

ARTÍCULOS ORIGINALES

DESARROLLO DE NUEVOS SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA Y ADMINISTRACIÓN ORAL PARA EL TRATAMIENTO DE LA TUBERCULOSIS

Development of new oral drug delivery systems for tuberculosis treatment

MARÍA OLIVERA,^{1,2} LAURA LUCIANI GIACOBBE,^{1,2} MARÍA RAMÍREZ RIGO,¹ CAROLINA ROMAÑUK,^{1,2}

RESUMEN. INTRODUCCIÓN: Rifampicina es inestable en medio ácido, y su descomposición es acelerada por isoniazida. El desarrollo de una formulación que permita la liberación secuencial de rifampicina (en estómago) e isoniazida (en intestino) podría superar este inconveniente. OBJETIVO: Obtener materiales portadores de rifampicina e isoniazida mediante acomplejamiento con polielectrolitos y caracterizarlos para determinar su utilidad en el desarrollo de sistemas de liberación sitio-específica, en combinación a dosis fija. MÉTODOS: Se utilizaron carboximetilcelulosa (CMC) y ácido alginico (AA) como polielectrolitos modelo. Se obtuvieron series de complejos CMC-rifampicina y AA-isoniazida. Se caracterizó el tipo de interacción, la capacidad de carga y las características reológicas de los materiales sólidos que, tras ser compactados bajo la forma de matrices simples o mixtas, fueron sometidos a ensayos de liberación en medios biorrelevantes. RESULTADOS: La interacción entre los grupos involucrados fue iónica, con una capacidad de carga del 100%. Los materiales presentaron propiedades de flujo desfavorables, con mejora por granulación. Las matrices liberaron rápidamente rifampicina en medio ácido con mínimos niveles concomitantes de isoniazida. La matriz seleccionada presentó liberación modulada de isoniazida, completada al cabo de 3 horas en un medio que simulaba el contenido intestinal. CONCLUSIONES: Los nuevos materiales pueden ser utilizados en el desarrollo de una formulación oral de liberación sitio-específica, capaz de mejorar la efectividad, reducir efectos adversos e incrementar la estabilidad de rifampicina.

ABSTRACT. INTRODUCTION: Rifampicin is unstable in acidic medium and its decomposition is accelerated by isoniazid. The development of a formulation to allow the sequential release of rifampicin (in stomach) and isoniazid (in gut) could overcome this problem. OBJECTIVE: To obtain materials with rifampicin and isoniazid, loaded in polyelectrolyte polymers and characterize them in order to determine their utility in the development of oral delivery systems for site-specific fixed-dose combination. METHODS: Carboxymethylcellulose (CMC) and alginic acid (AA) were used as polyelectrolytes. Series of complexes CMC-rifampicin and AA-isoniazid were obtained. The type of interaction, loading capacity and rheological properties were characterized in solid materials, which after compaction under simple or combined matrixes were tested in biorrelevant media. RESULTS: The interaction between components was ionic, and loading capacity was 100%. The powders showed unfavorable flow properties, improving by granulation. Release of rifampicin in acidic medium was fast, with minimal concomitant levels of isoniazid. The selected matrix showed a controlled release of isoniazid, which was completed after 3 hours in simulated intestinal media. CONCLUSIONS: The new materials can be used for the development of site specific oral formulations of rifampicin and isoniazid. They may lead to improved effectiveness, reduced side effects and higher rifampicin stability.

PALABRAS CLAVE: Tuberculosis - Sistemas de liberación de fármacos - Matrices hidrofílicas

KEY WORDS: Tuberculosis - Controlled release systems - Hydrophilic matrixes

¹ Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba

² Unidad de Investigación en Tecnología Farmacéutica (UNITEFA), CONICET

FUENTES DE FINANCIAMIENTO: Beca "Carrillo-Oñativia", Comisión Nacional Salud Investiga, Ministerio de Salud de la Nación. Subsidio SeCyT-UNC, Código 05/C477, Secretaría de Ciencia y Técnica, Universidad Nacional de Córdoba.

FECHA DE RECEPCIÓN: 25 de julio de 2011

FECHA DE ACEPTACIÓN: 29 de noviembre de 2011

CORRESPONDENCIA A: María Eugenia Olivera
Correo electrónico: meoliver@fcq.unc.edu.ar

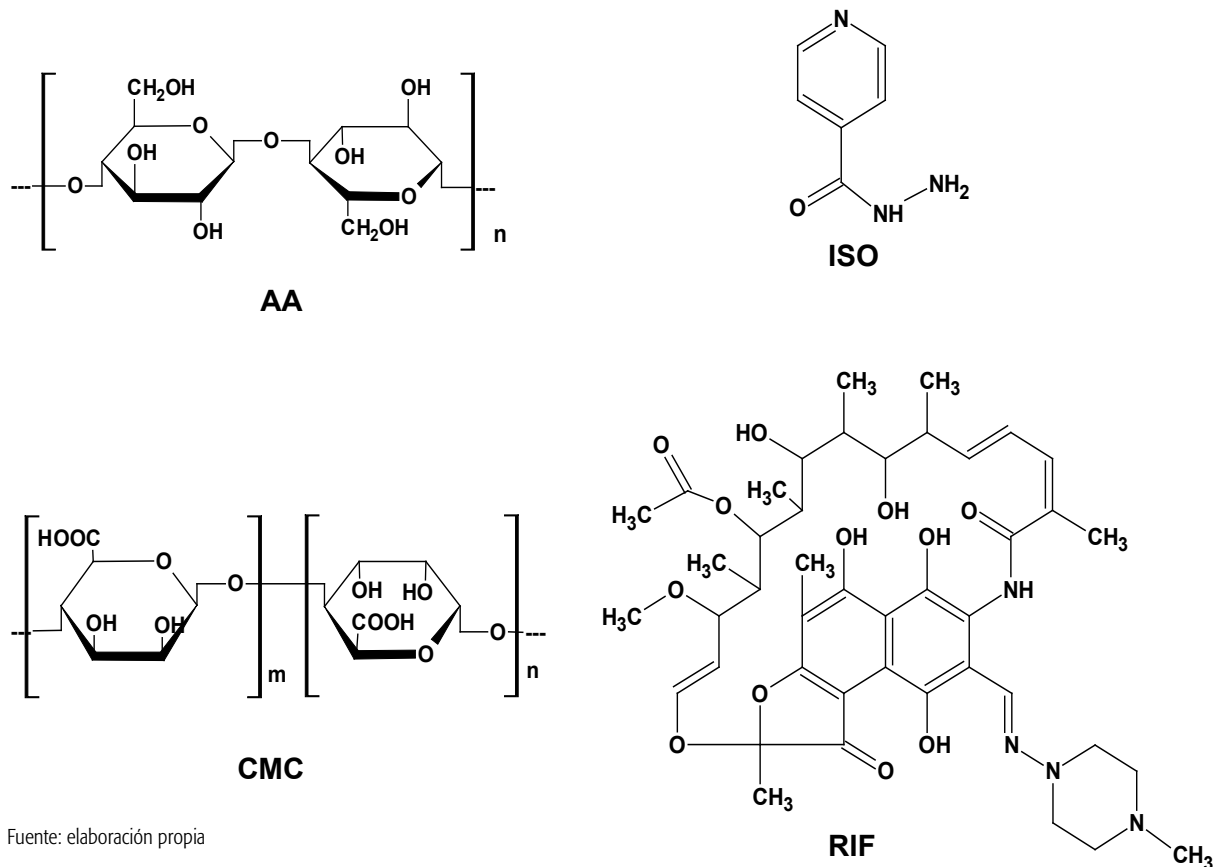
INTRODUCCIÓN

Cada año 7-8 millones de personas resultan infectadas con tuberculosis en el mundo, y las cifras van en aumento. Esta enfermedad es prevenible, y su control puede ser costo-efectivo. El control inadecuado es la mayor causa de tuberculosis multirresistente, que encarece el tratamiento y en algunos casos es incurable.

Rifampicina (RIF) e isoniazida (ISO) (Figura 1) son fármacos de primera línea¹ que se utilizan en el tratamiento de la tuberculosis. Se administran como formas farmacéuticas sólidas (comprimidos y/o cápsulas) de liberación inmediata en combinación a dosis fijas (CDF) y, además, pueden estar asociadas a etambutol y pirazinamida.

Es ampliamente conocida la inestabilidad química de RIF en presencia de ISO, que se ve favorecida in vivo en el entorno ácido del medio estomacal.¹ Esta descomposición varía entre 8,5 y 50% de la dosis y es acelerada por la presencia

FIGURA 1. Fórmula estructural de ácido alginico (AA), carboximetilcelulosa (CMC), isoniazida (ISO) y rifampicina (RIF).



Fuente: elaboración propia

de ISO en la formulación, en una magnitud proporcional a su concentración.² Por otra parte, la baja hidrofiliidad de RIF incide negativamente en su disolución.^{3,4} Estos aspectos, entre otros, pueden afectar la biodisponibilidad oral de RIF cuando se administra en CDF con ISO, lo que da lugar a niveles plasmáticos sub-terapéuticos de RIF. Así aumenta el riesgo de resistencia, ya que su actividad es altamente dosis-dependiente^{5,6} y su mecanismo de resistencia se desarrolla en un único paso.⁷ Además, RIF es un potente inductor del complejo enzimático CYP450 en hígado e intestino, por lo que aumenta el metabolismo de varias sustancias. El uso combinado de RIF e ISO se ha asociado con un mayor riesgo de hepatotoxicidad. Esto se debe a que RIF induce la metabolización de ISO a hidracina, la cual es tóxica y produce daño celular irreversible a nivel hepático.⁸

En los últimos años se han introducido en la farmacoterapia numerosos sistemas de liberación controlada –muchos de ellos de administración oral– que ofrecen ventajas respecto a las formulaciones convencionales. Las matrices hidrofílicas atrajeron particularmente la atención de los autores.⁹⁻¹¹ Cabe señalar que las matrices convencionales son sistemas monolíticos, que contienen uno o más fármacos homogéneamente dispersos en una matriz polimérica. Dentro de este marco, se evaluaron las propiedades de liberación de las nuevas matrices hidrofílicas polielectrolito-fármaco (MHPF), obtenidas por compactación de complejos entre polielectrolitos (PE) total o parcialmente neutralizados con un fármaco ionizable.

A diferencia de las convencionales, las MHPF contienen una dispersión molecular del fármaco en la masa de la matriz, dado que el fármaco está iónicamente unido a los grupos funcionales del PE como un complejo PE-fármaco. Del mismo modo que ha sido descrito para las matrices convencionales, la superficie externa de las MHPF se moja e hincha rápidamente en contacto con el medio acuoso, desarrollando una capa de hidrogel que actúa como barrera externa entre el medio y la porción no mojada de la matriz.

A pesar del gran auge de los sistemas de liberación controlada experimentado durante los últimos tiempos, la tuberculosis sigue siendo una enfermedad “desatendida”. La industria farmacéutica ha realizado una escasa investigación e inversión para desarrollar nuevos productos destinados a su tratamiento.¹² Sin embargo, la literatura científica describe varios sistemas potencialmente útiles para la liberación modificada de fármacos anti-tuberculosos,¹³ en particular, sistemas para administración oral y micro-nano partículas para administración pulmonar.^{9-11,14-18}

El desarrollo de sistemas dirigidos a una liberación sostenida y secuencial de RIF (en estómago) e ISO (en intestino) podría mejorar la efectividad, reducir efectos adversos e incrementar la estabilidad.

En este contexto, el objetivo del trabajo fue obtener un material portador de RIF por asociación a un PE de carga opuesta, que permita mejorar la hidrofiliidad de RIF y liberarla rápidamente en contacto con fluidos gástricos. Complemen-

tariamente, se intentó obtener un material portador de ISO por asociación a un PE de carga opuesta, que permitiera minimizar su liberación en medio ácido y liberarla de forma completa y sostenida en fluidos intestinales. Se buscó que ambos materiales fueran comprimibles mediante tecnologías de uso corriente, a fin de obtener MHPF.

A partir de los materiales portadores de RIF e ISO, se puede desarrollar un sistema matricial bi-capa para administración oral, que permita la liberación secuencial y sitio-específica de ambos fármacos en medios simulados de contenido gástrico e intestinal, respectivamente.

MATERIALES Y MÉTODOS

- Materiales: rifampicina (RIF, calidad pro-análisis, Parafarm, Argentina), isoniazida (ISO, calidad pro-análisis, Parafarm, Argentina), ácido algínico (AA, calidad pro-análisis, Sigma, Argentina), alginato de sodio (AANA, calidad USP-NF, ISP, Reino Unido), carboximetilcelulosa sódica (CMCNa, calidad pro-análisis, Fluka, Argentina), acetona (grado analítico, Anedra, Argentina), etanol (calidad FA, Porta, Argentina), ácido clorhídrico (HCl, 35% p/v, Anedra, Argentina), HCl 2,5 M y 0,05 M preparados por dilución del anterior, hidróxido de sodio 1 M (solución volumétrica, Reactivo analítico, Anedra, Argentina) y 0,05 M preparado por dilución del anterior. Como medios de disolución, se utilizaron las soluciones reguladoras HCl/KCl pH = 1,2 y KH₂PO₃/NaOH pH = 6,8, preparados según USP 33-NF 28.

- Obtención de carboximetilcelulosa (CMC) ácida a partir de CMCNa: Se espolvorearon 20 g de CMCNa ($pK_a = 4,3$) en 750 ml de agua destilada, que se dejaron reposar en heladera durante 24 horas para favorecer la hidratación del sistema. Se agregó HCl 2,50 M gota a gota hasta alcanzar un pH = 2-3, agitando el sistema con una varilla de vidrio. Posteriormente, se agregó una cantidad suficiente de etanol (1,250 l aproximadamente) para producir la precipitación de CMC. El sólido obtenido se separó por filtración, se enjuagó con agua destilada y acetona sucesivamente, y se secó en estufa a 50°C hasta alcanzar un peso constante, tras lo cual fue sometido a un proceso de molienda y tamizado.

- Valoración de equivalentes/g de los polielectrolitos CMC y AA:

CMC: Se pesaron (por triplicado) 15 mg de CMC, y se agregaron 3 ml de NaOH 0,05 M. Una vez disuelto, se agregaron 30 ml de agua destilada y se tituló con HCl 0,05 M hasta alcanzar el punto equivalente. El número obtenido de equivalentes carboxílicos por gramo de CMC fue de $(4,40 \pm 0,06) \times 10^{-3}$.

AA: Previo secado, se pesaron (por triplicado) 40 mg de AA, que se dispersaron en 50 ml de agua destilada y se titularon con NaOH 0,05 M hasta alcanzar el punto equivalente. El número obtenido de equivalentes carboxílicos por gramo de AA fue de $(4,39 \pm 0,06) \times 10^{-3}$.

- Preparación de la serie de materiales AA-ISO y CMC-RIF: Se interpuso en un mortero el PE con una cantidad adecuada de fármaco, de manera de neutralizar el 60, 80 y 100% de los grupos ácidos del polímero. Se adicionó etanol

en varias alícuotas hasta obtener una pasta semisólida, y se secó en estufa a 50 °C hasta lograr un peso constante. La cantidad de ISO contenida en la serie AA-ISO fue valorada mediante espectroscopia ultravioleta (λ : 261 nm) UV (espectrofotómetro UV-Vis Evolution 300), mientras que el contenido final de RIF en la serie CMC-RIF fue cuantificado mediante la valoración de nitrógeno total con el Método de Kjeldahl, descrito en los lineamientos de la Association of Official Analytical Chemist (AOAC)¹⁹. Se utilizó esta técnica debido a la imposibilidad de encontrar un medio que permita realizar la disolución concomitante de RIF y CMC. Complementariamente, se prepararon mezclas físicas interponiendo PE y RIF (o ISO) en las mismas proporciones que en los complejos a evaluar.

- Granulación de los sólidos: 9,5 g de cada complejo fueron humedecidos con etanol oficial 96° hasta obtener una pasta de consistencia seca. La masa se hizo pasar a través de un tamiz de malla 30 y luego fue secada a 40 °C hasta lograr un peso constante.

- Caracterización fisicoquímica: Se llevó a cabo para determinar de manera directa la formación del complejo y detectar cambios en el estado cristalino de RIF e ISO. Los experimentos fueron realizados en muestras de los materiales, sus productos de partida y las respectivas mezclas físicas mediante los métodos detallados a continuación.

- Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR): Los espectros FTIR (Avatar 360, ESP NICOLET) se tomaron desde pastillas de bromuro de potasio (KBr, grado espectroscópico, Merck), que contenían cada una de las muestras en una concentración del 1% p/v. Previo a la preparación de las pastillas, el KBr se secó durante 1 hora a 100 °C. Las pastillas se secaron en estufa a 50 °C durante al menos 2 horas antes de la toma del espectro.

- Microscopia de platina calentable (MPC): Se utilizó un microscopio de platina calentable (Leitz Wetzlar, Alemania) acoplado a un termómetro digital. Varios cristales de cada muestra, suspendidos previamente en vaselina, fueron colocados sobre la platina en un portaobjetos y cubiertos con un cubreobjetos. La velocidad de calentamiento se reguló a aproximadamente 2 °C/min. Se registraron los eventos observados en función de la temperatura (fusión, descomposición, pérdida de agua y transiciones cristalinas) y se relacionaron con lo observado por calorimetría diferencial de barrido (DSC) / análisis termogravimétrico (TGA).

- Análisis térmico DSC y TGA: Las muestras fueron sometidas a DSC y TGA en un rango de temperaturas de 30 a 300 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min. Para determinar las curvas DSC, se utilizó la celda de DSC estándar de A2920 MDSC (Modulated DSC, TA Instruments) equipada con una estación de datos (Universal Analysis, TA Instruments). El eje de temperaturas y la constante de celda de DSC se calibraron con indio (24 mg, 99,99 % de pureza, pico máximo a 156,66 °C y calor de fusión 28,71 J/g). Las muestras (0,8-1,3 mg) fueron calentadas en portamuestras de aluminio herméticamente cerrados, en una atmósfera dinámica de nitrógeno con una velocidad de flujo de 60 ml/

min. Para la termogravimetría se utilizó el equipo A2950 TGA (HI-RES, TA Instruments) acoplado a una estación de datos. Las muestras (0,8-1,3 mg) se colocaron en portamuestras abiertos y se calentaron bajo las mismas condiciones usadas en el respectivo análisis DSC.

- Difracción de rayos X de polvos (DRXP): Los patrones de difracción fueron tomados a temperatura ambiente en un difractor de rayos X (PANalytical X'Pert Pro) usando radiación Cu K α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$), un tubo de voltaje de 40 kV y un tubo con corriente de 40 mA. Las muestras fueron colocadas en portamuestras de aluminio, y los datos se tomaron en un intervalo angular de 5° a 35° en 2 θ , con un paso de 0,02° y una velocidad de medida de 1°/min.

- Caracterización reológica: Se determinó ángulo de reposo, densidad a granel (DG, densidad de un polvo que no ha sido sometido a fuerza alguna) y densidad empaquetada (DE, densidad del polvo después de someterlo a impactos), índice de Carr (IC) y cociente de Hausner (CH) de los complejos mediante la metodología descrita en la Farmacopea Europea (sección 2.9.15).

El IC y el CH fueron calculados a través de las ecuaciones 1 y 2, respectivamente.

Ecuación 1: $IC = (DE - DG) \times 100 / DE$

Ecuación 2: $CH = DE / DG$

- Preparación de las MHPF: La MHPF de RIF se obtuvo por compresión directa de 382,9 mg de complejo (CMC-RIF)100 granulado con 300 mg de RIF. La MHPF de ISO se obtuvo por compresión directa de 382,2 mg de (AA-ISO)100 granulado con 150 mg de ISO. Complementariamente, se obtuvieron MHPF mixtas por mezcla de 382,2 mg de (AA-ISO)100 con 100 mg y 200 mg de AANa. El mezclado de los componentes de las MHPF mixtas se llevó a cabo durante 10 minutos en una mezcladora Instrelec. Los materiales se compactaron en una comprimidora monopunzón (Talleres Sanchez) con matriz n° 11 ranurada y presentaron una dureza de 3,6 para las MHPF de RIF y 2,8 para las MHPF de ISO.

- Evaluación de la hidrofiliidad de los nuevos materiales: Se determinó mediante la medición de sorción de agua desde las MHPF de complejo (CMC-RIF)100. A fines comparativos,

se evaluaron también matrices constituidas por la mezcla física en las mismas proporciones y un disco obtenido por compactación de RIF en cantidad equivalente a la de la MHPF. Se utilizó un dispositivo descrito por Nogami y col.²⁰, que permite medir el volumen de líquido capturado por capilaridad en intervalos de tiempo preestablecidos. Todos los ensayos se realizaron por triplicado a temperatura ambiente.

- Estudio de liberación del fármaco: Las matrices se sometieron a estudios de liberación en soluciones reguladoras de pH 1,2 y 6,8. Todos los estudios se llevaron a cabo en un equipo Disolutor USP Hanson SR6, aparato 1 (canastillo) a 100 rpm. El volumen del medio de disolución fue 900 ml (a $37,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$). Las condiciones utilizadas se describen en la Tabla 1. En el ensayo de liberación secuencial se trasladan las matrices contenidas en los canastillos desde el medio pH 1,2 al de pH 6,8 a las 2 horas de iniciado el experimento, simulando las condiciones del tracto gastrointestinal, según lo establecido en el capítulo 711 Dissolution USP 33-NF28, para formas farmacéuticas de liberación retardada (método B). Las muestras fueron analizadas por espectroscopia UV (espectrofotómetro UV-Vis Evolution 300). Para procesar los datos, se usó el programa Excel (versión 2003). Se consideró que había una "liberación inmediata" de un fármaco en el medio de disolución cuando los valores de velocidad de liberación se encontraban por encima del 80% en 1 hora, y que había una "liberación sostenida" cuando los valores eran menores a 40% en 1 hora.

RESULTADOS

Los productos sólidos de la serie CMC-RIF ([CMC-RIF]60, [CMC-RIF]80, [CMC-RIF]100) y de la serie AA-ISO ([AA-ISO]60, [AA-ISO]80, [AA-ISO]100), sus respectivas mezclas físicas, los polímeros CMC y AA, y los fármacos precursores RIF e ISO fueron caracterizados mediante las técnicas previamente detalladas.

Se analizaron las principales bandas de absorción en el espectro de FTIR para los grupos funcionales capaces de interaccionar iónicamente. Mediante deconvolución, se observó en (CMC-RIF)100 la desaparición de bandas a 1.735 cm⁻¹

TABLA 1. Condiciones utilizadas en el estudio de liberación de RIF e ISO desde sus respectivas MHPF.

MHPF (n= 3)	t (min) pH 1,2*	t (min) pH 6,8†	t (min) pH 1,2 / 6,8‡§
(CMC-RIF)100	6, 15, 30, 45, 60, 75, 90, 120	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120	—
(AA-ISO)100	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120 / 135, 150, 180, 210, 240
(AA-ISO)100/ 100 mg AANa	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120 / 135, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360
(AA-ISO)100/ 200 mg AANa	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360	5, 10, 15, 20, 30, 45, 60, 75, 90, 120 / 135, 150, 180, 210, 240, 270, 300, 330, 360

* Tiempos de muestreo para los ensayos de liberación en solución reguladora pH 1,2.

† Tiempos de muestreo para los ensayos de liberación en solución reguladora pH 6,8.

‡ Tiempos de muestreo para los ensayos de liberación secuencial para (AA-ISO)100 y (AA-ISO)100/AANa.

§ La barra indica el cambio de medio.

Fuente: Elaboración propia.

y 1.654 cm^{-1} , correspondientes a la vibración de tensión para el grupo C=OOH de la CMC, y la aparición de bandas a 1.585 cm^{-1} y 1.435 cm^{-1} , que no se detectaron ni en la mezcla física ni en los precursores. Ellas fueron asignadas a la presencia del grupo carboxilato COO-. Por otra parte, se observó para (AA-ISO)100 y para la mezcla física la significativa reducción de las bandas a 1.741 cm^{-1} , 3.464 cm^{-1} y 927 cm^{-1} , correspondientes a las vibraciones de tensión de C=OOH, COO-H y la vibración de flexión fuera del plano COO-H, características del grupo -COOH de AA.

La desaparición de bandas propias de los precursores, así como la aparición de bandas en los materiales nuevos demostraron que la interacción entre el fármaco y el PE era de tipo iónica. Por otra parte, el análisis de la mezcla física AA+ISO evidenció una reacción parcial entre sus componentes, que obedecía a la alta afinidad entre los grupos funcionales de ISO y AA, consecuencia de la diferencia entre sus valores de pKa (pKaAA: 3,4 [ácido manurónico], 3,7 [ácido gularónico]²¹; pKaISO: 10,84).

Se realizó el análisis térmico de (AA-ISO)100, (CMC-RIF)100, sus precursores y la mezcla física. En la serie ISO se observó la endoterma de fusión característica a 171 °C, que no se evidenció en la mezcla física ni en (AA-ISO)100. Estos datos concordaron con lo observado en la MPC, donde se detectó fusión completa de ISO y fusión parcial de la mezcla física a partir de los 170 °C, mientras que para el complejo no se detectó ningún evento térmico hasta los 250 °C. En la serie RIF, los eventos térmicos asociados fueron menos evidentes debido a que RIF descompone sin fundir. En este contexto, se observó por DSC la exoterma de descomposición de RIF a 251 °C, que se vio notablemente reducida para la mezcla física y para (CMC-RIF)100. Por TGA se observó una reducción significativa de la masa de RIF y la mezcla física a partir de 230 °C, mientras que para (CMC-RIF)100 se detectó este evento desde los 180 °C, lo que denotó la formación de un nuevo material.

El análisis de DRXP coincidió con lo observado por FTIR (CMC-RIF)100 presentó un perfil característico de una estructura cristalina, con reflexiones intensas en ángulos diferentes a RIF y la mezcla física, lo que sugirió la formación de una nueva estructura. En la serie ISO no se observaron nuevas señales, sino una notable disminución en la intensidad de las reflexiones cristalinas de ISO tras el acomplejamiento. Este comportamiento ha sido verificado previamente en otros materiales PE-fármaco y es una evidencia de formación de

los complejos.²²⁻²⁶

Resultados similares se observaron para los materiales (AA-ISO)80, (AA-ISO)60, (CMC-RIF)80 y (CMC-RIF)60. Esto confirma que la metodología empleada permite la formación de los complejos PE-fármaco, cuyas características soportan la neutralización del 100% de los grupos ácidos del PE. Por esta razón se seleccionaron los materiales (AA-ISO)100 y (CMC-RIF)100 para la obtención de las matrices, debido a que vehiculizan la mayor proporción de fármaco y permiten obtener matrices de tamaño aceptable.

La reología de un polvo se define como su capacidad de fluir libremente durante las operaciones farmacotécnicas fundamentales (mezclado o llenado uniforme de la matriz de la comprimidora). La evaluación del ángulo de reposo dinámico y de los valores de DG, DE, IC y CH mostró que los complejos presentaban características de flujo desfavorables. En consecuencia, los materiales fueron sometidos a un proceso de granulación húmeda previo a su compresión bajo la forma de matrices. La Tabla 2 muestra los valores registrados antes y después de la granulación, que logró obtener materiales de flujo aceptable²⁷.

La hidrofiliidad fue evaluada mediante estudios de sorción de agua en las MHPF. Tal como se observa en la Figura 2, RIF tomó lentamente una baja proporción de agua. Por otro lado, las MHPF del complejo (CMC-RIF)100 y de la mezcla física incorporaron agua rápidamente en una proporción 27 y 25 veces mayor que RIF en hora de ensayo, hasta llegar a un plateau (0,35 y 0,32 ml, respectivamente). Esta diferencia significativa en las propiedades hidrofílicas del material resulta interesante, no solo para el diseño de la formulación objetivo de este trabajo sino también para el desarrollo de nuevas formulaciones de liberación inmediata de RIF con una velocidad de liberación optimizada, dado que RIF presenta una baja hidrofiliidad y esto condiciona su capacidad de disolverse en los fluidos del tracto gastrointestinal^{3,4}. Además, ninguna de las matrices presentó modificaciones significativas en su morfología, y no se apreció el desarrollo de una capa hidrogel.

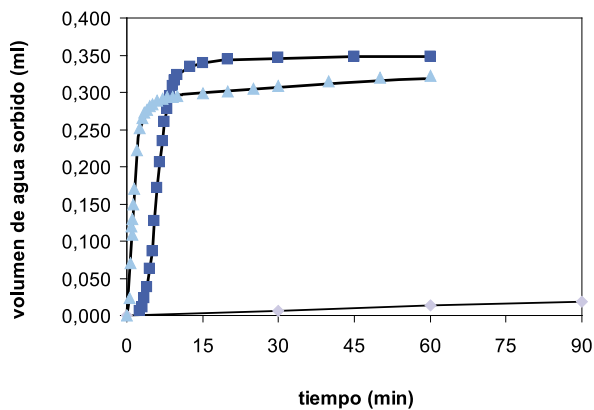
Los estudios de liberación de RIF e ISO desde las matrices obtenidas fueron realizados a pH 1,2 y 6,8. La Figura 3 muestra que la matriz (CMC-RIF)100 cumple el criterio de rápida velocidad de liberación en medio ácido. En medio intestinal, la liberación se reduce por la reversión de CMC a la sal sódica CMCNa, la cual formaría una capa viscosa que modula la velocidad de difusión de RIF hacia el medio de

TABLA 2. DG, DE y ángulo de reposo calculados para los complejos (AA-ISO)100 y (CMC-RIF)100.

Muestras	AA-ISO100	AA-ISO100 granulado	CMC-RIF100	CMC-RIF100 granulado
DG (g/mL)	0,492 ± 0,005	0,25 ± 0,03	0,37 ± 0,02	0,45 ± 0,02
DE (g/mL)	0,74 ± 0,01	0,35 ± 0,04	0,58 ± 0,05	0,56 ± 0,04
IC	33 ± 1	29 ± 2	36 ± 2	20 ± 4
CH	1,49 ± 0,03	1,40 ± 0,04	1,55 ± 0,05	1,25 ± 0,06
Ángulo de reposo (°)	57 ± 1	36 ± 3	48 ± 4	28 ± 2

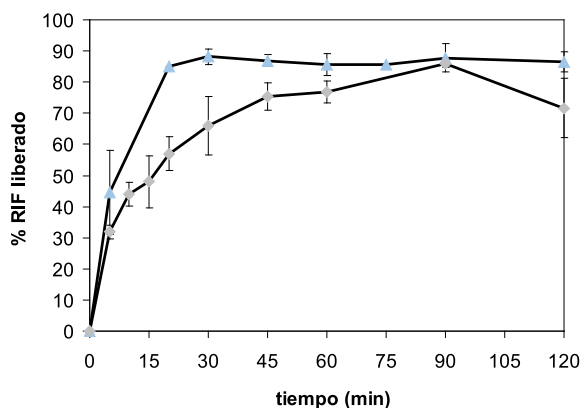
Fuente: elaboración propia

FIGURA 2. Volumen de agua tomado por las matrices CMC-RIF ■, la mezcla física CMC+RIF ▲ y RIF ◆, en función del tiempo.



Fuente: elaboración propia

FIGURA 3. Perfil de liberación de RIF desde MHPF, a pH 1,2 ▲ y 6,8 ◆.



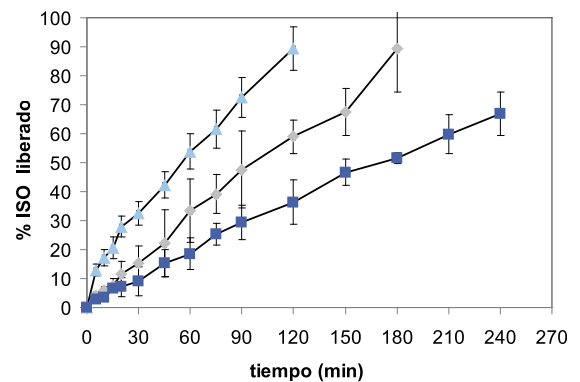
Fuente: elaboración propia

disolución. Sin embargo, esto carece de relevancia cuando la liberación de RIF se completa en el medio ácido. En el caso de las matrices de (AA-ISO)100, la liberación es lenta a pH 1,2 debido a la formación de una capa gel de AA, que regula la velocidad de liberación de ISO desde el sistema (Figura 4a). A pH 6,8 la velocidad de liberación se incrementa y sigue, además, una cinética de orden cero, generalmente asociada al mecanismo de liberación por erosión de las matrices (Figura 4b).

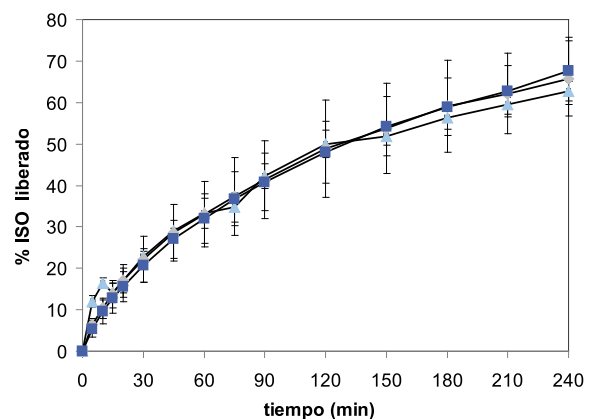
Sin embargo, la capacidad de modulación en este medio resultó insuficiente. Por esta razón se obtuvieron matrices mixtas mediante la incorporación de AANA, que tiene mayor capacidad de formar capa gel. Se seleccionó la matriz (AA-ISO)100/100 mg de AANA por su mayor capacidad de regular la liberación en medio intestinal y de completarla en 3 horas, un tiempo promedio convencionalmente aceptado para el tránsito intestinal. Cabe aclarar que la velocidad de liberación de ISO en medio ácido no se vio modificada. Finalmente, el estudio de liberación secuencial con cambio de pH (Figura 5) reveló el perfil esperable para la liberación de ISO desde las matrices (AA-ISO)100 y (AA-ISO)100/100 mg de AANA en el TGI, donde evidentemente la última

FIGURA 4. Perfil de liberación de ISO desde MHPF.

a) pH 1,2: sin AANA ▲, con 100 mg de AANA ◆, con 200 mg de AANA ■.



b) pH 6,8: sin AANA ▲, con 100 mg de AANA ◆, con 200 mg de AANA ■.



Fuente: elaboración propia

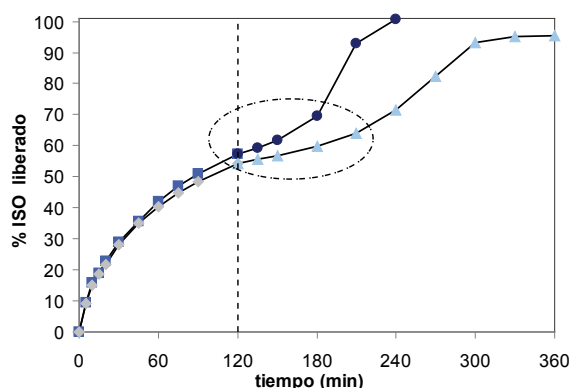
minimiza la liberación de ISO en medio ácido, aunque ésta se incrementa y se completa al cabo de 3 horas a pH 6,8. Se observa también en la Figura 5 un tiempo de latencia en medio intestinal. Este comportamiento se asocia al tiempo que requiere el sistema para revertir la capa de AA insoluble formada en la primera etapa.

DISCUSIÓN

Se obtuvieron materiales AA-ISO y CMC-RIF por interacción ácido-base entre los PE y RIF o ISO. La elevada capacidad de carga de los polímeros permitió incorporar la dosis de cada fármaco en la menor proporción posible del polímero. Aunque los complejos tuvieron características reológicas desfavorables, esas propiedades pudieron mejorarse mediante granulación húmeda.

El sólido (CMC-RIF)100 es significativamente más hidrofílico que RIF, y sus MHPF la liberan rápidamente. Las MHPF (AA-ISO)100/AANA permiten minimizar los niveles de ISO en medio ácido, lo que llevaría a reducir la liberación concomitante de RIF e ISO en ese medio. Esto podría mejorar la efectividad, reducir los efectos adversos e incrementar la estabilidad de RIF.

FIGURA 5. Perfil de liberación secuencial de ISO desde MHPF AA-ISO a pH 1,2 ■ y 6,8 ● y AA-ISO/AANa 100 mg a pH 1,2 ◆ y 6,8 ▲.



* La línea vertical indica el cambio de medio de pH 1,2 a pH 6,8.

† El círculo en línea de puntos indica el tiempo de latencia a pH 6,8, que requiere la matriz para revertir la capa ácida insoluble de AA generada a pH 1,2. Fuente: Elaboración propia.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES: No hubo conflicto de intereses durante la realización del presente trabajo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Shishoo CJ, Shah SA, Rathod IS, Savale SS, Kotecha JS, Shah PB. Stability of rifampicin in dissolution medium in presence of isoniazid. *Int J Pharm*, 1999; 190:109-123.
- Singh S, Mariappan TT, Sharda N, Kumar S, Chakraborti AK. The reason for an increase in decomposition of rifampicin in the presence of isoniazid under acid conditions. *Pharm Pharmacol Commun*, 2000; 6:405-410.
- Panchagnula R, Agrawal S. Biopharmaceutic and pharmacokinetic aspects of variable bioavailability of rifampicin. *Int J Pharm*, 2004; 271:1-4.
- Becker C, Dressman JB, Junginger HE, Kopp S, Midha KK, Shah VP, et al. Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Rifampicin. *J Pharm Sc*, DOI 10.1002/jps.
- Ellard GA, Fourie PB. Rifampicin bioavailability: A review of its pharmacology and the chemotherapeutic necessity for ensuring optimal absorption. *Int J Tuberc Lung Dis*, 1999; 3:S301-S308, discussion S317-S321.
- Jindani A, Aber VR, Edwards EA, Mitchison DA. The early bactericidal activity of drugs in patients with pulmonary tuberculosis. *Am Rev Respir Dis*, 1980; 121:939-949.
- Telenti A, Imboden P, Marchesi F, Lowrie D, Cole S, Colston MJ, et al. Detection of rifampicin-resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis*. *Lancet*, 1993; 341:647-650.
- Tostmann A, Boeree M, Aarnoutse R, De Lange W, Van der Ven A, Dekhuijzen R. Antituberculosis drug-induced hepatotoxicity: Concise up-to-date review. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 2007; 23:192-202.
- Ahmad Z, Pandey R, Sharma S, Khuller GK. Pharmacokinetic and pharmacodynamic behavior of antitubercular drugs encapsulated in alginate nanoparticles at two doses. *Int J Antimicrob Agents*, 2006; 27:409-416.
- Gohel MC, Sarvaiya JG. A novel solid dosage form of rifampicin and isoniazid with improved functionality. *AAPS PharmSciTech*, 2007; 8, Article 68. [Disponible en: <http://www.aapspharmstech.org/view.asp?art=pt0803068>]. [Último acceso: 25/11/11].
- Hiremath PS, Saha RN. Oral matrix tablet formulations for concomitant controlled release of anti-tubercular drugs: Design and in vitro evaluations. *Int J Pharm*, 2008; 362:118-125.
- I+D para la tuberculosis: adaptarse a los retos de una emergencia mundial. 1ra edición, Barcelona. Planeta Salud, 2009. [Disponible en: <http://www.planetasalud.org/2010/site/download.php?id=7>] [Último acceso: 25/11/11]
- Du Toit LC, Pillay V, Danckwerts MP. Tuberculosis chemotherapy: current

RELEVANCIA PARA POLÍTICAS E INTERVENCIONES SANITARIAS

La tuberculosis es una enfermedad de la pobreza, con alta incidencia en países subdesarrollados. Es imprescindible que los productos a desarrollar sean eficaces y presenten una relación costo-beneficio aceptable, de modo que sean accesibles a las políticas sanitarias de los países afectados. A tales fines, este trabajo utiliza como portadores polímeros biocompatibles de bajo costo, seguros y accesibles.

RELEVANCIA PARA LA INVESTIGACIÓN EN SALUD

Es necesario crear nuevas formulaciones de fármacos anti-tuberculosos, con un desempeño más efectivo y confiable, como así también investigaciones clínicas que demuestren ese desempeño. Los sistemas portadores de RIF e ISO desarrollados en el marco de este proyecto son prometedores y podrían constituir una opción farmacoterapéutica superadora para el tratamiento de la enfermedad.

- drug delivery approaches. *Respiratory Research*, 2006; 7:118. [Disponible en: <http://respiratory-research.com/content/7/1/118>]. [Último acceso: 21/11/2011].
- Azarmi S, Roa W, Lobenberg R. Targeted delivery of nanoparticles for the treatment of lung diseases. *Adv Drug Delivery Rev*, 2008; 60:863-875.
- Chow AH, Tong HH, Chattopadhyay P, Shekunov BY. Particle engineering for pulmonary drug delivery. *Pharm Res*, 2007; 24:411-37.
- Muttill P, Kaur J, Kumar K, Yadav AB, Sharma R, Misra A. Inhalable microparticles containing large payload of anti-tuberculosis drugs. *Eur J Pharm Sc*, 2007; 3:140-150.
- Pandey R, Khuller GK. Subcutaneous nanoparticle-based antitubercular chemotherapy in an experimental model. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2004; 54:266-268.
- Sung JC, Pulliam BL, Edwards DA. Nanoparticles for drug delivery to the lungs. *Trends in Biotechnology*, 2007; 25:563-570.
- AOAC Official Method 991.20, Nitrogen (Total) in Milk. Official Methods of Analysis of AOAC International. Horwitz (Editor), AOAC International. 18^o ed., Maryland, EE.UU., 2005.
- Nogami H, Nagai T, Fukuoka E, Sonobe T. Desintegration of the aspirin tablets containing potato starch and microcrystalline cellulose in various concentrations. *Chem Pharm Bull*, 1969; 17:1450-1455.
- Wade A, Weller PJ. *Alginate Acid, Handbook of Pharmaceutical Excipients*, 2da ed. American Pharmaceutical Association, The Pharmaceutical Press, Washington DC, 1994; 10-11, 428-429.
- Ramírez Rigo MV, Allemandi DA, Manzo RH. A linear free energy relationship treatment of the affinity between carboxymethylcellulose and basic drugs. *Mol Pharm*, 2004; 1:383-386.
- Ramírez Rigo MV, Allemandi DA, Manzo RH. Swellable drug polyelectrolyte matrices (SDPM) of alginate. Characterization and delivery properties. *Int J Pharm*, 2006; 322:36-43.
- Ramírez Rigo MV, Allemandi DA, Manzo RH. Swellable drug polyelectrolyte matrices of drug-carboxymethylcellulose complexes. Characterization and delivery properties. *Drug Delivery*, 2009; 16:108-115.
- Bermudez JM, Jimenez-Kairuz AF, Olivera ME, Allemandi DA, Manzo RH. A ciprofloxacin extended release tablet based on swellable drug polyelectrolyte matrices (SDPM). *AAPS Pharm Sci Tech*, 2008; 9(3):924-930.
- Jimenez-Kairuz AF, Llabot JM, Allemandi DA, Manzo RH. Swellable drug- polyelectrolyte matrices (SDPM). Characterization and delivery properties. *Int J Pharm*, 2005; 288:87-99.
- Aulton ME. *Farmacología: Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas*. 2 ed. Madrid: Elsevier, 2004.