



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**TÉSIS: MICROCÁPSULAS: COMPONENTES, FABRICACIÓN,
CARACTERIZACIÓN Y APLICACIONES**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA

ARTURO TOSCUENTO FLORES



MÉXICO, D.F.

2015



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: María del Socorro Alpizar Ramos**

VOCAL: **Profesor: Alma Miriam Novelo Torres**

SECRETARIO: **Profesor: Viridiana Gisela Llera Rojas**

1er. SUPLENTE: **Profesor: Ernestina Hernández García**

2° SUPLENTE: **Profesor: Ma. Guadalupe Lemus Barajas**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: SISTEMA BIBLIOHERMEROGRÁFICO
DE LA UNAM**

ASESOR DEL TEMA: VIRIDIANA GISELA LLERA ROJAS

SUSTENTANTE: ARTURO TOSCUENTO FLORES

INDICE

1.- JUSTIFICACION.....	4
2.- OBJETIVOS.....	6
2.1.- OBJETIVO GENERAL.....	6
2.2.- OBJETIVOS PARTICULARES.....	6
3.-INTRODUCCION	7
4. METODOLOGÍA	11
5.- MÉTODOS DE FABRICACIÓN	12
5.1 Complejos de Coacervación	12
5.2 Evaporación de disolvente	18
5.3 Extrusión.....	22
5.4 Polimerización interfacial	26
5.5 Spray-dried	31
5.6 Microfluidos.....	38
5.7 Capa sobre capa (Layer by layer).....	43
6. METODOS DE RECUPERACION / PURIFICACION	50
6.1 Centrifugación.....	51
6.2 Filtración.....	52
6.3 Liofilización	53
7 CARACTERIZACION	55
7.1 Talla de partícula.....	55
7.1.1 Microscopía.....	57
7.2 Eficiencia de encapsulación.....	62
7.3 Pruebas in vitro	65
7.3.1 Liberación.....	65
7.3.2 Permeación.....	69
7.4 Evaluación in vivo.....	70
8.- PRODUCTOS FARMACÉUTICOS FORMULADOS COMO MICROCÁPSULAS.....	71
9.- PERSPECTIVAS	73

10.- CONCLUSIONES.....	76
11. – BIBLIOGRAFÍA.....	77



1.- JUSTIFICACION

La microencapsulación es una técnica innovadora que consiste en la formación de un recubrimiento polimérico, natural o sintético, alrededor de un núcleo. Es considerada como una tecnología capaz de impactar en el mercado, potencializando al producto con tecnología eficaz y eficiente además haciendo al producto más atractivo para el consumidor.

Existen varios motivos para microencapsular fármacos por ejemplo, la protección contra factores ambientales tales como pH, luz, oxígeno, el control de la velocidad de liberación que resulta importante para fármacos de ventana terapéutica estrecha y en general para fármacos que requieren de una liberación retardada y/o prolongada.

Otra ventaja de las microcápsulas es su capacidad de mejorar la absorción de principios activos administrados por vía oral y transdérmica, al mismo tiempo son capaces de disminuir algunos efectos adversos, por ejemplo la irritación. De la misma forma este tipo de tecnología es aplicada para incorporar más de un activo en la misma formulación; para activos incompatibles o con diferentes perfiles de liberación, de esta forma se protege la integridad de ambos activos que pueden ser administrados conjuntamente, en una sola dosis y con una menor frecuencia.

Las microcápsulas también poseen ventajas organolépticas pues son capaces de enmascarar olores, sabores e inclusive proporcionan una imagen atractiva para el consumidor. De igual modo, este sistema acarreador de fármacos ofrece la



ventaja de poder presentar compuestos líquidos en forma sólida, por ejemplo, los aceites esenciales líquidos pueden encapsularse facilitando su manipulación y protegiéndolos de las condiciones ambientales.

Un ejemplo en el ámbito alimenticio lo constituye el artículo de Rocha-Selmi, Glaucia A. et. al, en el que se describe la preparación de microcápsulas por el método de coacervación con gelatina y goma arábiga para incorporar licopeno, un carotenoide que le da color a los alimentos y está asociado con la disminución de riesgo contra enfermedades cardiovasculares y cáncer, el proceso se llevó a cabo porque el licopeno es muy susceptible a la oxidación e isomerización. Los investigadores reportaron buenos resultados, pues lograron incorporar el licopeno a pasteles que tuvieron una buena coloración y se conservó el activo **(Rocha-Selmi, Glaucia A.; Favaro-Trindade, Carmen S.; F. Grosso, Carlos R., 2013)**.

De esta manera, también se han encapsulado células vivas con diversas funciones, por ejemplo, el tratamiento de cáncer y diabetes. De forma similar se ha llevado a cabo la encapsulación de células microbianas para el tratamiento de infecciones e inclusive se han encapsulado algunos prebióticos incluidos en productos farmacéuticos y nutracéticos.

Así, el propósito de esta revisión es constituir una guía útil para el diseño, fabricación y caracterización de microcápsulas, pues actualmente no se cuenta con un documento similar en el idioma castellano, que sirva de apoyo a aquellas personas interesadas en la formulación, fabricación y caracterización de este tipo de sistemas.



2.- OBJETIVOS

2.1.- OBJETIVO GENERAL

- Describir la utilidad de las microcápsulas como sistema acarreador de fármacos y describir las técnicas más empleadas para su fabricación y caracterización.

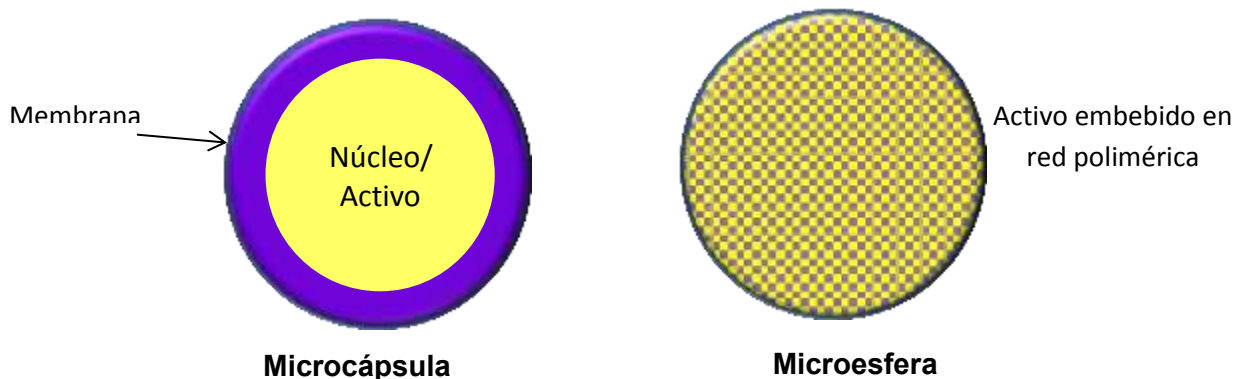
2.2.- OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir y ejemplificar las técnicas más utilizadas para la fabricación de microcápsulas poliméricas como acarreadores de moléculas activas.
- Determinar las ventajas y desventajas de cada técnica.
- Proponer una clasificación de las técnicas presentadas basada en su fundamento.
- Describir las pruebas más utilizadas para la caracterización de las microcápsulas poliméricas.
- Enlistar los productos que han sido formulados como microcápsulas.

3.-INTRODUCCION

Las microcápsulas según la farmacopea francesa, son partículas sólidas capaces de contener una sustancia sólida, líquida o una pasta (Alves F. Suzana, et. al., 2014). FDA define a la microencapsulación como un proceso por el cual gotas pequeñas de materiales discretos, sólidos, líquidos o gases son completamente envueltos con una membrana intacta (L. Rogers, T. & Wallick D., 2012).

Fig. 2. Modelo general de microcápsula y microesfera



A principios de los 30's, Bungener de Jong y colaboradores prepararon las primeras microcápsulas mediante la técnica de coacervación; unas décadas después, alrededor de 1956 saldría la primera aplicación de microencapsulación, donde Green y Schleicher de la National Cash Register Company, divulgaron el concepto de microencapsulación para la manufactura de tintas sin carbón. A partir de entonces fueron varias las patentes desarrolladas para la microencapsulación de principios activos, principalmente en la industria farmacéutica (L. Rogers, T. & Wallick D., 2012; Swarbrick James & C. Boylan James (eds.), 2002).



Generalmente, las micropartículas pueden ser clasificadas en dos grupos: las microesferas, que son sistemas matriciales en los que el activo está embebido entre la red del polímero, formando una esfera del orden de micrómetros y las microcápsulas, que están constituidas por un núcleo en donde el activo se encuentra protegido por una pared membranal constituida por un polímero (Fig. 2); el tamaño de este tipo de partículas es del orden de $1\mu\text{m}$ a $1000\mu\text{m}$ de diámetro.

En cuanto a su morfología, existen varias formas de microcápsulas: esféricas, irregulares, multicapa y multinucleadas. En cuanto a las características superficiales pueden ser lisas, rugosas, con poros y esto depende principalmente del tipo de material de recubrimiento, concentración, técnica y condiciones de fabricación e inclusive de la naturaleza del material encapsulado.

En cuanto a su dosificación, existen tres formas en las que las microcápsulas pueden ser suministradas:

- En forma de suspensión, donde las microcápsulas representan el 40% del producto y el resto son excipientes que ayudan a preservarlas.
- Como una masa húmeda que proviene de una suspensión de microcápsulas filtradas, compuesta de hasta un 70% de microcápsulas
- Como polvo seco, que consta de microcápsulas secas (generalmente liofilizadas) con hasta un 5% de residuos provenientes del medio de fabricación (Meyer, R. Rosen (ed), 2005).



Las microcápsulas poseen varias ventajas, por ejemplo: la liberación controlada, la vectorización o “targeting”, la facilidad con la que pueden ser administradas por diversas vías, su capacidad de enmascarar olores y sabores, la facilidad con la que protegen al activo del ambiente externo, su capacidad de facilitar la manipulación de líquidos volátiles y/o sensibles, en forma de partículas sólidas. Finalmente, pueden ser dosificadas como polvos, suspensiones, o incluso formar parte de tabletas o cápsulas.

Considerando lo anterior, podemos afirmar que actualmente las microcápsulas juegan un papel cada vez más importante en el desarrollo e innovación de aplicaciones farmacéuticas y biotecnológicas.

Los métodos y los excipientes disponibles para la fabricación de microcápsulas son muy diversos, cada uno de ellos tiene características especiales. Su selección radica en las propiedades del compuesto que se desea encapsular, ya que de ello dependen la eficiencia de encapsulación y la viabilidad del producto final. De la misma forma, varios son los polímeros que se usan para formar la pared de la microcápsula, estos se pueden usar combinados o individualmente. Así mismo los polímeros pueden dividirse en naturales y sintéticos. La elección del tipo de polímero se realiza de acuerdo al método de fabricación ya que los procesos se basan generalmente en las propiedades fisicoquímicas de los polímeros en cuestión.



Entre los métodos más empleados para la fabricación de microcápsulas se encuentran la coacervación, el ensamblaje capa por capa y evaporación de disolvente.

Para finalizar es importante mencionar que se han desarrollado microcápsulas que emplean proteínas y lípidos (liposomas) como materiales de membrana, aunque en esta revisión nos centraremos en polímeros sintéticos y naturales derivados de azúcares y aminoácidos. Entre los polímeros más utilizados se encuentran el PLGA (ácido poli láctico co-glicólico), quitosan, gelatina, alginato, celulosas, y diversas gomas, por ejemplo, la arábica.

4. METODOLOGÍA

Fig. 1. Metodología: Se muestran los criterios de selección de la información, clasificación y metodología seguida para el diseño de los diagramas de flujo y tablas presentadas.





5.- MÉTODOS DE FABRICACIÓN

5.1 Complejos de Coacervación

La microencapsulación fue desarrollada tempranamente en 1929 por Bungener, Jong y Kruyt, quienes prepararon esferas de gelatina por coacervación (**Butstraen, C. & Salaün, F., 2014**). Sin embargo la técnica fue formalmente introducida en los años 50's, por Barrett Green y Lowell Schleicher de la corporación NCR (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**). La palabra coacervación proviene del latín *acervus* que significa agregación y el prefijo *co* que significa unión (**L. Wise Donald (ed), 2000**). La técnica (Fig. 3), está basada en la unión entre polímeros de cargas opuestas como la gelatina y la goma arábiga.

El proceso consta de:

1. La disolución o dispersión del activo en una disolución acuosa de gelatina (la cual posee una carga positiva).
2. La adición de un poli-anión como la goma arábiga.
3. La emulsificación de las fases y la formación del complejo coacervado.

El proceso es dependiente del pH del medio, ya que al mezclar los dos polímeros, estos deben estar a un pH diferente de su punto isoeléctrico, de forma que un polímero sea positivo y otro negativo (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**). También se ve afectado por la fuerza iónica del medio y la proporción de los polímeros. Finalmente, las microcápsulas preparadas son estabilizadas mediante compuestos entrecruzantes; por desolvatación (adición de disolventes en los que



los polímeros sean insolubles); o mediante tratamiento térmico, por ejemplo congelación (**N. V. N. Jyothi et al., 2010**). Para incrementar las propiedades termo-mecánicas de las microcápsulas, los polímeros necesitan ser sometidos a una reacción de polimerización, también conocida como “cross-linked” o entrecruzamiento, para ello se pueden adicionar compuestos como el glutaraldehído, formaldehído, glyoxal, diisocianato y epiclorohidrina, aunque debido a su toxicidad han caído en desuso y se han comenzado a buscar sustitutos, por ejemplo, recientemente se han realizado estudios con trifosfato de sodio, obteniéndose resultados que indican que puede ser empleado como agente entrecruzantes (**Butstraen, C. & Salaün, F., 2014**).

Generalmente, en este método se usan polianiones naturales o sintéticos. El polication común es la gelatina aunque se ha experimentado con otros compuestos como quitosan y otras gomas naturales (**Butstraen, C. & Salaün, F., 2014**). Butstraen y F. Salaün, experimentaron con quitosan y goma arábica para formar microcápsulas mediante esta técnica, encontraron que a pH de 2.2 la goma arábica se encuentra cargada negativamente, mientras que la máxima carga del quitosan se encuentra en un intervalo de pH de 2.8 a 4, así un pH de 3.6 es conveniente para obtener microcápsulas de características adecuadas, independientemente de la concentración de los polímeros.

A pesar de que las uniones entre los compuestos de carga opuesta son muy débiles y susceptibles a la cizalla, se ha encontrado que el método de coacervación protege exitosamente al principio activo de agente externos, no es



susceptible a la acción de tensoactivos y además se ha demostrado que la resistencia a la ruptura de la capa exterior de las microcápsulas puede ser ajustada con la aplicación de agitación durante el proceso de fabricación (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**).

T. Koupantsis y colaboradores recientemente han probado preparar coacervados utilizando proteínas unidas a un polisacárido, obteniendo buenos resultados al encapsular β -pineno como agente saborizante. Este es un compuesto insoluble en agua por lo que funge como la fase oleosa de la emulsión, el complejo de coacervación que encapsula a la fase oleosa se forma a partir de proteínas de caseinato de sodio y proteína aislada de suero con carboximetil celulosa (CMC), la investigación fue desarrollada en forma de dos experimentos, uno con cada una de las proteínas mencionadas. El caseinato de sodio es altamente hidrofóbico y es considerado el responsable de la rápida adsorción en la interface aceite en agua durante la emulsificación, además evita la coalescencia y floculación de las gotitas de aceite del β -pineno. Mientras que la proteína de suero posee un dominio globular capaz de interactuar con compuestos de aroma. De forma general, los investigadores encontraron que las interacciones electrostáticas, los puentes de hidrogeno y las interacciones hidrofóbicas juegan una función importante en la coacervación entre la proteína y el polisacárido. Los investigadores eligieron la CMC porque es un polisacárido aniónico (**T. Koupantsis; E. Pavlidou; A. Paraskevopoulou, 2014**).



Al igual que otros autores ellos encontraron que tanto la concentración en la que se encuentran los polímeros y el aceite, afectan el proceso en términos de eficiencia de encapsulación y porosidad de la microcápsula. En este trabajo los investigadores no utilizaron un agente entrecruzador, sin embargo proponen que podrían mejorar la eficiencia de encapsulación de estos coacervados utilizando alguno (**T. Koupantsis; E. Pavlidou; A. Paraskevopoulou, 2014**).

Utilizando la técnica de coacervación, el grupo de Jun-Xia Xiao y colaboradores han logrado encapsular capsantina, un colorante usado en la industria de alimentos con el fin de brindarle estabilidad a la molécula. Como polímeros emplearon proteína de soya y quitosan a pH 6.5 para iniciar el proceso de coacervación, posteriormente adicionaron transglutaminasa como agente entrecruzante para endurecer la pared de las microcápsulas. En este caso, el quitosan tiene cargas positivas en solución ácida mientras que la proteína de soya es anfótera y con cargas negativas en solución arriba de su punto isoeléctrico. Este grupo de investigación obtuvo buenos resultados con la microencapsulación de este compuesto, mejorando su estabilidad (**Jun-Xia Xiao, et al., 2014**).

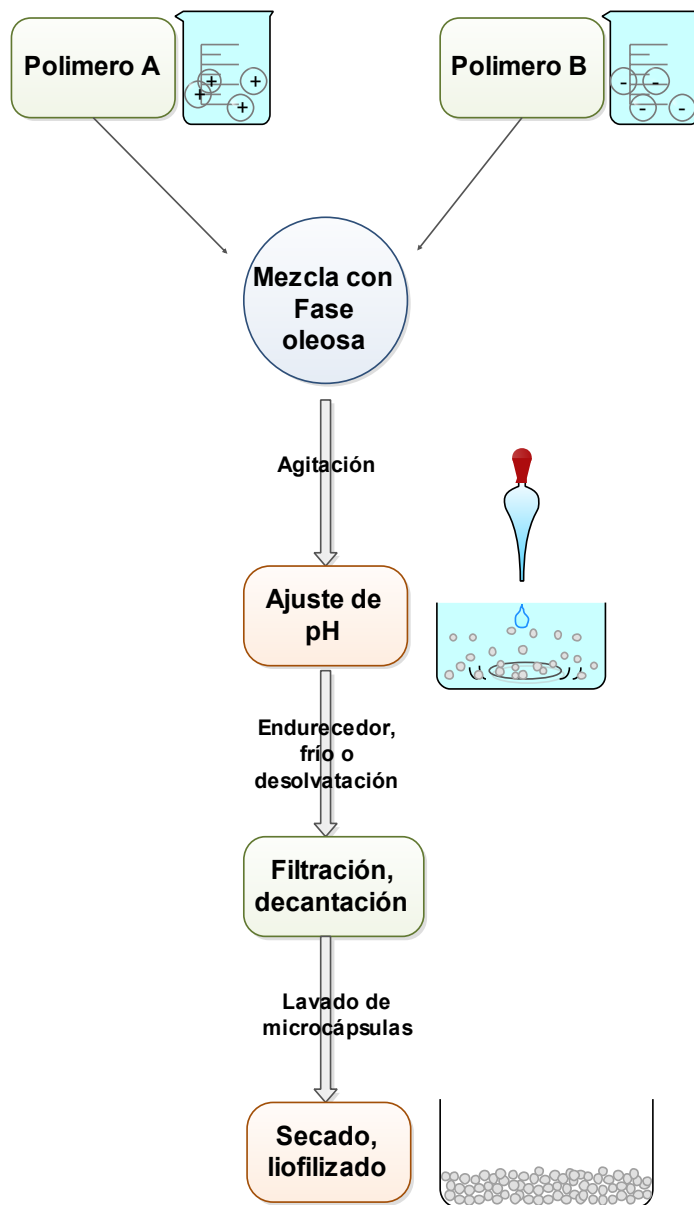


Tabla 1.

Ventajas y desventajas de fabricación de microcápsulas por complejo de coacervación.

VENTAJAS	DESVENTAJAS
Protección contra el medio.	Aglomeración de las microcápsulas.
Alta eficiencia de encapsulación (99%).	Alto costo del proceso de purificación.
Técnica simple y de bajo costo.	Difícil escalamiento.
Control eficiente del tamaño de partícula.	Pérdida de la funcionalidad durante la purificación.

Fig. 3. Obtención de microcápsulas mediante la técnica de coacervación.





5.2 Evaporación de disolvente

Este método consiste en una co-disolución o co-dispersión del polímero junto con el principio activo en un disolvente orgánico volátil, generalmente cloruro de metileno ya que este tiene un punto de ebullición bajo y es inmisible en agua, aunque también son usados el acetato de etilo y el cloroformo entre otros disolventes. El cloruro de metileno es el disolvente más usado ya que incrementa la eficiencia de encapsulación y produce microcápsulas esféricas en comparación que con otros disolventes como el etil acetato, el cual produce esferas de forma irregular o parcialmente colapsadas (**M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis, 2008**). La dispersión del polímero junto con el activo en el disolvente orgánico son emulsificados en agua y posteriormente, el disolvente se evapora para obtener partículas secas y sólidas (Fig. 5) (**M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis, 2008**).

Esta técnica tiene la peculiaridad de producir micro-esferas monolíticas en las cuales el activo se encuentra suspendido en el polímero, dando una cinética de liberación de primer orden (**Renade, V. Vasant & Cannon, B. Jhon, 1991**). Los polímeros más utilizados en esta técnica son los poliésteres alifáticos como el ácido láctico-glicólico, etilcelulosa y el polimetil metacrilato. Esta técnica es viable tanto para activos solubles en agua como insolubles en ella por lo que es necesario elegir el tipo de emulsión, ya sea aceite en agua (O/W) para activos pobremente solubles o insolubles en agua y la formación de emulsiones múltiples,



(W/O/W) para fármacos altamente solubles en agua, que resultan insolubles en la fase orgánica **(M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis, 2008)**.

Son varios los puntos críticos a controlar durante el proceso de microencapsulación entre los que se encuentran: la velocidad de agitación, la concentración de los polímeros y el volumen del disolvente, ya que de esto depende principalmente la variación del tamaño de partículas, el grosor de la pared de recubrimiento y la cantidad de activo cargado en la cápsula; por ejemplo, al aumentar la concentración del polímero aumenta la viscosidad del sistema, llevando a un incremento exponencial del tamaño de partícula y mejorando la eficacia de encapsulación. De la misma forma, aumentando la velocidad de agitación se disminuye el tamaño de partícula **(M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis, 2008)**.

Con la finalidad de facilitar la liberación del activo se ha optado por incrementar la velocidad de degradación del polímero a través de la formación de poros sobre la pared de la microcápsula (Fig. 4), esto se logra incorporando un disolvente en el cual el polímero no es soluble, por ejemplo el hexano, que no logra disolver al ácido poliláctico ni al ácido poliláctico-glicólico **(M. Li et al., 2008)**.

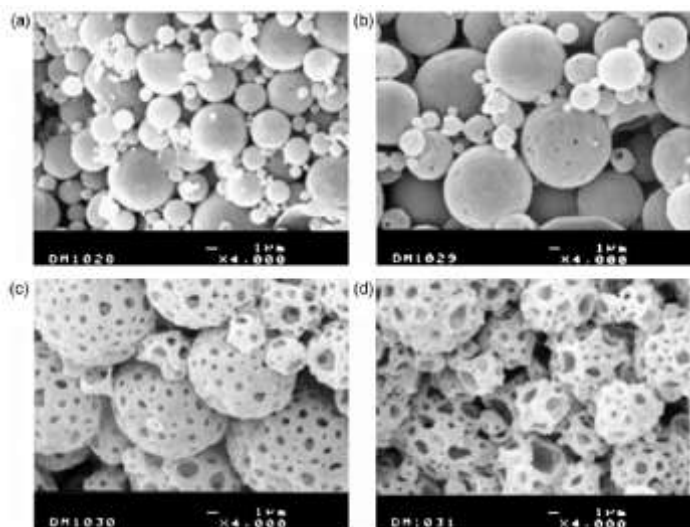


Fig. 4. *Microscopía electrónica de microcápsulas fabricadas mediante la técnica de evaporación de disolvente. Se pueden observar microcápsulas porosas, imágenes c y d.*

Tomada de (Witschi and Doelker, 1998); aparece en (2008, M. Li et al.).

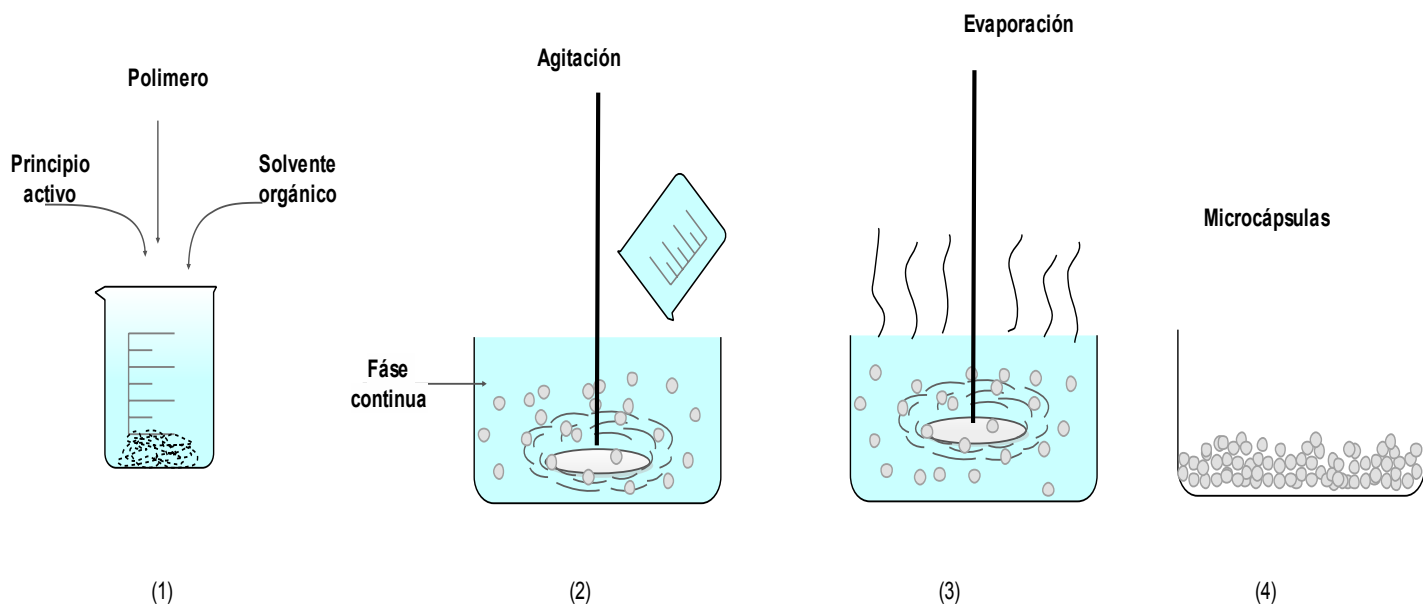
La velocidad y temperatura a la que es evaporado el disolvente también influye en la calidad de las microcápsulas, principalmente en su forma. Se ha determinado que cuando el proceso de evaporación se lleva a cabo con un método que emplea presión reducida, el disolvente se evapora más rápido sin necesidad de utilizar temperaturas altas y proporcionando partículas con una superficie más lisa, contrariamente si el proceso es llevado a cabo a presión atmosférica, con temperaturas más elevadas y tiempos de evaporación prolongados se obtienen partículas con una superficie rugosa y porosa (**M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis, 2008**).

Después de la evaporación del disolvente las microcápsulas son recuperadas mediante filtración, centrifugación o liofilización (**L. Wise Donald (ed), 2000**).



Tabla 2.
Ventajas y desventajas de microencapsulación mediante la técnica de evaporación de disolvente.

Ventajas	Desventajas
Técnica de bajo costo.	Escalamiento complejo.





5.3 Extrusión

La técnica consiste en hacer pasar mediante una jeringa con aguja o un dispositivo similar, una mezcla del polímero y el activo, produciendo así gotas pequeñas que caen por efecto de la gravedad, ultrasonido, campo eléctrico, etc., en un baño en el que mediante reacciones químicas (gelificación) o tratamiento térmico, endurezcan (Fig. 6). La técnica da como resultado microcápsulas en donde el activo ocupa el centro de la capsula rodeado por el polímero (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**); **Zvonar, A.; Bolko, K.; Gašperlin, M., 2012**). Entre Los materiales de recubrimiento más usados se encuentran la celulosa, alginato, almidón e inclusive poliacrilatos y poliacrilamida (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**).

El tamaño de gotas y sus subsecuentes partículas gelificadas, dependen del diámetro de la aguja, la velocidad de flujo, la viscosidad de la solución, la altura entre la aguja y el baño de gelificación, la concentración del polímero y la temperatura. Varias tecnologías se han ideado para decrecer el tamaño típico de las microcápsulas creadas por este método (500 μm -100 μm), mejorando el rendimiento y la homogeneidad. Algunas de estas, son vendidas comercialmente, las más importantes son las de flujo de aire laminar (airJet[®]), potencial electrostático, boquilla vibratoria y Jetcutter[®] (Fig. 4) (**Brun-Graepi, A.K.A.S. et al., 2011**).

La generación de gotas por aire de flujo coaxial y la técnica de electrostática están basadas en la formación de gotitas simples en la punta de una boquilla por la adición de un flujo de aire a través de una boquilla concéntrica externa o por un



campo eléctrico. La generación de gotitas por Jet cutter[®] está basado en el corte mecánico de un líquido por rotación de alambres de corte (**Brun-Graeppi, A.K.A.S. et al., 2011**).

Esta misma técnica fue utilizada para encapsular células microbianas de probióticos, empleando alginato como material de recubrimiento; para ello se preparó una disolución hidrocoloide de alginato, en la que posteriormente fueron adicionadas las células, esta suspensión de células fue entonces extruida mediante una jeringa con aguja, formando gotas que posteriormente se endurecieron en una solución conteniendo iones de calcio (**Solanki K. Himanshu, et al., 2013**).

Keng-Shiang Huang y colaboradores utilizaron una de estas técnicas para producir microcápsulas de alginato mediante energía electrostática, estas fueron cargadas con insulina y se realizaron diversas pruebas para determinar parámetros esenciales que modifican la estructura, tamaño y forma de la esfera; por ejemplo, la concentración de agente gelificante, la velocidad de flujo, la distancia entre la aguja y el objeto receptor de las microcápsulas, así como la viscosidad de la solución de alginato. La técnica básicamente consiste en un dispositivo formado por una bomba, por la cual se hace pasar la solución de alginato con el activo; además en esta investigación se cargaron nanopartículas superparamagnéticas de óxido de hierro para liberación controlada; en este caso la disolución es bombeada a través de una jeringa, en la que la aguja está conectada a un electrodo de alto voltaje; adicionalmente, hay otro electrodo conectado al objeto



receptor de las esferas, el campo eléctrico que pasa a través de este sistema funciona forzando a las partículas a caer por repulsión electrostática, teniendo un flujo constante de microcápsulas de tamaño uniforme que caen en el receptor en donde se endurecen con el agente gelificante (Fig. 6,a). El agente gelificante son sales de iones divalentes como el cloruro de calcio, aunque en el estudio probaron otras sales: cobre, hierro y bario. La técnica proporcionó buenos resultados que fueron comprobados mediante estudios de microscopia y estudios de liberación *in vitro* (Keng-Shiang Huang y et al., 2011).

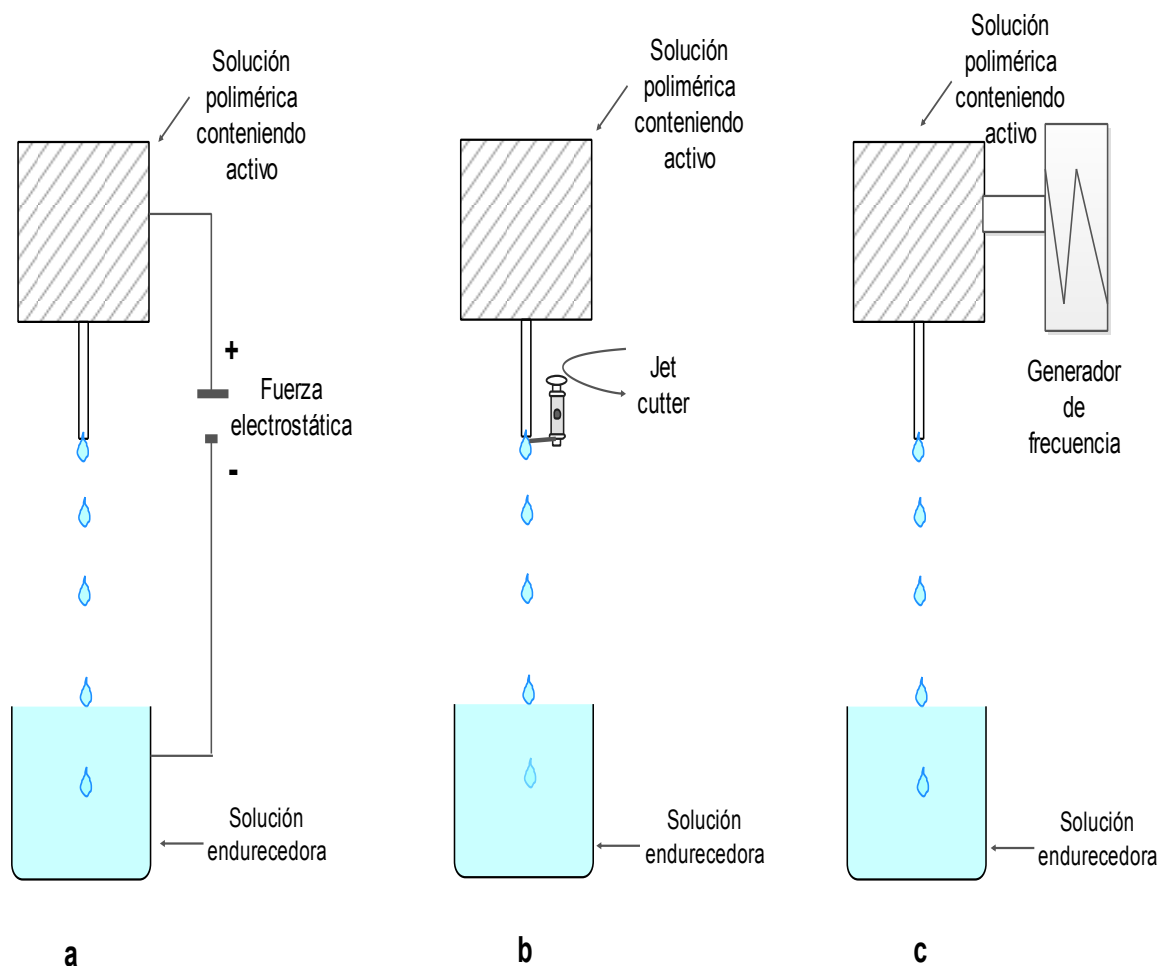
Zvonar y colaboradores encapsularon furosemida usando una tecnología denominada vibración de boquilla, empleando alginato de calcio/pectina, como polímero de pared y usando una base de sistemas de autoemulsificación, que consisten de triglicéridos y tensoactivos, encontrando que la mejor proporción fue la de 25/75 (calcio/pectina); así mismo, adicionaron lactosa al 10% para facilitar la formación de la pared polimérica, elemento que incrementó la eficiencia de encapsulación (Zvonar, A.; Bolko, K.; Gašperlin, M., 2012).

Tabla 3	
<i>Ventajas y desventajas de la técnica de extrusión.</i>	
Ventajas	Desventajas
Sencilla y económica.	Tamaño de distribución grande.
No emplea disolventes tóxicos.	Elección limitada de materiales de recubrimiento.
Existen varias tecnologías derivadas.	Escalamiento complejo.



Fig. 6. (a) Formación de microcápsulas por fuerza electrostática, (b) formación de microcápsulas por jet cutter, (c) Formación de microcápsulas por frecuencia vibracional. Sistemas descritos para la encapsulación de células, no obstante, es aplicable a activos farmacológicos.

(2013, S. Rathore et al.)





5.4 Polimerización interfacial

Este es un proceso que ha sido ampliamente usado para encapsular una variedad de activos, algunas de sus características son: el buen control de tamaño de partícula y paredes poliméricas semipermeables. Este método de microencapsulación se realiza utilizando dos monómeros, uno soluble en agua y el otro insoluble en ella, cuando se mezclan reaccionan formando una membrana polimérica alrededor del núcleo (Fig. 7). Los polímeros más utilizados en esta técnica son poliamidas, poliésteres y poliuretanos.

Se pueden incorporar activos tanto solubles en agua como insolubles y de ello depende la técnica a seguir, ya que si se cargan las esferas con un activo soluble en agua, este se disuelve o dispersa en la fase acuosa junto con el monómero soluble en agua y finalmente, se adiciona la fase orgánica con un emulsificante no hidrosoluble (monómero hidrofóbico) para formar la emulsión, las esferas así obtenidas pueden separarse de la solución acuosa. En cambio, si se trata de un fármaco insoluble en agua, este se dispersa en la solución orgánica junto con el polímero insoluble en agua y posteriormente, se adiciona la fase acuosa con el monómero hidrosoluble disuelto en esta fase. Existen varios disolventes orgánicos que se pueden utilizar en esta técnica, aunque muchos de ellos son tóxicos, por ejemplo cloroformo, tetracloruro de carbono y ciclohexano, que son frecuentemente utilizados; incluso los restos de monómeros que no polimerizan resultan tóxicos. Esto le resta eficiencia al proceso y es una desventaja importante de la técnica (Tabla 4) **(L. Wise Donald (ed)., 2000)**.



Mazo P. y colaboradores realizaron pruebas para encapsular perfume en microcápsulas mediante la técnica de polimerización interfacial con poliúrea, este es un polímero que se usa en recubrimiento y se forma a partir de la condensación o reacción entre poliisocianatos y las poliaminas. En este trabajo se probaron dos tipos de poliisocianatos, el toluen diisocianato y hexameten diisocianato, obteniendo microcápsulas similares con ambos polímeros **(Mazo, P.; A Rios, Luis; Restrepo, Gloria, 2011)**.

El proceso para la fabricación de las microcápsulas es el siguiente: primero se adiciona el perfume a la mezcla del diisocianato con un emulsificante y agitación a 500 rpm por 3 minutos. La mezcla anteriormente obtenida se adiciona a una disolución del coloide protector (alcohol polivinílico) a temperatura ambiente y con agitación a 800 rpm. Finalmente, se lleva a cabo la polimerización interfacial mediante la adición de una amina a la mezcla de reacción, el seguimiento de la reacción se realiza midiendo el pH y se suspende cuando este se permanece constante. **(Mazo, P.; A Rios, Luis; Restrepo, Gloria, 2011)**.

Azizi, Nedra, et al, encapsularon eficientemente una fragancia mediante la técnica de polimerización interfacial utilizando poliuretano para impregnar textiles, los resultados obtenidos demostraron que la fragancia encapsulada se mantuvo después de varios ciclos de lavado en la prenda **(N. Azizi, et al., 2014)**. En este caso, el proceso de microencapsulación consistió en dos pasos básicos, en el primero la fase orgánica compuesta por el perfume y el monómero hidrofóbico (4-4' metilen bis fenil isocianato) disueltos en ciclohexano fueron emulsificados en



agua a temperatura ambiente, posteriormente se adicionó polisorbato 80 como agente emulsificante para propiciar la formación de una emulsión de tipo aceite en agua. El segundo paso comenzó con la adición de una solución acuosa conteniendo el segundo monómero hidrofílico (isosorbide) en una cantidad estequiométrica con respecto al primer monómero, mientras que la temperatura fue aumentada a 60°C **(N. Azizi, et al., 2014)**.

Cruise et, al. Lograron encapsular islotes de Langerhans porcinos y humanos a través de un proceso de polimerización interfacial, utilizando una mezcla de PEG-diacrilato, la pared de las microesferas obtenidas tenía un grosor de 35-75µm, lo que proporciona estabilidad mecánica, ya que a mayor grosor de la pared polimérica mayor estabilidad; además se obtuvieron buenos resultados al realizar pruebas implantándolas subcutáneamente **(Calafiore, R. & Basta, G., 2013)**.

En el proceso, un fotoiniciador (eosina Y) es adsorbido en la superficie del islote de forma no específica, posteriormente, los islotes son colocados en una disolución de PEG-diacrilato y trietanolamina. Finalmente, la eosina Y es excitada utilizando luz, iniciando así la polimerización de los radicales libres de PEG-diacrilato en la superficie del islote **(Calafiore, R. & Basta, G., 2013)**.

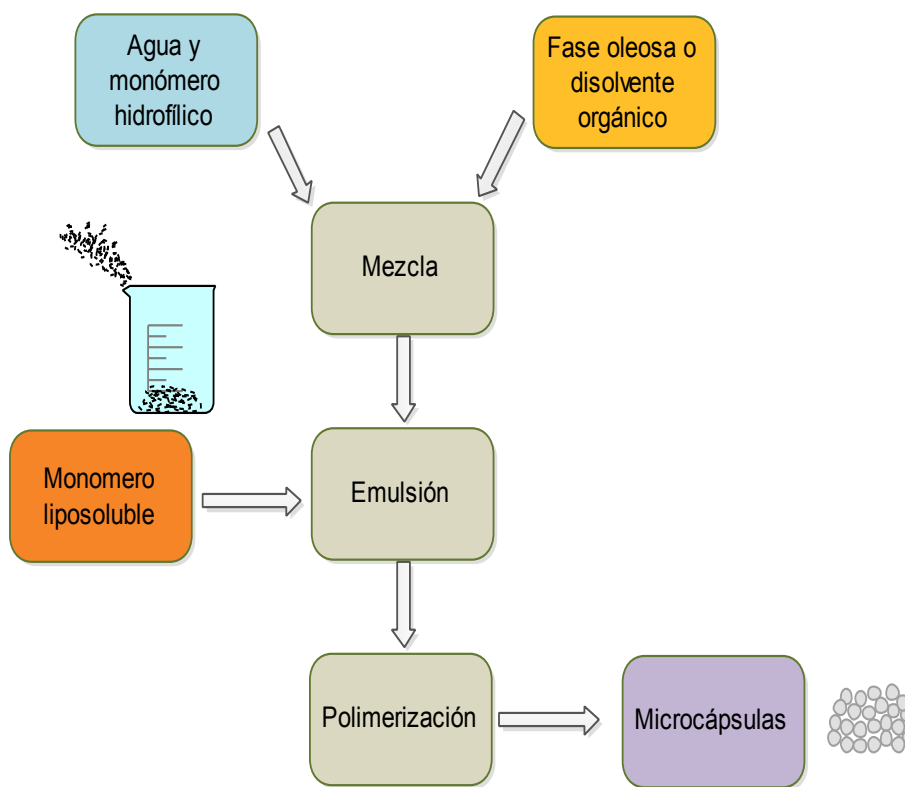


Tabla 4.
Ventajas y desventajas de la técnica de polimerización interfacial.

Ventajas	Desventajas
Gran eficiencia de encapsulación.	Difícil control de la reacción de polimerización.
	Pérdida de fármacos solubles en agua causados por pasos exhaustivos de lavado.
	Alta toxicidad de los disolventes empleados y de los monómeros que no reaccionaron durante la polimerización.



Fig. 7. Diagrama de flujo para la fabricación de microcápsulas mediante la técnica de polimerización interfacial.





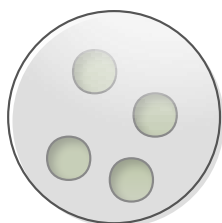
5.5 Spray-dried

En este método se prepara una emulsión que contiene a los componentes de la formulación: el principio activo, el aceite o fase oleosa y el polímero solvatado en un disolvente adecuado. La emulsión se dispersa con ayuda de una pistola en una cámara de secado, la cámara posee una serie de boquillas que permiten la entrada de aire o un gas caliente que evapora al disolvente (Fig. 11).

Mediante esta técnica, generalmente el activo se mezcla con el polímero antes de salir de la boquilla del aspersor, aunque en variantes de la técnica la mezcla se puede hacer en la punta de la misma. Como polímeros de membrana usualmente se utilizan gomas naturales, por ejemplo: gelatina, goma acacia, maltodextrina, agar, quitosan y algunos polímeros sintéticos (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**). La forma y tamaño de las partículas fabricadas por esta técnica están influenciadas por los mecanismos de secado. En general, cuando el secado es lento y la temperatura es baja, las partículas tienden a ser más rugosas, pequeñas y de tamaño heterogéneo en un mismo lote, lo que inclusive puede llevar a la ruptura de la cápsula, ya que la evaporación lenta del agua causa membranas de alta densidad y flujo pobre, lo que además conduce a la agregación (**Alves F. Suzana et. al., 2014**). Mientras que a velocidades altas de secado, el polímero que forma la pared de la microcápsula solidifica dentro del núcleo, formando microcápsulas polinucleares (Fig. 8) o de tipo matriz (**N. V. N. Jyothi et al., 2010**).



Fig. 8. *Microcápsula multinuclear, generalmente se forman por este método de fabricación; se observa la presencia de varios núcleos al interior de la capsula*



Algunos problemas de este método son la solubilidad y coeficiente difusional limitados de algunos materiales, la complejidad de la formulación de la emulsión y las condiciones de secado, **(Kondo K.; Niwa, Toshiyuki; Dnajo, Kazumi, 2014)** la aglomeración de las microcápsulas obtenidas y algunas gotas sin recubrir **(A. Jamekhorshid; S. M. Sandrameli; M. Farid, 2014)**.

K. Kondo y colaboradores probaron una técnica modificada de spray-dried, la cual consiste en un equipo de fabricación con tres vías para fluidos (Fig. 9); una para la disolución del fármaco otra para la disolución del polímero y una tercer vía para el aire caliente, de esta forma lograron obtener microcápsulas de forma no esférica pero de tamaño microscópico **(Kondo K.; Niwa, Toshiyuki; Dnajo, Kazumi, 2014)**.

Las boquillas de rociado convencionales consisten en una sola vía por la que pasan todos los componentes de la formulación, lo que a veces es inconveniente o limitante ya que el disolvente puede, solubilizar mejor a uno de los dos componentes que a los otros. Así, la boquilla con múltiples vías permite la



formación más eficiente de las microcápsulas al permitir el mezclado de las disoluciones al llegar a la boquilla. K. Kondo y colaboradores utilizaron etil celulosa como agente formador de pared de la microcápsula obteniendo buenos resultados, además encontraron que al incrementar la concentración del polímero se obtenían perfiles de liberación más lentos. Al final, obtuvieron partículas amorfas, ya que el activo encapsulado (etenzamida) forma cristales al secarse (Kondo K.; Niwa, Toshiyuki; Dnajo, Kazumi, 2014).

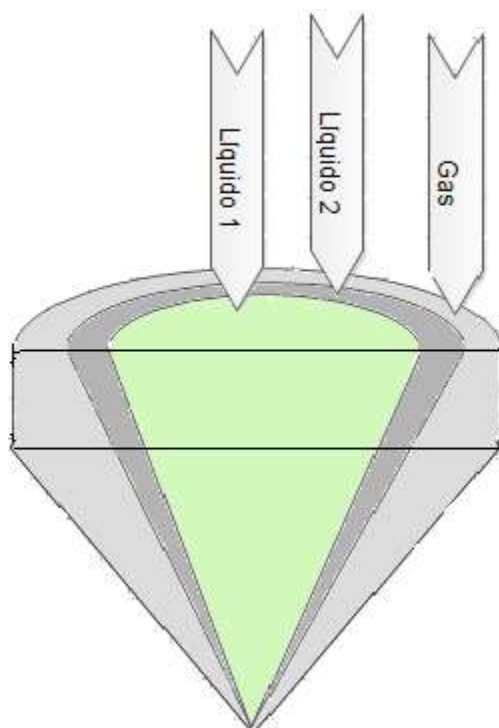


Fig. 9. Boquilla de tres vías

Alvest y colaboradores encapsularon un aceite esencial frutal mediante esta técnica, con una mezcla de goma arábica y maltodextrina. El procedimiento que ellos siguieron para obtener las microcápsulas se resume en los siguientes pasos; primero los polímeros fueron disueltos en agua y posteriormente, se adicionó el aceite esencial que se emulsionó con agitación. El secado se llevó a cabo con



ción constante de aire utilizando un atomizador, la velocidad de flujo de la emulsión fue controlada mediante una bomba peristáltica. Ellos concluyeron que sus resultados exhiben la gran funcionalidad y potencial de las microcápsulas para la encapsulación de medicamentos herbolarios, ya que encontraron en ellas la capacidad de conservar y proteger al aceite esencial de la evaporación y degradación. Además, esta técnica es muy útil para encapsular activos lábiles debido a su corto tiempo en contacto con el desecador **(Alves F. Suzana, et.al.); (2014 P.L. Lam & R. Gambari., 2014).**

Y. Wang y colaboradores también trabajaron mediante esta técnica encapsulando un lipopéptido antimicrobiano, estos compuestos son capaces de tolerar altas temperaturas en el proceso de producción. Los investigadores utilizaron varios materiales de pared, sin embargo, en sus resultado encontraron que maltodextrina y el almidón fueron los mejores polímeros para encapsular estos activos ya que mejoraron la eficiencia de producción, además de que proporcionan microcápsulas con paredes densas y estructuras rígidas pues el almidón es un adsorbente que mejora las propiedades de la maltodextrina, incrementando la adsorción de los materiales a encapsular y evitando la adhesión entre microcápsulas. El proceso de producción fue muy general siguiendo pasos similares a los del diagrama de flujo presente al final de este capítulo (Fig. 10) **(Y. Wang et al, 2014).**

Una ramificación de la técnica de spray dried es el uso del fluidos supercríticos, los cuales son fluidos que a temperatura y presión arriba de su punto crítico logran converger o coexistir dos fases al mismo tiempo, líquido y gas, lo que da



propiedades de ambos, es decir logra difundir como gas y disolver como líquido. Por ejemplo, el uso de dióxido de carbono como fluido supercrítico se encuentra en incremento, debido a su baja temperatura crítica, bajo costo y a que no es inflamable (**N. V. N. Jyothi et al., 2010**). Estas propiedades permiten la encapsulación de moléculas bioactivas muy sensibles a la temperatura, por ejemplo enzimas y péptidos (**Meyer, R. Rosen (ed), 2005**). Adicionalmente, esta técnica resulta una opción amigable con el ambiente y el consumo humano, pues permite disminuir el uso de disolventes orgánicos que llegan a ser tóxicos. El procedimiento de la técnica consiste en disolver el polímero y el activo en el fluido supercrítico a gran presión (por arriba del punto crítico del fluido), para después ser liberado mediante una boquilla, lo que conlleva a un cambio de presión, entonces se expande rápidamente el fluido a un estado en donde la solubilidad de los compuestos es mucho menor, la gota formada repentinamente causa desolvatación del material membranal (polímero), el cual es depositado alrededor del activo (núcleo) este cambio lleva a la supersaturación del disolvente, en este caso CO₂ provocando la formación de partículas pequeñas y uniformes (**L. Wise, Donald (ed), 2000**). Un inconveniente de este proceso es que el activo y el material de recubrimiento deben ser muy solubles en el fluido supercrítico y muy pocos polímeros los son (polidimetilsiloxanos, y polimetacrilatos) (**N. V. N. Jyothi et al., 2010**).

Fig. 10. Diagrama de flujo para la fabricación de microcápsulas mediante la técnica de spray-dried.

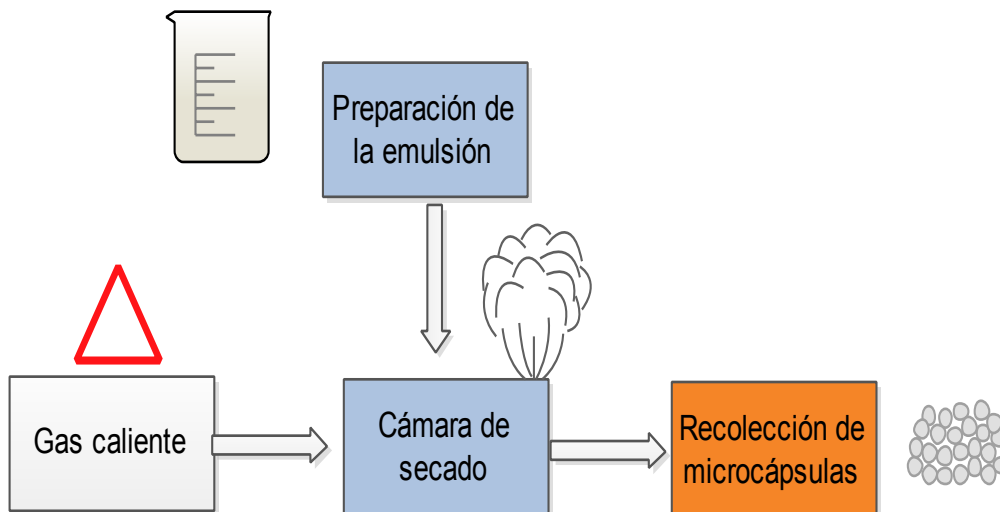


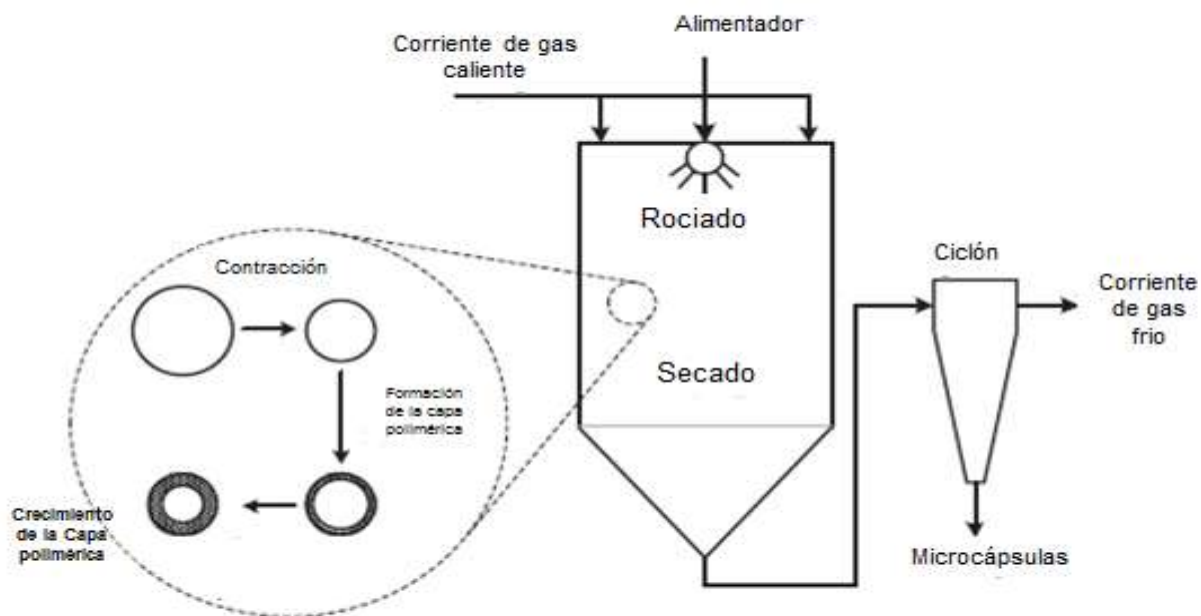
Tabla. 5.

Ventajas y desventajas de la técnica de spray-dried.

Ventajas	Desventajas
Fácil escalamiento.	Agregación de las partículas.
Bajo costo.	
Operación continua.	Gran tamaño de partícula.
Adaptabilidad a muchos equipos industriales comunes.	
Buena eficiencia de encapsulación.	Distribución heterogénea del tamaño de partícula.
Útil para la encapsulación de activos sensible al calor, tales como proteínas o péptidos debido a una participación de temperaturas moderadas.	

Fig. 11. *Esquema de un equipo de spray-dried.*

(2014, A. Jamekhorshid; S. M. Sandrameli; M. Farid.)





5.6 Microfluidos

La técnica de microfluidos, es una técnica de reciente desarrollo que ha ido cobrando auge debido a que utiliza polímeros y disolventes capaces de formar emulsiones. Entre los polímeros más empleados están el PLGA (ácido poli láctico co-glicólico), PLA (ácido polilactico), ácido polimetacrílico, alginato, quitosan y la sílica entre otros. El tamaño de las partículas obtenidas mediante esta técnica es fácil de controlar, pues se pueden conseguir partículas de tamaño uniforme, con variaciones tan estrechas como del 1%. Entre los parámetros que se modifican para controlar esta variación se encuentran, la viscosidad y la tensión interfacial de los fluidos, la velocidad de flujo y la presión en él proceso (C.-X. Zhao, 2013).

Recientemente, Shin-Hyun Kim y Bomi Kim fabricaron microcápsulas desarrollando emulsiones dobles, el dispositivo que diseñaron consiste en una serie de capilares que bajo presión permiten introducir pequeñas gotas, del orden de micrómetros, dentro de una segunda gota de la fase opuesta, obteniendo así una emulsión doble (Fig. 15). En este estudio se fabricó una emulsión múltiple W/O/W, que posteriormente se estabilizó con una bicapa membranal de copolímeros anfifílicos, este sistema es llamado polímerosoma (Fig. 13). Shin-Hyun Kim y Bomi Kim usaron una conjunción de dos polímeros, el PEG-b-PLA y homopolímeros de PLA dispersos en la fase oleosa.

El polímerosoma (formado para evitar coalescencia) se forma después de recolectar la microcápsula proveniente de la emulsión múltiple, en este punto empieza la evaporación del disolvente orgánico permitiendo que el núcleo acuoso



empiece a des-humectarse, formando una bicapa membranal compuesta de PEG-b-PLA, mientras los homopolímeros de PLA son incorporados en la parte hidrofóbica de la bicapa. De esta forma queda un sistema que consiste en una gota acuosa, cubierta de una bicapa de copolímeros sobre un medio acuoso (Fig.13). Posteriormente, bajo la misma técnica se pueden encapsular dos o más núcleos dentro de la misma microcápsula, pudiendo utilizarse polímeros diferentes para cada núcleo evitando así la coalescencia (fusión entre las capas). En el estudio citado se emplearon PEG Y PVA para recubrir los núcleos que forman dos polimerosomas distintos, en los que se pueden encapsular dos activos distintos evitando así su interacción y preservando su funcionalidad (Fig. 14) **(S.-H. Kim & B. Kim, 2014)**.

Sobre este mismo enfoque Huan Yan y Chanjoong Kim (2014), fabricaron micropartículas de sílica mediante la preparación de una emulsión doble con microfluidos, la técnica es muy similar a la anterior, consiste en el uso de un fluido interno que pasa a través de un tubo de inyección, el proceso se lleva a cabo a través de una dispositivo (Fig. 12) **(H. Yan & C. Kim, 2014)** que consta de:

- Una parte media en forma de tubo cuadrado y dos tubos cilíndricos que se acoplan en el anterior, uno de cada lado (Fig. 12) **(H. Yan & C. Kim, 2014)**.
- Un fluido interno que pasa a través de un tubo de inyección.
- Un fluido medio que es bombeado mediante el tubo central cuadrado.
- Y un fluido externo proveniente de la dirección opuesta del capilar cuadrado.



Cuando la fuerza de arrastre supera la tensión interfacial debido al co-flujo de líquidos, se producen gotas con tamaño consistente. H. Yan y C. Kim formaron una emulsión múltiple O/W/O, en donde la fase interna consiste en aceites de silicona con un tensoactivo, la fase media es acuosa y contiene precursores de sílica, algunos tensoactivos y etanol en medio ácido, mientras que la fase externa contiene aceites ligeros y pesados de silicona con tensoactivos. H. Yan y C. Kim probaron diversas formulaciones con proporciones diferentes de excipientes, variando el tipo de aceite, tensoactivos e inclusive variando algunos parámetros como la velocidad de evaporación del etanol, que incrementa la velocidad de polimerización de la sílica. A partir de este estudio los autores pudieron concluir que mediante esta técnica se logra obtener microcápsulas de tamaño y morfología controlables que pueden ser útiles en la liberación de diferentes tipos de activos (H. Yan & C. Kim, 2014).

Fig. 12 Esquema del dispositivo de microfluidos expuesto por H. Yan, C. Kim. (H. Yan & C. Kim, 2014)

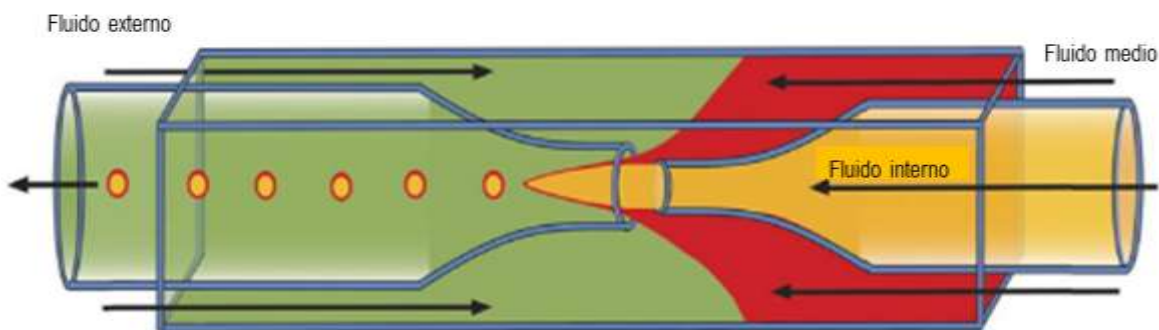


Tabla 6

Ventajas y desventajas de la técnica emulsión de microfluidos.

Ventajas	Desventajas
Tamaño controlable de partícula.	Uso de disolventes tóxicos.
Distribución homogénea de tamaño.	
Fácil escalamiento.	
Requiere cantidades pequeñas de reactivos.	

Fig. 13. Proceso de deshumectación del polimerosoma
(2014, S.-H. Kim, B. Kim).

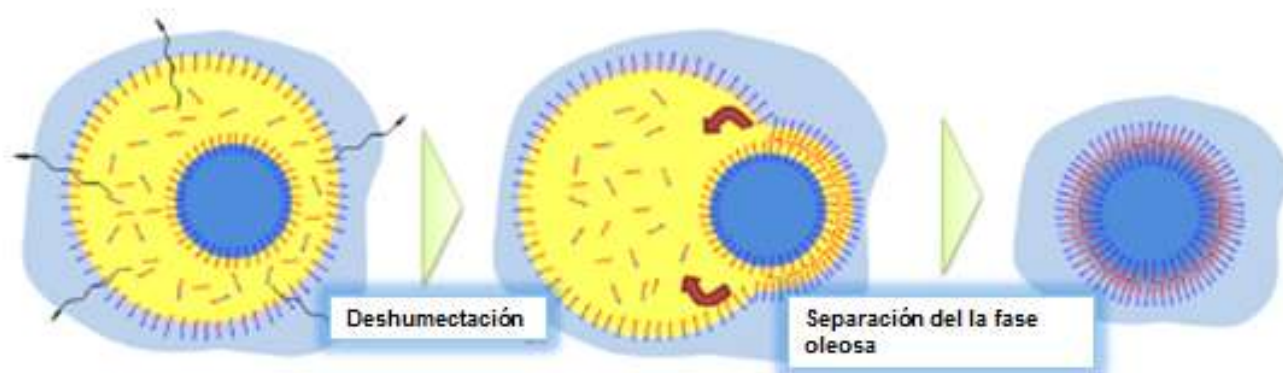


Fig. 14. Doble encapsulación de activos

(2014, S.-H. Kim, B. Kim).

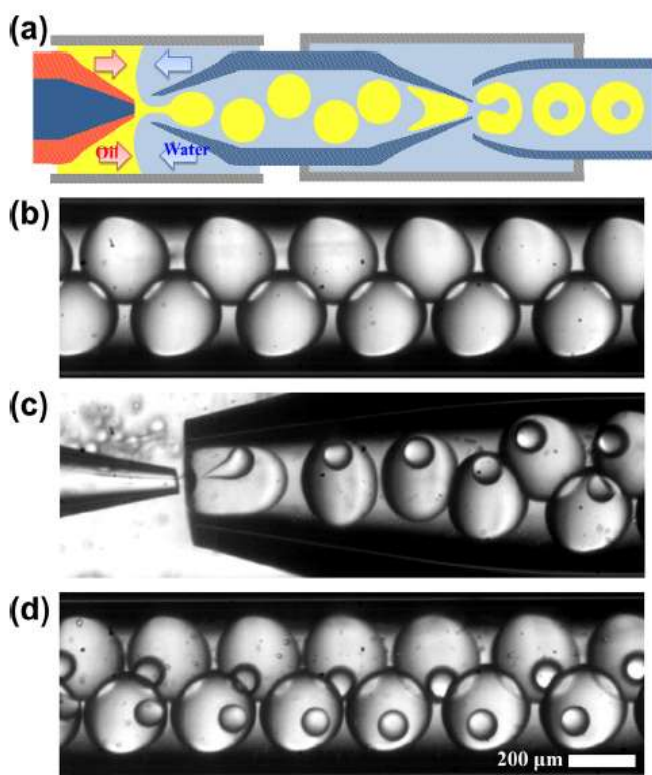
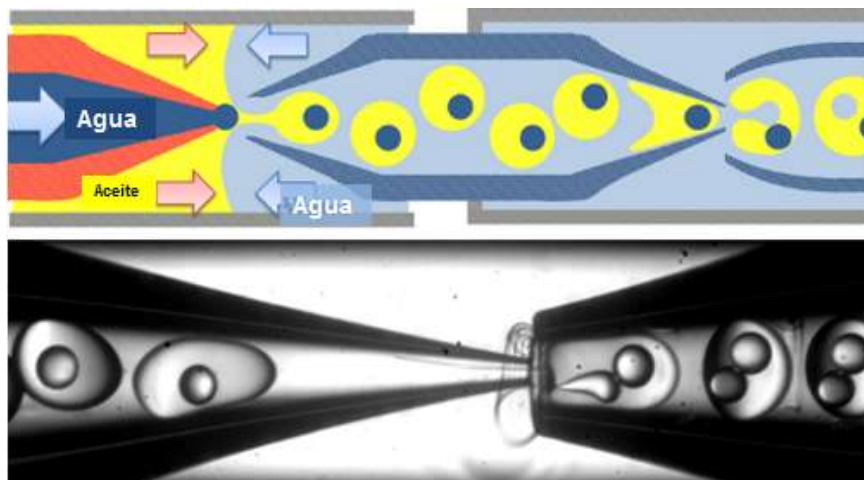


Fig. 15. Ilustración esquemática de la formación de microcápsulas mediante la técnica de emulsión microfluidos. En (c) y (d) se puede observar la formación de emulsiones múltiples.

(S.-H. Kim, B. Kim, 2014).



5.7 Capa sobre capa (Layer by layer)

Esta técnica está basada en la adsorción de varios componentes (polielectrolitos, proteínas, enzimas), en forma de capas que se sobroponen por atracción electrostática, así pueden formarse multicapas con un grosor de precisión nanométrica (Fig. 17) **(M. Shchukina, E. & G. Shchukin D., 2011)**.

Esta técnica fue desarrollada por Decher y colaboradores, quienes propusieron un protocolo de preparación de capas delgadas basadas en una adsorción alterna y repetida de poli cationes y poli aniones en la superficie de un sustrato sólido. Las capas se mantienen unidas a través de fuerzas electrostáticas, puentes de hidrógeno y enlaces covalentes. Una de las ventajas de esta técnica es que el grosor de la membrana puede ser controlada al mismo tiempo que se controla el tamaño de la esfera. Por su parte, Möhwald y colaboradores fabricaron microcápsulas vacías con polielectrolitos, por deposición de capa sobre capa en la superficie de partículas coloidales. La combinación de poli (clorhidrato de alilamina) (PHA), con poli (sulfonato de estireno) (PSS), es el par polieléctrolítico más frecuentemente utilizado para la fabricación de microcápsulas por esta técnica **(Katsuhiko Sato, et. al., 2011)**.

Una de las principales ventajas de esta técnica es que permite controlar el perfil de liberación del activo encapsulado mediante la cantidad de capas superpuestas y el material de recubrimiento que se usa. Así, mismo la técnica permite la liberación del activo a través de estímulos externos, como pueden ser cambios en la temperatura, pH e inclusive la concentración de azúcares en el medio.



Costa R.R. y colaboradores encapsularon albumina sérica bovina en partículas de carbonato mediante una técnica de co-precipitación con carbonato de sodio y cloruro de calcio, posteriormente utilizaron la técnica de ensamblaje de capa sobre capa (layer by layer; LbL) utilizando elastina recombinante (ELR por sus siglas en inglés) junto con quitosan. En su estudio realizaron pruebas de liberación con microcápsulas que poseían una, tres y cinco capas de los polímeros de recubrimiento antes mencionados. Ellos encontraron una fuerte dependencia del número de capas depositadas con el tiempo de liberación, pues observaron que a mayor número de capas superpuestas, la liberación era más lenta; así mismo encontraron que la temperatura del medio influye en la liberación pues a mayor temperatura, menor es la velocidad de liberación del activo, **(Costa RR, et al., 2013)**.

Bajo el mismo enfoque se han utilizado proteínas como polímeros formadores de membrana pues el uso de polielectrolitos catiónicos ha caído en desuso debido a su alta citotoxicidad. De Koker y colaboradores superaron este problema al fabricar cápsulas de polielectrolitos usando sulfato de dextrano y poli-L-arginina. Otro ejemplo de esta aplicación, es el uso de insulina a pH por arriba de su punto isoeléctrico junto con poli aniones como polivinil sulfato y sulfato de dextran en disoluciones ácidas (pH de 1-3). En estas condiciones, la insulina de carga positiva y los polianiones interaccionan a través de fuerzas electrostáticas, este sistema es capaz de proteger a la insulina del ácido y las enzimas del estómago permitiendo su liberación en el intestino **(Katsuhiko Sato, et. al., 2011)**.



Ye y colaboradores trabajaron fibroína de seda químicamente modificada, utilizando el catión seda-poli-L-lisina y el anión seda-poli-L-acido glutámico, formando microcápsulas con paredes delgadas con un incremento dramático en el hinchamiento, grosor y microrrugosidad **(M. Jaganathan; D. Madhumitha; A. Dhathathreyan, 2014)**.

Una alternativa viable al uso de uniones covalentes, es el uso de interacciones no covalentes (utilizando por ejemplo, moléculas anfifílicas, interacciones electrostáticas, puentes de hidrógeno, e interacciones hidrofóbicas) **(M. Jaganathan ; D. Madhumitha; A. Dhathathreyan, 2014)**.

Un método para fabricar microcápsulas mediante enlaces no covalentes es por medio de freeze-thaw o congelación-descongelación, en donde al contrario de otros métodos, este no depende de la anfifilicidad de las moléculas. Se han usado moléculas (polímeros de membrana) como albúmina sérica, proteína globular, colágeno tipo I, proteína fibrosa y heparina, mediante esto se pueden encapsular tanto compuestos hidrofílicos como lipofílicos. En esta técnica se congelan rápidamente las cápsulas mediante nitrógeno líquido, después del ciclo, congelación-descongelación son entrecruzadas con glutaraldehído al 0.1% **(M. Jaganathan; D. Madhumitha; A. Dhathathreyan, 2014)**.

Una de las variantes más utilizadas para obtener microcápsulas mediante la técnica de capa sobre capa, es el recubrimiento de emulsiones. Generalmente se parte de una emulsión con núcleo hidrofílico sobre la que se depositan varias capas poliméricas, el primer polielectrolito se elige en función de la carga de la



emulsión que forma el núcleo. Posteriormente, se adiciona el siguiente polielectrolito en solución, gota a gota, con agitación constante para asegurar la deposición de la capa siguiente. Éste proceso se repite sucesivamente alternado la deposición de capas de cargas opuestas de polielectrolitos hasta llegar al número de ensamblajes deseado. Biopolímeros tales como proteínas en alternancia con bioemulsificadores se utilizan con eficacia para la encapsulación de emulsiones por medio de esta técnica **(M. Shchukina, E. & G. Shchukin D, 2011)**.

Utilizando ultrasonido se pueden formar microcápsulas recubiertas de proteínas que pueden ser tratadas para la adición de múltiples capas proteicas de cargas opuestas (Fig. 16). La cavitación producida por el ultrasonido, provoca altas temperaturas y presiones, generando una gran energía capaz de propiciar reacciones químicas; estas condiciones extremas en la interface de las micro burbujas pueden ser utilizados para llevar a cabo varias transformaciones, conduciendo a la formación de paredes esféricas conteniendo gas o líquido en su cavidad. Por ejemplo, el ultrasonido de alta intensidad (3 min a 20 KHz de frecuencia) aplicado a albúmina sérica bovina, humana y hemoglobina humana puede llegar a producir microcápsulas llenas de aire o de líquido no acuoso. Para mejorar la estabilidad de estas y su vectorización o targeting a órganos, además pueden ser recubiertas mediante la técnica de capa por capa, con polímeros tales como poliglutamato/polietilendiamina/ácido poliacrílico. Se ha encontrado que el promedio de talla de partícula aumenta con el tiempo de sonicación y que grandes

amplitudes de frecuencia llevan a la formación de microesferas pequeñas, mientras que bajas amplitudes resultan en microesferas grandes (M. Shchukina, E. & G. Shchukin D, 2011).

Fig. 16 Esquema que ilustra la fabricación de microcápsulas mediante sonicación. (M. Shchukina E. & G. Shchuki D, 2011).

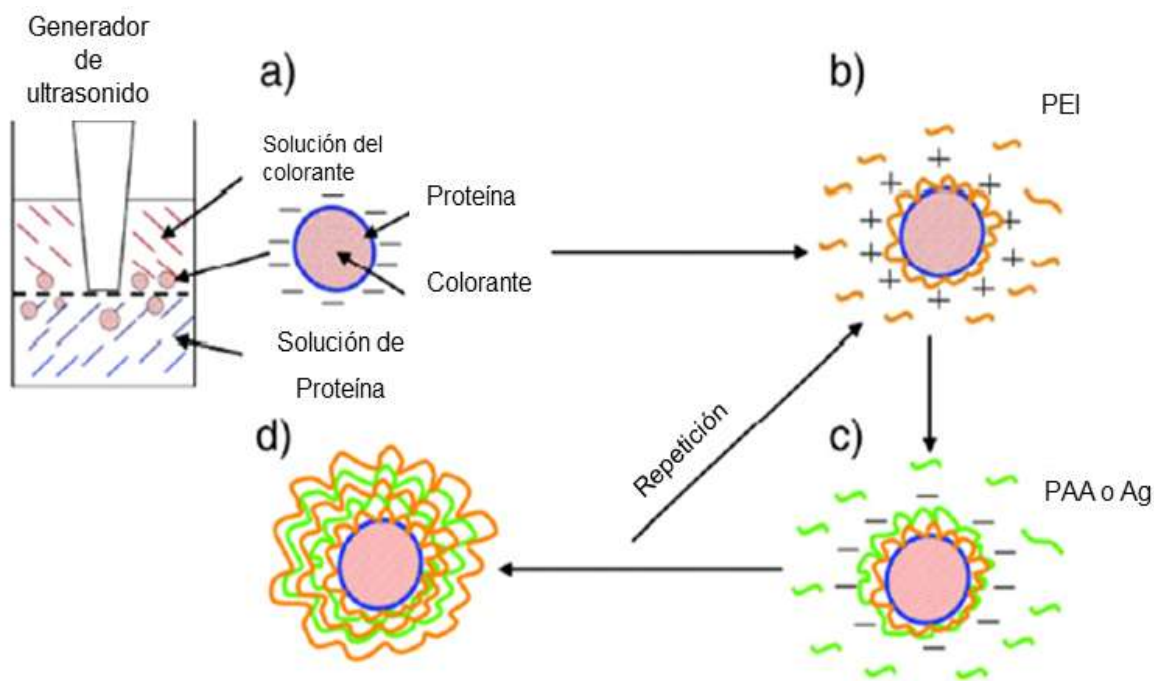


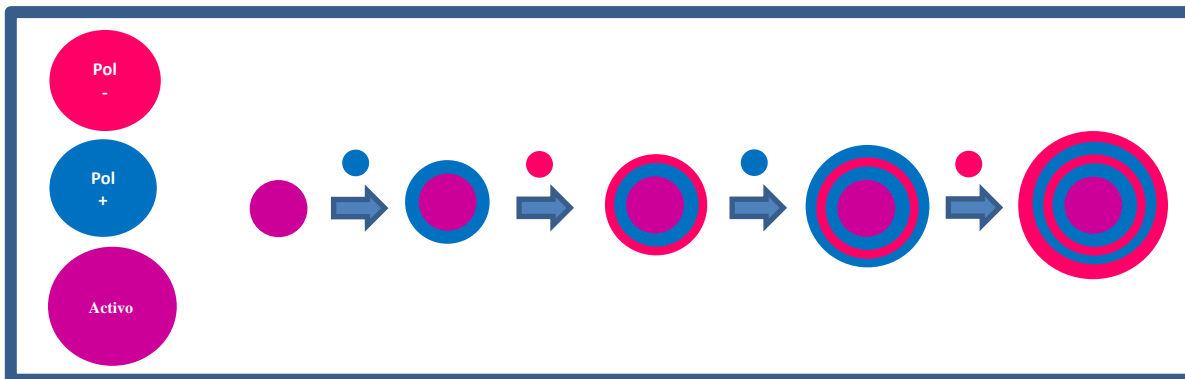
Tabla 7.

Ventajas y desventajas de la técnica de capa sobre capa.

Ventajas	Desventajas
Sencilla	Se utiliza para la modificación superficial de las microcápsulas. Procesos largos.
Versátil	
Bajo costo	



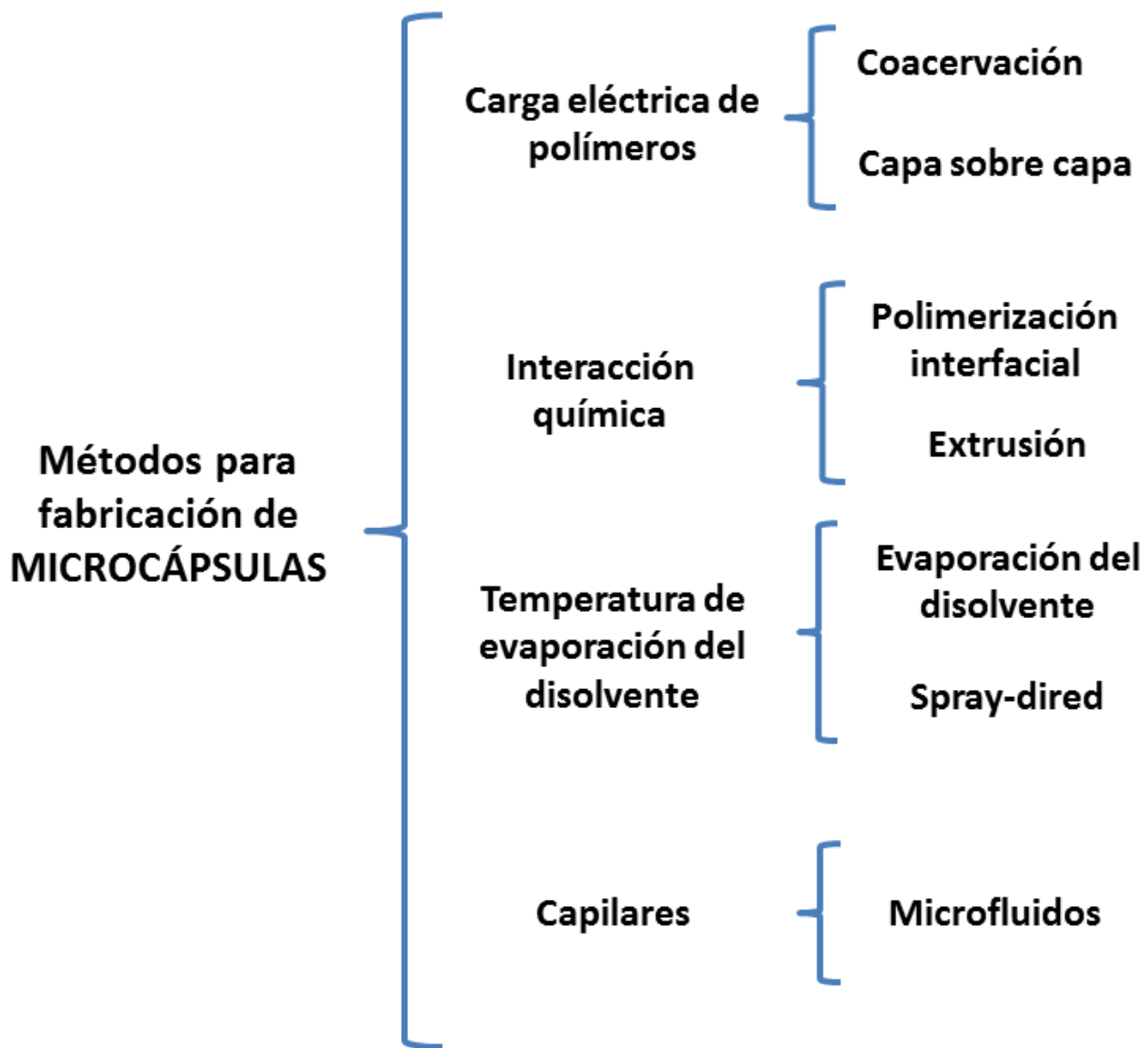
Figura 17. Diagrama de proceso de la técnica capa sobre capa por atracción electrostática.





Considerando las técnicas presentadas anteriormente, se propone la siguiente clasificación, basada en las propiedades físicas y químicas de los polímeros, así mismo, tomando en cuenta el proceso de fabricación y lo involucrado en el mismo.

Figura 18. Clasificación propuesta para los métodos de fabricación de microcápsulas.





6. METODOS DE RECUPERACION / PURIFICACION

Generalmente, los métodos de fabricación de microcápsulas hacen necesaria la purificación o recuperación del medio de producción, es importante que las microcápsulas se encuentren secas para evitar que se degraden o contaminen.

Para algunas técnicas de fabricación el método de purificación está incluido en el procedimiento, sin embargo para otras, es necesario aplicar medidas adicionales para poder aislar y obtener las microcápsulas puras y secas.

La combinación de algunas técnicas o parte de ellas permite aislar las micropartículas, tal es el caso de la técnica de coacervación, ya que para aislarlas se puede recurrir a la técnica de spray-dried, aplicando aire caliente sobre un lecho fluido para secar y solidificar.

De modo general la mayoría de las técnicas consideran pasos de lavado posteriores a la fabricación, para ello se eligen líquidos de enjuague en los que el material de pared de las microcápsulas sea insoluble. Otro ejemplo es la técnica de evaporación de disolvente, en esta solo es necesario obtener las microcápsulas al final de la fabricación y enjuagarlas para eliminar el disolvente o polímero remanente.

De la misma forma, el secado con calor puede llegar a ser viable después de algún método de recuperación, por ejemplo, después de la filtración o de la centrifugación, con la finalidad de retirar el remanente del medio en el que se encuentran suspendidas. Pal y Nayak por ejemplo, encapsularon glicazida por la



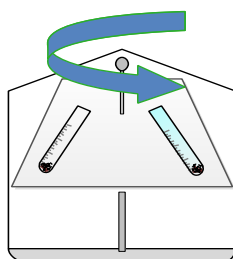
técnica de extrusión en microcápsulas de alginato de sodio y etil celulosa, después de la obtención de las microcápsulas decantaron la suspensión y las microcápsulas obtenidas, fueron secadas a 45°C por 12 horas después de ser lavadas con agua desionizada **(Dilipkumar Pal & Amit Kumar Nayak, 2011)**.

Las tres técnicas más comunes de purificación son:

6.1 Centrifugación

Mediante centrifugación se pueden separar sistemas liquido-sólido, en este caso los generados frecuentemente durante la fabricación de microcápsulas, la fuerza centrífuga es el medio para efectuar la separación **(Griskey G. Richard, 2002)**. En general el proceso es el siguiente: una vez formadas las microcápsulas mediante una emulsión o cualquier otro proceso de fabricación, son puestas en una centrifuga, al finalizar el proceso se obtiene un botón, este se decanta y enjuaga con el disolvente adecuado (el disolvente debe ser incapaz de solubilizar al polímero). El botón lavado puede dejarse secar a temperatura ambiente o con ayuda de vacío o calor.

Fig. 17. Centrifuga





6.2 Filtración

La filtración es una de las técnicas más usadas como método de separación o recuperación de microcápsulas, puesto que la mayoría de las técnicas de microencapsulación se desarrollan en un medio líquido.

En general, la filtración es el método de elección para separar los sólidos del líquido remanente. Básicamente involucra el flujo de un sistema líquido-sólido, gas-sólido a través de un medio poroso (Fig. 11) **(Griskey G. Richard, 2002)**.

La filtración se puede realizar mediante varias membranas y dispositivos, por ejemplo Zuobing Xiao y colaboradores prepararon microcápsulas de capsantina mediante coacervación con proteína de soya y quitosan, después filtraron las microcápsulas a través de una malla de tela de nylon, para finalmente lavarlas y liofilizarlas **(Zuobing Xiao et. al., 2013)**.

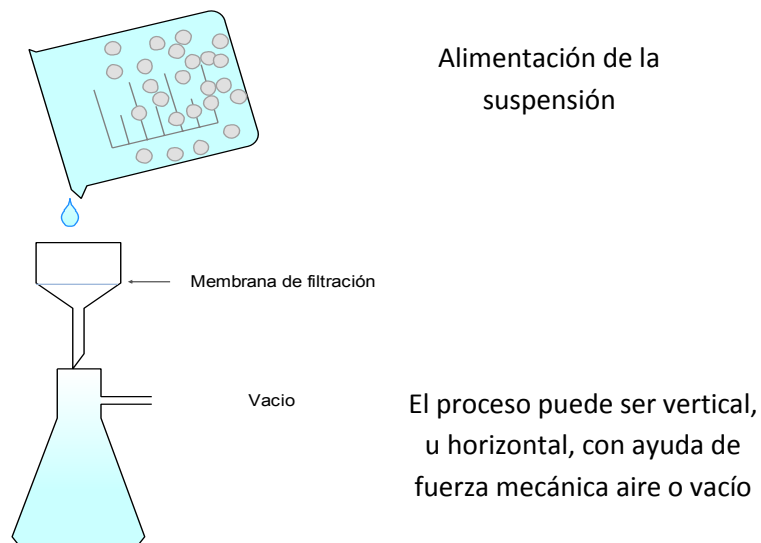
El tamaño del poro depende del tamaño promedio de las partículas y/o del tamaño deseado, de esta forma, la filtración se convierte en un punto de control de calidad para la homogeneidad del tamaño de partícula, ya que se pueden eliminar partículas demasiado grandes con ayuda de prefiltros.

Por este método también pueden eliminarse partículas con un tamaño menor al deseado, seleccionando filtros que retengan a las partículas deseadas y dejen pasar a las partículas más pequeñas, las cuales posiblemente tengan una carga menor de activo.



Los filtros que se pueden usar son varios desde el papel filtro de celulosa hasta mallas de nylon, poliéster y polipropileno.

Fig.18. *Proceso general de filtración*



6.3 Liofilización

Esta es una técnica de purificación ampliamente usada en la fabricación de microcápsulas, sin embargo, es un método caro que requiere de varias consideraciones para ser utilizado, ya que no todos los excipientes o activos pueden ser sometidos a bajas temperaturas y baja presión para poder ser aislados del medio líquido en el que se encuentran.

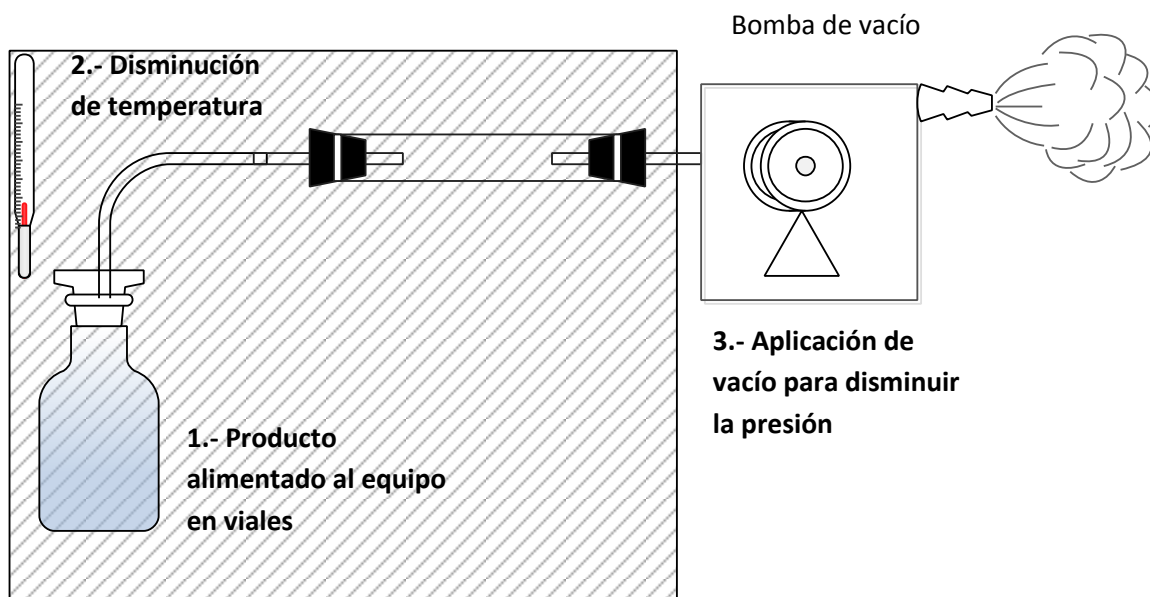
La liofilización de una muestra es llevada a cabo mediante la congelación y la sublimación del líquido presente en ella empleando vacío. Las bajas temperaturas



que se utilizan durante el proceso pueden, en algunos casos, ayudar a evitar la degradación del activo (Swarbrick James ed., 2007).

Típicamente el proceso está dividido en dos fases (Fig. 12); en la primera, el producto es colocado en viales y congelado; inmediatamente después, se aplica vacío a la cámara para sublimar el disolvente; esta fase extrae la mayoría del disolvente (50%-80%). Durante la segunda fase, el resto del disolvente es removido a una temperatura mayor, pero manteniéndola por debajo de la temperatura de congelación (Swarbrick James ed., 2007).

Fig. 19. *Proceso general de liofilización*





7 CARACTERIZACION

7.1 Talla de partícula

La talla de partícula es una prueba que se realiza con frecuencia a las microcápsulas, ya que mediante ésta se obtiene información respecto al tamaño y distribución de tamaño de partícula entre lotes, por lo que se utiliza principalmente como control de calidad.

Generalmente, se lleva a cabo mediante microscopia, sin embargo, se han desarrollado otras técnicas, por ejemplo, técnicas de dispersión de luz (**Meyer, R. Rosen (ed)., 2005**). Así, la distribución de tamaño de partícula puede ser determinada mediante el análisis del patrón de difracción de láser, el cual se basa en la difracción de luz en la superficie de las partículas. Dos factores son realmente importantes para obtener de forma efectiva la distribución de tamaño de partícula: la longitud de onda del láser y la presencia de suficiente contraste entre la superficie de la partícula y el fluido de suspensión, la muestra puede estar seca o en suspensión con disolventes orgánicos o agua. Las principales ventajas del método incluyen tiempo corto de análisis, gran reproducibilidad y precisión, uso de muestras pequeñas y amplio rango de detección (0.02-2000 μm) (**A.K.A.S. Brun-Graepi et al., 2011; Farias, M.; De Luxan P. M.; Sánchez de Rojas, I. M., 1988**).

La espectroscopia de correlación de fotones es otra herramienta útil para determinar talla de partícula, se basa en el movimiento de las partículas el cual a



su vez está en función de la temperatura, dando información del coeficiente difusional de las mismas.

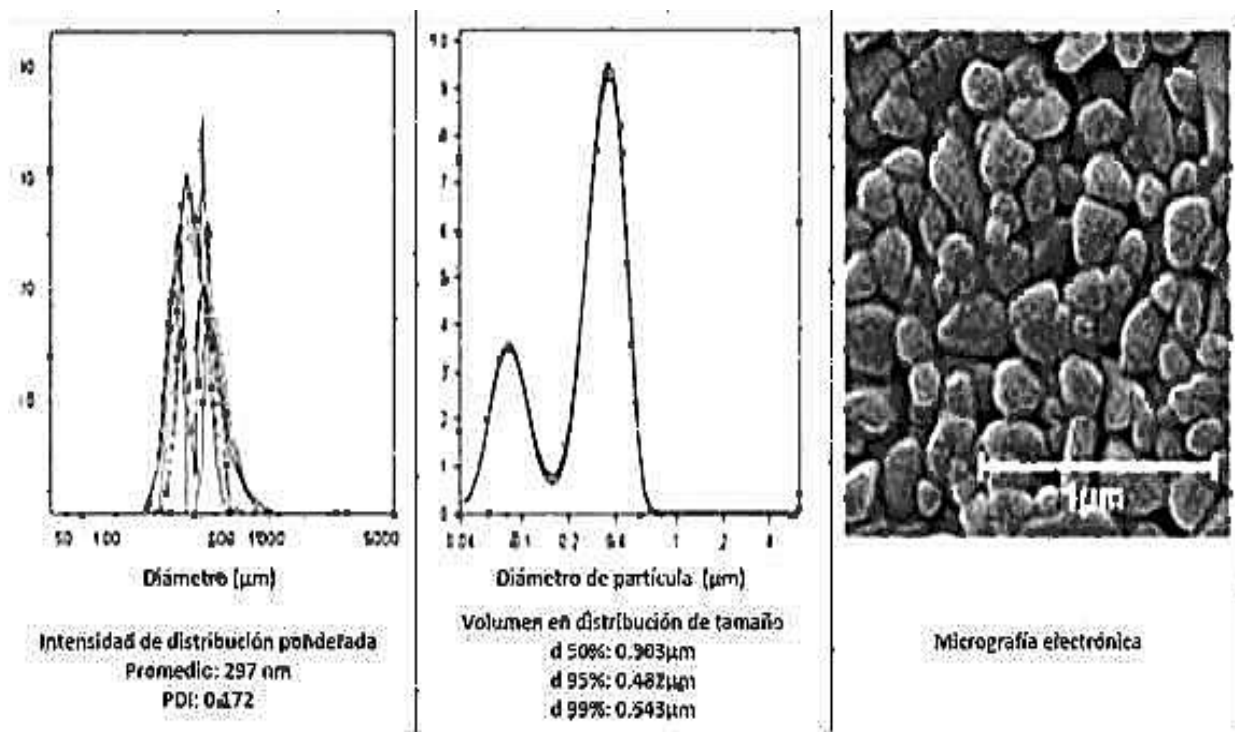
El equipo funciona conforme son emitidos dos laser enfocados hacia puntos diferentes de la muestra, la intensidad de luz es detectada y correlacionada. La correlación de las dos señales es usada para monitorear la disolución respecto al movimiento de las partículas y por lo tanto, la intensidad de la luz que fluctúa con el tiempo, ésta información es útil y mediante modelos matemáticos proporciona el coeficiente de difusión, de esta forma y con ayuda de la ecuación Stokes-Einstein se puede obtener la talla de partícula. Sólo el primer barrido de luz es válido, por lo que es necesario que se prepare una solución lo bastante diluida para evitar múltiples barridos. La dilución de la muestra, la baja concentración de partículas hace una técnica sensible a impurezas de los disolventes, por lo que es recomendable usar disolventes con un alto grado de pureza y un ambiente limpio (**Sympatec GmbH System-Partikel Technic; LSinstruments; Tscharnuter, Walther**).

Ecuación Stokes-Einstein
$$D = \frac{k T}{6\pi R\eta}$$

Donde k, es la constante de Boltzmann, T, temperatura, R, el radio de las partículas, y η , la viscosidad.

Fig.20. Comparación de diferentes técnicas de medición de talla de partícula; a la derecha espectroscopia de correlación de fotones, en medio difracción de láser y a la izquierda microscopia electrónica de barrido.

(2010, Möschwitzer Jan)



7.1.1 Microscopía

Generalmente, los estudios de microscopía son utilizados para determinar la talla de partícula y la variación de la misma. Adicionalmente, puede determinarse la forma y características estructurales de las partículas. Existen varias técnicas para llevar a cabo este tipo de estudios. Las más utilizadas son la microscopía electrónica de barrido, la microscopía confocal de barrido y la microscopía electrónica de transmisión.



- Microscopia electrónica de barrido

Con frecuencia es usada para caracterizar la estructura superficial de las microcápsulas **(Guo, Rui & D. Wilson, Lee, 2013)**. Mediante este tipo de microscopia se pueden obtener imágenes tridimensionales de la muestra y gracias a la resolución de la tecnología actual se puede observar su morfología y textura **(Kogure, T., 2013)**. Comúnmente es utilizada para examinar superficies debajo de una resolución de 50nm, la muestra (solida), es cubierta por una capa delgada de oro o carbón, (a menos que tenga propiedades eléctricas) para otorgarle propiedades conductoras. Al alcanzar la superficie de la muestra se generan electrones retrodispersados y electrones secundarios, los cuales son detectados e interpretados para dar una imagen; las imágenes arrojadas por este método característicamente tienen un amplio rango de contraste y gran profundidad de enfoque **(Adamson W. Arthur & P. Gast, Alice, 1997; Patología+rehabilitación+construcción, web de información y formación para profesionales y estudiantes)**.

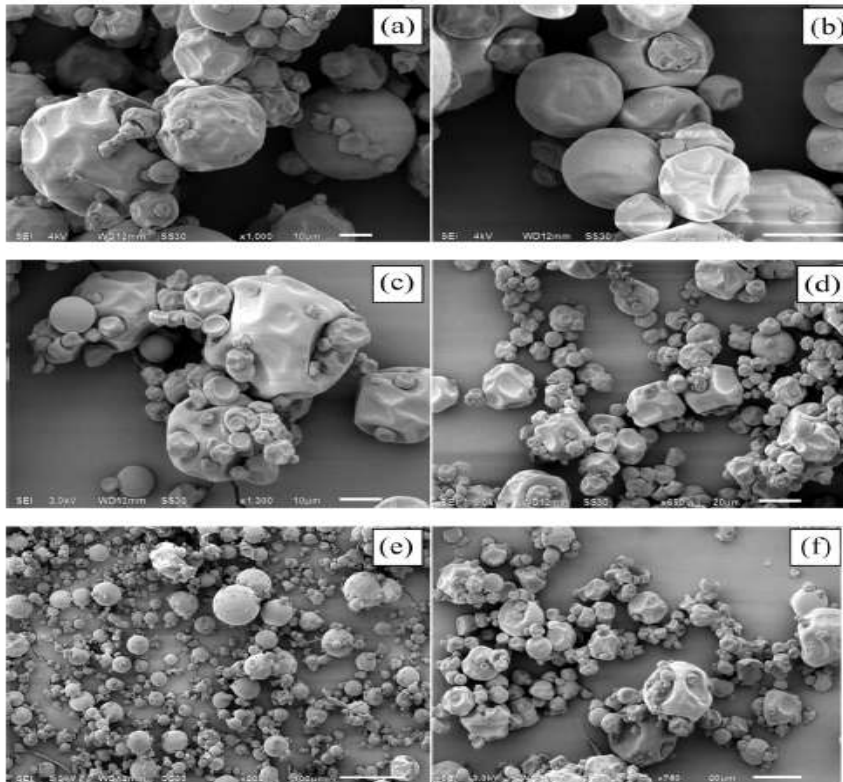


Fig. 21. *Microscopía electrónica de barrido de microcápsulas conteniendo aceite esencial obtenido de P. amarginatus.*

(2014, Suzana F. Alves et. al.)

- Microscopia confocal de barrido

Este sistema utiliza una luz láser potente. Cuando el haz de luz láser incide sobre la muestra a una determinada longitud de onda, la muestra logra emitir luz a una longitud de onda superior, a este efecto se le conoce como fluorescencia (puede ser natural de la muestra o de los fluorocromos con los que se trató previamente) **(Martínez Nistal, Angel).**

Esta técnica permite la visualización interna y externa de la estructura de las micropartículas ofreciendo un alto contraste y resolución **(Guo, Rui & D. Wilson, Lee, 2013).**



Compuestos derivados de Fluoresceína, rodamina, etidio son fluorocromos son utilizados comúnmente para esta técnica microscópica (**Martínez Nistal, Angel**).

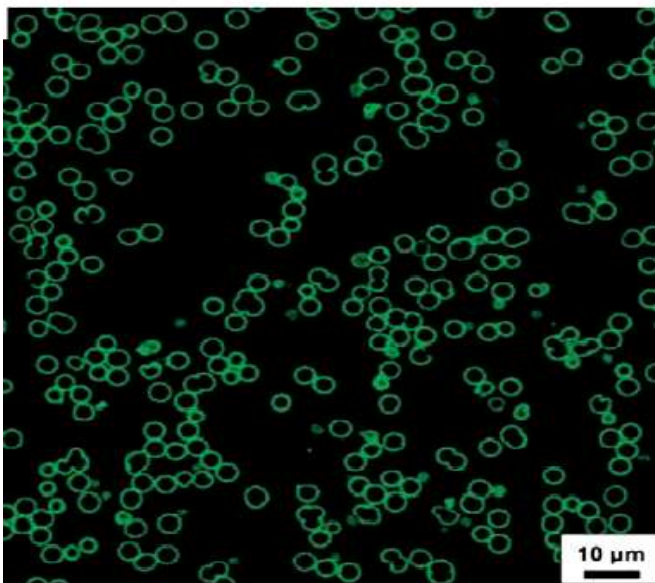


Fig. 22. *Microscopia confocal de barrido de laser de microcápsulas de ácido tánico. Se puede observar la estructura fluorescente de las partículas.*

(2011, Katsuhiko Sato, et. al)

- Microscopia electrónica de transmisión

Puede resolver características de alrededor de 1nm y permite el uso de la difracción de los electrones para caracterizar las estructuras bajo estudio (**Adamson W. Arthur & P. Gast, Alice, 1997**). La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes (Fig. 16). Una desventaja de la técnica es que se requieren de muestras delgadas para asegurar una adecuada absorción de electrones en el material.

Mediante este tipo de microscopio se puede observar la textura, composición química y cristalografía de la muestra **(Nieto Maclas, Fernando, 2008)**.

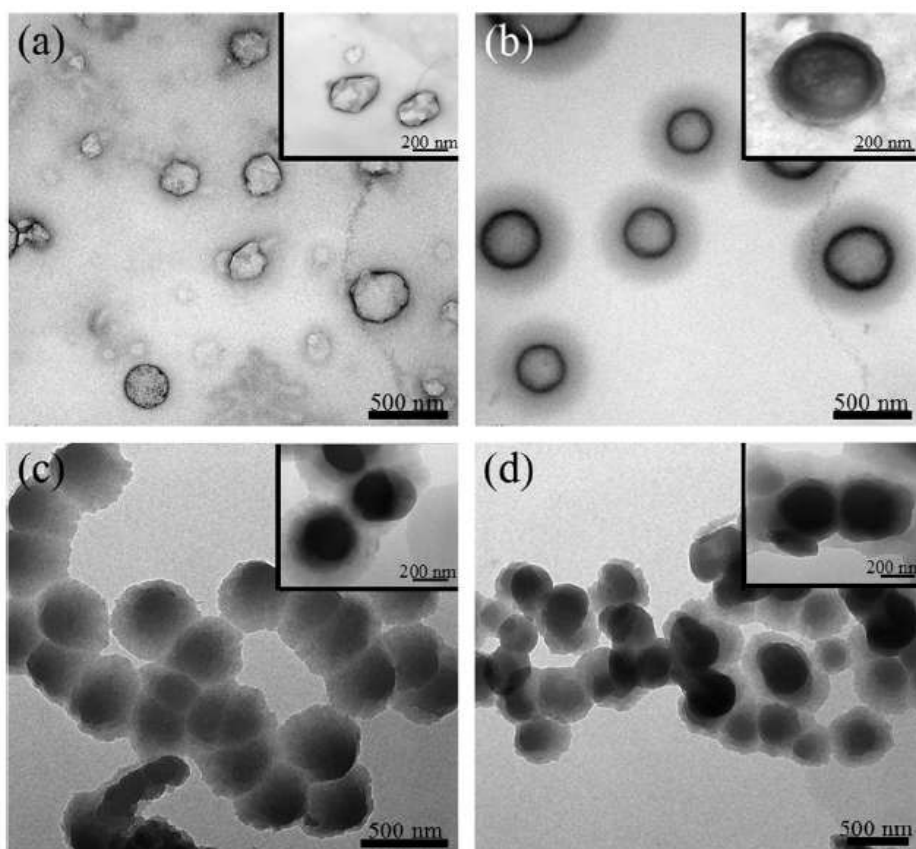


Fig.23. *Microscopía electrónica de transmisión de microcápsulas de persulfato de amonio. Se puede observar la diferencia entre el núcleo y la pared de la partícula.*

(2014, M. Zuo et al.)



7.2 Eficiencia de encapsulación

La eficiencia de encapsulación se refiere a la determinación de la cantidad cuantitativa de activo cargado dentro de la microcápsula.

La eficiencia de encapsulación de activo (EEA) se puede calcular en porcentaje de la siguiente manera:

$$EEA = \frac{\text{CONTENIDO DE ACTIVO CARGADO EN MICROCÁPSULAS}}{\text{CANTIDAD DE ACTIVO A ENCAPSULAR}} \times 100\%$$

En donde el contenido cargado de microcápsulas es el obtenido mediante la determinación cuantitativa de mismo y la cantidad de activo a encapsular, es la cantidad agregada al inicio del proceso de fabricación.

La eficiencia de encapsulación es un parámetro importante, que inclusive es determinado en las pruebas de control de calidad tanto de lotes de prueba como en lotes para comercialización. Existen varios factores por los cuales se puede ver afectada la eficiencia de encapsulación, algunos de ellos son la concentración del polímero, la interacción polímero-activo, la solubilidad del polímero en el disolvente, la velocidad de remoción del disolvente y la solubilidad del compuesto orgánico en agua (N. V. N. Jyothi et al., 2010). Por ejemplo, cuando se tiene una gran concentración de polímero se puede observar un aumento importante en la viscosidad de la suspensión por lo que cuando el polímero precipita sobre la fase dispersa, es decir el núcleo, lo hace de manera rápida, esto ayuda a prevenir la difusión del fármaco entre el núcleo y la fase continua, y es de mayor ayuda cuando el activo es muy soluble en la fase continua. Así mismo, la eficiencia



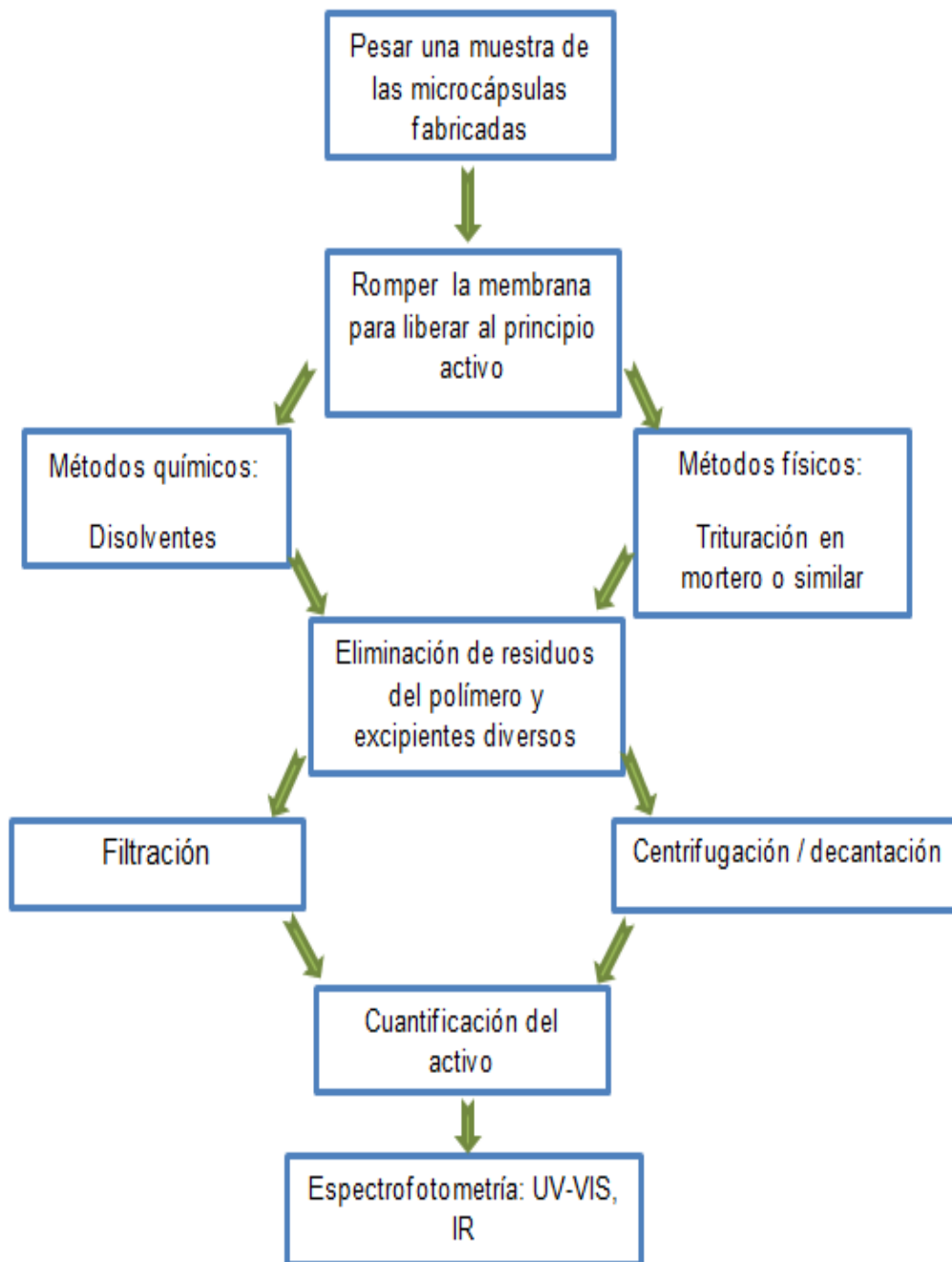
aumenta cuando se tiene una proporción de fase continua menor que la fase dispersa, ya que el disolvente de la fase continua puede eliminarse o evaporarse de forma más rápida, permitiendo que las microcápsulas solidifiquen rápido, aumentando así la eficiencia de encapsulación, haciendo evidente que la velocidad de evaporación del disolvente es un punto crítico durante la encapsulación, cuando aplique, según la técnica de fabricación **(N. V. N. Jyothi et al., 2010)**.

Existen diversas técnicas para cuantificar la eficiencia de encapsulación, una de ellas es mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a espectrofotometría UV, esta técnica se utiliza cuando el activo puede absorber a una longitud de onda de entre 200 y 400 nm. Se debe ser cuidadoso para elegir las condiciones del análisis y el tratamiento de la muestra, para que la presencia de moléculas provenientes de la formulación no interfiera con la cuantificación, por ejemplo, algunos polímeros.

La preparación de la muestra es variada, depende de la solubilidad y estabilidad del polímero y del activo frente a ciertos disolventes; por ejemplo, una muestra de glicazida microencapsulada fue molida en un mortero con pistilo, con buffer de fosfatos pH 7.4 y se sometió a agitación ocasional a 37°C por 48 horas, después de la desintegración de la pared de la cápsula, los restos del polímero fueron removidos mediante filtración con papel, la cantidad de activo encapsulado fue determinado mediante espectrofotometría UV **(Dilipkumar Pal & Amit Kumar Nayak, 2011)**.



Fig. 24. Determinación y cuantificación de activo encapsulado





7.3 Pruebas in vitro

7.3.1 Liberación

La liberación de activos provenientes de microcápsulas puede llevarse a cabo mediante diversos mecanismos tales como la difusión, ósmosis, hinchamiento, disolución o degradación de la membrana polimérica.

En el caso del mecanismo de difusión, las moléculas de activo que se encuentran en el núcleo y en contacto con la pared de la microcápsula empiezan a difundir a través de ella hacia el medio exterior, cuando el núcleo está saturado, el gradiente de concentración es mantenido en la pared y la velocidad de flujo a través de ella es constante, esto resulta en una liberación de orden cero. Una vez que la concentración en el núcleo y en la pared cae por debajo del punto de saturación la velocidad de liberación disminuye **(P.L. Lam & R. Gambari, 2014)**.

Otro mecanismo de liberación es el hinchamiento, este mecanismo involucra la absorción de agua y el incremento de volumen de la microcápsula. Durante este proceso el agua entra a través de la red polimérica y alcanza el activo cargado en el núcleo disolviéndolo gradualmente. Posteriormente, el activo ya disuelto puede empezar a difundir a través del polímero hinchado. Así, la velocidad de liberación está relacionada con la densidad de las cadenas del polímero, a menor densidad el hinchamiento y la absorción de agua son menores, por lo que la liberación del activo puede prolongarse y retardarse por mayor tiempo **(P.L. Lam & R. Gambari, 2014)**.



La degradación y erosión de la pared polimérica constituyen un tercer mecanismo de liberación. Por este medio disminuye rápidamente la distancia entre el activo cargado en el núcleo y la superficie de la microcápsula, lo que resulta en la liberación del activo sin transporte. Este mecanismo es el menos común pues el proceso de hidratación es usualmente más rápido que el de erosión, debido a que el agua de hidratación penetra la membrana y disuelve al principio activo facilitando su difusión y liberación a través de micro poros en la pared de las microcápsulas **(P.L. Lam & R. Gambari, 2014)**. Para garantizar este efecto se pueden adicionar excipientes formadores de poros, por ejemplo polietilenglicol, para facilitar el hinchamiento del polímero y la difusión del principio activo.

La liberación del activo mediante osmosis, implica el movimiento de agua bajo un gradiente de concentración, el proceso se detiene cuando las condiciones al interior al exterior de las microcápsulas llegan al equilibrio. En este mecanismo la velocidad del flujo del activo a través de la pared de la microcápsula depende de la concentración del activo. El medio de disolución exterior pasa a través de la pared semipermeable y disuelve al activo atrapado causando un gradiente de concentración, el cual atrae agua, esto resulta en el hinchamiento de la microcápsula, la formación de fisuras en la pared polimérica y eventualmente la ruptura de esta **(P.L. Lam & R. Gambari, 2014)**.

Generalmente la liberación de activos provenientes de microcápsulas siguen una cinética de primer orden.



La cinética de primer orden puede ser descrita usando la ley de Fick:

$$J = -D \frac{dc}{dx}$$

Donde J , es el flujo y D , el coeficiente de difusión, dc/dx es el gradiente de concentración, donde c , es la concentración y x la distancia recorrida en movimiento perpendicular a la superficie de la barrera (**L. Rogers, T. & Wallick D., 2014**).

Algunas pruebas que se pueden realizar para determinar el grado de hinchamiento o la erosión de las microcápsulas, son realizadas conforme al peso de la muestra respecto al tiempo, en una prueba de disolución, por ejemplo:

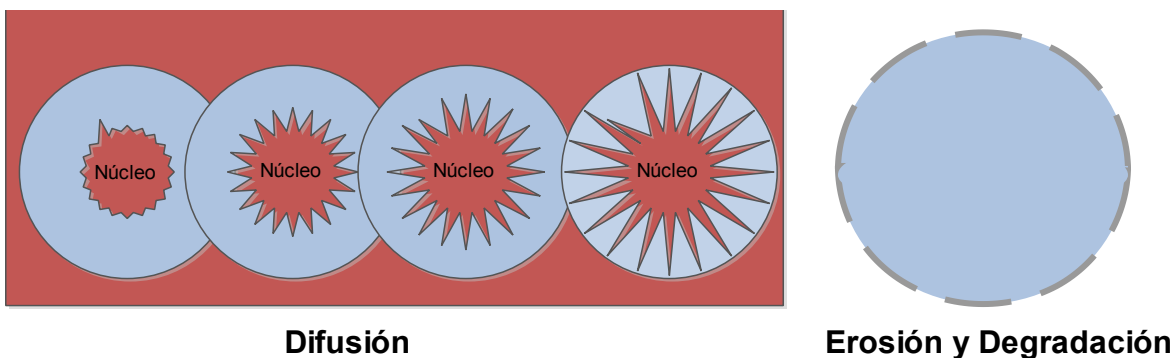
$$\% \text{ Grado de hinchamiento} = \frac{m_t - m_r}{m_r} \times 100\%$$

$$\% \text{ erosión} = \frac{m_0 - m_r}{m_0} \times 100\%$$

Donde m_t , es el peso de las esferas hinchadas después de la hidratación, m_r , es el peso remanente de las capsulas **secas** después de la hidratación, m_0 , es el peso inicial antes de ser puestas en el medio de disolución (**Zvonar, A.; Bolko, K.; Gašperlin, M., 2012**).



Fig.25. *Difusión del activo a través de la microcápsula y salida del activo mediante las fisuras en procesos de erosión y degradación.*



Generalmente, la prueba de liberación se lleva a cabo mediante aparatos de disolución convencionales, colocando una cantidad definida de microcápsulas con un porcentaje de encapsulamiento bien definido.

El buffer o medio de disolución es seleccionado de acuerdo a métodos analíticos validados provenientes de farmacopeas (medio oficial USP, FEUM, EP) o utilizando un medio que asegure las condiciones sink. Los aparatos de disolución más utilizados son el de canastilla y el de paletas.

Las pruebas se llevan a cabo mediante la toma de alícuotas a tiempos definidos, las muestras se filtran y se cuantifica el activo mediante diversos métodos como espectrofotometría o cromatografía acoplados a diferentes detectores.



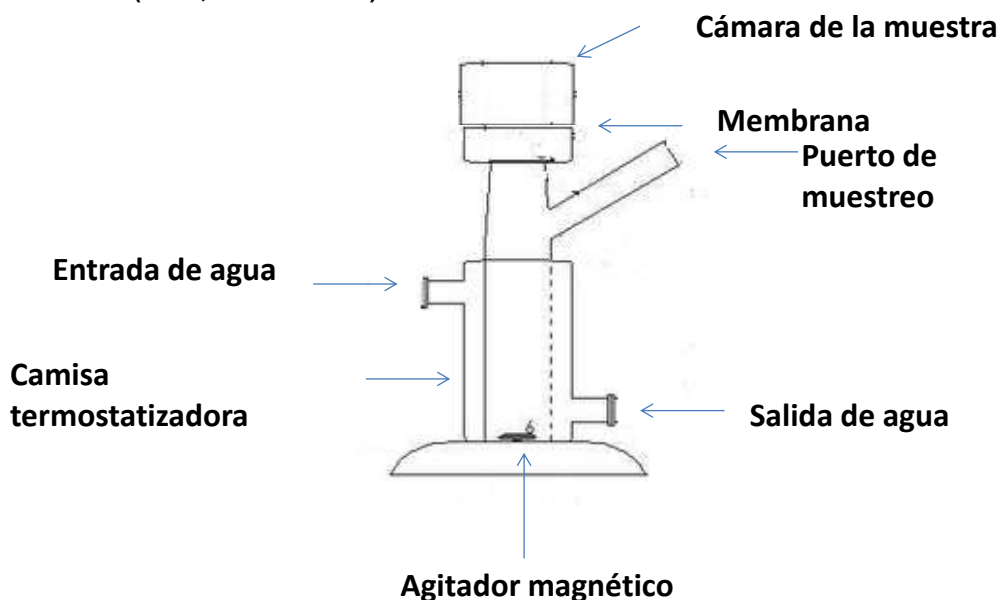
7.3.2 Permeación

La permeación se define como la capacidad de alguna sustancia de atravesar una pared semipermeable. Las celdas de difusión de Franz (Fig. 26) constituyen el equipo más utilizado para determinar la capacidad de permeación de una formulación.

Esta prueba es útil para productos cosméticos o de aplicación tópica en los que se desea obtener la capacidad de penetración o permeación del activo a través de la piel, ya que se pueden utilizar como membranas cortes de piel humana, animal o membranas sintéticas sobre la celda de difusión mimetizando el sistema membranal de la piel.

Fig.26. Esquema de una celda de Franz. La cámara de la muestra contiene la formulación, conforme se libera el activo pasa a través de la membrana hacia el otro compartimento, el cual contiene un agitador para homogenizar el líquido, el sistema puede simular condiciones de temperatura empleando un recirculador. El puerto de muestreo permite monitorear la permeación.

Tomada de (2014, M. Zuo et al.)





7.4 Evaluación in vivo

Las pruebas *in vivo* son variadas y el modelo animal, la toma y número de muestras dependen del padecimiento que se busca tratar.

Sin embargo, la mayoría consiste en administrar la dosis terapéutica equivalente del activo en animales y mediante muestras biológicas se monitorea la liberación del activo. Por ejemplo, Pal y Nayak realizaron estudios *in vivo* para evaluar el efecto de glicazida microencapsulada en ratas diabéticas, monitoreando muestras sanguíneas en las que se determinó la cantidad de glucosa (**Dilipkumar Pal & Amit Kumar Nayak, 2011**).



8.- PRODUCTOS FARMACÉUTICOS FORMULADOS COMO MICROCÁPSULAS

Tabla 9. Productos farmacéuticos que se han desarrollado en base a microcápsulas, con diferentes formas farmacéuticas y diversas vías de administración.				
PRODUCTO	INGREDIENTE ACTIVO	FORMA DE DOSIFICACIÓN	DESARROLLADOR /COMERCIALIZADOR	INDICACIÓN
Cipro®	Ciprofloxacino	Oral	Bayer Inc.	Infección microbiana
Cardioviva™	Lactobacillus reuteri NCIMB 30242	Oral	Micropharma Ltd.	Hipercolesterolemia
Micro-K® Extencaps®	Cloruro de potasio	Oral	KV Pharmaceutical Co.	Hipocalcemia
Nopap™	Paracetamol	Oral	Mayne Pharma International	Dolor y fiebre
Sandimmun Neoral®	Ciclosporina A	Oral	Novartis Int. AG	Artritis reumatoide
Fortovase®	Saquinavir	Oral	Roche	VIH
Norvir®	Ritonavir	Oral	Abbott Laboratories	VIH
Tagravit™	Vitamina A, E y F	Transdérmico	Tagra Biotechnologies Ltd.	Envejecimiento
Trioxil®	Ginsen y extractos hamamelis, árnica	Transdermico	DS Laboratories	Bacteria <i>Propionibacterium acnes</i> y hongos Antiacné
Lupron depot	Leuprolide	Suspensión inyectable	Abbott Laboratories	Anticancerígeno
Sandostatin LAR	Octeoctrida	Suspensión inyectable	Novartis	Acromegalia
Nutropin depot	Somatropina	Suspensión inyectable	Genentech Inc.	Crecimiento de tejido óseo
Trelstar depot	Triptorelina	Suspensión inyectable	Watson Pharma, Inc.	Cáncer de prostata



Tabla 10.
Productos farmacéuticos con microcápsulas, formas de fabricación y el propósito de microencapsulación.

PRODUCTO	FORMA FARMACÉUTICA	TÉCNICA DE FABRICACIÓN	PROPÓSITO DE MICROENCAPSULACIÓN
Cipro®	Suspensión para reconstituir	Aspersión en lecho fluido	Enmascarar sabor
Cardioviva™	Capsulas	Extrusión	Inmovilizar activos biológicos
Micro-K® Extencaps®	Capsulas	Coacervación	Liberación modificada
Sandimmun Neoral®	Capsulas y solución oral		Liberación modificada
Fortovase®	Capsulas		
Tagravit™	Polvo, incluido en cosméticos para la piel	Eliminación de disolvente (evaporación de disolvente modificada)	Liberación modificada /protección
Lupron depot	Polvo/suspensión		
Sandostatin LAR	Polvo reconstituible inyectable		Liberación modificada
Nutropin depot	Polvo para reconstituir		Liberación prolongada
Trelstar depot	Polvo para reconstituir		

Los productos que se han comercializados con microcápsulas, han tomado parte ligeramente hacia la liberación modificada, sin embargo no se deja de lado las múltiples virtudes de este tipo de sistemas de encapsulamiento de activos, como lo son enmascaramiento de sabor, protección de los activos encapsulados etc. Así mismo hoy en día las investigaciones sobre nuevos productos que podrán salir a la venta en un futuro no muy lejano se enfocan a la inmovilización de células y el direccionamiento de activos hacia el sitio de acción, así como terapias génicas.



9.- PERSPECTIVAS

Los avances en el diseño de microcápsulas como sistemas acarreadores de fármacos juegan un papel importante en el desarrollo de nuevas sistemas acarreadores de fármacos. Su capacidad de encapsular a una gran variedad de activos, protegerlos del medio ambiente, mejorar su estabilidad, controlar la liberación y la gran variedad de técnicas y materiales disponibles para su fabricación, son ventajas atractivas para la dosificación de fármacos.

Son varios los aspectos que se siguen explorando y perfeccionando cuando se habla microcápsulas, tal vez uno de los más importantes es el desarrollo de materiales de recubrimiento, en este campo se busca incursionar empleando nuevos polímeros y materiales con propiedades biocompatibles y biodegradables, que faciliten el control en la liberación y mejoren la estabilidad de las microcápsulas obtenidas **(Guo Rui y Lee D, 2013)**. También se busca impulsar el uso de polímeros inteligentes capaces de responder a estímulos físicos o químicos dentro del cuerpo tales como temperatura y pH. Con este enfoque se han aplicado polímeros capaces de controlar la liberación de fármacos antineoplásicos mediante estímulos térmicos pues se ha observado que la temperatura de las masas tumorales se encuentra ligeramente arriba de los 37°C, por lo que el estudio abre un nuevo enfoque sobre tratamientos contra el cáncer **(Costa RR, et al., 2013)**.



Siguiendo con las propiedades de los polímeros varios grupos de investigación se han interesado en su modificación química con la finalidad de proporcionar mayor estabilidad a la membrana, propiciar la formación de poros, adicionar polímeros o monómeros que se ajustan como capas externas sobre la membrana ya formada con la finalidad de hacer más lenta la liberación. La investigación también se centra en la aplicación de nuevos agentes entrecruzantes no tóxicos como el ácido tánico, el glicerol y la transglutaminasa, para ayudar a dar estabilidad a la membrana de la microcápsula.

Otro enfoque reciente es la microencapsulación de células, esta técnica consiste en la inmovilización de materiales bioactivos (principalmente células), al interior de microcapsulas. La membrana polimérica permite el libre paso de nutrientes y oxígeno así como la salida de productos proteínicos terapéuticos (**G. Orive, et al., 2013**). Los estudios desarrollados con las células microencapsuladas han proporcionado resultados prometedores para el tratamiento de enfermedades como la anemia, el cáncer, la regeneración de tejidos y las enfermedades neurológicas.

El targeting o direccionamiento a órganos y tejidos específicos constituye otro reto para el desarrollo de microcapsulas. Los trabajos realizados en este campo se centran en la modificación de la membrana polimérica, acoplado ligandos específicos hacia receptores celulares de membrana, de esta manera la microcápsula podría introducirse al citoplasma por algún mecanismo celular o podría permanecer cerca de la célula mientras se lleva a cabo la liberación del



activo. Una de las principales aplicaciones de este enfoque es la terapia antineoplásica pues la liberación localizada del fármaco puede evitar los efectos adversos característicos de este tipo de tratamientos.

Finalmente, uno de los retos más importantes radica en la microencapsulación de fragmentos de ADN o ARN dirigidos a la aplicación de terapias génicas, en donde material genético externo se aplica a los pacientes con la finalidad de que sustituya, apague o enciende genes que se encuentren defectuosos. Así las microcápsulas constituirían un excelente acarreador, pues las condiciones a las que se fabrican así como las ventajas que proporcionan son ideales para este tipo de moléculas.



10.- CONCLUSIONES

- Se describieron y ejemplificaron las técnicas más utilizadas para la fabricación de microcápsulas poliméricas como acarreadores de moléculas activas.
- Se determinaron las ventajas y desventajas de cada técnica.
- Se propuso una clasificación de las técnicas presentadas basada en su fundamento.
- Se describieron las pruebas más utilizadas para la caracterización de las microcápsulas poliméricas.
- Se enlistaron los productos que han sido formulados como microcápsulas.
- Se mencionaron las perspectivas más relevantes sobre el tema, en particular terapias génicas, aplicación de nuevos polímeros y encapsulación de células humanas.



11. – BIBLIOGRAFÍA

1. Adamson W. Arthur & P. Gast, Alice. *Physical chemistry of Surface*. Sexta edición. USA: A Wiley-interscience publication, 1997. Pag 294.
2. Adapted from Ranade, V.V., *Drug delivery systems*. 3A. Role of polymers in drug delivery, *J.Clin. Pharmacol.*, 30, 10, 1990; and 3B. Role of polymers in drug delivery, *J. Clin. Pharmacol.*, 30,107, 1990. With permission of J. Clin. Pharmacol. and J.B. Lippincott Publishing Company, Philadelphia, PA.
3. Adapted from Ranade, V.V., *Drug delivery systems*. 5A. Oral drug delivery, *J. Clin. Pharmacol.*,31, 2, 1991 and 5B. Oral drug delivery, *J. Clin. Pharmacol.*, 31, 98, 1991. With permission of J. Clin. Pharmacol. and J.B. Lippincott Publishing Company, Philadelphia, PA.
4. A. Jamekhorshid; S. M. Sandrameli; M. Farid. A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 31 (2014): 531-542.
5. Alves, F. Suzana, et al. Microencapsulation of Essential Oil from Fruits of *Pterodon emarginatus* Using Gum Arabic and Maltodextrin as Wall Materials: Composition and Stability. *Drying Technology: An International Journal*, (2014): 32:1, 96-105, DOI: 10.1080/07373937.2013.816315
6. Brun-Graepi, A.K.A.S. et al. Review Cell microcarriers and microcapsules of stimuli-responsive polymers. *Journal of Controlled Release*, 149 (2011): 209–224.
7. Butstraen, C. & Salaün, F. Preparation of microcapsules by complex coacervation of gum Arabic and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 99 (2014): 608– 616.
8. Calafiore, R. & Basta, G. Clinical application of microencapsulated islets: Actual prospectives on progress and challenges. *Adv. Drug Deliv. Rev.* (2013): <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2013.09.020>.
9. Costa R.R, et al. Nanostructured and thermoresponsive recombinant biopolymer-based microcapsules for the delivery of active molecules. *Nanomedicine: NBM*, 9 (2013): 895-902.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.nano.2013.01.013>.
10. C.-X. Zhao. Multiphase flow microfluidics for the production of single or multiple emulsions for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 65 (2013): 1420–1446.
11. Dilipkumar Pal & Amit Kumar Nayak. Development, Optimization, and Anti-diabetic Activity of Gliclazide-Loaded Alginate–Methyl Cellulose



- Mucoadhesive Microcapsules. *AAPS PharmSciTech*, Vol. 12, No. 4, (December 2011).
12. Farias, M.; De Luxan P. M.; Sánchez de Rojas, I. M. Espectrometría de difracción por rayos laser. *materiales de construcción*, Vol. 38, No. 21 2, (Diciembre 1988).
 13. Griskey G. Richard. *Transport phenomena and unit operations a combined approach*. USA: Wiley-Interscience, 2002. Pags. 367-382.
 14. Guo, Rui & D. Wilson, Lee. Cyclodextrin-Based Microcapsule Materials - Their Preparation and Physicochemical Properties. *Current Organic Chemistry*, 17 (2013): 14-21.
 15. H. Yan & C. Kim. Formation of monodisperse silica microparticles with various shapes and surface morphologies using double emulsion templates. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 443 (2014): 88–95.
 16. Jun-Xia, Xiao, et. al. Microencapsulation of Capsanthin by Soybean Protein Isolate-Chitosan Coacervation and Microcapsule Stability Evaluation. *J. APPL. POLYM. SCI.* 2014, DOI: 10.1002/APP.39671.
 17. Katsuhiko, Sato, et. al. pH- and sugar-sensitive layer-by-layer films and microcapsules for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63 (2011): 809–821.
 18. Keng-Shiang Huang, et. al. Electrostatic droplets assisted synthesis of alginate microcapsules. *Drug Deliv. and Transl. Res*, 1 (2011):289–298.
 19. Kogure, T. Electron Microscopy. *Handbook of Clay Science, Developments in Clay Science*, Vol. 5B. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-08-098259-5.00011-1> © 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.
 20. Kondo K.; Niwa, Toshiyuki; Dnajo, Kazumi. Preparation of sustained-release coated particles by novel microencapsulation method using three-fluid nozzle spray drying technique. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 51 (2014): 11–19.
 21. K. Solanki, Himanshu, et. al. Development of Microencapsulation Delivery System for Long-Term Preservation of Probiotics as Biotherapeutics Agent. *BioMed Research International*, Volume 2013, Article ID 620719, 21 pags.
 22. Lippmann, Irwin, et. al. *Hydrophilic surfactant*. US 4259315 A. Mar, 1981.
 23. L. Rogers, T. & Wallick D. Reviewing the use of ethylcellulose, methylcellulose and hypromellose in microencapsulation. Part 1: materials used to formulate microcapsules. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 38(2) (2012): 129–157.
 24. LS Instruments. Dynamic Light Scattering: Measuring the Particle Size Distribution. Revisada el 27 de septiembre de 2014, http://www.lsinstruments.ch/technology/dynamic_light_scattering_dls/.



25. L. Wise, Donald (ed). *Handbook of pharmaceutical controlled release technology*. New York: Marcel Dekker inc., 2000. Pags. 271-285, 302, 330, 338.
26. Martínez Nistal, Angel. *Microscopia Laser Confocal*. Servicio de proceso de imágenes. Universidad de Oviedo.
27. Mazo, P.; A Rios, Luis; Restrepo, Gloria. Síntesis de microcápsulas de poliurea a partir de aminas renovables, mediante doble emulsificación. *Polímeros*, vol. 21, nº 2, (2011):123-130.
28. Meyer, R. Rosen (ed). *Delivery System Handbook for Personal Care and Cosmetic Products. Technology, Applications, and Formulations*. USA: William Adrew publishing, 2005. Pags: 181-256.
29. M. Jaganathan ; D. Madhumitha; A. Dhathathreyan. Protein microcapsules: Preparation and applications. *Adv. Colloid Interface Sci*, (2014): <http://dx.doi.org/10.1016/j.cis.2013.12.004>.
30. M. Li; Rouaud, Oliver; Poncelet, Denis. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. *International Journal of Pharmaceutics*, 363 (2008): 26–39.
31. Möschwitzer, Jan. The Role of Particle Size Analysis in the Development Process of Nanosized Drug Products. *American pharmaceutical review*, Volume 13, issue 6 (2010).
32. M. Shchukina, E. & G. Shchukin D. LbL coated microcapsules for delivering lipid-based drugs. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63 (2011): 837–846.
33. M. Zuo et al. Preparation and characterization of microcapsules containing ammonium persulfate as core by in situ polymerization. *Chemical Engineering Journal*, 249 (2014): 27–33.
34. N. Azizi, et.al. Isosorbide-based microcapsules for cosmeto-textiles. *Industrial Crops and Products*, 52 (2014): 150– 157.
35. Nieto Maclas, Fernando. Los Minerales a la Luz del TEM. Algo Más que Alta Resolución. *Revista de la sociedad española de mineralogía*, No. 8 (2008): 17-21.
36. N. Marreto Ricardo, et al. Impact of Cross-linking and Drying Method on Drug Delivery Performance of Casein–Pectin Microparticles. *AAPS PharmSciTech*, Vol. 14, No. 3, (September 2013): 1227-1235.
37. N. V. N. Jyothi, et al. Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency. *Journal of Microencapsulation*, 27(3) (2010): 187–197.
38. Orive, G. et al. Application of cell encapsulation for controlled delivery of biological therapeutics. *Adv. Drug Deliv. Rev*, (2013): <http://dx.doi.org/10.1016/j.addr.2013.07.009>.



39. Patología + rehabilitación + construcción, web de información y formación para profesionales y estudiantes. *La microscopia electrónica de barrido SEM (I) concepto y usos*. Revisada el 27 de septiembre de 2014, <http://www.patologiasconstruccion.net/2012/12/la-microscopia-electronica-de-barrido-sem-i-concepto-y-usos/>.
40. P.L. Lam & R. Gambari. Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and in vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries. *Journal of Controlled Release*, 178 (2014): 25–45.
41. Pollinger, Norbert, et. al. *Flavor-masked pharmaceutical compositions*. US 5695784 A. Dic, 1997.
42. Prakash, Satya & Lawrence Jones, Mitchell. *Cell and enzyme compositions for modulating bile acids, cholesterol and triglycerides*. US 7939061 B2. May 2011.
43. Rathore, S. et al. Microencapsulation of microbial cells. *Journal of Food Engineering*, 116 (2013): 369–381.
44. Renade, V. Vasant & Cannon, B. Jhon. *Drug Delivery Systems*. 3a ed. USA: CRC press, 2011. Pag. 413.
45. Rocha-Selmi, Glaucia A.; Favaro-Trindade, Carmen S.; F. Grosso, Carlos R. Morphology, Stability, and Application of Lycopene Microcapsules Produced by Complex Coacervation. *Journal of Chemistry*, Volume 2013, Article ID 982603.
46. S.-H. Kim & B. Kim. Controlled formation of double-emulsion drops in sudden expansion channels. *Journal of Colloid and Interface Science*, 415 (2014): 26–3.
47. Sympatec GmbH System-Partikel Technic. Photon Correlation Spectroscopy. Revisada el 27 de septiembre de 2014, <https://www.sympatec.com/EN/PCCS/PCS.html>.
48. Swarbrick James & C. Boylan James (eds.). Microsphere technology and applications. En *Encyclopedia of pharmaceutical technology*, Vol. 2, 2a edición. New York: Marcel Dekker, Inc. 2002. Pags. 1783-1792.
49. Swarbrick James ed. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. Vol. 1, 3a edición. USA: Informa Healthcare, 2007. Pag 2083.
50. T. Koupantsis; E. Pavlidou; A. Paraskevopoulou. Flavour encapsulation in milk proteins e CMC coacervate-type Complexes. *Food Hydrocolloids*, 37 (2014): 134-142.
51. Tscharnuter, Walther. Photon Correlation Spectroscopy in Particle Sizing. *Encyclopedia of Analytical Chemistry*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester, 2000; 5469–5485.



52. Y. Wang, et al. Preparation of microcapsules containing antimicrobial lipopeptide from *Bacillus amyloliquefaciens* ES-2 by spray drying. *LWT - Food Science and Technology*, 56 (2014): 502-507.
53. Zuobing, Xiao et. al. A review of the preparation and application of flavor and essential oils microcapsules based on complex coacervation technology. *J Sci Food Agric*, (2013), wileyonlinelibrary.com DOI 10.1002/jsfa.6491.
54. Zvonar, A.; Bolko, K.; Gašperlin, M. Microencapsulation of self-microemulsifying systems: Optimization of shell-formation phase and hardening process. *International Journal of Pharmaceutics*, 437 (2012): 294– 302