



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN

ESTUDIO DE LA LIBERACION DE SUSTANCIAS LIPOFILICAS EN SISTEMAS NANOENCAPSULADOS

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE: QUIMICA FARMACEUTICA BIOLIGA P R E S E N T A : FABIOLA CHAVEZ MONROY

ASESORES: DRA ADRIANA GANEM RONDERO DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

PAGINACIÓN

DISCONTINUA



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

_____ " Estudio de la Liberación de Sustancias Lipofílicas
_____ en Sistemas Nanoencapsulados " _____
_____ que presenta la pasante: Fabiola Chávez Monroy
_____ con número de cuenta: 9656477-2 para obtener el título de :
_____ Química Farmacéutica Bióloga _____

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 12 de Febrero de 2002

PRESIDENTE	<u>D.E.S.S. Rodolfo Cruz Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>Q.F.B. Martha Patricia Zúñiga Cruz</u>	
SECRETARIO	<u>Dr. David Quintanar Guerrero</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>Dra. Adriana Ganao Rondero</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.I. Guadalupe Koizumi Castro</u>	

A DIOS

Porque me creaste y me has concedido llegar a donde estoy, con las personas que me rodean, permitiéndome vivir cada día compartiendo mis alegrías, triunfos y también mis desdichas, mismas que han servido para valorar lo que soy y lo que tengo.

Porque en ocasiones me sentí sola y me hiciste saber que siempre puedo contar contigo y con tu inmensa generosidad.

Porque me has dejado decidir el rumbo de mi vida y equivocarme, tal vez con la esperanza de que recapite y vuelva a Ti.

Porque me has permitido experimentar el amor y la amistad; dones que solo Tú pudiste concebir.

Porque aunque a veces no tengo palabras para expresar lo que siento y/o lo que quiero, Tú comprendes todo lo que llevo en lo más profundo de mí ser y siempre estarás conmigo...

Porque conoces el profundo significado de la palabra GRACIAS, misma que quiero expresarte hoy, por todas las oportunidades que me concedes.

En fin, Tú sabes lo que quiero decir...



A toda mi familia; asesores y amigos por ...

- estar siempre conmigo
- brindarme su confianza y apoyo cuando más lo necesité
- tenerme paciencia
- indicarme cuando hice algo mal
- hacerme sentir bien
- etc., etc., etc.

Decir ¡Gracias!, es como regalar una flor. 🌸

Dice Emerson que: "la belleza de una flor proviene de sus raíces"

¡¡Gracias desde el corazón !!

A Mis Padres † †

Gracias por apoyarme y ser pacientes durante todo este tiempo en que he necesitado de ustedes y de su amor. Porque siempre se han esforzado para mostrarme el camino del bien y del mal. Porque no ha sido fácil educarme, pero ustedes han sido perseverantes en su tarea. Por todos los sacrificios que han hecho por mí y mis hermanos. Porque puedo seguir contando con ustedes a pesar de mis errores. Porque me perdonan esos arranques de ira, en que digo cosas sin pensar. Porque aunque no se los diga, los quiero, los admiro y les deseo que Dios los conserve.

A Mis Hermanos 🤝

Ya saben lo importante que es para mí el tener la oportunidad de vivir esta etapa, por eso quiero compartir con ustedes mis temores y sobre todo la alegría de saber que estamos juntos en estos momentos. Deseo darles las gracias, pues sé que no soy una persona con la que sea fácil convivir, sin embargo, me brindan su compañía y apoyo incondicional. También quiero agradecerles el cariño que me expresan con acciones, aún cuando no siempre hago lo mismo ¿Saben? Los quiero mucho.

A Mi Familia en General (Abuelos, Tíos, Primos, etc.) ☺

Porque siempre encontré palabras de aliento, de confianza, de respeto, pues el apoyo que recibí de ustedes fue en *todos los sentidos* y gracias a eso, he avanzado un paso más en mi vida. Me han hecho saber que debemos luchar para conseguir nuestras metas a pesar de las dificultades diarias, y más aún, que debemos tener confianza en nosotros mismos y en los demás. Muchas gracias por estar al pendiente de mi familia y de mí, sobre todo en los momentos difíciles.

A Mis Amigos ☺

Por brindarme su cariño, confianza, tiempo, respeto, paciencia, etc. etc., que me ha servido en todo momento para lograr mis objetivos (aún cuando por momentos me resistí a luchar por ellos). Gracias a todos y cada uno de ustedes por ser como son y aceptarme en su vida y en su interior; pues no es nada fácil encontrar Amigos de verdad y sobre todo conservarlos. También deseo agradecerles la felicidad que han traído a mi vida, y no solo eso, pues han permanecido conmigo en las buenas y en las malas, siempre apoyándome a su manera.

Sé que a muchos de ustedes les debo una disculpa por aquellas actitudes desagradables que asumi , les pido perdón por no hacerlo en su momento y confío en que me disculparán.

A Mis Asesores ☺

El tiempo que compartí con ustedes fue grato y muy valioso para mí, pues es muy difícil encontrar un lugar donde se conceda el buen trato y ayuda que aquí se recibe en todo momento. Son los mejores asesores que pude haber tenido.


Dra. Adriana: Quiero agradecerle la confianza y el apoyo brindados, pues gracias a esto se ha concluido el presente trabajo, en el cual, usted ha contribuido enormemente compartiendo su experiencia. Gracias por la amabilidad y respeto que siempre muestra hacia los demás, pues esto me permitió acercarme a usted confiando en que me ayudaría cuando fuera necesario (de hecho, esto ocurrió en varias ocasiones). Me siento contenta por tener la oportunidad de conocerlos y de haber trabajado con ustedes.

Dr. David: Ha sido un placer colaborar en este programa con usted, pues su paciencia y dedicación a lo largo del proyecto, la confianza que depositó en mí; el hecho de encontrar siempre la manera de ayudarnos (directa o indirectamente), son sólo algunas de las cosas que lo caracterizan. Todo lo mencionado con anterioridad aunado por supuesto a su experiencia y apoyo, lograron la meta de concluir ésta tesis.

Bien, por si lo anterior no le dijo mucho, déjeme escribir una frase: "Doctor, ¿Qué cree?... ¡Aquí está mi tesis!, ¿No le parece fenomenal?..."

A todas aquellas personas que han contribuido en mi formación, profesores, compañeros de clase y de esquijs, pues asumieron su responsabilidad y trabajaron lo suficiente para ayudarme a acreditar las materias correspondientes.

A aquellos que aún no lo han logrado, pero que están trabajando en ello. Conserven esa perseverancia que les permitirá alcanzar sus metas. Recuerden que entre más trabajo nos cueste, mayor será la satisfacción al lograrlo. ¡Confío en ustedes! ☺

 Si te sientas en el camino, ponte de frente a lo que aún has de andar y de espaldas a lo ya andado. (Proverbio chino)

Se agradece también al Taller de Soplado de Vidrio (Sr. Draucín Jiménez) y a la Sección de Microscopía Electrónica (Técnico Rodolfo Robles) de la FES-C por el apoyo brindado.

Reflexionando un poco...

Un *amigo* es alguien que:

Te acepta como eres y te ayuda a ser mejor.
Gozar contigo con lo que te gusta hacer.

Te levanta el ánimo.
Te ayuda a salir de tu *ya* para formar un *nosotros*.

Hace oración por ti.
Te quiere por lo que eres, no por lo que tienes o sabes.

Se acuerda de ti cuando estás lejos.

Te lleva a hacer nuevos amigos.

Comparte tu soledad y tu tristeza con su alegría y sonrisa.

Trata de comprenderte... aunque no siempre está de acuerdo contigo.

Te sigue queriendo pase lo que pase.

Te dice la verdad, aunque te duela.

Corre contigo los riesgos del amor y la justicia.

Siempre tiene las puertas abiertas para ti.

Te invita a correr por el camino de la felicidad.
Está seguro de tu cariño y te enseña a amar.

Te motiva a amar a tu Creador y a tu prójimo.

Ganar perdiendo

Pedí a Dios fortaleza para triunfar; fui hecho débil para aprender humildemente a obedecer...

Pedí riqueza para ser feliz; se me dió pobreza, para poder ser sabio...

Pedí poder para ser orgullo de los hombres; se me dió debilidad para poder sentir necesidad de Dios...

Pedí cosas para disfrutar la vida; se me concedió la vida, para poder disfrutar las cosas...

No se me dió nada de lo que pedí; sino lo que necesitaba y algo más, incluso a pesar de mí.

Las oraciones que expreso fueron respondidas...

De entre todos los hombres, yo he recibido la mejor bendición.

Tener Personalidad es:

Hacer las cosas con responsabilidad y amor.
Saber levantarse de cada caída o fracaso.

Ser digno, consciente de sus hechos... y de actitudes definidas.

Tratarse un plan y seguirlo, a pesar de los obstáculos.

Levantar los ojos de la tierra, elevar el espíritu, soñar con algo grande.

Realizar todo trabajo como el privilegio de servir.

Ser creador de algo: una vocación, un ideal, una familia, un negocio...

Sentir vergüenza de ser injusto: oprimiendo al pobre, abusando del débil y mintiendo al ingenio.

Saber reconocer los propios errores y

proponerse corregirlos.

Adoptar una disciplina de principios sanos y sujetarse a ellos con libre voluntad.

Dar lo mejor de nosotros para que la vida crezca.



INDICE GENERAL

INDICE DE FIGURAS i
INDICE DE TABLAS iii
INDICE DE ABREVIATURAS iv
PROLOGO vii
I. ANTECEDENTES 1
1.1 <i>DEFINICIONES</i> 3
1.2 <i>METODOS DE PREPARACION</i> 5
1.2.1 <i>USO DE POLIMEROS PREFORMADOS</i> 8
1.2.1.1 <i>DESPLAZAMIENTO DE SOLVENTE</i> 9
1.2.1.2 <i>EMULSIFICACION-DIFUSION</i>10
1.3 <i>PURIFICACION</i>11
1.4 <i>LIBERACION A PARTIR DE NC</i>12
1.5 <i>GENERALIDADES DE FILTROS SOLARES</i>16
II. OBJETIVOS19
HIPOTESIS19
MATERIAL Y EQUIPO20
REACTIVOS20
III. METODOLOGIA	
III.1 <i>DETERMINACIONES PRELIMINARES</i>	
III.1.1 <i>Solubilidad de colorante</i>22
III.1.2 <i>Solubilidad de "colorante - aceite" en soluciones de surfactante</i>22

III.1.3	<i>Curva de calibración para Violeta No. 2 en surfactante</i>	.23
III.1.4	<i>Solubilidad de OMC (Octil metoxicinamato) en solución de surfactante.</i>	.23
III.1.5	<i>Curva de calibración para OMC</i>	.23
III.2	PREPARACION DE NP	
III.2.1	<i>Preparación de NC con Violeta No. 2 por el método de Emulsificación-Difusión</i>	.23
III.2.2	<i>Preparación de NC de OMC</i>	.25
III.2.3	<i>Preparación de NE cargadas con Violeta No. 2</i>	.25
III.3	ENSAYOS DE LIBERACION	
III.3.1	<i>Liberación de colorante por Ultracentrifugación</i>	.25
III.3.2	<i>Liberación de colorante por el método de Filtración</i>	.25
III.3.2	<i>Liberación de OMC por el método de Permeación</i>	.26
III.4	MICROFOTOGRAFIAS DE NC	
III.4.1	<i>Técnica de Microscopia Electrónica de Barrido (MEB)</i>	.26
IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	.28
V.	CONCLUSIONES	.44
VI.	PERSPECTIVAS	.45
VII.	ANEXOS	
ANEXO 1.	SOLUBILIDAD Y PARAMETROS ESPECTROFOTOMETRICOS EXPERIMENTALES	.46
ANEXO 2.	MECANISMO DE TRANSPORTE Y TIPO DE LIBERACIÓN DE ACUERDO AL VALOR DE "n" EN EL MODELO SEMI-EMPIRICO DE PEPPAS	.50
ANEXO 3.	CARACTERISTICAS DE LOS MATERIALES UTILIZADOS	.51
VIII.	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	.62

INDICE DE FIGURAS

Fig 1.	Algunas formas de incluir un fármaco en NP	3
Fig 2.	Representación esquemática de la morfología de Nanocápsula (NC) y Nanoesfera (NE).	4
Fig 3.	Deslocalización de electrones en la estructura de los cinamatos .	18
Fig 4.	Representación esquemática del método de Emulsificación-Difusión en la preparación de NC .	24
Fig 5.	Celda de Permeación Vertical tipo Franz como dispositivo de liberación de OMC en Brij 58 al 5%	26
Fig 6.	Promedio de la liberación a temperatura ambiente de Violeta No. 2 contenido en NC preparadas con 400 mg de PLGA, utilizando Tween 80 al 20% como medio de disolución	29
Fig 7.	Comparación de los perfiles de liberación de Violeta No. 2 en NE y NC preparadas a las mismas condiciones (400mg PLGA a T° ambiente)	30
Fig 8.	Morfología de NC de 0.8g de CAP y 0.4 ml de OMC obtenidas por el método de Emulsificación-Difusión, captadas por MEB utilizando una técnica de fijación con Tetróxido de Osmio al 1% a) 7 000x b) 10 000x	31
Fig 9.	Perfil de liberación de OMC incluido en NC preparadas con diferentes cantidades de polímero CAP: 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g llevada a cabo a T= 37°C, por el método de celda de permeación vertical tipo Franz, en Brij 58 al 5% como medio de disolución.	33
Fig 10.	Perfil de liberación de OMC a 37° C en Brij 58 al 5%, llevado a cabo por el método de celda de permeación en sistemas de 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP con 20% de DBS respecto al CAP	34
Fig 11.	Representación de los resultados de liberación de OMC en Brij 58 al 5%, tratados con el modelo de Peppas en los sistemas 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP sin plastificante	35

Fig 12.	Representación de los resultados de liberación de OMC en Brij 58 al 5%, tratados de acuerdo al modelo de Peppas, en sistemas 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP con 20% de plastificante en cada sistema	37
Fig 13.	Representación de los resultados obtenidos de la liberación de OMC, para los sistemas 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP sin plastificante, de acuerdo al modelo de Higuchi	38
Fig 14.	Representación de los resultados de liberación de OMC contenido en NC en los sistemas 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP con plastificante, de acuerdo al modelo de Higuchi	39
Fig 15.	Resultados de la liberación de OMC en sistemas 0.2g, 0.3g, 0.5g y 0.8g de CAP preparados sin plastificante para cinética de primer orden	41
Fig 16.	Resultados de la liberación de OMC en sistemas 0.2g, 0.3g, 0.5g y 0.8g de CAP preparados con plastificante para cinética de primer orden	42
Fig 17.	Barrido espectrofotométrico de Sudán III - Miglyol [®] 840 en Región Visible	46
Fig 18.	Barrido espectrofotométrico de Verde No. 6 - Miglyol [®] 840 en Región Visible	46
Fig 19.	Barrido espectrofotométrico de Violeta No. 2 - Miglyol [®] 840 en Región Visible.	47
Fig 20.	Barrido espectrofotométrico de Octil Metoxi Gnamato (OMC) en Brij 58 al 5% en Región Ultravioleta	47
Fig 21.	Curva de calibración espectrofotométrica para Sudán III en Miglyol [®] 840	48
Fig 22.	Curva de calibración espectrofotométrica para colorante Verde No. 6 en Miglyol [®] 840	48
Fig 23.	Curva de calibración espectrofotométrica para Violeta No. 2 en Tween 80 al 20%	49
Fig 24.	Curva de calibración espectrofotométrica para OMC en Brij 58 al 5%	49

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Algunos de los materiales incluidos en Nanocápsulas.	6-7
Tabla 2.	Talla de partícula promedio (NC y NE; Violeta No. 2-PLGA)	28
Tabla 3.	Talla de partícula promedio (NC OMC-CAP)	28
Tabla 4.	Parámetros de Regresión y Valor de "n" obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Peppas en los sistemas nanoencapsulados sin DBS	36
Tabla 5.	Parámetros de Regresión y Valor de "n" obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Peppas en los sistemas nanoencapsulados con DBS	37
Tabla 6.	Parámetros de regresión obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Higuchi en los sistemas sin plastificante	38
Tabla 7.	Parámetros de regresión obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Higuchi en los sistemas con plastificante	40
Tabla 8.	Parámetros de regresión correspondientes a los sistemas mostrados en la figura 15, preparados sin plastificante de acuerdo a una cinética de 1er. Orden	41
Tabla 9.	Parámetros de regresión correspondientes a los sistemas de la figura 16, preparados con plastificante de acuerdo a una cinética de 1er. Orden	42
Tabla 10.	Solubilidad experimental de colorantes y filtro solar	46

INDICE DE ABREVIATURAS

C	Concentración
CAP	Acetato Ftalato de Celulosa (polímero)
DBS	Dibutil sebacato (plastificante)
EUA, USA	Estados Unidos de América
exp.	Experimental
E ²	Coefficiente de extinción
FITR/ATR	Espectroscopia Infrarroja por Transformadas de Fourier con Reflectancia Total Atenuada
FPS	Factor de protección solar
g	Gramos
h	Horas
IBCA	Isobutilcianoacrilato
KOH	Hidróxido de potasio
I ₂	Yodo
M	Masa
MEB	Microscopía electrónica de barrido
meq	Miliequivalentes
mg	Miligramos
ml	Mililitros
min	Minutos
mPa	Megapascal
Mt	Cantidad liberada a un tiempo t
M∞	Cantidad máxima liberada
NC	Nanocápsulas
NE	Nanoesferas
nm	Nanómetros

NP	Nanopartículas
OMC	Octil metoxicinamato
PABA	Acido <i>p</i> -aminobenzoico
PACA	Polialquicianoacrilatos
PAMA	Polialquimetacrilatos
PBCA	Polibutílicoanoacrilato
PCL	Poli- ϵ -caprolactona
Pd	Polidispersidad
PECA	Poliethylcianoacrilato
PGA	Acido poliglicólico
PHB	Polihidroxibutirato
PIBCA	Polisobutílicoanoacrilato
PIHCA	Polisohexílicoanoacrilato
PLA	Acido poliláctico
PLGA	Acido poliláctico-co-glicólico
ppm	Partes por millón
PVAL	Alcohol polivinílico
PVC	Cloruro de Polivinilo
P/V	Peso-volumen
Q	Cantidad
rpm	Revoluciones por minuto
T°	Temperatura
t_{lag}	Tiempo de latencia
T _g	Temperatura de transición vítrea
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta región A
UVB	Ultravioleta región B
V	Volumen

vs	Contra
w/o	Agua en aceite
μl	Microlitros
μg	Microgramos
λ	Longitud de onda
σ	Desviación estándar

PROLOGO

La vectorización de principios activos o sustancias con actividad biológica ha sido la base para el desarrollo de los sistemas de entrega en sitios específicos del cuerpo, siendo ésta una de las principales metas del farmacéutico, pues se busca obtener la respuesta terapéutica óptima, evitando la degradación de moléculas y minimizando así los efectos adversos.

Entre los principales sistemas utilizados como vectores se pueden mencionar algunos sistemas coloidales, tales como los liposomas y las nanopartículas (nanoesferas y nanocápsulas), cuyas líneas de investigación han acaparado la atención de varios grupos en todo el mundo, dado que por su tamaño de partícula son una alternativa para el paso de las partículas a sitios del cuerpo en los que hasta el momento es difícil su introducción. En el caso específico de las nanopartículas se ha reportado que pueden penetrar a través de la piel o a las mucosas (conjuntiva), con lo que es posible incluir moléculas no sólo con actividad terapéutica, sino también con actividad en otras áreas, tal como la cosmética, donde también se han tenido avances, puesto que ya se cuenta con una formulación cosmética que contiene Vitamina A, disponible en el mercado.

Varias son las áreas interesadas en conocer la forma en que se lleva a cabo la liberación de sustancias nanoencapsuladas, pues dependiendo del punto de vista que se aborde este tema (terapéutico, bioquímico, tecnológico, cosmético, etc.), se definirá la trascendencia que dicho proceso pueda tener. En nuestro caso, (ámbito tecnológico), se encontró que existe controversia entre los investigadores, pues algunos proponen que la liberación se lleva a cabo por un proceso de difusión, sin embargo, otros dicen que se debe más bien a erosión y ruptura de la pared de las nanocápsulas. Es por esta razón, que en el presente trabajo experimental se trata de dilucidar el mecanismo implicado en la entrega del activo o material encapsulado hacia el medio que lo rodea, por lo que se utilizó sustancias de carácter lipofílico, pues son las que generalmente se incluyen en nanocápsulas (colorante Violeta No.2 y filtro solar Octil metoxicinamato); se prepararon varios sistemas de nanocápsulas y se evaluaron dos métodos para realizar la liberación, analizando los resultados obtenidos de manera que nos pudieran indicar el mecanismo y tipo de liberación asociado para dichos sistemas.

I. ANTECEDENTES

Uno de los objetivos principales en el diseño de nuevos sistemas farmacéuticos es controlar la liberación de sustancias activas o agentes terapéuticos hacia su sitio de acción a una velocidad y régimen de dosificación terapéuticamente óptimos.¹

La idea que tuvo Ehrlich acerca del desarrollo de diminutas partículas ("*balas mágicas*") capaces de llevar moléculas activas a sitios específicos del cuerpo, donde el efecto terapéutico es requerido, ha sido retomada en el ámbito farmacéutico², es por ello que el desarrollo de nuevas tendencias a formular los principios activos u otras sustancias biológicamente activas en vectores coloidales de talla submicrónica, han tenido gran aceptación por las ventajas que pueden ofrecer respecto a las formas convencionales, tal como la protección de la molécula contenida en ellos; prolongar la estancia del activo dentro del organismo (cuando se trata de sistemas de liberación prolongada), y sobre todo, su talla de partícula permite un fácil acceso a algunos lugares del organismo. Si el sitio específico es combinado con la liberación del fármaco a una velocidad adecuada, no solo se mejoraría la eficacia terapéutica del mismo, también se reducirían los efectos tóxicos que pudieran presentarse¹.

El aumento en la investigación de dichos sistemas permite (aún cuando no se conozca con certeza el comportamiento integral del sistema en cuestión) importantes avances tanto en los métodos de preparación, componentes a utilizar, posible ruta a seguir dentro del organismo, etc., todo ello respaldado por el gran número de publicaciones sobre el tema de las últimas tres décadas a la fecha.

En los sistemas coloidales para la liberación de fármacos, se incluyen sistemas acarreadores tales como:

- *Liposomas* (vesículas que consisten de una o más esteras concéntricas de bicapas lipídicas ó lamelas, incluyendo un número igual de compartimentos acuosos)^{1,3}
- *Niosomas* (vesículas multilamelares de surfactantes no iónicos)^{1,3}

- *Microemulsiones* (sistemas agua, aceite y sustancias anfífilas (surfactantes/cosurfactantes), las cuales son soluciones líquidas ópticamente isotrópicas y termodinámicamente estables)' y
- *Nanopartículas*.

Estos sistemas poseen semejanzas en su forma, talla de partícula y modo de administración; por esta razón, ellos pueden ser utilizados alternativamente. Sin embargo, tales sistemas tienen diferentes ventajas y desventajas, por ejemplo la gran ventaja de los liposomas es que sus componentes son materiales que también existen en grandes cantidades en el cuerpo (lecitinas y en la mayoría de los casos colesterol), consecuentemente tendrán gran aceptación por parte del organismo', pero una importante desventaja es que puede presentarse la oxidación de los fosfolípidos componentes de la bicapa^{4,5,6}, es decir, sensibilidad de las membranas fosfolípidicas a la degradación ambiental, que implica la pérdida de la sustancia encapsulada en el liposoma⁵.

1.1 DEFINICIONES

Las **NANOPARTICULAS** (NP) son sólidos coloidales en un rango de talla de 10 a 1000 nanómetros (nm) [0.01 a 1.0 μm] constituidos de materiales macromoleculares en los que el principio activo (fármaco ó material biológicamente activo) es disuelto, atrapado, adsorbido ó encapsulado.^{1,2} (Fig. 1)

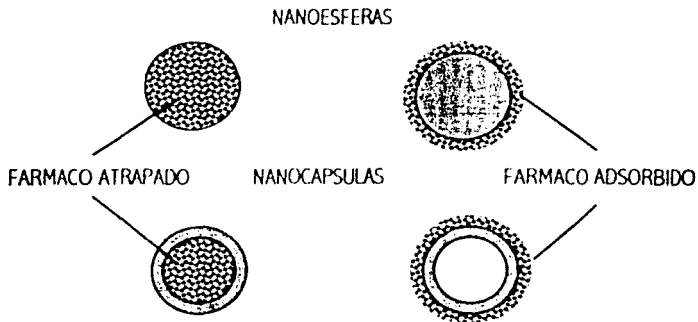
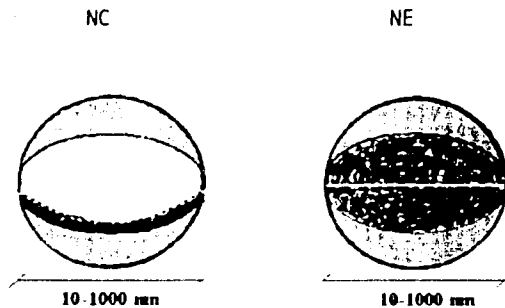


Fig. 1. Algunas formas de incluir un fármaco en NP (Referencia 4).

Esta definición incluye no solo a partículas con estructuras como las descritas por Birrenbach et al.² (1976) por el término de *nanopellets*, sino también incluye los términos de *nanocápsulas* y *microesferas* si su tamaño está por debajo de 1 μm . Se incluyen además partículas látex así como el atrapamiento del fármaco a escala molecular propuesto por Larson y Banker⁶ (1976).

Para el propósito de éste trabajo, *Nanopartícula* es un nombre utilizado colectivamente para describir tanto a *nanoesferas* como a *nanocápsulas*. La diferencia entre ambas formas se basa en la morfología y arquitectura corporal de cada NP. (Fig. 2)



*Fig 2. Representación esquemática de la morfología de Nanocápsula (NC) y Nanoesfera(NE).
(Tomado de la referencia 2)*

Las Nanocápsulas (NC) son partículas coloidales compuestas por un centro líquido (generalmente aceite) rodeado por una membrana polimérica.

Las Nanoesferas (NE) son sólidos coloidales constituidos por una densa matriz polimérica.²

Desde el punto de vista farmacéutico las NC son atractivas porque su cavidad central basada en aceite, permite un alto nivel de encapsulación para sustancias lipofílicas.²

1.2 METODOS DE PREPARACION

Las NP pueden ser preparadas por métodos que involucran polimerización de monómeros dispersos o por dispersión de polímeros preformados (ya sea con materiales de origen natural ó sintético).

El primer reporte de NE con aplicaciones farmacéuticas fue realizado por Birrenbach et al.⁷ (1976), conteniendo diversos trazadores o sustancias activas como IgG marcada con yodo, toxoide tetánico y ureasa, utilizando un método de polimerización de acrilamida y N-N'-metilen bisacrilamida en una emulsión inversa (agua en aceite ó w/o). Este método requirió: i) grandes cantidades de solventes orgánicos (hexano, tolueno o cloroformo) como fase externa; ii) surfactantes aniónicos como bis(2-etil hexil) sulfocinato de sodio para producir la microemulsión y finalmente, iii) un iniciador de polimerización (químico o físico).

Las NE fueron también preparadas a partir de reacciones de polimerización, con polialquilmacrilatos (PAMA), polialquilianocrilatos (PACA), polialquilglutaraldehído, etc., es importante mencionar que la preparación de nanopartículas a partir de estas reacciones pueden contener iniciadores y/o monómeros tóxicos⁸.

Varios autores utilizaron macromoléculas naturales para producir NE con aplicaciones médicas, trabajaron con albúmina⁹, alginatos¹⁰ y gelatina¹¹. La principal limitación es la pureza de los materiales y la pérdida de confianza para su uso farmacéutico por su origen.

Respecto a NC, en 1986, Al Khouri Fallouh et al.¹² presentaron una técnica de polimerización interfacial con monómeros de alquilianocrilatos con el objetivo de atrapar fármacos lipofílicos que no habían podido ser utilizados en nanoesferas de polialquilianocrilatos, algunos ejemplos se pueden observar en la tabla 1. En esta técnica los monómeros de alquilianocrilato y el fármaco son disueltos en una fase constituida por etanol conteniendo un aceite, una mezcla de fosfolípidos o benzilbenzoato, dicha

fase es inyectada lentamente dentro de agua que contiene un surfactante de tipo no iónico, (por ejemplo poloxamero 188) bajo agitación magnética. La dispersión de la fase orgánica en la fase acuosa ocurre simultáneamente, produciéndose tanto la difusión del etanol en la fase externa como la polimerización del monómero en la interfase agua-aceite. Posteriormente, la suspensión de nanocápsulas es concentrada bajo presión reducida. En esta técnica el polímero esencialmente utilizado es isobutilcianoacrilato (IBCA).

Tabla 1. Algunos de los materiales incluidos en Nanocápsulas.

METODO	POLIMERO	MATERIAL ENCAPSULADO	ACEITE	% ENCAPSULADO	AUTOR	AÑO	
POLIMERIZACION INTERFACIAL	POLIMETILCIANOACRILATO (PMCA)	CLORHIDRATO DE DOXORUBICINA	-	53	EL-SAMALIGY ¹¹ et al.	1986	
	POLIETILCIANOACRILATO (PECA)		-	64			
	POLIBUTILCIANOACRILATO (PBCA)		-	74			
	PMCA	FLUORESCINA SODICA	-	29-88			
	PBCA	-	-	71			
	PECA	-	-	66			
	POLIISOBUTILCIANOACRILATO (PIBCA)	LIPODOL	-	(nr)	AL KHOURI ¹² et al.		
		LOMUSTINA	MIGLYOL (nr)	(nr)			
	PMCA	ACETONIDO DE TRIAMCINOLONA	(nr)	30	KRALUSE ¹⁴ et al.		
	PIBCA	LIPODOL	-	(nr)	APRAHAMIAN ¹⁵ et al.	1987	
		INSULINA	MIGLYOL (nr)	55-98	DAMGE ¹⁶ et al.	1990	
	PBCA	CLORHIDRATO DE DOXORUBICINA	-	-	10	GASCO ¹⁸ et al.	1991
	POLISOXHEXILCIANOACRILATO (PIHCA)	MIGLYOL 810 ^B	-	-	~100	CHOUINARD ¹⁹ et al.	
	PIBCA	METIPRANOLOL	LABRAFIL 1994 CS	-	-62	LOSA ²⁰ et al.	1993
			MIGLYOL 840 ^B	-	-50		
	PIHCA	MIGLYOL 829 ^B	-	-	(nr)	CHOUINARD ²¹ et al.	
	PIBCA	CALCITONINA	MIGLYOL 812 ^B	-	90	PHILIP ²² et al.	1994
	PECA		MIGLYOL 812 ^B	-	(nr)	PUGLISI ²³ et al.	
			ETOSULIMIDA	-	-12	FRETA ²⁴ et al.	1996
			CARBAMAZEPINA	-	0.5		
DIFENILRIDANTONINA			-	-2			
PIBCA		ACETONIDO DE TRIAMCINOLONA	MIGLYOL 812 ^B	63	VALERO ²⁵ et al.		
		INSULINA	-	90	ABOUBAKAR ²⁶ et al.	2000	
		OUGONUCLEOTIDOS	-	70	LAMBERT ²⁷ et al.	2001	
		INSULINA	ERODAMOL GTCC / CAPMUL MCM	(nr)	86	WATNASIRICHANUK ^{28,29} et al.	2000
PIM	PECA	INSULINA	ERODAMOL GTCC / CAPMUL MCM	(nr)	et al.	2001	

(nr) No especificado (nr) No reportado PIM Polimerización Interfacial en Microemulsións.

Tabla 1. Algunos de los materiales incluidos en Nanocápsulas (continuación...)

METODO	POLIMERO	MATERIAL ENCAPSULADO	ACEITE	% ENCAPSULADO	AUTOR	AÑO
DESPLAZAMIENTO DE SOLVENTE	ACIDO POLILACTICO (PLA)	INDOMETACINA	BENCIL BENZOATO	~100	FESSI ¹³ et al.	1989
		TAXOL		40		
		DEXAMETAZONA		~100	AMMOURY ⁶ et al.	
		VITAMINA K				
	PIBCA	INDOMETACINA				1991
	POLI-ε-CAPROLACTONA (PCL)	METIPRAHOLOL	MIGLYOL 840 [®]	~46	LOSA ¹⁴ et al.	1993
			LABRAFIL 1994 CS	~60		
	PLA	MDP-L-ALANIL- COLESTEROL	OLEATO DE ETILO	>96	MORIN ¹⁵ et al.	
	PLA	INDOMETACINA		~89	CHASTEIGNER ¹⁷ et al.	1995
		DICLOFENACO	BENCIL BENZOATO	~100	GUTIERRES ¹² et al.	
			MIGLYOL 810 [®]	~100		
		CLOFIBRATO	ACEITE DE SOYA	~100	SANTOS ¹¹ et al.	
	PCL	INDOMETACINA	BENCIL BENZOATO	(nr)	FAWAZ ¹⁶ et al.	1996
		CICLOSPORINA A	MIGLYOL 840 [®]	~94	CALVO ^{14, 16} et al.	1997
	ACIDO POLILACTICO- CO-GLICOLICO (PLGA)	FENILBUTAZONA	BENCIL BENZOATO	~100		MARCHAIS ¹⁷ et al.
PLA	~100					
	90					
PCL	PIRIMIDONA	-	67-78	FERRANTI ¹⁸ et al.	1999	
PIBCA	PENKILINA G	ACEITE DE GIRASOL	85	SANTOS, MAGALHÃES ¹⁹ et al.	2000	
PCL	OCTILMETOXICINAMATO	-	~100	ALVAREZ, ROMAN ²⁰ et al.	2001	
EMULSIFICACION - DIFUSION	PLA	SUDAN III	ACEITE MINERAL	98	QUINTANAR-GUERRERO ²¹ et al.	1997
	PCL		~100			
	EUDRAGIT E		89-93			
	TONE P-700		~99			
	PLA	INDOMETACINA	MIGLYOL 812 [®]	~95		
		PROGESTERONA	~100			
		ESTRADIOL	~99			
		CLORAMBUCIL	52			
		CLOFIBRATO	~32			
		VITAMINA E	~96			
			~92			

(nr) No especificado (nr) No reportado

Chouinard et al.¹⁹(1991); con el método inicial de polimerización interfacial, reportaron el uso de isohexilmetacrilato (IHCA) por ser menos tóxico y este monómero reacciona inmediatamente en presencia de etanol, por lo que se añadió un inhibidor de polimerización (dióxido de azufre) para disminuir la

velocidad de la reacción. Estos autores eliminaron el surfactante utilizado por ultracentrifugación. Otros autores^{13,27} también buscaron procedimientos alternos para atrapar fármacos hidrofílicos en NC, por ejemplo, El Samaligy et al.¹⁴ (1986) propusieron una emulsificación w/o seguida por una polimerización interfacial, la solución acuosa es emulsificada en una fase orgánica (ciclohexano o cloroformo) conteniendo un surfactante. Cabe mencionar que en las técnicas citadas se requiere el uso de grandes cantidades de solventes orgánicos y que su lavado y reemplazamiento por agua representa un procedimiento largo y difícil.

En el 2000, Watnasirichaikul S., et al.²⁷ reportó una técnica donde se preparan NC por polimerización interfacial en microemulsiones agua/aceite (w/o), siendo ésta una modificación del método de polimerización interfacial antes mencionado, pues el monómero es disuelto en la fase orgánica e inyectado en la microemulsión.

1.2.1 USO DE POLIMEROS PREFORMADOS

Los métodos para preparar NP con polímeros preformados pueden clasificarse en 4 categorías²:

- a) Emulsificación evaporación
- b) Salting-out (Inmiscibilidad por soluciones salinas)
- c) Desplazamiento de solvente
- d) Emulsificación-Difusión.

Estas técnicas son similares en cuanto a que involucran una solución orgánica, que funciona como fase interna, conteniendo los componentes de las NP y una solución acuosa conteniendo estabilizante que constituirá el medio de dispersión de NP. Otra similitud entre estas técnicas es la pobre eficiencia de encapsulación de fármacos moderada y altamente solubles en agua (incluyendo péptidos y proteínas). Los siguientes polímeros biodegradables son considerados convenientes para sistemas parenterales: Ácido poliláctico (PLA), Ácido poliglicólico (PGA) y copolímero D,L-láctico-co-glicólico (PLGA) así bien

como polihidroxibutirato (PHB) y poli- ϵ -caprolactona (PCL).⁴² Es importante destacar que sólo los métodos Desplazamiento de solvente y Emulsificación-Difusión permiten la preparación de NC, por lo que a continuación se mencionarán algunos aspectos generales.

1.2.1.1 DESPLAZAMIENTO DE SOLVENTE

En 1988, Fessi et al.⁴³ patentaron un método para la preparación de nanocápsulas con el uso de polímeros preformados. En este método el polímero es disuelto en un solvente semipolar miscible en agua (acetona o etanol), añadiendo un fármaco lipofílico, opcionalmente un estabilizante lipofílico (Epikuron®, mezcla de fosfolípidos) y bencil benzoato a dicha solución; posteriormente se inyecta en una fase acuosa que contiene un surfactante no iónico (Alcohol polivinílico o Poloxamero 188) bajo agitación magnética. El solvente difunde inmediatamente dentro del agua, induciendo la desolvatación del polímero, el cuál forma una delgada capa alrededor de las gotas de aceite conteniendo el fármaco, los fosfolípidos y bencil benzoato; después dicho solvente es eliminado bajo presión reducida.⁴³

De acuerdo a esta patente, varios polímeros preformados pueden ser utilizados en esta técnica, pero en las publicaciones el polímero más usado ha sido es el D,L-PLA y el fármaco que tiene una investigación más extensa con dicho método es la Indometacina (tabla 1). Esta técnica tiene la limitante de utilizar sólo fármacos solubles en solventes miscibles en agua, en que la velocidad de difusión es suficiente para producir emulsificación espontánea. La desventaja más importante de ésta técnica es la dificultad para elegir un sistema fármaco/polímero/solvente/no solvente en que las NP se formarán y el fármaco será eficientemente atrapado. La técnica de desplazamiento de solvente permite la preparación de NC cuando un pequeño volumen de aceite es incorporado a la fase orgánica. Para la selección de este aceite es importante tomar en cuenta que no produzca degradación del polímero y además que posea buena capacidad para solubilizar al fármaco y reducir la cristalización espontánea del mismo durante la preparación.⁴³ Este método también es llamado nanoprecipitación, y en algunos otros casos deposición interfacial.

1.2.1.2 EMULSIFICACION-DIFUSION

Este método, patentado en 1997b por Quintanar-Guerrero et al.:⁴⁴ involucra el uso de un solvente parcialmente miscible en agua, donde ambos líquidos son previamente saturados entre sí, para asegurar un equilibrio termodinámico inicial. El polímero es disuelto en el solvente saturado con agua y esta fase orgánica es emulsificada bajo agitación vigorosa en una solución acuosa saturada que contiene un estabilizante; la adición posterior de agua (sin saturar) al sistema provoca la difusión del solvente hacia la fase externa, resultando así la formación de NP. Dependiendo del punto de ebullición del solvente, este puede ser eliminado por destilación o por filtración tangencial.

En el mecanismo de formación de NP se propone que la difusión del solvente a partir de los glóbulos, acarrea moléculas dentro de la fase acuosa, formándose regiones locales de supersaturación donde nuevos glóbulos o agregados de polímero (que no son totalmente desolvatados) se forman. La estabilización de estas "protonanopartículas" por la presencia de un agente estabilizante es muy importante para evitar su coalescencia y la formación de aglomerados; si el estabilizante permanece en la interfase líquido-líquido en el proceso de difusión y el efecto protector es adecuado, las NP se formarán después de la completa difusión del solvente. Esta técnica presenta algunas ventajas respecto a los métodos antes mencionados, como: a) el uso de solventes orgánicos aceptables desde el punto de vista farmacéutico, b) no necesita procesos de homogeneización, c) generalmente se obtiene alto rendimiento, d) alta reproducibilidad de lote a lote y potencial escalamiento. No obstante, se necesita mencionar desventajas como: a) se deben eliminar grandes volúmenes de agua de la suspensión y b) la posible salida del fármaco a la fase externa acuoso-saturada durante la emulsificación.

Al igual que otras técnicas, la de Emulsificación-Difusión es eficiente para encapsular fármacos lipofílicos.

La técnica de Emulsificación-Difusión puede ser utilizada para preparar NC biodegradables. Quintanar-Guerrero et al.:⁴⁴(1998) reportaron que utilizando la técnica de gradiente de densidad es posible confirmar la formación de NC; la densidad encontrada para éstas es intermedia respecto a

nanoemulsión y NE que han sido preparadas bajo las mismas condiciones. La existencia de una única banda de densidad indica altos rendimientos.

1.3 PURIFICACION *

En la mayoría de los estudios concernientes a la administración oral de NC, la eliminación del surfactante se descuida; de esta manera, para administración parenteral, el paso de purificación debe ser considerado para evitar la presencia de impurezas potencialmente tóxicas de la suspensión, como pueden ser: solventes orgánicos, surfactantes, residuos de monómeros, iniciadores de polimerización, agregados de polímero, etc., dependiendo del método de preparación utilizado. La purificación es necesaria también para separar el fármaco que pudiera haber quedado libre. Generalmente, los métodos de purificación utilizados son filtración en gel, diálisis, evaporación bajo presión reducida y ultracentrifugación. Es necesario mencionar que los métodos de purificación utilizados en el laboratorio normalmente son largos y difíciles de aplicar a escala industrial.

El método de ultracentrifugación es utilizado para purificar suspensiones en crudo de NP; de acuerdo a Allémann et al. (1993), de 4 a 5 ultracentrifugaciones sucesivas (cada una seguida por resuspensión de NP en agua destilada) remueven el 99% de las impurezas, contrariamente a la técnica de evaporación bajo presión reducida, donde sólo se pueden eliminar impurezas volátiles.

Un método denominado Filtración tangencial ("Cross-flow filtration") se ha propuesto para evitar algunas dificultades presentadas con otras técnicas. En dicha técnica la suspensión en crudo se bombea de manera tangencial en la superficie de membranas (que pueden ser de celulosa regenerada o de poliolefina) para prevenir la obstrucción de los filtros; el filtrado que contiene las impurezas solubles es desechado y la suspensión se recircula varias veces a través de los filtros. Las NP se mantienen en suspensión con la adición de agua destilada en el tanque de alimentación a la misma velocidad que el fluido a ser purificado. Esta técnica tiene la ventaja de que puede ser desarrollada a escala industrial.

1.4 LIBERACION A PARTIR DE NC

La liberación del principio activo a partir de sistemas nanoparticulados puede ocurrir por:

- i. Desorción del activo adherido a la superficie
- ii. Difusión a través de la matriz de NP
- iii. En caso de NC, difusión a través de la pared polimérica
- iv. Erosión de la matriz de NP
- v. Combinación de los procesos erosión y difusión.

El mecanismo de liberación, coeficiente de difusión y velocidad de biodegradación son los factores principales que determinan la velocidad de liberación del fármaco; ésta velocidad es asimismo influenciada por el medio biológico, de hecho, esta influencia es mayor en las NP respecto a otras formas de dosificación más grandes. Las NP pueden ser atrapadas por las proteínas del plasma y esto constituirá una barrera adicional de difusión y salida del fármaco, con lo que se retarda su liberación.

Las NP también pueden interactuar por contacto directo con membranas biológicas o artificiales, llevando en este caso a una liberación aumentada del activo a través de estas membranas en comparación a una solución simple. En consecuencia, la liberación *in vitro* puede ser diferente a la liberación *in vivo*, como se ha observado frecuentemente. No obstante, para los propósitos de caracterización y por razones de control de calidad, es importante determinar la liberación *in vitro* de dichos sistemas.

Se han usado varios métodos para la determinación de la liberación *in vitro* del fármaco contenido en NP:

- a) Difusión en celdas con membranas artificiales o biológicas.
- b) Técnica de difusión en bolsas de diálisis.

- c) Técnica de saco diálisis inversa.
- d) Ultracentrifugación.
- e) Ultrafiltración.
- f) Técnica de centrifugación-ultrafiltración.

El análisis de los perfiles de liberación de NP muestra frecuentemente un modelo de liberación bifásica que puede ser descrita usando la función biexponencial:

$$C_t = A e^{-\alpha t} + B e^{-\beta t} \quad (1)$$

donde C_t es la concentración del compuesto remanente en las NP al tiempo t , A y B son constantes características del sistema, α y β son constantes de velocidad que pueden obtenerse con gráficos semilogarítmicos.

Para los sistemas en los que la difusión es el mecanismo dominante para la liberación del principio activo, Rigter y Peppas⁴⁵ propusieron una ecuación semi-empírica, válida en la primera parte de la liberación:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n \quad (2)$$

M_t es la cantidad liberada a un tiempo t , M_∞ la cantidad liberada a tiempos muy grandes y puede ser o no igual a la cantidad total de fármaco incluido en el dispositivo; M_t/M_∞ representa la fracción liberada de fármaco; las constantes, k y n , son características del sistema fármaco-polímero. El exponente difusional, n , es dependiente de la geometría del dispositivo, así como del mecanismo físico de la liberación. Para la clásica difusión Fickiana, dichos autores determinaron que el valor para el exponente difusional fue de 0.5 para geometría plana, 0.45 para dispositivos cilíndricos y 0.43 para dispositivos esféricos.

Con la determinación del exponente difusional, se puede obtener información acerca del mecanismo físico que controla la liberación desde un sistema particular; basándonos en el valor de n , el transporte en una geometría plana es clasificada como difusión Fickiana ($n=0.5$), transporte Caso I ($n=1$), transporte No Fickiano o Anómalo ($0.5 < n < 1$) y transporte Super Caso II ($n > 1$).

En el estudio de la liberación de sustancias contenidas en NC, Ammoury et al., (1989a, 1989b, 1990) ^{46,47,48} consideraron un sistema bifásico donde el fármaco se disuelve o divide entre las fases lipofílica e hidrofílica de un sistema disperso, pero separado de la solución sink por una membrana de diálisis la cuál no es paso limitante del proceso general. Se asume que la difusión del activo a través de la membrana obedece la primera ley de Fick. Las características matemáticas del modelo se basaron en asumir que el principio activo es intercambiado en un modelo de tres compartimientos, los cuales son: las nanocápsulas, la fase acuosa interna y la solución sink (donde se tomaban las muestras).

La ecuación para dicho modelo se presenta a continuación:

$$M_c(t) = M_c \cdot \frac{k_{23} M_{b0}}{V_b} \frac{1}{\alpha(\alpha - \beta)} e^{-\alpha t} + \frac{k_{12} k_{23} M_{\infty}}{V_a V_b} e^{-\alpha t} + \frac{k_{23} M_{b0}}{V_b} \frac{1}{\beta(\alpha - \beta)} e^{-\beta t} \quad (3)$$

donde k_{12} es la constante de velocidad de partición de primer orden entre la fase interna oleosa y la fase externa acuosa en el compartimiento donador ó la constante de liberación de primer orden del activo a través de la delgada membrana de polímero de las NC; k_{23} es la constante de velocidad de primer orden de permeación a través de la membrana; M es la masa; C es la concentración y V es el volumen (referido a un compartimiento en particular); 0 se refiere al tiempo cero y ∞ al tiempo infinito. Los símbolos α y β se definen de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

$$\alpha + \beta = \frac{k_{12}}{V_a} + \frac{k_{12}}{V_b} + \frac{k_{23}}{V_b} \quad (4) \quad \text{y} \quad \alpha \cdot \beta = \frac{k_{12} \cdot k_{23}}{V_a \cdot V_b} \quad (5)$$

Gupta et al. ⁴⁹(1987) y posteriormente Losa et al. ⁵⁰(1993), propusieron otro modelo, que fue desarrollado específicamente para analizar los pasos envueltos en el proceso de liberación de un activo desde un sistema multiparticulado y la difusión subsecuente a través de una membrana de diálisis.

Cuando aplicaron éste modelo cinético, se encontró para cada perfil de liberación, un gráfico lineal con dos pendientes. Los valores de las pendientes, los cuales representan las constantes de velocidad de liberación, fueron calculadas por gráficos:

$$\ln (C_0 - C_t V_i / V_i - Q_m / V_i) \text{ vs } t \quad (6)$$

donde C_0 es la concentración del principio activo fuera de la membrana de diálisis al tiempo t , C_t es la concentración de principio activo dentro de la membrana al tiempo cero, Q_m es la cantidad total de activo contenido en el acarreador al tiempo cero; V_i es el volumen del medio de disolución dentro de la membrana y V_e es el volumen del líquido dentro y fuera de la membrana.

1.5 GENERALIDADES DE FILTROS SOLARES

En la presente investigación se trabajó con un filtro solar, ya que existe la necesidad de prolongar su estancia en piel para ejercer su acción por más tiempo. Dicha sustancia posee ciertas características que permiten su utilización para realizar ensayos de liberación, por ser un aceite puede ser incluido en NC, posee buena estabilidad a temperatura ambiente y presenta buena absorción espectrofotométrica en la región Ultravioleta (UV).

Los filtros solares son preparaciones tópicas cosméticamente aceptables, que reducen en mayor o menor grado, el efecto deletéreo de las radiaciones UV por absorción, reflexión o dispersión de las mismas. Los filtros solares no deben de ser productos de uso ocasional y deben tener otros beneficios para la piel, como la humectación, emolencia y desde luego, una fotoprotección eficaz^{50, 51}.

De acuerdo a su modo de acción, los filtros solares se dividen en:

1. Bloqueadores Físicos (Filtros Pantalla)
2. Absorbentes Químicos.

Los absorbentes químicos son clasificados como bloqueadores UVA o UVB dependiendo de la longitud de onda en que ellos protegen: *Absorbentes UVA* (región de 320 a 360 nm del espectro UV) y *Absorbentes UVB* (región de 290 a 320 nm del espectro UV)⁵⁰. El primer reporte del uso de filtros solares en el mundo fue en 1928, en EUA con la introducción de una emulsión conteniendo dos filtros solares químicos, bencil salicilato y bencil cinamato.

La relación estructura-actividad y eficacia de filtros ultravioleta es evidente, los filtros UV químicos en uso alrededor del mundo pueden clasificarse como derivados de los siguientes:

- a. PABA (Acido *para*-amino benzoico) y para amino benzoatos
- b. Salicilatos
- c. Cinamatos
- d. Benzofenonas
- e. Antraninilatos
- f. Dibenzoilmetanos
- g. Alcanfor
- h. Miscelánea de químicos.

PABA, el primer filtro solar patentado para esta familia de filtros UV, fue un filtro solar químico popular en los 50's y 60's.

Los cinamatos de hoy, más notablemente 2-etil hexil *p*-metoxicinamato, son los filtros solares más populares protegiendo la porción UVB del espectro electromagnético. Como grupo, los cinamatos tienen una instauración conjugada extra en ambos, el anillo aromático y el grupo carbonilo, en la porción del ácido carboxílico (éster). Esta configuración permite la deslocalización de electrones, que ocurre a través de la molécula. La energía correspondiente a esta transición electrónica que corresponde a una λ aproximada de 305 nm y tiene un gran coeficiente de extinción ($>23\ 000$).

La molécula de octil *p*-metoxicinamato, contiene un grupo donador de electrones (-OCH₃) en la posición *para*, facilitando el proceso de deslocalización de los electrones, necesario para la absorción de los rayos UV. También la presencia del grupo 2-etil hexil en el carbono 8 disminuye grandemente la solubilidad de la molécula en el agua, lo que representa una ventaja para ser utilizado en formulaciones cosméticas de protección solar.

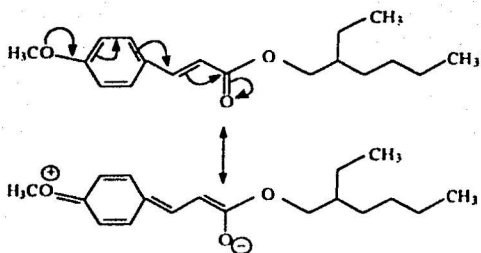


Fig 3. Deslocalización de electrones en la estructura de los cinamatos. (Adaptado de la referencia 50)

Los cinamatos presentan isomerismo *cis-trans*, sin embargo, el octil *p*-metoxicinamato posee una fotoestabilidad razonable, con pérdida de solo 4.5% de su actividad por transformación irreversible. Recientemente Alvarez-Roman R.; et al.⁴⁹(2001), prepararon NC conteniendo el filtro solar octil metoxicinamato (OMC) preparadas por desplazamiento de solvente utilizando PCL (poli-ε-caprolactona), un polimero biodegradable, y reportaron que la formulación que contiene las NC de OMC provee protección parcial al eritema inducido en cerdos por radiación UV de manera significativamente mejor que la preparación de gel convencional.

II. OBJETIVOS

General:

- ❖ Realizar ensayos de liberación *in vitro* de una sustancia lipofílica modelo (Octil metoxicinamato) a partir de sistemas nanoencapsulados para evaluar el mecanismo y tipo de liberación implicados.

Particulares:

- ◆ Encapsular sustancias de carácter lipofílico en NC utilizando el método de Emulsificación-Difusión, con diferentes cantidades de polímero.
- ◆ Evaluar la eficacia de los métodos de Ultracentrifugación y Celda de Permeación Vertical tipo Franz en el estudio de la liberación de sustancias a partir de NC.
- ◆ Determinar la influencia de la cantidad de polímero sobre la liberación de la sustancia.
- ◆ Establecer si la adición de un plastificante en el proceso de formación de las NC afecta la entrega de la sustancia lipofílica incluida en las NC.

HIPOTESIS

Si la liberación de sustancias a partir de sistemas nanoencapsulados sigue un proceso de difusión gobernado por el grosor de la membrana nanocapsular, entonces, dicha liberación será de orden cero y dependiente de dicho grosor.

MATERIAL Y EQUIPO

- Ultracentrifuga (Optima™ LE-80K) Beckman; USA
- Nanosizer (N4 Plus) Coulter™; Florida, USA
- Espectrofotómetro (DU®- 64) Beckman; USA
- Rotavapor (Laborota 4000) Heidolph; Germany
- Agitador magnético multiplaza (Velpo Scientific); Italy
- Agitador de velocidad variable (RZR-1) Caframo™ LTD; Germany
- Balanza Analítica BBC32 (Boeco) Germany
- Balanza microanalítica M5 (Mettler); Switzerland
- Parrilla eléctrica (SP46925) Barnstead/Thermolyne; USA
- Micropipetas (200 µl, 1000 µl)
- Membrana de Nitrato de Celulosa 0.1 µm; Advantec MFS, Inc.; Japón
- Microscopio Electrónico de Barrido JSM-25 SII (JEOL); Japón
- Cristalería

REACTIVOS

Polímeros preformados:

- Resomer® RG 502 Acido Poliláctico-co-glicólico 50:50(PLGA); Boehringer Ingelheim, Germany
- Acetato Italato de celulosa (CAP); Vita Drug S.A. de C.V.; México

Plastificante:

- Dibutil Sebacato NF (DBS); Morflex, Inc., USA

Aceite:

- Miglyol 840® (Propilen Glicol Dicaprilato/Caprato); Hüls AG; Germany

Filtro solar:

-Octil metoxi cinamato (OMC); Escalol 557 (ISP), donado por Multiquim, México

Colorantes:

-FD&C Rojo No. 17 (Sudán III); Kingfisher® Colours; England

-D&C Verde No. 6; Kingfisher® Colours; England

-D&C Violeta No. 2; Kingfisher® Colours; England

Solventes

-Acetato de etilo; J:T:Baker Analyzed® Reactivo

-Metil etil cetona (Butanona); B & J Brand™ Alta Pureza

Surfactantes:

-Tween®80 Polisorbato 80 NP. Polioxietilen(20)sorbitanmonoleato; ICI Surfactants

-Brij®58 Polioxietilen(20)cetil eter; ICI Specialty Chemicals

-Pluronic® F-127 .(Poloxamero 188) Polioles; México

-Mowiol 4-88 (Alcohol Polivinílico o PVAL); Glomarza; México

III. METODOLOGIA

III.1 DETERMINACIONES PRELIMINARES

III.1.1 Solubilidad de colorante

En 5 ml de Miglyol[®] 840, se adicionaron cantidades conocidas del colorante hasta la saturación del medio, agitando ocasionalmente y esperando durante algunos días a temperatura ambiente.

Se preparó una solución de 49.75 $\mu\text{g/ml}$; a la cuál se le realizó un barrido espectrofotométrico en la región visible a una velocidad de barrido de 500 nm/min, se seleccionó la longitud de onda (λ) a la cuál se harían las determinaciones; se leyó la solución calibrando previamente con Miglyol[®] 840 y se determinó $E^{\lambda}_{1\text{cm}}$ exp.

A partir de la solución saturada se preparó un sistema tratando de igualar la tonalidad del sistema de concentración conocida y se leyó a las mismas condiciones. Finalmente se calculó la solubilidad experimental de Violeta No. 2, tomando en cuenta las diluciones realizadas.

III.1.2 Solubilidad de "colorante - aceite" en soluciones de surfactante

Se prepararon soluciones de surfactante en agua (Tween[®] 80; Pluronic F-127[®] y Brij[®] 58) de concentraciones 10 y 20 % (P/V), tomando 10 ml de cada solución de surfactante, se determinó cuál de ellas solubilizó más gotas de solución saturada de colorante bajo agitación magnética moderada y constante.

En 50 ml de la solución de surfactante, se adicionaron tantas gotas como fuera necesario para saturar dicho sistema, esperando siempre la completa solubilización del colorante y las mismas condiciones de agitación a temperatura ambiente.

De dicha solución, se tomó una muestra para leer al espectrofotómetro a 582 nm usando un blanco de la solución de surfactante y se calculó la solubilidad de colorante en el sistema seleccionado.

III.1.3 *Curva de calibración para Violeta No. 2 en surfactante*

Se realizó la curva en Tween® 80 al 20%, preparando 9 sistemas de concentraciones conocidas (1.38; 5.53; 6.22; 6.91; 8.29; 9.68; 11.06; 12.44; y 13.83 µg/ml); usando la solución saturada de Violeta No. 2, preparada con anterioridad y realizando las lecturas a $\lambda=582$ nm en el espectrofotómetro. Cada sistema se preparó por triplicado.

III.1.4 *Solubilidad de OMC (Octil metoxicinamato) en solución de surfactante*

Se colocaron 50µl de OMC en 10 ml de Brij® 58 al 5%, agitando magnéticamente por 48 h. Se centrifugó durante 5 min a 3,000 rpm, para separar la solución saturada del OMC que no se solubilizó. Se tomaron 50µl de la solución saturada diluyendo a 5 ml con solución de Brij® 58 al 5% (solución A). Se tomaron 0.5 ml de solución A y se llevaron a 5 ml con solución de Brij. Se realizó un barrido en región UV (rango de 200-400nm) para determinar la λ . adecuada y posteriormente se registró la absorbancia del sistema. Se calculó la solubilidad del OMC, tomando en cuenta las diluciones realizadas.

III.1.5 *Curva de calibración para OMC*

Se preparó una solución stock colocando 20µl de OMC en 25 ml de Brij® 58 al 5% tomando el volumen correspondiente de solución stock (en µl) para preparar 8 sistemas de concentración conocida llevando a 5 ml en matraz volumétrico con solución de Brij. Los sistemas se leyeron en la λ seleccionada con anterioridad y se construyó el gráfico Concentración de OMC vs Absorbancia; determinando los parámetros estadísticos correspondientes.

III.2 *PREPARACION DE NP*

III.2.1 *Preparación de NC con Violeta No. 2 por el método de Emulsificación-Difusión (Fig.4)*

Se saturó acetato de etilo y agua destilada en un embudo de separación. En 30 ml de solvente saturado se disolvieron 400 mg de polímero y 0.5 ml de la solución de colorante en aceite, dispersando la fase orgánica en 60 ml de Alcohol Polivinílico (PVAL) 5 % (en agua saturada) con

agitación mecánica a 1700 rpm durante 10 min. Se adicionaron 200 ml de agua destilada al sistema en agitación, continuando con la misma por 10 min. más. El solvente fue eliminado y se concentró la suspensión hasta aproximadamente 40 ml bajo presión reducida. Se leyó la talla de partícula en el Nanosizer[®]. Se efectuaron 3 lavados sucesivos con agua destilada, a la suspensión de NC, por centrifugación a 20,000 rpm durante 20 min. y se resuspendió la pastilla de NC en agua destilada a 10 ml en un matraz volumétrico (suspensión de NC).

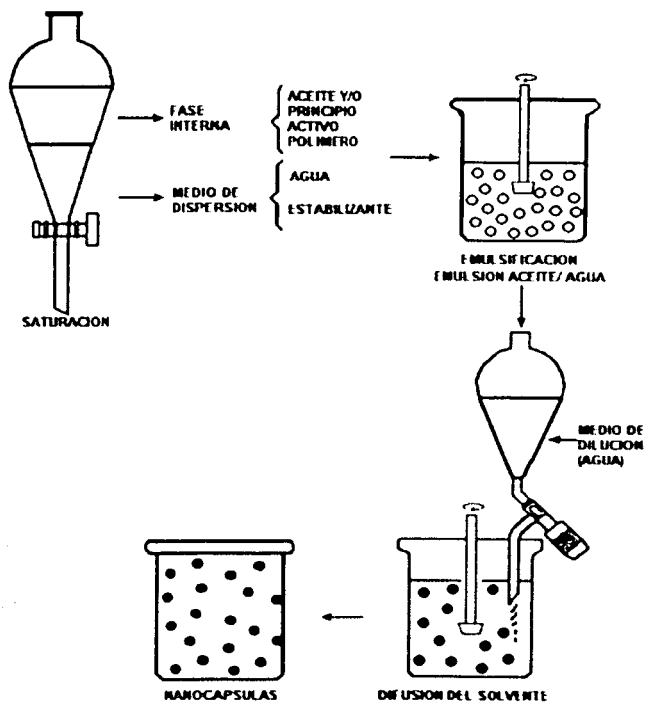


Fig. 4. Representación esquemática del método de Emulsificación-Difusión en la preparación de NC. (Adaptado de la referencia 2)

III.2.2 *Preparación de NC de OMC*

Se realizó de acuerdo al método de Emulsificación-Difusión, siguiendo el método descrito en el párrafo anterior, cambiando el acetato de etilo por butanona; la solución de colorante en aceite por 0.4 ml de OMC y utilizando CAP como polímero. Se prepararon sistemas con 0.2 g, 0.3 g, 0.5 g y 0.8 g de CAP (sistemas utilizados al evaluar la liberación por el método de Celda de Permeación Vertical tipo Franz).

III.2.3 *Preparación de NE cargadas con Violeta No. 2*

Se siguió el mismo método descrito en el punto III.2.1, exceptuando la adición del aceite, por lo que se agregó 1.175 mg del colorante en polvo al acetato de etilo.

III.3 *ENSAYOS DE LIBERACION*

III.3.1 *Liberación de colorante por Ultracentrifugación*

Se colocaron simultáneamente 10 sistemas independientes con 330 μ l de la suspensión de NC (llevándolos a 7 ml con Tween® 80 al 20%) en agitación magnética moderada a 37°C. Las muestras a diferentes intervalos de tiempo, se obtuvieron del sobrenadante representativo del sistema centrifugado (20,000 rpm/10 min). Dicho sobrenadante se leyó en el espectrofotómetro a λ adecuada y se realizó el gráfico correspondiente Tiempo vs Cantidad de colorante liberado.

La liberación para el colorante contenido en NE se realizó en solo 3 sistemas, siguiendo esta misma técnica.

III.3.2 *Liberación de colorante por el método de Filtración*

Se colocó un sistema constituido por 35.7 ml de Tween* 80 al 20% mas 4.3 ml de suspensión de NC manteniendo agitación magnética constante y a temperatura ambiente. Las muestras eran obtenidas por succión a diferentes intervalos de tiempo, con la ayuda de un dispositivo conformado por una jeringa conectada a un portafiltro que contenía una membrana de 0.1 μ m.

III.3.3 Liberación de OMC por el método de Permeación

Se tomaron 50 μl de suspensión de NC y se llevaron a 25 ml en matraz volumétrico con solución de Brij® 58 al 5%. De ésta solución, se transfirieron 2 ml en el compartimento superior de una celda de permeación vertical tipo Franz, que incluye una membrana de 0.1 μm . En el compartimento inferior se colocaron 2 ml de Brij 58 al 5% (Fig. 3) introduciendo las celdas en un baño a 37°C, y se inició la agitación moderada.

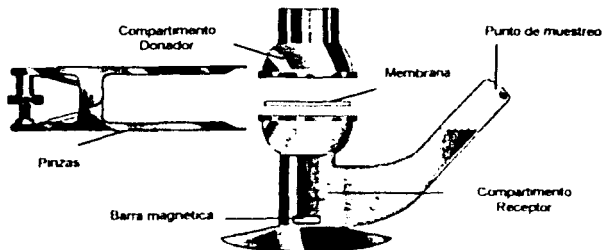


Fig. 5 Celda de Permeación Vertical tipo Franz como dispositivo de liberación de OMC en Brij® 58 al 5%.

Se tomó la muestra (volumen completo del compartimiento inferior), reponiendo dicho volumen con medio fresco a determinados tiempos hasta el término de la liberación.

Las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro a $\lambda=310\text{ nm}$ utilizando Brij® 58 al 5% como blanco.

Se interpolaron las absorbancias obtenidas en la curva de calibración, calculandose la cantidad acumulada de OMC que se liberó y se obtuvo el perfil de liberación para el sistema.

III.4 MICROFOTOGRAFÍAS DE NC

III.4.1 Técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)^{5*}

Se tomó una muestra de NC sumergiendo papel filtro limpio de 0.22 μm en la suspensión de NC y se dejó secar perfectamente. Se realizó la fijación de las NC con Tetróxido de Osmio al 1% durante 2 h, a temperatura ambiente. Luego, la muestra fue deshidratada haciéndola pasar por soluciones etanólicas

cada vez más concentradas durante 30-45 min., hasta llegar a etanol absoluto (70, 80, 90 y 100%); acto seguido, se dejó secar. Se montó la muestra en un cilindro portamuestra perfectamente limpio y se recubrió con oro. Finalmente se realizó la observación y toma de fotografías por Microscopía Electrónica de Barrido a 7000x y 10000x.

IV. RESULTADOS Y DISCUSION

Las determinaciones preliminares (solubilidad en diferentes medios y concentraciones de surfactantes, y otros parámetros espectrofotométricos) [Anexo 1] se realizaron con la finalidad de elegir la sustancia a incluir en NC y el medio de disolución a utilizar durante la liberación; de acuerdo a dichos parámetros se seleccionó el colorante Violeta No. 2, que posee mejor solubilidad en Tween[®] 80 al 20% y para el filtro solar OMC. El medio utilizado fue Brij[®] 58 al 5%.

La talla de partícula obtenida en las NC de Violeta No. 2 fue ligeramente superior a la de NC cargadas con OMC, como se observa en las tablas 2 y 3.

Tabla 2. Talla de partícula promedio (NC Y NE; Violeta No.2-PLGA)

Sistema	Talla*(nm)	σ	Pd [†]
NC	594.8	193.7	0.184
NE	411.3	172.1	0.587

* n=3

† Polidispersidad.

Tabla 3. Talla de partícula promedio (NC OMC-CAP)

Lote	SIN DBS			CON DBS		
	Talla* (nm)	σ	Pd [†]	Talla* (nm)	σ	Pd [†]
0.2g CAP	369.167	51.670	0.573	288.800	13.551	0.207
0.3g CAP	302.350	4.453	0.334	292.883	13.190	0.174
0.5g CAP	330.600	53.776	0.224	331.842	25.687	0.306
0.8g CAP	343.350	20.238	0.473	316.063	18.510	0.456

DBS - Dibutil Sebacato

* n=3

† Polidispersidad

Este resultado puede deberse a que la proporción de aceite en los lotes de colorante fue mayor que la utilizada en los lotes con filtro solar, con lo que se incrementa la probabilidad de coalescencia de los glóbulos formados durante el paso de emulsificación; de cualquier manera, la talla de partícula siempre se encontró en el rango nanométrico. El método de Emulsificación-Difusión es una de las pocas técnicas que han reportado alta eficiencia del proceso y alta tasa de encapsulación de sustancias lipofílicas² pudiéndose corroborar en la presente experimentación, sobre todo cuando se realizaron los lavados de NC, pues de no haberse encapsulado, el aceite se habría observado en el sobrenadante después de centrifugar, mas esto no sucedió, por lo que asumimos que todo el aceite y polímero fueron transformados a NC.

Con éstas condiciones se comenzaron las pruebas de liberación. En la primera parte, se propuso en utilizar el colorante y emplear el método de Ultracentrifugación. La figura 6, muestra que la liberación del colorante contenido en NC, fue prácticamente inmediata, por lo que se consideró que el método resulta ser invasivo para las NC e incluso para las NE [figura 7].

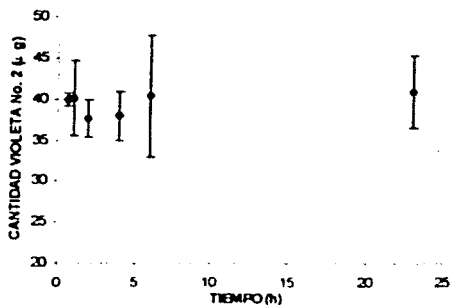


Fig 6. Promedio de la liberación a temperatura ambiente de Violeta No. 2 contenido en NC preparadas con 400 mg de PLGA, utilizando Tween[®] 80 al 20% como medio de disolución.

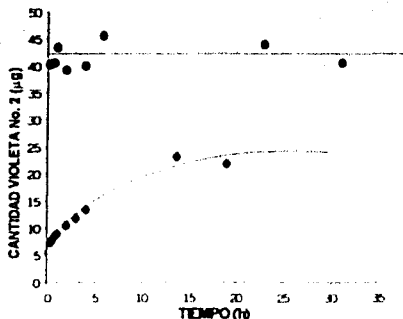
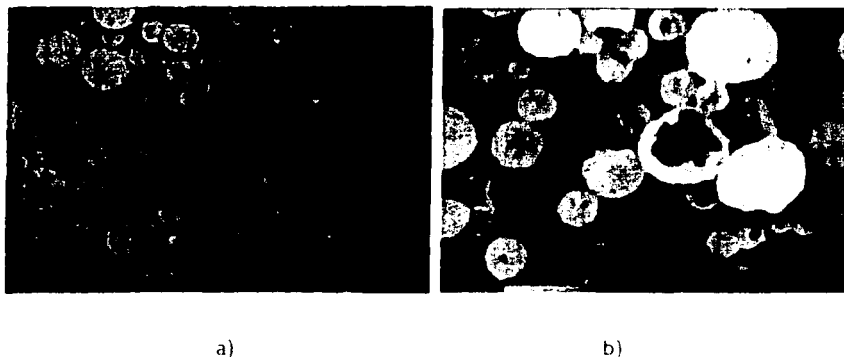


Fig 7. Comparación de los perfiles de liberación de Violeta No. 2 en ● NE y ● NC preparadas a las mismas condiciones (400mg PLGA a 1° ambiente).

Del perfil de liberación obtenido se propone que la película de PLGA que recubre el seno de las NC es muy lábil, por lo que la presencia de una alta concentración de surfactante y las sucesivas centrifugaciones a 20,000 rpm durante 10 minutos, pudieron afectar esta pared nanocapsular, induciéndose así la ruptura de la misma y por ende la liberación espontánea del colorante. Cabe señalar que en la parte inicial de la liberación a partir de NE, se sigue una tendencia ascendente, pero al avanzar el tiempo, ésta tendencia se vuelve prácticamente constante, de esta manera consideramos que las condiciones de trabajo también afectaron a las NE; corroborándose por observación de la pastilla obtenida después de centrifugar, pues aproximadamente después de 4 h, ya no se apreciaba coloración violeta, sólo coloración blanca, del polímero. Comparando la cantidad de Violeta liberada, es menor en el caso de las NE respecto a las NC, tal vez debido a que la cantidad de colorante pudo ser menor en las NE respecto a las NC, pues durante el proceso de manufactura, cierta cantidad de colorante pudo quedar disuelto en el solvente orgánico, ya que no se adiciona aceite como en las NC.

La fragilidad de la pared nanocapsular también se reflejó al observar las NC por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), pues la manipulación a la que se sometió al sistema, fue suficiente para que algunas NC se rompieran cediendo así su contenido, lo que nos permite observar

claramente cavidades que habían sido ocupadas por aceite. En la figura 8 podemos observar la forma esférica y morfología real de las NC, mostrando las cavidades antes mencionadas. Es importante señalar que es la primera vez que se reporta una técnica directa de MEB para poner en evidencia la estructura de las NC sin recurrir al método de criofractura.



*Fig 8. Morfología de NC de 0.8g de CAP y 0.4 ml de OMC obtenidas por el método de Emulsificación Difusión, captadas por MEB utilizando una técnica de fijación con Tetróxido de Osmio al 1% ⁵²
a) 7 000x b) 10 000x.*

Considerando que el método de Ultracentrifugación afecta las NC, se decidió utilizar otro método para seguir la liberación del Violeta No. 2, la filtración a vacío, sin embargo, se presentaron problemas en la toma de muestra, dado que la solución de Tween[®]80 al 20% presentaba cierta viscosidad, además de la obstrucción de los poros de la membrana de 0.1 μm , provocándose así, un incremento considerable en el tiempo de muestreo y por esta razón resultaba inadecuado considerar los datos obtenidos por éste método.

Con los resultados presentados hasta esta parte, resulta evidente proponer un tercer método para seguir la liberación y como se pueden utilizar otras sustancias lipofílicas, la posibilidad

de encapsular un filtro solar resultó atractiva, dado que con esta sustancia se puede ver una aplicación más real en el estudio de la liberación, además que el OMC es ya un aceite, por lo que no es necesario adicionar otro aceite para solubilizarlo. En pruebas preliminares realizadas con anterioridad en el mismo laboratorio donde se llevó a cabo la presente tesis (Olvera M. B., et al.⁵¹ 2001) se encontró que el polímero PLGA se disuelve en OMC, pero el CAP no es soluble en este filtro solar; además se determinó la proporción con la que se obtiene una alta eficiencia de encapsulación de dicho filtro solar en CAP. Con base en lo anterior y sabiendo que éste compuesto posee muy buena detección espectrofotométrica, se procedió a preparar los diferentes lotes de NC utilizando 0.4 ml de OMC en diferentes cantidades de CAP (0.2, 0.3, 0.5 y 0.8 g). El método elegido para seguir la liberación en este caso, fue el de Celda de Permeación (Fig. 5), que cuenta con 2 compartimentos, separados por una membrana, cuyo diámetro de poro de 0.1 μm , permite el paso de la sustancia liberada y disuelta en el medio de disolución (Brij[®] 58 al 5%), pero sin que las NC puedan atravesarla.

Estudios de liberación realizados por otros autores ^{9,11,25,26,46,47,49,54,55,56,58} incluyen la utilización de una membrana, para seguir la liberación de sustancias y en otros casos se ha trabajado con medios de disolución a determinado pH, con o sin enzimas e incluso en animales, lo que demuestra el interés de los grupos de investigación por determinar los principales factores que afectan dicha liberación (partición, interacción con el polímero, pKa, etc.).

La figura 9 resume los resultados de la liberación de OMC para los 4 sistemas trabajados y sus respectivas barras de error que representan la desviación estándar de 3 sistemas para cada punto. La transformación a porcentaje se calculó utilizando la fórmula $(M_t / M_\infty) \times 100$, considerando a M_t como la cantidad liberada a un tiempo t y M_∞ como la cantidad máxima liberada en el sistema.

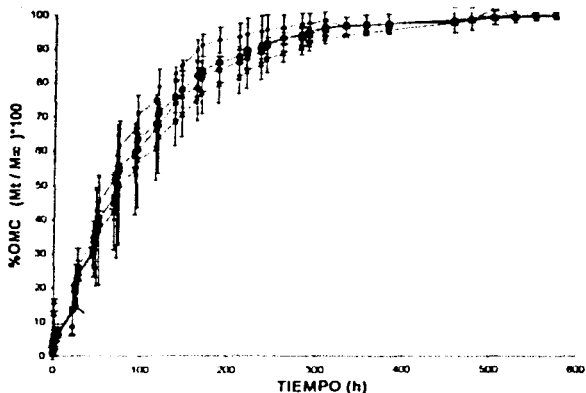


Fig 9. Perfil de liberación de OMC incluido en NC preparadas con diferentes cantidades de polímero CAP : - 0.2g CAP, • 0.3g CAP, ▲ 0.5g CAP y × 0.8g CAP llevada a cabo a $T^{\circ} = 37^{\circ}\text{C}$, por el método de Celda de permeación vertical tipo Franz, en Brij 58 al 5% como medio de disolución.

El perfil refleja que la liberación no sigue una cinética de orden cero,^{57,58,59,60} recordando que en este caso, la cantidad liberada es independiente de la concentración de la sustancia incluida en el sistema y el gráfico obtenido, habría sido una línea recta. Se observa que la velocidad de liberación inicial es rápida, pero que al avanzar la liberación dicha velocidad disminuye hasta hacerse prácticamente constante.

La variación observada en la liberación del filtro solar en los sistemas preparados con diferentes cantidades de CAP, puede deberse al grosor de la pared de las NC en cada sistema, donde, a mayor cantidad de polímero, la pared se vuelve más gruesa, por lo que como se observa, a un tiempo dado, la cantidad de OMC liberado fue menor para el lote de 0.8 g CAP, respecto a los otros tres lotes (0.5, 0.3 y 0.2 g CAP respectivamente). Esto es mas evidente sobre todo alrededor de las 200 h de la liberación.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los puntos finales en el gráfico muestran que existe un tiempo en el que se libera casi la totalidad del filtro solar en los 4 sistemas, pues aproximadamente a las 400 h, se igualan las curvas, tal vez por la degradación que pudo producirse en la membrana nanocapsular.

Podemos suponer que si se trata solo de un proceso de difusión, el cambio en la pendiente puede atribuirse a la disminución en el gradiente de concentración, resultado de la menor cantidad de filtro solar que permanece en el seno de las NC (pues entre menor sea la cantidad encapsulada de OMC, su tendencia a salir será menor); reduciéndose por ende, la velocidad de salida.

En la figura 10 se representa la liberación del OMC en los sistemas a los que se adicionó el plastificante DBS. Podemos observar un perfil parecido al obtenido sin DBS, mas se puede agregar para este caso que, la liberación procedió un poco más lento, por lo que pensamos que la presencia del plastificante favoreció la resistencia de la pared nanocapsular y que dicha resistencia es un factor importante en dicha liberación.

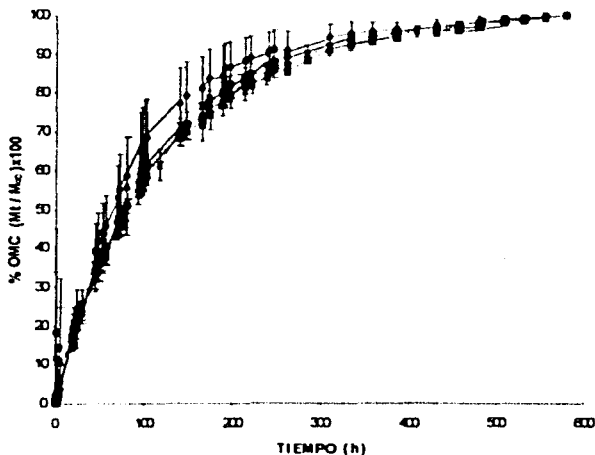


Fig 10. Perfil de liberación de OMC a 37°C en Brij 58 al 5%, llevado a cabo por el método de Celda de permeación en sistemas de • 0.2gCAP, • 0.3gCAP, • 0.5gCAP y • 0.8gCAP con 20% de DBS respecto al CAP.

El plastificante debió haberse acoplado entre las cadenas poliméricas, produciendo rearreglo⁶⁷ y relajación de dichas cadenas. Dado que el DBS tiene gran afinidad por el OMC (seno de la cápsula), se asegura la plastificación de la pared mientras exista filtro solar dentro de las NC.

En este perfil es apreciable que los puntos en la porción inicial de la liberación podrían ajustarse mejor a una línea recta (hasta el 50% de OMC liberado) respecto a aquellos sistemas que no poseen DBS.

Otro aspecto importante es que aparentemente, en los perfiles mostrados en los gráficos 3 y 4, no se presentó efecto "burst" (liberación súbita), o un tiempo de latencia (t_{lag}), como sucede en algunos sistemas tipo reservorio⁵⁷.

Para obtener más información acerca del mecanismo físico que se presenta en la liberación de sustancias contenidas en NC, se trataron los datos con el modelo semi-empírico, propuesto por Peppas et al.,^{45,60} (ecuación 2) donde sólo se consideran los datos de la primera parte de la liberación, hasta el 60%; obteniéndose buena correlación como se aprecia en la figura 11.

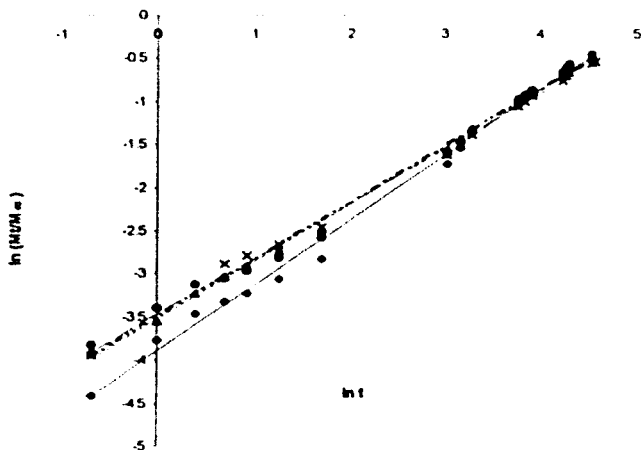


Fig 11. Representación de los resultados de liberación de OMC en Brij 58 al 5%, tratados con el modelo de Peppas en los sistemas \bullet 0.2g CAP, \bullet 0.3g CAP, \blacktriangle 0.5g CAP y \times 0.8g CAP sin plastificante.

De acuerdo a este modelo, la fracción liberada de una cierta sustancia depende de una constante y de un exponente difusional "n" que indica el probable mecanismo de transporte y el tipo de liberación. El valor de dicho exponente fue obtenido para los diferentes sistemas y se muestra a continuación:

Tabla 4. Parámetros de regresión y valor de "n" obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Peppas en los sistemas nanoencapsulados sin DBS.

0.9945	0.9831	0.9986	0.9966
0.7552	0.6613	0.6663	0.6374

Basándonos en éste modelo, el valor de "n" obtenido ($0.5 < n < 1$), indica que el mecanismo de transporte asociado es de tipo No Fickiano (Anómalo), y la liberación guarda dependencia con una fracción del tiempo (Anexo 2). Cabe señalar que los valores en general no tienden a ningún extremo del intervalo indicado por Peppas, quedando de manifiesto que no se trata de una clásica liberación Fickiana ($n=0.5$), ni tampoco se sigue un orden cero ($n=1$). Podemos decir que en nuestros sistemas, la tendencia es hacia una liberación dependiente de la difusión, mas el hecho de que sea No Fickiana pudiera indicar que en cierto momento existe un rompimiento en las NC.

El proceso de difusión No Fickiana se ha reportado principalmente en polímeros cristalinos, cuando la temperatura utilizada en el estudio es menor que la T_g (temperatura de transición vítrea). Se dice que las cadenas de polímero no son lo suficientemente móviles para permitir la penetración inmediata de solvente en el polímero, y por ende, de las sustancias disueltas en el solvente. La difusión anómala tiene que ver con que la velocidad de difusión del solvente y la velocidad de relajación del polímero tienen aproximadamente el mismo orden de magnitud ($R_{relax} \sim R_{diff}$).⁶²

Para el caso donde los sistemas incluyen plastificante, al aplicar el modelo también se tiene correlación de los puntos como puede observarse en la figura 12 y en la tabla 5.

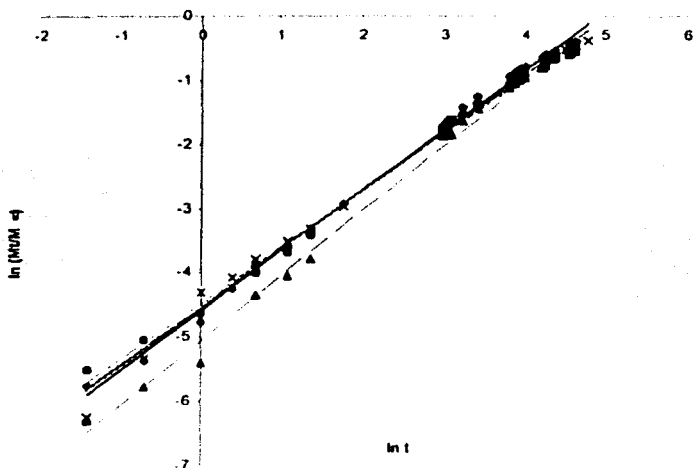


Fig 12. Representación de los resultados de liberación de OMC en Brij 58 al 5%, tratados de acuerdo al modelo de Peppas, en sistemas \bullet 0.2g CAP, \bullet 0.3g CAP, \blacktriangle 0.5g CAP y \times 0.8g CAP con 20% de plastificante en cada sistema.

Tabla 5. Parámetros de regresión y valor de "n" obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Peppas en los sistemas nanoencapsulados con DBS.

0.9969	0.9861	0.9946	0.9937
0.9361	0.8754	1.0126	0.9335

El aumento del valor de "n" en todos los sistemas confirma que la presencia del plastificante contribuye en el control de la liberación, pues como ya se había mencionado, se retarda la salida de

las sustancias, y además, ahora se tiene una tendencia al valor de $n=1$, por lo que de acuerdo al anexo 2, la tendencia hacia el orden cero (en esta parte de la liberación).

Cuando los resultados fueron tratados como sistemas matriciales, se obtuvieron los parámetros de la figura 13 y la tabla 6:

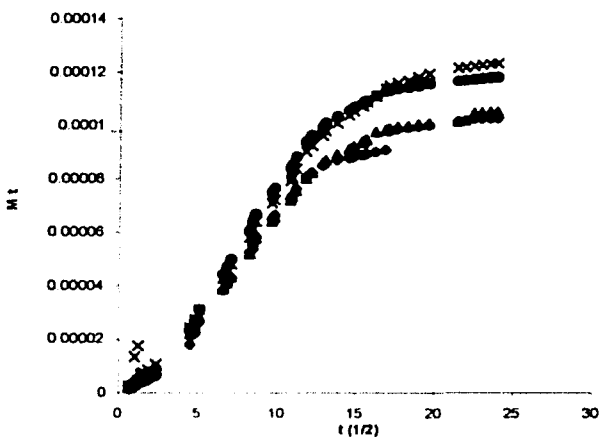


Fig 13. Representación de los resultados obtenidos de la liberación de OMC, para los sistemas
 ◆ 0.2g CAP ● 0.3g CAP ▲ 0.5g CAP × 0.8g CAP
 sin plastificante, de acuerdo al modelo de Higuchi.

Tabla 6. Parámetros de regresión obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Higuchi en los sistemas sin plastificante.

0.9071	0.8976	0.9127	0.9335
--------	--------	--------	--------

Para este caso, se puede notar que no existe buena correlación (no se observa una línea recta), pues la forma sigmoideal de las curvas, indica que el modelo no fue aplicable a los sistemas

nanocapsulares, por lo tanto no podemos considerar a las NC como sistemas tipo matriz, donde la liberación de la sustancia depende de la raíz cuadrada del tiempo. De acuerdo al modelo de Higuchi, en los sistemas matriciales^{37,39} se asume que el activo se encuentra disperso homogéneamente en toda la matriz, de manera que el fármaco que sale primero es el que se encuentra localizado en la parte más superficial de la matriz, y posteriormente el que se encuentra en la región más interna, y dado que el grosor de la capa hidrodinámica de difusión se incrementa al aumentar el tiempo, el fármaco que se encuentra en la región más interna va a tardar un poco más en salir. Aparentemente este no es nuestro caso, sugiriendo que la liberación está más ligada a la difusión a través de la pared del sistema ó al vaciado por "estallamiento" de la NC.

En los sistemas que contenían plastificante, se advierte un perfil muy parecido al que presentaron los sistemas sin DBS, como se observa en la figura 14 y en la tabla 7.

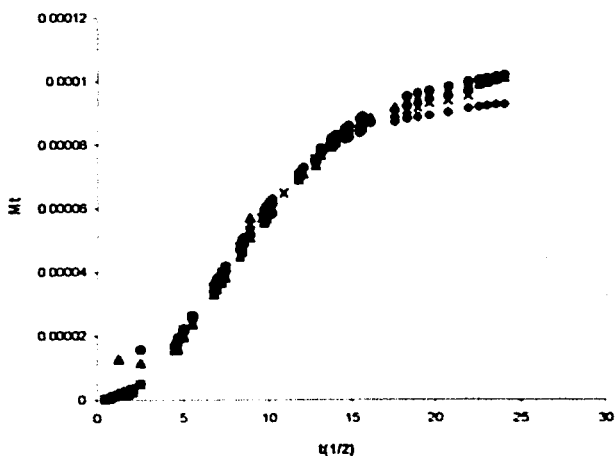


Fig 14. Representación de los resultados de liberación de OMC contenido en NC en los sistemas con plastificante, de acuerdo al modelo de Higuchi.
 ◆ 0.2g CAP ● 0.3g CAP ▲ 0.5g CAP × 0.8g CAP

Tabla 7. Parámetros de regresión obtenidos para la liberación de OMC a 37°C al tratar los resultados de acuerdo al modelo de Higuchi en los sistemas con plastificante.

0 9038	0 9378	0 9417	0 9510
--------	--------	--------	--------

Si comparamos las tablas 6 y 7, encontramos un pequeño aumento en el valor de r^2 en algunos sistemas, pero las figuras 13 y 14, muestran claramente un perfil no lineal, que significa que la liberación no se ajusta al modelo de Higuchi. Dado que dicho modelo está basado en la primera ley de Fick^{57,58,59,60}, y nuestros resultados no se ajustan a este modelo, tanto en los sistemas sin plastificante como en los que lo contienen, podemos asumir que no se sigue un proceso de difusión Fickiana, como ya se había encontrado al utilizar el modelo de Peppas.

Con respecto al modelo propuesto por Ammoury et al.^{46,47,48} (1990, 1989a, 1989b; ecuación 3) se encontró que a pesar que en el modelo se toman en cuenta los principales aspectos que afectan la liberación de un activo en un sistema de 3 compartimentos, nuestros resultados no se ajustan, indicándonos de esta forma que el modelo no refleja adecuadamente lo que está sucediendo en el sistema, y de hecho, los mismos autores reconocen que solo algunas de las cinéticas fueron descritas por su modelo. De esta manera, puede pensarse que la liberación seguida en el presente trabajo experimental puede ser más limitada por la salida del OMC de las NC, que por su distribución en los compartimentos restantes, suponiendo que el filtro solar se disuelve inmediatamente en el medio de disolución con ayuda de la agitación en el sistema, y que no existe interacción con la membrana que separa a los compartimentos.

Por otro lado, era importante saber el tipo de cinética que obedecen los resultados de liberación presentados, por lo que se analizaron de acuerdo a una cinética de primer orden, obteniendo el siguiente gráfico, al considerar los resultados de acuerdo a la cantidad de OMC remanente (M_{∞}) en las NC:

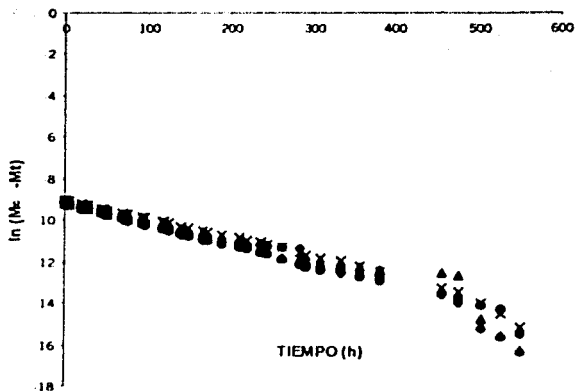


Fig 15. Resultados de la liberación de OMC en sistemas
 • 0.2g CAP ◻ 0.3g CAP ▲ 0.5g CAP × 0.8g CAP
 preparados sin plastificante para cinética de primer orden.

La tendencia observada en los 4 sistemas es lineal, dándonos la pauta para señalar que se ajustan a éste tipo de cinética, dada la buena correlación, datos que se muestran en la tabla 8:

Tabla 8. Parámetros de regresión correspondientes a los sistemas mostrados en la figura 15, preparados sin plastificante de acuerdo a una cinética de 1er. Orden.

0.9601	0.9925	0.9342	0.9865
0.0110	0.0103	0.0101	0.0098

De esta forma, el señalar que se sigue una cinética de primer orden, implica que la liberación de OMC contenido en NC, es dependiente de la concentración del mismo en el sistema.⁵⁹

Similares resultados se obtuvieron en los sistemas con DBS, como se muestra en la figura 16 y la tabla 9:

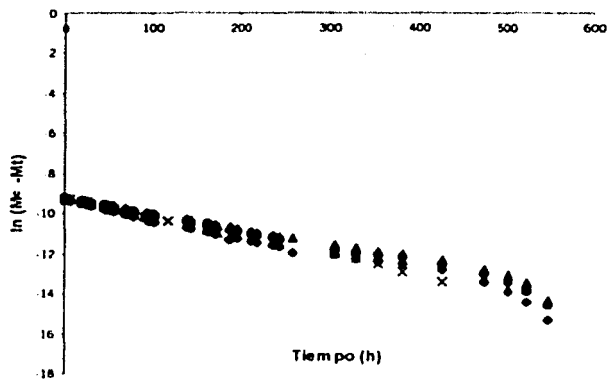


Fig 16. Resultados de la liberación de OMC en sistemas
 • 0.2g CAP-DBS • 0.3g CAP-DBS ▲ 0.5g CAP-DBS × 0.8g CAP-DBS
 preparados con plastificante para cinética de primer orden.

Tabla 9. Parámetros de regresión correspondientes a los sistemas de la figura 16, preparados con plastificante de acuerdo a una cinética de 1er. Orden.

0.9829	0.9895	0.9871	0.9983
0.0094	0.0086	0.0080	0.0094

Cabe señalar que la adición del plastificante mejoró un poco la correlación de algunos sistemas (ligero aumento en r^2), mas se puede observar que el valor de la constante k disminuye en todos los casos, lo que implica que la velocidad de liberación es ligeramente menor en los sistemas trabajados con plastificante comparados a los sistemas que no lo poseen.

Los resultados, en conjunto, nos han servido para señalar algunos de los aspectos que intervienen en el proceso de liberación de una sustancia lipofílica a partir de NC, asimismo nos indican el tipo de mecanismos implicados en dichas liberaciones. Sin embargo, es necesario recordar que la liberación de cualquier sustancia encapsulada, va a depender de diversos factores, tales como, el entorno en que se lleve a cabo el análisis, de las propiedades fisicoquímicas de la molécula encapsulada y de polímero empleado. ^{1,13,37,46}

V. CONCLUSIONES

- A. El método de Emulsificación-Difusión ofreció una alta tasa de encapsulación (>75%) y eficiencia del proceso para los sistemas de NC preparados (Violeta No.2-Miglyol[®]840-PLGA; OMC-CAP y OMC-DBS-CAP).
- B. La morfología de las NC obtenidas por el método de Emulsificación-Difusión pudo ser puesta en evidencia por una nueva técnica de MEB, mostrándose claramente cavidades que fueron ocupadas por aceite.
- C. La técnica de Ultracentrifugación no puede considerarse como un método adecuado para seguir la liberación de sustancias contenidas en NC, ya que puede inducir la ruptura de la pared nanocapsular.
- D. El valor del exponente "n" para los resultados de liberación del filtro solar, de acuerdo al modelo de Peppas, indica que el mecanismo de transporte asociado es de tipo No Fickiano y el tipo de liberación es Dependiente del tiempo, para todos los sistemas estudiados.
- E. La variación en cantidad de polímero retarda la liberación de OMC, pues a mayor cantidad de polímero, el grosor de la pared de las NC aumenta.
- F. La presencia de DBS en los sistemas produjo un pequeño retraso en la salida del OMC (resistencia mecánica en la pared nanocapsular).
- G. La liberación en todos los sistemas de NC trabajados siguieron una cinética de primer orden, dependiente de la concentración del OMC en el sistema.
- H. La liberación del filtro solar parece llevarse a cabo por dos procesos que suceden simultáneamente: difusión y ruptura de la pared de las NC.

VI. PERSPECTIVAS

- i. Realizar pruebas de liberación de OMC "in vitro", aplicando la suspensión de NC en piel.
- ii. Evaluar la cantidad de OMC penetrada en piel "in vivo" (por algunas técnicas como 'Tape stripping', FTIR/ATR, etc.) y su efecto protector contra la radiación UVB (determinación de FPS, análisis de resistencia al agua, etc.)
- iii. Desarrollar una formulación cosmética que incluya al filtro solar en NC.
- iv. Evaluar la eficacia de la formulación "in vivo".
- v. Incluir otras sustancias de interés farmacéutico y/o cosmético en NC (proteínas, vitaminas, etc.) y evaluar su penetración en piel u otras vías de administración, así como el efecto terapéutico que presente.
- vi. Desarrollar las formulaciones respectivas y evaluar su eficacia terapéutica o cosmética.
- vii. Desarrollar el escalamiento industrial del proceso de manufactura en las formulaciones que así lo merezcan.

Anexo 1. SOLUBILIDAD Y PARAMETROS ESPECTROFOTOMETRICOS EXPERIMENTALES PARA LAS SUSTANCIAS UTILIZADAS.

Tabla 10. Solubilidad experimental de colorantes y filtro solar.

SUSTANCIA	λ [=] nm	E^{λ} exp.	SOLUBILIDAD exp.
Sudán III (Rojo D&C No.17)	503	912.8712	1453.1754*
Verde D&C No. 6	634	405.6818	1614.7176*
Violeta D&C No. 2	582	310.15075	2213.1172* y 13.8319*
Octil Metoxi Cinamato	310	93260	4.84×10^{-10} *

*Solubilidad en Miglyol 840 [=] $\mu\text{g/ml}$

* Solubilidad en Tween 80 al 20% [=] $\mu\text{g/ml}$

* Solubilidad en Brj 58 al 5% [=] g/ml

BARRIDOS

Fig 17. Barrido espectrofotométrico de Sudán III - Miglyol[®] 840 en Región Visible.

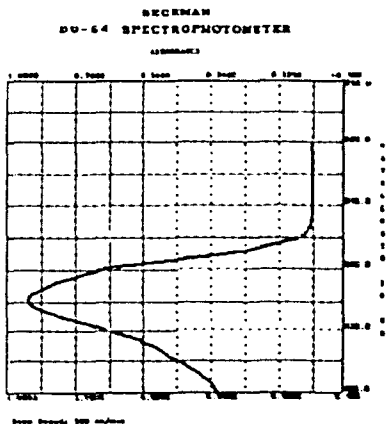


Fig 18. Barrido espectrofotométrico de Verde No. 6 - Miglyol[®] 840 en Región Visible.

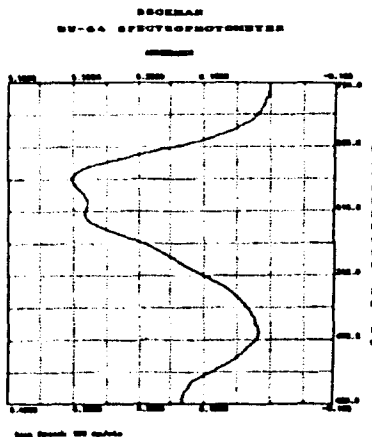


Fig 19. Barrido espectrofotométrico de Violeta No. 2 en Miglyol[®] 840 en Región Visible.

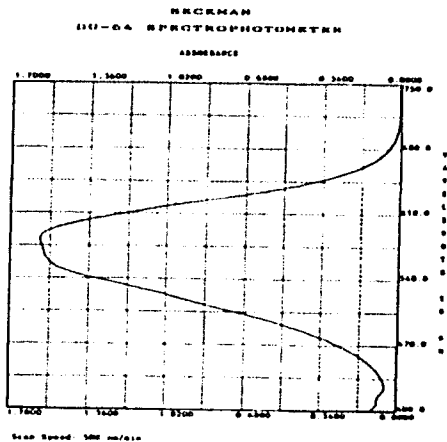
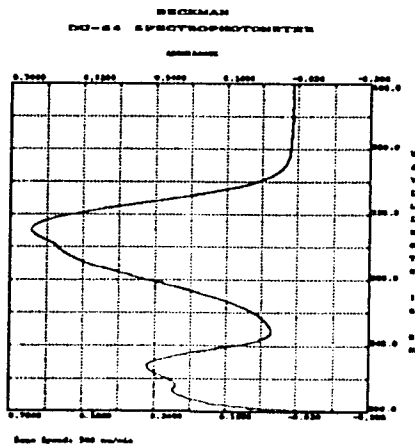


Fig 20. Barrido espectrofotométrico de Octil Metoxi Cinamato (OMC) enBrij 58 al 5% en Región Ultravioleta.



CURVAS DE CALIBRACION

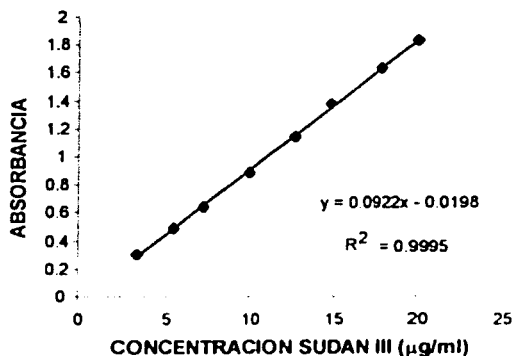


Fig 21. Curva de calibración espectrofotométrica para Sudan III en Miglyol® 840.

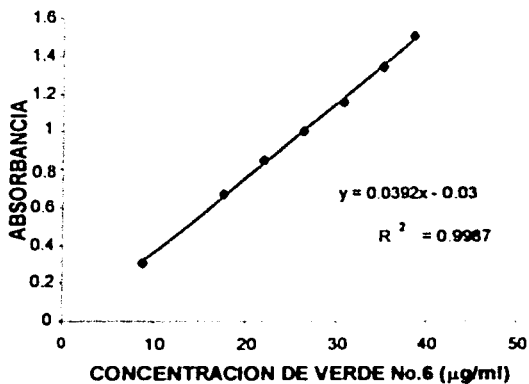


Fig 22. Curva de calibración espectrofotométrica para colorante Verde No. 6 en Miglyol® 840.

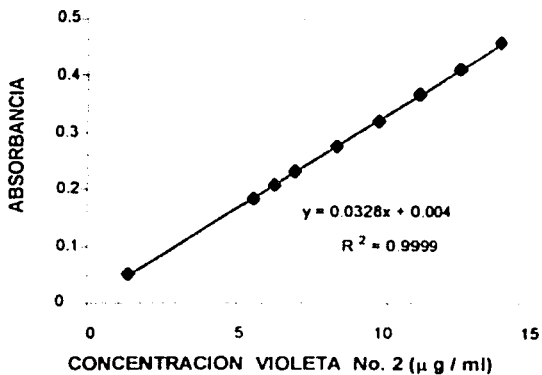


Fig 23. Curva de calibración espectrofotométrica para Violeta No. 2 en Tween 80 al 20%.

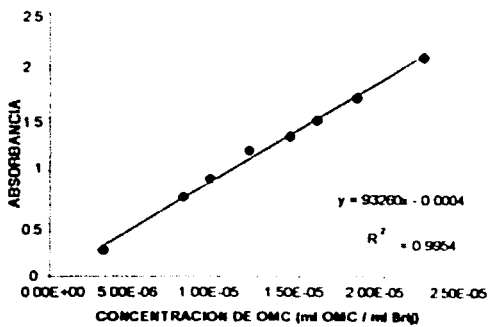


Fig 24. Curva de calibración espectrofotométrica para OMC en Brij 58 al 5%.

Anexo 2. MECANISMO DE TRANSPORTE Y TIPO DE LIBERACIÓN DE ACUERDO AL VALOR DE "n" EN EL MODELO SEMI-EMPIRICO DE PEPPAS^{46,67}

VALOR DE "n"	MECANISMO DE TRANSPORTE	TIPO DE LIBERACIÓN
0.5	Difusión Fickiana	Dependiente del tiempo $f(t^{1/2})$
$0.5 < n < 1$	Transporte No Fickiano (Anómalo)	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$
1	Transporte Caso II	Independiente del tiempo (orden cero)
$n > 1$	Transporte Super Caso II	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$

Anexo 3. CARACTERÍSTICAS DE LOS MATERIALES UTILIZADOS

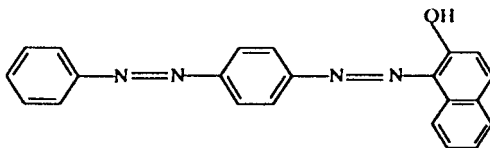
SUDAN III (ROJO FD&C No. 17) ^{63,64}

1-[[4-(Fenil azo) fenil] azo]-2-naftalenol; 1-(p-fenilazofenilazo)-2-naftol; tetrazobenceno-β-naftol;
D&C Rojo No. 17

Fórmula empírica: C₂₂H₁₆N₄O

Peso molecular 352.40 g/mol.

Descripción: Polvo rojo a café, insoluble en agua, soluble en cloroformo, ácido acético glacial, moderadamente soluble en alcohol, éter, acetona, éter de petróleo, aceites y glicerol caliente.



Usos: Colorante para aceites, lacas, etc.

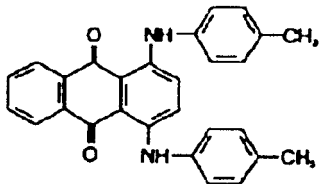
VERDE D&C No. 6 ⁶³

1,4-bis[(4-metil fenil) amino]-9,10-antracenediona

Fórmula empírica: C₂₈ H₂₂ N₂ O₂

Peso molecular: 418.50 g/mol.

Dicho colorante se encuentra clasificado dentro de las antraquinonas.



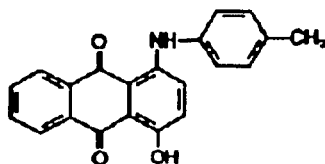
VIOLETA D&C No. 2 ⁶³

1-hidroxi-4-[(4-metil fenil) amino]-9,10-antraquinodiona.

Fórmula empírica: C₂₁ H₁₅ N O₃

Peso molecular: 329,36 g/mol.

Este colorante se encuentra dentro de la clasificación de las antraquinonas.

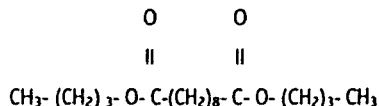


DIBUTIL SEBACATO⁶⁵

Nombre químico: Di-n-butil sebacato. *Fórmula empírica:* C₁₈ H₃₄ O₄

Peso molecular: 314.47

Fórmula estructural:



Categoría funcional: Plastificante (dentro de los ésteres orgánicos)

Aplicaciones farmacéuticas: El dibutil sebacato es usado en formulaciones farmacéuticas como un plastificante para recubrimiento de película en tabletas y gránulos, a concentraciones entre 10-30% respecto al polímero. También es usado como saborizante sintético y adyuvante en productos de comestibles (helados, bebidas no alcohólicas, etc.)

Descripción: El dibutil sebacato es un líquido aceitoso, incoloro, con suave a ligero olor.

Propiedades típicas: (*Certificado de análisis Morflex, Inc.)

Índice de Acidez (mg KOH/g) *: 0.04

Saponificación *: 356.8

Ensayo de Pureza *: 99.0%

Punto de ebullición: 344-349°C

Punto de destello: 193°C

Punto de fusión: -10°C

Índice de refracción * n_D²⁵: 1.4396

Solubilidad: soluble en etanol, 2-propanol y aceite mineral; prácticamente insoluble en agua.

Gravedad específica * 0.9381 a 20°C

Humedad *: 0.037%

Densidad de vapor (relativa): 10.8 (aire= 1)

Presión de vapor: 0.4kPa (3mmHg) a 180°C

Estabilidad y condiciones de almacenamiento: Es un compuesto estable, no reactivo con el agua y no ocurre su polimerización peligrosa. El Dibutil sebacato deberá ser almacenado en un contenedor bien cerrado, en un lugar fresco y seco.

Incompatibilidad: es incompatible con fuertes agentes oxidantes.

Seguridad: Es usado en formulaciones cosméticas, alimenticias y formulaciones farmacéuticas orales y es considerado generalmente como material no irritante y no tóxico. Seguida de una administración oral, el dibutil sebacato es metabolizado de la misma manera que las grasas. En humanos, el contacto directo y prolongado con los ojos o contacto repetido con la piel, puede causar irritación muy moderada.

Estudios de toxicidad en animales con administración oral de dibutil sebacato, no han mostrado efectos adversos serios. DL₅₀(ratas): 16 g/kg

Este compuesto se encuentra incluido en: FDA Inactive Ingredients Guide(oral capsules and tablets).

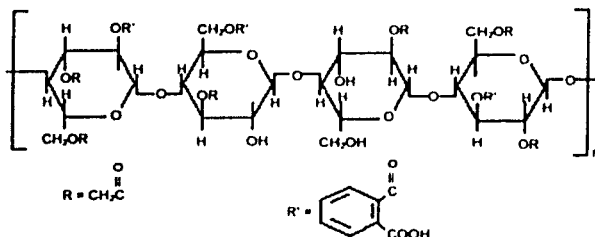
Comentarios: El dibutil sebacato es un ester emoliente, el grado de cuidado personal es recomendado para su uso en productos cosméticos, del cabello, lociones y cremas.

ACETATO FTALATO DE CELULOSA (CAP)⁶⁵

Nombre Químico: 1,2-bencenodicarboxilato.

El CAP es una celulosa en la cual acerca del la mitad de los grupos hidroxilo son acetilados y alrededor de un cuarto son esterificados con uno o dos grupos ácidos siendo de ácido ftálico. El otro grupo ácido es libre.

Fórmula Estructural:



Categoría Funcional: Agente de recubrimiento.

Aplicaciones Farmacéuticas: El CAP es usado como material de recubrimiento entérico, o como matriz para tabletas y cápsulas. Tal recubrimiento resiste al contacto prolongado con fluido gástrico fuertemente ácido, pero se ablanda e hincha en medio suavemente ácido o intestinal neutro.

Es comúnmente aplicado a cualquier forma de dosificación sólida, para recubrimiento de sistemas con solventes orgánicos y acuosos o para compresión directa. Concentraciones de 0.5-9% son usadas del peso de los núcleos. La adición de plastificantes mejora la resistencia de este material de recubrimiento, así, las películas plastificadas son más efectivas que cuando se utiliza el CAP solo. El CAP es compatible con los siguientes plastificantes: monoglicendo acetilado; butil ftalilbutil glicolato; dibutil tartrato; dietil ftalato; dimetil ftalato; etil ftaliletil glicolato; glicerina; propilen glicol; triacetina; citrato de triacetina y tripropionina. Este puede ser también usado en combinación con otros agentes de recubrimiento para controlar la liberación, como etilcelulosa.

Descripción: El acetato ftalato de celulosa es un polvo blanco, que fluye libremente, higroscópico, u hojuelas incoloras; es insípido, sin olor o puede tener un ligero aroma a ácido acético.

Propiedades típicas:

Higroscopicidad: CAP es higroscópico y es necesario tener precauciones para evitar la absorción excesiva de humedad.

Punto de fusión: 192° C. Temperatura de transición vítrea (Tg): 160-170° C.

Solubilidad: prácticamente insoluble en alcoholes; hidrocarburos clorados; hidrocarburos y agua; soluble en éteres cíclicos, ésteres, cetonas y ciertas mezclas de solventes. Es soluble también en ciertas soluciones acuosas de buffer de pH superior a 6.

Viscosidad (dinámica): 50-90 mPas (50-90 cP) para una solución en acetona al 15% (p/p) con un contenido de 0.4% de humedad. Esta es una buena solución para recubrimiento con una consistencia como de miel, pero la viscosidad está influenciada por la pureza del solvente.

Estabilidad y condiciones de almacenamiento: el CAP se hidroliza lentamente bajo condiciones adversas prolongadas, así como alta temperatura y humedad, que resulta en incremento en contenido de ácido libre, viscosidad y olor a ácido acético. Si el contenido de humedad es de alrededor del 6% (p/p), ocurre la hidrólisis moderadamente rápida. CAP es estable si se almacena en un recipiente bien cerrado y en un lugar fresco y seco.

Incompatibilidades: Es incompatible con sulfato ferroso, cloruro férrico, nitrato de plata, citrato de sodio, sulfato de aluminio, cloruro de calcio, cloruro de mercurio, nitrato de bario, acetato de plomo alcalino y agentes fuertemente oxidantes así como fuertes agentes ácidos o alcalinos. Puede notarse que un grupo ácido carboxílico del ácido ftálico permanece no esterificado y libre para las interacciones. De acuerdo a esto, puede haber incompatibilidad con fármacos sensibles a la acidez.

Seguridad: el CAP es ampliamente usado en productos farmacéuticos orales y es generalmente considerado como material no tóxico, libre de efectos adversos. De acuerdo a estudios de alimentación prolongada realizados en ratas y perros, se ha indicado baja toxicidad *via oral*.

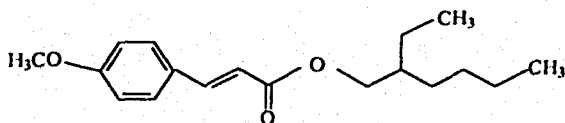
Precauciones de manipulación: Se observan precauciones adecuadas de acuerdo a las cantidades y circunstancias de manipulación. CAP puede ser irritante para los ojos, membranas mucosas y tracto respiratorio superior. Se recomienda la protección de los ojos y el uso de guantes cuando se manipula CAP, en un ambiente bien ventilado; un respirador es recomendado cuando se manipulan grandes cantidades.

OCTIL METOXICINAMATO 50,64. Escalol 557

Nombre químico: 3-(4-Metoxifenil) ácido 2-propenoico 2-etil hexil ester; 2-etilhexil p-metoxicinamato.

Fórmula empírica: C₁₈H₂₆O₃, *Peso molecular:* 290.4 g/mol

Fórmula estructural:



(Multiqim) Escalol 557

Descripción: Líquido amarillo pálido, olor suave característico.

Aplicaciones Cosméticas: Escalol 557 absorbe ampliamente en el rango UV-B y ha ganado aceptación mundial como excelente filtro solar para personas sensibles a otros activos. Este líquido incoloro y que no mancha es virtualmente inodoro a la vez que imparte suave emolencia a las emulsiones sin ser pegajoso ni aceitoso. Su insolubilidad en agua lo hace de elección natural para formulaciones de filtros solares resistentes al agua.

Propiedades típicas:

Gravedad específica (25° C) 1.005-1.013

Índice de refracción 1.5420-1.5480.

Índice de Acidez 1 máx.

Índice de Saponificación 189 min.

Pureza: 98.0% de pureza como mínimo

Solubilidad: soluble al 5% a 25° C en aceite de cacahuete, aceite mineral, alcohol etílico al 95%, alcohol etílico puro, polietilén glicol (PEG-8), aceite de castor, miristrato de isopropilo, ciclometicona. Insoluble en agua, glicerina, propilenglicol, sorbitol 70%, alcohol etílico 70%.

HLB requerido es 6-8.

Punto de ebullición a 1 mbar: 185-195°, a 0.1 mbar: 140-150°

Clasificación: Absorbente químico de radiación UV-B.

Categoría e Incompatibilidad: Escalol 557 es un filtro solar Categoría I UV-B que no mancha, con amplia aceptación y amplia compatibilidad con la mayoría de los ingredientes cosméticos;

Seguridad: Escalol 557 puede utilizarse con plena confianza ya que es no mutagénico en la prueba de Ames y presenta un excelente perfil de seguridad.

MIGLYOL® 840

Descripción:

Es un aceite neutro, diéster de propilenglicol de ácidos grasos vegetales saturados con cadenas de C₈ y C₁₀ de largo (propilenglicol dicaprilato/captrato). Posee propiedades emolientes particularmente buenas. Su baja viscosidad lo hace adecuado para uso en preparaciones inyectables por vía intramuscular, como aceite acarreador.

Propiedades:

Los aceites neutros Miglyol® son líquidos claros, virtualmente incoloros con sabor y olor neutral. Son muy puros debido a la selección de sus materias primas. Como resultado del proceso de manufactura, ellos contienen muy pocos microorganismos y están libres de aditivos, así como, antioxidantes, solventes y residuos catalíticos.

Tienen las siguientes ventajas comparados con aceites naturales:

- Alta estabilidad contra la oxidación (a excepción del Miglyol® 818 , que contiene 5% de ácido linoléico).
- Son líquidos a 0 °C.
- Poseen excelente habilidad para ser esparcidos en piel, así como buena absorción en la misma.
- No son irritantes al contacto con la piel, ni obstruyen la respiración cutánea.
- Tienen buenas propiedades promotoras, emolientes y suavizantes en piel.
- Poseen buenas características de solubilidad.

Solubilidad:

Los aceites neutros Miglyol® son solubles a 20 °C en: hexano, tolueno, dietil éter, acetato de etilo, acetona, isopropanol, etanol 96%.

Son miscibles en cierta proporción con hidrocarburos de parafina y aceites naturales.

Valores característicos para Miglyol® 840:

Índice de acidez (mg KOH/g) : máx. 0.1

Índice de yodo (g I₂/100g): máx. 0.5

Índice de saponificación (mg KOH/g): 320-340

Valor de peróxido (meq O/kg):	máx. 1
Índice de hidroxilo (mg KOH/g):	máx. 5
Agua (%):	máx. 0.1
Índice de refracción: n_D^{20} :	1.440-1.442
Densidad a 20 °C (g/cm ³):	0.91-0.92*
Viscosidad a 20 °C (mPa · s):	9-12*
Metales pesados (ppm):	máx. 10*
Materia insaponificable (%):	máx. 0.3

* No certificado, pero estadísticamente probable.

Aplicaciones Farmacéuticas:

Los aceites Miglyol[®] pueden ser utilizados en formulaciones orales (como tabletas, cápsulas de gelatina blanda, gotas, suspensiones, aerosoles); parenterales (inyección intramuscular); tópicos; etc.

Aplicaciones Cosméticas:

En formulaciones al cuidado de la piel, los aceites Miglyol[®] pueden ser incluidos en cremas, lociones, máscaras, aceites para masaje, así como para aceites de bebé. También pueden utilizarse en maquillajes o en cosméticos para limpieza; incluso en formulaciones de filtros solares y en perfumes.

Toxicidad:

El Miglyol[®] 840 es un aceite neutro no irritante al contacto con la piel (índice de irritación: 0); no produce reacciones alérgicas, no produce irritación en mucosas como córnea o iris. Su DL₅₀ es mayor a 5 g/kg de peso corporal.

En cuanto a toxicidad intramuscular o por inhalación, no presenta resultados de histopatológicos.

Los aceites Miglyol[®] son biodegradables, ellos muestran el mismo comportamiento que los productos grasos naturales de estructura como los triglicéridos.

Almacenaje y empaque:

Aceites Miglyol[®] son buenos solventes como otros aceites de ésteres con baja viscosidad. Algunos plásticos, especialmente aquellos que contienen plastificantes pueden llegar a ser quebradizos o

expandirse. El Polystyrol y el PVC no son adecuados para usarse en contenedores. Debe tenerse cuidado de sellar con material resistente y con fuerza.

Algunos de los materiales de empaque recomendados son: polietileno de baja presión (alta densidad), polipropileno, aluminio y vidrio.

Los aceites Miglyol[®] no son sensibles al calor, por lo que no es necesario enfriarlo si se tiene un clima caluroso. A muy bajas temperaturas (<-30°C) parte de los triglicéridos pueden cristalizar, mas esta apariencia es completamente reversible. Dichos aceites tienen un muy bajo contenido de agua, por lo que no son sensibles a ataques hidrolíticos y microbianos. Si se almacena en contenedores secos y perfectamente sellados, la vida media del Miglyol[®] 840 es al menos de 3 años.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kreuter J., et al.; Colloidal Drug Delivery Systems; Kreuter, Marcel Dekker, Inc.; N. York, USA (1994) 353 págs.
2. Quintanar-Guerrero, D.; et al.; •*Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers*•; Drug Dev. Ind. Pharm. 24 (1998) 1113-1117.
3. Rolland Alain; Pharmaceutical Particulate Carriers; Marcel Dekker, Inc.; New York, USA (1993) 431 págs.
4. Allémann, E., et al.; •*Drug loaded nanoparticles-preparation, methods and drug targeting issues*•; Eur. J. Pharm. Biopharm. Vol. 39 No. 5 (1993) 173-191.
5. Fessi H., et al.; •*Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement*•; Int. J. Pharm. 55 (1989) R1-R4.
6. Ammoury N., et al.; •*Jejunal absorption, pharmacological activity, and pharmacokinetic evaluation of indomethacin-loaded poly(D,L-lactide) and poly(isobutyl-cyanoacrylate) nanocapsules in rats*•; Pharm. Res. Vol. 8 No.1 (1991) 101-105.
7. Birrenbach, G., et al.; •*Polimerized micelles and their use as adjuvants in immunology*•; J. Pharm. Sci.; 65 (1976) 1763-1766.
8. Larson A. B., et al.; •*Attainment of highly uniform solid drug dispersions employing molecular scale drug entrapment in polymer lattices*•; J. Pharm. Sci. (1976) 838-842.
9. El-Samaly M. S., et al.; •*Reconstituted collagen nanoparticles, a novel drug carrier delivery system*•; J. Pharm. Pharmacol.; 35 (1983) 537-539.
10. Vauthier C., et al.; •*Development of new hydrophilic nanoparticles, made from alginate*•; Proc. Int. Symp. Contr. Rel. Bioact. Mater. 18 (1991) 357-368.
11. Yoshioka T., et al.; •*Specific delivery of mitomycin C to the liver, spleen, and lung: nano- and microspherical carriers of gelatin*•; Int. J. Pharm. 8 (1981) 131-134.
12. Al Khouri-Fallouh N., et al.; •*Development of a new process for the manufacture of polyisobutyrylcyanoacrylate nanocapsules*•; Int. J. Pharm. 28 (1986) 125-132.

13. El-Samaligy M., et al.; • Polyalkyl cyanoacrylate nanocapsules •; J. Pharm. Pharmacol. 38 (1986) 216-218.
14. Krause H., et al.; • *Interfacial polymerization, a useful method for the preparation of polymethylcyanoacrylate nanoparticles* •; Drug Dev. Ind. Pharm.; 12 (1986) 527-552.
15. Aprahamian M., et al.; • *Transmucosal passage of polyalkylcyanoacrylate nanocapsules as a new drug carrier in the small intestine* •; Biology of the Cell, 61 (1987) 69-75.
16. Damgé C., et al.; • *Polyalkylcyanoacrylate nanocapsules increase the intestinal absorption of a lipophilic drug* •; Int. J. Pharm. 36 (1987) 121-125.
17. Damgé C.; et al.; • *Nanocapsules as carriers for oral peptide delivery* •; J. Control. Rel.; 13 (1990) 233-239.
18. Gasco M., et al.; • *Doxorubicine englobed in polybutylcyanoacrylate nanocapsules: behaviour in vitro and in vivo* •; Pharm. Acta Helv.; 66 No. 2 (1991) 47-49.
19. Chouinard F., et al.; • *Preparation and purification of polyisohexylcyanoacrylate nanocapsules* •; Int. J. Pharm. 72 (1991) 211-217.
20. Losa C., et al.; • *Design of new formulations for topical ocular administration: polymeric nanocapsules containing metipranolol* •; Pharm. Res. Vol. 10; No. 1 (1993) 80-87.
21. Chouinard F., et al.; • *Poly(alkylcyanoacrylate) nanocapsules: physicochemical characterization and mechanism of formation* •; Pharm. Res. Vol. 11 No. 6 (1994) 869-874.
22. Philip J., et al.; • *Calcitonin and insulin in isobutylcyanoacrylate nanocapsules: protection against proteases and effect on intestinal absorption in rats* •; J. Pharm. Pharmacol.; 46 (1994) 547-552.
23. Puglisi G., et al.; • *Influence of the preparation conditions on poly(ethylcyanoacrylate) nanocapsule formation* •; Int. J. Pharm.; 125 (1995) 283-287.
24. Fresta M., et al.; • *Preparation and characterization of polyethyl-2-cyanoacrylate nanocapsules containing antiepileptic drugs* •; Biomaterials; 17 (1996) 751-758.
25. Valero I., et al.; • *Effect of polymerization coadjuvants on nanocapsule elaboration and triamcinolone entrapment* •; Drug Dev. Ind. Pharm.; Vol. 22 No. 2 (1996) 167-173.
26. Aboubakar M., et al.; • *Insulin-loaded nanocapsules for oral administration : in vitro and in vivo investigation* •; Drug Dev. Research; 49 (2000) 109-117.

27. Lambert G., et al.; • *Polyisobutylcyanoacrylate nanocapsules containing an aqueous core for the delivery of oligonucleotides* •; Int. J. Pharm.; 214 (2001) 13-16.
28. Watnasirichaikul S., et al.; • *Preparation of biodegradable insulin nanocapsules from biocompatible microemulsions* •; Pharm. Res.; Vol. 17 No. 6 (2000) 707-714.
29. Watnasirichaikul S., et al.; • *Nanocapsules in microemulsion for oral insulin delivery* •; Proceed. 28th Intern. Symp. Control Rel. Bioact. Mater., (2001) #6169 Controlled Release Society, Inc.
30. Morin C., et al.; • *Biodegradable nanocapsules containing a lipophilic immunomodulator: drug retention and tolerance towards macrophages in vitro* •; J. Drug Targeting; Vol. 1 (1993) 157-164.
31. Chasteigner S., et al.; • *Gastro-intestinal tolerance study of a freeze-dried oral dosage form of indomethacin - loaded nanocapsules* •; S. T. P. Pharma Sciences; Vol. 5 No. 3 (1995) 242-246.
32. Gurtierres S., et al.; • *Poly(D,L-lactide) nanocapsules containing diclofenac: I. Formulation and stability study* •; Int. J. Pharm.; 113 (1995) 57-63.
33. Santos N., et al.; • *An in vitro release kinetic examination and comparative evaluation between submicron emulsion and poly(lactic acid) nanocapsules of clofibrate* •; J. Microencapsulation; Vol. 12 No. 2 (1995) 195-205.
34. Fawaz F., et al.; • *Disposition and protective effect against irritation after intravenous and rectal administration of indomethacin loaded nanocapsules to rabbits* •; Int. J. Pharm., 133 (1996) 107-115.
35. Calvo P., et al., • *Comparative in vitro evaluation of several colloidal systems, nanoparticles, nanocapsules, and nanoemulsions, as ocular drug carriers* •; J. Pharm. Sci.; Vol. 85, No. 5; (1996) 530-536.
36. Calvo P., et al.; • *Polyester nanocapsules as new topical ocular delivery systems for Cyclosporin A* •; Pharmaceutical Research, Vol. 13 No. 2 (1996) 311-315.
37. Marchais H., et al.; • *Entrapment efficiency and initial release of phenylbutazone from nanocapsules prepared from different polyesters* •; Drug Dev. Ind. Pharm.; Vol. 24, No. 9 (1998) 883-888.

38. Ferranti V., et al.; • *Pyrimidone-loaded poly-ε-caprolactone nanocapsules : incorporation efficiency and in vitro release profiles* •; Int. J. Pharm.; 193 (1999) 107-111.
39. Santos-Magalhães N., et al.; • *Colloidal carriers for benzathine penicillin G : nanoemulsion and nanocapsules* •; Int. J. Pharm.; Vol. 208 No. 1 (2000) 71-80.
40. Alvarez-Román R., et al.; • *Biodegradable polymer nanocapsules containing a sunscreen agent: preparation and photoprotection* •; Proceed. 28th Intern. Symp. Controlled Rel. Bioact. Mater.; (2001) #5174 Controlled Release Society, Inc.
41. Quintanar-Guerrero D.; • *Étude de nouvelles techniques d'obtention de suspensions de nanoparticules à partir de polymères préformés* •; Tesis Doctoral N° 2950 Universidad de Ginebra, Suiza (1997a).
42. Schade A., et al.; • *Aqueous colloidal polymer dispersions of biodegradable DL-lactide/glycolide copolymer as basis for latex films : a new approach for the development of biodegradable depot systems* •; Int. J. Pharm.; 117 (1995) 209-217.
43. Fessi H., et al.; • *Procédé de préparation de systèmes colloïdaux dispersibles d'une substance, sous la forme de nanocapsules* •; Eur. Patent 274 961 (1987).
44. Quintanar-Guerrero D., et al.; • *Procédé de préparation de nanocapsules de type vasculaire, utilisables notamment comme vecteurs colloïdaux de principes actifs pharmaceutiques ou autres* •; French Patent Appl. 97 09 672 (1997b).
45. Lowman A. and Peppas N.; Hydrogels en Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Vol. 1; John Wiley & Sons, Inc.; New York, USA. (1999) pp. 397- 418.
46. Ammoury N., et al.; • *In vitro release kinetic pattern of indomethacin from poly(D,L-lactide) nanocapsules* •; J. Pharm. Sci.; Vol. 79 No. 9 (1990). 763-767.
47. Ammoury, N. et al.; • *Indomethacin loaded poly(D,L lactide) nanocapsules: drug release kinetics and kinetic model evaluation* •; Proceed. Intern. Symp. Control Rel. Bioact. Mater.; 16, (1989a); Controlled Release Society, Inc.
48. Ammoury, N. et al.; • *Physicochemical characterization of polymeric nanocapsules and in vitro release evaluation of indomethacin as a drug model* •; S. T. P. Pharma 5 (10) (1989b) 647-651.

49. Gupta, P. K., et al.; «*The release of doxorubicin from colloidal dosage forms using dynamic dialysis*» J. Pharm. Sci.; 76 (1987) 141-145.
50. Lowe J. M., et al.; Sunscreens, development evaluation and regulatory aspects; Second Edition; Marcel Dekker, Inc. New York, USA (1987) 792 págs.
51. Arrollo, R. G.; «Estudio de las propiedades fotoprotectoras-cosméticas del extracto de *Amphiterygium adstringes* (Cuachalalate)»; Tesis de Licenciatura, FESC-UNAM, (1994).
52. Hamilton-Attwell V., et al.; «*A new scanning electron microscope (SEM) method for the determination of particle size in parenteral fat emulsions*»; Journal of Microscopy; Vol. 145 ; Pt 3 ; (1987) 347-349.
53. Olvera M. B., et al.; «Optimización de la técnica de Emulsificación-Difusión para la preparación de nanocápsulas cargadas con un filtro solar (evaluación de su penetración percutánea)»; Revista Mexicana de las Ciencias Farmacéuticas; Vol. 32 No. Especial Congreso Nacional de las Ciencias Farmacéuticas; México (2001) Asociación Farmacéutica Mexicana; pág. 81.
54. Calvo P., et al.; «*Evaluation of cationic polymer-coated nanocapsules as ocular drug carriers*»; Int. J. Pharm.; 153 (1997) 41-50.
55. Calvo P., et al.; «*Effect of lysozyme on the stability of polyester nanocapsules and nanoparticles: stabilization approaches*»; Biomaterials; 18 (1997) 1305-1310.
56. Tasset Ch., et al.; «*Polyisobutylcyanoacrylate nanoparticles as a sustained release system for calcitonin*»; J. Contr. Rel.; 33(1995) 23-30.
57. Robinson J. R., et al.; Controlled Drug Delivery; Second Edition; Marcel Dekker, Inc.; New York; USA (1987) 716 págs.
58. Buri P., et al.; Formes Pharmaceutiques Nouvelles; Tec. & Doc, Lavoisier, Paris (1985) 687 págs.
59. Martin A., et al.; Physical Pharmacy; Lea & Febiger; Philadelphia, USA (1983) 664 págs.
60. Narasimhan B., et al.; Release Kinetics, Data Interpretation en Encyclopedia of Controlled Drug Delivery, Vol. 2; John Wiley & Sons., Inc.; New York, USA (1999) pp. 921-935.
61. Cole G., Hogan J. and Aulton M.; Pharmaceutical Coating Technology; Taylor & Francis; Great Britain (1995) Cap. 1 ; pp. 6-50.

62. Masaro L., and Zhu X.; • *Physical models of diffusion for solutions, gels and solids* •; Prog. Polym. Sci. 24 (1999) 731-775.
63. Marmion M. D.; Handbook of U.S. colorants, foods, drugs, cosmetics and medical devices. Third edition; John Wiley & Sons, Inc. USA (1991) 573 págs.
64. The Index Merck. Twelfth Edition; Merck & Co., Inc.; USA (1996).
65. Wade A. and Weller P. J.; Handbook of Pharmaceutical Excipients; Second Edition; American Pharmaceutical Association and The Pharmaceutical Press; Great Britain (1994) 651 págs.