



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DISEÑO, DESARROLLO Y CARACTERIZACION DE  
NANOPARTICULAS DE OMEPRAZOL Y ALCOHOL  
ESTEARILICO PREPARADAS POR DIFERENTES TECNICAS.

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA - BIOLOGA

P R E S E N T A

BRENDA BERENICE GASCA ZAMBRANO



MEXICO, D.F.

**EXAMENES PROFESIONALES**  
FAC. DE QUIMICA

2004



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: Norma Trinidad González Monzón**

**Vocal: Honoria Fuentes Sixtos**

**Secretario: María Josefa Bernad Bernad**

**1er. Suplente: Francisco García Olivares**

**2do. Suplente: Martín Rueda Espinosa**

**Este trabajo se desarrolló en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México.**



**Asesora  
Dra. María Josefa Bernad Bernad**



**Supervisor Técnico  
Q.F.B. Ma. Antonieta Alvarez Polo**



**Sustentante  
Brenda Berenice Gasca Zambrano**

## **AGRADECIMIENTOS**

*A Dios por la fortaleza y persistencia que me permitieron llegar hasta este momento con orgullo y satisfacción...*

*A la UNAM y en especial a la Facultad de Química por todo lo que me ha ofrecido y hacer de mí una mejor persona, esperando siempre poner en alto su nombre, representándola íntegramente...*

*A Fina por permitirme formar parte de su grupo de trabajo, por el tiempo, confianza y dedicación a este proyecto y por su amistad...*

*A mi madre, mi tía Malicha y mi hermano Erick porque han estado cerca de mí brindándome su apoyo y confianza...*

*A Sandra, Adriana y Orlando porque me han cambiado la vida, haciéndome crecer, sonreír y enseñarme que la vida se debe vivir al máximo cada día...*

*A los finitos por ofrecerme su amistad y contribuir al desarrollo de este trabajo, principalmente a Toni, Abraham, Jorge y Lupita...*

*A mis compañeros y amigos Edgar, Fer, Mauris, Peque, Paola, Chucho, Oscar, Gaby y Rodolfo que desde primer semestre hemos compartido momentos agradables...*

*A mis amigos Rocío, Velia, Marco Nadine, Ángel, Ricardo, Sofía y Claudia por su cariño y consejos...*

*A mi abuela y a mis hermanos Karina y Roberto, a mis tíos Jorge y Armando y Mirna por el tiempo compartido...*

*A mi madrina Elvira, Agus, Coquín, Will por su confianza y apoyo...*

*A mis profesores Ángeles, Natividad, Honoria, José Manuel y Rebeca por haberme brindado algo más que sus conocimientos...*

*Al I.Q. Iván Puente, a la M.en C. Margarita Portilla y a la Q. Cecilia Salcedo por su apoyo y asesoría para el análisis del proyecto...*

## **LISTA DE ABREVIATURAS**

AE	Alcohol Estearílico.
AINES	Antiinflamatorios no esteroideos.
AMPC	Adenosin monofosfato cíclico.
CDB	Calorimetría Diferencial de Barrido.
$\rho$	Densidad.
DL <sub>50</sub>	Dosis letal 50.
Ec.	Ecuación.
Fig.	Figura.
Fco.	Fármaco.
HLB	Balance Hidrofilia-Lipofilia.
H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa	Enzima productora de ácido (bomba de protones).
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Eficiencia.
LD	Difracción láser.
LHRH	Hormona reguladora de la hormona Luteinizante.
MEB	Microscopía Electrónica de Barrido.
NSL	Nanopartículas Sólidas Lipídicas.
NP's	Nanopartículas.
OME	Omeprazol.
PCS	Espectroscopia de correlación de fotones.
FGE <sub>1</sub>	Prostaglandina E <sub>1</sub> .
PLGA	Copolímero de ácido láctico y ácido.glicólico.
P <sub>eb</sub>	Punto de ebullición.
P <sub>f</sub>	Punto de fusión.
SNC	Sistema Nervioso Central.
TEM	Microscopía de Transmisión Electrónica.
Vd	Volumen de distribución.
1a	Muestra líquida Fusión-Dispersión.
1b	Muestra sólida Fusión-Dispersión.
2a	Muestra líquida Difusión de disolvente.
2b	Muestra sólida Difusión de disolvente.
3a	Muestra líquida Emulsificación-Difusión.
3b	Muestra sólida Emulsificación-Difusión.
4a	Muestra líquida Salting-out.
4b	Muestra sólida Salting-out.

## ÍNDICE

<b>ÍNDICE</b> .....	<b>1</b>
<b>I. RESUMEN</b> .....	<b>2</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>3</b>
<b>III. ANTECEDENTES</b> .....	<b>4</b>
1. Úlcera gástrica y su tratamiento .....	4
1.1 Fisiología de la secreción de ácido gástrico .....	4
1.2 Úlceras en caballos .....	6
1.3 Alternativas de tratamiento .....	7
1.4 Omeprazol .....	10
2. Sistemas de liberación modificada .....	13
2.1 Definición y aplicación .....	13
2.2 Consideraciones para el desarrollo un sistema de liberación modificada .....	14
2.3 Modelos de incorporación del fármaco .....	16
2.4 Clasificación de los mecanismos de liberación .....	17
2.5 Ventajas de las formas farmacéuticas de liberación modificada .....	26
3. Nanopartículas .....	27
3.1 Sistemas particulados .....	27
3.2 Nanopartículas sólidas lipídicas (NSL) .....	28
3.3 Métodos de preparación .....	30
3.4 Caracterización de nanopartículas .....	36
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	<b>39</b>
1. General .....	39
2. Específicos .....	39
<b>V. PARTE EXPERIMENTAL</b> .....	<b>40</b>
1. Reactivos, Material y Equipo .....	40
1.1 Características de las materias primas .....	41
2. Metodología .....	42
2.1 Condiciones de trabajo .....	42
2.2 Preparación de nanopartículas .....	43
2.3 Caracterización de nanopartículas .....	46
<b>VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>48</b>
1. Condiciones de trabajo .....	48
1.1 Omeprazol en presencia de disolventes orgánicos .....	48
1.2 Omeprazol en presencia de tensoactivos .....	49
1.3 Omeprazol frente a cambios de pH y Temperatura .....	50
2. Preparación de nanopartículas .....	62
3. Caracterización .....	63
3.1 Tamaño de partícula ( $\phi$ ) .....	63
3.2 Potencial zeta ( $\zeta$ ) .....	65
3.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB) .....	66
3.4 Calorimetría diferencial de barrido (CDB) .....	73
3.5 Difracción de rayos X de polvos .....	77
3.6 Liberación <i>in vitro</i> .....	81
<b>VII. CONCLUSIONES</b> .....	<b>85</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>86</b>

## **I. RESUMEN**

La investigación en nuevos sistemas de liberación de fármacos se ha incrementado significativamente en las últimas décadas, debido a que dichos sistemas presentan ventajas sobre las formas de dosificación tradicionales. Las nanopartículas, como un ejemplo de este tipo de sistemas, representan una alternativa para la dosificación de fármacos como el omeprazol (OME).

Este proyecto tiene como objetivo la comparación de cuatro métodos por los cuales se obtienen nanopartículas, aplicadas al fármaco de interés. Las técnicas utilizadas son Fusión-Dispersión, Difusión de disolvente, Emulsificación-Difusión y Salting-out. La comparación se realiza con base en la caracterización de las muestras obtenidas en cada proceso mediante técnicas analíticas como son: Tamaño de partícula ( $\phi$ ), Potencial Z ( $\zeta$ ), Microscopia Electrónica de Barrido (MEB), CDB, Rayos X de polvos y Liberación *in vitro*.

Se realizó una comparación del comportamiento que presenta el omeprazol ante disolventes orgánicos, tensoactivos y diferentes condiciones de pH temperatura. A partir de lo anterior se definen como condiciones de trabajo utilizar solución reguladora pH 9.5 y temperatura ambiente (20-25°C) en las cuatro técnicas de preparación de nanopartículas.

Con las técnicas desarrolladas se consiguió la formación de nanopartículas. Las muestras presentan un tamaño de partícula entre 10 y 250nm, el valor de potencial Z es variado entre las muestras y se encuentra entre -13 y -41mV. La morfología observada por MEB presenta partículas esféricas. La liberación se ve modificada en las diferentes técnicas utilizadas, con respecto a la obtenida con una suspensión del fármaco sin componentes adicionales.

## **II. INTRODUCCIÓN**

La facultad de química tiene por objetivo principal la formación de profesionales que mediante la aplicación de los conocimientos de la química, sean capaces de resolver las problemáticas que emergen de diferentes áreas. Un ramo muy importante para el desarrollo de un país, es el de la salud tanto humana como veterinaria, al respecto los profesionales de la química tienen un amplio campo de trabajo en este sector.

El desarrollo farmacéutico en la industria veterinaria se ha incrementado en las últimas décadas con la finalidad de tratar padecimientos comunes en animales, tal es el caso de los equinos que a menudo presentan problemas de úlcera gástrica debido a que secretan ácido clorhídrico continuamente. Actualmente para su tratamiento se utilizan antagonistas  $H_2$ , antiácidos, compuestos de bismuto y prostaglandinas sintéticas.

El omeprazol se ha administrado en formas farmacéuticas tradicionales como son polvo liofilizado inyectable, suspensión y tabletas adhesivas bucales, para los caballos existe una pasta, estas presentaciones resultan adecuadas en el tratamiento de úlcera gástrica, pero requieren de una administración constante durante un período de tiempo específico.

Para optimizar el régimen de dosificación de fármacos, recientemente la investigación farmacéutica se ha enfocado a los sistemas de liberación modificada con la finalidad de obtener formas farmacéuticas que garanticen un efecto terapéutico eficiente y seguro. Dentro de los sistemas de liberación modificada de fármacos se encuentran los sistemas coloidales o transportadores particulados que incluyen, entre otros, a las nanopartículas.

Las nanopartículas son sistemas que contienen un fármaco disperso con un polímero o un lípido y pueden ser producidas por diferentes técnicas. Con este trabajo se busca comparar cuatro técnicas mediante la caracterización de las nanopartículas obtenidas, para definir cual es la más adecuada para el fármaco de interés.



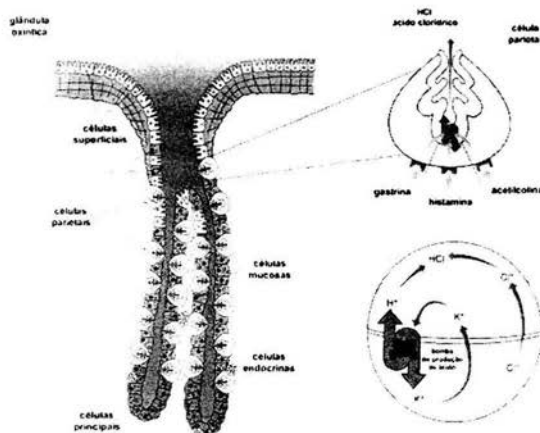
### III. ANTECEDENTES

#### 1. Úlcera gástrica y su tratamiento

##### 1.1 Fisiología de la secreción de ácido gástrico

El estómago contiene glándulas gástricas constituidas por cuatro tipos de células: células zimogéneas o principales que producen pepsinógeno el cual se convierte en pepsina en presencia de HCl; células mucosas del cuello que producen moco alcalino; células argentafines (endócrinas) que producen y almacenan serotonina (vasoconstrictor) y células oxínticas o parietales que producen HCl a partir de NaCl, H<sub>2</sub>O y CO<sub>2</sub>.<sup>1-3</sup>

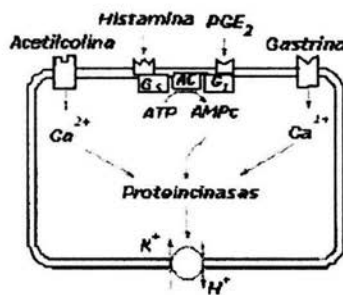
La célula parietal está constituida en su mayoría por mitocondrias, posee varios tipos de receptores estimulantes e inhibidores de la secreción de ácido. Entre los primeros se encuentran el receptor H<sub>2</sub> para histamina, el M<sub>3</sub> para la acetilcolina y el receptor G para la gastrina; y entre los segundos el receptor para la somatostatina, el receptor para prostaglandina y el del factor de crecimiento epidérmico (*Fig. 1.1*). Dichos receptores actúan regulando la disponibilidad de calcio intracelular (Ca<sup>2+</sup>) y así activar o desactivar la enzima H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa (bomba de protones) responsable final de la secreción de ácido. Esta enzima está compuesta de dos subunidades ( $\alpha$  y  $\beta$ ) y requiere de ATP para su funcionamiento, está acoplada a la salida de K<sup>+</sup> de la célula.<sup>4</sup>



*Fig. 1.1 Célula parietal*

La regulación de la secreción parietal de ácido se puede realizar por tres vías principales (**Fig. 1.2**). La *vía neurocrina* involucra una estimulación neural que provoca la liberación de neurotransmisores como la acetilcolina que interactúa con los receptores muscarínicos de la célula parietal. La *vía endocrina* libera hormonas como la gastrina que pueden interactuar con los receptores correspondientes de la célula parietal, estimulando la descarga de histamina. La *vía paracrina* libera autacoides y factores tisulares como la histamina que interactúan con los receptores  $H_2$  de la célula parietal que están relacionados con la activación de proteíncinasas dependientes de AMPc.<sup>5,6</sup>

*Regulación de la secreción gástrica*



**Fig. 1.2 Regulación de la secreción**

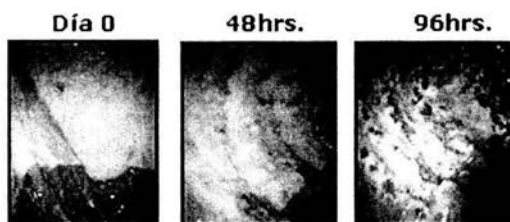
La secreción de ácido ocurre en cuatro fases. Las primeras tres Cefálica, Gástrica e Intestinal son estimuladas por la comida y mediadas por la gastrina. La secreción es persistente durante estas fases y el pH gástrico disminuye progresivamente con el paso de los alimentos a través del tracto gastrointestinal. La secreción de la gastrina es inhibida completamente a pH de 1.5. La cuarta fase es la Basal y ocurre en ausencia de estimulación externa.<sup>1,5</sup>

## 1.2 Úlceras en caballos

El estómago de los equinos se divide en dos regiones anatómicas: una región escamosa y otra glandular. La mayoría de los casos de úlceras gástricas en caballos adultos se presentan en el epitelio escamoso de la mucosa no glandular.<sup>7</sup> El pH gástrico normalmente es 2 y tiende a ser más bajo cuando los caballos dejan de comer por un cierto período de tiempo, lo que puede provocar ulceración severa.<sup>8</sup>

Las úlceras en el estómago, duodeno y esófago representan un padecimiento común en potros y caballos adultos con una prevalencia del 51% y 66% respectivamente y los modelos de ulceración (**Fig. 1.3**) pueden ser muy severos, por lo que su tratamiento es de gran interés y su investigación se ha incrementado recientemente. Entre las causas principales de este padecimiento se encuentran por ejemplo, el uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES), el estrés y el entrenamiento al que se someten algunos de estos animales. En todos los casos, el objetivo de una terapia es eliminar los signos clínicos y promover la curación de la úlcera, así como prevenir su recurrencia y complicaciones.

### *Modelo de ulceración*



**Fig. 1.3 Modelos de ulceración**

Para elegir una terapia de tratamiento es necesario tener evidencia de las lesiones mediante una endoscopia, así como la presencia de signos clínicos como cólico recurrente. La duración de la terapia depende de la profundidad y severidad de la úlcera, por lo general las heridas de la región glandular sanan más rápido que las de la zona escamosa.<sup>7</sup>

### 1.3 Alternativas de tratamiento

La defensa de la mucosa gastrointestinal incluye diversos mecanismos como: la secreción de sustancias como bicarbonato y moco alcalino para neutralizar el ácido clorhídrico en el lumen; la existencia de una barrera epitelial gástrica que se replica rápidamente y está compuesta por fosfolípidos y lipoproteínas que previenen la difusión de iones hidrógeno; un adecuado flujo sanguíneo en la mucosa que además de aportar nutrientes y oxígeno, remueva iones hidrógeno; y la capacidad de producir localmente agentes citoprotectores como prostaglandinas y sulfhidrilos.<sup>5,7</sup>

La acidez gástrica puede ser suprimida por la prevención de la secreción ácida o neutralización de HCl (**Fig. 1.4**). En el primer caso se utilizan dos clases de fármacos: antagonistas H<sub>2</sub> (cimetidina, ranitidina, famotidina, nizatidina) y los inhibidores de la bomba de protones (omeprazol, lansoprazol, pantoprazol). La neutralización se logra con el uso de antiácidos que contienen sales como carbonato de calcio e hidróxido de aluminio o magnesio.<sup>8,9</sup> En equinos también se pueden utilizar agentes citoprotectores como sucralfato, compuestos de bismuto y prostaglandinas sintéticas para el tratamiento de úlceras gástricas (**Tabla 1**).

#### Alternativas de tratamiento

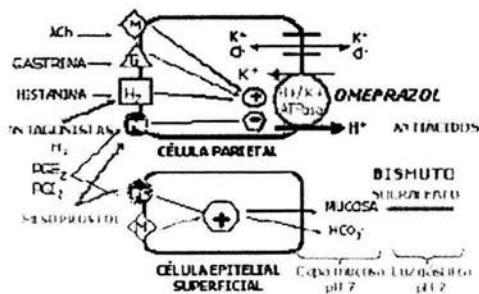


Fig. 1.4 Alternativas de tratamiento

### **Antagonistas H<sub>2</sub>**

Son antagonistas competitivos de la histamina por el sitio de los receptores H<sub>2</sub> en la célula parietal. Inhiben la secreción de ácido clorhídrico y pepsina, son compuestos selectivos y su efectividad depende de la dosis. Presentan variabilidad en la respuesta debido a su baja biodisponibilidad después de la administración oral que es menor al 30%.<sup>8</sup> En caballos, la ranitidina es 4 veces más potente que la cimetidina, y la famotidina es aún más potente que la ranitidina. Se presenta variabilidad individual en caballos por lo que es necesario evaluar la respuesta terapéutica. El único efecto adverso de la cimetidina en caballos es la inhibición del Citocromo P<sub>450</sub> lo que altera el metabolismo de algunas sustancias.

### **Antiácidos**

Engloban a compuestos básicos que neutralizan el ácido en el lumen. La magnitud y duración del efecto se ven limitados por la dosis y el vaciamiento gástrico. Se ha demostrado en caballos que el pH se incrementa y se puede mantener por arriba de 4 hasta por 2h, pero se requiere de una administración constante. El hidróxido de aluminio induce la síntesis local de protectores de la mucosa como las prostaglandinas, además inactiva a la pepsina al elevar el pH. El hidróxido de aluminio provoca constipación por lo que se usa en combinación con el de magnesio para prevenir este efecto. También es de uso común el carbonato de calcio.

### **Citoprotectores**

- *Compuestos de bismuto*: El más común es el subsalicilato de bismuto pero tiene una baja capacidad de neutralización, inhibe a la pepsina y tienen efecto citoprotector al incrementar la secreción de moco y bicarbonato que forma una barrera sobre la úlcera. No produce un cambio significativo en el pH.

- *Sucralfato*: Es una sal de hidróxido de aluminio y sacarosa que en medio ácido forma un gel viscoso que se adhiere a las células epiteliales de la úlcera por más de 6 horas, dicho recubrimiento forma una capa que protege a la úlcera de los efectos del ácido y la pepsina. Incrementa el grosor y la calidad de la mucosa y previene su degradación, asimismo, estimula la formación de prostaglandinas y bicarbonato. Su uso en

caballos se ha restringido por causar constipación durante el tratamiento. El máximo efecto depende del medio ácido para su activación.

- *Prostaglandinas sintéticas*: La secreción gástrica puede ser modulada por prostaglandinas del grupo E que actúan como agentes citoprotectores. El misoprostol es un metil éster análogo de la PGE<sub>1</sub> que incrementan el flujo sanguíneo gástrico así como la producción de bicarbonato y moco. Se tienen pocos datos de su uso recomendado para el tratamiento de úlceras en caballos, debido a sus efectos adversos en el tracto intestinal como son diarrea y cólico.

### ***Inhibidores de la H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPasa***

Los benzimidazoles sustituidos bloquean la bomba de protones evitando la secreción. El omeprazol es transportado desde la sangre a las células parietales, donde se origina el metabolito activo que forma un complejo covalente con la enzima de manera irreversible.<sup>8</sup> El omeprazol es el único inhibidor utilizado en veterinaria para disminuir la secreción gástrica. Es aproximadamente 10 veces más potente que la cimetidina.

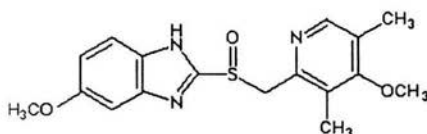
**Tabla 1 Medicamentos para el tratamiento de úlcera gástrica.**<sup>7-12</sup>

<b>Nombre comercial</b>	<b>Principio Activo</b>	<b>Dosis efectiva</b>	<b>Mecanismo de acción</b>
TAGAMENT <sup>®</sup>	Cimetidina	8.8mg/Kg/3veces al día/8días	Antagonista H <sub>2</sub>
ZANTAC <sup>®</sup>	Ranitidina	2.2mg/Kg/3veces al día/8días	Antagonista H <sub>2</sub>
PEPCID <sup>®</sup>	Famotidina	1mg/Kg/3veces al día/8días	Antagonista H <sub>2</sub>
MELOX <sup>®</sup>	Hidróxido de Aluminio y Magnesio	250mL, administración constante	Antiácido
NEIGHLOX <sup>®</sup>	Hidróxido aluminio y magnesio.	250mL, administración constante	Antiácido
GASTROGARD <sup>®</sup>	Omeprazol	4mg/Kg/día	Inhibidor de la H <sup>+</sup> /K <sup>+</sup> -ATPasa
CARAFATE <sup>®</sup>	Sucralfato	22mg/Kg/3 veces al día	Protector del tejido

## 1.4 Omeprazol

### Características y propiedades

El 5-metoxi-2-[[[4-metoxi-3,5-dimetil-2-piridinilmetil]sulfinil]-1H-benzimidazol  $C_{17}H_{19}O_3N_3S$ , cuyo peso molecular es 345.45g/mol, es un benzimidazol sustituido conocido comúnmente como omeprazol (**Fig. 1.5**). Es un sólido blanco cristalino de  $P_f$  156°C, soluble en etanol y metanol, ligeramente soluble en acetona e isopropanol y poco soluble en agua. Es una sustancia que presenta diferentes valores de pKa (3.42, 4.61 y 9.08) y es inestable a pH ácido y neutro; la presencia de concentraciones elevadas de sales puede degradarlo.<sup>13</sup> El omeprazol es sensible al calor y es fotodegradado generando dos productos: sulfida benzimidazol y sulfenamida, que pueden ser determinados por métodos espectrofotométricos.<sup>14,15</sup>



**Fig. 1.5 Estructura del omeprazol**

### Farmacodinamia y Farmacocinética

Inhíbe la secreción gástrica a nivel de la enzima  $H^+/K^+$ -ATPasa (bomba de protones) de las células parietales, es efectivo para el tratamiento de la úlcera gástrica, inhibe la secreción basal y la estimulada por la histamina y AMPc.<sup>16</sup>

El omeprazol es un profármaco que al llegar a las células parietales del estómago es protonado por efecto del pH dando origen a dos compuestos: ácido sulfénico y sulfenamida, esta última interactúa de manera covalente con los grupos sulfhidrilo ( $-SH$ ) de la enzima (**Fig. 1.6**) originando una inhibición completa con dos moléculas de omeprazol por cada enzima.<sup>6</sup> *In vivo* el omeprazol manifiesta una inhibición irreversible de la enzima, *in vitro* se ha demostrado que el efecto inhibitorio puede ser revertido si se reduce el compuesto a sulfhidrilo.<sup>16</sup> La especificidad del

inhibidor se debe a la distribución selectiva de la enzima en el estómago y a la necesidad de condiciones ácidas para generar la sulfenamida.

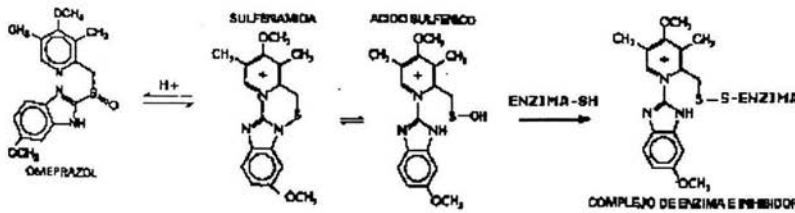


Fig. 1.6 Inhibición de la enzima

La biodisponibilidad seguida de la administración oral es baja por su rápida degradación en el estómago, el omeprazol se absorbe en el intestino delgado y presenta efecto de primer paso, el volumen de distribución aparente ( $V_d$ ) es 0.3-0.4 L/Kg (agua extracelular). Se une a proteínas plasmáticas 95-96%. Se elimina rápidamente en orina, sufre metabolismo hepático (hidroxilación aromática, O-desmetilación, formación de glucurónidos), los principales metabolitos que se han identificado son: Sulfido, Sulfona e Hidroxioimeprazol (Fig. 1.7). La depuración es de 32-40 L/h, el tiempo de vida media es entre 0.5-1.5h, se elimina principalmente por la orina.<sup>17</sup>

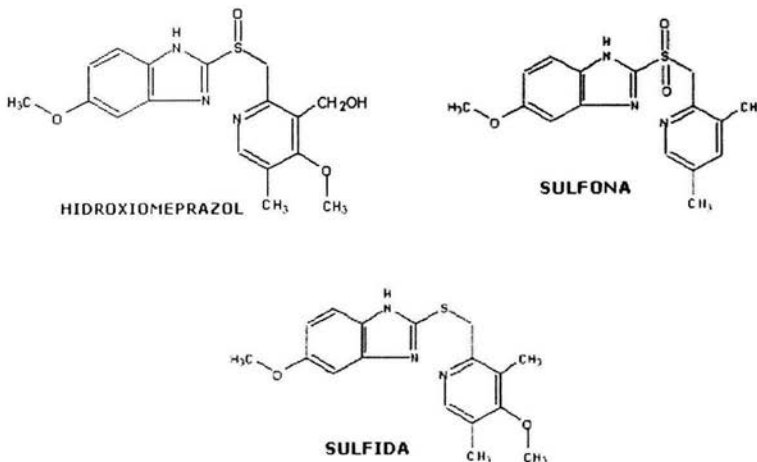


Fig. 1.7 Metabolismo del omeprazol



### **Presentaciones en el mercado**

La dosis oral recomendada en humanos es 20mg/día y se cuenta con diferentes presentaciones tradicionales como son las tabletas, cápsulas y liofilizados (LOSEC®), recientemente se han formulado tabletas adhesivas las cuales requieren de excipientes poliméricos adhesivos y materiales alcalinos como óxido de magnesio que permiten estabilizar al omeprazol previniendo su descomposición en medio ácido o neutro, la cual se manifiesta con un cambio en el color de la tableta que va de blanco a violeta y negro.<sup>18,19</sup> Existe además una suspensión con una base de carbonato de sodio y que garantiza su estabilidad por 14 días a 22°C y por 45 días a 4°C cuando es almacenado en jeringa de plástico de color ámbar y en frascos ámbar de vidrio.<sup>20</sup>

En el caso de los caballos la dosis recomendada es de 4mg/Kg/día, y en el mercado existen gránulos con recubrimiento entérico que se administra por vía nasogástrica para ayudar a aliviar los signos clínicos y mejorar las lesiones gástricas.<sup>8</sup> Recientemente ha salido al mercado una pasta de omeprazol (GASTROGARD®) que se administra junto con el alimento. Una desventaja de estas formulaciones es su baja biodisponibilidad y que ninguna es de liberación modificada.<sup>10</sup>

## 2. Sistemas de liberación modificada

### 2.1 Definición y aplicación

Durante los siglos XIX y XX se presentó la revolución de los fármacos y se desarrollaron nuevos productos como polvos o líquidos de administración oral o aplicación externa. A partir de la década de los 30's se comienza a trabajar sobre de los sistemas de liberación controlada, en 1937 la *Royal Society of Medicine* en Londres describe un método para formular hormonas de administración subcutánea que presentan una liberación continua durante tres meses en diversos animales. Esta idea se practicó de manera eficiente en 1950 para mejorar el crecimiento del ganado y en las últimas dos décadas el desarrollo de formulaciones de liberación sostenida de administración intramuscular y subcutánea se ha incrementado en la industria farmacéutica humana y veterinaria.<sup>21,22</sup>

La aplicación de los sistemas de liberación controlada tiene por objetivo la eficiencia terapéutica y la seguridad, disminuyendo la dosis y el número de administraciones.<sup>23</sup> Asimismo mediante estos sistemas es posible transportar y liberar proteínas, así como dirigir los fármacos a lugares específicos reduciendo su toxicidad.<sup>24</sup>

Los nuevos sistemas de liberación modificada abarcan los conceptos de liberación sostenida o prolongada, controlada y rápida. La primera comprende cualquier sistema de suministros de fármaco que logre la liberación lenta a lo largo de un período prolongado, retarda la liberación del fármaco y su aparición en la circulación. La segunda define un perfil de liberación de fármaco constante, abarca los sistemas que pueden ser sometidos a un control específico en la liberación con la finalidad de mantener niveles constantes de fármaco en plasma. La liberación rápida se caracteriza por alcanzar concentraciones terapéuticas rápidamente (como en una infusión) pero el perfil cae también rápidamente (**Fig. 2.1**).<sup>25,26</sup>

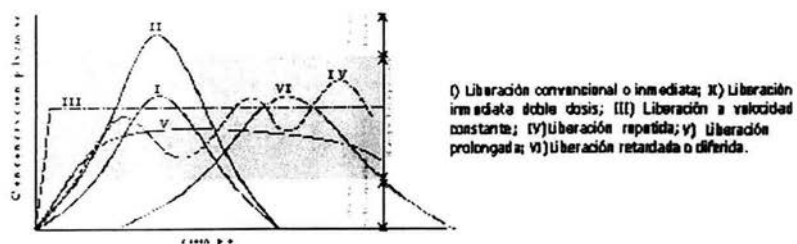


Fig. 2.1 Perfiles de liberación

## **2.2 Consideraciones para el desarrollo un sistema de liberación modificada**

El desarrollo de un sistema de liberación modificada de fármacos requiere del conocimiento de parámetros que influyen en la liberación y absorción del fármaco. Es importante conocer las propiedades químicas y fisicoquímicas del fármaco, sus características farmacocinéticas, así como la interacción de éste con el sistema de liberación y los fluidos biológicos.<sup>26,27</sup>

Durante el desarrollo de un sistema de liberación es necesario considerar la biocompatibilidad de todos los agentes, los cuales deben ser químicamente inertes, no carcinogénicos, hipoalergénicos y estables en el sitio de administración y no desencadenar respuesta inmunológica. En el ramo veterinario la elección de la ruta de administración considera aspectos como la especie, la dosis y el costo. Las vías de administración más utilizadas en este campo son: bucal, nasal, rectal, oral, intravaginal, intramuscular y transdérmica; y con ellas se abarca desde unas horas hasta días o años de liberación de fármaco.<sup>27</sup> Algunos de los parámetros involucrados en el desarrollo de un sistema de liberación controlada de fármacos son los siguientes:

### ***Fisicoquímicos***

- *pKa*: Afecta la permeabilidad en función del pH y el estado iónico del fármaco. La solubilidad se incrementa con la ionización pero la absorción disminuye. En el caso de formas parenterales los cambios del estado de ionización pueden provocar precipitación del fármaco que conduciría a una irritación local, el tamaño de partícula del precipitado puede afectar el perfil de liberación.<sup>27</sup>

- *Coefficiente de partición*: Indica la lipoficidad del fármaco que puede influir en el paso de éste a través de las barreras biológicas para ser absorbido. La liberación del fármaco desde una matriz está relacionada directamente con la diferencia de solubilidad en ésta y el medio al que se libera.<sup>27</sup>

- *Solubilidad*: La solubilidad del fármaco en el polímero que constituye el sistema, determina la velocidad de liberación. También la solubilidad que presente el fármaco en el medio de disolución al que va a llegar influye en la velocidad de liberación, esta solubilidad se puede mejorar con el uso de cosolventes. Es importante que al hacer estudios de liberación

liberación del sistema se mantengan condiciones sink (concentración de soluto 10 veces por debajo de la solubilidad).

- *Estabilidad:* La estabilidad del fármaco a factores como pH humedad y temperatura tanto en el proceso de fabricación como en su transporte y almacenamiento para garantizar la seguridad del producto y su efecto terapéutico.

- *Difusividad:* La difusión es el paso de moléculas de fármaco a través de la matriz polimérica o del reservorio y se lleva a cabo por un gradiente de concentración del fármaco e involucra el doblamiento de las cadenas poliméricas para dejar el espacio necesario para la difusión del fármaco. Esta propiedad resulta importante porque de ella depende la velocidad con la que el fármaco sea liberado por este mecanismo.<sup>27</sup>

### **Farmacocinéticas**

- *Absorción:* Es una etapa importante principalmente en las formas de dosificación orales ya que de la eficiencia de este proceso depende en muchas ocasiones el efecto terapéutico que se desea. Cuando los fármacos presentan una biodisponibilidad deficiente se recomienda su administración parenteral o la incorporación de los mismos en un sistema de liberación modificada.

- *Distribución:* Una vez que el fármaco es absorbido se distribuye en el organismo dependiendo de las propiedades fisicoquímicas del fármaco. Esta distribución puede ocasionar toxicidad en algunos órganos por lo cual se busca un sistema de liberación modificada que esté dirigido a un sitio específico.<sup>26</sup>

- *Metabolismo:* Los fármacos que presentan metabolismo de primer paso son candidatos para un sistema de liberación modificada en una formulación parenteral. Asimismo, si el fármaco es muy susceptible a condiciones fisiológicas como el pH gástrico y la unión a proteínas plasmáticas.

- *Eliminación:* Cuando la excreción es dependiente de las concentraciones plasmáticas, la liberación modificada puede afectar la rapidez de eliminación para mantener la concentración del fármaco en plasma y alargar su efecto. Los fármacos cuya vida media en el organismo es muy corta son buenos candidatos para incorporarlos en un sistema de liberación modificada.<sup>26,27</sup>

### 2.3 Modelos de incorporación del fármaco

Cuando se busca la producción de sistemas de liberación modificada como son las nanopartículas es importante considerar que uno de los principales problemas que se presenta en estos sistemas es el llamado "Efecto Burst" que es la liberación espontánea del fármaco que se encuentra fuera de la nanopartícula, el fármaco incorporado dentro es liberado de manera prolongada. La liberación se puede modificar en función de la matriz, la concentración de tensoactivo y los parámetros de producción. En cuanto al burst estará en función de las propiedades fisicoquímicas del fármaco y variables como elevadas temperaturas y las altas concentraciones de tensoactivo que incrementan el burst como consecuencia en el aumento de la solubilidad del fármaco en la fase acuosa. Algunos de los modelos de encapsulación propuestos son los siguientes (Fig. 2.2):<sup>28,29</sup>

**Dispersión sólida:** Involucra una dispersión molecular del fármaco y el lípido o polímero, las partículas son reducidas en tamaño con presión de homogenización, pero conservan su estructura de dispersión sólida. La liberación es gobernada por la difusión del fármaco a través de una matriz sólida.

**Fármaco en la capa:** El fármaco se encuentra en la capa externa de la partícula y presenta liberación en burst. El lípido precipita primero, formando centros libres de fármaco, la posterior precipitación del fármaco forma una capa que rodea el centro lipídico.

**Fármaco en el centro:** Cuando se tiene una microemulsión o una disolución saturada de fármaco con el lípido, se puede conseguir un centro en el que se contiene el fármaco, rodeado por una capa del lípido, la concentración del fármaco corresponde a la solubilidad de éste a la temperatura de solidificación del lípido.

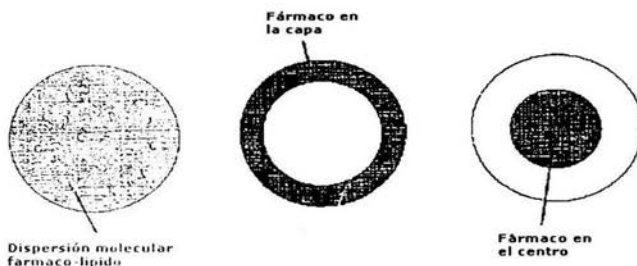


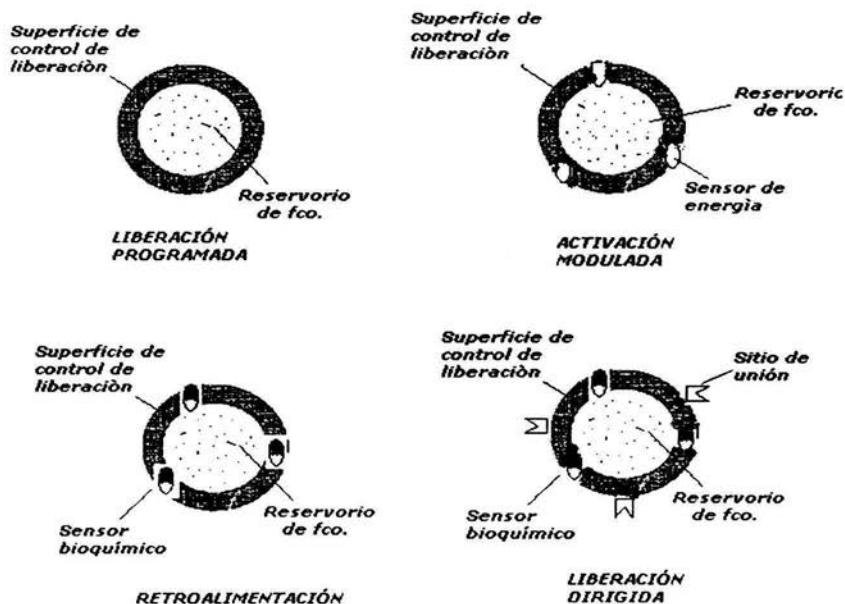
Fig. 2.2 Incorporación de fármaco

## 2.4 Clasificación de los mecanismos de liberación

Los sistemas de liberación controlada se pueden clasificar de acuerdo a su mecanismo de liberación (**Fig. 2.3**) de la siguiente manera:<sup>25-</sup>  
27

1. Velocidad de liberación preprogramada
2. Activación modulada de la liberación
3. Regulación por retroalimentación
4. Liberación dirigida

Los tres primeras se refieren a un control en el tiempo de liberación y la última se refiere a un control en la ubicación espacial en la que es liberado el fármaco.



**Fig. 2.3 Mecanismos de liberación**

**1. Velocidad de liberación preprogramada:** El perfil de liberación se controla por difusión molecular del fármaco a través de una barrera. Se describe mediante la segunda Ley de difusión de Fick. Existen tres tipos<sup>25-27</sup>:

*A) Permeación a través de una membrana polimérica:* El fármaco se encapsula con una membrana de permeabilidad específica para formar un reservorio el cual puede ser sólido, una suspensión o una solución. La liberación depende de los coeficientes de partición y difusión del fármaco, de la porosidad de la membrana y de la concentración del fármaco en el reservorio. **(Ec.1)**

$$Q/t = (K_{m/r} K_{a/m} D_d D_m / K_{m/r} D_m h_d + K_{a/m} D_d h_m) (C_R) \quad (Ec.1)$$

$Q/t$  es la velocidad de liberación del fármaco.

$K_{m/r}$   $K_{a/m}$  son los coeficientes de partición interfacial entre el fármaco y la membrana y entre la membrana y la capa de difusión.

$D_d$   $D_m$  son los coeficientes de difusión a través de la membrana de grosor ( $h_m$ ) y a través de la capa de difusión de grosor ( $h_d$ ).

$C_R$  es la concentración del fármaco en el dispositivo.

Ejemplos: Progestasert<sup>®</sup> es una suspensión de progesterona contenida en un dispositivo intrauterino de etilen-vinil acetato, Ocusert<sup>®</sup> es un inserto ocular de alginato de pilocarpina útil en el tratamiento del glaucoma.

*B) Difusión a través de una matriz polimérica:* El reservorio es preparado como una dispersión homogénea del fármaco en el polímero (hidrofílico o lipofílico), esta dispersión puede lograrse mediante diferentes técnicas como la de difusión del disolvente o por una fusión del polímero. La liberación está controlada por la cantidad de fármaco en el reservorio, la solubilidad de éste en el polímero y su difusión a través de la matriz. **(Ec.2)**

$$Q/t^{1/2} = (2AC_R D_p)^{1/2} \quad (Ec.2)$$

$Q/t^{1/2}$  es la velocidad de liberación del fármaco.

$A$  es la dosis inicial de fármaco.

$C_R$  es la solubilidad del fármaco en el polímero.

$D_p$  es la difusión del fármaco a través de la matriz polimérica.

Ejemplos: Compudose<sup>®</sup> es un implante subcutáneo de estradiol en una matriz de silicon, se utiliza como anticonceptivo.

C) *Microrreservorio*: Implica la microdispersión de una suspensión acuosa del fármaco con un polímero mediante un proceso mecánico de dispersión (homogenización). La liberación es dependiente de variables fisicoquímicas como la solubilidad del fármaco en el polímero y se lleva a cabo por difusión o disolución. (Ec.3)

$$dQ/dt = (D_p D_d m K_p / D_p h_d + D_d h_p m K_p) [n S_p - (D_i D_i (1-n) / h_i) (1/K_i + 1/K_m)]$$

(Ec.3)

$dQ/dt$  es la velocidad de liberación del fármaco.

$K_i, K_m, K_p$  son coeficientes de partición del fármaco y el reservorio, entre el reservorio y la membrana y entre la membrana y el medio de difusión.

$D_i, D_p, D_d$  representan la difusión a través del reservorio de grosor ( $h_i$ ); a través de la membrana de grosor ( $h_p$ ); y a través de la capa de difusión de grosor ( $h_d$ ).

$m = a/b$  y es la relación entre la cantidad de fármaco dentro ( $a$ ) y fuera ( $b$ ) de la matriz.

$S_i, S_p$  son la solubilidad del fármaco en el compartimiento líquido y en la matriz polimérica.

Ejemplos: Nitrodisc system<sup>®</sup> en el que el reservorio del fármaco lo constituye una suspensión de nitroglicerina en un disco de silicon, de administración transdérmica útil en el tratamiento de angina de pecho.

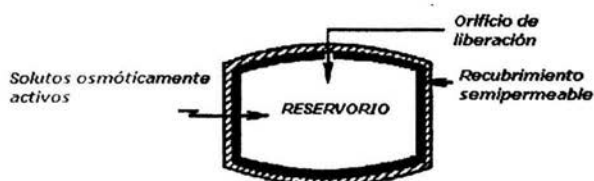
**2. Activación modulada de la liberación:** La liberación del fármaco desde un reservorio o matriz puede ser facilitada por el suministro de energía mediante diferentes medios. Dependiendo del tipo de energía usada y el proceso de aplicación, estos sistemas se clasifican como físicos, químicos o bioquímicos.<sup>25-27</sup>

#### A) Mecanismos físicos

- Presión osmótica: La liberación se modula mediante un gradiente de presión osmótica entre el reservorio del fármaco y el medio que lo recubre. Depende de la permeabilidad al agua y del área superficial efectiva de la membrana semipermeable utilizada. La diferencia de presión provoca la reducción de volumen en el reservorio liberando el fármaco de manera controlada. La formulación puede ser sólida o en solución.

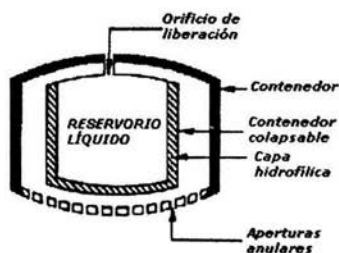
Ejemplos: Alzet<sup>®</sup> es un dispositivo subcutáneo que libera vasopresina (antidiurético) mediante una activación osmótica con cloruro de sodio (Fig. 2.4).





**Fig. 2.4 Regulación por presión osmótica**

- **Presión hidrodinámica:** Esta es constituido por un contenedor en el que se encuentra el reservorio de fármaco, entre estos compartimentos se encuentra una capa absorbente de un polímero hidrofílico la cual genera una diferencial de presión hidrodinámica que reduce el volumen del reservorio forzando al fármaco a salir por un orificio de manera controlada. (Fig. 2.5)



**Fig. 2.5 Regulación por presión hidrodinámica**

- **Presión de vapor:** El fármaco es administrado con un dispositivo para infusión el cual se separa de un sistema de bombeo por una división de libre movimiento que contiene un flujo de fluorocarbono que vaporiza a la temperatura corporal. Esta vaporización genera una presión que desliza la división y provoca la salida del fármaco con un flujo continuo. La liberación se controla por la diferencia de presión, la viscosidad de la formulación y el tamaño de la cánula de infusión. Ejemplo: Infusaid® con heparina.

- **Activación mecánica:** El reservorio de fármaco es contenido en un equipo con un sistema mecánico de bombeo que libera el fármaco en una cavidad específica como la nariz, el volumen liberado es independiente de la fuerza aplicada y la duración de la activación. Ejemplo: Nebulizador de insulina.

- Activación magnética: El reservorio es una dispersión del fármaco en una matriz polimérica. La liberación es lenta por la incorporación de un mecanismo electromagnético (anillos magnéticos) que es activado por vibración. Ejemplos: Liberación de albúmina sérica bovina. (Fig. 2.6)

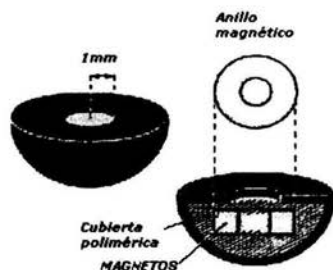


Fig. 2.6 Regulación magnética

- Sonoforesis: Utiliza energía ultrasónica para abrir los poros de una membrana que contiene el reservorio del fármaco para que este pueda ser liberado.

- Iontoforesis: Utiliza corriente eléctrica para activar y modular la difusión pasiva del fármaco a través de una membrana biológica como la piel facilitando su permeación. Ejemplos: Opresor<sup>®</sup> para liberar dexametasona (antiinflamatoio) de manera percutánea.

- Hidratación: El reservorio es homogéneamente dispersado en una matriz de un polímero hidrofílico que se hincha por hidratación. Ejemplos: Syncro-Mate-B<sup>®</sup> que es una progestina en una solución alcohólica del polímero etilenglicometacrilato. Valrelease<sup>®</sup> tabletas de valium (tranquilizante) con un hidrocoloide que al absorber los fluidos gástricos forma un gel coloidal sobre la tableta, la liberación se controla por la difusión del fármaco a través de dicho gel. (Fig. 2.7)

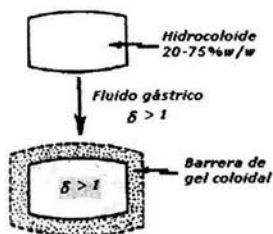


Fig. 2.7 Activación por hidratación

B) Mecanismos químicos

- Activación por pH: Permite dirigir la liberación en una región con un rango de pH específico. El reservorio es una dispersión del fármaco con un polímero sensible a cambios de pH que se encapsula con una membrana polimérica como de etilcelulosa. El fármaco es liberado por difusión y controlado por la solubilidad de la membrana y la penetrabilidad. Ejemplo tabletas y cápsulas con recubrimiento entérico (Fig. 2.8).



Fig. 2.8 Regulación por pH

- Activación iónica: Es utilizada para fármacos iónicos. Se forma un complejo entre el fármaco y una resina de intercambio iónico con un contraión adecuado, este complejo se recubre con un polímero como el polietilenglicol 400 y se encapsula con una membrana de etilcelulosa (permeable al agua) que regula la liberación por difusión del fármaco en un medio electrolítico con el que intercambia iones. (Fig. 2.9)

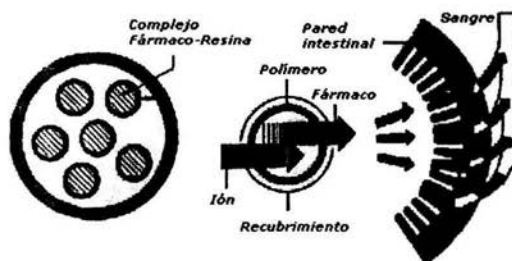


Fig. 2.9 Activación iónica

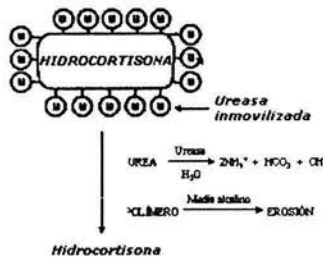
- **Hidrólisis:** El reservorio de fármaco es dispersado homogéneamente con un polímero en sistemas particulados. La liberación del fármaco es regulada por la hidrólisis que es capaz de degradar el polímero del que se constituyen las partículas (Ej. PLGA copolímero de ácido láctico y ácido glicólico). Ejemplos: Implante subdérmico de un análogo de la hormona reguladora de la hormona luteinizante (LHRH) utilizada para el tratamiento de carcinoma prostático.

**C) Mecanismos bioquímicos**

- **Activación enzimática:** El reservorio es encapsulado en microesferas junto con un polímero biodegradable. La liberación es activada por la hidrólisis enzimática del polímero mediante una enzima específica en un cierto tejido. Ejemplos: Microesferas de albúmina que liberan 5-fluorouracilo al ser degradadas por proteasas.

**3. Regulación por retroalimentación:** La regulación se realiza por la concentración de una sustancia química presente en el organismo, la cual es detectada por un sensor que se encuentra dentro del sistema de liberación. Existen varios tipos<sup>25-27</sup>:

A) **Bioerosión:** El fármaco es dispersado en una matriz polimérica que es recubierta por una enzima específica como la ureasa, la cual al encontrarse con su sustrato urea, la degrada generando amonio que incrementa el pH del medio e induce la degradación del polímero para liberar el fármaco. (Fig. 2.10)



**Fig. 2.10 Bioerosión**

B) *Biorrespuesta*: El fármaco es contenido en una membrana polimérica sensible a la penetrabilidad de un agente químico que se encuentra presente en el tejido. Ejemplo: Un reservorio de insulina es encapsulado en un hidrogel que contiene grupos  $-NR_2$  y una enzima glucosa oxidasa, la glucosa penetra en la membrana polimérica y es oxidada por la enzima generando ácido glucónico, el pH provoca la formación de grupos  $-NR_2H^+$  por lo que la membrana se vuelve permeable para que la insulina pueda ser liberada. (Fig. 2.11)

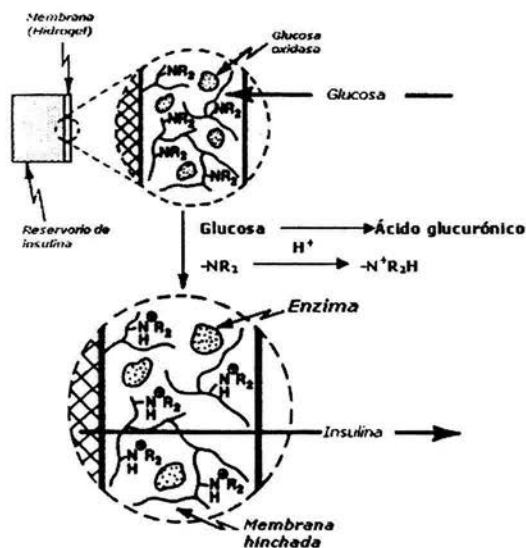


Fig. 2.11 Biorrespuesta

C) *Autorregulación*: Depende de mecanismo de unión reversible y competitiva. El reservorio es encapsulado con una membrana polimérica semipermeable, la liberación es regulada por la penetración de un agente químico que estimula la salida del fármaco (Fig. 2.12).

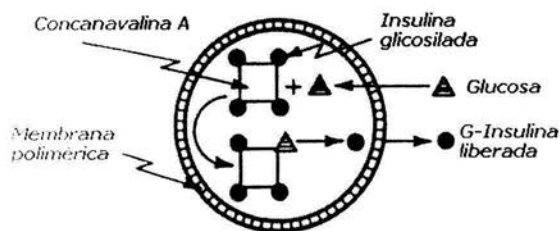


Fig. 2.12 Autorregulación

**4. Liberación dirigida:** El desarrollo de un sistema de liberación dirigido a un sitio específico busca reducir la toxicidad de ciertos fármacos inespecíficos. El diseño de estos dispositivos implica la incorporación de un elemento de reconocimiento como un anticuerpo, para que se una selectivamente a una célula o tejido blanco de tal manera que el fármaco contenido en el sistema donador pueda ser depositado en ese lugar y ejerza su efecto. Algunos sistemas también incluyen un agente solubilizante que facilite la disponibilidad del fármaco.<sup>26</sup> (Fig. 2.13)

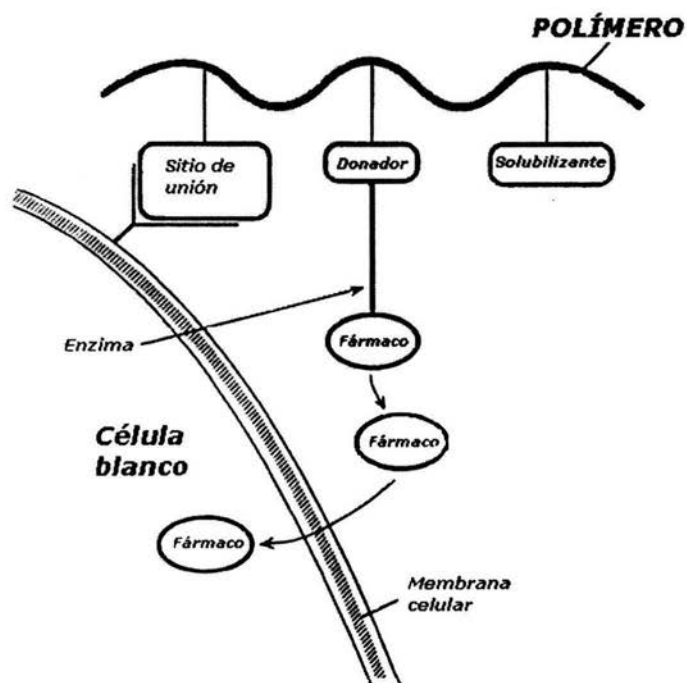


Fig. 2.13 Liberación dirigida

## **2.5 Ventajas de las formas farmacéuticas de liberación modificada**

Existe una gran variedad de aplicación para los sistemas de liberación modificada de fármacos ya que pueden ser administrados en diferentes formas farmacéuticas como son:<sup>23,25</sup>

Bucal: Pastas y tabletas adhesivas

Oral: Tabletillas y cápsulas con recubrimiento entérico

Dispositivos intrauterinos

Dispositivos transdérmicos

Parenterales: Inyectables

Implantes subcutáneos, oculares

Todas estas formas de dosificación presentan ventajas sobre las formas convencionales de dosificación, la farmacoterapia con productos de liberación modificada pretende mejorar el tratamiento farmacológico a través de ventajas como son:<sup>21,23,25</sup>

- ✓ Evitar los problemas de incumplimiento por parte del paciente, reduciendo el número de administraciones.
- ✓ Reducción de la dosis con lo que se pueden minimizar los efectos colaterales, así como evitar la acumulación de fármaco.
- ✓ Mejorar la eficiencia en el tratamiento que se verá reflejada en la rapidez de recuperación de la enfermedad.
- ✓ Incrementar la biodisponibilidad de algunos fármacos que son susceptibles a la inactivación enzimática o bacteriana, así como protegerlos de su metabolismo.

### **3. Nanopartículas**

#### **3.1 Sistemas particulados**

Los sistemas particulados para transportar fármacos incluyen a las microemulsiones, emulsiones o/w w/o y w/o7w, liposomas, micropartículas y nanopartículas de polímeros sintéticos o naturales y lípidos.<sup>22,29-31</sup>

Las emulsiones pueden presentar inestabilidad física cuando se incorpora el fármaco, además que se tiene la limitante en cuanto a la solubilidad del fármaco en la fase oleosa, requiere de estudios de toxicidad.<sup>22</sup>

Los liposomas son esferas huecas formadas por una bicapa lipídica de fosfolípidos que incluyen en su interior un pequeño volumen de disolvente en que han sido preparados, su tamaño va desde 10nm hasta 10 $\mu$ m. Se han utilizado en la industria cosmética y farmacéutica, la limitante en este caso son los problemas tecnológicos y el alto costo que implica su producción.<sup>22</sup>

Las nano y micropartículas, constan de membranas o matrices poliméricas biocompatibles o lípidos en las que el fármaco es uniformemente dispersado o disuelto. La velocidad de liberación depende de las características de difusión y/o biodegradación del polímero utilizado así como de la cantidad y tipo del fármaco incorporado. Pueden ser administradas por distintas vías como son: oral, subcutánea, intramuscular y tópica.<sup>30,32</sup>

Las nanopartículas son partículas coloidales sólidas que contienen una sustancia activa dispersa, su tamaño es menor a 1 $\mu$ m<sup>31</sup> Las nanopartículas han sido utilizadas para dos fines, uno de ellos es el de transportar agentes de diagnóstico como radioisótopos (isocianato de fluoresceína) utilizado en el estudio morfológico y fisiológico de diferentes órganos; el otro uso es el terapéutico para liberación de fármacos y péptidos incluso en el área veterinaria. Los materiales utilizados en su preparación no deben ser tóxicos y en el caso de parenterales además deben ser biodegradables y tener la posibilidad de esterilizarse.<sup>30</sup>



### **3.2 Nanopartículas sólidas lipídicas (NSL)**

La comercialización de las nano y micropartículas se ha limitado, principalmente por la citotoxicidad de los polímeros que pueden ser introducidos en las células y la falta de un método estandarizado de producción a gran escala.<sup>22</sup> Algunos de los factores que limitan la producción de nanopartículas en el mercado son los siguientes:<sup>29</sup>

- Los residuos de solventes de la producción
- Problemas de esterilización
- Citotoxicidad al ser internalizadas por macrófagos
- Falta de métodos de producción a gran escala
- Costeable como un sistema para la salud
- Estatus de los excipientes (toxicidad)

Debido a estos inconvenientes, la investigación se ha enfocado a la producción de partículas sólidas constituidas por lípidos que son tolerados por el organismo y al diseño de métodos de preparación que resulten factibles.<sup>13</sup> Una alternativa a este problema son las NSL que pueden ser producidas a gran escala por diferentes técnicas y se constituyen de compuestos fisiológicos de uso farmacéutico.<sup>29,33,34</sup>

Las NSL son partículas formadas por lípidos sólidos o mezclas de lípidos, presentan un diámetro menor a 1000nm, (generalmente se obtienen menores a 500nm) son dispersadas en una fase acuosa estabilizada con tensoactivos o alguna fase externa que incremente su viscosidad. La dispersión de NSL puede ser incorporada en diferentes formas farmacéuticas, utilizando los excipientes adecuados. En el caso de productos de administración parenteral existe la posibilidad de esterilizar las nanopartículas por filtración o trabajar en condiciones asépticas como en el caso de los inyectables.<sup>28,29</sup>

Los materiales utilizados para la preparación de nanopartículas, pueden ser polímeros naturales o sintéticos, o compuestos naturales como proteínas y lípidos para el caso de las nanopartículas sólidas lipídicas. La elección de los excipientes dependerá de la compatibilidad con el principio activo, la vía de administración deseada y la rapidez de liberación que se busca.<sup>31</sup>

Los excipientes más utilizados según la vía de administración del medicamento son los siguientes:

*Tópica:* Se usan excipientes para cosméticos, cremas y ungüentos farmacéuticos como vaselina, ceras, PEG 4000.

*Oral:* Excipientes como lactosa, almidón, celulosa microcristalina (AVICEL) y otros empleados en la fabricación de tabletas, pellets y cápsulas.

*Parenteral:* Glicerol, ácidos grasos, triglicéridos de cadena larga que sean sólidos.

Algunas de las ventajas que presentan los sistemas particulados son:<sup>29</sup>

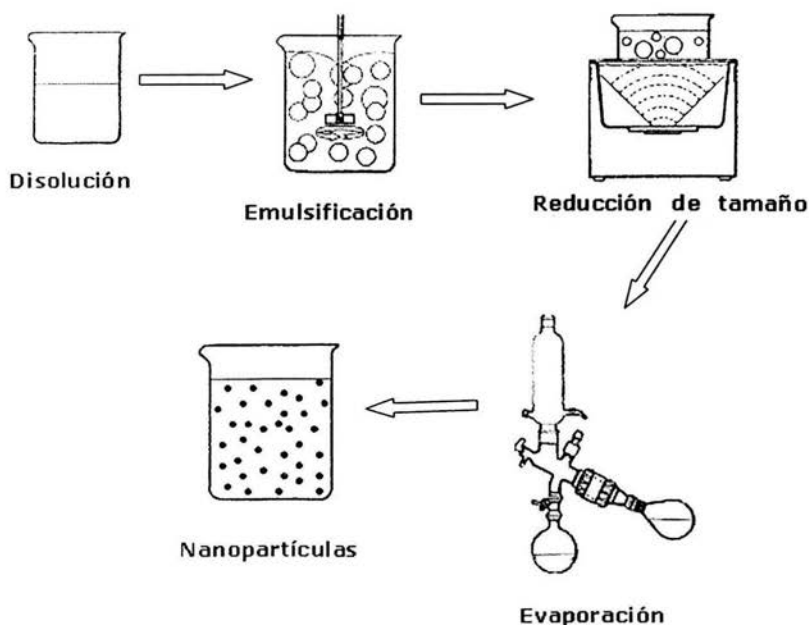
- ✓ La matriz sólida da una alta flexibilidad en el control del perfil de liberación.
- ✓ La lenta velocidad de degradación in vivo permite la liberación del fármaco por períodos prolongados.
- ✓ La matriz sólida puede proteger al ingrediente activo incorporado de la degradación química.

### 3.3 Métodos de preparación

#### **Emulsión-Evaporación**

El polímero y el fármaco se disuelven en un disolvente orgánico que sea inmisible en agua (Ej. Diclorometano), esta disolución es emulsificada con agitación en una fase acuosa que contiene tensoactivos necesarios para estabilizar la emulsión formada. La emulsión se somete a la acción de un equipo de ultrasonido o un homogenizador o microfluidizador con la finalidad de reducir el tamaño de partícula. Posteriormente el disolvente es removido mediante calor y vacío. La remoción del disolvente da como resultado la formación de una fina dispersión de nanoesferas (**Fig. 3.1**).

El tipo de estabilizante y la proporción de las fases afecta el tamaño de partícula, los tensoactivos lipofílicos como el sorbitán y los ésteres de ácidos incrementan el atrapamiento del fármaco, aunque esta variable también es dependiente de la solubilidad del fármaco en la fase acuosa.<sup>31,34,35</sup>



**Fig. 3.1 Emulsión-Evaporación**

### Doble emulsión W/O/W

Esta técnica es útil para fármacos que presentan una alta solubilidad en agua. El fármaco se disuelve en una fase interna acuosa que es emulsificada a alta velocidad (Ej. Ultraturax) con un lípido previamente fundido o disuelto en un disolvente orgánico. Esta primera emulsión W/O es posteriormente dispersada en una fase acuosa que contiene estabilizantes, dando lugar a una doble emulsión W/O/W que se mantiene en agitación. Después las nanopartículas son aisladas por filtración (Fig. 3.2).<sup>32,36,37</sup>

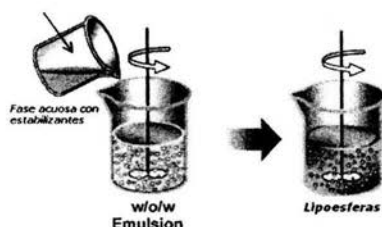


Fig. 3.2 Doble emulsión

### Microemulsión

Una microemulsión es definida como una solución clara o ligeramente azulada compuesta por una fase lipofílica, un tensoactivo y/o un cotensoactivo y agua. Esta técnica requiere de diagramas de fases en los que se establezca la zona de microemulsión en función de la concentración de tensoactivo y la proporción de las fases. El polímero y el fármaco se disuelven para constituir una fase orgánica que al ser emulsificada adecuadamente, forma un sistema transparente termodinámicamente estable. La microemulsión se dispersa en un medio acuoso frío para inducir la precipitación de las nanopartículas (Fig. 3.3).<sup>28,38,39</sup>

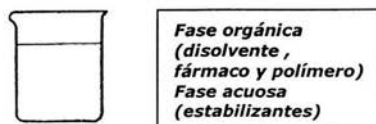
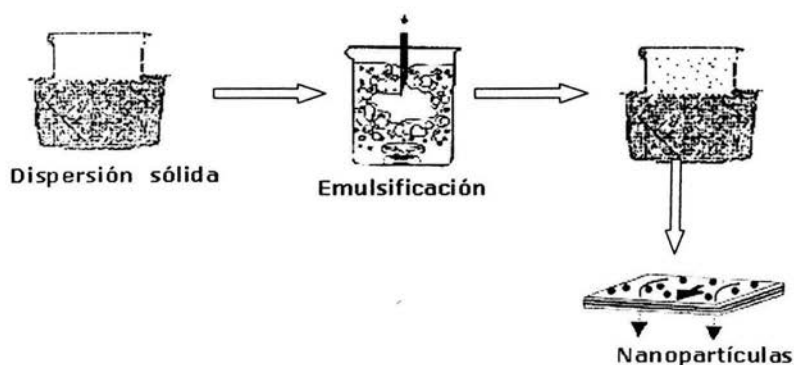


Fig. 3.3 Microemulsión

### **Fusión-Dispersión**

El lípido es fundido con un baño de agua, posteriormente el fármaco se dispersa en esta fase. La dispersión sólida obtenida se emulsifica mediante agitación con una fase acuosa caliente que contiene tensoactivos. Se mantiene el calentamiento y la agitación para evaporar el disolvente. Después se colecta la dispersión en un baño de agua fría para obtener una dispersión uniforme de lipoesferas que son lavadas con agua y aisladas por filtración (**Fig. 3.4**). La velocidad de agitación y la concentración de lípido son factores que influye en el tamaño y forma de las partícula.<sup>32</sup>



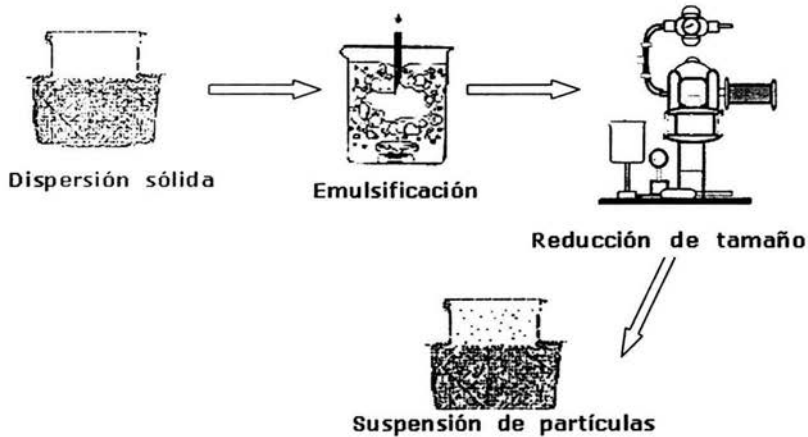
**Fig. 3.4 Fusión-Dispersión**

### **Emulsificación-Homogenización**

Las nanopartículas son preparadas mediante emulsiones O/W, que posteriormente son sometidas a un proceso de homogenización que puede ser en frío o en caliente y en ambas se dispersa el fármaco en un lípido fundido (**Fig. 3.5**). No se usa para incorporar activos hidrofílicos.<sup>28,29,33,38-40</sup>

Homogenización en caliente: El fármaco se incorpora en un lípido fundido, la mezcla se dispersa en una fase acuosa con estabilizantes a una temperatura similar a la fase oleosa. La dispersión se logra mediante agitación a alta velocidad. La pre-emulsión obtenida es pasada por un homogenizador de alta presión para obtener una emulsión O/W que posteriormente se enfría provocando la precipitación del lípido y la formación de las NSL.

Homogenización en frío: El fármaco contenido en un lípido fundido es enfriado, para obtener micropartículas que son dispersadas en una disolución acuosa fría con tensoactivos, formando una presuspensión que es homogenizada a temperatura ambiente, las fuerzas de cavitación del homogenizador son suficientes para romper las micropartículas y generar las NSL.



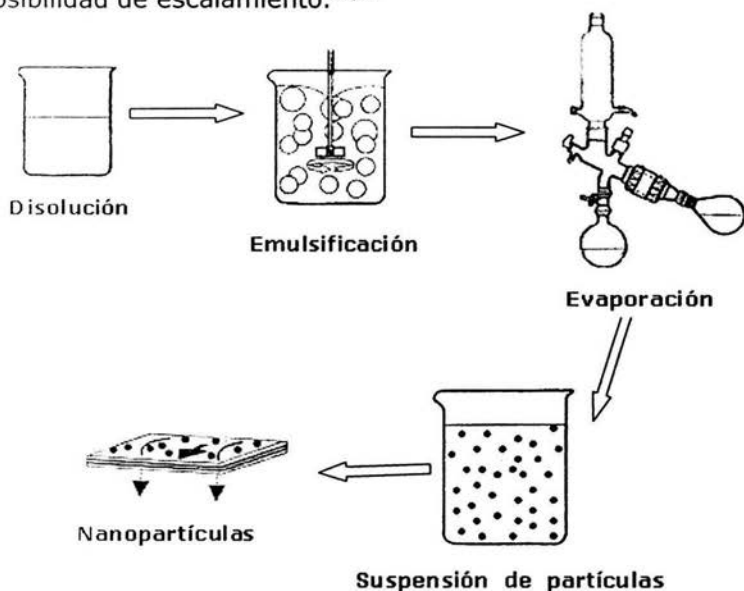
**Fig. 3.5 Emulsificación-Homogenización**

### **Emulsificación-Difusión**

La preparación de nanopartículas por esta técnica involucra el uso de disolventes parcialmente miscibles en agua (Ej. Alcohol benzílico y Acetato de etilo) los cuales son previamente saturados con agua para mantener un equilibrio termodinámico entre los dos líquidos. El polímero y el fármaco se disuelven en el disolvente saturado, esta fase es emulsificada mediante agitación, con una disolución acuosa que contiene estabilizantes. El disolvente es eliminado por evaporación al vacío y las nanopartículas se forman por una inestabilidad fisicoquímica causada por el transporte del disolvente. Las nanopartículas se aíslan por filtración (**Fig. 3.6**).

Esta técnica resulta eficiente para encapsular fármacos lipofílicos y se pueden obtener nanocápsulas si se utiliza un aceite adecuado. Las altas concentraciones de polímero y una baja proporción de las fases incrementan el tamaño de partícula. Las ventajas de esta técnica incluyen el uso de disolventes aceptados en la industria farmacéutica, es una

técnica reproducible con recobros altos, no requiere de homogenización y tiene posibilidad de escalamiento.<sup>31,41</sup>



**Fig. 3.6 Emulsificación-Difusión**

### **Salting-out**

El polímero y el fármaco se disuelven en un disolvente miscible en agua (Ej. Acetona), la disolución es emulsificada con una fase acuosa que contiene agentes de salting-out (Ej. Sales) y estabilizantes coloidales. Esta emulsión O/W es diluida con agua favoreciendo la difusión del disolvente que induce la formación de las nanopartículas. Los agentes de salting-out deben ser capaces de precipitar sin separar las fases y los estabilizantes deben ser solubles y compatibles con la fase acuosa (**Fig. 3.7**).

Los agentes de precipitación juegan un papel importante en el atrapamiento del fármaco y los más utilizados son electrolitos como  $MgCl_2$ ,  $NaCl$ ,  $CaCl_2$  y  $Mg(CH_3COO)_2$ , o no electrolitos como sacarosa. El incremento en la concentración de los estabilizantes en la fase externa disminuye el tamaño de partícula. La principal ventaja de esta técnica es la posibilidad de incorporar altas cantidades de polímero y fármaco obteniéndose buenos rendimientos, además es una técnica que puede ser sometida a escalamiento.<sup>31,42-46</sup>

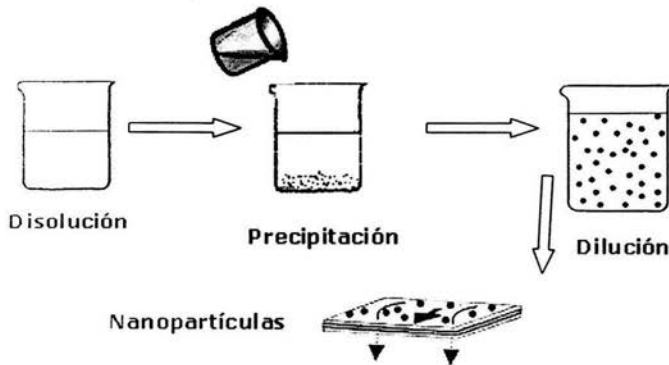


Fig. 3.7 Salting-out

**Difusión del disolvente**

El polímero y el fármaco, así como el estabilizante lipofílico (opcional), son disueltos en un disolvente semipolar miscible en agua (Ej. Acetona y Tetrahidrofurano). Esta disolución se emulsifica con disolución acuosa que contiene tensoactivos con ayuda de agitación magnética. La emulsión O/W se mantiene en agitación y después se evapora el disolvente con calor y vacío (Fig. 3.8). Las nanopartículas se forman por la turbulencia interfacial que se presenta durante el desplazamiento del disolvente, es común utilizar el término nanoprecipitación para definir este proceso. Las lipoesferas se lavan con agua y se colectan por filtración. Esta técnica es apropiada para compuestos termolábiles y lipofílicos ya que no es eficiente para fármacos solubles en agua. Se pueden preparar nanocápsulas si se ocupa un aceite en la fase orgánica.<sup>31,32,34,47-50</sup>

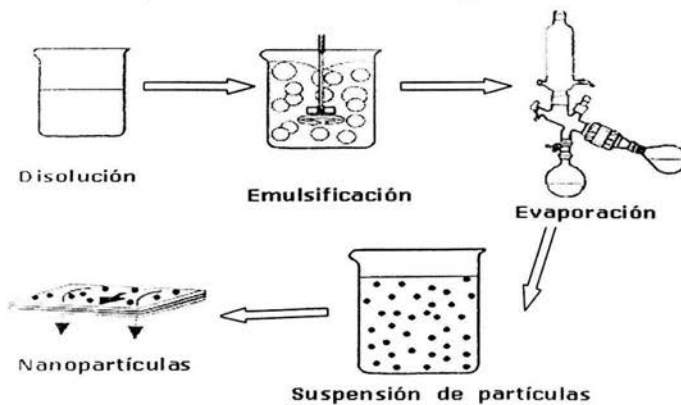


Fig. 3.8 Difusión de disolvente



### 3.4 Caracterización de nanopartículas

#### Capacidad de carga

La capacidad de carga es expresada en % con respecto a la fase lipídica (matriz lipídica y fármaco total) (Ec. 4). Los factores que determinan dicha capacidad son: la solubilidad del fármaco en el lípido fundido, la miscibilidad del fármaco y el lípido fundidos, la estructura química y física de la matriz del lípido y el estado polimórfico del lípido.<sup>28,33,35,49,52</sup>

$$\% \text{ Atrapamiento} = (\text{Fco. adicionado} - \text{Fco. libre} / \text{Fco. adicionado}) (100) \quad \text{Ec. 4}$$

#### Liberación in vitro

Los diferentes sistemas para determinar el paso de un fármaco a través de una membrana constan de dos compartimientos un donador y un receptor separados por una membrana (Fig. 3.9). El perfil de liberación se obtiene mediante la cuantificación de fármaco en muestras obtenidas de la cámara receptora de donde se extrae un volumen conocido de medio y se renueva con medio nuevo con el fin de mantener el contacto entre la membrana y el medio receptor y condiciones sink. El análisis se realiza con HPLC o espectrofotometría. Uno de los sistemas más utilizados con esta finalidad son las celdas de difusión de Franz.<sup>32,35,38,49-52</sup>

$$\% \text{ Liberado} = (\text{masa acumulado} / \text{masa total}) (100) \quad (\text{Ec. 5})$$

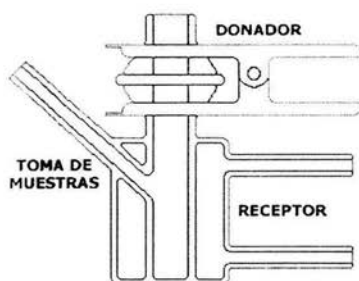


Fig. 3.9 Celda de difusión de Franz

### **Tamaño de partícula ( $\phi$ )**

Se realiza mediante PCS (Espectroscopia de correlación de fotones) y LD (Difracción láser). La primera técnica mide la fluctuación de la intensidad de la dispersión de la luz causada por el movimiento de las partículas. La segunda se basa en el ángulo de difracción de la luz producido por las partículas, a menor tamaño se observan ángulos más grandes. Los equipos miden el tamaño de partícula de acuerdo a la intensidad, volumen y número.<sup>28,33,35,38,41,49,52-54</sup>

### **Potencial Z ( $\zeta$ )**

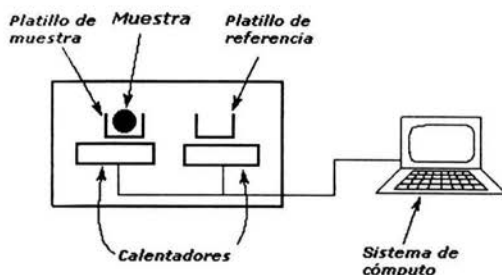
La medición de este parámetro ayuda a predecir la estabilidad de las dispersiones coloidales. La medición se basa en la movilidad electroforética y se utiliza el mismo equipo Zetasizer. La agregación disminuye a valores altos de potencial Z (mayores de +30mV y menores de -30mV) debido a la repulsión de las partículas cargadas.<sup>28,35,41,49,51-53</sup>

### **Microscopía Electrónica**

La evaluación morfológica de las partículas se realiza mediante técnicas de microscopía electrónica como la de transmisión (TEM) y la de barrido (MEB), con ellas es posible contar una evidencia del tamaño y forma de las nanopartículas obtenidas.<sup>35,38,41,49-53</sup>

### **Calorimetría Diferencial de Barrido**

El análisis térmico diferencial es una técnica mediante la cual se puede conocer las propiedades de cristalinidad de las partículas obtenidas que muestran la interacción fármaco-lípido y la modificación que se presenta con respecto al lípido y el fármaco después de someterse a una técnica para formación de nanopartículas.<sup>35</sup> También puede ser un indicador de la estabilidad de las nanopartículas formadas a través del tiempo.<sup>38</sup> Se pueden presentar la desaparición, disminución y corrimiento de picos de fusión (*Fig. 3.10*).<sup>28,35,41,52</sup>



**Fig. 3.10 Calorímetro Diferencial de Barrido**

### ***Difracción de rayos X Polvos.***

Esta técnica nos permite comparar el grado de cristalinidad que presentan el fármaco y el lípido solos y cómo se presentan después de someterse a un proceso de producción de nanopartículas. Se comparan los difractogramas de las materias primas y de las muestras obtenidas de cada proceso.<sup>34,52,54</sup>

## **IV. OBJETIVOS**

### **1. General**

- Preparar nanopartículas de omeprazol y alcohol estearílico a través de cuatro técnicas diferentes: Fusión-Dispersión, Difusión de disolvente, Emulsificación-Difusión y Salting-out, para compararlas y conocer la influencia que tiene cada proceso sobre las características que presentan las nanopartículas.

### **2. Específicos**

- Determinar las condiciones de trabajo más adecuadas para la preparación de nanopartículas de acuerdo al comportamiento del omeprazol en presencia de disolventes y tensoactivos, así como a variaciones de pH y temperatura.
- Preparar nanopartículas de omeprazol y alcohol estearílico por diferentes metodologías: Fusión-Dispersión, Difusión de disolvente, Emulsificación-Difusión y Salting-out.
- Comparar los procesos de preparación desarrollados mediante la caracterización de las nanopartículas obtenidas con técnicas analíticas como: Tamaño de partícula, Potencial Z, Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB), Rayos X de polvos y Liberación *in vitro*.

## **V. PARTE EXPERIMENTAL**

### **1. Reactivos, Material y Equipo**

Fosfato de sodio monobásico, monohidratado Reactivo Analítico Baker<sup>®</sup>  
Fosfato de sodio dibásico, 12-hidrato Reactivo Analítico Baker<sup>®</sup>  
Hidróxido de sodio (perlas) Reactivo Analítico Baker<sup>®</sup>  
Cloruro de sodio (cristal) Reactivo Analítico Baker<sup>®</sup>  
Monolaurato de sorbitan (Span 20<sup>®</sup>) Sigma.  
Monooleato de sorbitan (Span 80<sup>®</sup>) Fluka Chemika.  
Monolaurato de sorbitan polioxietilenado(20) (Tween 20<sup>®</sup>) Riedel-de Haën.  
Monooleato de sorbitan polioxietilenado(20) (Tween 80<sup>®</sup>) Fluka Chemika.  
Polioxietilen-4-lauril éter (Brij 30<sup>®</sup>) Sigma.  
Polioxietilen-10-estearil éter (Brij 76<sup>®</sup>) Sigma.  
Polioxietilen-10-cetil éter (Brij 56<sup>®</sup>) Sigma.

Omeprazol base, Hetero-House.  
Alcohol estearílico, Industrias Barsa.

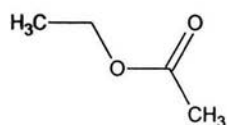
Tetrahidrofurano (C<sub>4</sub>H<sub>8</sub>O), Baker<sup>®</sup>.  
Acetona ((CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO), Tecsiquim Reactivo analítico Baker<sup>®</sup>  
Acetato de etilo (CH<sub>3</sub>COOC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>), Reactivo Baker<sup>®</sup>  
Metanol (Alcohol metílico CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH), Reactivo Baker<sup>®</sup>  
Cloruro de metileno (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>), Reactivo Baker<sup>®</sup>

***Todos los reactivos y disolventes fueron utilizados tal y como fueron suministrados por el proveedor.***

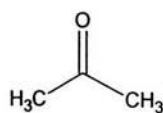
Balanza analítica, Explorer OHAUS.  
Parrilla con agitación magnética, Fisher Scientific.  
Equipo de filtración Millipore con membrana de celulosa 0.22µm.  
Celdas de difusión de Franz con membrana de celofán (12000-14000D)  
Rotaevaporador Heindolph.

Espectrofotómetro UV-Visible, Ocean optics.S-2000.  
Zetasizer Marlven Instrument Modelo ZS3600.  
Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) Jeol Modelo JSM-5900LV.  
Equipo de Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) Mettler Toledo  
Equipo de Difracción de rayos X de polvos SIEMENS D-5000.

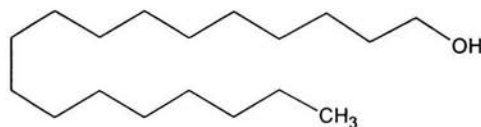
## 1.1 Características de las materias primas



**Acetato de etilo:**  $C_4H_8O_2$  PM. 88.1g/mol. Líquido volátil flamable con olor a fruta, solubilidad en agua de 3.3% (w/w),  $\rho$  0.898g/mL,  $P_{eb}$  77°. 1mL se disuelve en 10mL de agua a 25°C. Miscible con alcohol, acetona, cloroformo, éter. Mezcla azeotrópica con agua 6.1% (w/w).  $DL_{50}$  en ratas 11.3mL/Kg. Provoca irritación en ojos, piel, nariz y tórax, así como dermatitis. Usos: Farmacéutico (saborizante) esencia de frutas artificial, disolvente para nitrocelulosa y barnises.



**Acetona:**  $C_3H_6O$  PM. 58.08g/mol. Líquido volátil altamente inflamable  $\rho$  0.788g/mL,  $P_{eb}$ . 56.5°. Miscible en agua, alcohol, dimetilformamida, cloroformo, éter y aceites.  $DL_{50}$  en ratas 10.7mL/Kg por vía oral. Puede provocar irritaciones en ojos, nariz y tórax, dermatitis y depresión del SNC. Usos: Disolvente para grasas, aceites, ceras, resinas, plásticos, extracción de principios activos. Disolvente farmacéutico.



**Alcohol estearílico:**  
 $CH_3(CH_2)_{16}CH_2OH$  PM.  
 270.5g/mol, (1-dodecanol)  $P_{fus}$   
 56-60°C,  $P_{eb}$  210°C. Alcohol sólido  
 soluble en cloroformo, alcohol,

éter, benceno, acetona Insoluble en agua. Es utilizado en farmacia como agente viscosante y emoliente, se ha usado en la formulación de tabletas de liberación controlada, supositorios y microesferas.<sup>55</sup>



**Tetrahidrofurano:**  $C_4H_8O$  PM. 72.11g/mol,  $\rho$  0.8892g/mL,  $P_{eb}$ . 66°. Miscible con agua, alcoholes, cetonas, ésteres, éteres e hidrocarburos. Produce irritación de ojos y sistema respiratorio superior, náuseas, dolor de cabeza y depresión del SNC. Usos: Disolvente de polímeros y como medio de reacción de Grignard. Puede ser usado para la fabricación de artículos para el transporte, empaque y almacenaje de alimentos en cantidades que no excedan el 1.5%.

**Tween 20:**  $C_{58}H_{114}O_{26}$  PM. 1128g/mol. Polioxietilen-20-monolaurato de sorbitan. Tensoactivo no iónico líquido de color amarillo, tiene un valor de HLB de 16.7, soluble en agua y etanol. Utilizado como agente emulsificante o/w, solubilizante y humectante en productos alimenticios, cosméticos y farmacéuticos.<sup>55</sup>

## **2. Metodología**

### **2.1 Condiciones de trabajo**

#### **Omeprazol en presencia de disolventes orgánicos**

Se pesan 34.5mg de omeprazol, se coloca en un frasco vial de vidrio ámbar y se adiciona la cantidad de cada disolvente (**Tabla 2**) necesario para disolver la muestra. Se registran las observaciones de cambio de color con el tiempo.

**Tabla 2 Disolventes orgánicos.**

<b>No. de muestra</b>	<b>Disolvente</b>	<b>Volumen (mL)</b>
1	Tetrahidrofurano	2.0
2	Acetona	6.0
3	Acetato de etilo	4.0
4	Cloruro de metileno	0.7

#### **Omeprazol en presencia de tensoactivos**

Se pesan 34.5mg de omeprazol, colocarlo en un frasco vial ámbar y adicionar 10mL de una disolución al 2.5% (w/v) de diferentes tensoactivos (**Tabla 3**). Se registran los cambios de color de las muestras con respecto al tiempo.

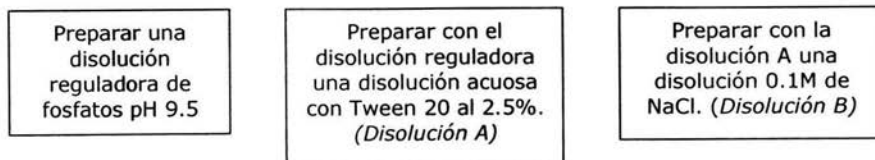
**Tabla 3 Tensoactivos**

<b>No. de muestra</b>	<b>Tensoactivo</b>
1	Brij 30
2	Brij 56
3	Brij 76
4	Span 20
5	Span 80
6	Tween 20
7	Tween 80

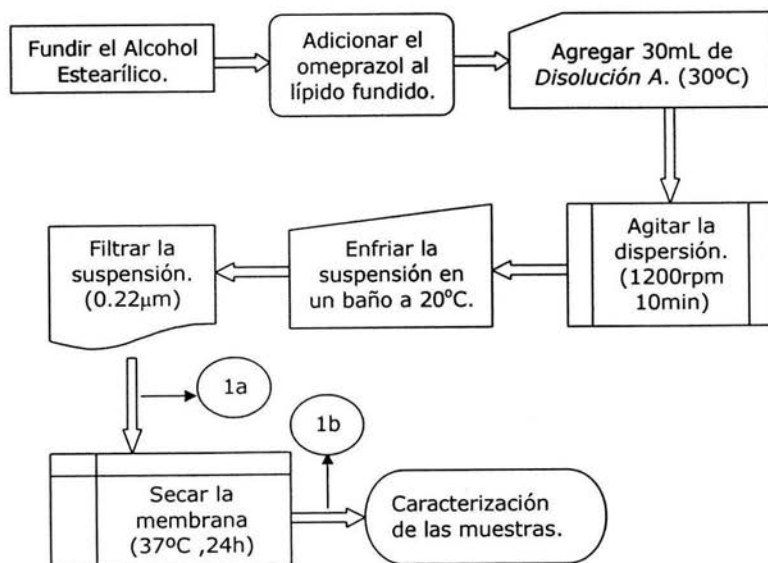
#### **Omeprazol ante cambios de pH y temperatura**

Se adiciona una cantidad de omeprazol en un matraz aforado, se lleva a volumen (25mL) con cada uno de los medios a estudiar (disolución reguladora pH 3, 5, 7.5 y 9.5), se agita durante 10 minutos se filtra. Se vierte la solución en un frasco vial de color ámbar. Los frascos se colocan en un baño a 25, 37 y 40°C. Se toman muestras a diferentes tiempos (0 a 192h) y se realiza un barrido en UV-Visible (200-700nm). Se analizan los cambios de absorbancia y desplazamiento del espectro en función del tiempo.

## 2.2 Preparación de nanopartículas



### **Fusión-Dispersión**



**Diagrama 5.1**



**Difusión de disolvente**

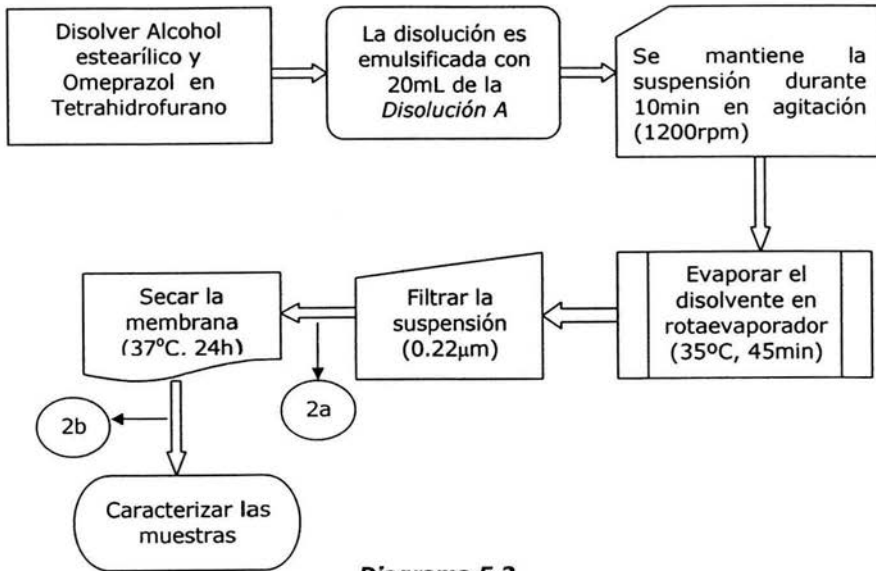


Diagrama 5.2

**Emulsificación-Difusión**

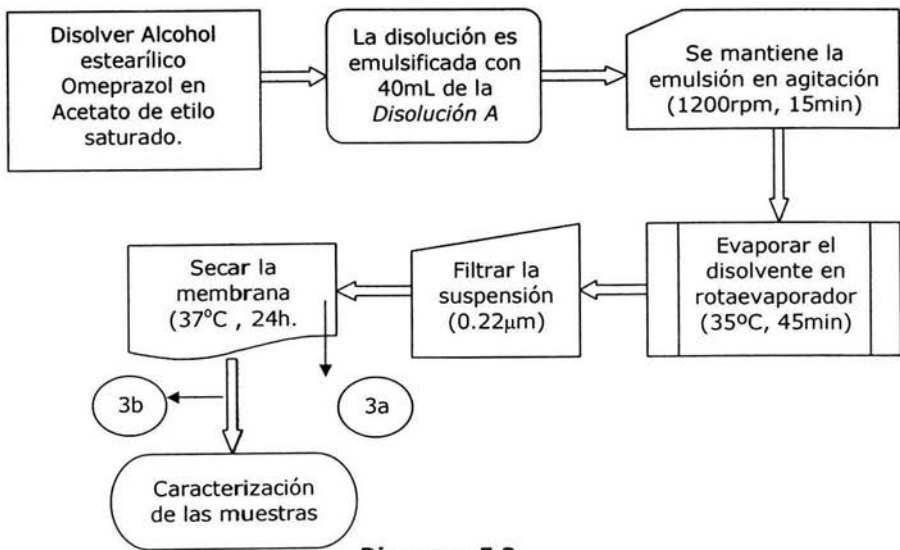
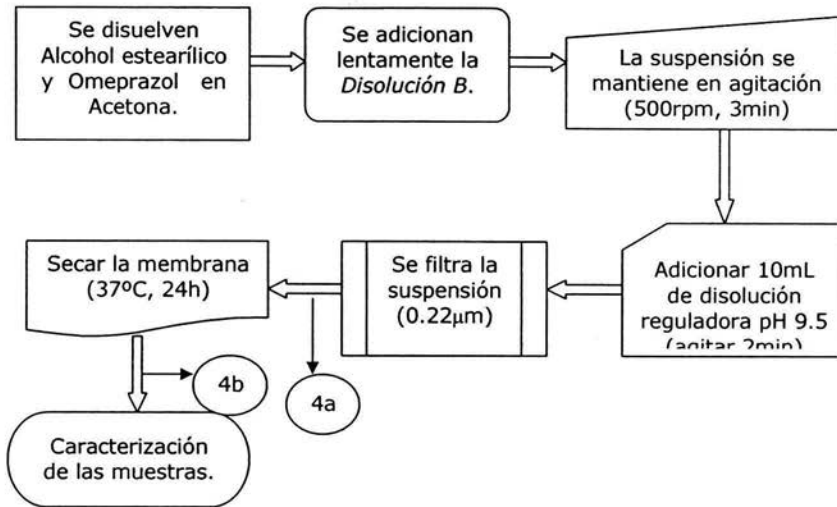


Diagrama 5.3

**Salting-out**



**Diagrama 5.4**

**Tabla 4 Descripción de las muestras**

<b>Muestra</b>	<b>Descripción y técnica</b>
1a	Filtrado. Fusión-Dispersión
1b	Sólido. Fusión-Dispersión
2a	Filtrado. Difusión de disolvente
2b	Sólido. Difusión de disolvente
3a	Filtrado. Emulsificación-Difusión
3b	Sólido. Emulsificación-Difusión
4a	Filtrado. Salting-out
4b	Sólido. Salting-out

## **2.3 Caracterización de nanopartículas**

### ***Tamaño de partícula ( $\phi$ ) y potencial Z ( $\zeta$ )***

De las muestras líquidas (1a,2a,3a,4a) obtenidas en cada método, se colocan 2mL de cada muestra en una celda de vidrio y se mide el tamaño de partícula y el potencial Z con el equipo Zetasizer. Se calcula el promedio de las mediciones.

Para las muestras sólidas (1b,2b,3b,4b) se pesa 1mg de cada una y se coloca en un matraz aforado de 10mL y se lleva a volumen con disolución reguladora pH 9.5, se sonicán por 5min a 25°C. Se colocan 2mL de cada muestra en una celda de vidrio y se mide el tamaño de partícula en un equipo Zetasizer.

### ***Microscopía electrónica de barrido (MEB)***

Cada una de las muestras líquidas y sólidas obtenidas en las diferentes técnicas, se coloca en un soporte sobre una cinta de carbón adecuada para el microscopio. Se procede a la observación de las muestras para obtener las micrografías correspondientes. Además se obtienen imágenes del omeprazol y el alcohol estearílico solos como referencia.

### ***Calorimetría diferencial de barrido (CDB)***

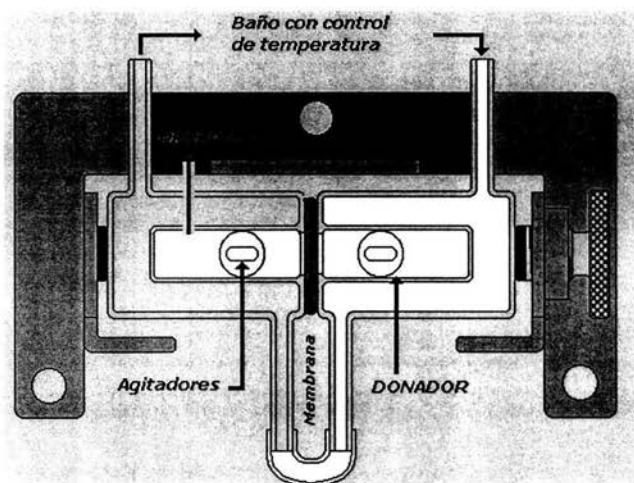
Se pesa aproximadamente 2mg de cada una de las muestras sólidas (1b,2b,3b,4b) y se colocan en una cápsula de metal adecuada para introducirla en el equipo de CDB. Se procede al barrido térmico de 10-200°C con una velocidad de calentamiento de 10°/minuto con una atmósfera de nitrógeno. Se obtienen los termogramas correspondientes a las muestras y a las referencias de omeprazol (OME) y alcohol estearílico (AE).

### ***Difracción de rayos X de polvos***

Se pesa una cantidad de cada una de las muestras sólidas (1b,2b,3b,4b) obtenidas en las diferentes técnicas. Además se analiza el omeprazol y el alcohol estearílico solos, se colocan en el equipo de Rayos X de polvos y se analizan las muestras. Se obtienen los difractogramas correspondientes.

**Liberación in vitro**

El estudio de liberación del fármaco a partir de las muestras sólidas y líquidas obtenidas se realiza mediante celdas de difusión de Franz utilizando como medio en el donador y receptor disolución reguladora pH 9.5, separados por una membrana de celofán. Se coloca una cantidad de cada muestra en el donador y se mantiene el equipo en un baño a 25°C. Se toman muestras a diferentes tiempos durante 5 horas, recuperando el volumen de la alícuota analizada. Se cuantifica la cantidad de omeprazol liberada a cada tiempo utilizando espectrofotometría UV-Visible. Se obtiene el % de omeprazol liberado acumulado.



**Fig. 5.1 Celdas de Franz horizontales**

## **VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **1. Condiciones de trabajo**

#### **1.1 Omeprazol en presencia de disolventes orgánicos**

Las observaciones finales se realizan 24h después de iniciar el experimento y se presentan en la **Tabla 5**. Se incluye la solubilidad que presenta el omeprazol en cada disolvente utilizado.

**Tabla 5 Resultados de estabilidad y solubilidad**

<b>No. De muestra</b>	<b>Disolvente</b>	<b>Solubilidad (mg/mL)</b>	<b>Observaciones iniciales</b>	<b>Observaciones finales</b>
1	Tetrahidrofurano	17.25	Solución transparente	Solución ligeramente amarilla
2	Acetona	5.75	Solución transparente	Solución transparente
3	Acetato de etilo	8.63	Solución transparente	Solución ligeramente amarilla
4	Cloruro de metileno	49.28	Solución transparente	Solución rosa-violeta (en 1.5h)

El omeprazol es una sustancia que puede ser atacada por los disolventes orgánicos, por lo tanto la elección de éstos es muy importante. Para cada técnica de preparación de nanopartículas se utiliza el disolvente más adecuado considerando que éste será eliminado de la formulación. El cloruro de metileno puede emplearse en un proceso de Emulsificación pero el cambio de color en la disolución se presenta muy rápidamente por lo que su uso resulta muy limitado.

Exceptuando la técnica de Fusión-Dispersión, las otras tres requieren de disolventes orgánicos y los elegidos son: para la de Difusión de disolvente tetrahidrofurano ya que a pesar de que produce un cambio de coloración en la disolución, se utiliza un volumen pequeño gracias a la solubilidad que presenta el omeprazol en este disolvente, el cual se puede eliminar fácilmente por evaporación con calor y vacío. En el caso del cloruro de metileno resulta muy limitado su uso porque el omeprazol se degrada rápidamente; para la técnica de Emulsificación-Difusión se eligió el disolvente acetato de etilo porque es parcialmente miscible; en el proceso de Salting-out se utiliza acetona porque presenta el  $P_{eb}$  más bajo que los anteriores y se espera que se elimine por agitación y calor.

## 1.2 Omeprazol en presencia de tensoactivos

Las observaciones de los cambios de apariencia de las suspensiones de omeprazol con los diferentes tensoactivos se presentan en la **Tabla 6**. Los resultados se obtienen 24h después de iniciar el experimento.

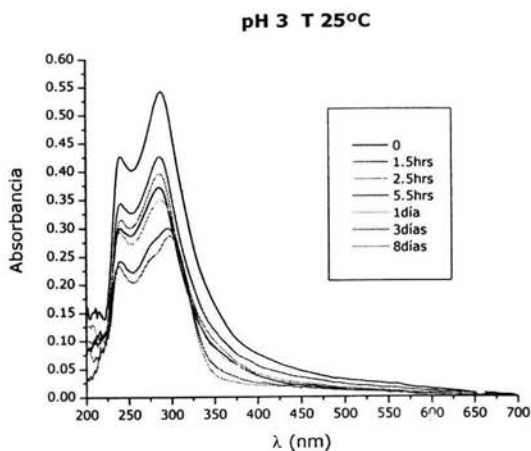
**Tabla 6 Resultados de estabilidad con tensoactivos**

<b>No. De muestra</b>	<b>Tensoactivo al 2.5%</b>	<b>Observaciones iniciales</b>	<b>Observaciones finales</b>
1	Brij 30	Suspensión blanquecina	Suspensión color crema
2	Brij 56	Suspensión blanquecina	Suspensión lila
3	Brij 76	Suspensión blanquecina	Suspensión color crema
4	Span 20	Suspensión blanquecina	Suspensión lila
5	Span 80	Suspensión blanquecina con grumos	Suspensión color lila con grumos café
6	Tween 20	Suspensión blanquecina	Suspensión blanquecina
7	Tween 80	Suspensión blanquecina	Suspensión ligeramente crema

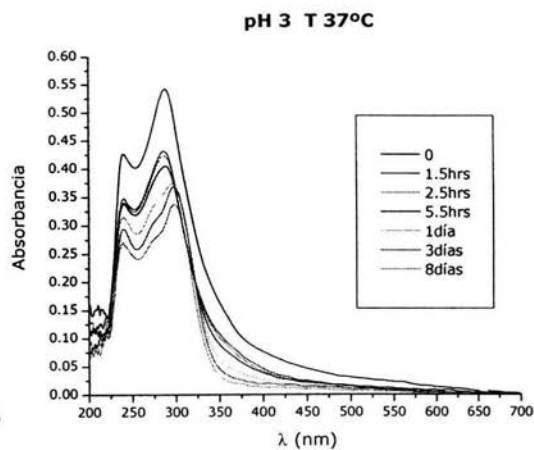
La elección del tensoactivo para las formulaciones es muy importante, para ello se realizaron pruebas de estabilidad con los distintos tensoactivos de la tabla y se observa que en los tensoactivos en los que se presenta menor inestabilidad es en el Brij30, Brij76, Tween80 y Tween20, de estos se prefiere a los Tween porque son líquidos y más fáciles de manejar. Debido a que en el Tween20 la suspensión preparada se mantuvo como al inicio más tiempo, este es el tensoactivo que se utilizará en las formulaciones de las nanopartículas.

### 1.3 Omeprazol frente a cambios de pH y Temperatura

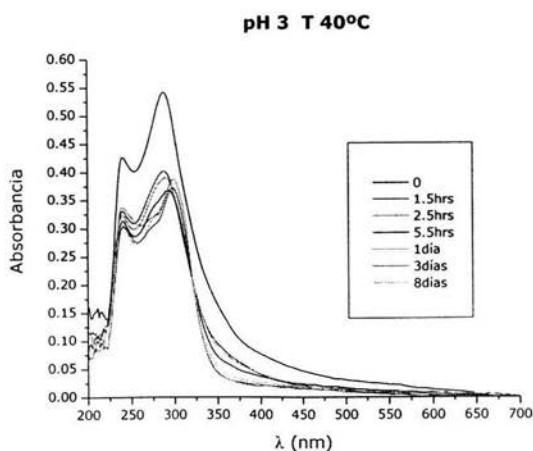
A pH 3 la solución de omeprazol obtenida es de color amarillo pálido. Los resultados del barrido UV-Visible de las muestras se presentan en los *Espectros 1.1, 1.2 y 1.3*.



*Espectro 1.1*



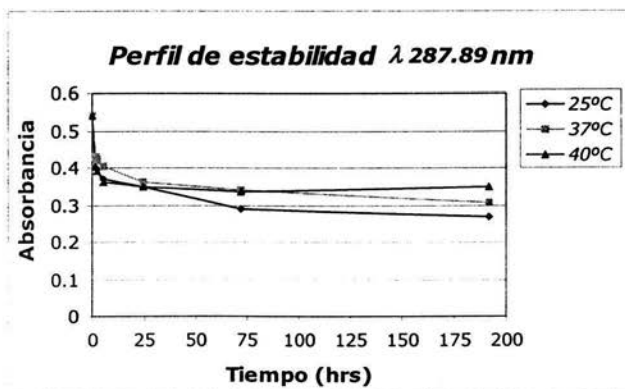
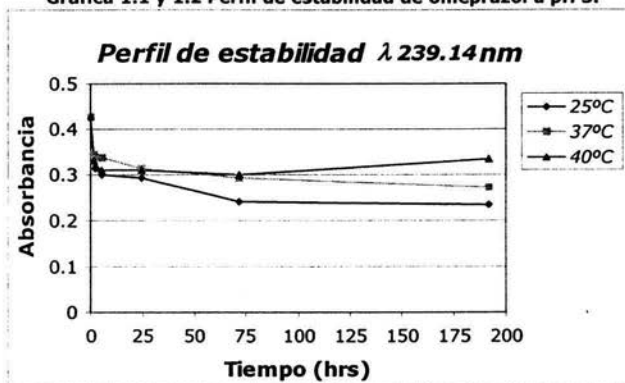
*Espectro 1.2*



*Espectro 1.3*

De los espectros obtenidos se determina el perfil de estabilidad mediante la variación en la absorbancia en los picos máximos de absorción (239.14 y 287.89nm). (**Gráfica 1.1 y 1.2**)

**Gráfica 1.1 y 1.2 Perfil de estabilidad de omeprazol a pH 3.**

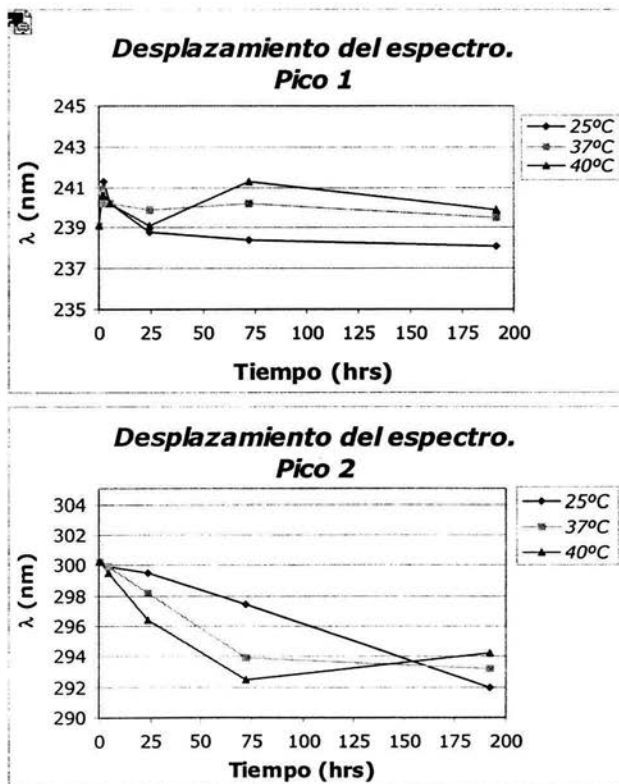


A las tres temperaturas se puede observar una tendencia decreciente hasta las 72h, pero dicho cambio es mayor a 25°C en el que la disminución va del 20% a las 1.5h hasta el 50% en los últimos tiempos para los dos picos de absorción analizados. A 37 y 40°C la disminución llega aproximadamente al 40% que representa una variación de entre 0.12 y 0.24 unidades de absorbancia.



En cuanto al desplazamiento del espectro a este pH se tienen los siguientes resultados que se comparan con el espectro de la muestra inicial que corresponde al tiempo 0. (Gráficas 1.3 y 1.4).

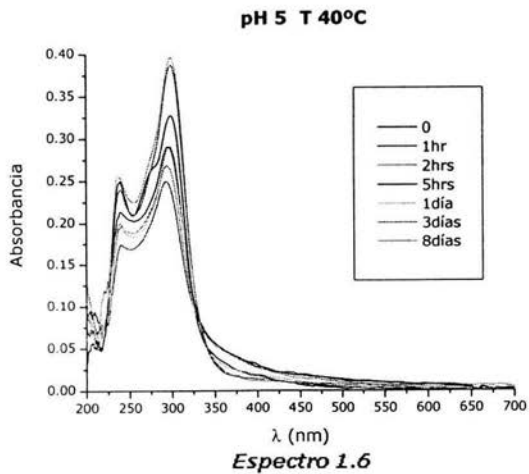
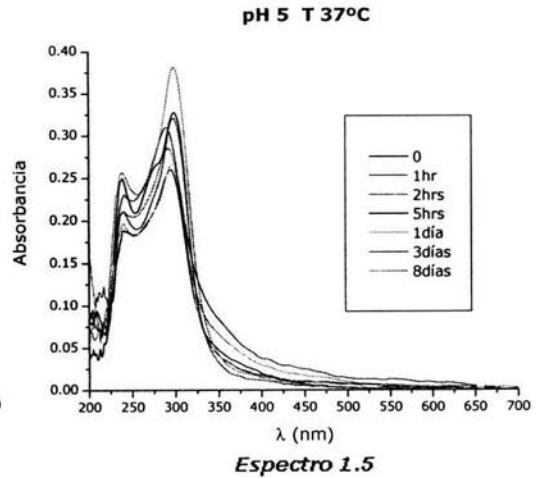
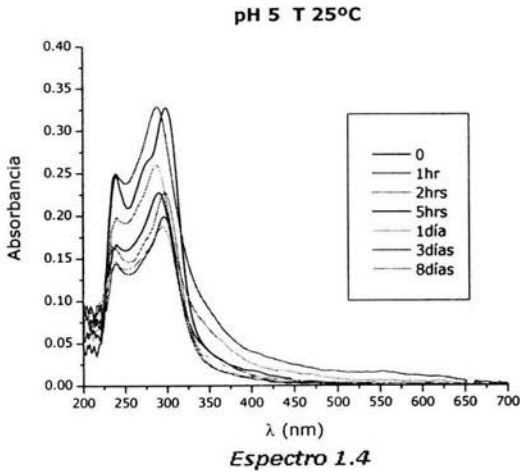
Gráfica 1.3 y 1.4 Desplazamiento del espectro de omeprazol a pH 3.



A 25°C se tiene una variación de aproximadamente 1nm en el pico 1, pero en el pico 2 el desplazamiento de 9.5nm hacia la derecha es muy significativo a partir de las 72 h. Asimismo, en las temperaturas de 37 y 40°C se tiene un desplazamiento de cerca de 2nm en el pico 1 y de 10 y 11nm respectivamente para el segundo pico.

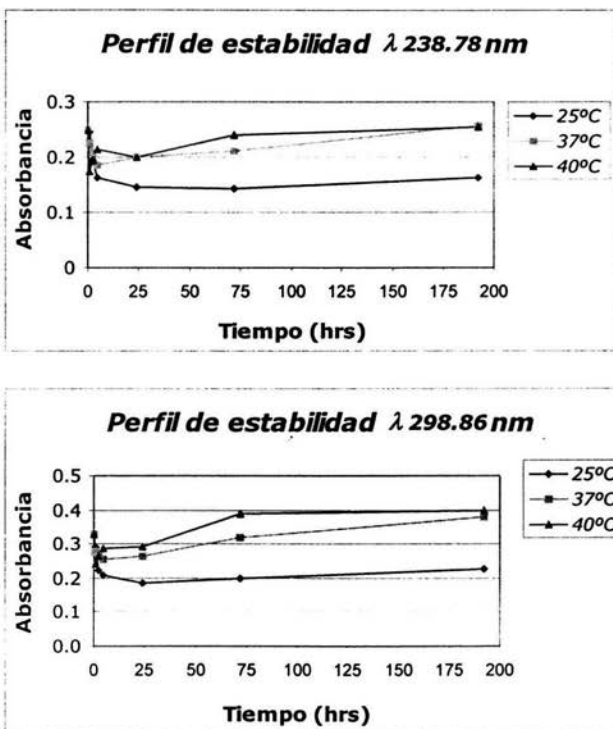
A pH 3 se presenta un desplazamiento significativo del espectro así como la reducción en la absorción de hasta un 50%, lo que demuestra la inestabilidad del omeprazol en estas condiciones.

A pH 5 la solución de omeprazol presenta un color rosa muy tenue. El barrido de las muestras en UV-Visible se presenta en los *Espectros 1.4, 1.5 y 1.6.*



De los espectros obtenidos se determina el perfil de estabilidad mediante la variación en la absorbancia en los picos máximos de absorción (238.78 y 298.86nm). (*Gráfica 1.5 y 1.6*)

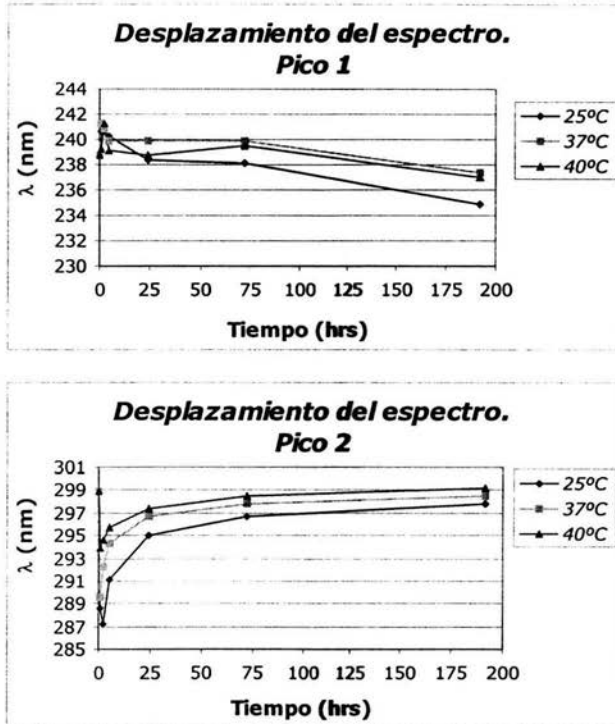
**Gráfica 1.5 y 1.6 Perfil de estabilidad de omeprazol a pH 5.**



Los resultados obtenidos a 25°C reflejan una disminución del 20% a las 2h y una diferencia total de 0.11 unidades de absorbancia en el tiempo total de muestreo; en el caso del segundo pico, la reducción es más significativa y va desde el 32% a las 2h hasta cerca del 45% al final del estudio. A 37°C se presenta una reducción del 25% a las 5h y se observa una tendencia decreciente hasta las 24h y después la absorbancia aumenta incluso por arriba de la inicial en ambos picos de absorción, posiblemente por la aparición de una especie que presenta un coeficiente de extinción mayor. En los resultados a 40°C, el cambio en la absorbancia es más drástico ya que se presenta una reducción de aproximadamente el 25% en la primera hora de muestreo y a partir de las 5h la absorbancia aumenta hasta 0.07 unidades con respecto del espectro inicial.

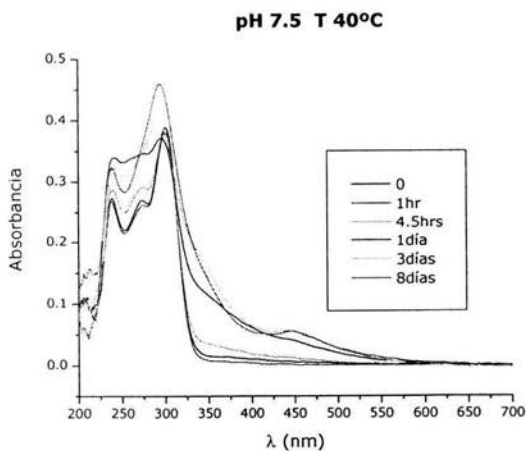
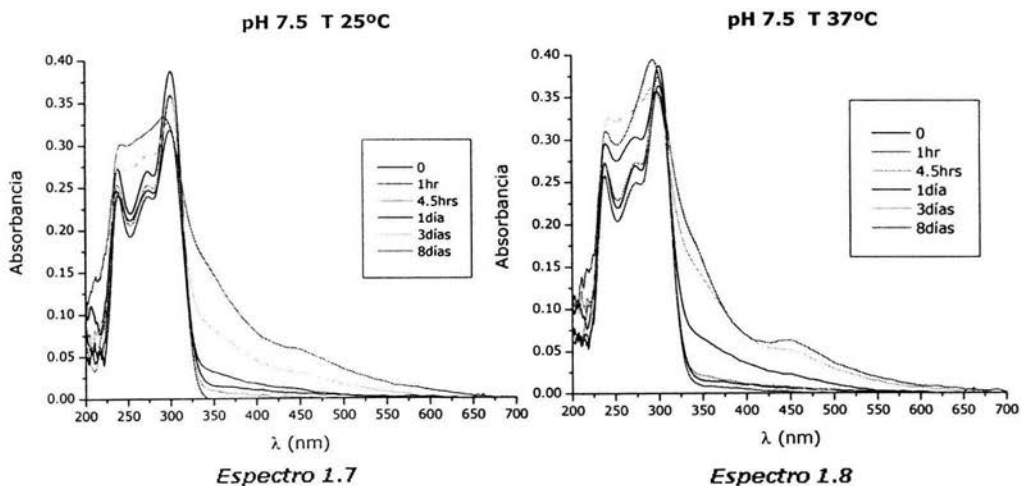
En cuanto al desplazamiento del espectro a este pH se tienen los siguientes resultados que se comparan con el espectro de la muestra inicial que corresponde al tiempo 0. (*Gráficas 1.7 y 1.8*).

Gráfica 1.7 y 1.8 Desplazamiento del espectro de omeprazol a pH 5.



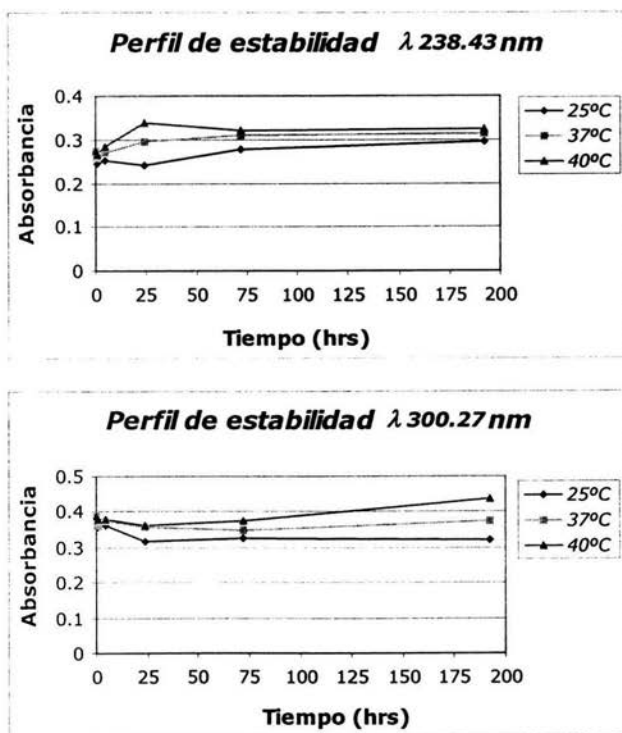
Para el primer pico se observa un ligero desplazamiento de 1nm hacia la izquierda a 25 y 37°C, mientras que a 40°C el desplazamiento es hacia la derecha. El pico cercano a 300nm si presenta un desplazamiento hacia la derecha muy significativo en todas las temperaturas desde la primera hora, el desplazamiento es de 12nm a 25°C, 9nm a 37°C y de 5nm a 40°C.

A pH 7.5 la solución de omeprazol obtenida es de color amarillo tenue. Los *Espectros 1.7, 1.8 y 1.9* nos presentan el barrido de UV-Visible de las muestras a este pH.



De los espectros obtenidos se determina el perfil de estabilidad mediante la variación en la absorbancia en los picos máximos de absorción (238.43 y 300.27nm). (*Gráfica 1.9 y 1.10*)

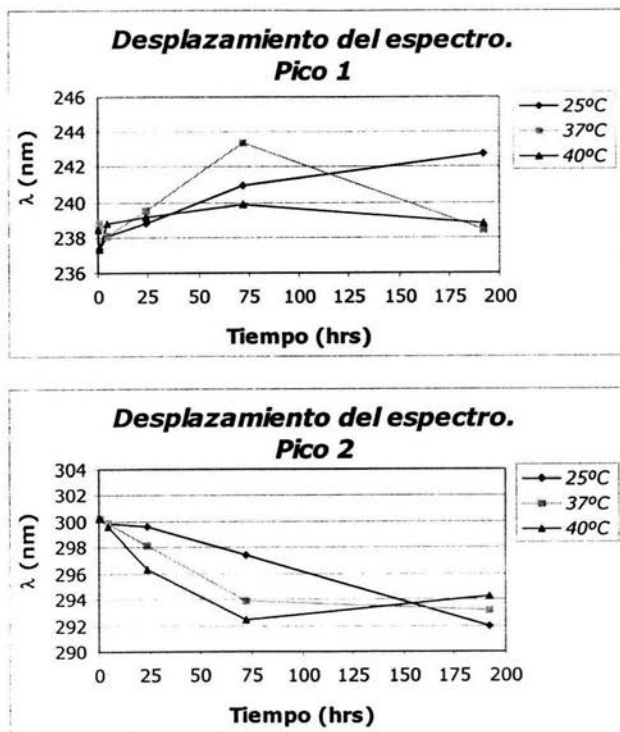
Gráfica 1.9 y 1.10 Perfil de estabilidad de omeprazol a pH 7.5.



A este pH la reducción en la absorbancia es menor comparado con el observado en las muestras anteriores a pH 3 y 5 ya que se presenta una diferencia de aproximadamente el 10% a las 24h, en los siguientes tiempos la absorbancia comienza a incrementar incluso por arriba de la inicial, quizá por la aparición de una nueva especie.

En cuanto al desplazamiento del espectro a este pH se tienen los siguientes resultados que se comparan con el espectro de la muestra inicial que corresponde al tiempo 0. (*Gráficas 1.11 y 1.12*).

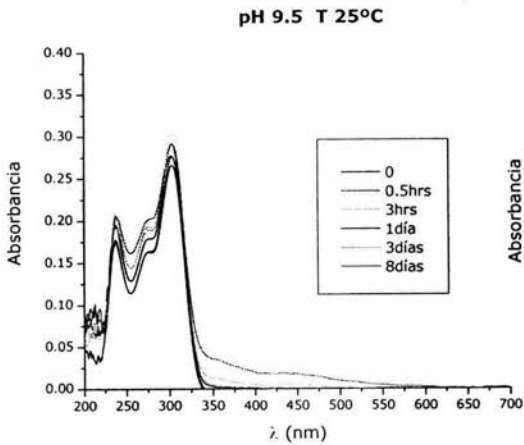
Gráfica 1.11 y 1.12 Desplazamiento del espectro de omeprazol a pH 7.5.



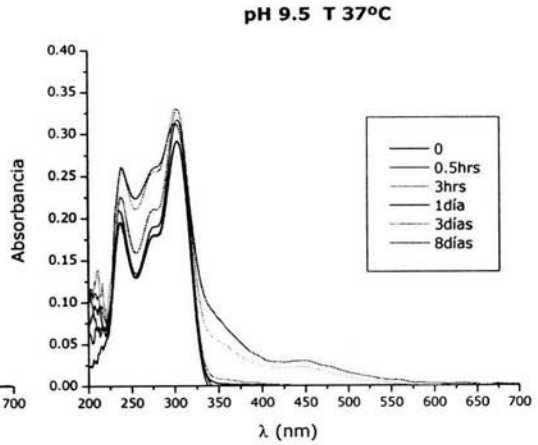
Se puede apreciar un desplazamiento hacia la izquierda en el primer pico de hasta 5nm en el caso de la temperatura de 37°C. En caso del segundo pico el desplazamiento es más significativo y hacia la derecha en todas las temperaturas es aproximadamente de 8nm.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

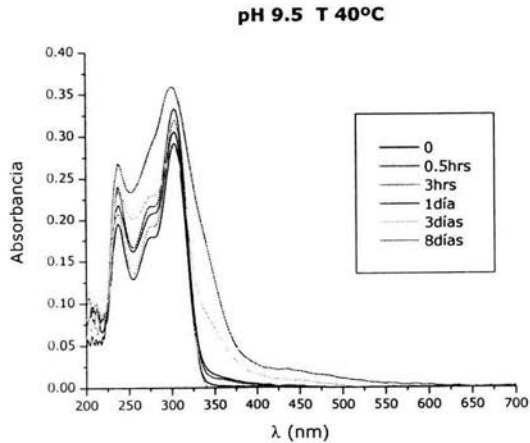
A pH 9.5 la solución de omeprazol obtenida es transparente y el comportamiento de las muestras en UV-Visible se presenta en los **Espectros 1.10, 1.11 y 1.12**.



**Espectro 1.10**



**Espectro 1.11**

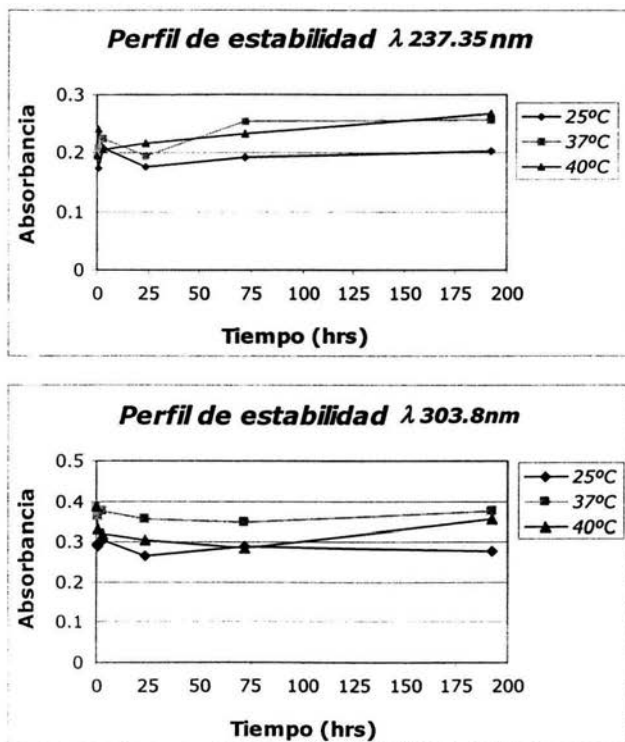


**Espectro 1.12**



De los espectros obtenidos se determina el perfil de estabilidad mediante la variación en la absorbancia en los picos máximos de absorción (2387.35 y 303.8nm). (**Gráfica 1.13 y 1.14**)

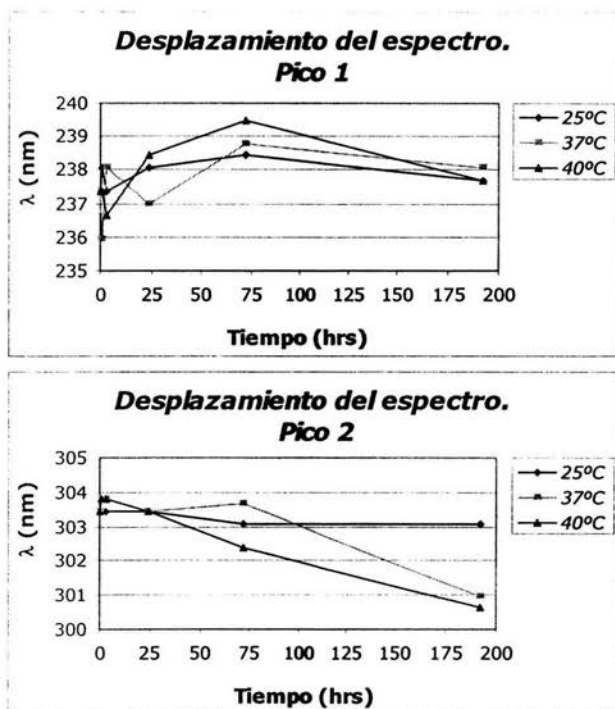
**Gráfica 1.13 y 1.14 Perfil de estabilidad de omeprazol a pH 9.5.**



A 25°C no se puede definir una tendencia en los valores de absorbancia del pico de 237.35nm a los diferentes tiempos, pero con respecto al segundo pico este presenta poca variación en los primeros tiempos ya que hasta las 24h presenta la mayor reducción que es del 10%. En los datos a 37°C se observa una tendencia de incremento en la absorción del primer pico de hasta 0.06 unidades, excepto el valor obtenido a las 24h; en el caso del segundo pico, la tendencia que se presenta es la decreciente hasta un 10% a las 72h. En el primer pico a 40°C todos los valores de absorbancia son mayores comparados con el inicial y en el pico 2 se presenta una reducción de 0.101 unidades que representan el 26% de la absorbancia inicial.

En cuanto al desplazamiento del espectro a este pH se tienen los siguientes resultados que se comparan con el espectro de la muestra inicial que corresponde al tiempo 0. (*Gráficas 1.11 y 1.12*).

Gráfica 1.15 y 1.16 Desplazamiento del espectro de omeprazol a pH 9.5.



A 25°C el desplazamiento en ambos picos es muy pequeño, no mayor a 1nm por lo que no es significativo. A 37°C se presenta un desplazamiento de aproximadamente 1.5nm hacia la derecha en el pico 1, mientras que el pico 2 presenta un desplazamiento de 2.5nm hasta el último tiempo. En las muestras a 40°C el desplazamiento es más evidente en los dos picos, en el primero es de 2nm y el segundo 3nm.

A partir de los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad se determinan las condiciones de pH 9.5 temperatura de 25°C como las más adecuadas para desarrollar las técnicas de preparación de nanopartículas de omeprazol y alcohol estearílico, ya que en estas condiciones se presenta la menor variación y desplazamiento de los espectros en el tiempo de estudio.

## **2. Preparación de nanopartículas**

### **2.1 Fusión-Dispersión**

En esta técnica se utilizó una relación molar entre el lípido y el fármaco de 2:1 con la finalidad de obtener una dispersión uniforme al inicio. Posteriormente la adición de la *Disolución A* nos da lugar a una suspensión la cual al someterla a enfriamiento de manera brusca induce la formación de las nanopartículas. Al filtrar la suspensión obtenida se recuperan dos muestras. Un sólido blanco (1a) y el filtrado opaco (1b).

### **2.2 Difusión de disolvente**

La relación estequiométrica entre el lípido y el fármaco es 1:1, al adicionar la *Disolución A* se obtiene una suspensión blanquecina que se somete a evaporación. La suspensión se filtra y se recupera un sólido blanco (2a) y el filtrado (2b).

### **2.3 Emulsificación-Difusión**

En esta técnica se obtiene una suspensión blanquecina después de adicionar la *Disolución A*, dicha suspensión se vuelve transparente al estar evaporando el disolvente. Después de este proceso, se requiere esperar aproximadamente 2 horas para enfriar la disolución y filtrar la suspensión posterior. Después de filtrar se obtienen un sólido blanco (3a) y el filtrado (3b).

### **2.4 Salting-out**

Con esta técnica se busca inducir la formación de nanopartículas por un proceso de precipitación gracias a la presencia de sales. La precipitación se observa cuando se adiciona la *Disolución B*, de la filtración de esta suspensión se obtienen un sólido blanco (4a) y el filtrado (4b).

### 3. Caracterización

#### 3.1 Tamaño de partícula ( $\phi$ )

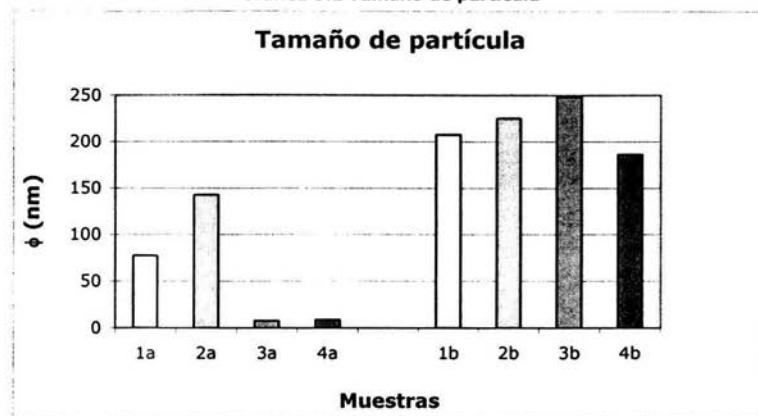
El tamaño de partícula es un parámetro que depende de las variables de proceso en la formación de nanopartículas. En este trabajo se utilizaron de manera constante el tensoactivo Tween20 al 2.5%, la proporción de las fases 1:5, la cantidad de fármaco y lípido con una relación 1:1, a excepción de la técnica de Fusión-Dispersión en la que se adicionó una cantidad de lípido mayor manteniendo una relación molar lípido-fármaco de 2:1. Por lo tanto, el tamaño de partícula estará en función principalmente de la técnica de preparación y los parámetros que se vean involucrados de manera directa con el proceso como por ejemplo el disolvente utilizado.

El equipo Zetasizer utilizado, reporta resultados de % de Intensidad, % en Volumen y % en Número. Se trabaja con los datos de % de Número porque son los más representativos con respecto a la cantidad de nanopartículas presentes en las muestras y su tamaño correspondiente. En la **Tabla 7** se muestran los promedios de tamaño de partícula ( $\phi$ ) obtenidos para cada una de las técnicas trabajadas.

**Tabla 7** Tamaño de partícula.

<i>Muestra</i>	<i>Técnica</i>	$\phi$ (nm)	
Líquidos	1a	Fusión- Dispersión	77.800
	2a	Difusión de disolvente	142.146
	3a	Emulsificación- Difusión	7.923
	4a	Salting-out	8.956
Sólidos	1b	Fusión- Dispersión	207.720
	2b	Difusión de disolvente	224.843
	3b	Emulsificación- Difusión	248.446
	4b	Salting-out	185.980

Gráfica 3.1 Tamaño de partícula



En la **Gráfica 3.1** se puede observar que en todas las muestras obtenidas el tamaño de partícula es menor a 250nm, es decir dentro del rango aceptable para estos sistemas.

De las muestras líquidas las que presentan un menor tamaño de partícula son las correspondientes a las técnicas de Emulsificación-Difusión y Salting-out, en la 3a posiblemente sea porque el proceso de Emulsificación se ve favorecido por el uso de un disolvente parcialmente soluble en agua. En lo que respecta a la muestra 4a, pareciera que el proceso de evaporación del disolvente fue más eficiente que en las otras técnicas ya que también la muestra sólida (4b) presenta el tamaño de partícula menor entre los sólidos.

En el caso de los sólidos el tamaño obtenido en todas las técnicas es muy similar entre ellas, y es mayor comparado con los filtrados posiblemente debido a un exceso de alcohol estearílico ya que en las micrografías que se obtienen del análisis de MEB se puede apreciar que las nanopartículas se encuentran adheridas a una matriz amorfa de alcohol estearílico.

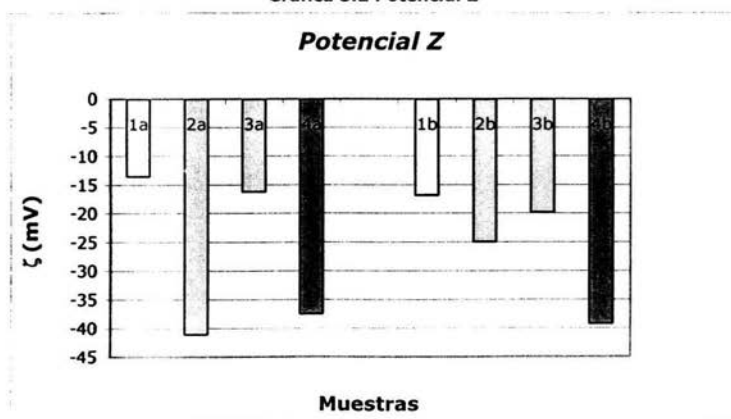
### 3.2 Potencial zeta ( $\zeta$ )

El potencial Z es un parámetro indicativo de la estabilidad de sistemas coloidales farmacéuticos como una suspensión de las nanopartículas obtenidas en cada técnica, es decir, que tanto pueden atraerse las partículas para formar agregados. Se recomienda que para resuspender fácilmente este tipo de preparados, el potencial Z tenga valores por arriba de +30 mV o por debajo de -30 mV. En la **Tabla 8** se muestran los valores de potencial Z ( $\zeta$ ) promedio de las muestras obtenidas.

Tabla 8. Potencial Z.

Muestra		Técnica	$\phi$ (nm)
Líquidos	1a	Fusión- Dispersión	-13.516
	2a	Difusión de disolvente	-41.099
	3a	Emulsificación- Difusión	-16.186
	4a	Salting-out	-37.461
Sólidos	1b	Fusión- Dispersión	-16.768
	2b	Difusión de disolvente	-24.953
	3b	Emulsificación- Difusión	-19.786
	4b	Salting-out	-39.221

Gráfica 3.2 Potencial Z

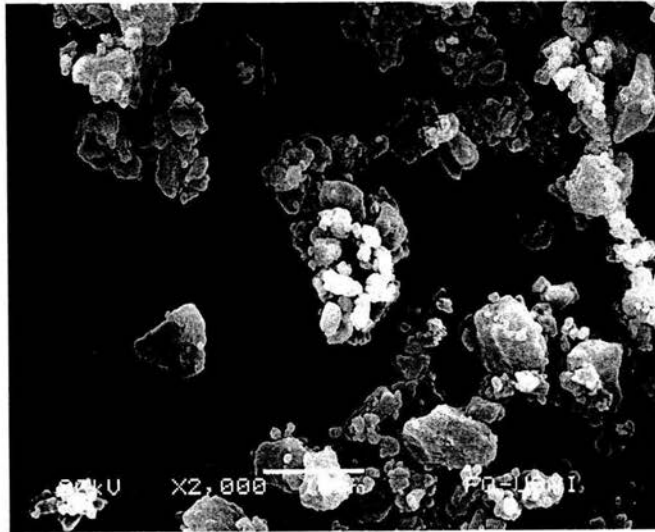


En la **Gráfica 3.2** se puede observar que los valores de este parámetro son muy similares entre las muestras obtenidas por Fusión-Dispersión y por Emulsificación-Difusión. Estas muestras son susceptibles a formar agregados en suspensión. Por otro lado las muestras de Difusión de disolvente presentan un potencial Z mayor al de las anteriores, en el caso del filtrado (2a) el valor de  $-41\text{mV}$  representa una mayor estabilidad de la suspensión de estas nanopartículas de tal manera que si se buscara formular una suspensión con nanopartículas de omeprazol éste filtrado sería adecuado. En el caso de las muestras de Salting-out ambas presenta un valor de potencial Z por debajo de  $-35\text{mV}$  que les confiere estabilidad en suspensión, pero es importante considerar que estas muestras contienen NaCl y esta sal influye en el potencial Z ya que se trata de un electrolito que se disocia fuertemente en sus iones correspondientes.

### 3.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

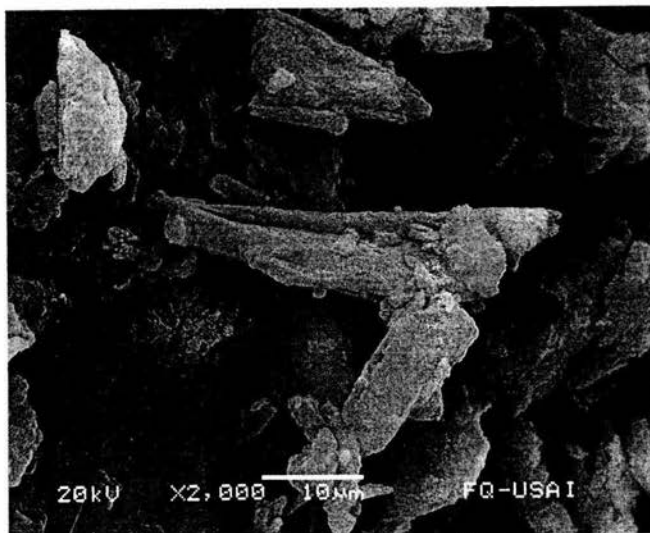
Se tomaron micrografías de las materias primas Omeprazol (OME) y Alcohol Estearílico (AE) para observar la morfología que presentan antes y después del proceso de preparación de nanopartículas, ya que la estructura de estas sustancias puede presentar cambios que serán evidentes al observar la morfología que exhiben las muestras obtenidas mediante MEB.

El omeprazol es un sólido blanco cristalino con una morfología característica mostrada en la **Micrografía 3.1** en la que se encuentran agregados de cristales de diferentes tamaños.



**Micrografía 3.1 Omeprazol**

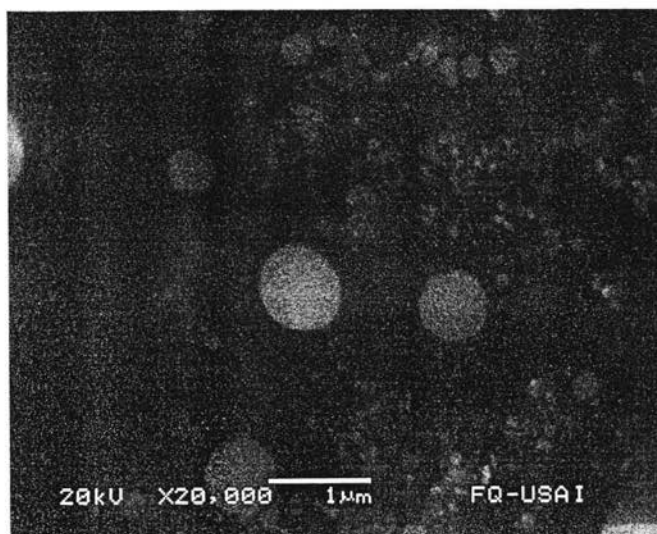
El alcohol estearílico es un sólido menos cristalino que el OME. La **Micrografía 3.2** muestra esta característica en la que se encuentran estructuras de diferentes formas y tamaños con zonas de superficie rugosa y lisa en otras.



**Micrografía 3.2 Alcohol Estearílico**

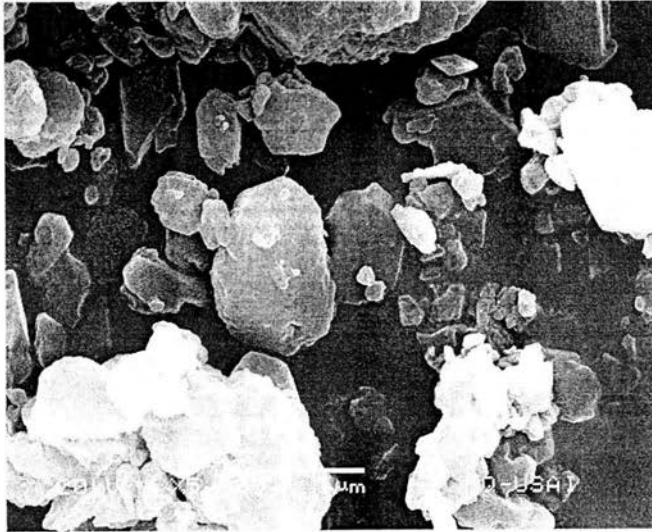


La técnica de Fusión-Dispersión presenta estructuras esféricas sólo en la muestra líquida (**Micrografía 3.3**) en la que se observan nanopartículas aisladas y agregadas. La agregación puede deberse al potencial Z que presenta este filtrado.



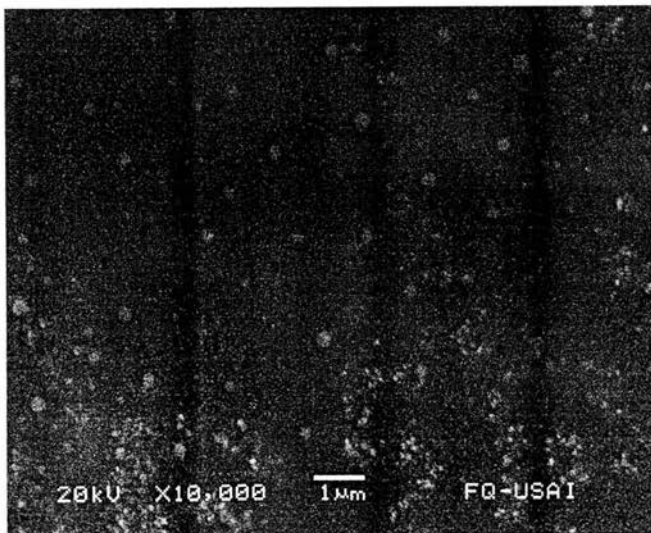
**Micrografía 3.3 Fusión-Dispersión (1a)**

La muestra 1b no presenta nanopartículas y se puede ver en la **Micrografía 3.4** cristales muy parecidos al omeprazol mezclado con alcohol estearílico, por lo que lo que se consiguió en el sólido de esta técnica fue principalmente una dispersión sólida por la interacción de las materias primas utilizadas, pero es importante señalar en algunos de los cristales se alcanzan a distinguir estructuras esféricas muy pequeñas.



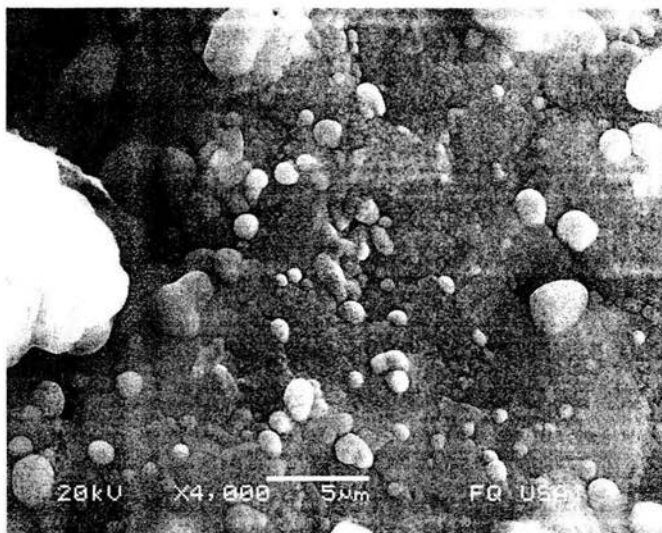
**Micrografía 3.4 Fusión-Dispersión (1b)**

En el caso de de la muestra 2a (**Micrografía 3.5**) de Difusión de disolvente, se observan partículas esféricas aisladas en diferentes campos, no se observan agregados lo que es coherente de acuerdo con el valor de potencial Z obtenido en esta muestra (-41mV).



**Micrografía 3.5 Difusión de disolvente (2a)**

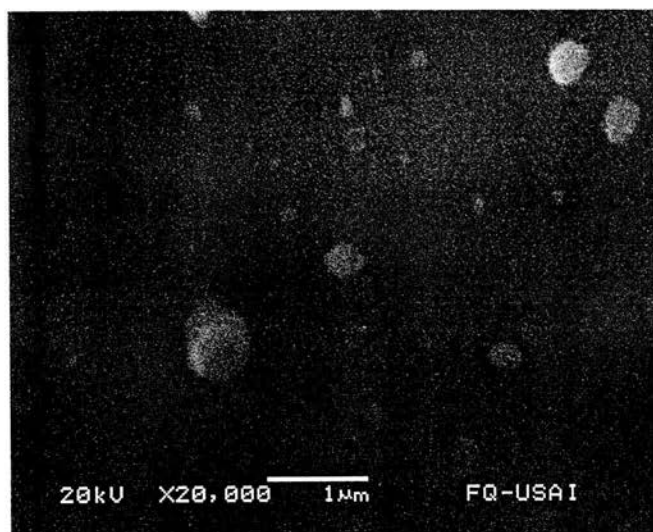
La muestra sólida 2b (**Micrografía 3.6**) también se observan nanopartículas, pero éstas se encuentran depositadas sobre una matriz amorfa parecida al alcohol estearílico el cual posiblemente se encuentra en exceso. Algunas de las partículas presentan una estructura esférica, mientras que otras se encuentran como agregados ( $\zeta = -25\text{mV}$ ).



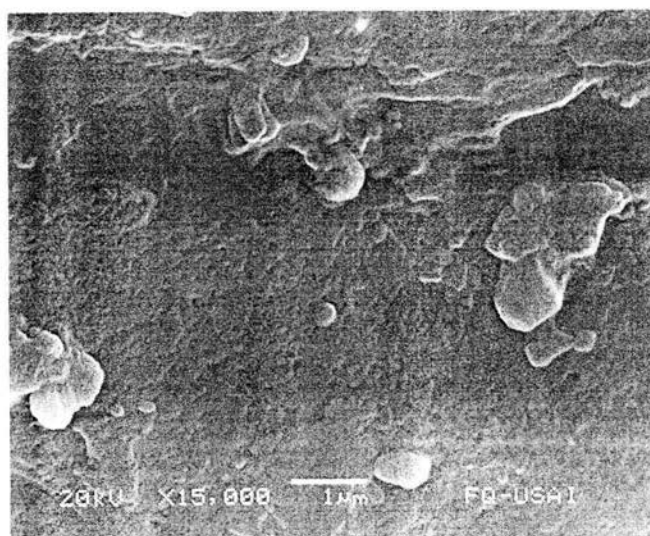
**Micrografía 3.6 Difusión de disolvente (2b)**

En cuanto a la técnica de Emulsificación-Difusión se puede observar en la muestra 3a (**Micrografía 3.7**) que las partículas formadas no son totalmente esféricas ya que algunas presentan bordes amorfos.

La muestra 3b (**Micrografía 3.8**) presenta una cantidad escasa de nanopartículas, las cuales se encuentran adheridas a una superficie amorfa parecida a la estructura del alcohol estearílico que se encuentra en exceso.



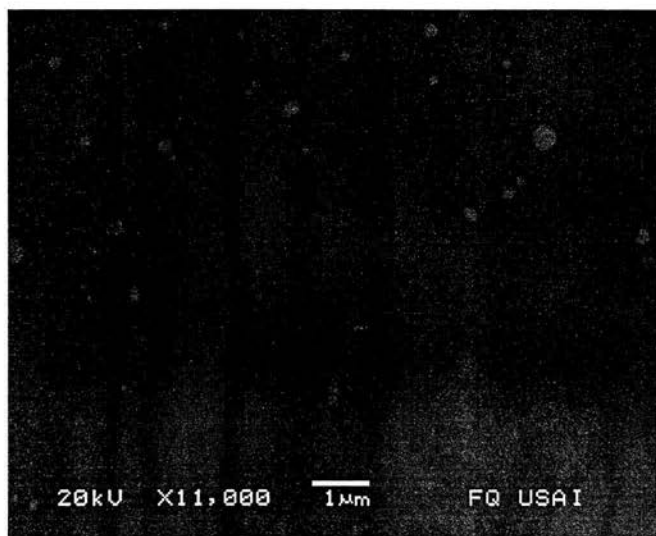
*Micrografía 3.7 Emulsificación-Difusión (3a)*



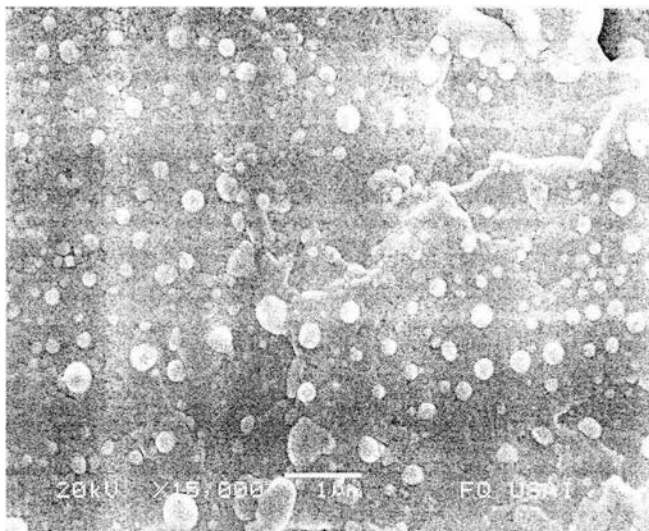
*Micrografía 3.8 Emulsificación-Difusión (3b)*

En la técnica de Salting-out se obtienen nanopartículas en las dos muestras (líquida y sólida) analizadas. En la **Micrografía 3.9** se observa la morfología de la muestra 4a, se obtuvieron nanopartículas esféricas que se encuentran dispersas debido al potencial Z que poseen (-37mV).

Comparada con las muestras de las técnicas anteriores, en el sólido (4b) obtenido en Salting-out (**Micrografía 3.10**) se obtiene una cantidad mayor de nanopartículas en todos los campos observados. Al igual que todos los sólidos muestra también un exceso de alcohol estearílico sobre el que se depositan las partículas. En esta muestra desaparece del termograma el pico de fusión correspondiente al OME por lo que posiblemente dichas partículas se encuentren vacías.



**Micrografía 3.9 Salting-out (4a)**

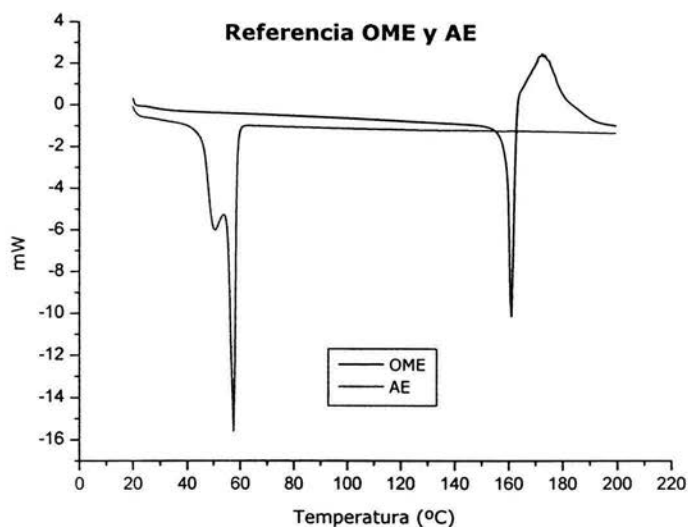


**Micrografía 3.10 Salting-out (4b)**

### **3.4 Calorimetría diferencial de barrido (CDB)**

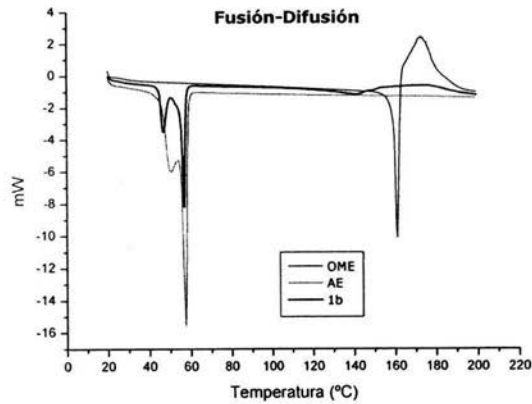
Los termogramas que se obtienen de la técnica de CDB nos permiten observar el comportamiento térmico de los sólidos cristalinos o amorfos que pueden presentar fenómenos de fusión, deshidratación o descomposición, entre otros. En los termogramas de las muestras obtenidas en las diferentes técnicas pueden existir cambios con respecto a las materias primas, debidos a las interacciones que se presentan entre el fármaco y el lípido cuando se lleva a cabo el proceso de preparación de nanopartículas.

Se obtienen los termogramas del omeprazol y alcohol estearílico como referencia y se comparan los obtenidos en cada proceso. En el **Termograma 3.1** se observan los picos endotérmicos referentes a la fusión del omeprazol y del alcohol estearílico. El desplazamiento o desaparición de dichos picos se presenta en las diferentes técnicas.



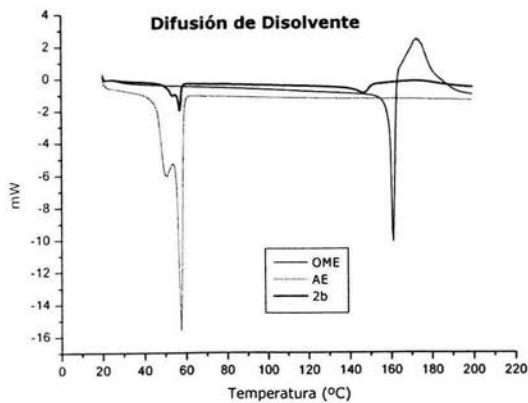
**Termograma 3.1 Referencia OME y AE.**

En el **Termograma 3.2** se presenta el comportamiento de la muestra de Fusión-Dispersión, en el estudio de MEB de dicha muestra (**Micrografía 3.4**) se observa una dispersión sólida entre las materias primas y un exceso de alcohol estearílico, razón por la cual en el termograma el pico correspondiente al AE se mantiene sin modificación en su forma y mantiene la temperatura de fusión. El pico de omeprazol presenta un desplazamiento hacia la derecha por la interacción que tiene con el AE durante el proceso de Fusión-Dispersión al que fue sometido.



**Termograma 3.2 Fusión-Dispersión**

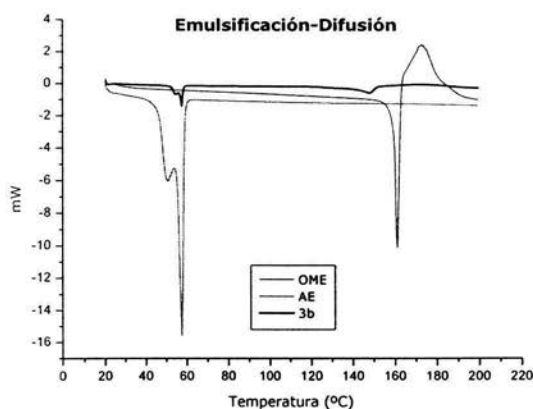
En la muestra de la técnica de Difusión de disolvente, se tiene la evidencia de las nanopartículas observadas en MEB (*Micrografía 3.6*), el **Termograma 3.3** muestra un desplazamiento en los picos de omeprazol y alcohol estearílico. Este desplazamiento puede deberse a la modificación de las interacciones entre las materias primas por la formación de nanopartículas, el desplazamiento es pequeño en el caso del alcohol estearílico ya que se encuentra en exceso.



**Termograma 3.3 Difusión de disolvente (2b)**

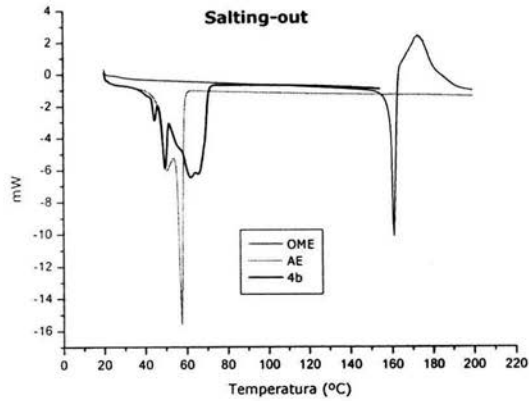


En el **Termograma 3.4** que se obtiene de la muestra de Emulsificación-Difusión es muy semejante al de la muestra de la técnica anterior, ambas técnicas se basan en el mismo principio de formación de nanopartículas que es la difusión de disolvente para formar nanopartículas pero en la muestra 3b la cantidad que se obtiene de éstas es menor que en la 2b. La nuevas interacciones entre las materias primas provoca el desplazamiento y disminución de los picos en CDB.



**Termograma 3.4 Emulsificación-Difusión (3b)**

El **Termograma 3.5** correspondiente a la muestra de Salting-out presenta cambios en el pico de fusión del AE y el correspondiente al OME que no se aprecia. Posiblemente la cantidad de omeprazol en la muestra es muy poca y se encuentra dispersa en toda la muestra y no aparece el pico, tal vez las nanopartículas observadas en MEB (**Micrografía 3.10**) pueden estar vacías. El pico de AE se encuentra ensanchado debido a las nanopartículas, además es importante considerar la adición de NaCl ya que puede modificar la estructura cristalina de alcohol estearílico. El **Difractograma 3.5** correspondiente a esta muestra presenta una estructura cristalina diferente a la de las materias primas de referencia.

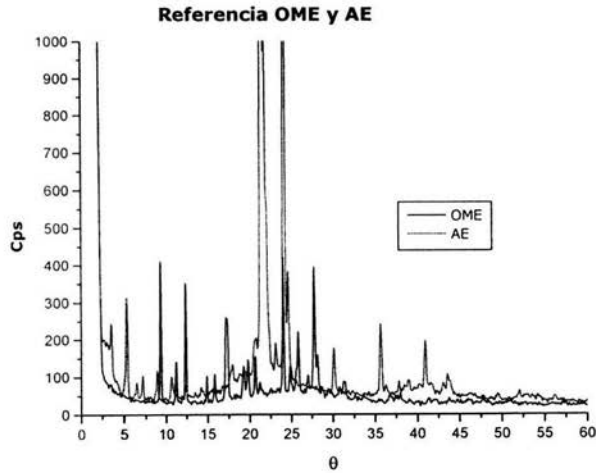


**Termograma 3.5 Salting-out (4b)**

### 3.5 Difracción de rayos X de polvos

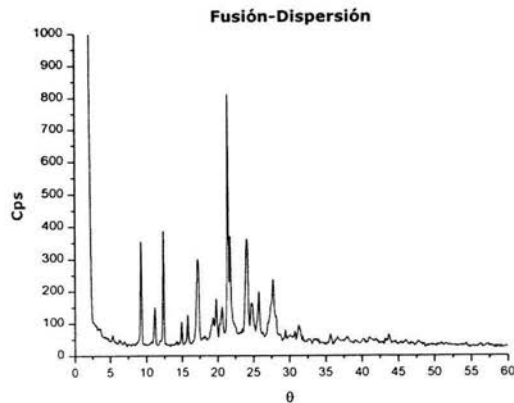
La difracción de rayos X de polvos nos permite conocer las características de cristalinidad que presenta un sólido, esta propiedad se modifica después del proceso de producción de nanopartículas. La presencia y cantidad de picos se relaciona con una estructura cristalina de la muestra.

El omeprazol es un sólido cristalino, mientras que el alcohol estearílico es un lípido amorfo (**Micrografías 3.1 y 3.2**). Del análisis en rayos X de polvos se obtuvieron los resultados presentados en el **Difractograma 3.1** con el fin de compararlos con los obtenidos en las muestras de las diferentes técnicas desarrolladas.



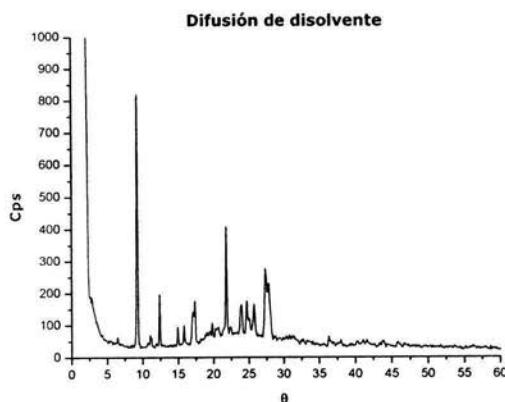
**Diffractograma 3.1 Referencia OME y AE**

El **Diffractograma 3.2** de la muestra sólida (1b) de la técnica Fusión-Dispersión presenta un comportamiento muy similar al de las materias primas de referencia (OME y AE) pues se observan picos correspondientes a dichas sustancias, lo que puede deberse a que sólo se tiene una dispersión sólida.



**Diffractograma 3.2 Fusión-Dispersión (1b)**

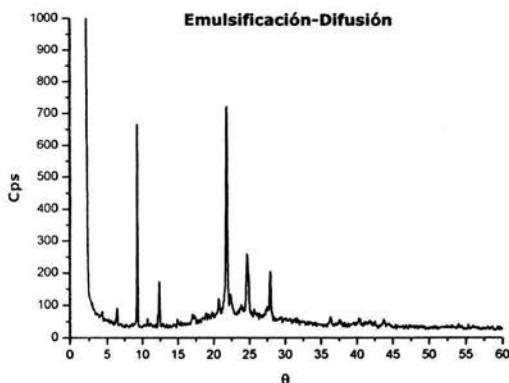
La muestra 2b de Difusión de disolvente presenta variación con respecto a las referencias, en el **Difractograma 3.3** se observa la desaparición de picos correspondientes al AE y al OME. En esta muestra se obtuvieron nanopartículas pero se observa un exceso de alcohol estearílico (**Micrografía 2.6**) por lo que posiblemente en el sólido predomina dicha estructura que es más amorfa comparada con el OME.



**Difractograma 3.3 Difusión de disolvente (2b)**

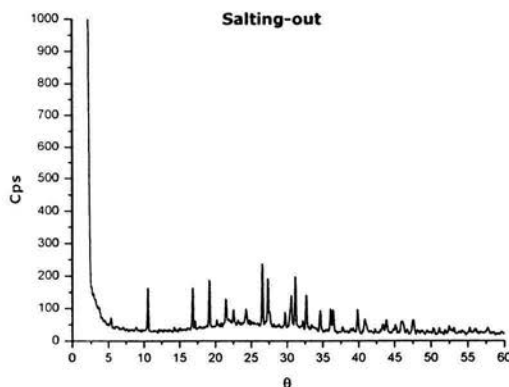
Con la técnica de Emulsificación-Difusión (**Difractograma 3.4**) se observa una pérdida de picos en comparación con las referencias, el comportamiento es muy similar al de la muestra 2b, la estructura del sólido obtenido es más amorfa que la del omeprazol de partida.

**ESTA TESIS NO SALE  
DE LA BIBLIOTECA**



**Difractograma 3.4 Emulsificación-Difusión (3b)**

La muestra 4b de Salting-out es un sólido que presenta el **Difractograma 3.5** en el que se encuentran algunos de los picos correspondientes a las referencias, e incluso aparecen otros. En el análisis de MEB se observó en esta muestra mayor cantidad de nanopartículas que en las anteriores, este hecho modifica la estructura del sólido, además, es importante señalar que el NaCl contribuye a la cristalinidad de la muestra.



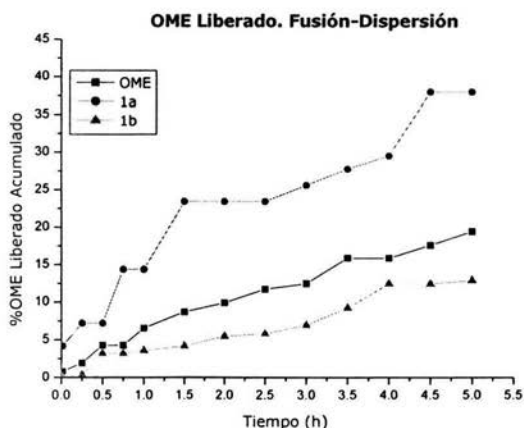
**Difractograma 3.5 Salting-out (4b)**

### 3.6 Liberación *in vitro*

Para el estudio de liberación se utilizaron celdas de Franz horizontales y se muestreo a diferentes tiempos durante 5h cada una de las muestras obtenidas en las cuatro técnicas de preparación de nanopartículas estudiadas. Las muestras se comparan con la liberación que presenta el omeprazol sólo.

El perfil de liberación de omeprazol presenta una rapidez de liberación lenta ya que se consigue liberar sólo el 20% del fármaco inicial del donador. Durante el tiempo de estudio la liberación presenta una tendencia lineal con una liberación constante de fármaco con respecto al tiempo, no se observan cambios de pendiente significativos que manifiesten la difusión del fármaco a través de una membrana o una matriz.

La liberación que se obtuvo de las muestras (1a y 1b) generadas con la técnica de Fusión-Dispersión se presenta en la **Gráfica 3.3**.

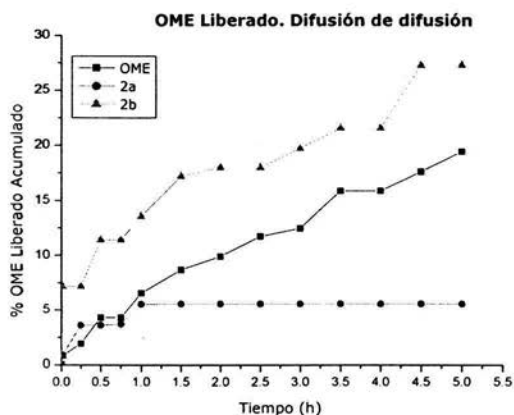


**Gráfica 3.3 Fusión-Dispersión (1a y 1b)**

Se puede observar que en comparación con el omeprazol, el filtrado (1a) acelera la liberación (38%). Las nanopartículas posiblemente están controlando la liberación del fármaco ya que después de presentarse una liberación en los primeros tiempos (0.5h y 1.5h) se encuentran zonas de mesetas en las que no hay liberación de fármaco. El incremento en la rapidez de liberación puede deberse a la solubilización del fármaco por efecto del tensoactivo utilizado.

La muestra 1b presenta un comportamiento similar al del omeprazol de referencia hasta las 4h pero, el % de fármaco liberado es menor (12%) ya que la dispersión sólida con alcohol estearílico dificulta la salida del OME haciéndola más lenta a partir del tiempo de 4h.

Las muestras 2a y 2b correspondientes a la técnica de Difusión de disolvente (**Gráfica 3.4**) presenta modificación en la liberación de OME, en ambas se cuenta con evidencia de la formación de nanopartículas (**Micrografías 3.5 y 3.6**).

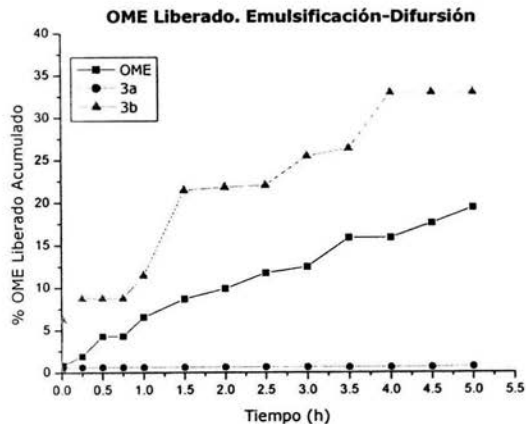


**Gráfica 3.4 Difusión de disolvente (2a y 2b)**

El líquido (2a) presenta estructuras bien definidas en las que posiblemente se encuentre incluido el omeprazol de tal forma que la liberación se ve limitada por dichas estructuras. La rapidez de salida del fármaco es menor que la muestra de referencia (OME) ya que sólo se libera el 5.5% de la cantidad inicial.

La muestra sólida (2b) por otro lado, acelera la liberación de fármaco desde el inicio, aproximadamente se libera el 5% de fármaco cada 1.5h hasta acumular cerca del 30% a las 4.5h, presentándose zonas en las que la liberación disminuye considerablemente. El incremento en el % de fármaco liberado en comparación con el omeprazol puede deberse a la existencia de fármaco libre que difunde sin problema a través de la membrana. Cabe señalar que existe una liberación de fármaco inicial (Burst) que suelen presentar este tipo de sistemas.

El proceso de Emulsificación-Difusión (**Gráfica 3.5**) presenta también una modificación en la liberación. En estas muestras se tiene formación de nanopartículas evidenciadas por MEB pero en la 3b son muy escasas.



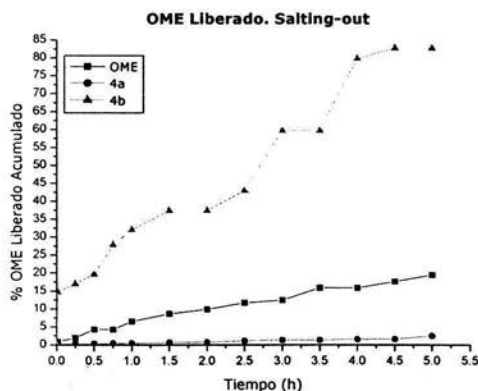
**Gráfica 3.5 Emulsificación-Difusión (3a y 3b)**

La muestra 3a no manifiesta una liberación significativa (<1%) durante todo el tiempo de estudio tal vez porque la mayor parte del fármaco está encapsulado y esto limita la liberación del fármaco.

La muestra sólida acelera la liberación de fármaco desde los primeros tiempos de muestreo con respecto al OME, alcanza cerca del 33% de fármaco liberado en el tiempo de estudio, con una tendencia muy parecida a la de la muestra 2b de Difusión de disolvente, también presenta zonas en las que la liberación es muy lenta y después se dispara para liberar fármaco de manera constante.



Las muestras de Salting-out 4a y 4b también modifican la liberación de OME y en las dos se tienen nanopartículas, la **Gráfica 3.6** presenta los resultados obtenidos.



**Gráfica 3.6 Salting-out (4a y 4b)**

La muestra líquida (4a) presenta una liberación muy lenta ya que durante el tiempo de estudio libera aproximadamente el 2.5% de la cantidad inicial en la celda del donador. Se tiene evidencia de partículas con tamaño muy pequeño (9nm) en las que posiblemente se encuentre el fármaco encapsulado y presentan una limitación para difundir a través de dicho sistema.

En la muestra 4b se observa una liberación muy rápida en la que casi el 83% de omeprazol inicial es liberado, este comportamiento puede deberse a que, aún cuando se obtuvo una cantidad considerable de nanopartículas, éstas parecen estar vacías, hecho que se deduce al analizar el **Termograma 3.5** correspondiente a la muestra en el que el pico del OME no se observa por la dispersión molecular en la que se encuentra el fármaco fuera de las partículas formadas. De tal manera que aunado a la presencia de tensoactivo, el fármaco se encuentra disuelto en la muestra con lo que se facilita su salida presentando una velocidad de liberación mayor a la de la referencia.

---

**VII. CONCLUSIONES**

- En el filtrado obtenido en la técnica Fusión-Dispersión se encuentran nanopartículas que contienen al omeprazol y cuya liberación se acelera en comparación con la de la suspensión de omeprazol utilizada como referencia.
  
- Con las técnicas de Difusión de disolvente y Emulsificación-Difusión se obtienen nanopartículas en cada una de las muestras generadas. Las muestras sólidas de ambas técnicas, presentan un comportamiento similar en los estudios de caracterización correspondientes a CDB, Rayos X de polvos y Liberación *in vitro*. En las dos se presenta un incremento en la rapidez de liberación de omeprazol.
  
- Con la técnica de Salting-out se obtiene gran cantidad de nanopartículas en la muestra sólida, pero de acuerdo a los resultados de CDB dichas partículas no contienen al fármaco. En el estudio de Liberación *in vitro* se presenta un incremento en la rapidez de liberación del fármaco para la muestra sólida en tanto que, la muestra líquida no presenta un porcentaje de liberación significativo.
  
- De las técnicas comparadas, la de Difusión de disolvente es la más adecuada para preparar nanopartículas de omeprazol y alcohol estearílico. Ya que se tienen estructuras esféricas definidas y el tamaño de partícula de las muestras es menor a 250nm. El sólido presenta un valor de potencial Z de -41mV el cual, se encuentra dentro del intervalo recomendable si se desea formular una suspensión de estas nanopartículas. La muestra sólida exhibe un perfil de liberación controlado.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bertram G. Katzung. **Basic & Clinical Pharmacology**. Appleton & Lange, 6ta. Edición. Norwalk Connecticut, 1995. 945-956.
2. William F. Ganong, MD. **Fisiología Médica**. El Manual Moderno, S.A. de C.V. México D.F., 1996. 545-550.
3. Horacio E. Ciangolani, Alberto B. Houssay. **Fisiología Humana de Houssay**. El Ateneo, 7ma. Edición. Buenos Aires, 2000. 183-189.
4. David L. Nelson, Michael M. Cox. **Lehninger Principles of Biochemistry**. Worth Publisher, 3ra. Edición. New Cork, 2000. 416-418, 626-627.
5. H. Richard Adams. **Veterinary Pharmacology and Therapeutics**. Iowa State University Oress/Ames, 8va. Edición. United States of America, 2001.
6. Goodman & Gilma. **Las bases farmacológicas de la terapéutica**. Mc Graw-Hill Interamericana. México, 1996. 965-973.
7. Charles G. MacAllister, DVM. **Medical Therapy for Equine gastric ulcers**. *Veterinary Medicine*, 90 (11), 1995. 1070-1076.
8. Michael J. Murria, DVM. **Supresión of gastric acidity in horses**. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 211 (1), 1997. 37-40.
9. J. Robert McClintic. **Fisiología del cuerpo humano**. Limusa, 2da. Edición. 1989. 505-509.
10. Frank S. Pipers, DVM. **Gastrogrard<sup>R</sup> Omeprazole and other anti-ulcer medications**. p
11. Dana G. Allen, John K. Pringle, Dale A. Smith. **Handbook of Veterinary Drugs**. Lippincott Williams E. Willdins, 2da. Edición. United States of America, 1998.
12. Donald C. Plum, Abridged Companion to the Veterinary Drug Handbook. 3ra. Edición. United States of America, 1999.
13. Anthony Ekpe, Thomas Jacobsen. **Effect of various salts on the stability of lanzoprazole,omeprazole and pantoprazole as determined by HPLC**. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25 (9), 1999. 1057-1065.
14. Nalga M. El-Kousy, Loriens I. Degbawy. **Stability-Indicating Methods for Determining Omeprazole and Octylonium Bromide in presence of their degradations products**. *Journal of Aoac International*, 82 (3), 1999. 599-606.
15. K.Karljikovic-Rajic, D. Novovic, V. Marinkovic. **First-order UV-derivative spectrophotometry in the analysis of Omeprazole and Pantoprazole sodium salt impurities**. *International Journal Pharmaceutics Biomedic*, 32, 2003. 1019-1027.
16. Stephen P. Clissold and Deborah M. Campol-Richards. **Drugs. Focus on Omeprazole an update review**. ADIS Drug Information Service. Aucland, 1998. 1-41.
17. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products. **Committee for veterinary medicinal products (Omeprazole)**. *Veterinary Medicine and Inspection*, EMEA, 2002.
18. Han-GonChoi, Chong-Kook Kim. **Development of omeprazole buccal adhesive tablets with stability enhancement in human saliva**. *Journal of Controlled Release*, 68, 2000. 397-404.
19. Han-Gon Choi, Jac-Hee Jung, Chul Soon Yong, Chong-Dal Rhee. **Formulation and in vivo evaluation of omeprazole buccal adhesive tablet**. *Journal of Controlled Release*, 68, 2000. 405-412.
20. Jennifer L. DiGracinto Keith M. Olsen, Kimberly L. Bergman. **Stability of suspensions formulations of Lanzoprazole and Omeprazole stored in Amber-Colored Plastic Oral Syringes**. *Annals of Pharmacotherapy*, 34, 2000. 600-605.

21. Alenkha K. Dash and Greggry C. Coudworth. **Therapeutic applications of Implantable Drug Delivery Systems.** *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods*, 40, 1998. 1-20.
22. Christian Mantschke, Ute Isele, Peter van Hoogerest, Alfred Fahr. **Sustained-release injectables formed in situ and their potencial use for veterinary products.** *Journal of Controlled Release*, 85, 2002. 1-15.
23. Majeti N.V., Rav Kumar, Neraj Kumar. **Polymeric Controlled Drug Delivery Systems: Perspective issue and opportunities.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 27 (1), 2001. 1-30.
24. Joseph R. Robinson, Vincent H.L. Lee. **Controlled Drug Delivery. Fundamentals and applications.** Marcel Dekker Inc., 2da. Edición. 1987.
25. Alfonso R. Gennaro. **Remington Farmacia.** Editorial Médica Panamericana, 19va. Edición. 1998. Tomo 2 Capítulo 94. 2535-2559.
26. Yie W. Chien. **Drug and the Pharmaceutical Science. A series of textbooks and monographs.** Marcel Dekker, Inc. 2da. Edición. New York.Basel.Hong Kong, 1992. Vol. 50 Novel Drug Delivery Systems, Capítulos 1 y 2.
27. M.J. Rathbone, R. Gurny. **Controlled release veterinary drug delivery: Biological and Pharmaceuticls Considerations.** Elsevier, 2000.
28. Rainer H. Müller, Darsten Mâders, Sven Gohla. **Solid Lipid Nanoparticles (NSL) for controlled drug delivery-a review of the state of the art-.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50, 2000. 161-177.
29. Donald L. Wise. **Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology.** Marcel Dekker, Inc. New York, 2000. Capítulo 19, 377-389.
30. **Sustained Release Drug Delivery System.** pag 1691.
31. David Quintanar-Guerrero, Eric Alleman. **Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles for performed polymers.** *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 24 (12), 1998. 1113-1128.
32. Rita Cortes, Elisabetta Esposito, Giovanni Luca, Claudio Nastrozzi. **Productions of lipospheras as carriers for bioactive compounds.** *Biomaterials*, 23 (11), 2002. 2283-2294.
33. António J. Aleida, Stephan Runge, Rainer H. Müller. **Peptide-loaded solid lipid nanoparticles (NSL): Influence of production parameters.** *International Journal of Pharmaceutics*, 149, 1997. 255-265.
34. M.A. Schubert, C.C. Müller-Goymann. **Solvent injection as a new approach for manufacturing lipid nanoparticles-evaluation of the method and process parameters.** *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 55, 2003. 125-131.
35. Jagdish Jaiswal, Suresh Kumar Gupta, Jorg Kreuter. **Preparation of biodegradable cyclosporine nanoparticles by high-pressure emulsification-solvent evaporation process.** *Journal of Controlled Release*, 2004.
36. A. Lamprecht, N. Ubrich, M. Hombreiro Pérez, C.M. Lehr, M. Hoffman, P. Maincent. **Biodegradable monodispersed nanoparticles prepared by pressure homogenization-emulsification.** *Internacional Journal of Pharmaceutics* 184, 1999. 97-105.
37. A. Lamprecht, N. Ubrich, M. Hombreiro Pérez, C.M. Lehr, M. Hoffman, P. Maincent. **Influences of process parameters on nanoparticle preparation performed by a double emulsion pressure homogenization technique.** *International Journal of Pharmaceutics* 196, 2000. 177-182.
38. Elena Ugazio, Roberta Cavalli, maria Rosa Gasco. **Incorporation of cyclosporin A in solid lipid nanoparticles (NSL).** *International Journal of Pharmaceutics* 241, 2002. 341-344.

39. Michele Trotta, Marina Gallarate, Maria Eugenia Carlotti, Silvia Morel. **Preparation of griseofulvin nanoparticles from water-dilutable microemulsions.** *Internacional Journal of Pharmaceutics* 254, 2003. 235-242.
40. Jia Kui Li, Nuo Wang, Xue Shen Wu. **Poly(vinyl alcohol) nanoparticles prepared by freezing-thawing process for protein/peptide drug delivery.** *Journal of Controlled Release* 56, 1998. 117-126.
41. Michele Trotta, Francesca Debernardi, Otto Caputo. **Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique.** *Internacional Journal of Pharmaceutics* 257, 2003. 153-160.
42. E. Alléman, R. Gurny and E. Doelker. **Preparation of aqueous polymeric nanodispersions by a reversible salting-out process: influence of process parameters on particle size.**
43. H. Ibrahim, C. BinCDBhaedler, E. Doelker, P. Buri, R. Gurny. **Aqueous nanodispersions prepared by a salting-out process.**
44. Yvette N. Konan, Robert Gurny, Eric Alléman. **Preparation and characterization of sterile and freeze-dried sub-200nm nanoparticles.** *International Journal of Pharmaceutics* 233, 2002. 239-252.
45. P. Perugini, S. Simeoni, S. Scalia, I. Genta, T. Modena, B. Conti, F. Pavanetto. **Effect of nanoparticle encapsulation on the photostability of the sunscreen agent, 2-ethylhexyl-p-methoxycinnamate.** *International Journal of Pharmaceutics* 246, 2002. 37-45.
46. Cung An Nguyen, Eric Alléman, Grégoire Schwach, Eric Doelker, Robert Gurny. **Síntesis of a novel fluorescent poly(D,L-lactide) end-capped with 1-pyrenebutanol used for the preparation of nanoparticles.** *European Journal of Pharmaceutical Sciences* 20, 2003. 217-222.
47. Sun Wha Oh, Dong Ri Zhang, Young Soo Kang. **Preparation and characterization of pyrazoline nanoparticles.** *Material Science & Engineering C* 34, 2004. 131-134.
48. Alf Lamprecht, Nathalie Ubrich, Hiromitso Yamamoto, Ulrich Schäfer. **Design of rolipram-loaded nanoparticles: Comparison of two preparation methods.** *Journal of Controlled Release*, 71, 2001. 297-306.
49. Thirumala Govender, Snjezana Stolnik, Martin C. Garnett. **PLGA nanoparticles prepared by nanoprecipitation: Drug loading and release studies of a water soluble drug.** *Journal of Controlled Release*, 57, 1999. 171-185.
50. F.Q. Hu, H. Yuan, H.H. Zhang, M. Fang. **Preparation of solid lipid nanoparticles with clobetasol propionate by a novel solvent diffusion method in aqueous system and physicochemical characterization.** *International Journal of Pharmaceutics* 239, 2002. 121-128.
51. F.Q. Hu, Y. Hong, H. Yuan. **Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing peptide.** *International Journal of Pharmaceutics* 273, 2004. 29-35.
52. Vobaloboina Venkateswarlu, Kopparam Manjunath. **Preparation, characterization and in vitro release kinetics of clozapine solid lipid nanoparticles.** *Journal of Controlled Release* 95, 2004. 627-638.
53. M. Igartua, P. Saulnier, B. Heurtault, B. Pech, J.E. Proust, J.L. Pedraz, J.P. Benoit. **Development and characterization of solid lipid nanoparticles loaded with magnetite.** *International Journal of Pharmaceutics* 233, 2002. 149-157.
54. Xiaoxia Chen, Timothy J. Young, Marazban Sarkari, Robert O. Williams III, Keith P. Johnston. **Preparation of cyclosporine A nanoparticles by evaporative precipitation into aqueous solution.** *International Journal of Pharmaceutics* 242, 2002. 3-14.
55. Arthur H. Kibbe. **Handbook of Pharmaceutical Excipients.** *American Pharmaceutical Association*, 3ra. Edición, 2000. Págs.416, 537.