

ESTUDIO REOLÓGICO E INTERACCIÓN DE GELES BINARIOS DE CARBOPOL® ULTREZ™ 10 Y ÁCIDO HIALURÓNICO: ÍNDICE DE SINERGIAS VISCOSAS

María José Fresno Contreras, Alain Ramírez Diéguez, María Magdalena Jiménez Soriano
Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá,
E – 28871, Alcalá de Henares, Madrid, ESPAÑA.

Introducción

Los materiales poliméricos utilizados para el desarrollo de formas farmacéuticas de administración tópica deben tener propiedades físico-químicas y mecánicas apropiadas. Generalmente, los polímeros sintéticos comercializados cumplen con estos requerimientos, y son ampliamente usados como bases de aplicación tópica, pero no son suficientemente biocompatibles. La mejora de las propiedades de estos materiales puede lograrse mediante la combinación con macromoléculas biológicas, como pueden ser el colágeno, la elastina y los glicosaminoglinanos (1).

El Ultrez™ 10 es un nuevo miembro de la familia de los polímeros acrílicos comercializados bajo el nombre de Carbopoles®, con mejores propiedades de dispersión y un amplio potencial de aplicación en el campo de la Tecnología Farmacéutica (2, 3). El Ácido Hialurónico es uno de los principales carbohidratos componentes de la matriz extracelular y tiene una estructura copolimérica lineal simple compuesta de unidades de disacáridos repetidas (4). Tiene propiedades higroscópicas, reológicas y viscoelásticas únicas. Forma redes tridimensionales entrelazadas a bajas concentraciones (< 1 mg/ml), y dota a sus soluciones de propiedades reológicas muy específicas. El conjunto de estas propiedades específicas ha propiciado además, que la utilización del Ácido Hialurónico en el desarrollo de nuevas formas de liberación se haya intensificado en los últimos años (5).

Uno de los aspectos más importantes durante el desarrollo galénico de bases hidrosolubles

gelificadas, diseñadas específicamente para uso tópico, es la caracterización reológica exhaustiva de los sistemas estudiados, y la optimización de los parámetros reológicos relacionados directamente con la aplicación y la liberación tópica. En este contexto, el objetivo del trabajo es la caracterización reológica de geles hidroalcohólicos binarios compuestos por Carbopol® Ultrez™ 10 (U10) y Ácido Hialurónico (AH), en función de la concentración de polímeros: U10 (0,0 - 2,0 % p/p) y AH (0,00 - 0,20 % p/p).

Materiales y Métodos

1.- Materiales y Reactivos

El Ácido Hialurónico de bajo peso molecular fue suministrado por Hasslauer S.A. (Boulogne, Francia). El Carbopol® Ultrez™ 10 fue suministrado por BF Goodrich Chemical Co. (Brecksville, Ohio). En la elaboración del medio de gelificación de los geles se utiliza agua bidestilada-desionizada (Milli-Q®) y Etanol 96° PA (Panreac Química SA, Barcelona, España). La solución de trietanolamina al 50 % se obtuvo por disolución de Trietanolamina PA (E. Merck, Darmstadt) con agua Milli-Q®.

2.- Formulaciones de ensayo

Se elaboran 35 geles hidroalcohólicos binarios en función de la concentración parcial de ambos polímeros: U10 – 0,0; 0,1; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0 y AH – 0,00; 0,01; 0,05; 0,10; 0,15; 0,20 % p/p.

3.- Elaboración de las formulaciones

Se pesan exactamente las cantidades requeridas de - U10 - para obtener las concentraciones parciales de este polímero y se incorporan a 100 ml de una mezcla etanol:agua Milli-Q® en

proporción 15:85 % v/v. Estas mezclas se agitan a 2000 r.p.m durante 10 min con un agitador *Silverson L4R* equipado con una cabeza de flujo axial y un desintegrador. Las dispersiones se dejan reposar durante 2 h a fin de eliminar el aire incorporado y garantizar una completa humectación del polímero. Por separado, se pesan exactamente las cantidades requeridas de la sal sódica del - AH - para obtener las concentraciones parciales de este polímero, y se disuelven en 100 ml de mezcla etanol:agua Milli-Q® en proporción 15:85 % v/v. La solución se deja reposar durante 2 h.

Transcurrido el tiempo de reposo, se interponen la dispersión de - U10 - y la solución de - AH -, y se neutraliza la mezcla con una solución de trietanolamina al 50 %, hasta alcanzar el valor de pH = 7,0. La homogeneización durante la neutralización se realiza en flujo continuo, a 1000 r.p.m. para evitar la incorporación de aire en la masa gelificada. Las mediciones de pH se realizan *in situ* con un micropH-metro digital *Crison 2001*, previamente calibrado y equipado con un electrodo para emulsiones. Las muestras gelificadas se dejan en reposo durante 72 h para su estabilización, antes de realizar las determinaciones reológicas (6).

4.- Determinación de la viscosidad y del índice de sinergia viscosa

Las determinaciones de viscosidad se realizaron con un reómetro tipo cono - placa *Brookfield Digital Viscometer DV-III*, equipado con un baño termostático de recirculación - *Brookfield TC 200* - para el control de la temperatura del contenedor de muestra. Las mediciones se efectuaron por triplicado en 0,5 ml de muestra. En cada determinación, la temperatura de la muestra se dejó estabilizar en el plato del reómetro durante 5 min antes de la medición de la viscosidad. Los reogramas obtenidos se analizaron y ajustaron al *modelo de Ostwald* con el programa *Rheocalc for Windows* versión 1.01 (7, 8).

Los reogramas se obtuvieron para los siguientes valores decrecientes de velocidad de deformación (*D*): 50, 40, 30, 20, 14, 10, 6, 4, 3, 2, 1 y 0,2 s⁻¹, utilizando el cono CP-52. La temperatura se mantuvo constante a 20,0 ± 0,1 °C. La interacción entre ambos polímeros se

cuantificó mediante la aplicación del *Índice de Sinergia Viscosa* (9).

Resultados y Discusión

Todas las curvas de flujo obtenidas se ajustaron al modelo de Ostwald ($\tau = k \cdot D^n$), con coeficientes de correlación superiores a 0,990. Los parámetros estadísticos demuestran que la ley de la potencia reproduce adecuadamente el comportamiento pseudoplástico de los geles hidroalcohólicos binarios de *Carbopol® Ultrez™ 10* y Ácido Hialurónico. Los valores medios de índices de consistencia (\bar{k}), calculados mediante la aplicación del modelo de Ostwald de Waele, se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1.- Valores de índices de consistencia medios (\bar{k} , mPasⁿ ± DE) de los geles binarios en función de la concentración de - U10 - y - AH -.

AH (%)	Ultrez™ 10 (%)					
	0,0	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
0,00	-	8597,7 (±43,11)	30893,3 (±833,1)	59036,7 (±1605,8)	73383,3 (±1806,7)	100790,0 (±1667,7)
0,01	63,64 (±1,81)	12106,7 (±402,4)	37166,7 (±1797,3)	59320,0 (±1171,2)	74783,3 (±1864,1)	100420,0 (±3533,4)
0,05	214,07 (± 6,25)	10363,3 (±375,3)	44926,7 (±1286,2)	68526,7 (±1284,6)	77480,0 (±2316,2)	103100,0 (±2088,1)
0,10	357,03 (± 3,78)	9302,0 (±399,4)	36373,3 (± 410,5)	83933,3 (±2137,8)	88120,0 (±1775,4)	107733,3 (±1106,0)
0,15	549,00 (±26,48)	8900,0 (±219,3)	32216,7 (± 618,6)	66450,0 (± 805,5)	103066,7 (±404,15)	111300,0 (±4326,7)
0,20	707,73 (±25,37)	8653,3 (±176,2)	30843,3 (±1049,8)	59083,3 (±1412,3)	85526,7 (±2592,8)	123933,3 (±1616,6)

Los valores de - *k* - se comparan mediante un análisis de varianza multifactorial (Two-way Anova; GraphPad Prism 2.0), con el objetivo de determinar la influencia de los factores concentración de -U10 - (*C_U*, 5 niveles) y concentración de - AH - (*C_H*, 5 niveles). Los resultados obtenidos demuestran que ambos factores influyen de forma sistemática y significativa (P < 0,001) en la consistencia de los sistemas gelificados binarios estudiados, además de una interacción estadísticamente significativa (P < 0,001) entre ambas variables (10).

La interacción entre ambas variables se cuantificó mediante la aplicación del *Índice de Sinergia Viscosa* (*I_S*), definido como:

$$I_S = \frac{k_{U+H}}{k_U + k_H} \tag{1}$$

Donde: *k_{U+H}*, (mPasⁿ) es el índice de consistencia medio del gel hidroalcohólico binario compuesto de U10 y AH a las concentraciones *C_{U+H}* (U10:AH, %

p/p); $y - k_U - y - k_H$ - (mPasⁿ) son los índices de consistencia medios de los geles individuales de U10 y AH a las concentraciones C_U y C_H (% p/p), respectivamente.

De acuerdo con esta definición, existe sinergismo cuando el valor de $I_S > 1$. Por el contrario, si se da la condición $I_S < 1$, el gel binario muestra valores de consistencia menores que la suma de los índices de consistencia correspondientes a los dos geles por separado. En este caso se considera que se produce un antagonismo, cuyo origen puede estar determinado por un reordenamiento de los enlaces moleculares que genere un debilitamiento de la estructura tridimensional del gel compuesto. Por lo tanto, la cuantificación del *Índice de Sinergia Viscosa* puede mostrar las modificaciones estructurales que tienen lugar en geles binarios, atribuibles a interacciones moleculares entre los agentes gelificantes (11).

La formación sinérgica de un gel se puede verificar por diferentes mecanismos. Las interacciones intermoleculares pueden tener un origen químico con formación de enlaces covalentes entre las cadenas de los polímeros, como ocurre en el caso del alginato de propilenglicol y la gelatina en medio ligeramente alcalino (12). En estos casos, el resultado es la formación de una red química. Sin embargo, en la mayoría de los casos el sinergismo está asociado a interacciones intermoleculares de naturaleza física, ya sea mediante la asociación cooperativa entre cadenas de polímeros diferentes, formando zonas mixtas de unión análogas a las zonas de unión presentes en los geles mono-componentes; o mediante asociaciones cadena-cadena debido a la atracción entre cargas opuestas.

En otros casos, el comportamiento de los sistemas gelificados compuestos está regido por interacciones termodinámicamente desfavorables ($\Delta H < 0$) entre los segmentos de cadenas, que eventualmente pueden provocar un efecto de exclusión mutua de cada uno de los componentes, e incrementar por ende, la concentración efectiva de ambos polímeros. Cuando la incompatibilidad termodinámica constituye el principio fundamental que rige el estado estructural del sistema, el incremento de

la concentración de uno de los componentes por encima de determinado valor puede producir la separación del sistema en dos fases (13).

Los valores medios de los índices de sinergia (I_S) de los geles binarios compuestos de U10 y AH se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2.- Valores de índices de sinergia viscosa (I_S) de los geles binarios en función de la concentración de - U10 - y - AH -.

AH (%, p/p)	U10 (% p/p)				
	0,1	0,5	1,0	1,5	2,0
0,01	1,398	1,201	1,004	1,018	0,996
0,05	1,176	1,444	1,157	1,053	1,021
0,10	1,039	1,164	1,413	1,195	1,065
0,15	0,973	1,025	1,115	1,394	1,098
0,20	0,930	0,976	0,989	1,154	1,221

Los resultados experimentales muestran que los valores máximos de sinergia se obtienen para mezclas de Carbopol® Ultrez™ 10 y Ácido Hialurónico en relación 10:1 (Figura 1). Concretamente, a esta relación polimérica U10/AH, los geles binarios muestran valores de *Índices de Sinergia Viscosa* que varían entre 1,22 y 1,44. En la práctica, estos valores de sinergia implican que la consistencia de los geles compuestos es entre 122 y 144 % mayor que la suma de la consistencia de los geles formulados individualmente.

Los sistemas hidroalcohólicos de estos dos polímeros tienen propiedades reológicas ligeramente similares: el Ácido Hialurónico

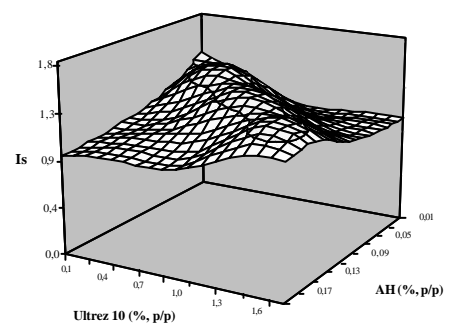


Figura 1.- Representación gráfica tridimensional de los Índices de Sinergia Viscosa de los geles binarios en función de las concentraciones de polímero.

muestra el comportamiento típico de las soluciones macromoleculares hiperentrelazadas, mientras que las características de flujo del *Carbopol® Ultrez™ 10* corresponden a las redes intermedias gelificadas. Al mezclar ambos polímeros, se verifica una interacción que genera un gel más rígido, en principio caracterizado por transiciones cooperativas y entrelazamientos mediante asociaciones ordenadas no covalentes. De acuerdo con las características descritas anteriormente, el mecanismo de gelificación sinérgica entre estos dos polímeros se puede producir, presumiblemente, a través de la formación de zonas de unión mixtas. Sin embargo, la naturaleza más exacta y precisa de estas interacciones requiere ser estudiada con mayor profundidad por otros métodos (14).

Sobre la base de las consideraciones generales expuestas anteriormente en relación con la definición del *Índice de Sinergia Viscosa*, el comportamiento de los geles binarios estudiados puede estar determinado por la formación de una red tridimensional más estructurada entre las moléculas de *Ultrez™ 10* y de *Ácido Hialurónico*. La deformación de esta red polimérica requiere la aplicación de una fuerza de deformación mayor que la necesaria para deformar la estructura de los geles por separado. Al parecer, la inclusión del Ácido Hialurónico en relación 1:10 ejerce un efecto de fijación sobre la red polimérica, como resultado del cual, el gel compuesto adquiere una mayor resistencia a la deformación.

Por otra parte, en los resultados expuestos en la Tabla 2 y en la Figura 1, se puede observar que las composiciones poliméricas cuya relación U10/AH difiere de la proporción (10:1), muestran *Índices de Sinergia Viscosa* significativamente menores. Especialmente en los geles binarios con una relación U10:AH baja (0,1% U10:0,2% AH; 0,1% U10:0,15% AH), se obtienen valores de η_s menores que la unidad. Este comportamiento indica que la incorporación de Ácido Hialurónico, en cantidades relativas superiores al 10 % del contenido de *Ultrez™ 10*, puede producir determinado grado de antagonismo estructural. Posiblemente, el

exceso de Ácido Hialurónico provoca una reestructuración en las interacciones moleculares que induce un debilitamiento de la estructura tridimensional en los sistemas binarios, con la consecuente disminución de la viscosidad con respecto a la suma de las viscosidades de los sistemas con un único componente.

Bibliografía

1. Nezu T., Winnik F.M., *Biomaterials*, 21, 415, (2000).
2. Hallen L., Johansson C., Laurent C., *Acta Otolaryngol.*, 119, 107, (1999).
3. Radomsky M.L., Aufdemorte T.B., Swain L.D., Fox W.C., Spiro R.C., Poser J.W., *J. Orthop. Res.*, 17, 607, (1999).
4. Nickel J.C., Downey J., Morales A., Emerson L., Clark J., *J. Urol.*, 160, 612, (1998).
5. Brown T.J., Alcorn D., Fraser J.R., *J. Invest. Dermatol.*, 113, 740, (1999).
6. Ramírez A., Fresno M.J., Jiménez M.M., Sellés E., *Pharmazie*, 54, 444, (1999).
7. Bentley M.V., Marchetti J.M., Ricardo N., Ali-Abi Z., Collett J.H., *Int. J. Pharm.*, 193, 49, (1999).
8. Ramachandran S., Chen S., Etzler F., *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 25, 153, (1999).
9. Tang L., Shen M.S., Chu T., Huang Y.H., *Biomaterials*, 20, 1365, (1999).
10. Ramírez A., Fresno M.J., Jiménez M.M., *World Congress of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences '99. FIP's 59th International Congress*, Barcelona, 1999.
11. Boutebba A., Milas M., Rinaudo M., *Int. J. Biol. Macromol.*, 24, 319, (1999).
12. Copetti G., Grassi M., Lapasin R., Prigl S., *Glycoconj. J.*, 14, 951, (1997).
13. Lundin L., Hermansson A.M., *Carbohydr. Polym.*, 26, 129, (1995).
14. Carnali J.O., *Rheol. Acta*, 31, 399, (1992).

Autor de contacto:

María José Fresno Contreras

mjose.fresno@uah.es

Universidad de Alcalá

Ctra. Madrid-Barcelona Km. 33,600.

Alcalá de Henares

Tel.: 91 885 5140

Fax: 91 885 4660