

APLICACIÓN DE UN DISEÑO D-OPTIMAL A LA FORMULACIÓN DE UN GEL DE CAFEÍNA AL 2 %.

Germán Hurtado Guevara¹, M^a Dolores Contreras Claramonte², M^a Dolores Mingorance Alvarez³

1.- Universidad de Antioquia. Medellín. (Colombia)

2.- Dept. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Univ. de Granada. Granada.

3.- Estación Experimental del Zaidín. C.S.I.C. Granada.

Introducción

Está demostrado que las preparaciones de aplicación sobre la piel, la liberación y absorción del fármaco es superior cuando este se encuentra en solución saturada que a concentraciones inferiores o superiores. Por lo que la tendencia actual, abandonando prácticas clásicas, es individualizar las formulaciones tópicas, en función de las características físico-químicas y la concentración del fármaco. En su desarrollo, generalmente se emplea el clásico método de ensayo y error, que además de aportar excasa información sobre la influencia de los diferentes componentes, necesita invertir mucho tiempo y dinero.

El objetivo de este trabajo es analizar la posibilidad de aplicar un diseño de experimentos, al desarrollo de un gel tópico de cafeína al 2 % (m/m) en solución y máxima liberación.

La elección de estos objetivos es debida:

a.- El consumidor prefiere los geles como formas tópicas. Son más atractivos que otras.

b.- La cafeína se ha seleccionado como molécula modelo, por dos motivos:

1.- Se aplica sobre la piel en concentraciones y objetivos muy diversos: del 2 al 5 % (m/m) como anticelulítico y al 10 % (m/m) como antivirásico (1).

2.- Dificultades tecnológicas: es escasamente soluble en agua, componente mayoritario de un hidrogel.

En estudios previos, se ha determinado, que un 2 % de cafeína puede solubilizarse en la mezcla de etanol, glicerina y agua (2).

El Carbopol ETD 2020, se ha seleccionado como gelificante. Las características del gel dependen, entre otros, del tipo de neutralizante y del pH.

Los componentes de las formulaciones, son: Cafeína 0,02; carbopol ETD 2020: 0,05; 0,05 < etanol < 0,4; 0 < glicerina < 0,2; tris o trietanolamina c.s.; conservantes 0,004; agua destilada c.s.p. 1 g. pH 5 - 7.

El diseño estadístico es un D-Optimal (3) aplicado a una mezcla con limitaciones. Se analizan: 2 variables independientes (componentes de la mezcla: etanol (eta), glicerina (gli)) y 2 variables del proceso: una cualitativa (tipo de neutralizante: trietanolamina (tea) y tris (hidroximetil) aminometano (tris)) y otra cuantitativa (pH de la formula: 5 y 7).

Las variables respuesta son: Cantidad de cafeína liberada a las 4 horas de iniciado el experimento y el coeficiente de difusión (D) de la cafeína en los excipientes.

Materiales y Métodos

Material

Cafeína BP 98, carbopol ETD 2020, etanol, glicerina, metil y propilparaben, trietanolamina, tris (hidroximetil) aminometano, agua.

Diseño experimental y modelado

Con el software Mode v. 5, se genera el diseño D-optimal, en el que el parámetro G-eficiencia sea máxima. Consta de 19 formulaciones diferentes (Tabla 1) e incluye 3 puntos centrales, que son elaboradas al azar.

Tabla 1. Composición de las formulaciones.

Nº Exp.	Eta.	Gli.	Neu.	pH	agua
1	0,06	0	tris	5	0,94
2	0,06	0	tris	7	0,94
3	0,06	0,2	tris	5	0,74
4	0,06	0,2	tris	7	0,74
5	0,4	0	tris	5	0,6
6	0,4	0	tris	7	0,6
7	0,4	0,2	tris	5	0,4
8	0,4	0,2	tris	7	0,4
9	0,06	0	tea	5	0,94
10	0,06	0	tea	7	0,94
11	0,06	0,2	tea	5	0,74
12	0,06	0,2	tea	7	0,74
13	0,4	0	tea	5	0,6
14	0,4	0	tea	7	0,6
15	0,4	0,2	tea	5	0,4
16	0,4	0,2	tea	7	0,4
17	0,23	0,1	tea	6	0,67
18	0,23	0,1	tea	6	0,67
19	0,23	0,1	tea	6	0,67

Mediante PSL, se ajusta individualmente las respuestas al siguiente modelo:

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^k \beta_i X_i + \sum_{i < j} \beta_{ij} X_i X_j$$

Donde Y es la respuesta medida, β_0 , β_i , β_{ij} son la constante, coeficientes de regresión lineal e interacción del modelo, respectivamente. X_i y X_j representan las variables independientes en valores codificados y K es el número de factores. En etapas y ajustes sucesivos se eliminan de uno en uno, los términos del modelo no significativos ($\alpha \leq 95\%$) hasta maximizar el valor de R^2 y Q^2 . Q^2 determina la capacidad de predicción del modelo.

Preparación de las formulas

Se preparan 200 g de cada fórmula disolviendo la cafeína en la dilución previa del agua, glicerina, y la solución etanólica del metil y propilparaben. Se adiciona el polímero y se mantiene durante 5 minutos a 200 r.p.m. Bajo agitación (100 r.p.m.) se adiciona el neutralizante. Se mantiene la agitación durante 10 minutos. Se determina y ajusta pH (MicropH 2001). Se mantienen las muestras en recipiente

de cierre hermético a 25 °C, al menos 48 horas antes de iniciar los ensayos.

Ensayo de liberación

El ensayo se realiza a 33 °C y sobre 2,5 g de muestra, en células de diseño propio (Superficie = 3,047 cm²), y membranas de Acetato de celulosa (0,45 µm) que la separan del medio receptor (solución de fosfatos, 7,4). En tiempos preestablecidos, se extraen alícuotas, 10 ml (con reemplazo de solución fresca de fosfatos a igual temperatura) que son valoradas espectrofotométricamente a $\lambda = 272$ nm. Cada valor es media de tres determinaciones.

Resultados y Discusión

Liberación de la cafeína

La liberación de la cafeína desde las diferentes formulaciones se representa en la Fig. 1. La 3 y 9 son las de mayor liberación y 6 y 8, las que menor. El resto de las formulaciones se encuentran entre estos valores.

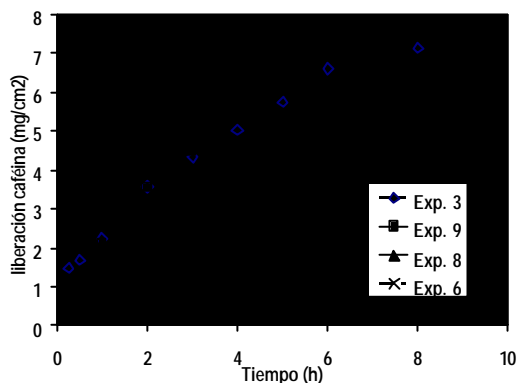


Figura 1. Liberación de la cafeína desde algunas de las formulaciones, el resto se encuentran entre ellas.

Este ensayo, y debido fundamentalmente a la membrana utilizada (acetato de celulosa), no representa la absorción cutánea de la cafeína, aunque permite diferenciar y predecir el comportamiento de las formulaciones en función de su absorción (4).

Para la evaluación de la influencia de las variables independientes sobre la liberación de la cafeína, como variable respuesta se emplea la cantidad absoluta liberada por unidad de superficie (mg/cm²) a las 4 h de iniciado el ensayo. Los porcentajes de liberación son

inferiores al 30 %, y en algunos casos se ha alcanzado estado semi-estable.

Del ajuste de los resultados al modelo propuesto se deduce: no presenta falta de ajuste (lack of fit $p > 0,05$), $R^2 = 0,796$ y $Q^2 = 0,630$.

La ecuación deducida es:

$$\text{liberación (mg.cm}^2\text{)} = 4,381,34 - 0,237 \text{ pH} + 0,122 \text{ gli} - 0,432 \text{ eta} - 0,195 \text{ neu(tris)*pH} + 0,195 \text{ neu(tea)*pH}$$

Sobre la liberación (Fig. 2) influye significativamente ($p < 0,05$) la concentración de etanol, el pH de la fórmula y la interacción neutralizante * pH.

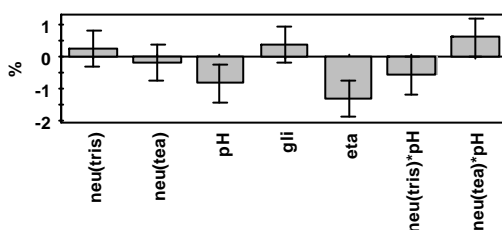


Figura 2. Liberación de la cafeína: Influencia de los coeficientes del modelo.

Efecto del pH: Las formulaciones con pH menor ($\text{pH} = 5$) presentan liberaciones superiores que a pH mayor ($\text{pH} = 7$) (Fig. 3).

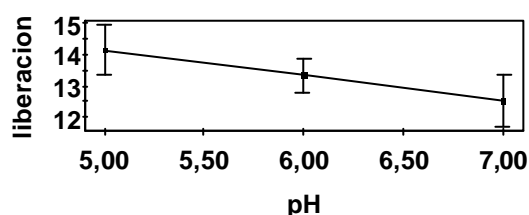


Figura 3. Efecto del pH de las formulas sobre la liberación de la cafeína.

El incremento de concentración de etanol en la fórmula disminuye la liberación (Fig. 4)

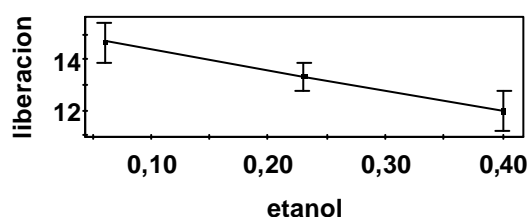


Figura 4. Efecto de la concentración de etanol sobre la liberación de la cafeína.

El efecto de la interacción neutralizante*pH esta representado en la fig. 5.

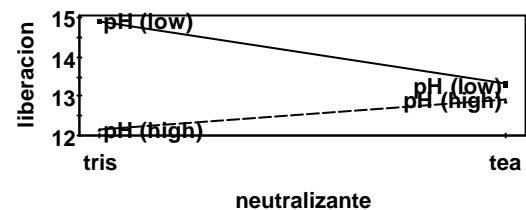


Figura 5. Efecto de la interacción pH - neutralizante sobre la liberación de la cafeína.

La velocidad de liberación de la cafeína no solo del pH (5 o 7) sino también del tipo de neutralizante (tris o trietanolamina). Las formulas con tris y pH menor ($\text{pH} = 5$) presentan velocidades de liberación superiores a las que incluyendo el mismo neutralizante el pH es mayor ($\text{pH} = 7$), sin embargo este fenómeno no se observa cuando el neutralizante es la trietanolamina, la liberación es independiente del pH de la fórmula.

Coefficiente de Difusión:

Los ensayos de liberación se han realizado en las condiciones preconizadas por Higuchi (3) y permite cuantificar el coeficiente de difusión (D) de la cafeína en el excipiente. D (Fig. 6) se obtiene desde el ajuste de la cinética de liberación (inferior al 25 %) a la raíz cuadrada del tiempo. Las formulas 4, 9 y 11 son las de mayor D y 6 y 8 son las de menor.

Del ajuste de D al modelo propuesto, se deduce: no presenta falta de ajuste (lack of fit $p > 0,05$) y la correlación y predicción de la ecuación se considera aceptable ($R^2 = 0,715$, $Q^2 = 0,555$).

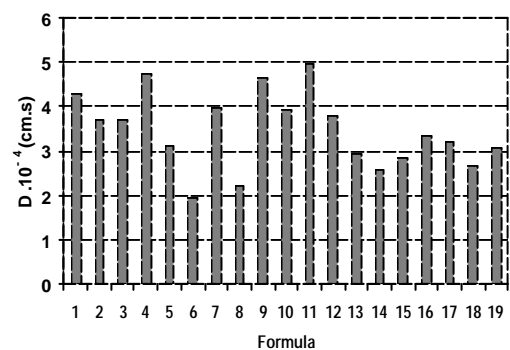


Figura 6. Coeficiente de Difusión de la cafeína en los excipientes.

La ecuación obtenida es:

$$D \text{ (cm.s)} = 3,502 - 0,257 \text{ pH} + 0,150 \text{ gli} - 0,657 \text{ eta}$$

Sobre el valor de D, solo el etanol (Fig. 7) influye significativamente ($p < 0,05$).

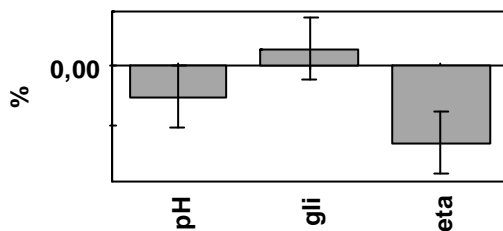


Figura 7. Coeficiente de difusión de la cafeína: Influencia de los coeficientes.

Valores de D elevados (Fig. 8) se obtienen en las formulaciones con baja concentración de etanol, y D bajos para concentraciones elevadas de etanol.

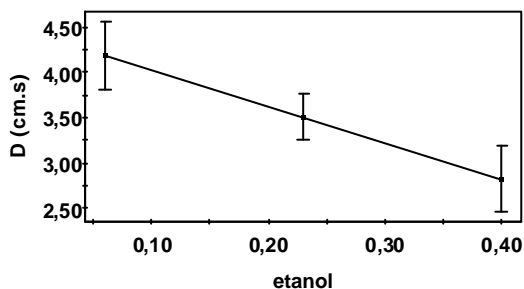


Figura 8. Influencia de la concentración de etanol en el coeficiente de difusión de la cafeína.

Estos resultados confirman las conclusiones obtenidas en el análisis de la liberación de cafeína.

En estudios previos (2), se comprobó, que en las mezclas de codisolventes etanol, glicerina y agua, la solubilidad de la cafeína aumenta al incrementar la concentración de etanol. Este efecto se mantiene al gelificarlos con carbopol etd 2020. Para una concentración constante de cafeína, como es este caso (2 %), al aumentar la concentración de etanol, el excipiente solubiliza mayor cantidad de cafeína, y disminuye su liberación y coeficiente de difusión. La actividad termodinámica de la cafeína disminuye, y se modifican todos los parámetros relacionados con la liberación.

El pH de las fórmulas se obtiene neutralizando con dos aminas (tris y trietanolamina), las cuales repercuten de forma diferente en cuanto a la liberación de cafeína. El efecto del pH de la formula, no influye significativamente, siempre que el neutralizante sea trietanolamina, e influye significativamente cuando el neutralizante es tris.

La aplicación de las técnicas de diseño de experimentos al desarrollo de las formulaciones de un gel, se presentan como un método de gran utilidad para el tecnólogo. Solo con 19 ensayos permite obtener gran información sobre la influencia de los componentes en las respuestas y predecir la formulación más adecuada (Tabla 2) para maximizar la liberación (mg/cm^2 y D), aplicando los resultados obtenidos y mediante métodos iterativos.

Tabla 2. Composición de las formulaciones que maximiza la liberación y D de la cafeína.

Eta.	Gli.	Neu.	pH	agua	
0,06	0,2	tris	5	0,735	5,520 mg/cm^2
0,06	0,2	tris	5	0,735	4,60 cm.s

Bibliografía

1. Yoshida, Y.; Yamura, J.; Sato, H. y cols. J. Derm. Sci. 13, 237 (1996).
2. Hurtado, G.; Mingorrance, M.D., Contreras, M.D. VI Congreso S.E.F.I.G. Granada, 2003
3. Aguiar, P.F.; Bourguignon, B.; Khots, M.S. y cols. Chem. Int. Lab. Syst. 30, 199 (1995).
4. Higuchi, W.; J. Pharm. Sci. 51, 802 (1962).

Autor de contacto:

M^a D. Contreras Claramonte
 mdcontre@ugr.es
 Fac. de Farmacia
 Campus de Cartuja
 Granada
 Telf.: 958 24 39 00
 Fax: 958 24 89 70