

Preparación y evaluación *in vitro* de las propiedades mucoadhesivas de dispersiones acuosas de Escleroglucano/Dextrano y Escleroglucano/Quitosano

Preparation and *in vitro* evaluation of mucoadhesivity properties for aqueous dispersions of Scleroglucan/Dextran and Scleroglucan/Chitosan

ISABEL C. ANDUEZA^{A,*}, KARLA K. CALO^A, MARÍA E. VIEIRA^A

Resumen

Las formas farmacéuticas aplicadas en las secreciones fisiológicas prolongan la efectividad terapéutica de los fármacos mediante la incorporación de polímeros mucoadhesivos que incrementen el tiempo de permanencia del producto en la mucosa. Por ello, se evaluó la fuerza bioadhesiva de mezclas de dispersiones acuosas de Escleroglucano (Scl) con Dextrano 70 (Dex) o Quitosano (Qs), como posibles vehículos estructurados para modificar la liberación del ingrediente activo a nivel bucal y ocular. Las determinaciones en presencia de fluido salival simulado (FSS), fluido lagrimal simulado (FLS) y mucina se realizaron por el método viscosimétrico en un viscosímetro/reómetro Brookfield DV-II+Pro al cabo de 3 min a 100 rpm. Las combinaciones de polímeros conteniendo Scl-Qs en cada uno de los fluidos estudiados demostraron un mejor comportamiento bioadherente que las mezclas Scl-Dex, muy probablemente debido a la protonación de los grupos aminos en los aminoglicanos del Qs en el medio de disolución (pH = \pm 5,0) que le permite una fuerte interacción con el ácido siálico de la mucina. También se observó una correlación directa entre la mucoadhesión y la concentración total polimérica para el Scl-Qs en FSS y Scl-Dex en FLS. Este sinergismo reológico se vio influenciado por la temperatura, fuerza iónica, así como, la concentración y características de los polímeros estudiados.

Palabras clave: Viscosidad, bioadhesión, escleroglucano, dextrano, quitosano.

Abstract

The pharmaceutical formulations applied in physiological secretions could extend the therapeutic effectiveness of the drug. This is done by incorporating mucoadhesive polymers that increase the product's residence-time in the mucous. For this reason, the bioadhesive force of Scleroglucan/Dextran or Scleroglucan/Chitosan aqueous dispersion mixtures were evaluated. These mixtures were considered as possible buccal and ocular drug-delivery vehicles. The essays were conducted in simulated saliva fluid (FSS), simulated tear fluid (FLS) and mucin. Moreover, the viscosimetric method was used with a Brookfield DV-II+Pro viscometer/rheometer, after 3 minutes at 100 rpm. The Scl-Qs mixtures showed a better bioadherent behavior than the Scl-Dex mixtures in both simulated fluids. This may be due to the protonation of the amine groups in the Chitosan amine-glycan chains had in the dissolution medium (pH = \pm 5). The Qs's charges allowed a strong interaction with mucin's sialic acid. Also, a direct correlation was observed between the mucoadhesion and the total polymeric concentration for Scl-Qs with FSS and Scl-Dex with FLS.

Key words: Viscosity, bioadhesion, scleroglucan, dextran, chitosan.

^A Unidad de Formulación, Caracterización y Optimización, Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

* Correspondencia: isabel.andueza@ucv.ve.

Introducción

El epitelio de muchos órganos y tejidos del cuerpo humano está en contacto relativamente directo con el ambiente externo. Estas áreas corporales incluyen la conjuntiva que recubre al ojo, membranas mucosas que envuelven la cavidad oral y los aparatos respiratorio, digestivo y genitourinario. Estas superficies se encuentran bañadas de secreciones fisiológicas que tienen, entre otras funciones, la de proteger tejidos y órganos internos vitales, así como también la lubricación, hidratación y la conformación de barreras contra microorganismos patógenos y sustancias extrañas. Su permeabilidad le permite el intercambio de gases y nutrientes en la superficie de las células donde ellas se encuentran (Bansil y Turner, 2006; Gésime y col., 2009).

Es por ello que el mantenimiento adecuado de la composición y volumen de estos fluidos es esencial para preservar la homeostasis del sistema biológico. Cuando este equilibrio se pierde, se evidencian patologías tales como, la xeroftalmía, la xerostomía o enfermedades respiratorias del tracto superior, entre otras, lo que ha hecho necesario su estudio e investigación. Como consecuencia de ello, han surgido nuevas tendencias en el desarrollo de productos farmacéuticos que son capaces de liberar el fármaco en estas células epiteliales mediante la habilidad de adherirse a ciertas moléculas que están presentes en estas secreciones. Estas vías de administración permiten obtener una efectiva acción local o sistémica, evitándose, en esta última, el metabolismo gastrointestinal de primer paso a través de la pared intestinal y el hígado (Authimoolam y Dziubla, 2016).

Por otro lado, éstas formulaciones farmacéuticas deben ser capaces de resistir los mecanismos de renovación fisiológica como la saliva y la lágrima, los movimientos bucolinguales, así como el parpadeo y la temperatura, ya que estos no permiten mantener las concentraciones efectivas de los fármacos por períodos prolongados y como consecuencia, disminuye la biodisponibilidad de los ingredientes activos (Achouri y col., 2013).

La composición de estas capas mucosas epiteliales es bastante compleja, con un elevado contenido de agua y en menor proporción de mucinas, sales inorgánicas, carbohidratos y lípidos (Andrews y col., 2009; Boddeda y col., 2014). Las células de Goblet especializadas del epitelio de estos órganos, pueden sintetizar sustancias mucinosas que le confieren a los fluidos viscosidad y características adherentes (Bansil y Turner, 2006; Roy y Prabhakar, 2010).

La mucina no es más que un conjunto de glicoproteínas de alto peso molecular capaz de formar geles viscoelásticos con propiedades cohesivas y adhesivas, que se unen al epitelio mediante los grupos de ácido siálico y sulfato que contienen, resultando polielectrolitos aniónicos a pH fisiológico (Andrews y col., 2009). Tomando en consideración estas características, muchos investigadores se han planteado la estrategia de desarrollar productos de aplicación tópica que contengan componentes viscosos y bio/mucoadhesivos que sean capaces de unirse a las superficies mediante el mecanismo de adhesión de tal manera de controlar y conservar por más tiempo los ingredientes activos farmacéuticos en el sitio terapéutico de acción y aumentar su concentración efectiva.

Se podría definir que una sustancia adhesiva es aquella que al ser aplicada entre la superficie de dos materiales, permite una unión que se resiste a la separación. Los materiales que se unen por medio del adhesivo se denominan sustratos, y al conjunto de procesos que involucran interacciones físicas y químicas que se presentan en la interfase adhesivo-sustrato se le conoce como adhesión (Vallejo y Perilla, 2008). Cuando estas interacciones intermoleculares se suceden en presencia de un material de naturaleza biológica, se le llama bioadhesión (Smart, 2005; Jones y col., 2009; Rahamatullah y col., 2011). Igualmente, si esto ocurre con la participación de sustancias mucinosas, el término adhesión se correspondería a la mucoadhesión.

La mucoadhesión es una herramienta ampliamente estudiada en el desarrollo de los sistemas de liberación de ingredientes activos farmacéuticos, ya que mejora la eficacia terapéutica por su mayor permanencia en el lugar de aplicación debido a la capacidad de los sistemas farmacéuticos de adherirse a las mucosas (Carvalho y col., 2010; Saraswathi y col., 2013). Además, estas membranas son relativamente permeables y permiten una rápida absorción del compuesto activo. Este tipo de formulaciones puede ser posible gracias a la incorporación de polímeros mucoadhesivos fisiológicamente compatibles, que son capaces tanto de unirse a la superficie de los tejidos, como de modificar el patrón de liberación de los ingredientes activos (Mythri y col., 2011).

Los polímeros mucoadhesivos de preferencia son aquellos de origen natural ya que son biodegradables, es decir, que su estructura química puede ser reducida a una o más cadenas hidrocarbonadas sencillas por acción de las enzimas del cuerpo

humano, trayendo como consecuencia una mejor biocompatibilidad con las mucosas y menos efectos colaterales dentro de los seres vivos (Herrero, 2007; Vieira y col., 2009; Tamboli y col., 2012). Entre estos polímeros cabe destacar los de naturaleza neutra como el Escleroglucano (Scl) y el Dextrano 70 kDa (Dex) así como el Quitosano (Qs) (De Oliveira y col., 2012; Chaiyasan y col., 2013; Andueza y Hochhaus, 2013; Andueza y Hochhaus, 2015).

En este trabajo se evaluó la fuerza de bioadhesión (F) de mezclas de dispersiones acuosas de Escleroglucano con el Dextrano o Quitosano, para que puedan servir como posibles vehículos estructurados en productos de liberación bucal y ocular.

Materiales y métodos

El Scl 5000 kDa empleado resultó ser el Tinocare GL[®] de BASF (número de lote: 0008886294) (Tinocare GL[®], 2011), que se presenta como una dispersión acuosa del polímero al 1%, (Biofina C.A.). El Qs de la investigación fue adquirido de Sigma-Aldrich[®] (50-190 kDa con 75-85% de desacetilación de la molécula) y la muestra de Dex (70 kDa) utilizada fue de Gentec Pharmaceutical Group, (Laboratorios L.O. Oftalmi, C.A.). Se empleó una solución amortiguadora de ácido acético (0,2 M) / acetato de sodio trihidratado (0,2 M) con un pH de $5,0 \pm 0,1$.

Se utilizó bicarbonato de sodio, cloruro de potasio, cloruro de sodio, fosfato monobásico de potasio y fosfato dibásico de potasio en grado reactivo para la preparación del fluido salival simulado (FSS), mientras que para el fluido lagrimal simulado (FLS) se utilizó bicarbonato de sodio, cloruro de potasio y cloruro de sodio de igual pureza (**Tabla I**).

La mucina tipo II utilizada como sustrato biológico es de estómago porcino (uniones de ácido siálico alrededor de 1%) y fue adquirida de Sigma-Aldrich® (número de lote 107K0127) en forma de polvo.

PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS POLIMÉRICAS

Se prepararon por duplicado mezclas de dispersiones acuosas de Scl con Dex y Scl con Qs en solución amortiguadora de ácido acético (0,2M) / acetato de sodio trihidratado (0,2M) pH = 5,0 ± 0,1 y en un intervalo de concentración en polímeros totales de 0,35% a 0,65% (**Tabla II**).

DETERMINACIÓN DE LA FUERZA DE BIOADHESIÓN (F)

La fuerza de bioadhesión (F) se obtuvo empleando el método viscosimétrico (Hassan y Gallo, 1990; Kesavan y col., 2010; Pawar y col., 2013).

Para representar la incorporación y dilución de las mezclas poliméricas en los fluidos biológicos simulados (**Tabla I**), se mezcló cada una de las dispersiones poliméricas indicadas en la **tabla II** con el FSS o el FLS en una proporción igual

Tabla I

Composición de los fluidos biológicos simulados

Ingredientes	%p/v FSS	%p/v FLS
Bicarbonato de sodio	0,126	0,218
Cloruro de potasio	0,072	0,138
Cloruro de sodio	0,060	0,678
Fosfato monobásico de potasio anhidro	0,068	
Fosfato dibásico de potasio anhidro	0,042	
Agua destilada csp	100 mL	100 mL

a 40:7 (polímero:fluido) en términos de peso (Davis y col., 1971; Qi y col., 2007; Kartal y col., 2010; Yeole e Iyer, 2011; Marques y col., 2011).

Posteriormente, se determinó la viscosidad de las mezclas poliméricas (η_p) diluidas con cada uno de los fluidos biológicos simulados, así como la viscosidad de estas mismas dispersiones diluidas en presencia de la mucina (η_t : viscosidad del sistema o viscosidad total polímero-fluido simulado con la mucina) (Hassan y Gallo, 1990; Kesavan y col., 2010; Pawar y col., 2013).

Para la determinación del valor de η_t , se procedió a incorporar la mucina en cada uno de los sistemas poliméricos diluidos con los fluidos simulados, en la proporción de una parte de polímeros totales con veinte partes de la mucina en términos de peso (1:20) (Rossi y col., 2001).

Por su parte, para calcular la viscosidad debida a la bioadhesión (η_b) se aplicó la siguiente ecuación:

$$\eta_b = \eta_t - \eta_m - \eta_p \text{ (Ecuación 1)}$$

En donde η_m es la viscosidad de la

Tabla II

Composición de los sistemas poliméricos

Fórmula	% Scl	% Dex	% Qs	Σ [% polímeros]
S ₁ D ₁	0,15	0,2		0,35
S ₂ D ₁	0,25	0,2		0,45
S ₁ D ₂	0,15	0,4		0,55
S ₂ D ₂	0,25	0,4		0,65
S ₁ Q ₁	0,15		0,2	0,35
S ₂ Q ₁	0,25		0,2	0,45
S ₁ Q ₂	0,15		0,4	0,55
S ₂ Q ₂	0,25		0,4	0,65

Nomenclatura: S/Scl: Escleroglucano; Q/Qs: Quitosano; D/Dex: Dextrano 70

mucina dispersa en una mezcla diluida del fluido biológico simulado con la solución amortiguadora sin los polímeros, es decir, primero se mezclaron 40 partes de la solución buffer pH =5,0 ± 0,1 (blanco en ausencia de polímero) con siete partes del fluido simulado correspondiente. Posteriormente, a esa mezcla se le incorporó la proporción equivalente a 20 partes de mucina por una parte de la cantidad de polímero total (**Tabla II**) en términos de peso, esto es, (buffer-fluido simulado): mucina en proporción 1:20 (Hassan y Gallo, 1990; Kesavan y col., 2010; Pawar y col., 2013). Por lo que la cantidad de mucina incorporada para determinar la η_m fue variando en función de la concentración de la mezcla polimérica total a evaluar.

La F se calculó de acuerdo al método viscosimétrico utilizado por Hassan y Gallo (1990) a través de la ecuación:

$$F = \eta_b \cdot \sigma \text{ (Ecuación 2)}$$

En la cual σ es la velocidad de deformación aplicada por el viscosímetro en unidades de segundo⁻¹ (seg⁻¹) en función de la aguja empleada. Los resultados de la F se expresaron en dinas/cm.

Las mediciones de los parámetros η_p , η_t y η_m se realizaron en un viscosímetro rotacional Brookfield DV-II+Pro, con la aguja SC4-31 correspondiente al adaptador de pequeñas muestras, así como, la aguja LV4. La selección de la aguja se realizó en función del grado de viscosidad de las muestras. Las mezclas fueron sometidas durante 3 minutos a una velocidad de deformación constante igual a 100 rpm. Las mediciones se realizaron por triplicado a una temperatura igual a 37 ± 1°C para FSS y a 35 ± 1°C para el FLS, para simular las condiciones bucal y ocular, respectivamente. Los valores

de viscosidad se expresaron en mPa.seg. En la **figura 1** se esquematiza el procedimiento utilizado.

También se calculó la relación (R η) entre la viscosidad debido a la bioadhesión y la viscosidad de la mezcla de polímeros diluidos aplicando la ecuación 3 (Fini y col., 2011).

$$R\eta = \eta_b / \eta_p \text{ (Ecuación 3)}$$

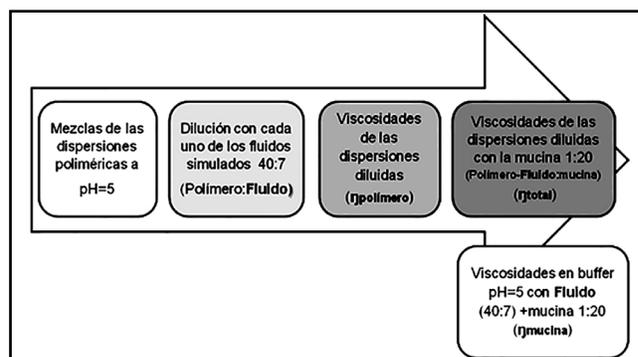


Figura 1. Esquema del procedimiento para determinar η_b

Resultados y discusión

El análisis viscosimétrico de mezclas polímero-mucina nos brinda un modelo *in vitro* que es representativo del posible comportamiento *in vivo* de un polímero con propiedades mucoadhesivas. Hassan y Gallo (1990), implementaron las técnicas viscosimétricas para el estudio de las propiedades mucoadhesivas de varios polímeros; para esto, evaluaron la F de los sistemas poliméricos al registrar los cambios de viscosidad de los polímeros al interactuar con la mucina. La energía asociada con los enlaces físicos y químicos de la interacción polímero-mucina es reflejada en los rearrreglos de las macromoléculas que están involucrados en los procesos bioadhesivos y originan cambios en la viscosidad del sistema (Kesavan y col., 2010; Pawar y col., 2013; Singh y col., 2015). Con el empleo de esta

metodología, se espera que, al mezclarse con la mucina, los sistemas poliméricos con gran capacidad mucoadhesiva presenten valores de viscosidad superiores a la sumatoria de la viscosidad de la dispersión polimérica más la del blanco de la mucina.

En la **tabla III**, se presentan los valores de la η_b y la F obtenidos aplicando las ecuaciones 1 y 2 para las diferentes concentraciones en polímeros totales de Scl-Qs en FSS. Al incrementar la concentración total de polímero presente da como resultado un aumento de la viscosidad debido a la bioadhesión y de la fuerza bioadhesiva. En las mezclas poliméricas de Scl-Dex en FSS no se obtuvieron incrementos en la viscosidad en presencia de mucina por lo que la bioadhesión no se vio favorecida dentro del sistema salival empleado.

Por otra parte, las asociaciones poliméricas en FLS y mucina presentaron un aumento de la viscosidad (η_t), cuya magnitud fue dependiente de la proporción y tipo de mezcla polimérica. Esto indica posiblemente la formación de arreglos moleculares y enlaces secundarios entre los polímeros y la mucina que generaron valores interesantes de bioadhesión (**Tabla IV**). No obstante, las asociaciones del Scl con la menor concentración de Qs no evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en los

valores de η_b y F, lo que indica que el efecto bioadhesivo de estas mezclas es dependiente de la concentración de los grupos aminos protonados en los aminoglicanos del Qs.

Las combinaciones de polímeros conteniendo Scl-Qs en cada uno de los fluidos estudiados, mostraron un mejor comportamiento bioadherente que las mezclas Scl-Dex, muy probablemente asociado a la carga que adquiere el Qs al disolverse en la solución acuosa pH = 5, formándose bajo estas condiciones un polielectrolito lineal con carga positiva que es responsable de las interacciones de los grupos aminos del Qs y la carga negativa del ácido siálico, presente en la estructura de las glicoproteínas de la mucina. De esta forma, el grupo funcional cargado en el polímero al interactuar con la mucina, tiene un efecto sobre la η_b y la F, siendo evidenciado en su sinergismo reológico (Rossi y col., 2001; Kumar y col., 2010; Andueza, 2012; Nilsen-Nygaard y col., 2015).

Por otra parte, se pudo observar que el comportamiento bioadhesivo de las mezclas poliméricas fue afectado por la temperatura empleada y muy principalmente por la mezclas de sales presentes en los fluidos ensayados. Una

Tabla III

Valores promedios de viscosidad debido a la bioadhesión y la fuerza bioadhesiva en FSS para el sistema Scl-Qs

Fórmula	% polímero	η_b	F
S ₁ Q ₁	0,35	0	0
S ₂ Q ₁	0,45	1,81 ± 0,35	0,62 ± 0,57
S ₁ Q ₂	0,55	12,5 ± 2,86	4,25 ± 0,97
S ₂ Q ₂	0,65	29,39 ± 1,59	9,99 ± 0,54

Nomenclatura: S: Escleroglucano; Q: Quitosano

Tabla IV

Valores promedio de la viscosidad debida a la bioadhesión y la fuerza de bioadhesión en FLS de los sistemas Scl-Qs y Scl-Dex

Fórmula	% polímero	η_b	F
S ₁ Q ₁	0,35	139,66 ± 4,68	47,48 ± 1,59
S ₂ Q ₁	0,45	139,98 ± 2,07	47,25 ± 0,71
S ₁ Q ₂	0,55	153,77 ± 1,21	52,28 ± 0,41
S ₂ Q ₂	0,65	535,38 ± 3,47	-
S ₁ D ₁	0,35	11,39 ± 1,37	3,87 ± 0,47
S ₂ D ₁	0,45	44,1 ± 1,35	14,99 ± 0,46
S ₁ D ₂	0,55	48,19 ± 1,14	16,38 ± 0,39
S ₂ D ₂	0,65	122,85 ± 1,58	41,77 ± 0,54

Nomenclatura: S: Escleroglucano; Q: Quitosano

mayor fuerza iónica en el FSS proporcionó una clara disminución tanto en la η_b como en la F. Por lo tanto, la composición del fluido biológico juega un papel importante en la selección del sistema polimérico de liberación bioadhesivo óptimo.

Al evaluar la relación entre la viscosidad debido a la bioadhesión y la viscosidad de la mezcla de polímeros diluidos correspondientes, se desprende que, en presencia del FSS, la mayor concentración de la mezcla Scl-Qs (0,65%) tuvo la mejor relación (η_b/η_p), por lo que si esta mezcla formara parte de los componentes de una formulación, podría evidenciarse, *in vivo*, un incremento del tiempo de residencia en la cavidad bucal, ya que la interacción y adherencia con la capa mucosa que recubre al epitelio sería mayor (**Figura 2**). Por otro lado, el comportamiento en FLS demostró que las concentraciones de las mezclas al 0,55% y 0,65% son más determinantes para favorecer los rearrreglos moleculares con la mucina (**Figura 3**). Para las mezclas Scl-Dex en FLS, se comprobó que la relación η_b/η_p está íntimamente relacionada con la proporción de la mezcla polimérica, resultando superior la de máxima concentración (**Figura 4**).

De igual modo, es importante desta-

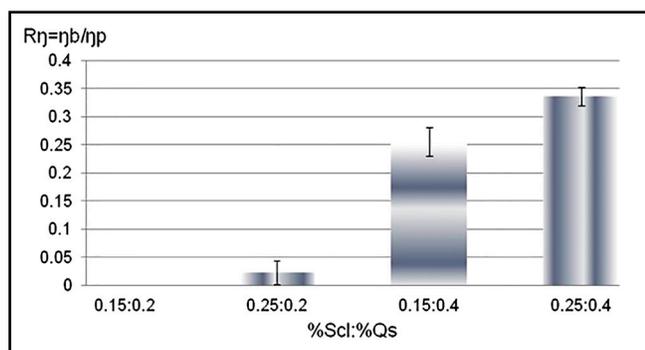


Figura 2. Relación entre la viscosidad debido a la bioadhesión y la viscosidad de la mezcla poliméricas Scl: Qs en FSS.

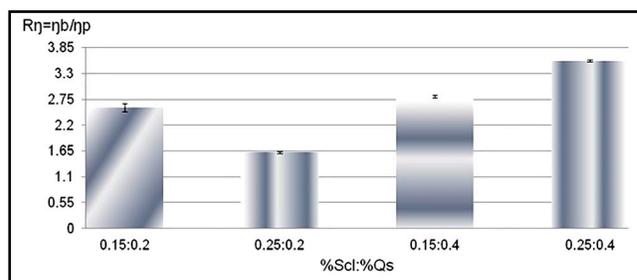


Figura 3. Relación entre la viscosidad debido a la bioadhesión y la viscosidad de la mezcla poliméricas Scl: Qs en FLS.

car que el sinergismo reológico también se vio influenciado por la concentración y características de los polímeros estudiados, la temperatura, la cantidad de iones presentes en el medio y los factores instrumentales propios del ensayo seleccionado.

Conclusión

Las mezclas del Scl con el Dex o el Qs, proporcionan características bioadhesivas dependientes del ambiente biológico, lo que permitiría su selección como vehículo estructurado para formas farmacéuticas líquidas de liberación que contribuyan a prolongar el tiempo de residencia del producto, así como controlar la cesión local de los ingredientes activos farmacéuticos constituyendo una alternativa en el desarrollo de fórmulas eficientes para estas vías de administración.

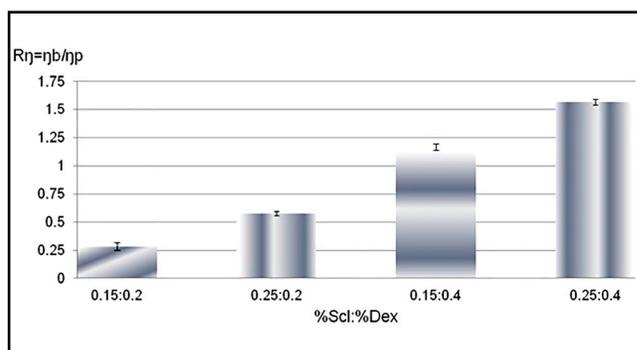


Figura 4. Relación entre la viscosidad debido a la bioadhesión y la viscosidad de la mezcla poliméricas Scl: Dex en FLS.

Agradecimientos

Este trabajo fue subvencionado por el Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico (CDCH) y por el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Universidad Central de Venezuela a través de los proyectos N° PG-06-8824-2013 y IIF-04-2013 respectivamente. A la empresa Biofina C.A. y Laboratorios L.O. Oftalmi C.A., por colaborar con la donación de las materias primas indispensables para la ejecución de la investigación.

Referencias bibliográficas

- Achouri D, Alhanout K, Piccerelle P, Andrieu V. 2013. Recent advances in ocular drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 39(11): 1599–1617.
- Andrews G, Laverty T, Jones D. 2009. Mucoadhesive polymeric platforms for controlled drug delivery. *Eur J Pharm* 71: 505–518.
- Andueza I. Desarrollo y caracterización de nanopartículas oftálmicas de dextran prednisolona hemissuccinato Tesis doctoral. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia: Caracas, Venezuela, 2012. 110 p.
- Andueza I, Hochhaus G. 2013. Nanosistema dextrano/quitosano con potencial aplicación oftalmológica. *Rev Fac Farm UCV* 76(1 y 2): 50–57.
- Andueza I, Hochhaus G. 2015. Dextrano: Polímero transportador para la liberación de fármacos intraoculares. *Rev Fac Farm UCV* 78(1 y 2): 29–33.
- Authimoolam S, Dziubla T. 2016. Biopolymeric mucin and synthetic polymer analogs: Their structure, function and role in biomedical applications. *Polymers*. [Internet]. 2016 Jul 25. 8(3): 1–28. Disponible en: doi:10.3390/polym8030071.
- Bansil R, Turner B. 2006. Mucin structure, aggregation, physiological functions and biomedical applications. *Curr Opin Colloid Interface Sci* 11: 164–170.
- Boddeda B, Ratna J, Battu H. 2014. A review on mucoadhesive polymers in ophthalmics. *Int J Pharm Sci Rev Res* 24(1): 237–245.
- Carvalho F, Bruschi M, Evangelista R, Daflon M. 2010. Mucoadhesive drug delivery systems. *Braz J Pharm Sci* 46(1): 1–17.
- Chaiyasan W, Srinivas S, Tiyaboonchai W. 2013. Mucoadhesive chitosan-dextran sulfate nanoparticles for sustained drug delivery to the ocular surface. *J Ocul Pharmacol Ther* 29(2): 200–207.
- Davis R, Hartman C, Fincher J. 1971. Dialysis of ephedrine and pentobarbital from whole human saliva and simulated saliva. *J Phar Sci* 60(3): 429–432.
- De Oliveira G, Bretas F, Rio R, Yoshida M, Gomes A, da Silva A. 2012. New mucoadhesive chitosan film for ophthalmic drug delivery of timolol maleate: *in vivo* evaluation. *J Ocul Pharmacol Ther* 28(4): 350–358.
- Gésime J, Acevedo A, Lalaguna F. 2009. Las mucinas salivales y sus implicaciones en la reología de la saliva humana y los sustitutos salivales. *Acta Odont Venez* [Internet]. 2015 Aug 25. 47(2). Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/2/art-27/>.
- Fini A, Bergamante V, Ceschel GC. 2011. Mucoadhesive Gels Designed for the Controlled Release of Chlorhexidine in the Oral Cavity. *Pharmaceutics*. [Internet]. 2015 3(4): 665–679. Disponible en: doi:10.3390/pharmaceutics3040665
- Hassan E, Gallo J. 1990. A simple rheological method for the *in vitro* assessment of mucin-polymer bioadhesive bond strength. *Pharm Res* 7(5): 491–495.
- Herrero R. Aspectos biofarmacéuticos y farmacocinéticos en oftalmología. Formas farmacéuticas oftálmicas. Nuevas formulaciones de administración ocular. In: *Farmacología ocular*. Eds: Cortés C, Arias A, Encinas J, García J. Industria Gráfica Mae S.L.: España, 2007. pp. 25–48.
- Jones D, Bruschi M, de Freitas O, Daflon M, Guimarães E, Andrews G. 2009. Rheological, mechanical and mucoadhesive properties of thermoresponsive bioadhesive binary mixtures composed of poloxamer 407 and carbopol 974P designed as platforms for

- implantable drug delivery systems for use in the oral cavity. *Int J Pharm* 372: 49–58.
- Kartal A, Marvola J, Matheka J, Peltoniemi M, Siven M. 2010. Computational prediction of local drug effect on carcinogenic acetaldehyde in the mouth base don *in vitro/in vivo* results of freely soluble L-cysteine. 36(6): 715–723.
- Kesavan K, Nath G, Pandit J. 2010. Sodium alginate based mucoadhesive system for gatifloxacin and its *in vitro* antibacterial activity. *Sci Pharm* 78: 941–957.
- Kumar V, Gupta A, Kumar R, Yadav J, Kumar B. 2010. Mucoadhesive polymers: Means of improving the mucoadhesive properties of drug delivery system. *J Chem Pharm Res* 2(5): 418–432.
- Marques M, Loebenberg R, Almukainzi M. 2011. Simulated biological fluids with possible application in dissolution testing. *Dissolution Technol.* (Internet). 2016 Oct 20. 18(3): 15–28. Disponible en: dx.doi.org/10.14227/DT180311P15.
- Mythri G, Kavitha K, Kumar M, Singh S. 2011. Novel mucoadhesive polymers - A review. *J Appl Pharm Sci* 1(8): 37–42.
- Nilsen-Nygaard J, Strand S, Varum K, Draegt K, Nordgard C. 2015. Chitosan: Gels and interfacial properties. *Polymers* 7: 552–579.
- Pawar P, Kashyap H, Malhotra S, Sindhu R. 2013. Hp- β -CD-Voriconazole in situ gelling system for ocular drug delivery: *In vitro*, stability and antifungal activities assessment. *Biomed. Res. Int.* (Internet). 2016 Jun 13. Disponible en: <https://www.hindawi.com/journals/bmri/2013/341218>.
- Qi H, Chen W, Huang C, Li L, Chen C, Li W et al. 2007. Development of a poloxamer analogs/carbopol-based in situ gelling and mucoadhesive ophthalmic delivery system for puerarin. *Int J Pharm* 337: 178–187.
- Rahamatullah S, Raj T, Garland M, Woolfson A, Donnelly R. 2011. Mucoadhesive drug delivery systems. *Pharm Bioallied Sci* 3(1): 89–100.
- Rossi S, Ferrari F, Bonferoni M, Caramella C. 2001. Characterization of chitosan hydrochloride-mucin rheological interaction: Influence of polymer concentration and polymer:mucin weight ratio. *Eur J Pharm Sci* 12: 479–485.
- Roy S, Prabhakar B. 2010. Bioadhesive polymeric platforms for transmucosal drug delivery systems - a review. *Trop J Pharm Res* 9(1): 91–104.
- Saraswathi B, Balaji A, Umashankar M. 2013. Polymers in mucoadhesive drug delivery system - latest updates. *Int J Pharm Pharm Sci* 5 Suppl 3: 423–430.
- Singh T, Jones D, Andrews G, Sheshala R. Characterization of Bioadhesion. In: *Bioadhesion and Biomimetics from nature to applications*. Eds: Bianco-Peled H, Davidovich-Pinhas M. Pan Stanford Publishing; USA, 2015. pp. 23–42.
- Smart J. 2005. The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Adv Drug Deliv Rev* 57(11): 1557–1568.
- Tamboli V, Mishra G, Mitra A. 3. Biodegradable polymers for ocular drug delivery. In: *Advances in ocular drug delivery*. Ed: Mitra A. Research Signpost: India, 2012. pp. 65–86.
- Tinocare GL®. Technical Information. Natural polysaccharide for cosmetics. Basf SE The chemical company; Ludwigshafen, Alemania, 2011.
- Vallejo B, Perilla J. 2008. Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros. *Rev Colomb Cienc Quím Farm* 37(1): 33–61.
- Vieira M, Andueza I, Attias D. 2009. Estudio del comportamiento reológico del Scleroglucan como base para el desarrollo de formulaciones oftálmicas. *Rev Fac Farm UCV* 72(1): 37–42.
- Yeole P, Iyer D. 2011. Thermosensitive in situ gel of Timolol Maleate for the treatment of open angle glaucoma. *RJPBCS* 2(3):1048–1064.