

34



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES

U. N. A. M.

CUAUTITLAN

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de

"PREPARACION DE EMULSIONES SUBMICRONICAS POR EL METODO DE EMULSIFICACION-DIFUSION"

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

OFELIA JASHA LOPEZ MORALES

ASESORES: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO

DRA. ADRIANA GANEM RONDERO

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

2002

TESIS CON FALLA DE ORIGEN



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.



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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL
 AUTÓNOMA DE
 MÉXICO

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

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

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

**"Preparación de emulsiones submicrónicas
 por el método de emulsificación-difusión".**

que presenta la pasante: **Ofelia Jasha López Morales**
 con número de cuenta: **9452168-7** para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

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

A T E N T A M E N T E
 "POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
 Cuautitlán Izcalli, Méx. a 03 de Abril de 2002

PRESIDENTE Ph.D. Juan Manuel Aceves Hernández

VOCAL D.A.R. Juan José Díaz Esquivel

SECRETARIO Dr. David Quintanar Guerrero

PRIMER SUPLENTE M. en C. Rafael Villalobos García

SEGUNDO SUPLENTE Q.F.B. Enrique Amador González

DEDICATORIAS

A mis padres, Ofelia y José en respuesta a su amor,
apoyo, comprensión y confianza.

A mi hermano, Isaác, por su apoyo y cariño.

A Mauro, por su gran apoyo, por la
seguridad y amor brindado.

A mis amigos, que con ningún interés me brindaron
su apoyo y ayuda en todo momento; especialmente a
Elizabeth Piñon, Enrique Sánchez y Rubén Tecuapetla.

AGRADECIMIENTOS

A Dios.

A mis padres, por ser un gran ejemplo de superación.

A Mauro, por darme ánimos para seguir adelante hasta concluir esta meta.

A Nestor Chávez, por su valiosa ayuda, para llevar a buen término el presente trabajo.

A Adriana Ganem y a David Quintanar, por su asesoramiento y gran apoyo brindado en la realización de este trabajo.

Al Técnico Draucín Jiménez del Taller de soplado de vidrio de la FES-C, por su asistencia para la fabricación de algunas piezas utilizadas en este trabajo.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	i
ÍNDICE DE FIGURAS	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
I. GENERALIDADES	1
1.1 Emulsiones	1
1.2 Métodos de preparación	1
1.3 La etapa de homogenización	3
II. MICROEMULSIONES	5
2.1 El cosurfactante	5
2.2 Selección de componentes	6
2.3 Tipos de surfactantes comúnmente usados en microemulsiones	6
III. MÉTODO DE EMULSIFICACIÓN-DIFUSIÓN	8
IV. GENERALIDADES DE FILTROS SOLARES	10
4.1 Clasificación de filtros solares según su aplicación	10
4.2 Características óptimas de un filtro solar	10
4.3 Tipos químicos	11

V. OBJETIVOS	13
5.1 Objetivo General	13
5.2 Objetivos Particulares	13
VI. HIPÓTESIS	13
VII. PARTE EXPERIMENTAL	15
7.1 Materiales y Reactivos	15
7.2 Instrumentos y equipos	15
7.3 Preparación de emulsiones	15
7.4 Preparación de emulsiones submicrónicas	16
7.5 Evaluaciones	17
VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	18
IX. CONCLUSIONES	30
X. PERSPECTIVAS	31
XI. REFERENCIAS	32

LISTA DE FIGURAS

	Página
1. Representación esquemática de la preparación de emulsiones submicrónicas por la técnica de emulsificación – difusión	9
2. Estructura química del octil metoxicinamato	12
3. Hipótesis de la potencial formación de emulsiones submicrónicas por el método de emulsificación-difusión.	14
4. Representación esquemática de la preparación de emulsiones submicrónicas por la técnica de emulsificación-difusión	17
5. Emulsiones y emulsiones submicrónicas preparadas a diferentes concentraciones de OMC, a 3900 rpm (5% PVAL como estabilizante)	20
6. Emulsiones y emulsiones submicrónicas preparadas a diferentes velocidades de agitación (3% OMC y 5% PVAL como estabilizante)	21
7. Emulsiones y emulsiones submicrónicas evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento a 3900 rpm (0.5% OMC y 5% PVAL como estabilizante).	22
8. Emulsiones y emulsiones submicrónicas evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento a 3900 rpm (1% OMC y 5% PVAL como estabilizante)	23
9. Emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes (3% OMC y 6500 rpm).	25
10. Emulsiones y emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes estabilizantes (6500 rpm y 3% OMC).	26
11. Emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes (3%OMC, 6500 rpm), sin choque térmico y con choque térmico	26
12. Emulsiones submicrónicas evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento con diferentes porcentajes de OMC, 5% PVAL y 3900 rpm.....	27
13. Emulsiones a diferentes tiempos de almacenamiento preparadas con diferentes concentraciones de OMC, 5% PVA como estabilizante y 3900 rpm.....	28

LISTA DE TABLAS

	Página
1. Emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes	
(3% OMC y 6500rpm).	24
2. Emulsiones convencionales preparadas a diferentes tiempos de almacenamiento,	
con diferentes porcentajes de estabilizantes (3% OMC y 6500rpm).	29

LISTA DE ABREVIATURAS

I. GENERALIDADES

1.1. EMULSIONES

Una emulsión es un sistema termodinámicamente inestable, que está formado por lo menos de dos líquidos inmiscibles uno que está, íntimamente disperso en otro en forma de pequeños glóbulos, con un diámetro de entre 0.5 a 100 μm . Las emulsiones poseen una estabilidad mínima la cual es elevada por la presencia de un agente activo de superficie (Lieberman et.al, 1988).

En las emulsiones una de las fases es acuosa y la otra es oleosa, si el aceite es la fase dispersa la emulsión se denomina aceite/ agua (o/v); y si el medio acuoso es la fase dispersa, la emulsión será de agua /aceite (w/o). Existen otros tipos de emulsiones denominadas emulsiones múltiples, las cuales son sistemas más complejos en donde las gotas de la fase dispersa contienen un gran número de gotitas dispersas, que normalmente consisten de un líquido miscible y en muchos de los casos idénticos a la de la fase continua, esto es, son emulsiones de emulsiones (Carstensen et.al, 1973a).

1.2 Métodos de preparación de emulsiones

En el procesamiento de emulsiones, el método y velocidad de adición de las fases y de emulsificación, el control de la temperatura, la cantidad y tipo de emulsificante(s) y la velocidad de enfriamiento después del mezclado, tienen efecto considerable sobre la distribución del tamaño de las gotas, la viscosidad, y la estabilidad final de la emulsión (Lieberman et.al, 1988).

En la preparación de emulsiones aceite en agua, la fase oleosa es usualmente adicionada a la fase acuosa. Sin embargo, la técnica de inversión de fases es también empleada, la cual consiste, en la lenta adición de la fase acuosa a la fase oleosa. Por este procesamiento de inversión, inicialmente se forma una emulsión agua / aceite, conforme la adición continúa, se llega al llamado punto de inversión donde se forma una emulsión aceite / agua. Al preparar emulsiones agua en aceite, la fase acuosa es adicionada lentamente a la fase oleosa con agitación constante. Estas emulsiones son posteriormente homogenizadas para reducir el tamaño de los glóbulos, con lo cual se incrementa la estabilidad y mejora el brillo de la emulsión.

En la práctica de preparación con compuestos activos y excipientes, es común formular las emulsiones preparando la fase oleosa con todos los ingredientes solubles en aceite y calentarlos a aproximadamente 5 – 10 °C arriba del punto de fusión del ingrediente de mayor punto de fusión. Los componentes de la fase acuosa son disueltos en agua desionizada, a la misma temperatura de la fase oleosa. Un principio activo hidrosoluble puede ser adicionado a la fase acuosa en este punto, aunque si el activo es termolábil éste podrá ser adicionado en solución una vez que la emulsión se ha enfriado.

Después de que la emulsión se ha formado a una elevada temperatura, la velocidad de enfriamiento es extremadamente importante ya que determina la textura y la consistencia final de la emulsión. Esto es atribuido al tipo de cristalización de algunos componentes de alto peso molecular, tales como ceras, ácido esteárico, alcohol cetílico, y monoestearato de glicerilo, entre otros.

Si se incluyen gomas ó polímeros, estos podrían ser completamente hidratados o disueltos en la fase acuosa antes del paso de emulsificación. Si la goma ó polímero es sensible al calor, podría ser necesario incorporarlo en solución después que la emulsión ha sido formada. La operación de mezclado o agitación son críticas en la preparación de las emulsiones ya que determinan el grado de dispersión y tamaño de partícula del glóbulo. La temperatura de mezclado puede ser disminuida a pocos grados si el punto de fusión de la fase oleosa es suficientemente bajo para prevenir la cristalización prematura o congelamiento de estos componentes. Si se disminuye la temperatura a la cual las fases son mezcladas, el tiempo de enfriado decrece, el cual es un factor determinante cuando el tamaño del lote es grande. Las propiedades de algunas emulsiones tales como viscosidad y gravedad específica son dependientes de la temperatura a la cual las fases son mezcladas. La temperatura inicial de mezclado puede ser arriba de 70 a 72° C, ya que el mezclado íntimo de los componentes a nivel de monocapas no puede ocurrir inmediatamente después que la emulsión se ha formado.

Siguiendo la adición de fases, la velocidad de enfriamiento es generalmente lenta, para permitir una mezcla adecuada mientras la emulsión es aún líquida. La temperatura del medio de enfriamiento en la marmita enchaquetada podría ser todavía gradualmente disminuida a una temperatura semejante a la de la emulsión para prevenir la formación de masas congeladas de la pomada o crema, especialmente cuando el semisólido contiene un gran porcentaje de sustancias de alta temperatura de fusión. Un principio activo hidro- ó liposoluble puede ser agregado disuelto en su correspondiente fase (aceite ó agua) o bien como cristales, siempre y cuando sea soluble en la fase externa. Para principios activos

de baja solubilidad en ambas fases, se recomienda dispersarlo durante el proceso de enfriamiento (40°C) dando un tiempo para su homogenización dentro del sistema.

Una vez que la emulsión ha sido formada el ajuste del contenido final de agua de una emulsión agua en aceite no es fácil. Para determinar la cantidad de agua evaporada en el proceso de calentamiento, son necesarias varias corridas, esta agua deberá ser añadida a la cantidad requerida al empezar su preparación. La película de aceite que rodea cada gotita de agua emulsificada en una emulsión agua en aceite tiende a retardar la evaporación, así que la pérdida de agua en este tipo de emulsificación no es excesiva. Las emulsiones farmacéuticas han sido las más estudiadas y empleadas para la administración de fármacos pero su uso ha disminuido a lo largo del tiempo principalmente por que se ha incrementado la necesidad de crear formulaciones que puedan prolongar y controlar la liberación de sustancias activas; además ha habido un interés creciente en muchas formas de dosificaciones sólidas como tabletas, cápsulas, microesferas, microcápsulas etc. Sin embargo, las emulsiones son fáciles de preparar y relativamente poco costosas, por lo que siempre serán atractivas de formular para ciertas aplicaciones las cuales serán consideradas de acuerdo a su uso parenteral, oral o tópico.

1.3 La etapa de Homogenización

El efecto de la temperatura es de gran importancia en la calidad de la emulsión final. Cuando se preparan lotes a nivel piloto es ventajoso hacer al menos una muestra en la cual el ciclo de enfriamiento es seguido de una etapa de homogenización en un cuarto tibio y enfriando lentamente en baño de agua donde pueda ser controlada la velocidad de enfriamiento. Las cremas o pomadas que requieren un postratamiento son entonces transferidas a un homogenizador apropiado, cuya selección es determinada por el grado y velocidad de fuerza de cizalla requerida. Algunos equipos de este tipo incluyen dispositivos con baja velocidad de impulso de cizalla, molino de cilindros, molino coloidal, homogenizador tipo válvula, homogenizador ultrasónico y microfluizadores.

Los homogenizadores pueden ser usados en dos formas:

- a) Los ingredientes de la emulsión son mezclados y entonces se pasan a través del homogenizador para obtener el producto final.

b) La emulsión es previamente preparada y entonces se pasa a través de un homogenizador con el propósito de disminuir el tamaño de partícula (Carstensen et.al, 1973).

El uso de un homogenizador es recomendado cuando se quiere obtener una emulsión monodispersa de bajo tamaño de partícula (en general de 1 μm ó menos). Reológicamente, la homogenización frecuentemente incrementa la consistencia de una emulsión semisólido porque ésta aumenta el número de partículas emulsificadas. Esto puede también tener un efecto contrario, esto es, la disminución de la viscosidad del producto debido al efecto electrolítico. La consistencia también es afectada por el número de pases a través del homogenizador. La homogenización puede también ser realizada por el uso de energía ultrasónica. Estos homogenizadores sónicos usan la fuerza de fluido dinámico de los líquidos para producir ondas de sonido por ellas mismas, las cuales son útiles para la preparación de emulsiones fluidas con moderada viscosidad y tamaño de partícula extremadamente bajo (Lieberman et.al, 1988).

II. MICROEMULSIONES

Las microemulsiones se distinguen claramente de las emulsiones "verdaderas" en que éstas son transparentes u opalescentes, merced a la dispersión extremadamente fina de los glóbulos de agua y aceite (con un tamaño aproximado de 30 - 300 nm). Los preparados son física y termodinámicamente estables y constan igualmente de aceite, agua, sustancias tensoactivas y eventualmente de un alcohol de bajo peso molecular. En general se requieren altas concentraciones de estabilizantes (>15%) por ejemplo dioctil sulfosuccinato de sodio (Aerosol OT). Sin embargo, estos materiales son generalmente irritantes, lo que puede limitar su aplicación. El nombre "microemulsión", en ocasiones es restringido a sistemas en los cuales la talla de partícula de la fase dispersa tiene un tamaño lo suficientemente pequeño para que las propiedades físicas de ésta (aceite o agua) sean indistinguibles de aquellas que corresponden al volumen de la fase continua. Esto concuerda con la definición propuesta por Danielson y Lindman (1981) quienes consideraron una microemulsión como un sistema de agua, aceite y material activo de superficie el cual es óptimamente isotrópico y termodinámicamente estable como una solución líquida. El concepto de una microemulsión así descrita incluye soluciones micelares, micelas invertidas, núcleos o gotitas de agua o aceite y estructuras bicontinuas (Kreuter, 1994).

La transparencia de microemulsiones surge de su pequeño diámetro de gota, típicamente menos de 140 nm. Tales diminutos glóbulos producen solamente dispersión de picos de luz visible cuando son comparados con aquellos glóbulos grandes de emulsiones normales (1-10 μm). Una diferencia esencial entre microemulsiones y emulsiones es que las primeras se forman espontáneamente y, pueden no requerir exhaustivo trabajo mecánico para su formación. Esta es una distinción muy importante entre los dos sistemas.

Inspeccionando la literatura de patentes, se reportan varias "microemulsiones" conteniendo fosfolípidos, que pueden ser solamente preparadas por sonicación prolongada o microfluidización de los componentes. A pesar de su pequeño tamaño de glóbulo y consecuente transparencia, estas no son reales microemulsiones, al menos de acuerdo a la definición generalmente aceptada para estos sistemas. Entonces, una característica importante de microemulsiones desde el punto de vista de formulación es su estabilidad física y termodinámica.

Las emulsiones normales coalescen por un proceso conocido como maduración de Ostwald (transferencia del material de pequeñas gotitas a las más grandes), puesto que estos procesos llevan a una disminución del área interfacial y por lo tanto de la energía libre superficial del sistema. En las microemulsiones, la tensión interfacial es suficientemente baja para compensar la entropía de dispersión y los sistemas son termodinámicamente estables (Kreuter, 1994).

2.1 El cosurfactante

En su forma simple, las microemulsiones son diminutos glóbulos de un líquido disperso en otro por virtud de la presencia de una combinación de surfactantes (surfactante primario y cosurfactante) compatibles, pudiendo ser dispersiones de gotitas de aceite en agua (o/w) o gotitas de agua en aceite (w/o). Un requerimiento esencial para su formación y estabilidad física es la obtención de una bajísima tensión interfacial (γ). Considerando que las microemulsiones tienen una gran área interfacial entre aceite y agua, ellas pueden ser termodinámicamente estables si la tensión interfacial es lo suficientemente baja o negativa para hacer que la energía libre de mezclado ΔG_m , expresada como el producto γA (donde A es el área interfacial), tome valores infinitamente pequeños o negativos. Podemos calcular una medida del valor de γ requerido como sigue: ΔG_m está dado por $-T\Delta S_m$ (donde T es la temperatura), y la entropía de mezclado ΔS es del orden de la constante de

Boltzman K_B ; por lo tanto $K_B T = 4\pi r^2 \gamma$, y así para el radio r de una gotita de cerca de 10 nm, una tensión interfacial de 0.03 mNm^{-1} sería suficiente.

Con excepción de surfactantes de doble cadena alquílica y algunos surfactantes no iónicos, no es posible alcanzar el área interfacial requerida con el uso de un solo surfactante. La adición de una segunda molécula anfifílica puede tener efecto aditivo, provocando que la adsorción de una no sea desfavorablemente afectada por la otra y el mezclado no reduzca la disponibilidad de concentración de moléculas de surfactante. A esta segunda molécula anfifílica se le denomina cosurfactante (Kreuter, 1994).

2.2 Selección de componentes

La selección de componentes para microemulsiones de uso farmacéutico involucra principalmente la consideración de su toxicidad, por ejemplo si los sistemas son previstos para su utilización tópica, deben ser consideradas su irritabilidad y propiedades sensibilizantes. Entonces, aunque muchos surfactantes no iónicos presentan alta inocuidad para su uso tópico, su potencial utilización en microemulsiones para administración enteral o parenteral es muy limitado. Los fosfolípidos, particularmente las fosfatidilcolinas (lecitinas) ofrecen una posible alternativa para uso parenteral.

La inclusión de una cadena de longitud corta o mediana de alcoholes como cosurfactantes limita su potencial uso debido a su toxicidad y propiedades irritantes, además de que la evaporación de alcohol puede desestabilizar el sistema (Kreuter, 1994).

2.3 Tipos de surfactantes comúnmente usados en microemulsiones

Por conveniencia, las microemulsiones han sido clasificadas de acuerdo al surfactante usado en su formulación. Los surfactantes más comunes son: catiónicos, aniónicos y no iónicos. Muchos surfactantes no iónicos pueden producir microemulsiones con la adición de un cosurfactante. Los sistemas que han sido generalmente reportados son los producidos a partir de combinaciones de hidrocarburos, agua, y un surfactante no iónico como por ejemplo, glicerol monooleato de

propilenglicol, polioxietileno 23 lauril éter y polioxietilenglicol alquil éter. El dioctil sulfosuccinato de sodio es utilizado como surfactante en la preparación de microemulsiones utilizadas como vehículos para la liberación de fármacos. La combinación de estos surfactantes aniónicos con surfactantes no iónicos en una microemulsión permite la incorporación de grandes cantidades de agua en la preparación.

Es obviamente muy interesante la posibilidad de formar microemulsiones usando fosfolípidos en vista de la baja toxicidad de estos compuestos. La lecitina es también ligeramente lipofílica para formar espontáneamente la curvatura media cero para microemulsiones balanceadas, sin embargo puede ser necesario ajustar el Balance Hidrófilo-Lipófilo (HLB) para desestabilizar las fases lamelares líquido-cristalino, las cuales tienen una fuerte tendencia a formarse en estos sistemas. La alteración del HLB se puede lograr por la adición de cadenas cortas de alcoholes, las cuales hacen al solvente polar menos hidrofílico. Por otro lado, la incorporación de estos cosolventes débilmente anfífilicos en las partes polares de las capas lipídicas incrementa el área de la cabeza lipídica polar para producir la curvatura espontánea requerida por las capas lipídicas; disminuyendo también la estabilidad de la fase lamelar líquido-cristalino.

Un surfactante iónico, tal como dodecilsulfato de sodio, es soluble en agua, y a baja concentración se encuentra ionizado negativamente. Este comportamiento cambia cuando la concentración aumenta más allá de la Concentración Micelar Crítica (CMC). Aproximadamente todo el surfactante en exceso de esta concentración forma estructuras de asociación o micelas (frecuentemente esféricas). En estos sistemas, las cadenas hidrocarbonadas constituyen la parte interna, mientras que los grupos polares son o están en la superficie. La micela tiene un diámetro de aproximadamente 50 Å. Este valor es aproximadamente 1% de la longitud de onda de la luz visible, y las micelas no pueden ser detectadas ópticamente; la solución es por lo tanto, transparente.

Los hidrocarburos, alcoholes de cadena larga, ésteres, ácidos carboxílicos, y otros compuestos orgánicos, los cuales son poco solubles en el agua, pueden ser incorporados y/o disueltos en la parte interna de la micela. Este proceso es llamado solubilización. En general, la solubilización micelar es limitada; generalmente se puede alcanzar una solubilización máxima del 10% por peso. La solubilización más alta se logra después de cambiar esta solución micelar a una microemulsión, en la cual la solubilización puede alcanzar valores muy altos.

El cambio de la solución micelar a microemulsión resulta de adicionar un cosurfactante, típicamente un alcohol de cadena media, tal como el pentanol. La presencia del pentanol lleva a la formación de gotitas de microemulsión, en las cuales el hidrocarburo se localiza en el centro.

De la misma manera, el agua o solución acuosa de sustancias hidrosolubles pueden ser disueltas en fases de hidrocarburos para formar una microemulsión de agua en aceite (w/o) usando una combinación de surfactante iónico y un cosurfactante.

La diferencia más importante entre emulsiones y microemulsiones es el tamaño de los glóbulos. En una microemulsión el tamaño del glóbulo esta por debajo de 0.15 μm y el vehiculo entero es transparente. La emulsión, con grandes glóbulos, usualmente de varios micrómetros, es lechosa. Por otro lado, la microemulsión debe formarse espontáneamente durante la preparación, gracias a una cuidadosa selección de la proporción y la naturaleza de los estabilizadores (Lieberman, 1988).

III. MÉTODO DE EMULSIFICACIÓN-DIFUSIÓN

La técnica propuesta en este trabajo para desarrollar las emulsiones de talla submicrónica ha sido utilizada para la preparación de nanopartículas e involucra el uso de solventes parcialmente miscibles en agua, los cuales son previamente saturados con agua, con la finalidad de garantizar un equilibrio termodinámico inicial de ambos líquidos. El polímero es disuelto en el solvente saturado con agua, y ésta solución orgánica es emulsificada sobre agitación, en una solución acuosa conteniendo un estabilizante. La subsecuente adición de agua al sistema provoca la difusión del solvente hacia la fase externa, resultando en la formación de las nanopartículas. Dependiendo del punto de ebullición del solvente, éste puede ser eliminado, por destilación o filtración tangencial.

El mecanismo de formación de nanopartículas (NP) por este método, ha sido analizado bajo diferentes condiciones de preparación y por medio de turbidimetría. Se ha mostrado que cada glóbulo de la emulsión podría producir varias nanopartículas y que estas se forman por un fenómeno interfacial durante la difusión del solvente. Sin embargo, este fenómeno no puede ser enteramente explicado por los efectos de convección causados por la turbulencia interfacial. Por lo tanto, se ha sugerido que las nanopartículas se forman debido a la inestabilidad química producida por el transporte del solvente, por un mecanismo similar al que es usado para explicar el proceso de emulsificación espontánea.

EMULSIONES CON FALLA DE ORIGEN

El concepto básico es que la difusión del solvente de los glóbulos lleva moléculas dentro la fase acuosa, formando regiones locales de super saturación, de las cuales se forman nuevos glóbulos o agregados poliméricos. La estabilización de estas "protonanopartículas" por la presencia de estabilizantes es muy importante con el fin de evitar su coalescencia y la formación de aglomerados. De esta manera, si el estabilizante permanece en la interfase líquido-líquido durante el proceso de difusión, y si este efecto protector es adecuado, entonces podrán formarse nanopartículas después de la completa difusión del solvente (Figura 1) (Quintanar et.al, 1998).

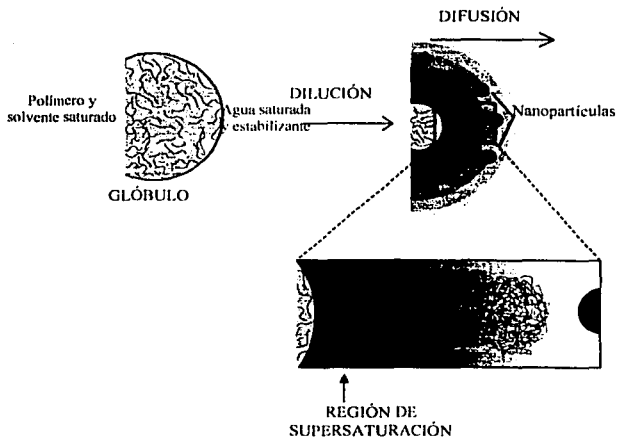


Figura 1. Representación esquemática del mecanismo propuesto para la formación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión (Quintanar et.al, 1998).

El propósito del presente trabajo es sustituir el polímero empleado en la técnica de emulsificación-difusión para nanopartículas, por un aceite (filtro solar) con la finalidad de conocer si el método permite la formación de glóbulos de talla submicrónica, sin recurrir a etapas de homogenización y hacer extensivo este método a la preparación de emulsiones submicrónicas.

IV. GENERALIDADES DE FILTROS SOLARES

Un filtro solar es un agente que ayuda a prevenir o disminuir los efectos dérmicos perjudiciales de la radiación solar como el eritema, fotoenvejecimiento y cáncer de piel. El objetivo de los filtros solares, es dispersar con eficacia la luz incidente o absorber la porción eritemógena de la energía radiante del sol, radiación UVB (290-320 nm)

Considerando que el material oleoso utilizado como modelo para este estudio es un filtro solar, cuya formulación en estos sistemas submicrónicos puede tener implicaciones dermoprotectoras importantes, se hace conveniente realizar una breve descripción de este tipo de sustancias.

4.1. Clasificación de protectores solares según su aplicación

- a) Filtros solares que absorben al menos el 85% de la radiación ultravioleta dentro del intervalo de longitudes de onda de 290 a 320 nm, pero transmiten radiación ultravioleta de longitudes de onda superiores a los 320 nm y producen un bronceado transitorio ligero. Estos agentes producirán cierto eritema, pero sin dolor. Los filtros solares de este tipo son filtros solares químicos que absorben en una zona específica del espectro de radiación ultravioleta.
- b) Agentes bloqueadores solares opacos, cuyo fin es suministrar la máxima protección en forma de una barrera física. Los agentes que con más frecuencia se utilizan en este grupo son dióxido de titanio y óxido de zinc. El dióxido de titanio refleja y dispersa prácticamente toda radiación en las zonas ultravioleta y visible (290 – 777 nm), de modo que evita o minimiza tanto la quemadura solar como el bronceado (Harry, 1995).

4.2 Características óptimas de un filtro solar

- 1. Deben ser eficaces en absorber la radiación eritemógena en el intervalo de 290 - 320 nm, sin sufrir una descomposición que pueda reducir su eficacia u originar compuestos tóxicos o irritantes.
- 2. No deben ser volátiles, además de ser resistentes al agua y al sudor.
- 3. Deben poseer características adecuadas de solubilidad en un vehículo cosmético para hacer posible su formulación (por ejemplo un gel acuoso).

4. Deben ser inodoros o al menos suficientemente suaves para ser aceptados por el usuario y satisfacer otras características físicas relacionadas, tal como pegajosidad, etc.
5. No deben ser tóxicos, irritantes, ni sensibilizantes.
6. Deben ser capaces de retener su propiedad protectora durante varias horas.
7. Deben ser estables en las condiciones de uso.
8. No deben manchar la ropa.
9. No deben contaminar el medio ambiente (Harry, 1995).

4.3 Tipos químicos

Los filtros químicos UV en uso mundialmente pueden ser clasificados como derivados de los siguientes:

1. PABA y para-aminobenzoatos
2. Salicilatos
3. Cinamatos
4. Benzofenonas
5. Antranilatos
6. Dibenzoilmetanos
7. Derivados alcanforados
8. Químicos varios

En este estudio se utiliza solamente un derivado de la familia de los cinamatos, que se describe brevemente en el siguiente inciso.

4.4 La familia de los Cinamatos

El Octilmetoxicinamato absorbe ampliamente en el rango UV-B y ha ganado aceptación por ser un excelente filtro solar para personas sensibles a otros activos. Este líquido no mancha y es virtualmente inodoro a la vez que imparte suave emolencia a las emulsiones, sin ser pegajoso ni

aceitoso. Su insolubilidad en agua lo hace de elección natural para formulaciones de filtros solares resistentes al agua.

El Octilmetoxicinamato es un líquido amarillo pálido, con olor suave característico, el cual posee las siguientes propiedades fisicoquímicas.

- Índice de Acidez: 1.0 máximo
- Índice de Saponificación: 189.0 mínimo
- Gravedad específica 25° C: 1.005 – 1.013
- Índice de Refracción: 1.5420 – 1.5480
- Pureza: 98.0% mínimo
- Prueba de mutagenicidad: Negativa (Boletín técnico, 1999).

Como grupo, los cinamatos tienen una insaturación extra conjugada tanto al anillo aromático y el grupo carbonilo del ácido carboxílico (éster). Esta configuración permite la deslocalización de electrones a lo largo de la molécula. La energía que corresponde a esta transición electrónica tiene una longitud de onda de aproximadamente 305 nm.

Los cinamatos también se han ido perfeccionando a través de los años culminando con el último diseño para esta clase de componentes, la introducción del octil-p-metoxicinamato. Esta molécula tiene un grupo donador de electrones (-OCH₃) en la posición para-, lo que facilita el proceso de deslocalización de electrones mencionado. Para propósitos prácticos, esta molécula es insoluble en agua, lo que la hace adecuada para la mayoría de las formulaciones de filtros solares a prueba de agua (Lowe, 1997).

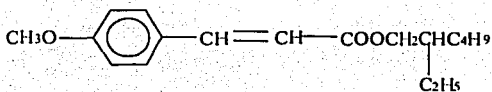


Figura 2. Estructura química del octil metoxicinamato

OBJETIVOS

Objetivo General

1. Evaluar la factibilidad de utilizar el método de emulsificación-difusión para la preparación de emulsiones submicrónicas.

Objetivos Particulares

2. Evaluar las variables del proceso de manufactura y de formulación que determinan la obtención de emulsiones submicrónicas de un aceite modelo (filtro solar).
3. Comparar los efectos de la velocidad de agitación, concentración de octil metoxicinamato (OMC) y diferentes estabilizantes y sus mezclas, sobre la talla de partícula de lotes preparados por el método de emulsificación difusión y con el método tradicional.
4. Determinar la estabilidad física de las emulsiones y emulsiones submicrónicas preparadas por diferentes combinaciones de estabilizantes, durante almacenamiento por 45 días a 30°C.

VI. HIPÓTESIS

Basados en el mecanismo de formación de nanopartículas por el método de emulsificación-difusión, se propone que este proceso sea extensible a la obtención de emulsiones submicrónicas sin etapas de homogenización, por simple desplazamiento del solvente a la fase continua.

La Figura 3 muestra el supuesto mecanismo para la formación de emulsiones submicrónicas, de acuerdo con el actual estado del arte de los mecanismos para la formación de nanopartículas.

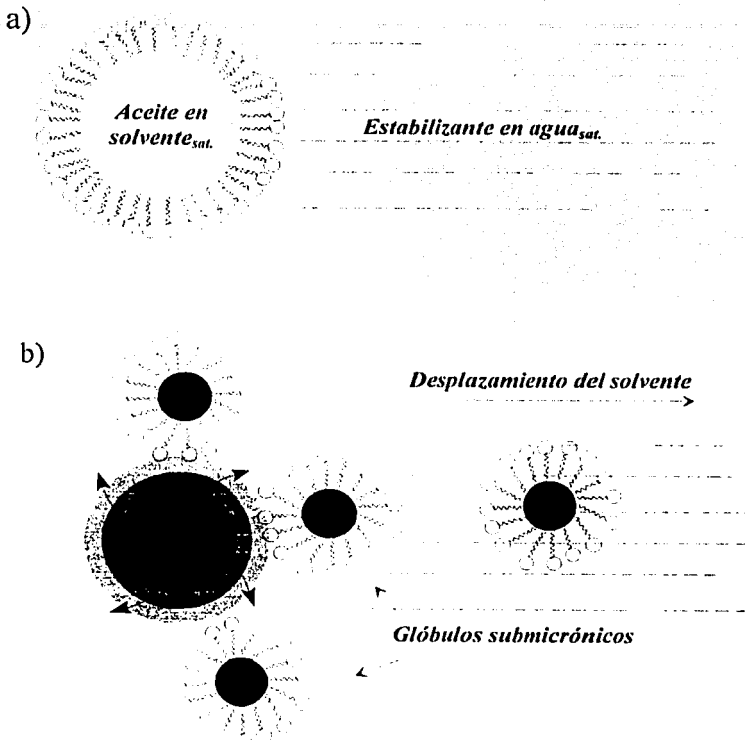


Figura 3. Hipótesis de la potencial formación de emulsiones submicrónicas por el método de emulsificación-difusión. a) Emulsión previa a la difusión; b) Nanoglóbulos formados durante el proceso de difusión.

VII. PARTE EXPERIMENTAL

1.1 MATERIALES Y REACTIVOS

- ✓ Octil metoxicinamato (Multiqum, S.A. de C.V., México)
- ✓ Acetato de etilo grado espectrofotométrico (Mallinckrodt, S.A. de C.V., E.U.A.)
- ✓ Polivinilalcohol, Mowiol[®] 4-88 PM 28000 (Hoechst, S.A. de C.V., México)
- ✓ Fosfatidilcolina, Epikuron[®] 200 (Lucas Meyer, S.A. de C.V., Alemania)
- ✓ Poloxamer[®] 188 (Hoechst, S.A. de C.V., México)
- ✓ Agua destilada (tipo Milli-Q, Millipore, E.U.A.)

1.2 INSTRUMENTOS Y EQUIPO

- ✓ Rotavapor (Büchi[®] R110, Alemania)
- ✓ Nanosizer Coulter N4 SD (Beckman Instruments U.S.A.)
- ✓ Homogenizador (Virtis[®] U.S.A.)
- ✓ Centrifuga (SOL – BAT MOD. J – 12., U.S.A.)
- ✓ Material de vidrio en general

1.3 PREPARACIÓN DE EMULSIONES POR EL METODO CONVENCIONAL

En un vaso de precipitados se colocaron 40 ml de agua destilada adicionando un porcentaje del agente estabilizante (2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5 y 5 % P/V). Se formó una emulsión con un agitador tipo Virtis, adicionando la cantidad especificada del aceite modelo (0.5, 1, 2, 3 y 4% OMC) durante 10 minutos a una velocidad determinada (2100, 2800, 3900, 6500, 7400 y 8700 rpm) y a temperatura ambiente (20 – 25°C).

1.4 PREPARACIÓN DE EMULSIONES SUBMICRÓNICAS

Las emulsiones submicrónicas fueron preparadas de acuerdo al método reportado por Quintanar-Guerrero et.al. (1998), mismo que se describe a continuación y que se ilustra en la Figura 4. En un vaso de precipitados se colocan 40 ml de agua previamente saturada con acetato de etilo, a la cual se le disuelve un determinado porcentaje del agente estabilizante (Fase A). En otro vaso de precipitados se colocan 20 ml de acetato de etilo y un porcentaje de octil metoxicinamato (0.5, 1, 2, 3 y 4 % V/V) (Fase B). Posteriormente se emulsifican ambas fases adicionando la fase B en la fase A, agitando por 10 diez minutos (agitador tipo Virtis), a una velocidad determinada (2100, 2800, 3900, 6500, 7400 y 8700 rpm) y a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se adicionan 80 ml de agua destilada (sin saturar) y se continúa agitando por otros 10 minutos. Después de obtenida la emulsión se elimina el acetato de etilo con ayuda de un rotavapor.

En la preparación de emulsiones y emulsiones submicrónicas se emplearon diferentes porcentajes de Octil Metoxi Cinamato (OMC) y diversos agentes estabilizantes: Polivinilalcohol (PVAL), Fosfatidilcolina, Poloxamer 188 y combinaciones de ellos, en diferentes porcentajes, así mismo se realizó la agitación con las mismas velocidades que para emulsiones submicrónicas.

Fue necesario calentar el agua, para disolver el PVAL que es el agente estabilizante, mientras que el poloxamer se solubiliza en agua a temperatura ambiente y en el caso de la fosfatidilcolina que se encontraba en estado sólido, fue necesario ponerla a baño maría para poder integrarla a la fase oleosa de la emulsión. Todos los lotes tanto de emulsiones como de emulsiones submicrónicas fueron preparados por triplicado ($n = 3$)

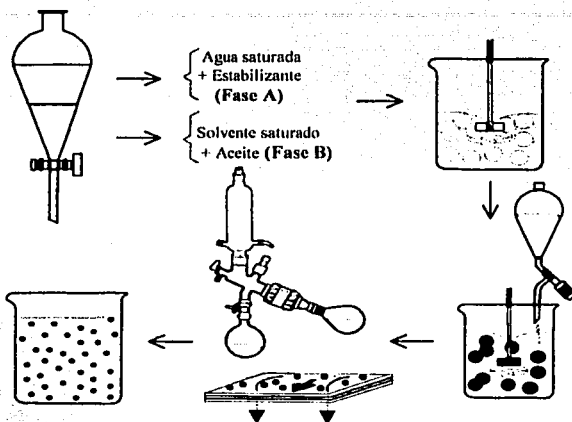


Figura 4. Representación esquemática de la preparación de emulsiones submicrónicas por la técnica de emulsificación - difusión. (Tomada de Quintanar, G. D., et al. 1998b).

1.5 EVALUACIONES

a) Propiedades organolépticas

Tanto las emulsiones convencionales como las submicrónicas fueron evaluadas por pruebas organolépticas (consistencia, color, olor, textura).

b) Prueba de estabilidad con centrifuga

Una vez elaboradas las formulaciones se evaluó su estabilidad física al someterlas a la prueba de centrifuga, colocándolas en esta a 5000 rpm durante 30 minutos. Se reporta si hay separación de fases.

c) Talla de Partícula

La talla de partícula se determinó por la técnica de dispersión de la luz con un Nanosizer[®], inmediatamente después de la preparación de los lotes. Para realizar la medición se diluyó una muestra 0.1 ml de muestra en una celda de 2ml con agua destilada.

d) Choque térmico

Las muestras se colocaron en pequeñas celdas que fueron introducidas en un baño de hielo seco/etanol, a una temperatura de $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ por un tiempo aproximado de 15 minutos, posteriormente se retiraron del baño de hielo y se dejaron fundir a temperatura ambiente, procediendo a realizar la evaluación de la talla de partícula de cada una de las muestras, en la forma descrita en el inciso anterior.

e) Estabilidad física

Para evaluar la estabilidad tanto de emulsiones convencionales como de emulsiones submicrónicas se realizó la lectura de talla de partícula a diferentes intervalos durante los 45 días siguientes a la preparación de las muestras, las cuales se mantuvieron en estufa a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSION

Para lograr la obtención de sistemas dispersos de talla submicrónica se pueden aplicar ya sea métodos físicos (como microfluidización, ultrasonificación, etc.), o químicos (uso de cosurfactantes o solventes). En el presente trabajo se utilizó un novedoso método basado en el desplazamiento del solvente de la fase interna a la externa, con solventes parcialmente miscibles, para lograr la reducción de la talla de partícula sin utilizar los métodos físicos o químicos convencionales. Esta técnica ha sido utilizada para la preparación de nanocápsulas y nanocápsulas donde un material macromolecular (por ejemplo polímeros) está involucrado. El método alternativo propuesto pretende provocar que la talla de glóbulo de las emulsiones preparadas tenga una homogeneidad submicrónica sin recurrir a posthomogenizaciones, ni uso de cantidades excesivas de surfactantes o cosurfactantes, disminuyendo por ende la potencial toxicidad que estos sistemas pudieran provocar.

Recientemente, un buen número de trabajos de investigación se han enfocado al uso de microemulsiones en diversos campos, tales como industria química, alimentaria, de pinturas, cosmética y farmacéutica, estos sistemas han despertado gran interés como nuevas formas de dosificación debido a su considerable capacidad solubilizante para componentes acuo- y liposolubles y al mejoramiento de las propiedades del sistema. En este sentido varios autores (Dreher, 1997; Klang, 1999; Purmann et.al., 1992 y Schalfub, 1997) han generalizado que una reducción del tamaño de glóbulo influye de manera determinante en la penetrabilidad de sustancias de interés farmacéutico

y cosmético ó en la posibilidad de acarrear activos a regiones más profundas de la piel. El concepto se ha difundido y sin embargo, siempre prevalece la duda de sí esta penetrabilidad no es provocada por los excesos de surfactantes que modifican la barrera de permeabilidad funcionando como promotores.

Por otra parte, en el presente trabajo se utilizó como principio activo un filtro solar debido a que en la actualidad son ampliamente usados para evitar quemaduras de sol, fotoenvejecimiento y cáncer de piel. Hasta ahora, estos compuestos solamente han sido probados rutinariamente por su habilidad para retardar el eritema en la piel expuesta a radiación ultravioleta (Brinon et al., 1997). Un gran inconveniente de la mayor parte de estos compuestos es su rápido lavado al contacto con el agua o sudor, lo que provoca que su estancia en la piel sea corta. Recientemente varios autores (Dreher et al., 1997; Klang, 1999; Purmann, 1992 y Tacharodi, 1994) han mostrado que la diminuta talla de glóbulo de una microemulsión y de emulsiones submicrónicas puede facilitar el pasaje y/o estancia de diferentes activos en la piel, favoreciendo con ello un efecto más prolongado. De aquí la importancia de tratar de obtener tallas submicrónicas en estos sistemas. Resultados de experiencias similares han sido reportados por Quintanar-Guerrero et al. (1998) para la obtención de NP por el método de emulsificación-difusión. Ya es bien sabido que cuando se utiliza una alta concentración de polímero en la fase interna se tiene un aumento de la viscosidad, lo que puede dificultar la formación de la emulsión primaria en el sistema por lo que puede darse el caso de que para la difusión partimos de una talla de partícula más grande, con el subsecuente aumento del diámetro de la partícula. Además, cuando el polímero se enfrenta a un "no solvente" se genera un estado de agregación del polímero cuya tendencia a formar partículas grandes es probabilísticamente mayor cuando existen más moléculas en solución (aumento de concentración). En el caso de las emulsiones submicrónicas preparadas, no se observó un aumento significativo en la talla de partícula aún a concentraciones del 4% v/v de OMC, pues aparentemente durante la difusión se genera un estado de agregación diferente al de los polímeros. Lo que resultó evidente en este trabajo es que siempre existe una subdivisión del glóbulo original produciendo tallas < 600 nm cuando las emulsiones son preparadas por el método de emulsificación-difusión, en relación con las obtenidas por el proceso convencional en las cuales la talla fue siempre $> 1 \mu\text{m}$ (Figura 5).

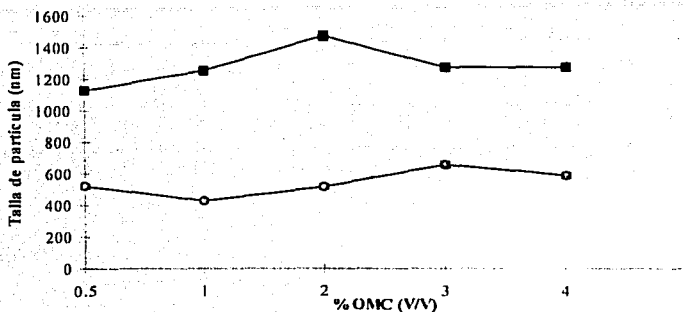


Figura 5. Emulsiones (■) y emulsiones submicrónicas (●) preparadas a diferentes concentraciones de OMC, a 3900 rpm (5% PVAL como estabilizante). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

Se puede establecer claramente la diferencia entre ambos procesos, en cuanto a la talla de partícula generada. La talla de partícula de las emulsiones preparadas de manera convencional, es mayor al micrómetro, mientras que las emulsiones preparadas por el método de emulsificación-difusión muestran valores por debajo de los 500 nm lo que muestra una clara contribución del proceso de emulsificación-difusión para la reducción de la talla de partícula y la obtención de tallas submicrónicas. Es bien sabido que la emulsificación de un aceite en agua por métodos mecánicos, produce en la mayoría de los casos una talla de glóbulo mayor de 1 μm (generalmente entre 2 y 3 μm), por lo que una reducción a tallas $<1 \mu\text{m}$ se reporta únicamente en casos excepcionales, donde efectos mecánicos adicionales son implementados.

Estos resultados permiten proponer a la técnica de emulsificación-difusión como un proceso químico para reducir la talla de glóbulo de emulsiones sin utilizar una excesiva cantidad de emulsificantes. Un aspecto muy importante del proceso es que no se puede reducir la talla por debajo del umbral de 150 nm (formación de microemulsiones formales), por lo que aparentemente para obtener microemulsiones se debe de involucrar forzosamente la mezcla surfactante / cosurfactante, donde el efecto de reducción de talla es atribuido a la reducción de la tensión superficial a valores muy bajos, como se había mencionado anteriormente, lo que permite prácticamente una solubilización micelar de la fase interna.

Como se muestra en la Figura 6, bajas velocidades de agitación (< 2800 rpm) provocan la formación de emulsiones de tallas similares tanto para las convencionales como para las preparadas por el proceso de emulsificación-difusión. Esto implica que una mala dispersión de la fase interna en el proceso de emulsificación-difusión provoca la formación de emulsiones gruesas. En el proceso de difusión no se obtiene una tendencia a la reducción de la talla, cuando se tienen glóbulos gruesos, pues aparentemente una reducción del área de difusión no permite el rompimiento y agregación de glóbulos más pequeños. Velocidades de agitación mayores tienden a disminuir la talla de partícula, este resultado no es sorprendente, ya que es bien conocido que en un proceso convencional la mejor dispersión de la fase interna, en presencia de un buen emulsificante, producirá una talla de partícula menor, hasta un cierto límite generalmente cercano a $1\mu\text{m}$. Una clara diferencia de talla fue observada para las emulsiones preparadas por el proceso de emulsificación-difusión, después de 2800 rpm todas las tallas fueron submicrónicas, observándose una clara diferencia con las emulsiones por el método convencional. Esta velocidad puede ser conseguida fácilmente con agitadores mecánicos convencionales, por lo que el método permite la obtención de emulsiones de talla submicrónicas sin requerir de agitadores de alta eficiencia. Resulta evidente que la velocidad de agitación es un factor determinante para la reducción de la talla de glóbulo por el proceso propuesto, al menos para la formación de la emulsión primaria previo al proceso de difusión.

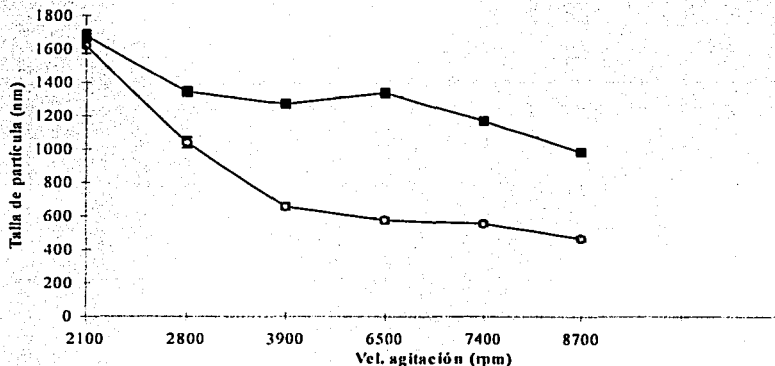


Figura 6. Emulsiones (■) y emulsiones submicrónicas (●) preparadas a diferentes velocidades de agitación (3% OMC y 5% PVAL como estabilizante). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

Sin embargo, no se observó una reducción importante después de 3900 rpm, revelando el mismo efecto que en el caso de la concentración del OMC. Parece que existe un límite de reducción de talla por el método de emulsificación-difusión, por lo que ulteriores reducciones requerirían del uso de cosurfactantes, mayores concentraciones de estabilizantes o procesos de homogenización.

Las emulsiones submicrónicas obtenidas por el método de emulsificación-difusión fueron seguidas en cuanto a su estabilidad por evaluación del cambio de la talla de partícula. Las Figuras 7 y 8 muestran que existe la tendencia a aumentar la talla de glóbulo para las emulsiones submicrónicas en tanto que las emulsiones normales no muestran un significativo cambio de talla con relación a su medida original.

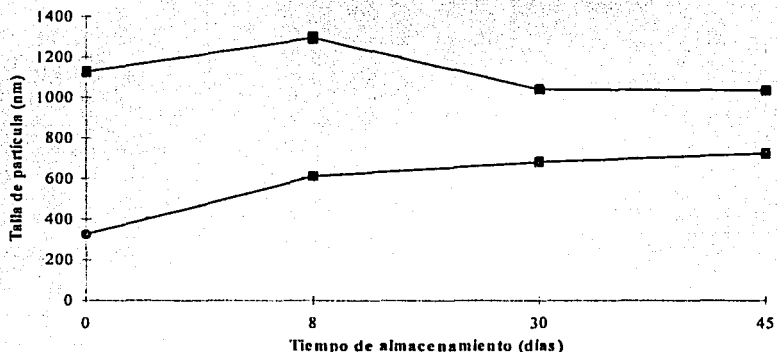


Figura 7. Emulsiones (■) y emulsiones submicrónicas (●) evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento a 3900 rpm (0.5% OMC y 5% PVAL como estabilizante). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

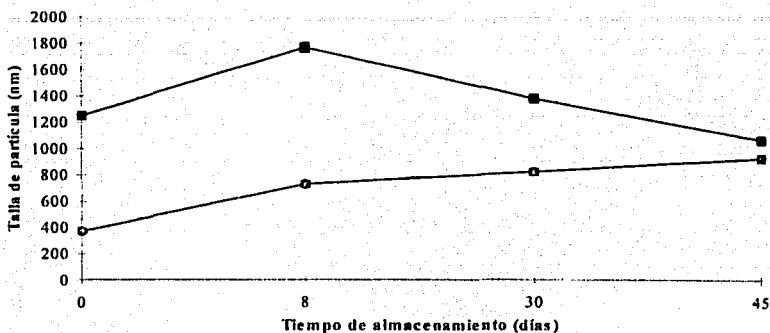


Figura 8. Emulsiones (■) y emulsiones submicrónicas (●) evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento a 30 °C (3900 rpm, 1% OMC y 5% PVAL como estabilizante). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

Es importante observar que después de 45 días de estabilidad, no se conserva la talla submicrónica y que aparentemente existe una talla óptima de glóbulo en la cual la emulsión permanece estable, este valor se localiza entre 1000 y 1200 nm (para las emulsiones y las microemulsiones).

Esto significaría que aunque es posible reducir la talla por el proceso de emulsificación-difusión, existe una clara tendencia para buscar esta talla óptima en donde el estabilizante puede funcionar de manera óptima para este tipo de emulsiones. Este aspecto debe de ser considerado no sólo para este proceso de reducción de talla sino también para homogenizados mecánicos en donde se puede lograr la homogenización y reducción de talla de partícula, pero no está garantizado el conservarla durante el almacenamiento. Considerando estos resultados, se prepararon una serie de lotes utilizando combinaciones de estabilizantes de aceptación farmacéutica (ver Tabla 1), el propósito de estos lotes fue buscar aumentar la estabilidad de las emulsiones submicrónicas. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 9.

Tabla 1. Emulsiones y emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes (3% OMC y 6500rpm).

Emulsiones submicrónicas					
LOTE	OMC (% V/V)	VEL. AGIT. (rpm)	ESTABILIZANTE (% PV)	TALLA INICIAL (nm)	CREMACIÓN
A	3	6500	PVAL (5)	551	+
B	3	6500	PVAL (4.5) + FOSF (0.5)	282	+
C	3	6500	PVAL (4) + FOSF (1)	290	+
D	3	6500	PVAL (4) + POLOX (1)	505	+
E	3	6500	PVAL (3.5) + POLOX (1) + FOSF (0.5)	250	+
F	3	6500	PVAL (3) + POLOX (1) + FOSF (1)	242	+
G	3	6500	PVAL(3) + POLOX (2)	443	+
H	3	6500	PVAL (2.5) + POLOX (2) + FOSF (0.5)	319	+
J	3	6500	PVAL (2) + POLOX (2) + FOSF (1)	229	+
Emulsiones convencionales					
K	3	6500	PVAL (5)	1572.0	+
L	3	6500	PVAL (4.5) + FOSF (0.5)	467.2	+
M	3	6500	PVAL (4) + FOSF (1)	337.1	+
N	3	6500	PVAL (4) + POLOX (1)	2191.5	+
O	3	6500	PVAL (3.5) + POLOX (1) + FOSF (0.5)	473.3	+
P	3	6500	PVA (3) + POLOX (1) + FOSF (1)	311.9	+
Q	3	6500	PVAL(3) + POLOX (2)	483.7	+
R	3	6500	PVAL (2.5) + POLOX (2) + FOSF (0.5)	381.6	+
S	3	6500	PVAL (2) + POLOX (2) + FOSF (1)	338.3	+

NOTACION DE CREMACIÓN

- (++++) total
- (+++) grande
- (++) media
- (+) perceptible

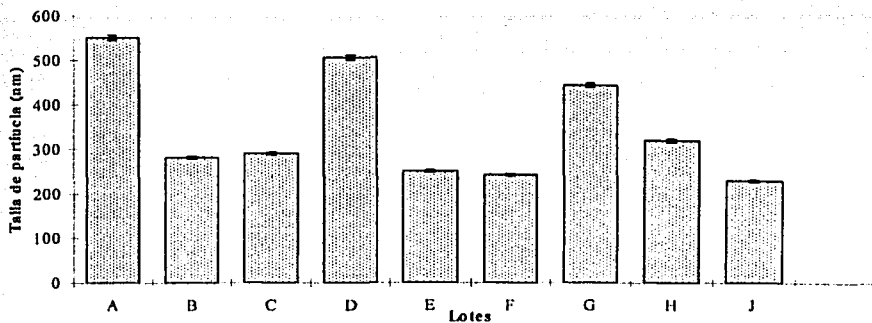


Figura 9. Emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes (3% OMC y 6500 rpm). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

Cuando se emplearon diferentes mezclas de estabilizantes (ver tabla 1), tanto en emulsiones como en emulsiones submicrónicas se puede apreciar en la Figura 10 que todos los lotes preparados con fosfatidilcolina (B, C, E, F, H, J, L, M, O, P, R y S) presentan disminución en la talla de partícula, sin embargo el hecho de incrementar el porcentaje no contribuye a una disminución mayor de la talla del glóbulo (Amira, Zeevi 1994).

Cabe señalar que al utilizar mezclas de surfactantes como el poloxamer y PVAL con fosfatidilcolina no se requiere proceso de emulsificación- difusión para alcanzar tamaños submicrónicos. Lo cual indica que combinaciones de este tipo pueden comportarse como sistemas surfactante/cosurfactante.

A pesar de disminuir la concentración de OMC no se puede llegar a una talla suficientemente pequeña para tener una emulsión transparente, estos datos parecen sugerir que se necesita el sistema surfactante/cosurfactante para obtener microemulsiones transparentes. Aunque es contemplado que el uso de estos estabilizantes pudiera permitir la obtención de microemulsiones. Pero se observa que el porcentaje de OMC determina la talla de partícula hasta un límite del proceso.

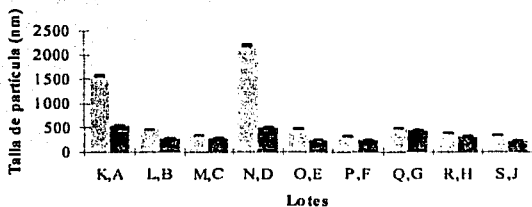


Figura 10. Emulsiones (□) y Emulsiones submicrónicas (■) preparadas con diferentes estabilizantes (6500 rpm y 3% OMC). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

En la Figura 11 las emulsiones submicrónicas preparadas con todas las combinaciones de emulsificantes demuestran ser suficientemente estables para resistir el choque térmico inducido por ciclos de congelamiento/descongelamiento, sólo un ligero aumento fue observado en todos los lotes el cual resultó ser más evidente en el lote de 505 nm a 645 nm, sin que pueda ser considerado como una ruptura de la emulsión. Un aspecto muy importante a destacar es que los procesos propuestos fueron en frío, sin requerir el calentamiento de las fases o al menos una de ella. Esto conlleva a un claro ahorro de energía sobre todo si se logra obtener tallas de glóbulo de rango nanométrico.

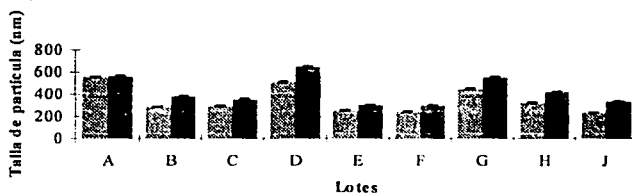


Figura 11. Emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de estabilizantes (3% OMC, 6500rpm) sin choque térmico (□) y con choque térmico (■). Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

En las Figuras 12 y 13 se observa que la estabilidad al almacenamiento de las emulsiones submicrónicas preparadas con diferentes porcentajes de OMC no es muy buena, por lo que presentan baja vida de anaquel, observándose un claro aumento en la talla de glóbulo con el transcurso del tiempo. En contraste, las emulsiones convencionales se mantienen dentro de un tamaño de 1000 a 1200 nm, por lo que este método alternativo resulta adecuado para producir emulsiones submicrónicas pero no para lograr su estabilidad por lo que se evaluó la estabilidad de emulsiones submicrónicas preparadas por combinaciones de emulsificantes de acuerdo a la tabla 2.

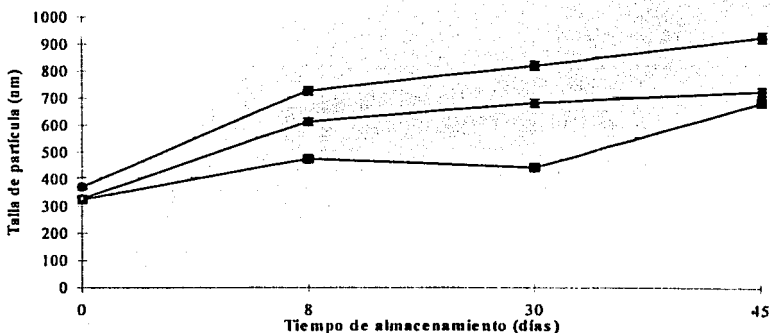


Figura 12. Emulsiones submicrónicas evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento, con diferentes porcentajes de OMC (■ 0.2%, ◊ 0.5 y ● 1%), 5% PVAL y 3900 rpm. Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

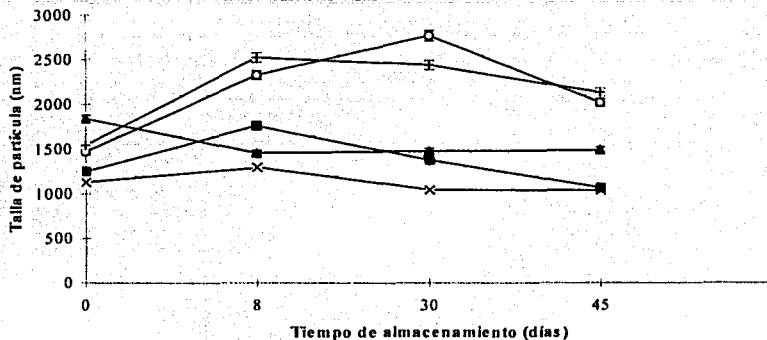


Figura 13. Emulsiones a diferentes tiempos de almacenamiento preparadas con diferentes concentraciones de OMC (x 0.5%, ■ 1%, ○ 2%, + 3%, ▲ 4%), 5%PVAL como estabilizante y 3900rpm. Barras de error ($\pm \sigma$) menores que los símbolos.

En experiencias con lotes de emulsiones convencionales preparadas de acuerdo a la tabla 2 se observa que el PVAL sólo ó la mezcla de PVAL + POLOXAMER (4:1) no muestra una reducción del tamaño de partícula, lote N, pero si se logra cuando se incluye fosfatidilcolina incluso utilizando concentraciones tan bajas como 0.5%, lote L, obteniéndose en todos los lotes preparados con este emulsificante una talla submicrónica. La estabilidad de estas emulsiones conteniendo fosfatidilcolina es adecuada observándose sólo ligeros aumentos de talla de glóbulo que nunca fueron superiores a 1 μm durante 45 días de almacenaje, revelando un claro efecto estabilizante por extensos períodos de tiempo. La inclusión de fosfatidilcolina debe ser considerada en trabajos posteriores.

Tabla 2. Emulsiones evaluadas a diferentes tiempos de almacenamiento, con diferentes porcentajes de estabilizantes, 3% OMC y 6500rpm

LOTE	OMC % (V/V)	VEL. AGIT. (rpm)	ESTABILIZANTE % (P/V)	TALLA 0 DIAS (nm)	TALLA 8 DIAS (nm)	TALLA 30 DIAS (nm)	TALLA 45 DIAS (nm)	CREMACION EN 3 MESES
K	3	6500	PVAL (5)	1572.0	1575.5	2502.2	2432.7	+
L	3	6500	PVAL (4.5) + FOSF (0.5)	467.2	535.5	649.0	588.7	+
M	3	6500	PVAL (4) + FOSF (1)	337.1	416.2	404.8	439.0	+
N	3	6500	PVAL (4) + POLOX (1)	2191.5	2675.4	3058.0	1359.3	+
O	3	6500	PVAL (3.5) + POLOX (1) + FOSF (0.5)	473.3	365.5	323.7	394.1	+
P	3	6500	PVAL (3) + POLOX (1) + FOSF (1)	311.9	479.7	516.3	450.5	+
Q	3	6500	PVAL(3) + POLOX (2)	483.7	1835.2	2377.3	1681.8	+
R	3	6500	PVAL (2.5) + POLOX (2) + FOSF (0.5)	381.6	632.7	601.0	733.9	+
S	3	6500	PVAL (2) + POLOX (2) + FOSF (1)	338.3	535.8	505.9	492.0	+

NOTACION DE CREMACIÓN

- (++++) total
- (+++) grande
- (++) media
- (+) perceptible

**ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA**

IX. CONCLUSIONES

- ❖ La importancia del estudio radica en la idea de evitar el uso de excesivas cantidades de mezclas surfactante/cosurfactante, para obtener emulsiones con talla de glóbulo submicrónico, así como evitar procesos de post-homogenización.
- ❖ El método de emulsificación-difusión permite la obtención de emulsiones submicrónicas con potencial uso farmacéutico y/o cosmético siendo un método que no requiere de mezcladores de alta eficiencia tales como homogenizadores y sonicadores, desarrollando así un proceso de fácil producción a escala industrial.
- ❖ El método estudiado es de fácil implementación y susceptible de escalamiento industrial.
- ❖ Sólo los sistemas elaborados con fosfatidilcolina fueron estables físicamente por almacenamientos de 45 días, tanto para emulsiones convencionales y emulsiones preparadas por el método de emulsificación-difusión.
- ❖ Las variables determinantes para el tamaño de partícula del glóbulo son la concentración de OMC, el tipo de estabilizante y la velocidad de agitación.

X. PERSPECTIVAS

- ❖ Evaluar las emulsiones submicrónicas obtenidas por su penetrabilidad dérmica usando la técnica de remoción del estrato corneo por cintas adhesivas.
- ❖ Hacer extensivo el método a otros activos oleosos.
- ❖ Comparar el efecto fotoprotector de estas emulsiones con las convencionales.
- ❖ Preparar formulaciones fotoprotectoras con OMC incluyendo fosfatidilcolina como emulsificante primario ó secundario.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Amira, Zeevi. The Design and Characterization of a Positively Charged Submicron Emulsion Containing a Sunscreen Agent. *Int. J. Pharm.* 108 (1994) 57-68.
2. Ashton, P. Hadgraft. Surfactant effects in Percutaneous Absorption, *Int. J. Pharm.* 87 (1992) 265-269.
3. Bonina, F.P. L. Montenegro, et al. Effects of Phospholipid based Formulations on in vitro and in vivo Percutaneous Absorption of methyl nitotinate. *J. Control. Rel.* 34 (1995) 53-63.
4. Brinon, Laure. Percutaneous Absorption of Sunscreens from Liquid Crystalline Phases. *J. of Control Rel.* 60 (1999) 67-76.
5. Cappel, Kreuter. Effects of Nonionic Surfactants on Transdermal Drug Delivery. *Int. J. Pharm.* 69 (1991) 143-167.
6. Carstensen, J. Theory of pharmaceutical systems. Volumen II Heterogeneous System. Ed. Academic Press. New York 1973.
7. Dahms, G. Viscosity Regulation Surfactants. *Int. J. Cosmet. Sci.* 13 (1991) 43-50.
8. Davis, S.S. L. Studies on the Interaction of Charge Reversed Emulsions with the Reticuloendothelial System. *Int. J. Pharm.* 82 (1992) 99-105.
9. Dreher, F. Walde P. Interaction of a lecithin microemulsion gel with human stratum corneum and its effect on transdermal transport. *J. of Control Rel.* 45(1997) 131-140.
10. Ehud, Ilan. Improved Oral Delivery of Desmopressin via a Novel Vehicle: Mucoadhesive Submicron Emulsion. *Pharma.* 13, (1996) No. 7.
11. Ganem, R.A. Piñón, S.E. y Quintanar, G.D. Uso de Promotores de Absorción Percutanea. *Ciencia Cosmética.* 4 (1998) No.2 Abril-Junio.
12. García - Celma, J.M. Solubilization of antifungal drugs in water/POE (20) sorbitan monooleate/oil systems. *Int. J. Pharm.* 105(1994) 77-81.
13. Harry, Ralph Gordon. *Harry's Cosmetology 7dc.* New York. Ed. J.B. Wilkinson. 1995.
14. Kemken, J. Ziegler. Investigations into the Pharmacodynamic Effects of Dermal Administered Microemulsions Containing B- blockers. *J. Pharm. Pharmacol.* 43 (1991) 679-684.
15. Kirjavainen, Merja. Phospholipids Affect Stratum Corneum Lipid Bilayer Fluidity and Drug Partitioning Into the Bilayers. *J. of Control Rel.* 58 (1999) 207-214.

16. Klang, S. H., and Siganos C.S. Evaluation of a Positively Charged Submicron Emulsion of Piroxicam on the Rabbit Corneum Healing Process Following Alkali Burn. *J. of Control Rel.* 57 (1999) 19-27.
17. Knepp, V.M. Szoka. F.C. Controlled drug release from a novel liposomal delivery system. II. Transdermal delivery characteristic. *J. Control. Release* 12 (1990) 243-252.
18. Kreuter, Jörg. *Colloidal Drug Delivery Systems*. Ed. Marcel Dekker. New York, 1994.
19. Leon, M. Prince. Microemulsions. *J. Soc. Cosmetic Chemists*, 21(970), 193-204.
20. Lieberman, Herbert A, and Rieger Martin M. *Pharmaceutical Dosage Forms Disperse Systems Volumen 1* Ed. Marcel Dekker. New York. 1988.
21. Linn, E.E. Microemulsions for Intradermal Delivery of cetyl alcohol and octyl dimethyl PABA. *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 16 (1990) 899-920
22. Lowe, J. Nicholas. *Sunscreens: Development, Evaluation and Regulatory Aspect*. 2ed. Ed. M. Dekker. New York. 1997.
23. Osborne, D.W. *Microemulsions as Topical Drug Delivery Vehicles: I.*
24. Characterization of a Model System. *Drug. Dev. Ind. Pharm.*, 14 (1988) 1203-1219
25. Purmann, T. Michel. Effect of Liposomes on Percutaneous Penetration of Lipophilic Materials. *Int. J. Pharm.*, 84 (1992), 93-105.
26. Quintanar, G.D. Influence of Stabilizing Agents and Preparative Variables on the Formation of poly (D, L-lactic acid) Nanoparticles by an Emulsification-Diffusion Technique. *Int. J. of Pharm.* 143 (1996) 133-141.
27. Quintanar, G.D. Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. *Drug Development and Ind. Pharm.* 24 (1998) 1113-1128.
28. Quintanar, G. D. Preparation and Characterization of Nanocapsules from Preformed Polymers by a New Process Based on Emulsification-Diffusion Technique. *Pharm. Research* 15 (1998) 1056-1062.
29. Quintanar, G.D. A Mechanistic Study of the Formation of Polymer Nanoparticles by the Emulsification-Diffusion technique. *Col. Pol. Sc.* 275 (1997) 640-647.
30. Santos, Magalhaes N. S., and Cave G. The Stability and In Vitro Release Kinetics of a Clofibrade Emulsion. *Int. J. of Pharm.* 76 (1991) 225-237.

31. Schalfub, U. Neubert, R. Modification of Drug Penetration into Human Skin Using Microemulsions. *J. of Control. Rel.* 46 (1997) 279-285.
32. Tacharodi, D. and Panduranga-Rao, K. Transdermal Absorption of Nifedipine from Microemulsions of Lipophilic Skin Penetration Enhancers. *Int. J. Pharm.*, 111 (1994) 235-240.
33. Teixeira, H. Submicron Cationic Emulsions as a New Delivery System for Oligonucleotides. *Pharm. Research.* 16 (1999) No. 1.
34. Toutou, E. and Levi-Schaffer, F. Liposomes as Carriers for Topical and Transdermal Delivery. *J. Pharm. Sci.* 83 (1994) 1189-1203.
35. Trotta, M., Gasco. Release of Drugs From oil-water Microemulsions. *J. Control. Rel.* 10 (1989) 237-243.
36. Walters, K. Walker, A. M. Non-ionic Surfactant Effects in Hairless mouse skin Permeability Characteristics. *J. Pharm. Pharmacol.* 40 (1988) 525-529.
37. Youenang, Piemi and Martin Pierre. Positively and Negatively Charged Submicron Emulsions for Enhanced Topical Delivery of Antifungal Drugs. *J. of Control. Rel.* 58 (1999) 177-187.

LISTA DE ABREVIATURAS

CMC = Concentración micelar crítica

FOSF = Fosfatidilcolina

HLB = Balance hidrofílico lipofílico

NP = Nanopartículas

OMC = Octil metoxi cinamato

PVAL = Polivinil alcohol

POLOX = Poloxamer

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN