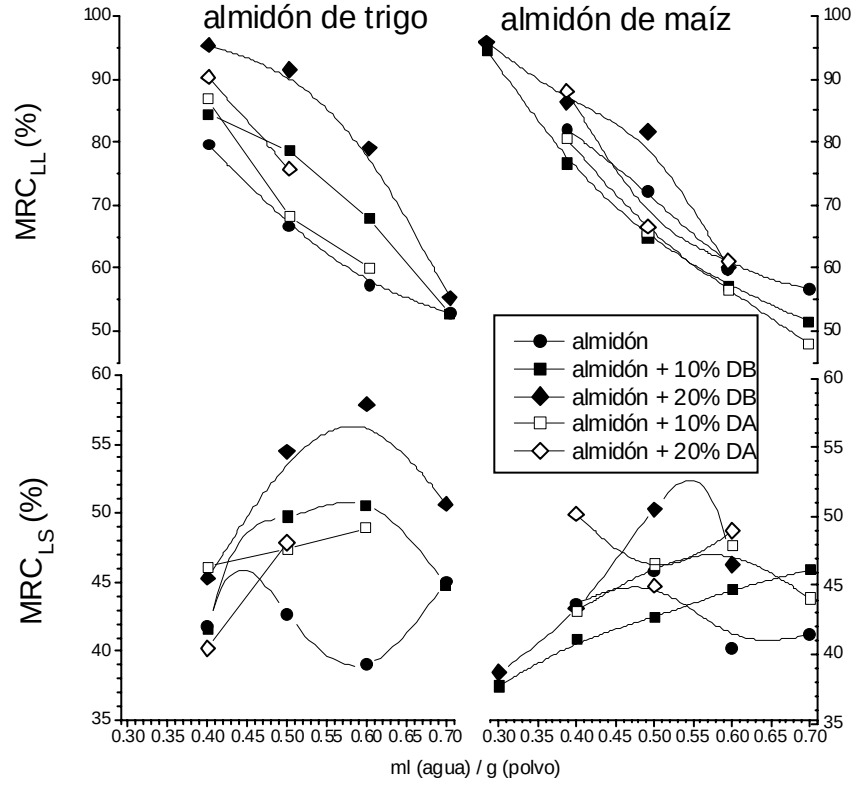


Figura 3: *Capacidades de retención de agua para las mezclas de los almidones con distintos aglutinantes: dextrina blanca (DB) y dextrina amarilla (DA).*

figura 2. Los valores de $MRC_{(LL)}$ y $MRC_{(LS)}$ del Avicel pH101 indican que además de una mayor captación de agua, este excipiente presenta una gran capacidad para retenerla en su estructura, muy superior a la de los dos almidones. La comparación entre los almidones indica que el WAM retiene cantidades ligeramente superiores de agua que el AM.

En la figura 3 se muestran los valores de $MRC_{(LL)}$ y $MRC_{(LS)}$ obtenidos para las mezclas de los almidones con las dos dextrinas. Las mezclas con WAM no se incluyeron ya que incluso para un contenido del 10% en WAM, no se produce ninguna recuperación

de líquido tras el proceso de centrifugación, ($MRC_{(LL)}$=100%), lo que indica que el agua muestra una gran afinidad por estas mezclas permaneciendo fuertemente ligada a los materiales.

En las mezclas con la DA, se observa que su incorporación apenas modifica la capacidad de retención de agua de los dos almidones observando sólo pequeñas diferencias para contenidos de un 20% y sobre todo cuando se utiliza AM. Lo que si se observa es que las curvas están definidas por menos puntos, debido a que la DA es relativamente soluble en agua por lo que incluso a bajos contenidos de agua añadida se produce una disolución parcial del excipiente por lo que atraviesa los filtros acompañando el agua recuperada tras la centrifugación.

Sin embargo el comportamiento de las mezclas con la DB es completamente diferente. Este excipiente mejora de forma significativa la capacidad de retención de agua de ambos almidones. Además estas mezclas soportan cargas de agua mayores que en el caso anterior, por lo que es posible obtener más puntos con mayores cantidades de agua añadida sin que aparezca la presencia del excipiente en el agua centrifugada. Son interesantes también el tipo de perfiles de $MRC_{(LS)}$ obtenidos con las mezclas de DB. Se observa como las curvas de $MRC_{(LS)}$ de estas mezclas, al igual que ocurre con el Avicel presentan un máximo de retención de agua en función del humectante añadido, indicativo de cual es la máxima carga de humectante que proporciona los mayores niveles de retención de agua en los excipientes y que puede estar relacionado con los distintos estados por los que atraviesa la masa durante su humectación y por lo tanto con el comportamiento reológico de las mezclas.

5.4.3 Caracterización mediante reometría de torsión de cada excipiente por separado.

Para estudiar el comportamiento reológico de estos materiales tras la incorporación del agua empleamos la reometría de torsión. En la etapa inicial del estudio se empleó el método de adición múltiple o repetida. Esta metodología permite construir

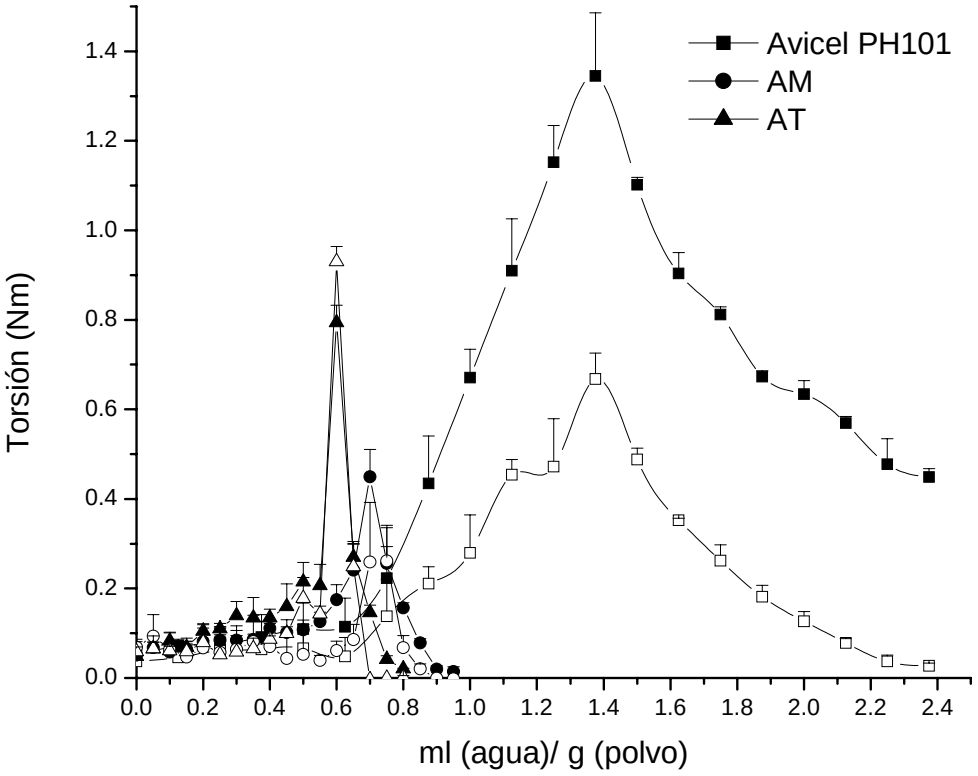


Figura 4: *Perfiles de reometría de torsión para los dos almidones nativos (almidón de maíz y de trigo) y el Avicel pH101, obtenidos en los ensayos de adición múltiple. Los símbolos negros indican torsión media, y los símbolos blancos amplitud de torsión*

los correspondientes gráficos de torsión media o de amplitud de torsión en función de la cantidad de líquido de humectación añadido, de gran utilidad para determinar las diferentes etapas por las que atraviesan las masas durante su humectación (Parker y col., 1990; Rowe y col., 1994). De acuerdo con lo establecido por diferentes autores en base a estudios realizados con celulosa microcristalina, la cantidad óptima de humectante en los procesos de extrusión esferonización coincide con la que proporciona la máxima torsión y por lo tanto el estado capilar.

Los reogramas obtenidos para el Avicel pH101 (figura. 4) muestran unos perfiles relativamente anchos con un máximo de torsión en torno a los 1.4 Nm cuando el contenido en humectante es de 1.2-1.4 ml de agua/g de celulosa. Estos valores coinciden con los obtenidos por otros autores para este excipiente (Parker y col., 1992) y son indicativos de masas que presentan consistencias adecuadas en un intervalo relativamente alto de cantidad de agente humectante. Además como puede observarse las cantidades de agua añadida a las que se obtiene una torsión máxima coinciden con las que dan lugar a máximos valores de retención de agua por parte del excipiente (MRC_{LS}, fig. 2).

El comportamiento de los dos almidones nativos es, sin embargo muy diferente, obteniéndose curvas muy estrechas con valores de los máximos de torsión media significativamente inferiores a los de la celulosa microcristalina. Además, en el caso concreto de la variedad de trigo los valores máximos de amplitud obtenidos son muy altos, incluso en algún caso superior al valor de la torsión media. Estos resultados sugieren que las masas obtenidas a partir de los almidones nativos presentan una consistencia insuficiente para la formación de pelets, además el agua se distribuye de manera poco homogénea, sobre todo en la variedad de trigo, siendo la cantidad y distribución del humectante extremadamente crítico en su comportamiento. Los pequeños valores de agua necesarios para alcanzar el estado capilar, están de acuerdo con lo expuesto por (Chatlapalli y col., 2002). Estos autores indican que los materiales más lisos y de características más uniformes que dan lugar a valores de las densidades aireadas y de consolidación más elevados necesitan cantidades de líquido menores para llegar al máximo de torsión media ya que presentan una consolidación más rápida.

Por otra parte las curvas de de adición múltiple para WAM, DA, y DB fueron imposibles de determinar, ya que las torsiones alcanzadas superaban los máximos registrados por el reómetro.

Los resultados ponen de manifiesto la necesidad del empleo de agentes aglutinantes que mejoren el comportamiento de las masas obtenidas con almidones para poder emplearlos en los procesos de extrusión esferonización, ya que masas constituidas únicamente por AM ó AT no dan lugar a la formación de partículas.

5.4.4 Caracterización mediante reometría de torsión de mezclas entre almidones nativos y agentes aglutinantes.

Para estudiar esta alternativa se prepararon mezclas de los dos almidones naturales con WAM, DA y DB y se determinó su comportamiento reológico durante la incorporación del humectante (figura. 5 para almidón de trigo y figura 6 para almidón de maíz). De manera general las mezclas de estos aglutinantes con los almidones disminuyen

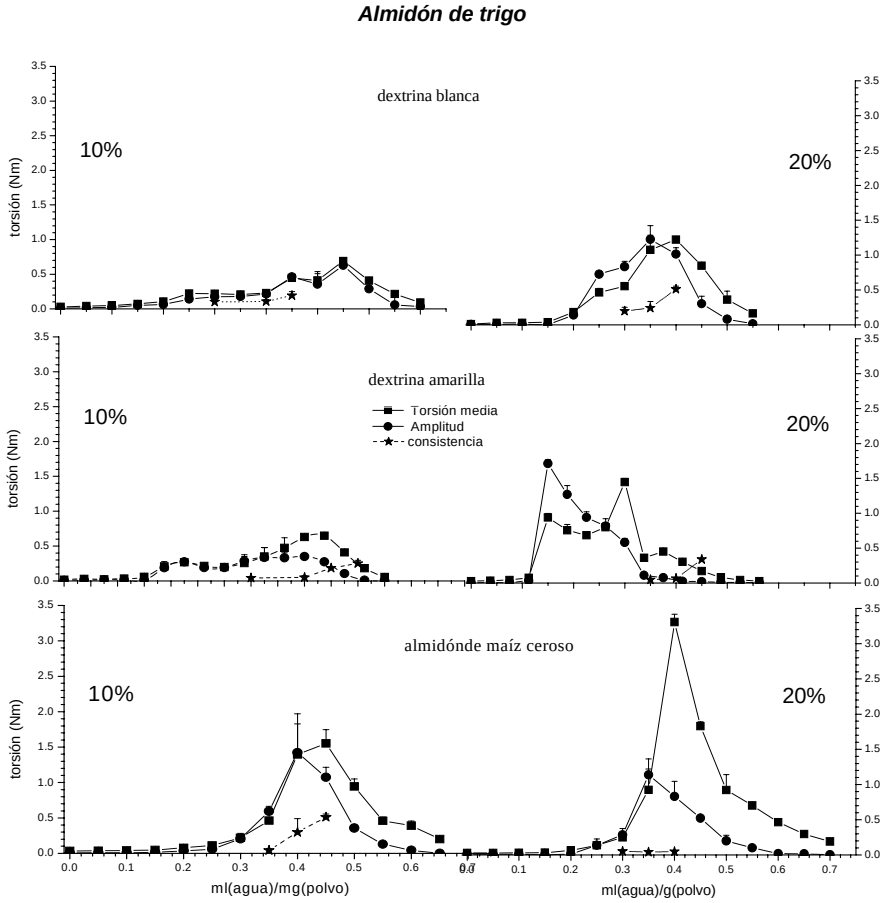


Figura 5: *Perfiles de reometría de torsión para las diferentes mezclas de almidón de trigo con los respectivos aglutinantes. Datos obtenidos mediante ensayos de adición múltiple. También están expuestos con línea discontinua, los resultados obtenidos para los ensayos de consistencia de las masa como paso previo a la extrusión.*

la cantidad de agua necesaria para alcanzar el estado capilar. De todos modos la anchura de los reogramas se incrementa, indicando que los estados funicular y capilar se alcanzan en un intervalo más amplio de cantidades de agua, facilitando la humectación. Además los valores de torsión media máximos aumentan al incrementar la proporción de los tres excipientes en las mezclas. De esto se deduce que la interacción entre las mezclas y el agua es mayor, dando lugar a masas más compactas y adhesivas.

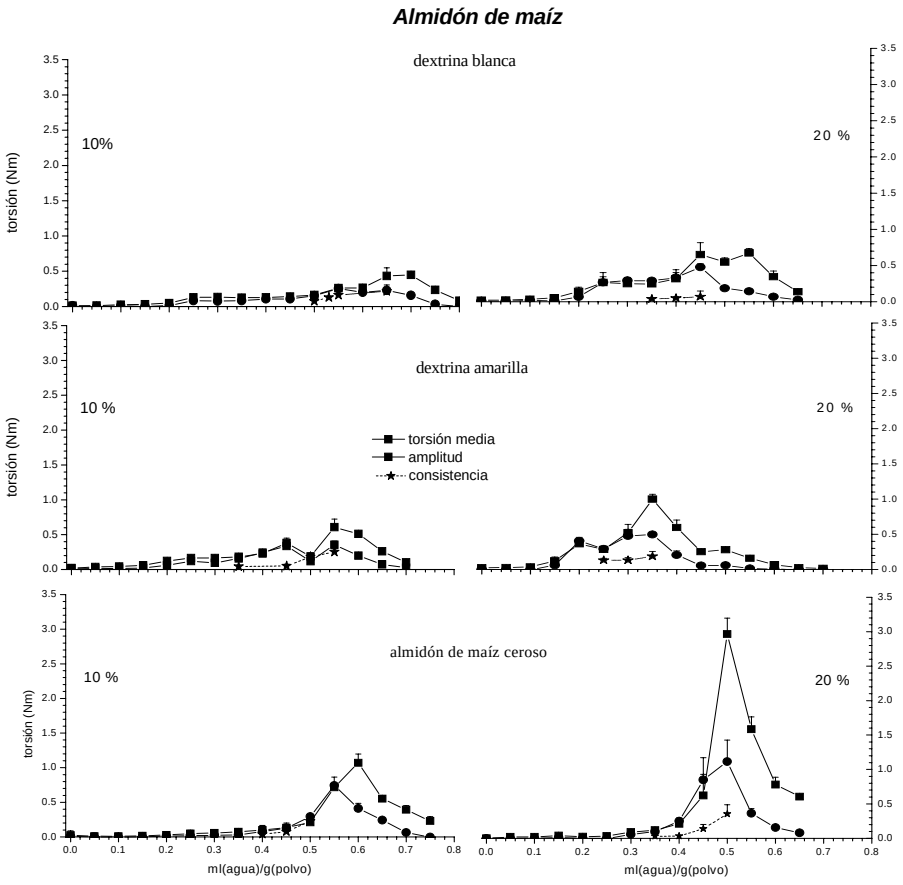


Figura 6: *Perfiles de reometría de torsión para las diferentes mezclas de almidón de maíz con los respectivos aglutinantes. Datos obtenidos mediante ensayos de adición múltiple. También están expuestos con línea discontinua, los resultados obtenidos para los ensayos de consistencia de las masa como paso previo a la extrusión.*

Pasaremos a continuación a comentar algunos aspectos particulares para cada uno de los aglutinantes ensayados comenzando con las mezclas obtenidas empleando WAM.

La inclusión de esta variedad en un 10 y 20% aumenta significativamente los valores de torsión media de las masas tanto con el AT (figura 5) como para el AM (figura. 6), a niveles incluso del doble que los determinados con el Avicel pH101, en el caso de mezclas con un 20 % del WAM. Estos altos valores de torsión indican masas de gran consistencia con una resistencia mecánica elevada y probablemente baja plasticidad, por lo que es posible que presenten problemas durante su extrusión y esferonización. Sin embargo la posición relativa de la amplitud de la torsión sugiere una homogénea distribución del agua en estas masas. Los altos valores de la torsión media obtenidos para estas mezclas pueden estar relacionados con el gran poder de retención de agua (MRC_{LS}=100%), y por lo tanto con la gran afinidad de estas mezclas con el humectante.

Para las mezclas obtenidas con la DA, se observa también un incremento significativo en los valores de torsión media sobre todo cuando se incorpora a niveles del 20%, aunque en menor medida que en el caso del WAM. Sin embargo, a diferencia de éste, los perfiles de los reogramas y los valores de amplitud de torsión de las mezclas conteniendo DA muestran que el agua no se distribuye de manera homogénea en las masas, siendo incluso en algunos casos, el valor de la amplitud mayor que el de la torsión. Además, a medida que incorporamos DA se produce un desplazamiento de los máximos de torsión media a menores cantidades de agua añadida.

Con la otra variedad de dextrina, DB, tras su incorporación a los almidones observamos nuevamente un incremento en la torsión media sobre todo cuando se incorpora en proporciones del 20%. En el caso de las mezclas preparadas con AT los niveles de torsión obtenidos son similares al Avicel pH 101, aunque los máximos se obtienen para menor cantidad de agua añadida. Además, el ensanchamiento de los perfiles y la posición relativa de los máximos de amplitud son indicativos de una distribución homogénea del agua en la masa. En este caso y al igual que ocurre con el Avicel pH 101, los intervalos de agua a los que aparecen la máxima torsión media

coinciden aproximadamente con aquellos en los que se produce una mayor retención de agua por parte de las mezclas (mirar las curvas de MRC_{LS}).

De manera general, basándonos en la comparación de las curvas de torsión media y amplitud de torsión obtenidas para las dos variedades naturales de almidones (figuras 5 y 6), puede decirse que en la variedad de maíz el agente humectante se distribuye de forma más homogénea que en la de trigo, por lo que en principio deberá proporcionar mejores resultados a la hora de elaborar los pelets.

5.4.5 Extrusión-esferonización

En base a los resultados obtenidos mediante el método de adición múltiple se seleccionaron los niveles óptimos de humectante para comenzar con la etapa de elaboración de pelets a partir de las mezclas de almidones y aglutinantes. Hay que indicar que para la realización de este estudio no se incluyó ningún principio activo en la elaboración de los pelets, y es bien conocido que su incorporación puede modificar la plasticidad de las masas y por lo tanto la formación de los pelets. Las cantidades de agua adicionadas que se tomaron de referencia en los ensayos de adición múltiple, se corresponden con el estado capilar en el que la torsión es máxima y que ha sido definido como el óptimo por distintos autores cuando se emplea celulosa microcristalina como excipiente base. Así mismo, se ensayaron otras cantidades de humectante próximas a este máximo.

Para la evaluación de la capacidad de las mezclas para formar pelets esféricos, las mezclas de excipientes correspondientes se depositaron en una malaxadora orbital adicionando de una sola vez las cantidades de agua seleccionadas en la etapa anterior. Una vez malaxadas durante 15 minutos, se depositaron en un recipiente hermético y se dejaron equilibrar a temperatura ambiente durante 24 horas. Transcurrido ese tiempo se determinó su consistencia en el reómetro y se procedió a su extrusión y esferonización.

En general todas las mezclas ensayadas presentaron una fuerte disminución en los valores de consistencia con respecto a las torsiones medias obtenidas empleando el

método de adición múltiple (figuras 5 y 6). El motivo de esta gran variación se debe fundamentalmente a las diferencias en la etapa de malaxado. La adición de una sola vez del líquido humectante así como el empleo de una malaxadora orbital favorece la formación de pequeños agregados que se comportan de forma similar a un granulado. Una vez se trasvasan a la cámara del reómetro y comienzan a moverse las palas, éstas desplazan a los agregados que se ponen en movimiento pero mantienen su integridad, en consecuencia lo que el reómetro determina en realidad son las fricciones que se producen entre aglomerados y entre ellos y las diferentes partes de la cámara de medida en lugar de la consistencia real de la masa que daría lugar a valores muy superiores. Prueba de ello es que pese a obtener valores muy bajos de consistencia, fue posible la elaboración de pelets con varios de los contenidos de agua con los excipientes ensayados, y que además no coinciden necesariamente con aquellas masas que proporcionaron mayores valores en su consistencia. La calidad de los pelets obtenidos dependió de su composición y cantidad de humectante adicionado. En la tabla 2 se indica la composición de todas las mezclas con las que se obtuvieron pelets, así como la cantidad de humectante incorporado.

Un aspecto importante a destacar son los intervalos de valores de agua añadida que dan lugar a la formación de pelets. Para las mezclas de excipientes estudiadas, el requerimiento de agua necesario para producir pelets es, en casi todos los casos, menor que el necesario para alcanzar el estado capilar en el que aparecen las torsiones máximas y en el que se produce la máxima retención de humectante. Incluso, el máximo de las curvas de las amplitudes de torsión sirve de una mejor orientación para determinar las cantidades óptimas de agua a adicionar en las formulaciones. Este comportamiento se observa sobre todo para las formulaciones elaboradas con las mezclas que contienen DB en su composición.

De todas maneras, pese a que se obtuvieron pelets con otras de las condiciones ensayadas diferentes a las reflejadas en la tabla, estos nos se incluyeron ya que o bien poseían un diámetro muy pequeño debido a una humectación insuficiente, o bien se formaban grandes aglomerados, indicativos de una excesiva cantidad de humectante. Las últimas columnas de la tabla 2 muestran las principales características morfológicas de

		Composición[a]				ml(agua)	Vr (media±sd)		Vp (media±sd)		Feret
		Almidón	WAM	DA	DB	/ g(polvo)	Pobl 1	Pobl 2	Pobl 1	Pobl 2	(media±sd)
1[b]		85%	10%			0.40	11.08±1.48		12.79±0.96		1144.5±42.5
2[b]		85%	10%			0.45	8.17±0.05		11.62±2.44		1101.3±111.2
3	Almidón de maíz	75%	20%			0.35	5.50±0.49		8.21±0.72	12.20±3.74	1008.6±24.8
4[b]		75%	20%			0.40	12.19±0.76		14.57±2.49		1252.6±193.2
5		75%		20%		0.25	6.12±1.07		8.34±0.60		762.9±120.5
6		75%		20%		0.30	5.53±1.87		7.92±0.68		1161.7±141.9
7		75%		20%		0.35	7.28±1.26		12.38±2.11		1538.7±358.4
8		75%			20%	0.35	3.98±0.91	9.72±3.31	7.72±1.03	10.74±1.78	939.0±155.7
9		75%			20%	0.40	3.20±0.51	5.50±0.28	7.14±0.31	9.55±1.42	998.1±127.4
10		75%			20%	0.45	4.27±0.73		7.19±0.68	8.83±1.19	1415.4±66.0
11		85%	10%			0.35	4.97±0.48	8.29±2.26	7.97±0.38	11.64±1.80	954.7±100.6
12[b]		85%	10%			0.40	11.08±1.48		12.79±0.96		1144.5±42.5
13		75%	20%			0.30	6.71±1.35		10.63±0.29		1041.6±43.8
14	Almidón de trigo	75%	20%			0.35	5.72±2.43	12.80±5.98	11.44±4.64	19.71±10.56	967.8±85.1
15[b]		75%		20%		0.20	9.91±0.26		9.90±0.56		1021.0±85.6
16[b]		75%		20%		0.25	9.68±0.51		10.75±0.44		1085.9±77.9
17		75%			20%	0.30	6.22±2.66		6.71±0.44	8.44±0.71	993.0±53.9
18		75%			20%	0.35	2.44±0.95	5.27±2.27	6.61±0.40	8.56±0.87	970.3±65.0
19		100% Avicel pH 101				1.05	3.32±0.23		7.09±0.09		824.6±55.4

Tabla 2: *Características morfológicas de los pelets obtenidos a partir de las diferentes mezclas de almidones y aglutinantes.*
[a]*En todas las formulaciones se añadió un 5% de talco como agente lubricante.*
[b]*Se adjuntan la media aritmética y desviación estándar porque fue imposible un ajuste multigaussiano.*

los pelets en los casos donde fue posible su obtención. Comenzaremos comentando los resultados del análisis morfológico de los obtenidos con las mezclas de WAM y los dos almidones naturales. En este caso fue posible la obtención de pelets, tanto con las mezclas realizadas con los dos almidones nativos como a las dos proporciones ensayadas de WCS. Sin embargo, no llegaron a ser esféricos en ninguno de los casos, observándose en la mayoría de los lotes fabricados la presencia de una población más o menos importante de formas irregulares. Los valores de los factores de forma Vr y Vp obtenidos para bajos contenidos en agua indican la presencia de formas preferentemente cilíndricas con aristas más o menos angulosas. En general al aumentar la cantidad de agua añadida los pelets aumentan de tamaño y se incrementan los valores de Vr (ej.: de 5.5 en la formulación 3 a 12.19 para la formulación 4) a valores típicos de formas cilíndricas con una elevada relación de aspecto, o de formas fusiformes. Este comportamiento se debe a las características reológicas de este tipo de mezclas. De acuerdo con los resultados obtenidos a partir de la reología de torsión las mezclas del WAM con los almidones

naturales dan lugar a masas de elevada consistencia y baja plasticidad que si bien son capaces de extrundir, no se deforman durante la esferonización, dando lugar a cilindros y a formas fusiformes características. El aumento en la relación de aspecto y tamaño de los pelets que se observa al aumentar el agua añadida, se debe a que las masas humectadas en mayor medida son más elásticas y consistentes por lo que el extrudido es más largo y no se rompe durante la esferonización dando lugar a cilindros más largos.

Las mezclas con DA presentaron valores de consistencia muy bajos, por lo que sólo fue posible la obtención de pelets con las mezclas que contenían los porcentajes mas altos (20%). Debido a su baja consistencia las mezclas elaboradas con un 10% de dextrina se desmoronaban en el esferonizador. Los pelets obtenidos a partir de mezclas de los dos almidones naturales con un 20% de DA no fueron esféricos, presentando los elaborados a partir del AT una gran proporción de formas irregulares probablemente debido a la mala distribución del humectante tal y como mostraban los reogramas de estas mezclas. De todos modos, aunque el AM mejora la calidad de los pelets, en ningún caso llegaron a ser esféricos.

Por último, en el caso de mezclas de almidones con la DB fue también necesaria su inclusión en proporciones de un 20% para obtener pelets, pero a diferencia de las mezclas anteriores (con DA o con WAM) el aspecto y morfología de los mismos fue excelente, tanto para las mezclas elaboradas con AM (formulaciones 8, 9 y 10) como AT (formulaciones 17 y 18). Así en varias de las formulaciones elaboradas con esta dextrina, se obtuvieron valores de Vr cercanos a los obtenidos para el Avicel. Para las formulaciones elaboradas a partir de mezclas con AM, se observa al igual que en los casos anteriores un aumento del tamaño de los pelets a medida que se incrementa la cantidad de agua con la que se humectan las mezclas. Sin embargo este comportamiento no es tan claro para los pelets elaborados a partir de mezclas con AT probablemente debido a las distintas propiedades de captación y retención de agua de estos almidones, así como la distribución más irregular del humectante que se produce en sus mezclas.

Teniendo en cuenta la clasificación morfológica propuesta en función de los valores de Vr (Almeida-Prieto y col., 2004), salvo los pelets obtenidos empleando

mezclas de AT o AM y la DB, ninguna de las mezclas ensayada proporcionaron pelets esféricos. Sólo las dos formulaciones elaboradas con un 20% de DB presentan mayoritariamente formas esféricas, con valores de forma y textura superficial similares a las partículas elaboradas con Avicel pH 101. Las mezclas en las que se incluye WAM como aglutinante proporcionan poblaciones de pelets mayoritariamente esferoides aunque con la presencia significativa de otras formas cilíndricas y fusiformes. La disminución de su proporción en la mezcla mejora sensiblemente la forma y textura superficial de estos pelets. Por último las mezclas con DA y WAM son las que en general proporcionan pelets de peor calidad morfológica.

5.5 CONCLUSIONES

En posible elaborar pelets con características morfológicas aceptables mediante técnicas de extrusión esferonización empleando como componentes mayoritarios almidones nativos y en ausencia de celulosa cristalina.

Las deficientes propiedades reológicas del AT y AM obligan que para su utilización como excipientes mayoritarios en estos procesos sea necesario incluir otros excipientes que actúen como aglutinantes y permitan mejorar la consistencia, resistencia y plasticidad de las mezclas.

La reología de torsión empleando el método de adición múltiple y los estudios de retención de agua se mostraron como herramientas útiles a la hora de comparar el comportamiento entre las distintas mezclas de excipientes y aglutinantes y seleccionar los niveles de humectante más adecuados. Sin embargo la medida de la consistencia no constituyó una herramienta adecuada probablemente debido a las diferencias en la metodología y eficacia de los sistemas de humectación empleados en la medida de la torsión y en la fabricación de los pelets.

A diferencia de lo que ocurre con la celulosa microcristalina en donde las cantidades de humectante óptimas se corresponden con las que dan lugar al estado capilar y por lo tanto en el que la torsión media es máxima, en los almidones y sus mezclas se

obtienen mejores resultados con cantidades de humectante inferiores a las que proporcionan este estado. De manera general puede decirse que la cantidad de agua que da lugar a los máximos valores de amplitud se muestra más orientativa que la necesaria para obtener los máximos de torsión, para obtener los mejores pelets. Además y como norma general, las mezclas que contienen AM necesitan cantidades de humectante ligeramente superiores que las mezclas que incluyen AT.

Los mejores resultados durante la peletización de las masas se obtuvieron cuando se empleaban mezclas que contenían DB en proporciones de un 20%, tanto con el AT como con el AM.

El WAM es el excipiente que mostró mayor poder aglutinante. Los resultados obtenidos tras la extrusión-esferonización de sus mezclas sugieren que posiblemente puedan obtenerse pelets con mejor aspecto si se reduce su proporción en las mezclas por debajo del 10%.

BIBLIOGRAFÍA

Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J. 2004. Image analysis of the shape of granulated powder grains. *J. Pharm. Sci.* 93, (621-634).

Chatlapalli, R., Rohera, B.D. 1998a. Physicall characterization of HPMC and HEC and investigation of their use as pelletization aids. *Int. J. Pharm*. 161, (179-193).

Chatlapalli, R., Rohera, B.D. 1998b. Rheologycal characterization of diltiazem HCL/cellulose wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 175, (47-59).

Chatlapalli, R., Rohera, B.D. 2002. Study of effect of excipient source variation on rheological behaviour of diltiazem HCL-HPMC wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 238, (139-151).

Conine, J.W. y Hadley, H.R. 1970. Preparation of pharmaceutical spheres. *Drug and Cosmet. Ind.* 90, (38-41).

Faure, A., Grimsey, I.M., Rowe, R.C., York, P., Cliff, **M.J.** 1999. Process control in a high shear mixer-granulator using wet mass consistency: the effect of formulation variables. *J. Pharm. Sci.* 88, (191-195).

Gazzaniga, A., Sangalli, M.E., Bruni, G., Zema, L., Vecchio, C., Giordano, F. 1998. The use of β-cyclodextrin as a pelletization agent in the extrusion/spheronization process. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, (869-873).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1992. Characterization of wet masses using a mixer torque rheometer 2: Mixing kinetics. *Int. J. Pharm.* 83, (147-153).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C. 1994. An assessment of substrate-binder interactions in model wet masses 1: Mixer torque rheometry. *Int. J. Pharm.* 102, (167-176).

Hancock, B.C., York, P., Rowe, R.C., Parker, M.D. 1991. Characterization of wet masses using a mixer torque rheometer 1: Effect of instrument geometry. *Int. J. Pharm.* 76, (239-245).

Hariharan, M., Mehdizadeh, **E.** 2002. The use of mixer torque rheometry to study the effect of formulations variables on the properties of wet granulations. *Drug Dev Ind. Pharm.* 28, (253-263).

Janin, V., Parker, M.D., Rowe, R.C. 1990. Monitoring production scale granulation processes using an instrumented mixer torque rheometer *STP Pharma.* 6, (233-237).

Jover, I., Podczeck, F., Newton, J.M. 1996. Evaluation, by a statitically designed experiment, of an experimental grade of microcrystalline cellulose, avicel 955, as a technology to aid the production of pellets with high drug loading. *J. Pharm. Sci.* 85, (700-705).

Junnila, R., Heinämäki, J., Yliryuusi, **J.** 1998**.** Effects of surface-active agent on the size, shape and hardness of MCC/maize starch pellets prepared by an extrusion-spheronization technique. *STP Pharma. Sci.* 8, (221-226).

Junnila, R., Palviainen, P., Heinämäki, J., Myllärinen, P., Forssell, P., Yliryuusi, J. 2000. Waxy corn starch: a potent cofiller in pellets produced by extrusion-spheronization. *Pharm. Dev. Tech.* 5, (67-76).

Kristensen, J., Schaefer, T., Kleinebudde, P. 2000. Direct pelletization in a rotary processor controlled by torque meassurements I: Influence of process variables. *Pharm. Dev. Tech. Ind.* 5, (247-256).

Linder, H., Kleinebudde, **P.** 1994. Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization. *J. Pharm. Pharmacol*. 46, (2-7).

Luukkonen, P., Rantanen, J., Mäkeläk, K., Räsänen, E., Tenhunen, J., Yliruusi, J. 2001a. Characterization of wet massing behaviour of silificied microcrystalline cellulose and α-lactose monohydrate using near-infrared-spectroscopy. *Pharm. Dev. Tech.* 6, (1-9).

Luukkonen, P., Schaefer, T., Hellén, L., Juppo, A.M., Yliruusi, J. 1999. Rheological characterization of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 188, (181-192).

Luukkonen, P., Schaefer, T., Podczeck, F., Newton, M., Hellén, L., Yliruusi, J. 2001b. Characterization of microcrystalline cellulose and silicified microcrystalline cellulose wet masses using a powder rheometer. *Eur. J. Pharm. Sci.* 13, (143-149).

Newton, J.M., Chow, A.K., Jeewa, K.B. 1992. The effect of excipient source on spherical granules made by extrusion/spheronization. *Pharm. Tech. Int.* October, (52-58).

Otero-Espinar, F.J., Delgado-Charro, M.B., Anguiano-Igea, S., Blanco-Méndez, J. 1998. Using a tensile test to study the bioadhesive and swelling properties of

poluymers, in: *"Data acquisition and measurement techniques"* Ed by Muñoz-Ruiz, A., Vromans, H. Illinois, 1998, pp295-342.

Parker, M.D., Rowe, R.C. 1991. Source variation in the wet massing (granulation) of some microcrystalline celluloses. *Pow. Tech.* 65, (273-281).

Parker, M.D., Rowe, R.C., Upjohn, N.G. 1990. Mixer torque rheometry: A method for quantifying the consistency of wet granulations. *Pharm. Tech. Int.* September, (50-64).

Parker, M.D., York, P., Rowe, R.C. 1992. Binder-substrate interactions in wet granulations 3: The effect of excipient source variation. *Int. J. Pharm.* 80, (179-190).

Reynolds, A.D. 1970. A new technique for the production of spherical particles. *Mfg. Chem. Aerosol News* 40, (40-43).

Rowe, R.C., Parker, M.D. 1994. Mixer torque rheometry an update. *Pharm. Tech. Eur.* March, (27-34).

Rowe, R.C., Sadeghnejad, G.R. 1987. The rheology of microcrystalline cellulose powder/water mixer-measurement using a mixer torque rheometer. *Int. J. Pharm.* 38, (22-229).

Schildcrout, S.A. 1984. Rheology of pharmaceutical granulations. *J. Pharm. Pharmacol.* 36, (502-505).

Tho, I., Andersen, E., Dyrstad, K., Kleinebudde, P., Sande, S.A. 2002a. Quantum chemical descriptors in the formulation of pectin pellets produced by extrusion/spheronization. *Eur. J. Pharm. Sci.* 16, (143-149).

Tho, I., Sande, S.A., Kleinebudde, P. 2002b. Pectinic acid, a novel excipient for production of pellets by extrusion/spheronization: preliminary studies. *Eur. J. Pharm. Sci.* 54, (95-99).

Tomer, G., Newton, J.M. 1999. A centrifuge technique for the evaluation of the exent of water movement in wet powder masses. *Int. J. Pharm.* 188, (31-38).

Tomer, G., Patel, H., Podczeck, F., Newton, J.M. 2001. Measuring the water retention capacities (MRC) of different microcrystalline cellulose grades. *Eur. J. Pharm. Sci.* 12, (321-325).

Villar-Lopez, M.E., Nieto-Reyes, L., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F.J., Blanco-Méndez, J. 1999. Formulation of triamcinolone acetonide pellets suitable for coating and colon targeting. *Int. J. Pharm.* 179, (229-235).

Zhou, F., Vervaet, C., Massart, D.L., Massart, B., Remon, J.P. 1998a. Optimization of the processing of matrix pellets based on the combination of waxes and starch using experimental design. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 24, (353-358).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Matrix pellets based on the combinations of waxes, starches and maltodextrins. *Int. J. Pharm.* 133, (155-160).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1997. Influence of processing on the characteristicsof matrix pellets based on microcrystalline waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 147, (23-30).

Zhou, F., Vervaet, C., Schelkens, M., Lefebre, R., Remon, **J.P.** 1998b. Bioavailabity of ibuprofen from matrix pellets based on the combination of waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 168, (79-84).

Capítulo 6

Estudio de las características de liberación de pelets elaborados a partir de almidones y dextrinas mediante extrusión-esferonización

Enviada para su publicación

6.1 RESUMEN

En el presente trabajo se estudian los perfiles de liberación obtenidos para pelets elaborados mediante extrusión esferonización a partir de diferentes mezclas de almidones y dextrinas. En un trabajo previo, Almeida-Prieto y col., 2005 demostraron que era posible obtener pelets de buena calidad, desde un punto de vista morfológico y reológico con mezclas de almidones naturales (trigo y maíz), modificados y dextrinas en ausencia

de celulosa microcristalina. Para comprobar su capacidad para la liberación de principios activos se procedió a incluir dos fármacos modelo, uno muy poco hidrosoluble, el antiinflamatorio esteroídico acetónido de triamcinolona (AcT); y otro de mayor solubilidad en agua como es la teofilina anhidra (T). Para la realización del estudio se obtuvieron 8 formulaciones para cada principio activo, en las que se modificaron las proporciones de excipientes. Los lotes obtenidos se caracterizaron morfológicamente empleando los parámetros Vr y Vp, para ver si existe una influencia de la incorporación de estos fármacos en el proceso y posteriormente se determinaron los correspondientes perfiles de liberación que presentaron en jugo gástrico (pH=1.2±0.05) y jugo entérico artificial sin enzimas (pH=6.8±0.05). Los resultados obtenidos para la AcT indican que empleando las mezclas de los almidones naturales con el almidón ceroso es posible obtener perfiles de liberación controlada del fármaco, y que además éstos pueden modularse en función de la proporción de este último en la mezcla. Por otra parte la liberación de las formulaciones de almidones con la dextrina blanca, indican el excelente comportamiento de estas mezclas para la elaboración de formulas de liberación inmediata.

Por último, los resultados obtenidos a partir de los pelets de teofilina muestran la escasa capacidad de retención del principio activo que tiene lugar a partir de las mezclas ensayadas cuando se incluye un componente tan hidrosoluble en proporciones tan elevadas.

6.2 INTRODUCCIÓN

A partir de los años 70 y gracias a los trabajos de Connie y col., 1970, y Reynolds 1970, los pelets comenzaron a tener gran divulgación como formas multiparticulares, extendiéndose por lo tanto su uso. A esto colaboraron en gran medida las enormes ventajas que presentan sobre las formas monolíticas tradicionales. Desde un punto de vista biofarmacéutico, las principales son que pueden ser liberados en determinadas zonas del tracto digestivo (Follonier y col., 1992), y junto con la dispersión libre y homogénea

que presentan, mejoran la absorción y disminuyen la aparición de efectos colaterales. A esta serie de ventajas que presentan como muy interesantes a los pelets, se les unen otras de naturaleza tecnológica que muchas veces las hace ideales como formas de dosificación por vía oral. Entre éstas, destaca que presentan flujo libre, forma esférica, y baja friabilidad (Erkoboni 1997) que las hace idóneas para ser sometidas con facilidad a posteriores operaciones como son el llenado de cápsulas de gelatina dura, la compresión, y fundamentalmente el recubrimiento. Éste último proceso es muy interesante para obtener partículas que presenten perfiles de liberación lentos, o para obtener una liberación del principio activo selectiva en el colon (Milojevic y col., 1996; Villar-López y col., 1999). Sin embargo, esta etapa de recubrimiento además de encarecer y prolongar el proceso de fabricación, debe dar lugar a la formación de un film de unas determinadas características, entre las que destacan que presente un grosor uniforme para que el proceso de liberación no se vea afectado, o que esta membrana no pierda sus propiedades en caso de que los pelets se compriman. Por estas razones resulta evidente el gran interés que presenta la obtención de pelets que controlen la liberación del principio activo que llevan incluido, sin la necesidad de de someterlos a un proceso de recubrimiento. Esto puede conseguirse si los materiales que conforman las partículas hacen que el sistema se comporte como una matriz a partir de la cual el principio activo se libere lentamente. A esto contribuye el hecho de obtener los pelets mediante extrusión-esferonización, ya que como otros autores han comprobado anteriormente, es un modo de fabricar partículas que presenta perfiles más lentos de velocidad de liberación (Robinson y col., 1991; Zhang y col., 1990; Zhang y col., 1991) aunque también hay otras técnicas de peletización como la peletización por calor en un granulador de elevada eficacia (Grassi y col., 2003) capaces de de producir partículas con perfiles de liberación lentos sin necesidad de recurrir al recubrimiento. De todos modos, es necesario tener en cuenta que hay una serie de factores que afectan en mayor o menor medida a la velocidad de liberación del principio activo, como son la forma que presenten las partículas (Chopra y col., 2002), que el excipiente mayoritario presente en la formulación sea o no soluble en agua (Blanqué y col., 1995), la presencia de diferentes cantidades de líquido de humectación (Baert y col.,

1993), y la cantidad de celulosa microcristalina añadida, así como la variedad empleada (Ghali y col., 1989a; O'Connor y col., 1984 y 1985; Pinto y col., 1992).

Entre los materiales empleados para retrasar la liberación de los pelets, destacan la adición de dispersiones de polímeros como el Aquacoat y Eudragit (Goskonda y col., 1994), la adición de ácido poliacrílico (Awad y col., 2002; Neau y col., 1996 y 2000; Rodríguez-Gómez y col., 1996; Vila-Jato y col., 1995) alginato sódico (Chatchawalasasin y col., 2004) y quitosano (Chatchawalasasin y col., 2004; Tapia y col., 1993), polivinil acetato (PVA) (Schmidt y col., 1996), polivinil pirrolidona (PVP), y mezclas almidón/gelatina (Varshosaz y col., 1997), o modificadores del pH del núcleo de las partículas (Bianchini y col., 1992; Costa y col., 2004; Krogars y col., 2000). Por otro lado, también se han añadido materiales de naturaleza hidrofóbica (Ghali y col., 1989b) que incluso pueden ir mezclados con derivados de almidones (Zhou y col., 1996, 1997, 1998a, b aunque estos autores obtienen las partículas mediante peletización por fusión.

Por otra parte, es frecuente la utilización de formas multiparticulares para la obtención de sistemas de liberación inmediata de fármacos. Sin embargo, el hecho de la no disgregación de los pelets fabricados a partir de celulosa microcristalina (O'Connor y col., 1989) en el medio de disolución, impide y dificulta la obtención de pelets con una liberación rápida del principio activo. Existen trabajos en los que se busca mejorar este deficiente comportamiento añadiendo, bien otro tipo de celulosas como es la celulosa microfina (PC) (Linder y col., 1994; Schröeder y col., 1995), o mediante la adición de agentes surfactantes (Vervaet y col., 1994). Incluso otros autores como Tho y col., 2003, proponen el ácido pectínico como excipiente base para llevar a cabo la extrusión-esferonización y obtener así pelets que se disgreguen de manera rápida, y presenten por lo tanto perfiles de liberación inmediata para fármacos de escasa solubilidad.

En base a lo expuesto, el objetivo principal de este trabajo será estudiar los perfiles de liberación de dos principios activos diferentes una vez que se han obtenido las partículas mediante extrusión-esferonización y constituidas únicamente a partir de diferentes mezclas de almidones y dextrinas.

6.3 MATERIALES Y MÉTODOS

6.3.1 Materiales

Los dos principios activos utilizados fueron el acetónido de triamcinolona (AcT) (Roig Farma SA, Barcelona, España) y la teofilina anhidra (T) (Roig Farma SA, Barcelona, España). Los excipientes empleados fueron el almidón de trigo o meritena 200 (AT); almidón de maíz o meritena 100 (AM); almidón ceroso de maíz pregelatinizado o merigel 341 (WAM); y dextrina blanca (DB), que fueron proporcionados por Inigarbe SL (Padrón, A Coruña, España). Además se incluyó talco en todas las formulaciones para mejorar las propiedades viscoelásticas de las masas a extrudir. En todos los casos se empleó agua destilada como líquido de humectación.

6.3.2 Métodos

6.3.2.1 Elaboración de pelets

En la tabla 1 se indican todas las formulaciones elaboradas para este estudio así como su composición cuanti y cualitativa. Las mezclas de sólidos se prepararon en una mezcladora túrbula T2C durante 15 minutos, preparando siempre 100 gramos. Posteriormente se humectó con el correspondiente volumen de agua destilada (Almeida-Prieto y col., 2005) en una malaxadora Kenwood Cef Classic durante 15 minutos. Las masas se introdujeron en bolsas de plástico herméticamente cerradas durante 24 horas para que el agua se distribuyera lo más homogéneamente posible antes de ser sometida a la extrusión y posterior esferonización. La extrusión se realizó en un extrusor Caleva modelo 10 con un tamiz de un 1 mm. de abertura de malla, a 6 r.p.m. Posteriormente el extrudido fue esferonizado en un esferonizador Caleva modelo 120 a 2000 r.p.m. durante 15 minutos. Finalmente las partículas se secaron en una estufa Haraeus hasta alcanzar peso constante. Cada formulación fue elaborada por triplicado.

Formulación	Composición (%)						
	AcT	T	AM	AT	WAM	DB	Agua (ml/g)
1AcT	2	-	73	-	-	20	0.40
2AcT	2	-	88	-	5	-	0.45
3AcT	2	-	83	-	10	-	0.45
4AcT	2	-	73	-	20	-	0.34
5AcT	2	-	-	73	-	20	0.40
6AcT	2	-	-	88	5	-	0.40
7AcT	2	-	-	83	10	-	0.34
8AcT	2	-	-	73	20	-	0.34
1T	-	25	50	-	-	20	0.35
2T	-	25	65	-	5	-	0.45
3T	-	25	60	-	10	-	0.40
4T	-	25	50	-	20	-	0.32
5T	-	25	-	50	-	20	0.30
6T	-	25	-	65	5	-	0.45
7T	-	25	-	60	10	-	0.35
8T	-	25	-	50	20	-	0.30

Tabla 1: *Composición de las formulaciones empleadas en este trabajo.*

6.3.2.2 Caracterización morfológica mediante análisis de imagen

El equipo de análisis de imagen empleado para hacer las fotografías de los pelets consta de un estéreomicroscopio Olympus SZ-CTV equipado con una cámara de vídeo JVC TK-S350 y un equipo de luz fría Highlight 2000 Olympus Europa que incide perpendicularmente sobre las partículas. Con este equipo se obtuvo un tamaño de píxel de 12.25 µm. para las fotografías en escala de grises. Estas fotografías fueron importadas con el programa SigmaScan Pro Image Análisis 5.0.0 con el que se midieron 300 partículas. A partir de estos datos y mediante macros diseñadas para el Microsoft® Excel 2000, se calcularon los factores de forma Vr y Vp propuestos por Almeida-Prieto y col., 2004, así como el diámetro de Feret.

6.3.2.3 Estudios de disolución in vitro

Estos estudios se realizaron en un sistema de disolución automatizado, formado por un espectrofotómetro de diodos Hewlett Packard 8452ª, conectado a un aparato de disolución Prolabo, empleando el sistema número 2 de la USP XXIII Ed. Todos los test se llevaron a cabo para seis replicados en 1000 ml de medio de disolución a una

temperatura de 37±0.5ºC con una velocidad de agitación de las palas de 100 r.p.m. Se emplearon dos medios de disolución diferentes: un tampón fosfato de pH 6.8±0.05 y un tampón de ácido clorhídrico de pH 1.2±0.05. La duración de los ensayos fue de 12 horas cuando se utilizaba el primer tampón, y de 2 horas cuando se empleaba el segundo medio. Las longitudes de onda seleccionadas fueron de 242 nm. para el AcT y de 272 nm. para la T.

Paralelamente, se determinaron las cantidades reales de principios activos que contenían todas las formulaciones y corregir así las gráficas de los perfiles de liberación. Para ello, se tomaron cuatro replicados por formulación, con una cantidad conocida teórica de AcT y T según el caso. Se dejaron bajo agitación constante durante 24 horas y se procedió a su valoración a partir de las rectas de calibrado obtenidas para la validación del método analítico, etapa que se detalla en el anexo I del presente capítulo.

La fracción de pelets utilizados para los ensayos de disolución, fue la comprendida para los tamaños de 1250 µm. y 750 µm.

El estudio de los perfiles de liberación, se planteó a través de un seguimiento modelo independiente (es decir mediante la comparación estadística de diferentes parámetros de disolución, junto con la comparación a través del cálculo de f_1 y f_2.) así como otro seguimiento modelo dependiente (mediante el ajuste de los perfiles de liberación a la cinética de Higuchi).

Para el tratamiento estadístico de los datos obtenidos en los ensayos de disolución in vitro, se hizo un estudio comparativo de los dos principios activos por separado. En el caso del AcT se hizo un ANOVA de una sola vía (previa comprobación de la normalidad y homogeneidad de varianzas) seguido de un test de comparación múltiple SNK (Student-Newman-Keuls) con el Sigmastat 1.0 para comparar las diferencias entre las medias de los siguientes parámetros: Q_{10}, Q_{25}, Q_{120} (cantidades disueltas a los 10, 25 y 120 minutos respectivamente) y AUC_0^{120} (área bajo la curva entre tiempo cero y 120 minutos) para el caso del jugo gástrico; y Q_{10}, Q_{25}, Q_{120}, Q_{360}, Q_{720}, y AUC_0^{720} para el jugo entérico. En el caso de la T se realizaron los mismos ANOVAS, salvo en el caso de Q_{360}, y Q_{720}, ya que a estos tiempos se completó la liberación del principio activo. Por último, también se

emplearon ANOVAS de dos vías para los datos obtenidos en los dos medios de disolución para ver las diferencias que se presentan a dos niveles: almidón mayoritario empleado (AM o AT), y cantidad de WAM añadido (5%, 10% o 20%).

Por otro lado, para la comparación entre la liberación de una misma formulación en medio gástrico o entérico se recurrió al cálculo de los factores f_1 (factor de diferencia) y f_2 (factor de similitud) propuestos en las guías EMEA y FDA:

$$f_1 = \left\{ \left[\sum_{t=1}^{n} |R_t - T_t| \right] \Big/ \left[\sum_{t=1}^{n} R_t \right] \right\} \cdot 100$$

$$f_2 = 50 \cdot \log \left\{ \left[1 + (1/n) \sum_{t=1}^{n} (R_t - T_t)^2 \right]^{-0.5} \right\} \cdot 100$$

en donde R_t es el valor de disolución del producto considerado como referencia a un tiempo t; T_t es el valor de disolución del producto considerado como test t; y n es el número de puntos muestreados.

Finalmente, se procedió al ajuste de los datos a la cinética de Higuchi ($Q=k \cdot t^{1/2}$), en el caso de los dos principios activos y para los dos medios en los que se hicieron los ensayos. En esta expresión, Q representa el porcentaje de principio activo liberado, k es la velocidad de liberación o de Higuchi, y t el tiempo.

6.3.2.4 Microscopía electrónica de barrido

Los pelets también fueron fotografiados mediante microscopía electrónica de barrido (Leo 435 UP, Leo Electrón Microscopy LTD. UK) tras un proceso de sombreado. Además de recién fabricados, se tomaron microfotografías de los pelets después de ser sometidos al proceso de liberación, para lo que previamente al sombreado se sometieron a una etapa de liofilización con el fin de eliminar el agua.

6.4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.4.1 Análisis morfológico

En la tabla 1 se muestra la composición de los lotes de pelets fabricados, indicando las cantidades de agua empleadas en la etapa de humectación. Las proporciones de humectante se eligieron en función de los resultados previos obtenidos para mezclas de similar composición pero sin principio activo (Almeida-Prieto y col., 2005). La incorporación de ambos principios activos, no impide en ningún momento la obtención de pelets de buena calidad, en principio, similar a los obtenidos en el trabajo anterior, sin embargo es necesario realizar un análisis morfológico detallado mediante AI para comprobar la influencia que la presencia de esos dos principios activos puede tener sobre las formulaciones (tabla 2).

Los resultados muestran que en general la incorporación de ambos fármacos en las partículas que incluyen DB produce una ligera disminución de los valores de Vr y Vp, con respecto la las elaboradas sin principio activo (capítulo 5). Sin embargo, la inclusión de T, en las formulaciones con WAM da lugar a partículas más irregulares que las sin fármaco o las que están cargadas con AcT.

Las partículas que presentan forma más esférica son la 1AcT, 2AcT y 6AcT, con valores de Vr entre comprendidos entre 2 y 4, que indican por tanto que son prácticamente esféricas. Presentan además valores de Vp bajos y muy similares lo que confirma la forma esférica y su poca rugosidad superficial. En el caso de la formulación 6AcT, es interesante destacar como además de una población mayoritaria de partículas casi esféricas, presenta una segunda población importante con un Vr=5.28 que representa un 44.22% de las partículas (en las demás formulaciones con AcT aunque se han identificado algunas poblaciones secundarias, estas presentan valores residuales), que nos describen partículas menos esféricas, cuadradas y con bordes redondeados.

Formulación	Vr (media±sd) (%[a])		Vp (media±sd) (%[a])		Feret (media±sd) (%[a])	
	Pobl 1	Pobl 2	Pobl 1	Pobl 2	Pobl 1	Pobl 2
1AcT	2.77±0.73 (82.76)	6.19±3.28 (17.24)	6.00±0.51 (100)	-	928.25±70.49 (58.31)	1200.13±92.43 (41.69)
2AcT	3.77±0.40 (91.99)	9.06±0.96 (8.01)	6.03±0.22 (92.94)	8.74±0.17 (7.06)	733.33±90.70 (40.32)	1007.66±132.56 (59.68)
3AcT	4.53±0.09 (89.62)	12.56±0.75 (10.37)	6.35±0.11 (72.38)	9.45±1.61 (27.62)	943.32±37.35 (59.16)	1265.19±168.23 (40.84)
4AcT	5.52±1.32 (87.41)	18.20±6.81 (12.59)	7.32±1.26 (52.44)	9.90±0.92 (47.56)	966.32±17.16 (56.08)	1254.32±118.11 (43.92)
5AcT	4.48±0.46 (84.61)	10.25±1.42 (15.39)	6.30±0.20 (81.47)	9.51±1.80 (18.53)	875.96±64.42 (81.64)	1211.75±171.17 (18.36)
6AcT	3.62±0.84 (58.78)	5.28±2.78 (41.22)	6.06±0.22 (77.48)	8.02±0.20 (22.52)	894.77±46.65 (63.00)	1025.32±66.53 (37.00)
7AcT	4.70±0.17 (92.57)	14.17±1.33 (7.43)	6.70±0.51 (61.97)	9.32±0.60 (39.03)	944.05±26.84 (84.21)	1292.32[b] (15.79)
8AcT	6.23±0.41 (84.32)	16.37±5.61 (15.68)	7.59±0.75 (49.18)	10.73±1.81 (50.82)	1037.37±91.07 (55.99)	1334.12±341.67 (44.01)
1T	2.61±0.29 (72.38)	5.04±0.29 (27.62)	5.71±0.13 (100)	-	882.73±62.74 (21.91)	1053.74±43.08 (78.09)
2T	4.38±0.72 (63.49)	8.87±2.57 (36.51)	6.60±0.47 (65.09)	8.48±0.72 (34.91)	1018.87±212.6 (62.65)	1107.60±273.37 (37.35)
3T	3.92±0.36 (44.81)	7.84±0.90 (38.33)	7.38±0.38 (84.79)	12.22±1.92 (15.21)	1000.31±29.85 (65.86)	1430.34±102.01 (34.14)
4T	6.61±0.66 (83.98)	16.81±4.22 (16.02)	7.71±1.18 (45.79)	10.62±1.24 (54.21)	1011.92±48.10 (64.05)	1402.96±295.18 (35.95)
5T	4.24±1.09 (70.42)	8.00±2.28 (29.58)	6.65±0.27 (91.61)	9.37[b] (8.39)	1078.26±107.4 (84.66)	1212.58[b] (15.34)
6T	4.23±0.51 (78.19)	9.50±3.33 (21.81)	6.80±0.23 (97.88)	11.42[b] (2.12)	1047.21±117.7 (90.40)	1250.35[b] (9.6)
7T	5.41±0.70 (93.47)	18.19±2.96 (6.53)	7.13±0.24 (36.58)	9.30±0.16 (63.42)	963.82±2.32 (62.74)	1220.30±204.42 (37.26)
8T	6.55±0.57 (92.49)	19.25±3.37 (7.51)	8.32±1.38 (80.99)	11.94±0.46 (19.01)	1011.87±14.45 (65.83)	1286.78±75.63 (34.17)

Tabla 2: *Resultados del análisis morfológico de las formulaciones elaboradas.*
[a] Hace referencia al porcentaje de cada población con respecto al total de la formulación.
[b] No se indica la desviación estándar porque sólo se encontró esa segunda población en un replicado de los tres fabricados.

El resto de formulaciones elaboradas con AcT son menos esféricas que las citadas. A partir de estos resultados es evidente que a medida que se incrementa la cantidad de WAM las partículas tienden a adoptar formas más cuadradas o incluso elípticas y rectangulares. Además parece que con el AM se obtienen partículas más esféricas. En todos los casos el diámetro de Feret en las poblaciones encontradas estaba en torno a 1000 µm indicando que las cantidades de agente humectante han sido, en principio, adecuadas ya que se empleó una malla de 1 mm para la extrusión.

En el caso de las formulaciones con T, sólo la 1T y 3T presentaron un valor entre 2 y 4 para Vr en sus poblaciones mayoritarias, lo que acompañado de los valores de Vp, ponen de manifiesto que se trata de partículas prácticamente esféricas y lisas. Como norma general también podemos ver como el AM presenta las partículas con mejores características morfológicas. Además las poblaciones minoritarias y más irregulares, son en este caso generalmente mayores que para el AcT. Al igual que en las formulaciones anteriores los niveles de WAM al 20% dan lugar a las partículas más largas debido a la mayor consistencia que induce en los gránulos este material, por lo que a la hora de esferonizar, el extrudido no sufre una deformación plástica adecuada. Por esta razón, el que presenten un diámetro de Feret elevado (3T: 1430.34 µm.; 4T: 1402.96 µm.) no implica que el contenido en agua sea excesivo y estemos ante casos de sobre-humectación de las masas.

6.4.2 Estudio de los perfiles de liberación

6.4.2.1 Partículas con acetónido de triamcinolona

Los perfiles de liberación obtenidos están expuestos en las figuras 1 y 2. En una primera aproximación se observan diferencias evidentes (α>0,01) entre dos grupos de formulaciones, las que incorporan como excipiente secundario DB (1AcT y 5AcT) y las que incluyen WAM (2AcT, 3AcT, 4AcT, 6AcT, 7AcT y 8AcT), presentando un perfil de liberación muy rápido las primeras, y una liberación más lenta y controlada las segundas. El análisis estadístico de los resultados muestra diferencias significativas entre todas las formulaciones ensayadas a medida que se avanza en el tiempo.

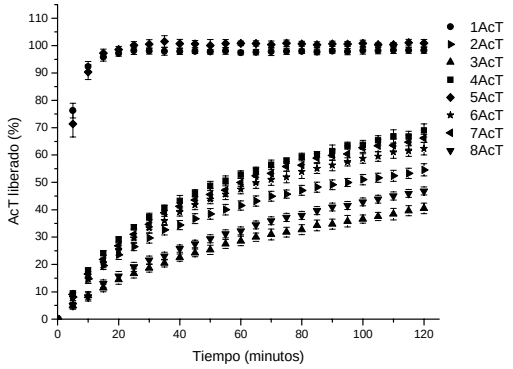


Figura 1: *Perfiles de liberación para el AcT en medio gástrico (pH=1.2±0.05).*

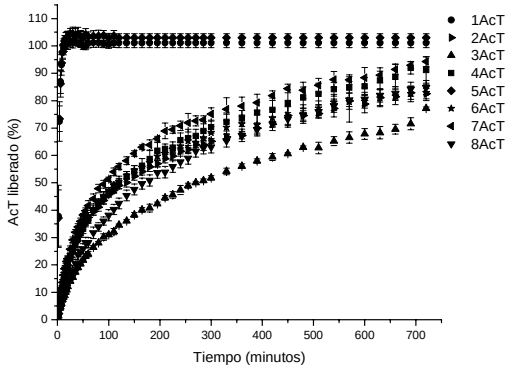
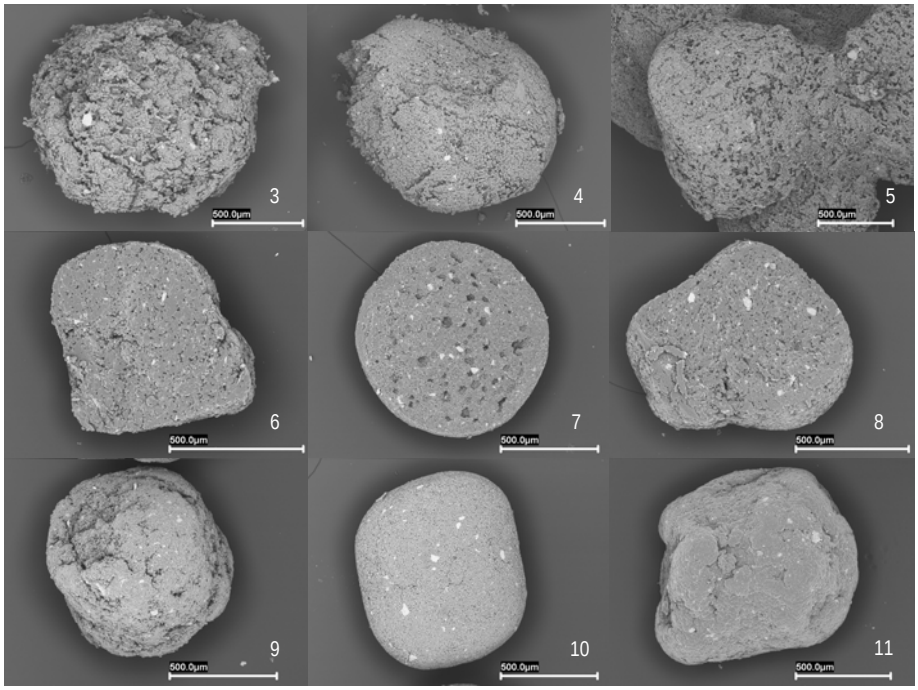


Figura 2: *Perfiles de liberación para el AcT en medio entérico (pH=6.8±0.05).*

Las formulaciones que incorporan DB como excipiente secundario, sufren una rápida disgregación tanto en medio entérico como en gástrico, incorporando la totalidad del fármaco a la disolución en menos de 20 minutos. Este comportamiento contrasta con el habitual de los pelets elaborados a partir de celulosa microcristalina como excipiente base, en los que suele presentarse dificultades a la hora de elaborar formulaciones de liberación rápida. En este sentido, existen numerosos trabajos en los que se trata de incorporan distintos agentes con el fin de acelerar la velocidad de cesión, como son algún excipiente hidrosoluble, tensoactivos o agentes disgregantes, etc. Así por ejemplo Villar López y col., 1999, empleando el mismo fármaco, la AcT, estudiaron el comportamiento de liberación de pelets elaborados con mezclas de Avicel pH 101 y β ciclodextrina, observando que sólo cuando se incorporan cantidades inferiores al 5 % de celulosa microcristalina (cantidades de β–ciclodextrina superiores al 90%) o en ausencia de ésta es posible obtener pelets que se disgreguen y liberen todo el contenido en fármaco en menos de una horas. Otros estudios realizados incorporando disgregantes como la carboximetilcelulosa sódica reticulada (Rodríguez, y col., 2003), o mezclas con otras celulosas (Pérez-Feás y col., 2003; Schröder y col., 1995), muestran la dificultad de alcanzar velocidades de liberación rápida conteniendo celulosa microcristalina a partir de

fármacos poco solubles en agua. Con idéntia finalidad Tho y col., 1993 proponen la utilización del ácido pectínico, logrando resultados similares a los obtenidos por nuestra formulación para los pelets elaborados exclusivamente con éste o en mezclas en las que está en proporción mayoritaria. Por lo tanto, las mezclas de almidones con DB suponen unos interesantes candidatos para la elaboración de pelets de liberación rápida de fármacos con baja hidrosolubilidad.



Figuras 3-11: *Microfotografías realizadas mediante SEM para las partículas liofilizadas tras haber sido sometidas a un ensayo de liberación de las formulaciones 4AcT, 3AcT y 7AcT (figuras 3, 4, y 5 respectivamente); cortes transversales de los pelets sin haber sido sometidos a ningún ensayo de disolución para las formulaciones 4AcT, 3AcT y 7AcT (figuras 6, 7, y 8 respectivamente); y finalmente partículas enteras sin haber sido sometidos a ningún ensayo de disolución para las formulaciones 4AcT, 3AcT y 8AcT (figuras 9, 10, y 11 respectivamente).*

El otro grupo de formulaciones con un comportamiento diferenciado son aquellas elaboradas a partir de mezclas con WAM. En este caso se obtienen típicos perfiles de liberación controlada. Con el fin de estudiar la posible influencia del tipo de almidón

natural y de la relación de WAM/almidón sobre la liberación de AcT, se procedió a la realización de un ANOVA de dos vías ($\alpha<0.01$) incluyendo estas dos variables. Los resultados obtenidos empleando jugo gástrico como medio de liberación indican que se produce una liberación más lenta de AcT a partir de los pelets elaborados con AM como principal excipiente. En cuanto a la cantidad de WAM, ésta influye sobre el control de liberación, aunque no se observa un patrón claro de comportamiento. En este caso son las formulaciones que incorporan un 10% y AM y un 20% y AT las que mayor control ejercen sobre la liberación de la AcT.

En jugo entérico también se observan diferencias entre los pelets elaborados con AM y AT, siendo mayor la liberación cuando se emplea este último almidón natural. Así mismo, en este medio se observa también la influencia del contenido en WAM, siendo nuevamente la formulación 3AcT (10% WAM y AM) la que mayor control de liberación presenta.

Si bien los resultados muestran un efecto claro del tipo de almidón sobre la liberación, es diferente el caso del contenido en WAM. Tal como se observa, la presencia de WAM en principio mejora el control de liberación de los pelets, aunque su inclusión en las proporciones más elevadas, ejerce el comportamiento contrario. Para estudiar este comportamiento se tomaron microfotografías de SEM de los pelets antes y después de someterse al ensayo de liberación. En las figuras 9, 10 y 11 se muestran las microfotografías de los pelets elaborados con AM/20% WAM, AM/10% WAM y AT/20%WAM respectivamente, así como cortes longitudinales mostrando el interior de las partículas (fig 6,7,8). Como se observa el pelet elaborado con AM y un 10% WAM presenta una superficie más lisa y homogénea y un aspecto más compacto. Ademas los cortes longitudinales ponen de manifiesto que pese a que esta formulación presenta oquedades su aspecto parece indicar una mayor densidad, aunque para confirmar estas suposiciones sería necesario realizar un estudio de la microestructura de los pelets. Estas posibles diferencias pueden tener su origen en la etapa de malaxado, ya que probablemente la cantidad de agua añadida en las formulaciones conteniendo la máxima cantidad de WAM puede no ser suficiente para que durante la extrusión no aparezcan

irregularidades en la superficie del extrudido. Por otra parte las microfotografías de lo pelets después del proceso de liberación (fig 3, 4 y 5) muestran claramente la formación de poros y canales así como la erosión de la superficie de los mismos tras el proceso, efecto que es más acusado en las formulaciones que presentan mayor cantidad de WAM.

Formulación	Jugo gástrico (0-120 minutos)[a] Jugo entérico (0-120 minutos)	
	f1	f2
1AcT	-	-
2AcT	11.641	38.259
3AcT	15.058	39.999
4AcT	29.456	12.916
5AcT	-	-
6AcT	19.831	23.231
7AcT	16.441	26.289
8AcT	10.942	43.291
1T	-	-
2T	31.880	15.700
3T	40.971	10.723
4T	36.023	13.760
5T	-	-
6T	45.897	9.916
7T	30.542	17.158
8T	36.074	12.076

Tabla 3: *Cálculo de f1 y f2 para las curvas de disolución en jugo gástrico y entérico (en este caso a los 120 minutos)*
[a]Se utiliza el jugo gástrico como referencia.

Otro aspecto interesante es la comparación de los perfiles obtenidos en medio gástrico y entérico. Teniendo en cuenta el factor f_1 propuesto por la EMEA para la comparación de dos perfiles de liberación (Tabla 3) sólo las formulación 2AcT y 8AcT presentarían perfiles similares en ambos medios (f_1<15) durante los primeros 120 minutos, estando 3AcT en el límite (tabla 3). Estas son precisamente las formulaciones que mejor control de liberación presentan en jugo gástrico. Los casos en los que no se indican los valores de estos parámetros, es porque la liberación fue tan rápida que no hubo puntos suficientes para su cálculo.

Por el contrario si empleamos el factor f_2 propuesto por la FDA todas las formulaciones ensayadas mostrarían perfiles diferentes en ambos medios (f_2<50). En general se observa una liberación más rápida en medio gástrico que entérico.

Formulación	Jugo entérico (0-720 minutos)		Jugo entérico (0-120 minutos)		Jugo gástrico (0-120 minutos)	
	k	r^2	k	r^2	k	r^2
1AcT[a]	31.589	0.873	-	-	-	-
2AcT	3.594	0.920	4.566	0.979	5.192	0.985
3AcT	2.892	0.990	3.018	0.973	3.632	0.985
4AcT	3.845	0.952	4.585	0.978	6.533	0.983
5AcT[a]	31.735	0.879	-	-	-	-
6AcT	3.675	0.902	4.724	0.982	5.924	0.984
7AcT	4.084	0.910	5.183	0.982	6.254	0.987
8AcT	3.470	0.982	3.647	0.963	4.200	0.976

Tabla 4: *Ajustes para la cinética de Higuchi para la AcT en jugo gástrico y entérico.*
[a] la ausencia de algunos ajustes se debe a la presencia de pocos puntos debido a la liberación excesivamente rápida del AcT.

Por último, con el fin de obtener información acerca de los mecanismos implicados en la liberación a partir de estos pelets se realizó un análisis cinético de los perfiles. Como observamos, en la mayoría de los casos se obtiene un valor de ajuste satisfactorio a la cinética de Higuchi (tabla 4) lo que es indicativo de que la cesión del fármaco se produce predominantemente por difusión de éste a través de la estructura matricial de los pelets. En medio entérico, son las formulaciones 3AcT y 8AcT las que presentan un mejor ajuste, presentando además el valor más bajo de k indicando que son las que mejor control de la liberación presentan.

6.4.2.2 Pelets con teofilina

En el caso de pelets conteniendo este principio activo se observa una liberación mucho más rápida para todos los casos ensayados. Así mismo ya no existe una diferencia de comportamiento tan clara en los perfiles de liberación (figuras 12 y 13) como los obtenidos en el caso anterior entre los pelets con DB y los elaborados con WAM.. Así a modo de ejemplo, en jugo gástrico las formulaciones 4T y 3T que son las que más lentamente liberan, ya han cedido sobre un 85% de su contenido a los 30 minutos. En jugo entérico estos perfiles son un poco más lentos con respecto a los anteriores, apareciendo diferencias significativas para Q_{10} y Q_{25} en todas las formulaciones salvo 2T y 7T ($\alpha<0.01$). Finalmente, y al igual que para AcT, parece que las formulaciones con AT presentan una liberación ligeramente más rápida que las que poseen AM.

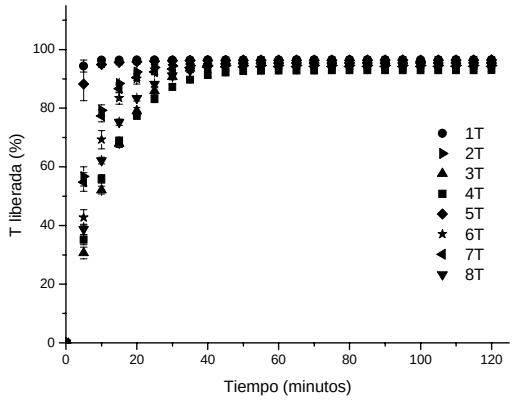


Figura 12: *Perfiles de liberación para la T en medio gastrico (pH=1.2±0.05).*

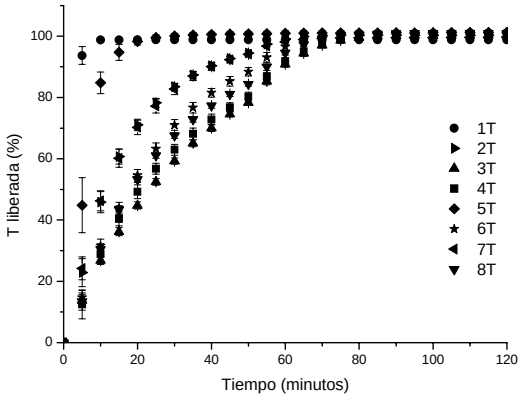


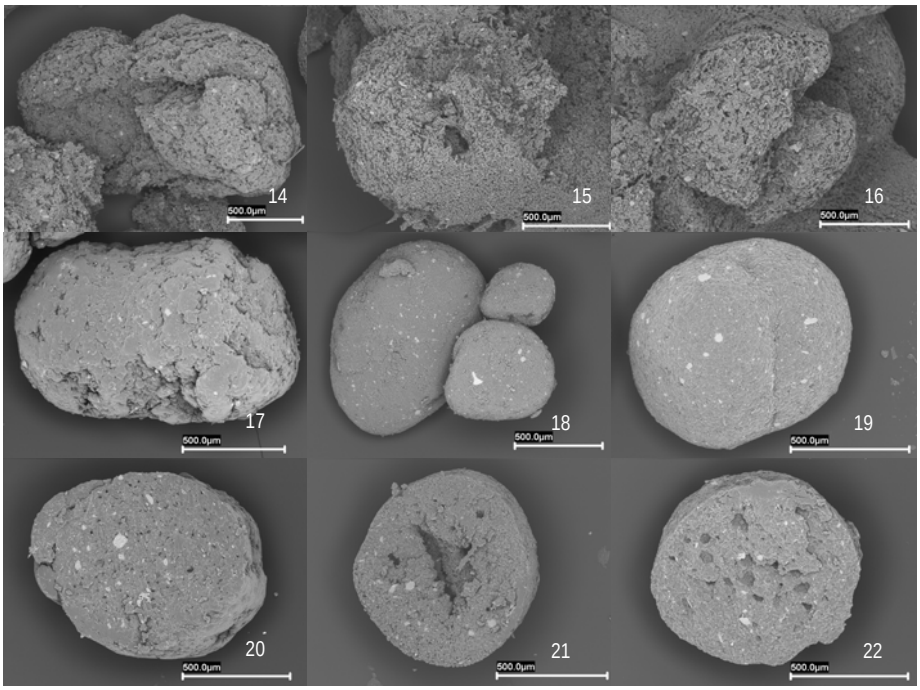
Figura 13: *Perfiles de liberación para la T en medio entérico (pH=6.8±0.05).*

El comportamiento en la liberación de los pelets conteniendo T, se explica en base a dos razones fundamentales: la elevada solubilidad acuosa de la T, y la alta proporción de ésta en los pelets. La teofilina es mucho más soluble en agua que el AcT, y por lo tanto al introducir las partículas en el medio acuoso la T se disuelve con rapidez, formando grandes poros en la matriz de los pelets a través de los cuales se facilitará la liberación del resto del

principio activo contenido en el interior de los mismos. Como además presenta un alto contenido en T (un 25%) los poros formados son muy grandes y numerosos, llegando a agrietarse completamente el pelet (figuras 14-16). Esta puede ser la razón por la que los ajustes al modelo de Higuchi no son excesivamente buenos, y siempre peores a las formulaciones conteniendo AcT. De todos modos y bajo estas condiciones, los pelets aun conservan cierta identidad estructural y no se desmoronan completamente salvo el caso de los elaborados a partir de mezclas con DB. En cuanto a los cortes transversales de las partículas antes de ser sometidas al ensayo de liberación (figuras 20-22), presentan al igual que para el AcT poros internos. Además al igual que el caso anterior la superficie es diferente en las partículas, habiendo casos con más imperfecciones y poros (figura 17) y otros con menos, con superficies más lisas y suavizadas (figuras 18 y 19).

Formulación	Jugo entérico (0-720 minutos)		Jugo gástrico (0-120 minutos)	
	k	r^2	k	r^2
1T	-	-	-	-
2T	14.237	0.932	22.665	0.769
3T	11.149	0.964	16.289	0.950
4T	11.440	0.969	15.945	0.910
5T	-	-	-	-
6T	12.424	0.966	20.805	0.967
7T	13.933	0.924	22.14	0.795
8T	11.907	0.972	17.974	0.935

Tabla 5: *Ajustes para cinética Higuchi para la T en jugo gástrico y entérico.*



Figuras 14-22: *Microfotografías realizadas mediante SEM para las partículas liofilizadas tras haber sido sometidas a un ensayo de liberación de las formulaciones 8T, 2T y 6T (figuras 14, 15, y 16 respectivamente); cortes transversales de los pelets sin haber sido sometidos a ningún ensayo de disolución para las formulaciones 8T, 2T y 6T (figuras 17, 18, y 19 respectivamente); y finalmente partículas enteras sin haber sido sometidos a ningún ensayo de disolución para las formulaciones 8T, 2T y 6T (figuras 20, 21, y 22 respectivamente).*

6.5 CONCLUSIONES

En función de los resultados obtenidos, podemos concluir que es posible la obtención de pelets mediante extrusión-esferonización cargados con un 2% de AcT y un 25% de T a partir de mezclas de diferentes almidones y sus derivados. En función de los excipientes auxiliares que se incorporen sobre la base formada por almidones naturales pueden obtenerse y modularse los perfiles de liberación. Así, para el caso del AcT se nos presentan perfiles de cesión inmediata para las formulaciones con DB ideales para su uso en formulaciones de cesión inmediata, o de liberación controlada en mayor o menor

medida en función de la cantidad de WAM añadido y del origen de los almidones naturales. Para el caso de la T, todas las formulaciones liberan el principio activo de forma muy rápida. Por lo tanto, parece que pueden conseguirse perfiles de liberación lentos para sustancias poco solubles en agua y en un pequeño porcentaje p/p sobre la formulación, mientras que para el caso de sustancias más hidrosolubles incorporadas en grandes cantidades éstos perfiles son mucho más rápidos. Sin embargo al margen de la naturaleza del principio activo empleado y con cargas de hasta un 25% p/p, parece que hay varios denominadores comunes en las partículas obtenidas en los casos que llevan incluido WAM: tras un ensayo de disolución mantienen gran parte de su integridad; tienen poros interiores a través de los cuales se libera el principio activo; la superficie es menos lisa, presentando también más poros al incrementar hasta un 20% la carga de WAM; y finalmente, parece que de forma general el AM presenta perfiles de liberación un poco más lentos que el AT.

ANEXO I

A continuación se procederá a la descripción de los resultados obtenidos para el proceso de validación de los dos principios activos utilizados en el presente capítulo de esta memoria. Según la ICH (Conferencia Internacional de Harmonización) es necesaria una revalidación en el método analítico, en el caso de que se produzcan cambios en el método, o se varíe la composición del producto utilizado como principio activo, que es el caso que nos ocupa. La validación es el proceso de demostrar y documentar que un método funciona de forma adecuada. Las características típicas que suelen considerarse habitualmente en los procesos de validación son las siguientes: Exactitud, precisión (repetibilidad, precisión intermedia, etc…), especificidad, límites de cuantificación y detección, linealidad y rango. Comenzaremos a continuación a citar en que consisten las características evaluadas en esta memoria para el método analítico, así como la forma en que fueron calculadas para los dos principios activos empleados.

Acetónido de triamcinolona

Linealidad

La linealidad de un método analítico es la habilidad que éste presenta para que los resultados obtenidos sean directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra, dentro de un intervalo determinado. Según las normas de la ICH, para evaluar esta propiedad será necesario partir de cómo mínimo cinco concentraciones diferentes. Para la obtención de la recta de calibrado, los datos obtenidos fueron sometidos a una regresión lineal empleando para ello el ajuste al método de los mínimos cuadrados (tablas 6 y 7). Se partió de 5 disoluciones acuosas patrón de referencia, a partir de las cuales se prepararon 8 concentraciones diferentes. La absorbancia fue medida a 242 nm. En la figura 23 se muestran los resultados obtenidos, además del intervalo de confianza y límite de tolerancia para un nivel de confianza del 99.5%.

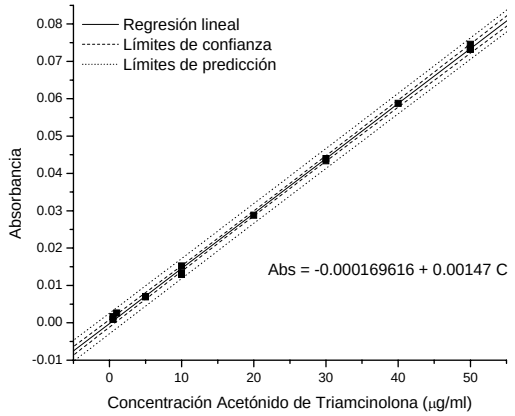


Figura 23: *Recta de calibrado obtenida mediante el ajuste por mínimos cuadrados para el acetónido de triamcinolona en espectrofotometría de ultravioleta.*

	Valor	Error	Intervalo de confianza
A	$1{,}69616 \cdot 10^{-4}$	$3{,}31158 \cdot 10^{-4}$	$8{,}27927 \cdot 10^{-4}$, -0,00117
B	0,00147	$1{,}1882 \cdot 10^{-5}$	0,00151, 0,00144
R	R^2	Root-MSE(SD)	
0.99958	0.99915	$8{,}53678 \cdot 10^{-4}$	

Tabla 6: *Resultados de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de triamcinolona en agua.*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	α
Modelo	1	0.01118	0.01118	15337.46	<0.01
Error	13	$9.47 \cdot 10^{-6}$	$7.29 \cdot 10^{-7}$		
Total	14	0.01119			

Tabla 7: *Resultados del ANOVA de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de triamcinolona en agua.*

Precisión

La precisión de un método analítico expresa el grado de dispersión de una serie de medidas obtenidas de la misma muestra homogénea. Para el cálculo de la precisión del método, se estimó la repetibilidad. En este caso se ha partido de tres concentraciones diferentes y tres replicados por concentración (que son los puntos mínimos exigidos por la ICH). Para ello se procedió al cálculo del coeficiente de variación (CV = SD/m) en donde "SD" y "m" son la desviación estándar y media respectivamente de los tres replicados medidos para cada concentración.

	Concentración real de los replicados (µg/ml)			
Concentración teórica (µg/ml)	A	B	C	CV
5	5.135	5.202	5.097	0.68
20	19.828	20.185	20.147	0.98
50	49.361	49.540	48.893	1.02

Tabla 8: *Cálculo del CV para la estimación de la repetibilidad del método analítico para el caso del acetónido de triamcinolona.*

En función de los resultados obtenidos podemos concluir que la repetibilidad del método es aceptable en el intervalo de concentraciones estudiado. Ya que CV=0.89.

Exactitud

Por exactitud se entiende lo cercanos que están los valores obtenidos en un test con respecto a los valores reales. En este caso también se prepararon tres concentraciones diferentes con tres replicados, mediante el sistema de adición de un patrón con una cantidad de analito conocida. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla.

Cantidad añadida (µg/ml)	Concentración teórica (µg/ml)	Concentración real de los replicados (µg/ml)	RE
	10	9.6927	96,9270
10	10	10.4150	104.1500
	10	10.1210	101.2100
	20	19.6520	98.2600
10	20	19.8110	99.0550
	20	20.0010	100.0050
	30	29.5400	98.4667
10	30	31.4400	104.8000
	30	30.0650	100.2167

Tabla 9: *Cálculo del CV para la estimación de la repetibilidad del método analítico para el caso del acetónido de triamcinolona.*

La recuperación (RE) ha sido calculada a partir de la siguiente expresión:

$$RE = 100 \cdot Cm/Ct$$

en la cual Cm es la concentración medida tras la adición del patrón, y Ct la concentración teórica. A partir de estos valores se procedió al cálculo t a partir de:

$$t = |100 - RE| \cdot \sqrt{n}/CV$$

en donde RE es la media de los valores obtenidos para la recuperación, n es el número de medidas llevadas a cabo, y CV es el coeficiente de variación de la recuperación. Como el valor obtenido del $t_{experimental}$ (0.3892)<t_{tablas} (2.3060), podemos concluir que no existen diferencias significativas entre la recuperación media y el 100%, por lo que la exactitud es correcta.

Límite de cuantificación

El límite de cuantificación (LC), es la cantidad mínima de analito en la muestra que puede ser determinada con una precisión y exactitud aceptable bajo las condiciones experimentales establecidas. El LC se expresa del siguiente modo:

$$LC = 10\sigma/S$$

donde σ es la desviación estándar de la respuesta y S la pendiente de la recta de calibración. Para el cálculo de σ, puede recurrirse a tres métodos diferentes:

a) calculado como la desviación estándar en la medida de 10 blancos diferentes, siendo los siguientes valores los obtenidos para la medida de los blancos: 0.00005, 0.000005, 0.00007, 0.00009, 0.0001, 0.00009, 0.0001, 0.0001, 0.0002, 0.0002 y cuya desviación estándar es $7.13 \cdot 10^{-5}$. LC=0.4852 µg/ml.

b) como la desviación estándar de la recta de regresión, LC=5.80 µg/ml.

c) y finalmente, como la desviación estándar del punto de corte en el eje de ordenadas de la recta de calibrado, LC=2.25 µg/ml.

Límite de detección

El límite de detección (LD) es la cantidad mínima de analito detectable, no siendo necesario un valor exacto de la cantidad. El LD se expresa del siguiente modo:

$$LD = 3.3\sigma / S$$

en donde σ es la desviación estándar de la respuesta y S la pendiente de la recta de calibración. Para el cálculo de σ, y al igual que en el caso anterior, puede recurrirse a tres métodos diferentes, al igual que en el caso anterior:

a) calculado como la desviación estándar en la medida de 10 blancos diferentes; para lo que se utilizaron los datos obtenidos para el cálculo del límite de cuantificación: LD=0.16 µg/ml.
b) como la desviación estándar de la recta de regresión, LD=1.94 µg/ml.
c) y finalmente como la desviación estándar del punto de corte en el eje de ordenadas de la recta de calibrado, LD=0.79 µg/ml.

Robustez

La robustez hace referencia a la capacidad del método analítico de permanecer inalterado ante pequeñas variaciones, probando su correcto funcionamiento en el empleo habitual. En este caso se comprobó la influencia del pH y la temperatura.

	Concentración real de los replicados a Tª ambiente (µg/ml)			Concentración real de los replicados a 37ºC (µg/ml)		
Concentración teórica (µg/ml)	A	B	C	A	B	C
5	5.1354	5.2018	5.0977	5.1365	5.076	4.8023
20	19.828	20.185	20.147	20.159	19.271	19.843
50	49.361	49.54	48.893	48.100	47.630	47.423

Tabla 10: *Cálculo del CV para la estimación de la robustez del método analítico en función de la temperatura (37ºC) para el caso del acetónido de triamcinolona.*

Para el caso de la temperatura, se procedió a averiguar si existían diferencias a la hora de trabajar con las muestras a temperatura ambiente o a 37ºC, ya que será al igual

que los pH estudiados las condiciones en las que se realizarán los ensayos de disolución. Para ello se procedió al igual que en el caso de la precisión a la preparación de tres concentraciones diferentes y tres replicados por concentración para el posterior cálculo del coeficiente de variación.

A partir de estos datos podemos calcular el CV que presenta un valor de 1.54, con lo cual a partir de estos resultados podemos concluir que la temperatura no afecta al método, y por lo tanto en lo que este punto se refiere, la robustez es aceptable en el intervalo de concentraciones estudiado.

	Jugo gástrico	Jugo entérico
A	$-1.03 \cdot 10^{-4}$	$2.131 \cdot 10^{-4}$
B	0.0015	0.0015
R	0.99988	0.99973

Tabla 11: *Resultados de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de triamcinolona en jugo gástrico (pH 1.2), y jugo entérico (pH 6.8)*

Para el caso del estudio de la influencia del pH sobre las medidas realizadas, se obtuvo una recta de calibrado para los dos pH ensayados: 1.2 y 6.8 dentro del rango examinado para la recta calculada en agua, y se comprobó que las rectas obtenidas en las diferentes condiciones de pH coincidían con la del agua ya que los parámetros A y B que definen la recta que conforman, están dentro de los intervalos de confianza que estos mismos parámetros presentan para el caso del agua.

Teofilina

Linealidad

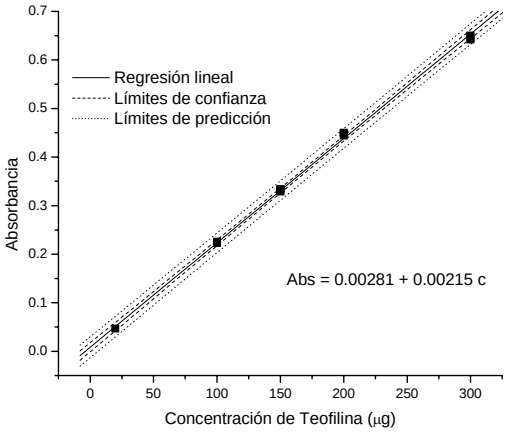


Figura 24: *Recta de calibrado obtenida mediante el ajuste por mínimos cuadrados para la teofilina en espectrofotometría de ultravioleta.*

	Valor	Error	Intervalo de confianza
A	0.00281	0.00319	-0.0014, 0.01782
B	0,00215	$1{,}76719 \cdot 10^{-5}$	0,0021, 0,0022
R	R^2	Root-MSE(SD)	
0.99956	0.99912	0.00644	

Tabla 12: *Resultados de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de teofilina en agua.*

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F	α
Modelo	1	0.6152	0.6152	14815.96	<0.01
Error	13	$5.3980 \cdot 10^{-4}$	$4.1523 \cdot 10^{-5}$		
Total	14	0.61574			

Tabla 13: *Resultados del ANOVA de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de teofilina en agua.*

Al igual que en el caso anterior, para la obtención de la recta de calibrado, los datos obtenidos fueron sometidos a una regresión lineal empleando para ello el ajuste al método de los mínimos cuadrados, y nuevamente se partió de 5 disoluciones acuosas patrón de referencia, a partir de las cuales se prepararon 5 concentraciones diferentes. La absorbancia fue medida a 272 nm.

En la figura 24 y tabla 12 se muestran el intervalo de confianza y límite de tolerancia para un nivel de confianza del 99.5%, junto con los resultados obtenidos para el Anova realizado (tabla 13).

Precisión

Al igual que en el caso anterior, para el cálculo de la precisión del método, se estimó la repetibilidad, partiendo de tres concentraciones diferentes y tres replicados por concentración (que son los puntos mínimos exigidos por la ICH), calculando finalmente el CV.

	Concentración real de los replicados (µg/ml)			
Concentración teórica (µg/ml)	A	B	C	CV
20	16.974	18.029	18.131	0.885
160	155.158	166.093	160.310	3.408
300	292.273	296.238	297.112	3.619

Tabla 14: *Cálculo del CV para la estimación de la repetibilidad del método analítico para el caso de la teofilina.*

A la vista de estos datos, que dan lugar a un CV=2.638, podemos concluir que el método analítico para el caso de la teofilina es preciso.

Exactitud

En este caso también se prepararon tres concentraciones diferentes con tres replicados, mediante el sistema de adición de un patrón con una cantidad de analito conocida. Los resultados obtenidos se muestran en la siguiente tabla, a partir de la cual se calcularon el RE y el $t_{experimental}$.

Cantidad añadida (µg/ml)	Concentración teórica (µg/ml)	Concentración real de los replicados (µg/ml)	RE
	80	78.5221	98.1526
80	80	77.4971	96.8714
	80	82.336	102.9200
	160	154.2301	96.3938
80	160	160.3389	100.2118
	160	165.0332	103.1458
	240	238.1647	99.2352
80	240	243.5087	101.4870
	240	233.4111	97.2546

Tabla 15: *Cálculo del CV para la estimación de la repetibilidad del método analítico para el caso de la teofilina.*

A partir de estos valores se procedió al cálculo t. Como el valor obtenido del $t_{experimental}$ (0.5582)<t_{tablas} (2.3060), podemos concluir que no existen diferencias significativas entre la recuperación media y el 100%, por lo que la exactitud es correcta.

Límite de cuantificación

Al igual que para el caso del acetónido de triamcinolona, los valores obtenidos también han variado en función del método seguido para el cálculo de σ:

a) calculado como la desviación estándar en la medida de 10 blancos diferentes, siendo los siguientes valores los obtenidos para la medida de los blancos: -0.002712, -0.002718, -0.002721, -0.002755, -0.002714, -0.002777, -0.002630, -0.002626, -0.002637, -0.002652, -0.002694 y cuya desviación estándar es $5.41 \cdot 10^{-5}$. LC=0.2587 µg/ml.

b) como la desviación estándar de la recta de regresión, LC=30.8134 µg/ml.

c) y finalmente, como la desviación estándar del punto de corte en el eje de ordenadas de la recta de calibrado, LC=15.26 µg/ml.

Límite de detección

Al igual que en el caso anterior, para su cálculo, puede recurrirse a tres métodos diferentes en función del valor considerado para σ:

a) calculado como la desviación estándar en la medida de 10 blancos diferentes; para lo que se utilizaron los datos obtenidos para el cálculo del límite de cuantificación: LD=0.085 µg/ml.

b) como la desviación estándar de la recta de regresión, LD=10.1684 µg/ml.

c) y finalmente como la desviación estándar del punto de corte en el eje de ordenadas de la recta de calibrado, LD=5.0368 µg/ml.

Robustez

Nuevamente volveremos a estudiar la influencia del pH y la temperatura, ya que son los dos parámetros que más pueden influir en los ensayos de liberación.

En lo referente a la temperatura (tabla 16). Para ello se procedió a la preparación de tres concentraciones diferentes y tres replicados por concentración para el posterior cálculo del coeficiente de variación. A partir de estos datos podemos calcular el CV que presenta un valor de 2.20, con lo cual a partir de estos resultados podemos concluir que la temperatura no afecta al método, y por lo tanto en lo que este punto se refiere, la robustez es aceptable en el intervalo de concentraciones estudiado.

	Concentración real de los replicados a Tª ambiente (µg/ml)			Concentración real de los replicados a 37ºC (µg/ml)		
Concentración teórica (µg/ml)	A	B	C	A	B	C
20	16.9736	18.0293	18.1314	17.5481	18.0244	18.1401
160	155.1576	166.0937	160.3100	155.9645	165.8798	166.6186
300	292.2130	296.2375	297.1124	294.0211	300.3105	299.8828

Tabla 16: *Cálculo del CV para la estimación de la robustez del método analítico en función de la temperatura (37ºC) para el caso la teofilina.*

Para el caso del estudio de la influencia del pH sobre las medidas realizadas, se obtuvo una recta de calibrado para los dos pH ensayados: 1.2 y 6.8 dentro del rango examinado para la recta calculada en agua, y se comprobó que las rectas obtenidas en las diferentes condiciones de pH coincidían con la del agua ya que los parámetros A y B que definen la recta que conforman, están dentro de los intervalos de confianza que estos mismos parámetros presentan para el caso del agua (tabla 17).

	Jugo gástrico	Jugo entérico
A	0.00197	0.00617
B	0.00211	0.00216
R	0.99922	0.99943

Tabla 17: *Resultados de la regresión lineal entre absorbancia y concentración de teofilina en jugo gástrico (pH 1.2), y jugo entérico (pH 6.8)*

BIBLIOGRAFÍA

Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J. 2004. Image analysis of the shape of granulated powder grains. *J. Pharm. Sci.* 93, (621-634).

Almeida-Prieto, S., Blanco-Méndez, J., Otero-Espinar, F.J. 2005. Starch-dextrin mixtures as base excipients for extrusion-spheronization pellets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* In press.

Awad, G.A.S., Charrueau, C.A.A., Allain, P., Chaumeil, J.C. 2002. Formulation and evaluation of bioadhesive pellets containing different carbomers made by extrusion-spheronization. *STP Pharma. Sci.* 12, (157-162).

Baert, L., Remon, J.P. 1993. Influence of amount of granulation liquid on the drug release rate from pellets made by extrusion spheronization. *Int. J. Pharm.* 95, (135-141).

Bianchini, R., Bruni, G., Gazzaniga, A., Vecchio, C. 1992. Influence of extrusion-spheronization on the physical properties of d-indobufen pellets containing pH adjusters. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 21, (1485-1501).

Blanqué, D., Sternagel, H., Podczeck, F., Nexton, J.M. 1995. Some factors influencing the formation and in vitro drug release from matrix pellets prepared by extrusion spheronization. *Int. J. Pharm.* 119, (203-211).

Chatchawalasasin, J., Podczeck, F., Newton, J.M. 2004. The influence of chitosan and sodium alginate and formulation variables on the formation and drug release from pellets prepared by extrusion/spheronisation. *Int. J. Pharm.* 275, (41-60).

Chopra, R., Alderborn, G., Podczeck, F., Newton, J.M. 2002. The influence of pellet shape and surface properties on the drug release from uncoated and coated pellets. *Int. J. Phar.* 239, (171-178).

Conine, J.W. y Hadley, H.R. 1970. Preparation of pharmaceutical spheres. *Drug and Cosmet. Ind.* 90, (38-41).

Costa, F.O., Pais, A.A.C.C., Sousa, J.J.S. 2004. Analysis of formulation effects in the dissolution of ibuprofen pellets. *Int. J. Pharm.* 270, (9-19).

Erkoboni, D.F.1997. Extrusion-spheronization as a granulation technique in *"Handbook of pharmaceutical granulation technology"*. Ed. Parikh, D.M. New York. pp333-368.

Follonier, N., Doelker, E. 1992. Biopharmaceutical comparison of oral multi-unit and single-unit sustained-release dosage form. *STP Pharma. Sci.* 2, (141-158).

Ghali, E.S., Klinger, G.H., Schwartz, J.B. 1989a. Modified drug release from beads prepared with combinations of two grades of microcrystalline cellulose. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (1455-1473).

Ghali, E.S., Klinger, G.H., Schwartz, J.B. 1989b. Thermal treatment of beads with wax for controlled release. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 15, (1311-1328).

Goskonda, S.R., Hileman, G.A., Upadrashta, S.M. 1994. Controlled release pellets by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 111, (89-97).

Grassi, M., Voinovich, D., Moneghini, M., Franceschinis, E., Perisstti, B., Filipovic-Greic, J. 2003. Preparation and evaluation of a melt pelletised paracetamol/stearic acid sustained release delivery system. *J. Cont. Rel.* 88, (381-391).

Higuchi, T. 1963. Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *J. Pharm. Sci.* 52, (1145-1149).

Krogars, K., Heinämäki, J., Vesalahi, J., Marvola, M., Antikainen, O., Yliruusi, J. 2000. Extrusion-spheronization of pH-sensitive polymeric matrix pellets for possible colonic drug delivery. *Int. J. Pharm.* 199, (187-194).

Linder, V.H., Kleinebudde, P.K. 1994. Use of powdered cellulose for the production of pellets by extrusion/spheronization. *J. Pharm. Pharmacol.* 46, (2-7).

Milojevic, S., Newton, J.M., Cummings, J.H., Gibson, G.R., Botham, R.L., Ring, S.G., Stockham, M., Allwood, M.C. 1996. Amylose as a coating for drug delivery to the colon: preparation and in vitro evaluation using glucose pellets. *J. Cont. Rel.* 38, (85-94).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Durrani, M.J. 1996. Fabrication and characterization of extruded and spheronized beads containing Carbopol® 974P, NF resin. *Int. J. Pharm.* 131, (47-55).

Neau, S.H., Chow, M.Y., Hileman, G.A., Durrani, J., Gheyas, F., Evans, B.A. 2000. Formulation and process considerations for beads containing Carbopol® 974P, NF resin made by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 199, (129-140).

O'Connor, R.E., Holinez, J., Schwartz, J.B. 1984. Spheronization I: Processing and evaluation of spheres prepared from commercially available excipients. *Am. J. Pharm.* 150, (80-87).

O'Connor, R.E., Schwartz, J.B. 1985. Spheronization II: drug release from drug-diluent mixtures. *Drug Dev. Ind. Pharm.* 11, (1837-1857).

O'Connor, R.E., Schwartz, J.B. 1989. Extrusion and spheronization technology in *"Pharmaceutical pelletization technology"* Ed by Ghebre-Sellassie, I. New York, pp 187-239.

Pérez-Feás, C., Souto, C., Martínez-Pacheco, R. 2003. Utilidad de mezclas celulosa microcristalina-celulosa microfina como excipientes base en extrusión-esferonización. *VI Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica, Granada 2003,* pp311-314.

Pinto, J.F., Buckton, G., Newton, J.M. 1992. The influence of four selected processing and formulation factors on the production of spheres by extrusion and spheronisation. *Int. J. Pharm.* 83, (187-196).

Reynolds, A.D. 1970. A new technique for the production of spherical particles. *Mfg. Chem. Aerosol News* 40 (40-43).

Robinson, R.L., Hollenbeck, R.G. 1991. Manufacture of spherical acetaminophen pellets: Comparison on rotary processing with multiple step extrusion and spheronization. *Pharm. Tech.* 80, (48-56).

Rodríguez Gómez A., Anguiano Igea S., Otero Espinar F.J., Blanco Méndez J. 1996. Effect of bioadhesives polymers on pellets obtained by extrusion-spheronization. *3rd European Congress of Pharmaceutical Sciences. Edinburg* (15-17).

Rodríguez, J.A., Gómez-Amoza, J.L., Souto, R., Martínez-Pacheco, R. 2003. Evaluación d la actividad disgregante de una carboximetilcelulosa sódica reticulada en pelets de hidroclortiazida-celulosa microcristalina. *VI Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica, Granada 2003,* pp189-192.

Schmidt, W.G., Mehner, W., Frömming, K.H. 1996. Controlled release from spherical matrices prepared in a laboratory scale rotor granulator release mechanism interpretation using individual pellets data. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 42, (348-350).

Schröeder, M., Kleinebudde, P. 1995. Influence of formulation parameters on dissolution of propyphenazone pellets. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 41, (382-387).

Tapia, C., Buckton, G., Newton, J.M. 1993. Factors influencing the mechanism of release form sustained release matrix pellets, produced by extrusion/spheronisation. *Int. J. Pharm.* 92, (211-218).

Tho, I., Sande, S.A., Kleinebudde, P. 2003. Disintegrating pellets from a water-insoluble pectin derivative produced by extrusion/spheronization. *Eur. J. Pharm Biopharm.* 56, (371-380).

Varshosaz, J., Kennedy, R.A., Gipps, E.M. 1997. Effect of binder level and granulating liquid of phenylbutazone pellets prepared by extrusion-spheronization. *Drug Dev, Ind. Pharm.* 23, (611-618).

Vervaet, C., Baert, L., Remon, J.P. 1994. Enhancement of in-vitro drug release by using polyethylene glycol 400 and PEG-40 hydrogenated castor oil in pellets made by extrusion-spheronization. *Int. J. Pharm.* 108, (207-212).

Vila Jato, J.L, Blanco Méndez, J. Otero Espinar, F.J., Anguiano Igea, S. Amela J. *1995.* Obtention of bioadhesive pellets by extrusion/spheronisation. 1st World Meeting on Pharmaceutics, Biopharmaceutics and Pharmaceutical Technology, Budapest (821-822).

Villar-López, M.E., Nieto-Reyes, L., Anguiano-Igea, S., Otero-Espinar, F.J., Blanco-Méndez, J. 1999. Formulation of triamcinolone acetonide pellets suitable for coating and colon targeting. *Int. J. Pharm.* 179, (229-235).

Zhang, G., Schwartz, J.B., Schnaare, R.L. 1990. Effect of spheronization technique on drug release from uncoated beads. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 16, (1171-1184).

Zhang, G., Schwartz, J.B., Schnaare, R.L., Wigent, R.J., Sugita, E.T. 1991. Bead coating II: Effect of spheronization technique on drug release from coated spheres. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 17, (817-830).

Zhou, F., Vervaet, C., Massart, D.L., Massart, B., Remon, J.P. 1998a. Optimization of the processing of matrix pellets based on the combination of waxes and starch using experimental design. *Drug. Dev. Ind. Pharm.* 24, (353-358).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1996. Matrix pellets based on the combinations of waxes, starches and maltodextrins. *Int. J. Pharm.* 133, (155-160).

Zhou, F., Vervaet, C., Remon, J.P. 1997. Influence of processing on the characteristics of matrix pellets based on microcrystalline waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 147, (23-30).

Zhou, F., Vervaet, C., Schelkens, M., Lefebre, R., Remon, J.P. 1998b. Bioavailabity of ibuprofen from matrix pellets based on the combination of waxes and starch derivates. *Int. J. Pharm.* 168, (79-84).

Capítulo 7

Discusión general

La caracterización morfológica de partículas siempre ha sido una etapa importante en los procesos de la Tecnología Farmacéutica, ya que proporciona información respecto de la calidad de las partículas fabricadas. Las propiedades morfológicas permiten además monitorizar los procesos de producción de pelets y partículas, proporcionando información sobre la idoneidad de los excipientes para la preparación de partículas esféricas. Es por ello que a lo largo de los años la realización de este tipo de análisis ha sido importante, lo que ha provocado la aparición de diversos trabajos proponiendo diferentes factores de forma que pudieran permitir obtener una información, lo más realista posible, de la morfología de las partículas. Si bien este tipo de análisis es importante en la totalidad de los procesos de granulación,

microencapsulación y peletización, cobra especial relevancia en el ámbito de la extrusión-esferonización.

El modo de enfocar este problema, generalmente, ha sido el intentar cuantificar lo que la forma de una partícula se acerca o aleja de una esfera perfecta, sin intentar profundizar en determinar la forma real de la partícula. Esta situación ha podido estar condicionada en gran medida, por el nulo o escaso desarrollo de herramientas como la fotografía digital y la informática, que permiten realizar cálculos y determinaciones complejas en un breve período de tiempo. Por ello, aprovechando las enormes ventajas y potencia de cálculo que permiten actualmente estas herramientas, en la primea parte de esta memoria (capítulos 2, 3, y 4) hemos propuesto y definido un nuevo método de evaluación basado en dos nuevos factores de forma definidos para tal fin. Estos parámetros han sido definidos no sólo con el fin de indicar lo cercana que está la proyección de la imagen de una partícula a un círculo, sino también de proporcionar información acerca de otras posibles formas que se nos presenten en las poblaciones de pelets obtenidos.

Para conseguir los objetivos, se proponen Vr y Vp (capitulo 2), como parámetros alternativos a los más utilizados en este tipo de análisis: relación de aspectos, circularidad, o el más actual e_r. Los dos nuevos factores propuestos demostraron proporcionar una información sobre la forma mas completa que los tres anteriores, sobre todo cuando se evalúan de manera conjunta (ver los valores orientativos en la tabla 3 del capítulo 2) lo que permite un mejor funcionamiento a la hora de discriminar las diferentes formas geométricas que pueden presentarse en los procesos de peletización. El estudio inicial del comportamiento de estos parámetros se estableció a partir de proyecciones de partículas simuladas con un programa de dibujo vectorial. Para ello se estableció su comportamiento evaluando la influencia de diversas variables morfológicas y técnicas sobre el análisis de la forma de las proyecciones (rugosidad superficial, tamaño de la partícula analizada, condiciones de análisis etc.). Los resultados muestran diferencias apreciables con los otros parámetros estudiados. Como diferencias más importantes señalar que e_r, al igual que AR, no son capaces de discernir adecuadamente entre

partículas que tienen una relación de aspecto (longitud/anchura) próxima a la unidad, lo que trae como consecuencia, que consideren como esféricas a partículas que no lo son. Incluso, otorgan una mayor esfericidad a un cuadrado que a circunferencias que presenten sólo una ligera excentricidad (tabla 1b, capítulo 2). La circularidad, por otro lado, se muestra completamente insensible a variaciones en la excentricidad no pudiendo diferenciar gran parte de las formas elípticas evaluadas de las formas esféricas.

La mayor parte de estos razonamientos emitidos a partir de resultados obtenidos con formas simuladas, fueron ratificados en la práctica empleando 3 formulaciones de pelets que presentaban formas diferentes. El resultado del análisis morfológico empleando los nuevos parámetros fue excelente, ya que el empleo conjunto de Vr y Vp, conjuntamente con el ajuste multipoblacional de los datos, nos da una idea muy buena de las poblaciones presentes en los lotes de pelets, información en todos los casos superior a la obtenida con los otros parámetros utilizados para su comparación.

Para poner a punto el sistema de medida, fue necesaria su validación, para lo que se planteó el estudio de ciertas variables que podían influir de manera muy marcada en los resultados finales del AI. Por un lado están las variables tecnológicas dependientes del equipo utilizado, como por ejemplo la iluminación (en cuanto a posición de la fuente de la luz e intensidad), nivel de umbral de grises (*threshold)*, tamaño de píxel utilizado, número mínimo de partículas medidas. Mientras que por otro lado, como consecuencia del desarrollo que han desarrollado los equipos de AI surgen otra serie de variables asociadas al empleo de las modernas cámaras digitales de fotografía como son, la resolución de la imagen, el tipo de archivo y compresión empleados. Los resultados obtenidos tras el estudio muestran que además de tener en cuenta estas variables, es muy importante conocer perfectamente el funcionamiento y los cálculos desarrollados por el programa de AI, ya que varían mucho de unos a otros. De hecho, en los tres utilizados para la realización de este trabajo (ImagePro, SigmaScan, y PC Image), se encontraron importantes diferencias en las medidas que proporcionan. Así, el PC Image no permite obtener las coordenadas del perímetro, el Image Pro solo proporciona las coordenadas de

los píxeles que están en los vértices y el SigmaScan todas las de los píxeles que conforman el perímetro.

Además de todas estas variables que influyen de manera tan marcada, hay otra serie de factores "teóricos" que influyen si cabe todavía más a la hora del establecimiento de las bases para las comparaciones de las características morfológicas de las partículas: la correcta y exacta definición de los factores de forma empleados, así como las medidas de los parámetros directos empleados en su cálculo.

En la segunda parte de esta memoria se procedió a la fabricación de pelets a partir de diferentes mezclas de almidones y sus derivados. Para ello, el empleo conjunto de la reometría de torsión y el cálculo de la capacidad de retención de agua, proporcionan información muy útil acerca del comportamiento de los excipientes y sus mezclas. El análisis morfológico de los lotes de pelets obtenidos permitió extraer información interesante sobre los materiales empleados para su elaboración, pudiendo ser comparable la forma obtenida para varios de los lotes a la de pelets obtenidos con Avicel pH 101.

Los resultados ponen en evidencia la relación existente entre la escasa plasticidad que presenta el extrudido elaborado con WAM, en comparación a las partículas elaboradas con DB o DA, ya que a medida que se incrementa la cantidad de WAM las propiedades morfológicas de las partículas empeoran sensiblemente.

Una vez comprobada la posibilidad de obtención de pelets de calidad adecuada con estos excipientes se procedió a la incorporación de principios activos.

El efecto de la adición del principio activo fue mucho más marcado en el caso de la teofilina que en el caso del acetónido de triamcinolona, ya que aunque fue posible la obtención de pelets en todas las mezclas propuestas, en el caso de la teofilina debido al elevado porcentaje en que fue incluida se hizo necesario disminuir la cantidad de agua adicionada en alguna de las formulaciones con respecto a la utilizada sin fármaco. En el caso de la triamcinolona, la proporción de partículas que presentan forma más esférica, es más grande que en el caso de la teofilina.

En cuanto a los perfiles de liberación obtenidos, resulta muy interesante ver como se pueden obtener curvas de diferente naturaleza para el caso de la triamcinolona, ya que

en función de las mezclas de excipientes empleadas, pueden obtenerse perfiles de liberación rápida o de liberación controlada. Este amplio abanico de posibilidades hace que estos materiales se presenten como muy interesantes para el caso de fármacos poco solubles en agua y que se incorporen a dosis bajas.

En cuanto a sustancias hidrosolubles, sobre todo incorporadas a cargas tan elevadas como las utilizadas en este trabajo es evidente que las partículas no son capaces de ejercer un control efectivo de la liberación, por lo que se necesitaría acudir a otras técnicas, o a otros excipientes para mejorar el comportamiento.

Capítulo 8

Conclusiones

A partir de los datos obtenidos en la presente memoria experimental podemos concluir que los factores de forma propuestos para el análisis morfológico de partículas, Vr y Vp, resultan ser de gran utilidad no sólo para establecer la esfericidad que éstas presentan, sino también el tipo de geometría predominante en las diferentes poblaciones, lo que hace de estos factores de forma una herramienta muy adecuada para la monitorización del proceso de fabricación de pelets. Para ello es necesario tener en cuenta no sólo el control de ciertas variables tecnológicas como son por ejemplo la intensidad de luz, resolución, o programa de AI empleado, sino que también es necesario tener perfectamente definidos los parámetros a partir de los cuales van a ser calculados los

factores de forma que se utilicen para que los resultados puedan se extrapolados a los obtenidos entre diferentes laboratorios.

Por otro lado, se demuestra que en la peletización mediante extrusión-esferonización el empleo de almidones nativos mezclados con algunos de sus derivados como el WAM y la DB en ausencia de celulosas microcristalinas da lugar a la formación de partículas de una calidad aceptable y que permiten obtener diferentes perfiles de liberación en el caso de principios activos muy poco solubles que estén incluidos en escasa proporción.

Es por ello que estos materiales presentan un gran potencial, no sólo por su precio mucho más económico que la celulosa microcristalina, sino también por la versatilidad de las mezclas para la obtención de perfiles de disolución inmediatos o bien de liberación controlada en función de las combinaciones utilizadas.