



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

**FORMACIÓN DE PELÍCULAS DE USO
FARMACÉUTICO A PARTIR DE
NANOCÁPSULAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

KAREN LIZBETH AGUIRRE PINEDA

ASESOR: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO

m. 344924



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



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

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

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

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

"Formación de películas de uso farmacéutico a partir de nanocápsulas".

que presenta la pasante: Karen Lizbeth Aguirre Pineda
con número de cuenta: 40049013-1 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

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

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 04 de Febrero de 2005

PRESIDENTE	<u>Q. Juan José Mendoza Flores</u>	
VOCAL	<u>Dr. David Quintanar Guerrero</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Adriana Ganem Rondero</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MC. Lidia Rangel Trujano</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>MC. Rafael Villalobos García</u>	

AGRADECIMIENTOS

A Dios

Por que gracias a él
he logrado hasta este momento
lo que he deseado.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán

Donde pude obtener una parte fundamental
e importante de mi formación académica.

A mi asesor de tesis **Dr. David Quintanar Guerrero**

Por haberme permitido trabajar con él,
además de transmitirme parte de sus conocimientos
y brindarme ayuda en todo momento.

A la **Dra. Adriana Ganem**

Por brindarme su apoyo incondicionalmente.

A el Técnico **Rodolfo Robles**

Del Laboratorio de Microscopía de la FES Cuautitlán
por su asistencia en los estudios de Microscopía Electrónica de Barrido.

A el Técnico **Draucin Jiménez**

Del Taller de Soplado de Vidrio de la FES Cuautitlán,
por la fabricación de algunas piezas utilizadas en este proyecto.

DEDICATORIAS

A mis padres: **Margarito y Guillermina**

Por todo lo que me han dado principalmente:

su amor, sus consejos y su apoyo.

Porque gracias a ello,

he llegado a realizar la más grande de mis metas,

la cual constituye: la herencia más valiosa que pudiera recibir.

A mis hermanos: **Edgar, Seidy y Erick**

Por todos los momentos buenos y malos,

que hemos pasado juntos,

saben que daría la vida por ustedes,

siempre los llevaré en mi mente y en mi corazón.

A mi amiga **Lizeth**

Gracias por estar siempre conmigo,

escuchándome y ayudándome,

por todos los momentos que hemos pasado juntas,

sabes que siempre podrás contar conmigo,

¡gracias por tu cariño!

A mi amiga **Nefris**

Gracias por compartir conmigo

los últimos semestres de la carrera,

te agradezco de corazón tu amistad.

Con mucho cariño a mis compañeros

del Laboratorio de Posgrado en Farmacia:

Elizabeth P. S., Xochitl, Zaida, Gilberto,

Edgar, Luis, José Juan

Por apoyarme durante el desarrollo de este trabajo,

además de que hicieron muy agradable

la estancia en ese lugar.

A **José Juan García Galicia**

Por apoyarme durante la carrera,

por ayudarme y por formar parte de mi vida,

sabes cuanto significas para mí, siempre estarás en mi corazón.

PRÓLOGO

El propósito al realizar esta tesis es poner en manos de los estudiantes de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo un texto de nanotecnología que abarca los conceptos fundamentales de la materia, además de contener los resultados del trabajo experimental realizado.

En este trabajo experimental se formaron películas de uso farmacéutico a partir de nanocápsulas (sistemas coloidales de gran interés para el campo farmacéutico ya que representan una importante alternativa como acarreadores de fármacos). Actualmente, existen diversos sistemas poliméricos utilizados para la formación de películas, tales como las resinas acrílicas hidrofílicas, cuya preferencia es debida a que presentan una menor irritación durante su utilización continua sobre la piel; así mismo, estas películas son factibles de ser utilizadas como plataforma en el desarrollo de un parche transdérmico (PT) unilaminar que cumple con los establecimientos en sistemas de una sola capa. Cabe señalar que no se encontró información reportada acerca de la formación de películas a partir de nanocápsulas.

El presente trabajo se desarrolló en el Laboratorio de Posgrado en Farmacia de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM, bajo la dirección del **Dr. David Quintanar Guerrero**.

Esta tesis es de mucha utilidad para los estudiantes de la carrera Químico Farmacéutico Biólogo, además de ser importante en posteriores investigaciones para el crecimiento de la nanotecnología. Se recomienda al lector tener antecedentes básicos sobre: tecnología, cinética física, sistemas dispersos, además de conocimientos fundamentales sobre bioestadística.

En la tesis aparecen índices de: abreviaturas, textos y anexos con la finalidad de que sea más fácil y sencilla la consulta de la información para el lector.

La autora desea expresar su agradecimiento a los colaboradores, amigos, profesores y doctores que apoyaron en la realización de la tesis.

ÍNDICE

	Página
Lista de Abreviaturas	iv
Índice de Figuras	v
Índice de Tablas	viii
Índice de Anexos	ix
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Nanopartículas	
2.1.1 Antecedentes	3
2.1.2 Métodos para la formación de las nanopartículas	5
a) Emulsificación- evaporación	5
b) Desplazamiento del solvente	6
c) "Salting-out"	6
d) Emulsificación-difusión	6
2.1.3 Fenómenos ocurridos en la formación de nanopartículas por la técnica de emulsificación-difusión	8
2.1.4 Mecanismo para la preparación de nanopartículas por la técnica de emulsificación-difusión	9
2.1.5 Caracterización de nanopartículas	10
2.1.5.1 Caracterización fisicoquímica	10
2.1.5.2 Análisis de la cantidad de fármaco encapsulado	11
2.1.5.3 Liberación del fármaco	11
2.1.5.3.1 Mecanismo de liberación	11
2.1.5.3.2 Métodos experimentales	12
2.2 Películas a partir de dispersiones poliméricas	
2.2.1 Fenómenos ocurridos en la formación de películas de dispersiones poliméricas	12
2.2.2 Definición de plastificante	13
2.2.3 Efecto del plastificante en la formación de películas	14
2.3 Parches transdérmicos	
2.3.1 Definición de parche transdérmico	14
2.3.2 Clasificación de parches transdérmicos	15
2.3.3 Capas que componen un parche transdérmico	16

	Página
2.3.3.1 Capa de recubrimiento	17
2.3.3.2 Reservorio del fármaco	17
2.3.3.3 Membrana	17
2.3.3.4 Capa adhesiva	17
2.3.3.5 Tira protectora	17
2.3.4 Características de un parche transdérmico	18
2.3.5 Fármacos más utilizados en parches transdérmicos	18
2.3.6 Difusión del fármaco a través de un parche transdérmico	19
2.3.7 Estudios de liberación/ permeación con celdas tipo Franz	20
3. OBJETIVOS	21
4. MATERIALES Y REACTIVOS	22
5. METODOLOGÍA	24
5.1 DIAGRAMA DE FLUJO	24
5.2 DETERMINACIONES PREVIAS	25
5.2.1 Determinación de la densidad del Miglyol 840® o Captex 200®	25
5.2.2 Determinación de la densidad del acetato ftalato de celulosa	25
5.2.3 Selección del plastificante	25
5.2.4 Determinación de la solubilidad del principio activo	25
5.2.5 Espectros de absorción	26
5.2.6 Curvas de calibración	26
5.3 PREPARACIÓN DE NANOCÁPSULAS	26
5.4 FORMACIÓN DE PELÍCULAS	26
5.5 EVALUACIONES	27
5.5.1 Características de las nanocápsulas	27
5.5.1.1 Talla	27
5.5.1.2 Análisis de densidad	28
5.5.1.3 Determinación del PVAL residual en nanocápsulas de CAP	28
5.5.1.4 Determinación de triclosán en las nanocápsulas de CAP	29
5.5.2 Características de las películas	29
5.5.2.1 Evaluación de la transparencia	29
5.5.2.2 Morfología (SEM)	30
5.5.2.3 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)	30
5.5.2.4 Cinética de liberación <i>in vitro</i> del triclosán	30

	Página
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	31
7. CONCLUSIONES	54
8. ANEXOS	55
9. REFERENCIAS	74

I. LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
NP	Nanopartículas
NC	Nanocápsulas
NE	Nanoesferas
CAP	Acetato ftalato de celulosa
PVAL	Alcohol polivinílico 4/88
Tric	Triclosán
Est	Estradiol
N. M.	Nitrato de miconazol
T	Triacetina
MetOH	Metanol
EtOH	Etanol
NaOH	Hidróxido de sodio
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
nm	Nanómetros
ml	Mililitros
μm	Micrómetros
μg	Microgramos
min	Minutos
h	Hora
mm	Milímetros
soln.	Solución
I. P.	Índice de polidispersidad
C. V.	Coefficiente de variación
D. E.	Desviación estándar
% p/p	Concentración en porcentaje peso/peso
% p/v	Concentración en porcentaje peso/volumen
t	Tiempo
Tem	Temperatura
$^{\circ}\text{C}$	Grados centígrados
PM	Peso molecular
rpm	Revoluciones por minuto
Tg	Temperatura de transición vítrea
Tf	Temperatura de fusión
UV/Vis	Ultravioleta/Visible
λ	Longitud de onda
Abs	Absorbancia
PT	Parche transdérmico
Mt	Cantidad de fármaco liberada
Ma	Cantidad de fármaco liberada en tiempos prolongados
Q	Cantidad de fármaco liberada por unidad de área
A	Área

II. ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Representación de los tipos de NP	4
Figura 2	Representación de la técnica de emulsificación-difusión	7
Figura 3	Esquematzación de los fenómenos ocurridos en la formación de NP por la técnica de emulsificación-difusión	8
Figura 4	Esquema del mecanismo propuesto para la formación de NP por la técnica de emulsificación-difusión	10
Figura 5	Representación del mecanismo de formación de películas a partir de dispersiones poliméricas	13
Figura 6	Esquematzación de las diferentes configuraciones de un PT	15
Figura 7	Esquematzación de las diferentes capas que conforman un PT	16
Figura 8	Celda de difusión tipo Franz	20
Figura 9	Esquematzación de la placa de teflón utilizada para la formación de películas	27
Figura 10	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.2 ml Miglyol	34
Figura 11	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol	35
Figura 12	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.6 ml Miglyol	35
Figura 13	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.8 ml Miglyol	36

		Página
Figura 14	Distribución de partícula de NC de CAP con 1.0 ml Miglyol	36
Figura 15	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol y 50 mg de triclosán	37
Figura 16	Distribución de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol y 100 mg de triclosán	37
Figura 17	Distribución de partícula de NE de CAP con 0.4 ml Miglyol	38
Figura 18	Distribución de partícula de NE de CAP con 0.4 ml Miglyol y 100 mg de Triclosán	38
Figura 19	Comportamiento del tamaño de partícula en relación a la cantidad en ml de Miglyol	39
Figura 20	Fotografías de películas obtenidas a partir de NC's preparadas bajo diferentes condiciones	42
Figura 21	Evaluación de la transparencia para las diferentes películas de NC y NE.	44
Figura 22	Micrografías de las películas obtenidas a partir de las NC's por SEM	45
Figura 23	Representación del fenómeno de coalescencia de las partículas en la Etapa II de evaporación	46
Figura 24	Termogramas de algunas materias primas involucradas en la elaboración de las NC's y del principio activo	47
Figura 25	Termogramas de películas obtenidas a partir de NC	48
Figura 26	Termogramas de películas obtenidas a partir de NE	49

		Página
Figura 27	Perfil de liberación del triclosán a partir de las películas obtenidas con las NC's	50
Figura 28	Cinética de liberación de triclosán a partir de las películas	51
Figura 29	Modelo de Langer y Peppas aplicado a la liberación de triclosán a partir de las películas obtenidas con las NC's	52
Figura 30	Modelo de Higuchi aplicado a la liberación de triclosán a partir de las películas obtenidas con las NC's	53

III. ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla I	Métodos para la caracterización fisicoquímica de NP	11
Tabla II	Plastificantes de uso farmacéutico	14
Tabla III	Fármacos utilizados en PT	19
Tabla IV	Resultados obtenidos de la determinación de la densidad del Miglyol	31
Tabla V	Resultados obtenidos de la determinación de densidad del CAP	31
Tabla VI	Resultados obtenidos de la prueba de solubilidad de los principios activos	32
Tabla VII	Resultados obtenidos de la prueba de solubilidad de los materiales utilizados en la formulación para la formación de las NC	33
Tabla VIII	Distribución del tamaño de partícula de las NC de CAP cargadas con diferentes cantidades de Miglyol 840®	34
Tabla IX	Resultados obtenidos del análisis de densidad	39
Tabla X	Resultados obtenidos del porcentaje de triclosán cargado, porcentaje de PVAL residual y eficiencia de encapsulamiento	40
Tabla XI	Propiedades físicas de las películas obtenidas a partir de las NC's	41
Tabla XII	Resultados obtenidos de la evaluación de la transparencia para las películas de NC y NE	43
Tabla XIII	Valores del coeficiente de regresión (r^2), de la constante de orden cero y primer orden (K)	51
Tabla XIV	Mecanismo de transporte y tipo de liberación de acuerdo al valor n del modelo de Langer y Peppas	52

IV. ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
I Estructuras químicas y generalidades de los materiales utilizados	55
1. Triclosán	
2. CAP	
3. Miglyol® 840 o Captex 200®	
4. Triacetina	
5. Mowiol® 40/88	
II Resultados de los espectros realizados para triclosán y CAP	60
1. Triclosán-EtOH	
2. Triclosán-EtOH/H ₂ O	
3. CAP-EtOH	
4. CAP-EtOH/H ₂ O	
III Curvas de Calibración	62
1. PVAL en agua destilada	
2. Triclosán en Etanol	
3. Triclosán en Etanol/Agua	
IV Resultados de la liberación de triclosán	71
1. Resultados de la cinética de liberación	
2. Resultados del modelo de Langer y Peppas	
3. Resultados del modelo de Higuchi	

1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es una nueva área que involucra entre otros aspectos el diseño y la manufactura de componentes con dimensiones submicrónicas. La nanotecnología está teniendo implicaciones muy importantes en diferentes áreas de la química y biología; se piensa que las próximas décadas estarán marcadas por espectaculares avances en dicha área (Chávez y cols., 2002).

Uno de los objetivos principales en el diseño de nuevos sistemas farmacéuticos es controlar la liberación de sustancias activas o agentes terapéuticos hacia un sitio de acción a una velocidad y régimen de dosificación terapéuticamente óptimos (Kreuter y cols., 1994). La liberación dirigida al sitio específico combinada con una velocidad de liberación adecuada no sólo puede aumentar la eficacia del fármaco sino reducir la presencia de reacciones adversas, mejorando así el índice terapéutico. Dentro de estos nuevos sistemas encontramos a las nanopartículas, que comparadas con otros acarreadores coloidales, presentan una mayor estabilidad cuando están en contacto con fluidos biológicos y su naturaleza polimérica las hace susceptibles de convertirse en sistemas de liberación prolongada y controlada. Además son estables durante el almacenamiento y ofrecen posibilidad de escalamiento.

Las nanopartículas son partículas coloidales con una talla entre 10-1000 nm, formadas por un material macromolecular (biodegradable o no) que pueden ser utilizadas como microreservorios del principio activo, el cual puede encontrarse disuelto, entrampado o encapsulado. (Al Khouri y cols., 1986; Kreuter, 1994; Irache y cols., 1995; Gasco y cols., 1986)

En las nanopartículas podemos diferenciar dos grandes grupos: las nanoesferas (NE's) y las nanocápsulas (NC's), las cuales difieren principalmente en su constitución, ya que mientras que las NE's están formadas de una densa matriz polimérica, las NC's se componen de una membrana polimérica que recubre un centro líquido oleoso (Chávez y cols., 2002).

Desde el punto de vista farmacéutico, las NC's son atractivas porque su cavidad central basada en aceite, permite un alto nivel de encapsulación para sustancias lipofílicas (Quintanar Guerrero, 1997a; Quintanar-Guerrero y cols., 1998; Quintanar-Guerrero y cols., 1997b).

En cuanto a los métodos de preparación de NC's se distinguen los siguientes: a) polimerización interfacial, que involucra una reacción de polimerización que ocurre en la interfase entre los nanoglóbulos de aceite que contienen la sustancia activa y una fase acuosa; b) desplazamiento del solvente, que consiste en disolver una fase oleosa y el polímero de recubrimiento en un solvente polar (p ej. acetona). Esta fase se convierte a una fase acuosa con agitación, formándose las NC debido a la rápida difusión de la fase orgánica en la acuosa, lo que provoca una

emulsión espontánea; c) emulsificación-difusión, es un proceso en el que se forma una emulsión aceite/agua entre un solvente parcialmente saturado que contiene disueltos al polímero y la sustancia activa, y una fase acuosa saturada del solvente generalmente con uno o varios estabilizantes. La adición de agua a la emulsión provoca la salida del solvente a la fase continua con la subsiguiente agregación del polímero sobre el aceite en forma de NC (Chávez y cols., 2002).

En este caso se utilizará la técnica de emulsificación-difusión ya que muestra ventajas evidentes como lo son: un control en el tamaño de partícula, una eficiente encapsulación y una fácil implementación.

Cabe mencionar que en la actualidad no se encontró información reportada acerca de la formación de películas a partir de NC's por lo que en este trabajo experimental se formaron películas de uso farmacéutico a partir de NC's incorporando un principio activo modelo dentro de estos sistemas nanoparticulados que pudieran formar películas y constituir una plataforma de liberación de activos. De las ventajas que ofrecen estos sistemas son: incorporación de líquidos en parches monolíticos, prevención de una posible cristalización del principio activo, así como una mejor distribución y control de liberación del activo, fácil manufactura, escalamiento y posibilidad de implementación industrial.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 NANOPARTÍCULAS

2.1.1 Antecedentes

Desde hace dos décadas existe un interés por la nanotecnología en especial por las potenciales aplicaciones para el desarrollo de sistemas dispersos nanoparticulados como vectores coloidales o acarreadores de entidades químicas con actividad biológica.

Un sistema disperso o coloidal es un sistema heterogéneo, es decir que presenta dos o más fases. Una fase es llamada dispersa o medio discontinuo y la otra llamada dispersante o medio continuo. Dentro de estos sistemas dispersos encontramos a las nanopartículas.

Las nanopartículas son sistemas coloidales de tamaño inferior a una micra (entre 10 y 1000 nm) y generalmente de naturaleza polimérica. Entre las principales ventajas que presentan las NP se encuentran: poseer una buena estabilidad en fluidos biológicos y presentar una mayor posibilidad de escalamiento con respecto a otros sistemas coloidales. Dependiendo del método de preparación, se pueden diferenciar dos tipos de estructuras (Vila Jato, 2001):

i) Nanoesferas (NE's). Son sistemas matriciales constituidos por el entrecruzamiento de oligómeros o unidades de polímero, en los que el principio activo se puede encontrar atrapado en la red polimérica, disuelto en ella o adsorbido en su superficie. A estas estructuras se les suele denominar indistintamente "nanopartículas" o "nanoesferas" (Vila Jato, 2001).

ii) Nanocápsulas (NC's). Son sistemas reservorio constituidos por un núcleo líquido oleoso rodeado de una membrana polimérica. En este caso el principio activo suele encontrarse disuelto en el núcleo oleoso, aunque también puede estar adsorbido en la superficie (Vila Jato, 2001).

La diferencia principal entre estas dos estructuras es su constitución, ya que mientras que las NE's están formadas por una densa matriz polimérica, las NC's se componen de una membrana polimérica que recubre un centro líquido oleoso (Vila Jato, 2001), *Figura 1*.

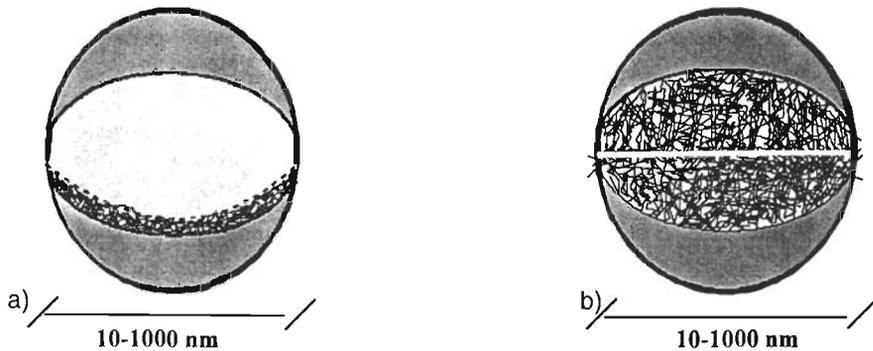


Figura 1. Representación de los tipos de NP: a) Nanocápsula (con núcleo oleoso)
b) Nanoesfera (con centro matricial)

Los métodos de elaboración de los sistemas nanoparticulares pueden ser muy variados. Pueden distinguirse entre aquellos que utilizan el polímero preformado y los que parten de los monómeros para constituir el polímero durante la preparación de las nanopartículas. Dentro de los polímeros se pueden diferenciar aquellos que utilizan macromoléculas naturales de los que utilizan polímeros sintéticos.

Polímeros naturales. Se distinguen de manera especial aquellos que utilizan proteínas (albúmina y gelatina) y polisacáridos (alginato). Los métodos preparativos coinciden en la utilización de una emulsión agua en aceite, en la que la proteína se somete a una desnaturalización por el calor o una reticulación con agentes químicos, o bien parten de una solución acuosa de la macromolécula que se somete a un proceso de separación de fases (desolvatación o gelificación iónica). (Vila Jato, 2001).

Polímeros sintéticos. Destacan en este grupo las nanopartículas elaboradas con poliésteres de carácter hidrofóbico como el ácido poliláctico y los copolímeros de éste con el ácido glicólico. (Vila Jato, 2001).

Otro método muy sencillo es el denominado de “nanoprecipitación”, en el que se produce la precipitación instantánea del polímero tras la adición de una solución orgánica del mismo sobre una fase acuosa. El único requisito exigible en esta técnica es que el disolvente del polímero (acetona o metanol) sea miscible con la fase acuosa a la que se incorpora. (Vila Jato, 2001).

2.1.2 Métodos de preparación de las nanopartículas

Las nanopartículas pueden ser preparadas por varios métodos que involucran la polimerización de monómeros dispersos o por dispersión de polímeros preformados utilizando materiales de origen natural o sintético. En general la preparación de nanopartículas a partir de la polimerización de monómeros presenta diversos inconvenientes ya que los productos de la reacción pueden ser no compatibles entre sí o con el activo o incluso pueden provocar irritación, además de que dejan residuos un poco tóxicos tales como monómeros, oligómeros, catalizadores e iniciadores. Además, cuando la polimerización se induce por radiación posiblemente se puedan degradar los componentes de las nanopartículas. Por lo anterior, desde el punto de vista farmacéutico, se prefiere la preparación de nanopartículas a partir de polímeros ya formados. (Jaeghere y cols., 1999).

Quintanar-Guerrero y cols., (1998) reúnen las técnicas de preparación de nanopartículas a partir de polímeros preformados en cuatro categorías:

- a) Emulsificación- evaporación
- b) Desplazamiento de solvente
- c) Efecto "Salting-out"
- d) Emulsificación-difusión

a) *Emulsificación- evaporación*

En esta técnica el polímero y el activo son disueltos en un solvente orgánico volátil inmiscible al agua, el cual es emulsificado en una solución acuosa que contiene un estabilizante formando una emulsión aceite en agua (o/w). Esta emulsión es entonces expuesta a una fuente de alta energía tal como un dispositivo de ultrasonido o se hace pasar a través de homogenizadores, molinos coloidales o microfluidizadores, con objeto de reducir el tamaño del glóbulo. Finalmente por una remoción del solvente orgánico a temperatura ambiente o con calor por agitación y/o con rotavapor a presión reducida, se obtiene una dispersión fina de NP's. Esta técnica fue utilizada por primera vez para la preparación de nanoesferas por Gurny y cols., (1981) y se fundamenta en el procedimiento propuesto por Vanderhoff (1979).

b) Desplazamiento de solvente

Esta técnica fue propuesta por Fessi y cols., (1981), involucra el uso de un solvente orgánico que es completamente miscible con la fase acuosa, típicamente acetona aunque también puede emplearse etanol o metanol. Este método permite la obtención de NE's y NC's sin necesidad de formar previamente una emulsión. En este caso la precipitación del polímero es inducida directamente en un medio acuoso (conteniendo o no un surfactante) por la adición de la fase acuosa a la solución del polímero con agitación magnética.

La aplicación de este método se limita a fármacos que son muy solubles en solventes polares, pero ligeramente solubles en agua para evitar pérdida de fármaco durante la difusión del solvente.

c) "Salting out"

Este método fue propuesto por Bindschaedler y cols., (1990) y posteriormente fue optimizado por Allemán y cols., (1992). Esta técnica consiste en disolver el polímero y el principio activo en un solvente semipolar miscible en agua (acetona). Esta solución se dispersa mediante agitación magnética en un gel que contiene un electrolito, el cual actúa como agente de "salting-out" (acetato o cloruro de magnesio), y un agente estabilizante (alcohol polivinílico). Una vez formada la emulsión se adiciona una cantidad suficiente de agua para que el solvente difunda dentro de la fase acuosa, esto promueve la formación de las NP's. El solvente y el agente "salting-out" se eliminan por medio de filtración tangencial o ultracentrifugación.

d) Emulsificación-Difusión

Esta última técnica es considerada como una modificación del proceso de "salting out", pero suprimiendo el uso de sales y por tanto evitando prolongadas etapas de purificación. Involucra el uso de solventes parcialmente miscibles con agua, los cuales son previamente saturados en agua con el objeto de asegurar el equilibrio termodinámico entre ambos líquidos. El polímero es disuelto en el solvente (saturado con agua) y esta fase orgánica se emulsifica con agitación vigorosa en una solución acuosa que contiene el estabilizante. La subsiguiente adición de agua al sistema causa que el solvente difunda hacia la fase externa, dando como resultado la formación de NP's (Quintanar-Guerrero y cols., 1998 y De Jaeghere y cols., 1999), *Figura 2*.

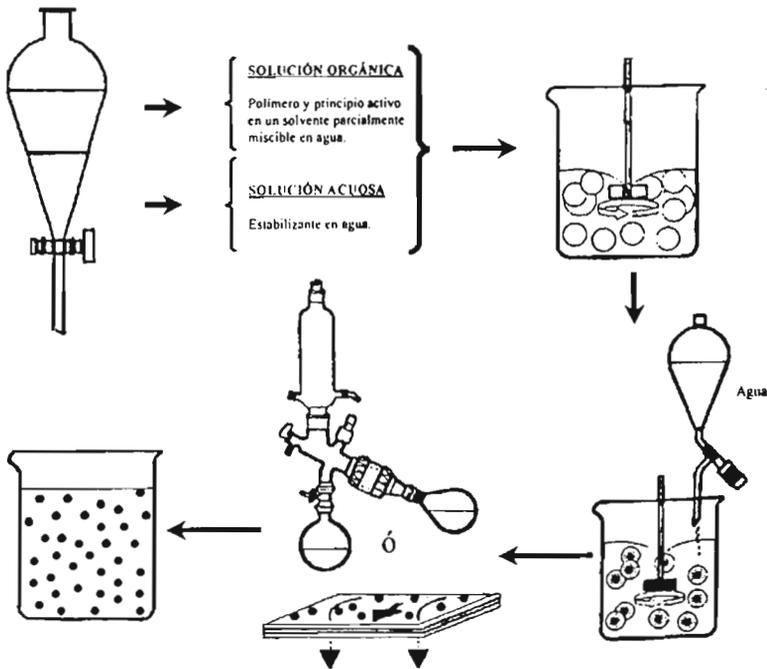


Figura 2. Representación esquemática del método de "emulsificación-difusión" para la formación de NE y NC. (De Quintanar-Guerrero y cols., 1998)

La técnica de emulsificación-difusión presenta algunas ventajas con respecto a las técnicas mencionadas anteriormente, tales como:

- El uso de disolventes orgánicos aceptados para uso farmacéutico
- No involucra un proceso de homogenización
- Se obtienen altos rendimientos
- Existe reproducibilidad de lote a lote
- Es de fácil escalamiento

Existen dos desventajas de esta técnica que deben ser mencionadas:

- Los volúmenes de agua que deben eliminarse de la emulsión son grandes
- Es probable que se dé una pérdida del fármaco en la fase acuosa saturada

2.1.3 Fenómenos ocurridos en la formación de las nanopartículas por la técnica de emulsificación difusión

En la técnica de emulsificación-difusión para la formación de las NP's ocurren una serie de fenómenos secuenciales, los cuales se enlistan enseguida (Quintanar-Guerrero y cols., 1996), *Figura 3*.

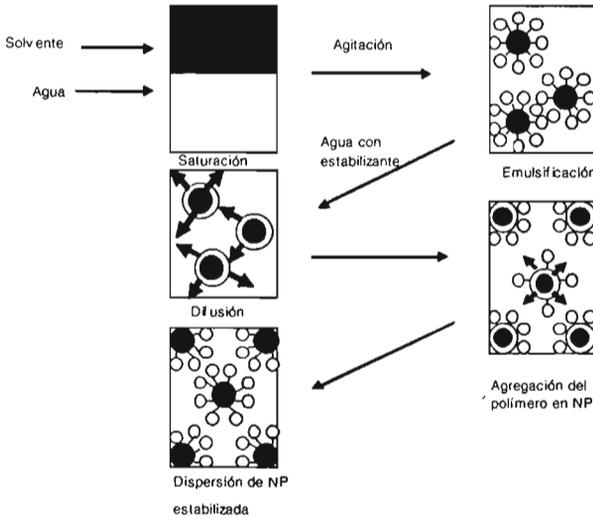


Figura 3. Esquematación de los fenómenos ocurrido en la formación de NP's por la técnica de emulsificación-difusión.

1. Mutua saturación del solvente en agua y del agua en solvente. Esta saturación favorece la existencia de un estado de equilibrio termodinámico entre los dos solventes.
2. Formación de la emulsión. Ocurre una dispersión de los glóbulos en el solvente que contiene disuelto el polímero. El PVAL (estabilizante) será adsorbido en el área interfacial creada entre los glóbulos y la fase continua.
3. Difusión del solvente. El solvente difunde hacia la parte externa de los glóbulos, debido a la adición de agua al sistema que ocasiona la ruptura del equilibrio termodinámico y probablemente exista la formación de nuevos glóbulos de tamaño nanométrico ó zonas de alta concentración de polímero.

4. Precipitación ó agregación del polímero en NP. Los nuevos glóbulos formados van a transformarse en diminutos agregados de polímero ("pseudonanopartículas") con la ulterior difusión del solvente ó bien, las zonas de alta concentración de polímero que no pueden subsistir como tales, se transforman en agregados de polímero o en NP.
5. Estabilización de la dispersión. La presencia del agente estabilizante es muy importante para evitar un fenómeno de coalescencia. Durante el proceso de difusión del solvente, el agente estabilizante se mantiene en la interfase líquido-líquido llevando a cabo un efecto de protección por el cual se forman las NP's después de la completa difusión del solvente.

2.1.4 Mecanismo para la preparación de nanopartículas por la técnica de emulsificación-difusión

En la técnica de emulsificación-difusión la formación de NP's se debe principalmente al fenómeno de difusión del solvente hacia la fase acuosa del sistema (Quintanar-Guerrero y cols., 1997b). Davies y Rideal (1997) explican este fenómeno a través del mecanismo de formación de NP. En la *figura 4* se observa el mecanismo de formación de NP por este método. Quintanar-Guerrero y cols., 1997b) han reportado que cada gota de la emulsión produce varias NP y que estas son formadas por fenómenos interfaciales durante la difusión del solvente. Sin embargo, estos fenómenos no pueden ser explicados completamente por los efectos de convección causados por la turbulencia interfacial, por lo que se sugiere que las NP's se forman debido a una inestabilidad fisicoquímica producida por el transporte de solvente por un mecanismo similar al usado para explicar los procesos de emulsificación espontánea. La idea básica es que la difusión del solvente desde los glóbulos acarrea moléculas hacia la fase acuosa, formando regiones locales de supersaturación, desde las cuales se forman nuevos glóbulos o agregados de polímeros (no totalmente desolvatados). La estabilización de estas "protonanopartículas" por la presencia de un estabilizante permanece en la interfase líquido-líquido durante el proceso de difusión y su efecto protector es adecuado, se formarán las NP's después de que se ha completado la difusión del solvente (Quintanar-Guerrero y cols., 1998).

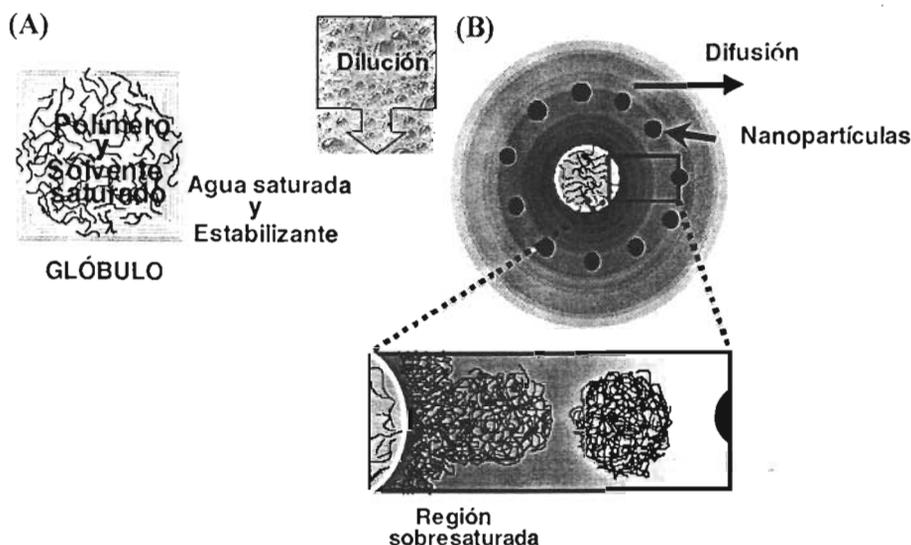


Figura 4. Esquema del mecanismo propuesto para la formación de nanopartículas por la técnica de emulsificación difusión. (A) Antes de la etapa de difusión, (B) Después de la etapa de difusión [Modificado de Quintanar-Guerrero y cols., 1997b].

Cabe mencionar que hay algunas variables dentro de esta técnica que pueden afectar la talla de las NP's obtenidas, tales variables son: una alta concentración del polímero en el solvente favorece un aumento en la talla; por el contrario un aumento en la velocidad de agitación y la concentración del estabilizante en la fase acuosa van a favorecer la disminución de la talla considerablemente.

2.1.5 Caracterización de nanopartículas

2.1.5.1 Caracterización fisicoquímica

Hay varios métodos para la caracterización fisicoquímica de las NP's, algunos de estos se mencionan en la *Tabla 1*.

Tabla I. Métodos para la caracterización fisicoquímica de NP's (Compilación de De Jaeghere y cols., 1999; Kreuter y cols., 1994).

Parámetro	Técnica
Talla de partícula	Microscopía electrónica de transmisión (TEM) Microscopía electrónica de barrido (SEM) Espectroscopia de correlación fotónica (PCS)
Peso molecular	Filtración en gel (cromatografía de exclusión molecular)
Densidad	Centrifugación por gradiente de densidad
Carga superficial	Determinación de Potencial Zeta Electroforesis
Hidrofobicidad	Medida de ángulo de contacto Cromatografía de interacción hidrofóbica

La talla de partícula es una de las principales características de las NP's. Sin embargo, existen otros parámetros que determinan el comportamiento de las NP's. Las características de la superficie (carga superficial) y el carácter hidrofóbico influyen en la interacción con el medio biológico después de la administración y por lo tanto en la distribución de las NP's en el organismo (Kreuter y cols., 1994).

2.1.5.2 Análisis de la cantidad de fármaco encapsulado

El principal objetivo de la encapsulación de fármacos es la vectorización ("Drug targeting") de estos hacia un órgano o tejido específico, con esto se incrementa su biodisponibilidad; además se disminuyen los efectos adversos que pudieran provocar, por ello es importante la carga útil del fármaco en las NP's (De Jaeghere y cols., 1999; Torchilin, 2000).

2.1.5.3 Liberación del fármaco

Una característica física de los sistemas dispersos (liposomas, micropartículas, NP y emulsiones submicrónicas) es el perfil de liberación del fármaco que contienen.

2.1.5.3.1 Mecanismo de liberación

La liberación del fármaco a partir de las NP's puede ocurrir por los siguientes mecanismos:

- I. Deserción del activo adherido a la superficie de la partícula
- II. Difusión a través de la matriz de la NP
- III. Difusión a través de la pared polimérica (en el caso de las NC's)
- IV. Erosión de la matriz de la NP
- V. Combinación de los procesos de erosión y difusión

El mecanismo de liberación, el coeficiente de difusión y la velocidad de biodegradación son los factores principales que afectan la velocidad de liberación del fármaco además de la influencia del medio biológico, que también es un factor determinante (Kreuter y cols., 1994). Las NP's también pueden interactuar con fluidos biológicos y membranas biológicas; como consecuencia, la liberación de fármacos *in vitro* puede ser diferente a la liberación *in vivo*. Los perfiles de liberación pueden ayudarnos a diseñar nuevas formulaciones con las propiedades que sean requeridas (Kreuter y cols., 1994).

2.1.5.3.2 Métodos experimentales

La caracterización de la liberación *in vitro* de fármacos a partir de acarreadores coloidales, especialmente bajo condiciones "sink" (por debajo del 15% de la solubilidad) es técnicamente difícil de alcanzar, esto es debido a que por el tamaño tan pequeño de las NP's es difícil separar rápida y eficazmente las partículas acarreadoras del medio de disolución que contiene el fármaco ya liberado y disuelto.

Diversas técnicas han sido reportadas como efectivas para determinar la liberación *in vitro* del fármaco a partir de NP:

- i) Técnicas con membranas de difusión
- ii) Difusión en bolsas de diálisis
- iii) Diálisis inversa
- iv) Ultracentrifugación
- v) Ultrafiltración
- vi) Centrifugación-Ultrafiltración

2.2 PELÍCULAS A PARTIR DE DISPERSIONES POLIMÉRICAS

2.2.1 Fenómenos ocurridos en la formación de película a partir de dispersiones poliméricas.

La formación de una película a partir de dispersiones poliméricas, involucra una serie de etapas (Peeters y cols., 1993., Rolland, 1993), tales como:

Etapas I. El polímero que se encuentra disperso en el pseudolátex está separado y suspendido en una fase acuosa por las fuerzas de repulsión electrostáticas que existen entre las partículas.

Etapas II. Durante el proceso de evaporación del agua, las partículas se ponen en contacto unas con otras, lo que provoca que la tensión interfacial entre el agua y el polímero aumente, de manera que estas forman un paquete de partículas separadas por una fina película de agua.

Etapa III. La elevada tensión interfacial existente entre las partículas origina un fenómeno de capilaridad, que a su vez les proporciona la energía necesaria para vencer la fuerza de repulsión entre ellas y comenzar así su deformación y colapso.

Etapa IV. Las partículas se van a fusionar unas con otras, ocurriendo una coalescencia completa, por consiguiente se produce una difusión del material particular para dar origen a la película, *Figura 5.*

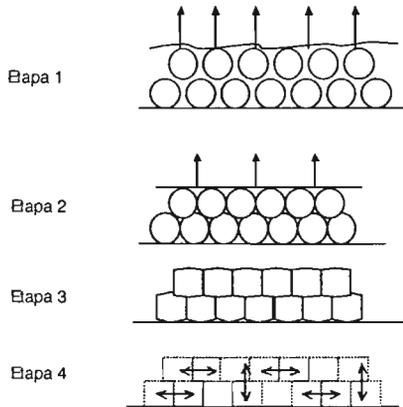


Figura 5. Representación del mecanismo de formación de películas a partir de dispersiones poliméricas.

Una de las ventajas más importantes en la formación de las películas a partir de dispersiones acuosas en NP es que el principio activo se encuentre ya disperso molecularmente antes de formar la película, con lo cual se podría prevenir una futura cristalización.

2.2.2 Definición de plastificante

Un plastificante se puede definir como una sustancia no volátil con un alto punto de ebullición y cuyas propiedades físicas y químicas no cambian cuando se adiciona a otro material; además permite buen flujo, aumenta la flexibilidad, la dureza, la resistencia a la ruptura y la resistencia al impacto de la película polimérica (Mcginity, 1997).

2.2.3 Efecto del plastificante en la formación de películas

En la *Tabla 2* se muestran algunos plastificantes de amplio uso farmacéutico

Tabla II. *Plastificantes de uso farmacéutico*

Solubles en agua	Insolubles en agua	Surfactantes
Propilenglicol	Triacetina	Esteres Ftalato
Glicerina	Esteres de fosfato	Derivados Poly
Polietilenglicoles	Ac. Castor	Dietil Ftalato

El plastificante le imparte a la película mayor flexibilidad/fluidez disminuyendo lo quebradizo. Estos cambios son causados por un decremento de las fuerzas intermoleculares a lo largo de la cadena polimérica (reducción en la fuerza de cohesión polímero-polímero). Esto se atribuye a que las moléculas del plastificante se oponen a las ramificaciones del polímero, suavizando las moléculas poliméricas adyacentes y por ende, se favorecen las interacciones polímero-plastificante debido a que estos enlaces son más fuertes que los del polímero-polímero. De esta manera, las fuerzas capilares creadas durante el fenómeno de evaporación del agua, son suficientes para la formación de una película homogénea (Cole y cols., 1995; McGinity, 1997).

Gutiérrez-Rocca y cols., (1994) utilizaron diferentes concentraciones de plastificantes hidrosolubles y liposolubles, determinando que el tipo y la cantidad de plastificante necesario va a depender de las interacciones entre éste y el polímero, es decir que entre menor sea el peso molecular del plastificante utilizado, mayor será la capacidad de éste para difundir e interactuar con los sitios activos del polímero.

2.3 Parches Transdérmicos

2.3.1 Definición de parche transdérmico (PT)

Un PT comercial es un sistema uni- o multi-laminar que tiene como finalidad liberar el principio activo a la piel, donde puede ejercer un efecto local y/o pasar a los capilares adyacentes, hasta llegar a la circulación general, logrando así un efecto sistémico durante un período de tiempo predeterminado (Álvarez Román 2000; Popovich, 1990; Hadgraft y cols., 1989).

2.3.2 Clasificación de parches transdérmicos

En la actualidad existen en el mercado diferentes diseños de PT, estos pueden clasificarse de acuerdo a su diseño o al mecanismo por el cual se libera el fármaco a partir de él. Se pueden citar básicamente cuatro categorías de parches transdérmicos las cuales se representan esquemáticamente en la *Figura 6* (Baker y cols., 1989; Cleary y cols., 1991; Kalia y cols., 2001):

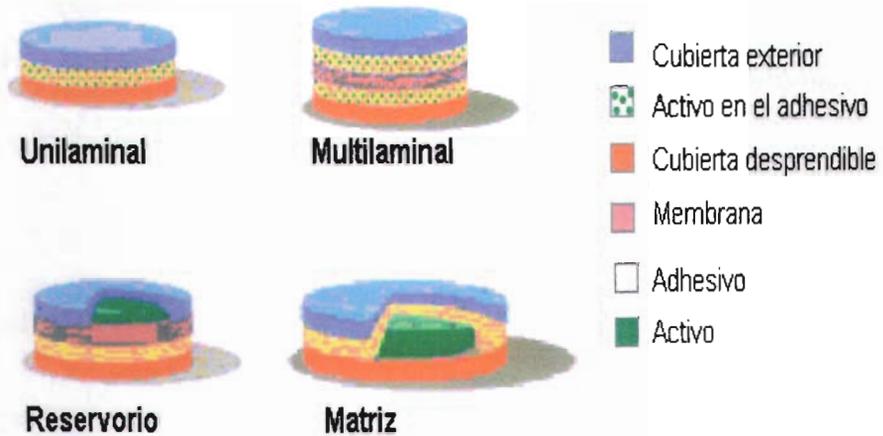


Figura 6. Esquematización de las diferentes configuraciones de un PT.

- 1) **PT Simple.** Este PT está formado por dos capas simples: una capa protectora y otra capa que contiene el fármaco y al agente adhesivo. Este fue el primer diseño desarrollado y el más simple de todos los PT. Cabe señalar que este parche permite conocer la cantidad de fármaco liberado por un área de piel a un tiempo determinado, sin embargo, carece de un control sobre la velocidad de liberación de fármaco hacia la piel.
- 2) **PT Multilaminado.** Este parche se encuentra formado por varias capas, en dos de ellas se encuentran el fármaco y el adhesivo dispersos, generalmente son matrices poliméricas y están divididas por una membrana que controla la velocidad de liberación de la segunda capa que contiene el fármaco hacia la piel.

- 3) **PT tipo reservorio.** Este parche se denomina sistema transdérmico de segunda generación y, dependiendo del estado físico en que se encuentre el polímero, puede subdividirse en dos clases: de reservorio sólido y de reservorio líquido. En este sistema transdérmico, el fármaco se localiza entre la capa protectora y una membrana con poros cuya función es controlar su velocidad de liberación hacia la piel. Asimismo, el sistema permite que el fármaco difunda hacia la capa adhesiva, favoreciendo una liberación constante por la alta concentración del principio activo (Hadgraft y cols., 1989; Hong Yuk y cols., 1991).
- 4) **PT de matriz sólida.** En este caso el fármaco se encuentra disperso en una matriz polimérica que está en contacto directo con la piel. En la periferia de esta matriz se encuentra una capa adhesiva que asegura el contacto con la piel.

2.3.3 Capas que forman un parche transdérmico

Generalmente un PT está constituido por diferentes capas, las cuales se muestran en la *Figura 7*.

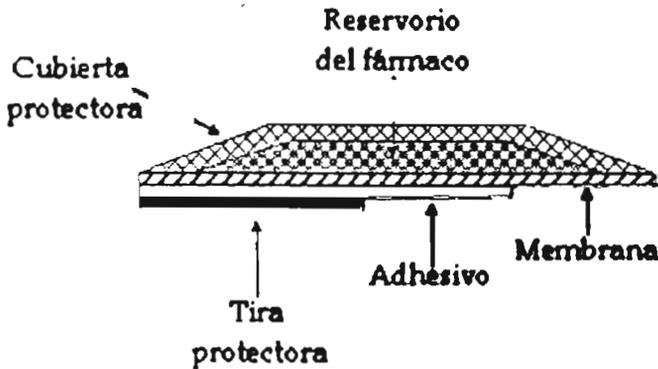


Figura 7. Esquemización de las diferentes capas que conforman un PT (Modificado de Baker y cols., 1989).

- a) *Capa de recubrimiento.* Esta primera capa puede presentar la propiedad de oclusividad sobre la piel considerando el tamaño y el área activa del parche. Los materiales más utilizados para formar una capa con propiedades oclusivas son: el cloruro de polivinilo y el polietileno solo o en mezclas. (Hadgraft y cols., 1989).

- b) *Reservorio del fármaco.* La función u objetivo de esta capa es contener al fármaco en las mejores condiciones para un almacenamiento prolongado hasta el momento de su uso. Esta capa va a contener una cantidad del fármaco mayor a la dosis efectiva, con el fin de asegurar el efecto farmacológico de forma constante durante su uso. Este reservorio generalmente se elabora con alcohol etílico USP, hidroxipropil celulosa, aceite mineral, poliisobutileno, lactosa y un coloide de dióxido de silicona (Pfister y cols., 1990b).

- c) *Membrana.* Esta capa controla la velocidad de difusión del fármaco del reservorio hacia la capa adhesiva debido, principalmente a la presencia de pequeños poros en su estructura, lo que le confiere la propiedad de semipermeabilidad. No todos los PT contiene esta membrana como una capa independiente, sino que tienen incorporados algunos materiales como copolímeros de etilen-vinil-acetato y polipropileno que controlan la velocidad de liberación del fármaco dentro de la capa adhesiva (Hadgraft y cols., 1989).

- d) *Capa adhesiva.* Esta capa ofrece seguridad al paciente porque se encuentra un tiempo prolongado en contacto directo con la piel, tal capa no debe producir reacciones alérgicas, tóxicas ni irritaciones. Para la elaboración de esta capa se deben de considerar las características de los materiales con la finalidad de favorecer la migración del fármaco desde la capa del reservorio hasta esta última capa y por consecuencia a la piel del paciente (Hadgraft y cols., 1989).

- e) *Tira protectora.* Como su nombre lo indica, va a proteger a la capa adhesiva durante el tiempo de almacenamiento. En el momento del uso va a favorecer la remoción del parche al ser retirado de esta capa. Los materiales que se utilizan para formar esta tira son: poliésteres, aluminio y películas metalizadas (Hadgraft y cols., 1989).

2.3.4 Características de un parche transdérmico

Pfister y cols., (1990b) y Gary. y cols., (1991), mencionan las características ideales de un PT y de los excipientes utilizados en la manufactura de un PT:

Características ideales de un PT:

- i) Alta flexibilidad
- ii) Buena adhesión a la piel
- iii) Estéticamente aceptable para el paciente
- iv) Fácil remoción de la piel
- v) Libre de solventes orgánicos
- vi) Textura firme, suave, lisa y seca al tacto
- vii) Transparencia, baja opacidad o pigmentación clara

Las características ideales de los excipientes utilizados en la manufactura de un PT son:

- i) Compatibilidad en la formulación (fármaco-excipiente y excipiente-excipiente)
- ii) Estabilidad química
- iii) No sensibilizar la piel
- iv) No comedogénico (no debe provocar la acumulación de materia sebácea en el conducto de las glándulas sebáceas)
- v) No fototóxico
- vi) No tóxico
- vii) Farmacológicamente inerte
- viii) Inodoro
- ix) Insípido
- x) Incoloro

2.3.5 Fármacos más utilizados en parches transdérmicos

Para la elección del fármaco en estos sistemas deben considerarse sus interacciones con membranas biológicas, así como sus propiedades farmacocinéticas y fisicoquímicas (Cleary y cols., 1990; Kalia y cols., 2001).

Según Pfister y cols., (1990a) en la industria farmacéutica se han elaborado aproximadamente 43 sistemas transdérmicos, de los cuales 20 son PT. Estos han sido elaborados, en su mayoría, utilizando solventes orgánicos debido a que un gran número de los excipientes son solubles en estos. En la *Tabla 3* se mencionan algunos fármacos utilizados en PT.

Tabla III. Fármacos utilizados en PT (Compilación de Baker y cols., 1989; Cleary y cols., 1990; Pfister y cols., 1990; Popovich y cols., 1990).

Fármaco	Nombre comercial	Tipo de PT
Clonidina	Catapres-TTS®	Reservorio
Dinitrato de isosorbilo	Frاندol Tape®	Simple
Escopolamina	Transderm-Scope®	Reservorio
Estradiol	Alora®	Simple
	Climara®	Simple
	Estraderm®	Reservorio
Fentanil	Duragesic®	Reservorio
Nicotina	Habitrol®	Reservorio
	Nicoderm® CQ	Multilaminado
	Nicotrol®	Reservorio
Testosterona	Androderm®	Reservorio
	Testoderm®	Simple

Cabe mencionar que el triclosán no es un fármaco utilizado en PT, debido a que su administración más común es en crema; no obstante, se ha estudiado la permeación *in vitro* del triclosán (p. ej. Chesgzy y cols., 2001) y se han realizado estudios en un parche conteniendo triclosán para el tratamiento del acné (Tae-Wan Lee y cols., 2003)

2.3.6 Difusión del fármaco a través de un parche transdérmico

En un PT el fármaco puede encontrarse disuelto o disperso, para su liberación pueden existir varios mecanismos, la difusión es el mecanismo más común. Este mecanismo de difusión es simple, ya que el fármaco difunde en una sola dirección desde el PT hacia la piel (Narismhan y col., 1999).

La cantidad de fármaco que se libera de un PT puede ser alterada por parámetros tales como (Cleary y cols., 1990; Doelker y cols., 1985, Narasimhan y cols., 1999):

- a) *Naturaleza del polímero.* Se debe tomar en cuenta el grado de cristalinidad, hinchamiento, porosidad y entrecruzamiento.

- b) *Grosor del PT.* Este parámetro físico se relaciona con la distancia que el fármaco deberá recorrer desde el PT hacia la piel.
- c) *Plastificante.* La utilización de un plastificante induce movilidad en las cadenas del polímero esto favorece la difusión de solutos, y también incrementa la solubilidad del fármaco y su permeabilidad.

2.3.7 Estudios de liberación/ permeación con celdas tipo Franz

Para los estudios de absorción y/o de penetración de fármacos en la piel, se emplean las celdas de difusión tipo Franz (*Figura 8*) estas celdas se utilizan para el estudio de la liberación de fármacos manufacturados en PT o cualquier otra forma farmacéutica que se administre en piel.

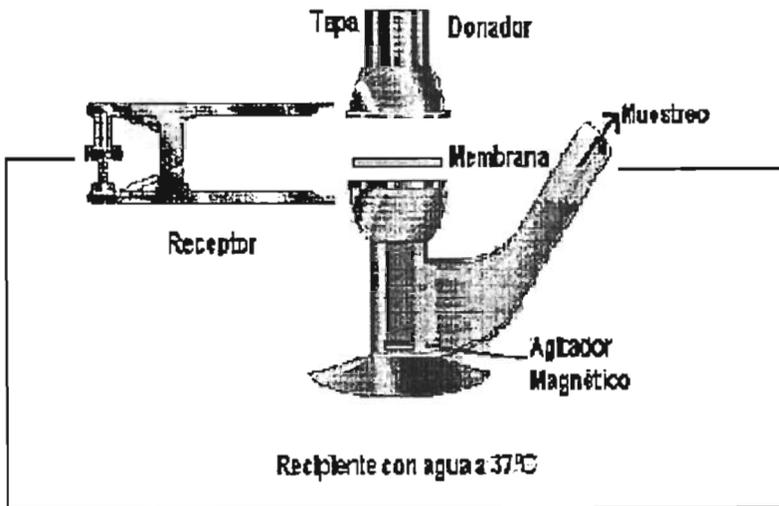


Figura 8. Celda de difusión tipo Franz

3. OBJETIVOS

General:

- Preparar y caracterizar películas de uso farmacéutico formadas a partir de nanocápsulas (NC) con la finalidad de utilizarlas como sistemas de liberación de sustancias activas.

Específicos:

- Preparar NC de acetato ftalato de celulosa (CAP) cargadas con un aceite modelo (Miglyol® 840) mediante la técnica de emulsificación difusión.
- Caracterizar las NC por su talla de partícula y análisis de densidad.
- Determinar condiciones óptimas para la formación de películas a partir de las NC preparadas.
- Evaluar las películas obtenidas mediante pruebas físicas (evaluación de la transparencia, morfología por microscopía electrónica de barrido (SEM) y calorimetría de barrido diferencial).
- Evaluar la cinética de liberación *in vitro* de las películas obtenidas a partir de las NC's cargadas con triclosán como modelo de sustancia activa.

4. MATERIAL Y REACTIVOS

POLÍMERO

- a) Acetato ftalato de celulosa; Vita Drug, México

ESTABILIZANTE

- a) Alcohol polivinílico, Mowiol[®] 4-88; Glomarza, México

PRINCIPIO ACTIVO

- a) Triclosán; Multiqum, México
- b) Nitrato de miconazol; Janssen Farmacéutica, S. A. de C. V.
- c) Estradiol; Sigma Chemical Co., USA

REACTIVOS EN GENERAL

- a) Miglyol 840[®]
- b) Triacetina (donada por Industria Monfel, México)
- c) Polioxietilen(20)cetiléter; Brij[®] 58 ; ICI Specialty Chemicals, USA
- d) Glicerina; Droguería Cosmopolita S. A. de C. V.
- e) Propilenglicol; Conjunto Lar de México, S. A. de C. V.
- f) Metiletilcetona; grado HPLC, Fermont, México
- g) Etanol, grado HPLC; Fermont, Productos Químicos Monterrey, México
- h) Metanol, grado HPLC; Fermont, Productos Químicos Monterrey, México
- i) Acetona, grado HPLC; Fermont, Productos Químicos Monterrey, México
- j) Fosfato de potasio monobásico, grado reactivo; Fermont, Productos Químicos Monterrey, México
- k) Hidróxido de sodio en hojuelas, grado reactivo; J. T. Baker, México
- l) Yodo resublimado, grado reactivo; Merck, México
- m) Yoduro de Potasio, grado reactivo; J. T. Baker, México
- n) Ácido bórico, grado reactivo; Productos Químicos Monterrey, México
- o) Agua destilada obtenida de un equipo Milli-Q[®], Francia

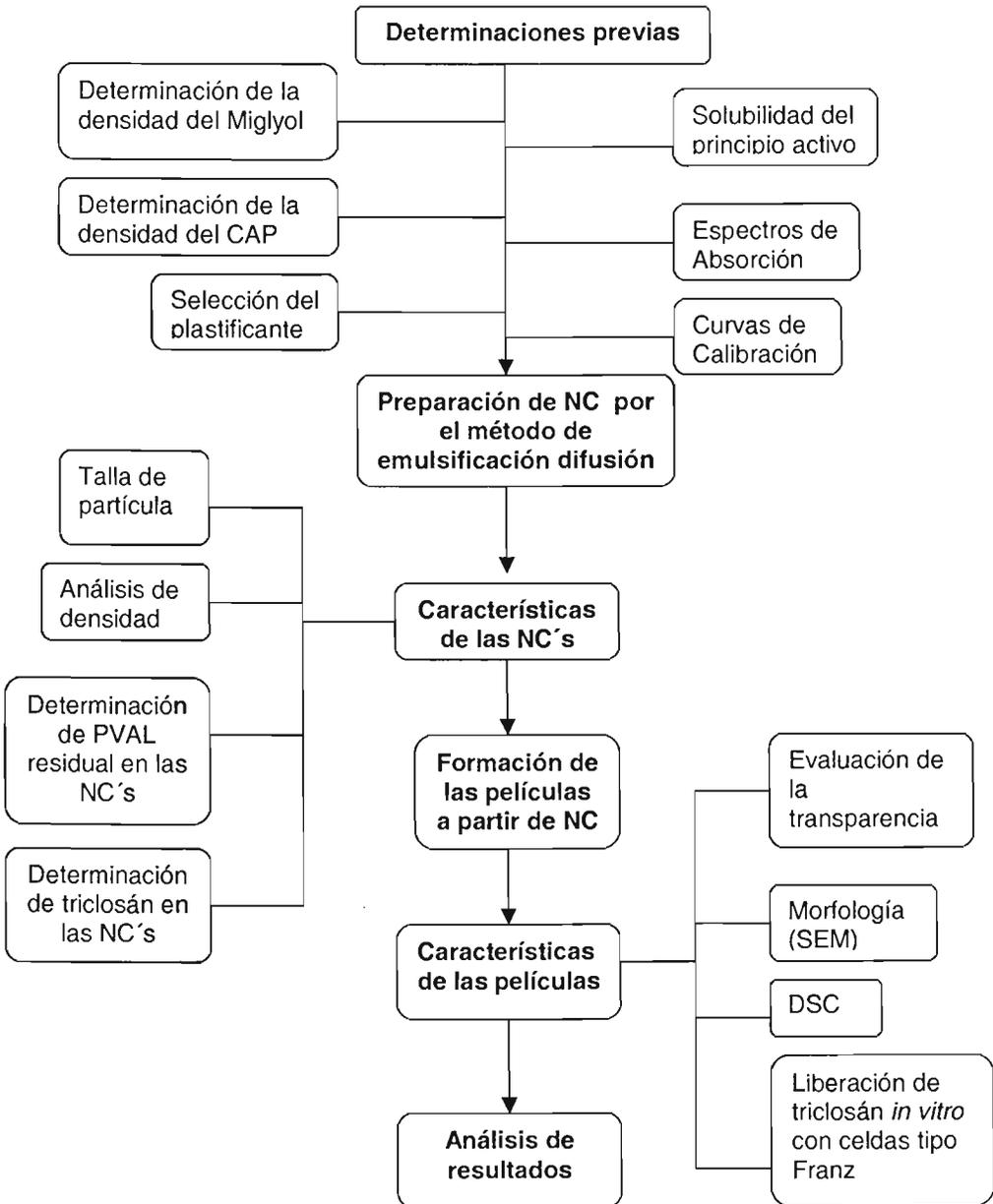
MATERIAL Y EQUIPOS

- a) Filtros Millex[®] -GV de 2.5 cm de diámetro y poro de 0.22 μm (Millipore[®]), USA
- b) Termómetro de vidrio Branam de -20 a 110 °C
- c) Balanza analítica; BBC 32, Boeco, Alemania
- d) Parrilla eléctrica con agitación Cimarec[®]; Thermoline, USA
- e) Agitador magnético Magnestir[®]; Lab-Line Instruments, USA
- f) Agitador de velocidad variable RZR-1; Caframo[®], Alemania
- g) Rotavapor Laborota[®] 4000; Heidolph, Alemania
- h) Ultracentrífuga Optima[®] LE-80K; Beckman, USA
- i) Ultrasonificador Branson[®] 3200, USA
- j) Nanosizer[®] Coulter N4 Plus; Beckman, USA
- k) Celdas de difusión tipo Franz, taller de soplado de vidrio, FES-Cuautitlán
- l) Discos de teflón con 9 mm de diámetro.

- m) Placa de teflón de (30 cm x 15 cm)
- n) Microscopio electrónico de barrido JSM-25SII; JEOL, Japón
- o) Campana para recubrimiento con oro JFC-1100; JEOL, Japón
- p) Vortex (Mixer, modelo M16715, USA)
- q) Vernier Digitix[®] II (Fowler & NSK, Japón)
- r) Espectrofotómetro UV-Vis.; Varian, Cary IE 95031003, Australia
- s) Calorímetro diferencial de barrido DSC Q 10, TA Instruments, USA
- t) Material de vidrio:
 - 1) Vasos de precipitado
 - 2) Pipetas volumétricas
 - 3) Pipetas graduadas
 - 4) Embudo de separación
 - 5) Matraz de pera
 - 6) Matraz Erlenmeyer
 - 7) Viales
 - 8) Embudo de filtración
 - 9) Varilla de vidrio
 - 10) Cajas petri
 - 11) Probetas graduadas

5. METODOLOGÍA

En el siguiente diagrama de flujo se describe brevemente el trabajo experimental realizado.



5.2 DETERMINACIONES PREVIAS

5.2.1 Determinación de la densidad del Miglyol 840®

Para la determinación de la densidad del Miglyol 840® se utilizó un picnómetro de vidrio; se pesó en la balanza analítica el picnómetro vacío y posteriormente se pesó el picnómetro con agua; así mismo se pesó el picnómetro con el Miglyol, para obtener la gravedad específica del Miglyol, esta prueba se realizó por triplicado. La gravedad específica (G. E.) se calculó de la siguiente manera:

$$G. E. = \frac{\text{Peso del picnómetro con muestra (g)} - \text{peso del picnómetro vacío (g)}}{\text{Peso del picnómetro con agua (g)} - \text{peso del picnómetro vacío (g)}}$$

Posteriormente para obtener la densidad del Miglyol 840® la G. E. se multiplicó por la densidad del agua a la temperatura que se trabajó (25° C).

5.2.1 Determinación de la densidad compactada del acetato ftalato de celulosa (CAP)

Se formaron comprimidos de 700 mg de acetato ftalato de celulosa, a los cuales por medio de la utilización de un vernier, se midió el espesor, y el diámetro; con una balanza analítica se determinó el peso para que por medio de la relación masa/volumen del cilindro se pudiera obtener la densidad.

5.2.2 Selección del plastificante

Se utilizaron 3 plastificantes para ver cual de ellos era el adecuado para formar la película, tales plastificantes fueron: triacetina, glicerina, propilenglicol.

Se pesaron 15 mg de CAP en un vial los cuales se disolvieron en 3 ml de agua destilada y se fue adicionando la cantidad de plastificante requerida; las concentraciones de plastificante utilizadas fueron 10%, 15%, 20%, 25%, 30% p/v.

5.2.3 Determinación de la solubilidad del principio activo modelo

De acuerdo a la bibliografía se probaron 3 principios activos: triclosán, nitrato de miconazol, estradiol. A tales principios activos se les determinó la solubilidad de la siguiente manera: se pesaron 10 mg de cada principio activo, se adicionaron en 10 ml de solvente. Los solventes utilizados fueron: metiletilcetona, Miglyol 840®, las soluciones se mantuvieron en agitación constante por 24 hrs, la solubilidad se determinó visualmente. Esta prueba se realizó con la finalidad de elegir solo un principio activo para ser encapsulado, es decir el principio activo que mezclado con los solventes utilizados en la técnica de emulsificación difusión presentó una solución transparente, fue el elegido para el encapsulamiento.

5.2.4 Espectros de absorción

Se determinaron las longitudes de onda de máxima absorción para el triclosán en EtOH, MeOH, NaOH 0.1 N y en una mezcla EtOH/H₂O 70:30. Los barridos se realizaron de 200 a 400 nm. Los espectros obtenidos se encuentran en el *Anexo II*

5.2.5 Curvas de calibración

Se elaboró una curva de calibración para triclosán en EtOH. Se prepararon diferentes concentraciones por triplicado, cada concentración se leyó a una $\lambda = 280$ nm. También se realizó una curva de calibración para triclosán en una mezcla EtOH:H₂O (70:30), se prepararon diferentes concentraciones por triplicado, cada concentración se leyó a una $\lambda = 280$ nm.

Las curvas obtenidas pueden revisarse en el *Anexo III*.

5.3 PREPARACIÓN DE NC

Se saturaron mutuamente la metiletilcetona y el agua destilada en un embudo de separación, agitando y manteniendo en contacto ambos líquidos al menos 20 minutos. En el solvente orgánico saturado se disolvió el polímero (CAP), el aceite (Miglyol 840[®]) y el activo modelo (triclosán; 12.5% y 25% con respecto al polímero). Esta solución se emulsificó con una solución acuosa de PVAL al 5% p/v (en agua saturada) con agitación mecánica a 1700 rpm durante 10 minutos. Se adicionó agua destilada al sistema con agitación continua. El solvente orgánico fue eliminado bajo presión reducida con rotavapor.

La suspensión se concentró hasta un volumen aproximado de 80 ml por eliminación de agua a presión reducida. La dispersión fue posteriormente centrifugada a 20,000 rpm durante 20 minutos. La pastilla se suspendió en agua destilada y se centrifugó nuevamente. Se llevaron a cabo dos procesos de lavado-centrifugado. La pastilla de la última centrifugación se suspendió en 10 ml de agua.

5.4 FORMACIÓN DE PELÍCULAS

Se prepararon películas utilizando la dispersión de NC, agregando 2 diferentes cantidades de triacetina como plastificante, manteniendo constante la concentración de triclosán (25% y 12.5% p/p en relación al polímero).

A cantidades equivalentes a 40 mg de la dispersión se les adicionó triacetina de acuerdo al porcentaje de plastificante, fueron colocadas en una placa de teflón (*Figura 9*) e introducidas al horno en una plataforma previamente nivelada. La temperatura fue ajustada a 40° C durante aproximadamente 22 hrs. Las películas así obtenidas fueron conservadas en un desecador a una HR de 50%.

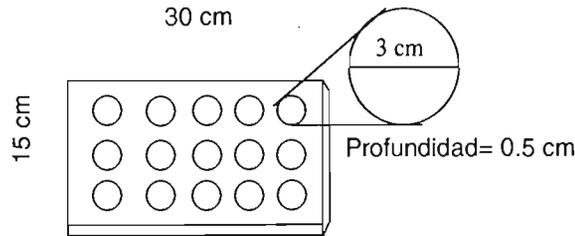


Figura 9. Esquema de la placa de teflón utilizada para la formación de películas

5.5 EVALUACIONES

5.5.1 Características de las nanocápsulas

5.5.1.1 Talla

Se determinó la talla de las NC por dispersión de luz después de su obtención, utilizando el Nanosizer N4SD (Coulters Electronics, Harpenden, Hertfordshire, UK). La determinación del tamaño de las partículas se basa en la medición y las fluctuaciones de la luz dispersada después de que un rayo láser incide sobre una celda con la dispersión de la muestra en estudio. La velocidad de difusión de las partículas en un medio líquido depende de la temperatura, la viscosidad del líquido y el tamaño de las partículas por lo que se requiere que todas las muestras sean analizadas bajo las mismas condiciones. Para todos los lotes analizados se utilizó como medio de dispersión agua grado MilliQ® (agua purificada), todas las lecturas se realizaron a 25°C y el ángulo de incidencia del rayo láser fue 90°. Los datos obtenidos con este análisis son la talla promedio de las partículas, la distribución del tamaño de partícula y la desviación estándar de la misma, además del índice de polidispersidad de la muestra. La desviación estándar (D. E.) de la distribución del tamaño de partícula proporciona una indicación cualitativa de la polidispersidad de la muestra. El índice de polidispersidad (IP) está relacionado con el coeficiente de variación (C.V.) por la expresión siguiente:

$$CV = \frac{1}{\sqrt{\frac{1}{2 * I.P.} + 4}}$$

Para calcular el coeficiente de variación se consideran los valores absolutos de los índices de polidispersidad.

5.5.1.2 Análisis de densidad

Se elaboraron 5 lotes con diferentes cantidades de Miglyol (0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 ml), posteriormente las dispersiones fueron centrifugadas a 20,000 rpm durante 20 minutos. La pastilla se suspendió en agua destilada y se centrifugó nuevamente. Se llevaron a cabo dos procesos de lavado-centrifugado. Enseguida se procedió a calcular la densidad. La densidad se obtuvo a partir de la siguiente expresión:

$$\delta = \frac{\text{masa CAP} + \text{masa Miglyol}}{\text{vol. CAP} + \text{vol. Miglyol}}$$

5.5.1.3 Determinación del PVAL residual en nanocápsulas de CAP

Se preparó un lote de NC de acuerdo a lo anteriormente descrito, posteriormente la dispersión se secó en un desecador a peso constante para eliminar el H₂O, se disolvió una cantidad conocida aproximadamente de 100 mg con agua destilada. La solución se mantuvo en agitación a una temperatura de 85° C por 1.5 hr., después la solución se llevó a un aforo de 10 ml, se centrifugó a 7000 rpm por 30 minutos. De la solución centrifugada se tomaron 5 ml y se mezclaron con 2 ml de H₃BO₃ 0.65 M y 1 ml de solución de I₂ 0.05M / KI 0.15 M para formar un complejo colorido. El sistema se leyó con el espectrofotómetro a una $\lambda = 640$ nm (Piñón Segundo, 2003), la absorbancia obtenida se interpoló en la curva de calibración correspondiente para obtener la concentración del sistema. Se corrió un estándar bajo las mismas condiciones. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

La cantidad residual de estabilizante (PVAL) en las nanocápsulas se determinó con base en un método propuesto por Alléman y cols., (1993) para la cuantificación de PVAL residual en NC. El PVAL forma complejos coloridos con yodo en presencia de ácido bórico. El complejo formado es de color verde y dicho complejo es estable por 15 minutos (Raygoza y cols., 1995). Se elaboró una curva para el complejo PVAL – H₃BO₃ – I₂ - KI en donde se prepararon diferentes concentraciones por triplicado, cada concentración se leyó a una $\lambda = 640$ nm. El sistema blanco utilizado fue el siguiente: 5 ml de agua destilada, 2 ml de H₃BO₃ y 1 ml de I₂/KI. Todos los sistemas de la curva del complejo PVAL – H₃BO₃ – I₂ – KI se manejaron a una misma proporción de H₃BO₃ y de I₂/KI, es decir se trabajaron diferentes concentraciones de la solución acuosa de PVAL pero siempre se utilizaron 5 ml de dichas soluciones con 2 ml de H₃BO₃ y 1 ml de I₂/KI para formar el complejo colorido. Las curvas obtenidas se encuentran en el *Anexo III*.

5.5.1.4 Determinación de triclosán en las nanocápsulas de CAP

Se preparó un lote de NC por el método de emulsificación difusión. La dispersión fue separada en 2 volúmenes equivalentes y colocados en 2 cajas petri previamente pesadas, se secó la dispersión en un desecador a vacío. Se pesaron las cajas petri con las NC's secas, posteriormente se digirieron en NaOH 0.1 N por 24 hrs. La solución se llevó a un aforo de 10 ml con EtOH y se centrifugó a 6000 rpm por 40 minutos. El sistema se leyó con el espectrofotómetro a una $\lambda = 280$ nm, la absorbancia obtenida se interpoló en la curva de calibración correspondiente para obtener la cantidad de triclosán en las NC's. Al mismo tiempo se corrió un estándar por bajo las mismas condiciones. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

Después de determinar espectrofotométricamente la cantidad de triclosán presente en las NC's se procedió a calcular el porcentaje de fármaco contenido en las NC's (% de triclosán cargado) y la eficiencia de encapsulamiento (E. E.) de acuerdo a lo propuesto por Leroux y cols., (1994), las formulas utilizadas se muestran enseguida:

$$\text{Triclosán cargado (\%)} = \frac{\text{Cantidad de triclosán en NC}}{\text{Cantidad de NC}} \times 100$$

$$\text{E. E. (\%)} = \frac{\% \text{ triclosán cargado}}{\% \text{ triclosán inicial} \times (1 - \text{fracción PVAL residual})} \times 100$$

Debido a que cierta cantidad de PVAL se adsorbe en la superficie de las NP's durante el proceso de obtención de las mismas, se debe introducir el factor de corrección $1/(1 - \text{fracción de PVAL residual})$ para evitar una sobreestimación de la eficiencia de encapsulamiento (Leroux y cols., 1994).

5.5.2 Características de las películas

5.5.2.1 Evaluación de la transparencia

La película previamente formada, se recortó en rectángulos de 10 x 19 mm para ser colocada en las celdas espectrofotométricas (Beckman CA, USA), utilizando el aire como blanco. Las lecturas se realizaron a una $\lambda = 600$ nm. La evaluación se realizó por triplicado.

5.5.2.2 Morfología

Las películas obtenidas a partir de NC's se observaron directamente por microscopía electrónica de barrido, recubriéndolas previamente con oro.

5.5.2.3 Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

Muestras de películas se analizaron por calorimetría diferencial de barrido a una velocidad de calentamiento de 10 °C/ min., con estados de transición de 3 °C/ min. y con un flujo de nitrógeno de 50 ml/min. Las muestras se analizaron de 0 a 250 °C.

5.5.2.4 Cinética de liberación *in vitro* del triclosán

Para realizar la prueba de liberación *in vitro* del triclosán se emplearon las celdas de Franz previamente descritas. A las películas obtenidas de 3.0 cm de diámetro se les cubrió una cara con ayuda de una mica adherente, la cara no cubierta de la película se colocó expuesta al compartimiento receptor en cual contenía 10 ml de medio de disolución (EtOH:H₂O 70:30), en el compartimiento donador no se colocó medio. Las celdas se mantuvieron a una temperatura de 37°C en un baño maría con agitación constante. El perfil de liberación de las películas se obtuvo tomando todo el volumen del medio de disolución, sustituyéndose posteriormente por el mismo volumen de medio nuevo a los 15, 30 y 45 minutos y a las 1, 3, 5, 7 y 8 horas. Al mismo tiempo se realizó la liberación de un blanco bajo las mismas condiciones. Las determinaciones se realizaron por triplicado.

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos del cálculo de la densidad de Miglyol 840[®] se resumen en la *Tabla IV*.

Tabla IV. Resultados obtenidos de la determinación de la densidad del Miglyol

	Peso (g) 1	Peso (g) 2	Peso (g) 3
Picnómetro vacío	35.6120	35.6241	35.6618
Picnómetro c/agua	61.4216	61.4739	61.3592
Picnómetro c/mtra	59.5137	59.3066	59.4768
Densidad (g/cm ³)	0.9234	0.9135	0.9241
	Promedio	Desviación estándar (D. E.)	% C. V.
	0.9203 g/cm ³	5.9281x10 ⁻³	0.6441

El resultado obtenido se encuentra muy cercano a los valores reportados en la literatura (0.91-0.92 g/cm³). La determinación de la densidad del aceite es muy importante para inferir su comportamiento en las NC's y predecir su probable encapsulamiento.

La *Tabla V* muestra los resultados obtenidos de la densidad del CAP.

Tabla V. Resultados obtenidos de la determinación de la densidad del CAP

Peso CAP (g)	Peso comprimido (g)= m	Espesor (mm) = h	Diámetro (mm)= r ²
0.7009	0.6784	4.734	13.030
0.7001	0.6868	4.827	13.026
0.7007	0.6764	4.695	13.030
0.7005	0.6597	4.711	12.995
0.7007	0.6729	4.700	13.040
0.7007	0.6781	4.762	13.025
Promedio	0.6759	4.7381	13.0243
D. E.	9.9069x10⁻³	0.0501	0.0153
% C. V.	1.4658	1.0567	0.1176

Se obtuvo una densidad de 1.069 g/cm³, este resultado nos sirvió para que posteriormente en la fabricación de las NC's, específicamente en la centrifugación, estas sedimentaran y fuera fácil el lavado de las mismas.

Una de las determinaciones previas fue la solubilidad del principio activo modelo, esta prueba se realizó en metiletilcetona y en Miglyol 840[®]. En metiletilcetona por que se utiliza para saturar el agua y posteriormente utilizarla como fase orgánica en la técnica de emulsificación difusión; y el Miglyol 840[®], es el aceite que se encuentra dentro de los sistemas nanoparticulados. En este caso 3 principios activos fueron considerados: triclosán, nitrato de miconazol y estradiol, ya que de acuerdo a la bibliografía estos principios activos se han utilizado en parches transdérmicos y son altamente lipofílicos.

De acuerdo a su función como principio activo, el triclosán se utiliza como antiséptico; el nitrato de miconazol como antimicótico y el estradiol es utilizado en caso de una deficiencia estrogénica (The Merck Index, 1996). La prueba de solubilidad de los 3 principios activos se efectuó con la finalidad de saber que principio activo era el más soluble en estos solventes para poderlo encapsular. Los resultados se resumen en la *Tabla VI*.

Tabla VI. Resultados obtenidos de la prueba de solubilidad de los principios activos

PRINCIPIO ACTIVO		SOLVENTE	OBSERVACIONES
Triclosán	10 mg	Metiletilcetona	Muy soluble, solución amarilla transparente
	20 mg	Miglyol	Muy soluble, solución transparente
	40 mg	Miglyol	Muy soluble, solución transparente
Nitrato de miconazol	20 mg	Metiletilcetona	Poco soluble, solución blanca con sedimentación
	20 mg	Miglyol	Poco soluble, solución turbia
Estradiol	20 mg	Metiletilcetona	Soluble, solución amarilla transparente
	20 mg	Miglyol	Poco soluble, dispersión blanca con sedimentación

Como se puede observar, el triclosán fue el más soluble en ambos solventes por lo tanto, fue el principio activo que se eligió. El triclosán es un agente antimicrobiano no catiónico que presenta eficacia contra una amplia variedad de bacterias formadoras de placa, incluidas *A. actinomycescomitans*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *C. rectus*. El triclosán también es utilizado en el tratamiento del acné y en la actualidad se están realizando estudios contra la Malaria (Surolia y cols., 2001). Se evaluó la solubilidad del triclosán en diferentes medios de disolución por ejemplo: metanol (MetOH), etanol (EtOH) y en NaOH 0.1 N para posteriormente cuantificar el porcentaje de encapsulación del triclosán; de igual manera se realizó esta prueba al acetato ftalato de celulosa (CAP) y al Miglyol 840®, con la finalidad de que no hubiera algún problema en lo que se refiere a la cuantificación, es decir que tal resultado fuera confiable ya que nos aseguraríamos de que el triclosán estuviera realmente encapsulado y no se encontrara libre sin encapsular.

En la *Tabla VII* se muestran los resultados obtenidos de la prueba de solubilidad de los materiales utilizados.

Tabla VII. Resultados obtenidos de la prueba de solubilidad de los materiales utilizados en la formulación para la formación de las NC's

REACTIVO	SOLVENTE	OBSERVACIONES
Triclosán	NaOH 0.1 N	Soluble
Triclosán	EtOH	Soluble
Triclosán	MetOH	Soluble
Miglyol	NaOH 0.1 N	Insoluble
Miglyol	EtOH	Soluble
Miglyol	MetOH	Soluble
CAP	NaOH 0.1 N	Soluble
CAP	EtOH	Insoluble
CAP	MetOH	Insoluble

Como se puede observar el solvente más apropiado para cuantificar la encapsulación del triclosán es el etanol. Cabe mencionar que se realizaron barridos con las soluciones después de haber estado en agitación constante por 24 hrs., obteniéndose que el mejor espectro fue con etanol con una λ 280 nm, además de que se disolvieron 2 componentes de la formulación; por lo que se decidió realizar la cuantificación del porcentaje de encapsulación en EtOH (los espectros se muestran en el *Anexo II*). Ya elegido el etanol se elaboró una curva de calibración triclosán-EtOH (ver *Anexo III*).

Las NC's se prepararon, como se indicó en la metodología, mediante la técnica de emulsificación-difusión la cual permite la obtención de una dispersión de partículas cargadas con un fármaco sin formación de agregados. Las condiciones bajo las cuales se obtuvieron las NC's, tales como: la cantidad de (acetato ftalato de celulosa) CAP, el volumen de los solventes, así como la velocidad de agitación, fueron establecidas por Piñón Segundo (2003) donde se reporta la obtención de tallas menores de 500 nm bajo las condiciones trabajadas. En resultados de estudios previos (Chedgzoy y cols., 2002) se determinó la cantidad de triclosán en PT.

A continuación (*Tabla VIII* y *Figuras 10-18*) se muestran los resultados en las determinaciones de la talla de partícula para los diferentes lotes de NC's preparados.

Tabla VIII. Distribución del tamaño de partícula de las NC's de CAP cargadas con diferentes cantidades de Miglyol 840®

Lote (ml de Miglyol®)	Talla (nm)	D. E.	I. P.	% C.V.
0.2	418.2	163.2	0.390	0.6066
	408.0	147.5	0.274	0.6780
	428.2	134.2	0.162	1.0462
Promedio	418.1	148.3	0.2753	0.7769
0.4	455.7	176.5	0.240	0.7223
	453.2	168.0	0.201	0.8131
	451.2	158.7	0.175	0.9354
Promedio	453.4	167.7	0.2053	0.8236
0.6	417.2	161.8	0.377	0.6116
	415.3	120.3	0.080	
	436.1	186.1	0.672	0.5542
Promedio	422.9	156.1	0.3763	0.5829
0.8	427.1	168.0	0.405	0.6013
	437.6	126.2	0.1250	0.3536
	432.2	97.3	0.064	0.2910
Promedio	432.3	130.5	0.072	0.4153
1.0	564.9	246.9	0.811	0.5436
	609.4	286.2	1.877	0.5175
	571.6	253.9	0.937	0.5371
Promedio	582.0	262.3	1.2083	0.5327

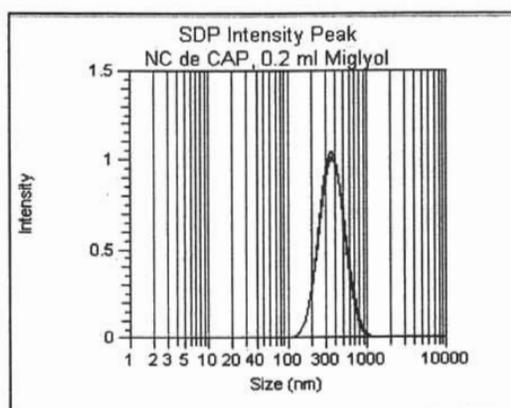


Figura 10. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.2 ml Miglyol 840®

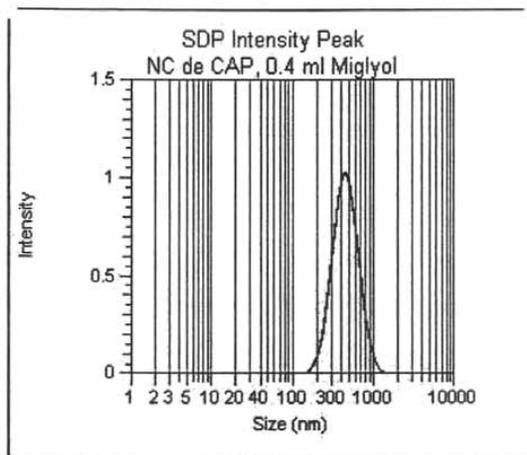


Figura 11. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol 840[®]

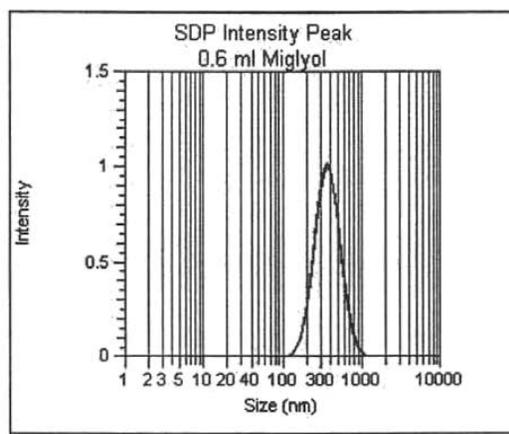


Figura 12. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.6 ml Miglyol 840[®]

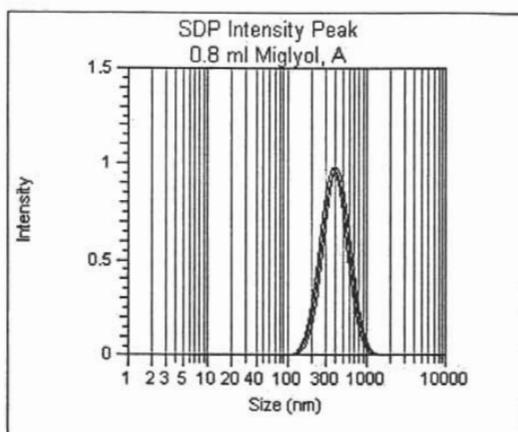


Figura 13. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.8 ml Miglyol 840[®]

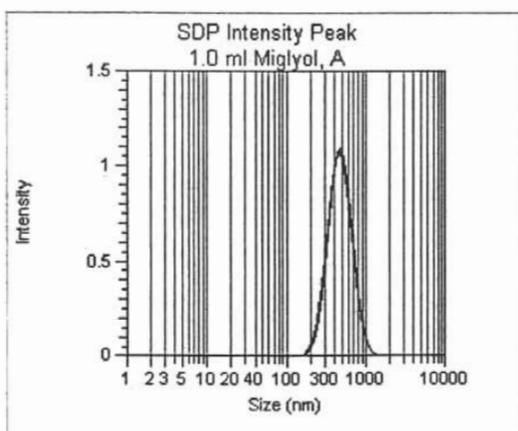


Figura 14. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 1.0 ml Miglyol 840[®]

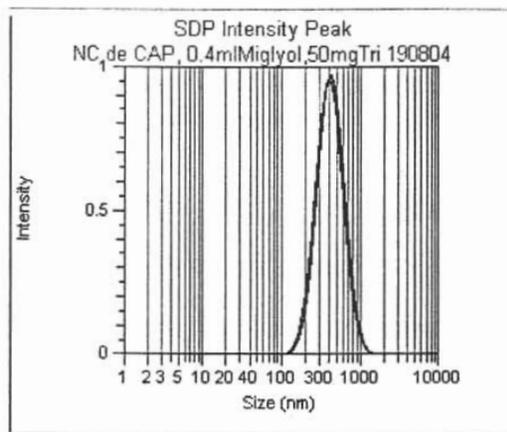


Figura 15 Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol 840[®] y 50 mg de triclosán

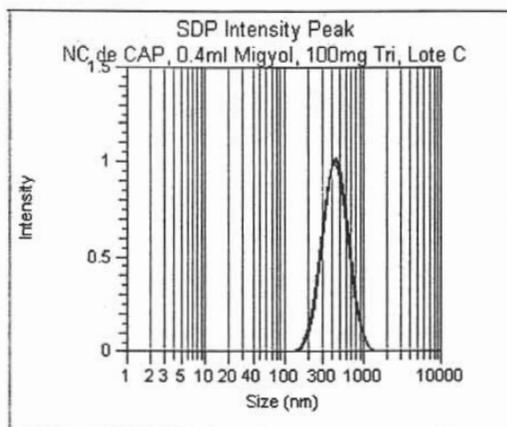


Figura 16. Distribución del tamaño de partícula de NC de CAP con 0.4 ml Miglyol 840[®] y 100 mg de triclosán

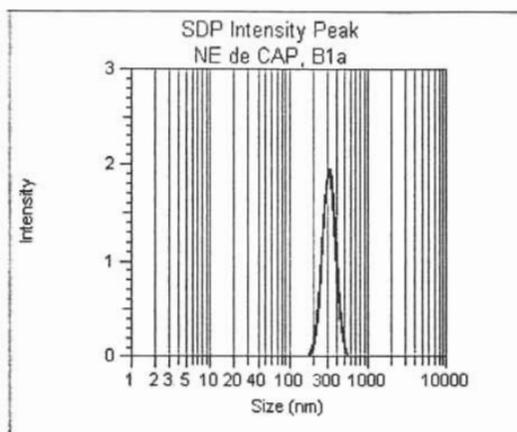


Figura 17. Distribución del tamaño de partícula de NE de CAP con 0.4 ml Miglyol 840®

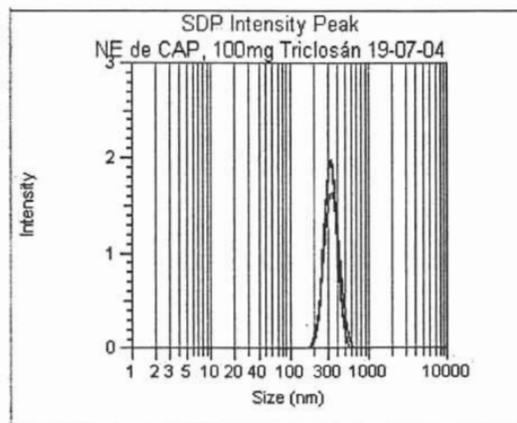


Figura 18. Distribución del tamaño de partícula de NE de CAP con 0.4 ml Miglyol 840® y 100 mg de triclosán

El efecto de incrementar la cantidad de Miglyol 840[®] sobre la talla de partícula puede ser observado en la *Figura 19*.

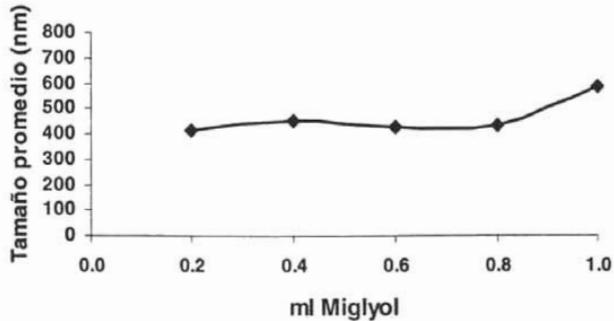


Figura 19. Comportamiento del tamaño de partícula conforme aumenta la cantidad de Miglyol 840[®]

Los datos obtenidos a partir de las mediciones realizadas en el Nanosizer Coulter[®] N4 Plus (USA) son: el diámetro promedio, la desviación estándar (D. E.) y el índice de polidispersidad (IP); el último es una característica que indica que tan homogénea es la dispersión. De manera general todos los lotes presentan una talla de partícula submicrónica y todas las partículas obtenidas son menores a 500 nm a excepción del lote con 1 ml de Miglyol 840[®] que presenta una talla de partícula aproximadamente de 600 nm. Es importante destacar que la talla de partícula se mantiene aún con altas cantidades de Miglyol 840[®] (0.8 ml) lo que no sucede con otros reportes para sistemas similares, p. ej. NE preparadas con el mismo método (Quintanar Guerrero, 1997a). Para considerar que una población es monodispersa su IP debe encontrarse en un rango de 0 a 0.5 (Müller y cols., 2000). Retomando la *Tabla VIII* los resultados obtenidos del IP nos sugiere una población monodispersa; además en los gráficos se observa una distribución unimodal, es decir, con una sola población. De los lotes preparados (*Tabla IX*) se eligió el lote de 0.4 ml de Miglyol 840[®] ya que es una cantidad adecuada para formar las NC's con buena talla de partícula y se garantiza que después de la centrifugación el sistema se comporte como una dispersión homogénea sugiriendo que el aceite está completamente encapsulado.

Tabla IX. Resultados obtenidos del análisis de densidad

CAP (mg)	Miglyol 840 [®] (ml)	Densidad calculada (g/ml)	Observaciones
400.9	0.2	1.0189	-
400.6	0.4	0.9937	-
400.1	0.6	0.9792	-
400.6	0.8	0.9696	+/-
400.5	1.0	0.9628	+

- No hay sobrenadante
- +/- Hay un poco de sobrenadante
- + Hay sobrenadante

La adición del alcohol polivinílico (PVAL) como estabilizante es necesaria durante el proceso de formación de NC's. Su función es actuar como un agente protector el cual se adsorbe en la interfase entre la NP y la fase continua, evitando la coalescencia y formación de agregados del polímero durante el paso de difusión en la formación de NC. En investigaciones realizadas por Quintanar-Guerrero y cols., (1998) se reporta que la estabilidad de una dispersión de NC's se debe a la afinidad del estabilizante utilizado sobre la superficie de las NC's, las cuales fueron filtradas y liofilizadas sin obtención de agregados debido a la formación de una multicapa del estabilizante sobre la NC. En resultados de estudios previos (Álvarez, 2000) se determinó un 6.0% de PVAL residual después de haber centrifugado la dispersión de NC's; en nuestro caso, se obtuvo un promedio de 1.2% de PVAL residual en las NC's. E. Piñón, (2003) reporta un residuo de PVAL en NE's de CAP muy bajos (<4%), lo cual sugiere la formación de la multicapa de estabilizante sobre las NC's mencionada previamente e indica que los procesos de lavado fueron realizados adecuadamente. Diversos autores no consideran el factor de corrección anteriormente señalado en la metodología. Por ejemplo, Görner y cols., (1999) preparando NE's de ácido poliláctico (PLA) cargadas con lidocaína, no consideran el PVAL residual para la determinación de la eficiencia de encapsulamiento (E. E.), a pesar de tener NE's con 8.1% de PVAL, se debe introducir el factor de corrección $1/(1-\text{fracción de PVAL residual})$ para evitar una sobreestimación de la E. E. (Leroux y cols., 1994). Los resultados obtenidos del porcentaje de triclosán cargado, porcentaje de PVAL residual y eficiencia de encapsulamiento (E. E.) se muestran en la *Tabla X*.

Tabla X. Resultados obtenidos del porcentaje de triclosán cargado, porcentaje de PVAL residual y eficiencia de encapsulamiento

Polímero CAP (mg)	Triclosán (mg)	%Triclosán inicial	% Triclosán cargado	% PVAL residual	E. E. (%)
401.2	104.3	11.8	10.2	1.2	87.3

En general el porcentaje de E. E. (eficiencia de encapsulamiento) puede considerarse como muy aceptable pues, generalmente, es difícil alcanzar eficiencias mayores al 80%, lo que indica que la técnica de emulsificación difusión utilizada es muy apropiada para cargar este principio activo en NC's así como principios activos similares con baja solubilidad acuosa.

Una vez obtenidas y evaluadas las NC's se prepararon las películas a partir de las NC's. La temperatura de formación de las películas fue anteriormente establecida por Álvarez (2000), tal temperatura fue la mínima para que se formara una película uniforme y continua. Se determinó que 40°C fue la temperatura mínima que favorece la coalescencia de las partículas poliméricas como resultado de la evaporación del agua; además que esta temperatura fue la conveniente tomando en cuenta las características de transparencia de las películas. Con un 15 % de triacetina se obtuvo una película uniforme, continua y transparente, los resultados de la observación visual de las películas preparadas se resumen en la *Tabla XI*.

Tabla XI. *Propiedades físicas de las películas obtenidas a partir de NC's*

Miglyol (ml)	Triacetina (%)	Temperatura (°C)	Observaciones
0.2	10	25	Las películas no son uniformes, son porosas y con centro polvoriento, muy flexibles pero quebradizas.
	15	25	La película es homogénea, con mayor flexibilidad que con un 10% de triacetina.
	10	40	Películas uniformes no porosas, transparentes, flexibles, no quebradizas
0.4	15	40	La película tiene un centro pulvoriento, con orillas transparentes, no homogéneas muy flexibles y quebradizas.
	10	25	Película opaca, homogénea, flexible, no quebradiza.
	15	25	Película no homogénea, porosa, flexible, no quebradiza, más flexible que con 10% de triacetina.
0.6	10	40	Transparente, quebradiza, flexible, se formó la película.
	15	40	Se observan transparentes, no porosas, homogéneas, más flexibles que con 10% de triacetina, no quebradizas.
	10	25	Transparentes porosas, flexibles no quebradizas, homogéneas.
0.8	15	25	Transparentes, homogéneas, flexibles, no quebradizas
	10	40	Transparentes, homogénea, flexible, no quebradiza.
	15	40	Transparentes, homogénea, flexible, no quebradiza.
	10	25	Muy opacas, blancas, flexibles, poco quebradizas.
No	15	25	Muy opacas, blancas, homogéneas, flexibles, no quebradizas.
	10	40	Menos opacas que a 25°C, homogéneas, flexibles, no quebradizas, no porosas.
	15	40	Menos blancas, flexibles, no quebradizas.
No	10	25	Muy transparentes, homogénea, no quebradiza, flexible.
	15	25	Muy transparente, homogénea, flexible, no quebradiza.
	10	40	Muy transparente, homogénea, flexible, no quebradiza
	15	40	Muy transparente, homogénea, flexible, no quebradiza

En la *Figura 20* se muestran algunas fotografías de las películas obtenidas.

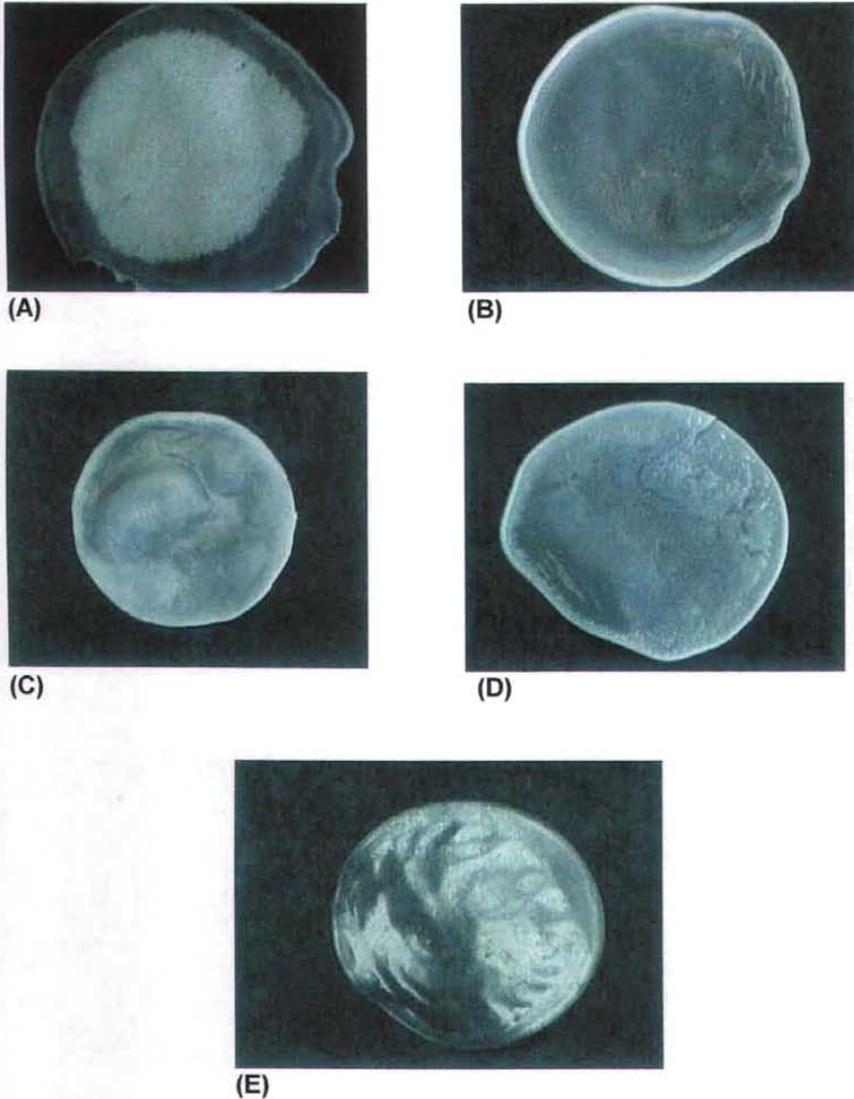


Figura 20. Fotografías de películas con un diámetro de 3 cm, obtenidas a partir de NC's, preparadas bajo diferentes condiciones: (A) 0.2 ml de Miglyol, 15 % de triacetina a 25°C, (B) 0.4 ml de Miglyol, 15 % de triacetina a 40°C, (C) 0.6 ml de Miglyol, con 15 % de triacetina a 40°C (D) 0.8 ml de Miglyol, 15 % de triacetina a 40°C, (E) película de NE, 15 % de triacetina a 40°C.

En las fotos se observa que las películas se forman adecuadamente. En el caso de la película formada con 0.2 ml de Miglyol 840[®], 15% de triacetina y a una temperatura de 25 °C, se puede ver la presencia de una masa blanca polvorienta en el centro de la misma, sugiriendo un estado de "punto blanco" (McGinity, 1997); esto puede ser debido a que la temperatura está por debajo de la temperatura por lo que no hay una coalescencia completa entre las NC's por lo tanto no existe la formación de una película homogénea. Cabe mencionar que las películas obtenidas a una temperatura de 25°C no se observan transparentes debido a lo ya anteriormente mencionado. En algunos de los casos no se llegó a formar la película a tal temperatura (25°C). En cuanto a las películas obtenidas con 0.4 ml Miglyol 840[®] con un 15% de triacetina y a una temperatura de 40°C, se observan transparentes y flexibles a diferencia con las obtenidas con 0.6 ml de Miglyol840[®] y 0.8 ml de Miglyol 840[®] a la misma temperatura (40°C) y con un 15 % de triacetina. Las películas obtenidas a partir de NE's son bastante transparentes esto puede deberse a que no existe la presencia de Miglyol 840[®], que puede influir en la fusión de CAP.

En la *Tabla XII* y en la *Figura 21* se muestran los resultados de la evaluación de la transparencia para las películas de NC's y NE's.

Tabla XII. Resultados obtenidos de la evaluación de la transparencia para las películas de NC y NE.

Muestra	Muestra	Absorbancia promedio
A	0.2 ml Miglyol, 10% T, 25°C	2.3012
B	0.2 ml Miglyol, 15% T, 25°C	2.1506
C	0.2 ml Miglyol, 10% T, 40°C	1.0291
D	0.2 ml Miglyol, 15% T, 40°C	0.4086
E	0.4 ml Miglyol, 10% T, 25°C	0.8908
F	0.4 ml Miglyol, 15% T, 25°C	0.1095
G	0.4 ml Miglyol, 10% T, 40°C	0.3442
H	0.4 ml Miglyol, 15% T, 40°C	0.2931
I	0.6 ml Miglyol, 10% T, 25°C	0.5501
J	0.6 ml Miglyol, 15% T, 25°C	0.4004
K	0.6 ml Miglyol, 10% T, 40°C	1.3554
L	0.6 ml Miglyol, 15% T, 40°C	0.2931
M	0.8 ml Miglyol, 10% T, 25°C	0.8246
N	0.8 ml Miglyol, 15% T, 25°C	0.6743
N	0.8 ml Miglyol, 10% T, 40°C	0.8261
O	0.8 ml Miglyol, 15% T, 40°C	0.5315
P	NE, 10% T, 25°C	0.1527
Q	NE, 15% T, 25°C	0.1318
R	NE, 10% T, 40°C	0.1922
S	NE, 15% T, 40°C	0.1721

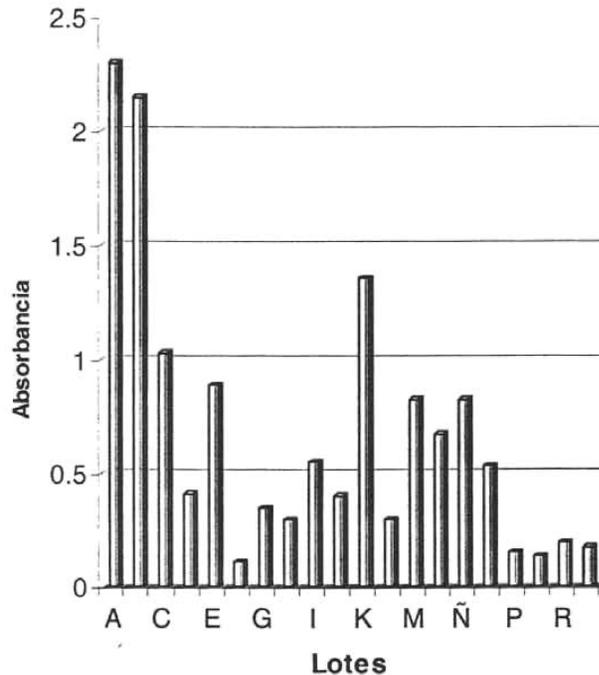


Figura 21. Evaluación de la transparencia para las diferentes películas de NC's y NE's.

Como era esperado al aumentar la cantidad de triacetina, las películas son más transparentes, y mientras la temperatura es más alta la transparencia es mayor. La mayoría de las películas obtenidas con NC no muestran una transparencia total esto se puede deber a que el Miglyol 840[®] no se encuentra disperso molecularmente entre las cadenas del polímero, sino en pequeñas gotas sugiriendo que se mantiene la dispersión del aceite dentro de las entidades submicrónicas después de formar la película esto se confirma con el hecho de que las películas formadas con las NE's se observan totalmente transparentes.

En la *Figura 22* se muestran algunas micrografías representativas de los lotes preparados a diferentes aumentos y en diferentes campos de la película, donde se observan partículas con una estructura bien definida semejante a una esfera; además se puede observar una estructura capsular. Por medio de estas micrografías se corrobora que la talla de partícula es menor a 1 μ m. No se observan cristales ni glóbulos alrededor de las NC's.

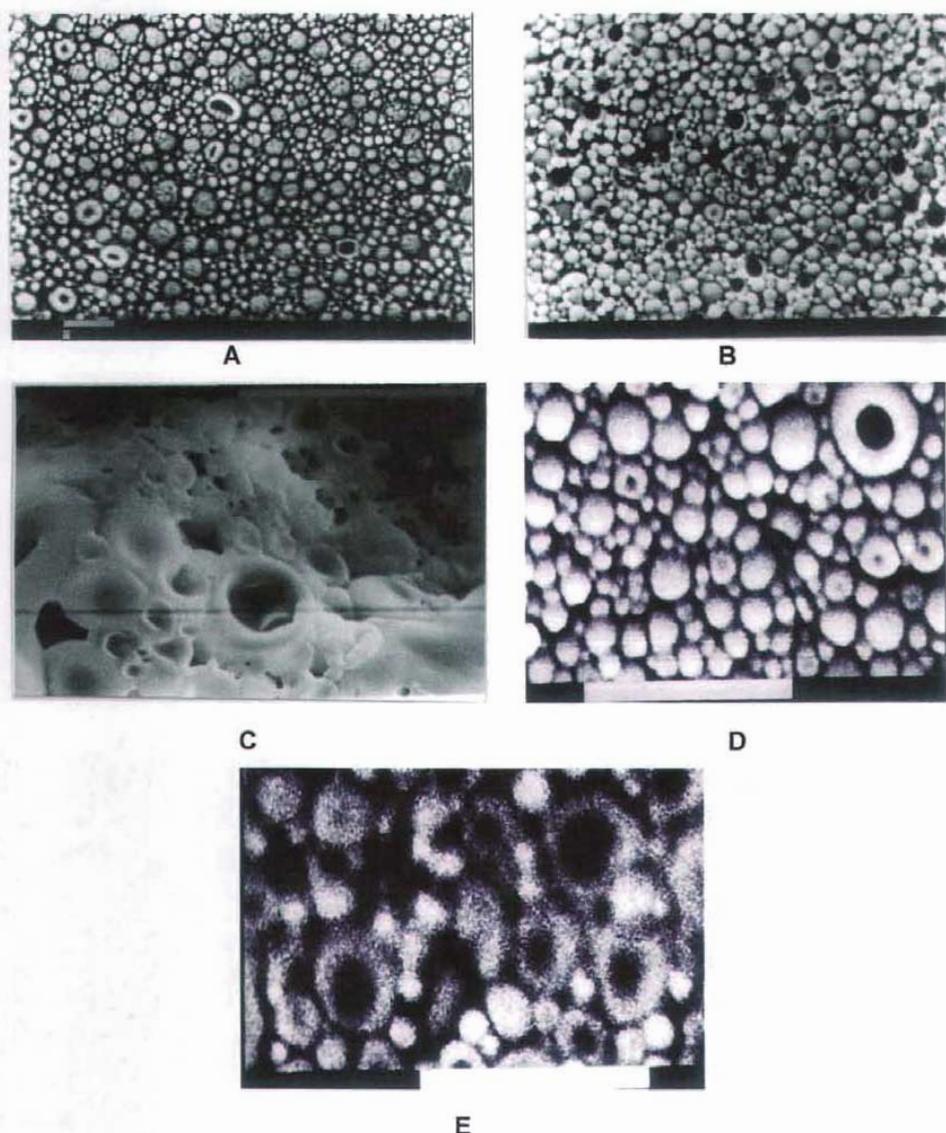


Figura 22. Micrografías de las películas obtenidas a partir de las NC de CAP.

La barra blanca representa una longitud de 1 μm .

- A) Película con 0.4 ml Miglyol, 15% triacetina, 25°C a 10000X
- B) Película con 0.4 ml Miglyol, 15% triacetina T, 40°C a 10000X
- C) Película con 0.4 ml Miglyol, 15% triacetina T, 40°C a 10000X
- D) Película con 0.4 ml Miglyol, 15% triacetina, 40°C, 50 mg triclosán a 10000X
- E) Película con 0.4 ml Miglyol, 15% triacetina, 40°C, 100 mg triclosán a 10000X

Sobre algunas zonas de la superficie de las películas se observan agregados, probablemente, de las NC's. Rolland, (1993) menciona que la formación de películas a partir de dispersiones poliméricas se lleva a cabo en 4 etapas, ocurriendo lo siguiente:

- I) El polímero se encuentra disperso y suspendido en una fase acuosa.
- II) Durante la evaporación del agua las partículas se ponen en contacto unas con otras, provocando un aumento de la tensión interfacial entre el polímero y la solución polimérica.
- III) La elevada tensión interfacial entre las partículas da origen a un fenómeno de capilaridad, con lo cual se abate la fuerza de repulsión y comienza su deformación.
- IV) Las partículas se fusionan unas con otras mediante una coalescencia completa, se produce una fusión de las partículas para dar origen a la película.

En la *Figura 23* se representa el fenómeno de coalescencia de las partículas, esto ocurre en la Etapa II de evaporación.

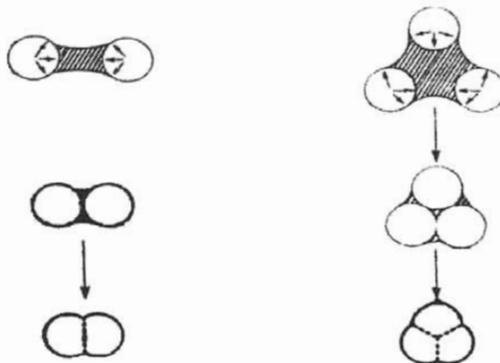


Figura 23. Representación del fenómeno de coalescencia de las partículas en la Etapa II de evaporación (Rolland, 1993).

Los agregados observados en la micrografía de las películas de NC's (*micrografía E, Figura 22*) puede ser el resultado de una coalescencia incompleta de las NC's durante la cuarta etapa de la formación de las películas, es decir no existe una fusión entre las partículas debido a la temperatura, a diferencia de la *micrografía C, Figura 22* en la cual se observa perfectamente la coalescencia entre las NC's, en cuanto a las demás micrografías (*A, B, D*) se puede observar que las NC's están fusionadas unas con otras formando como consecuencia una película debido a que la temperatura de 40°C es la adecuada para que exista la evaporación del agua poniéndose en contacto las partículas provocando así un aumento en la tensión interfacial entre el agua y el polímero dando como origen un fenómeno de capilaridad, con lo cual se abate la fuerza de repulsión y comienza su deformación para que se forme la película. Algunas NC's presentan un estallamiento, esto puede ser debido al tratamiento de la muestra para su observación.

En las *Figuras 24, 25, 26*; se presentan los termogramas obtenidos para los materiales utilizados en la preparación de NC (PVAL, CAP y triclosán), una mezcla física (0.2 ml Miglyol, 200 mg CAP, 50 mg triclosán), así como también los termogramas de las diferentes películas obtenidas a partir de NC's y de NE's.

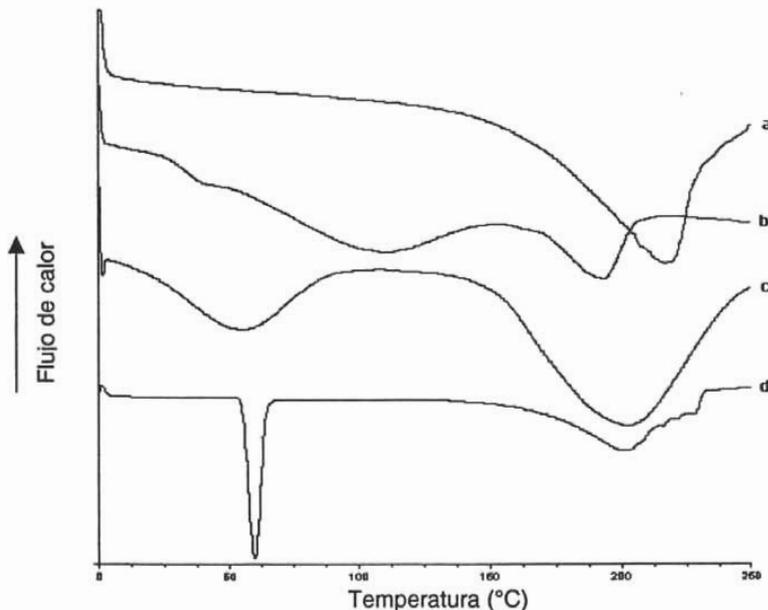


Figura 24. Termogramas de: **a)** mezcla física (0.2 ml Miglyol 840[®], 200 mg CAP, 50 mg triclosán), **b)** PVAL (alcohol polivinílico), **c)** CAP (acetato ftalato de celulosa) y **d)** triclosán.

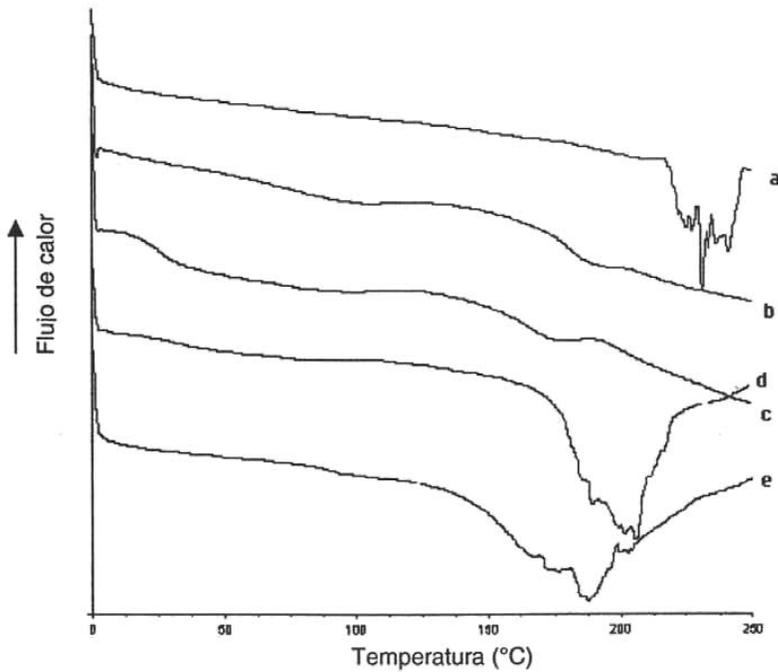


Figura 25. Termogramas de películas obtenidas a partir de NC's. **a)** películas con 0.4 ml Miglyol 840[®], 15% de triacetina, 40°C, **b)** películas con 0.4 ml de Miglyol 840[®], sin triacetina, sin triclosán, 40°C, **c)** películas con 0.4 ml Miglyol 840[®] sin triacetina, 100 mg triclosán, 40°C, **d)** películas con 0.4 ml Miglyol 840[®], 15% triacetina, 100 mg triclosán, 40°C, **e)** películas con 0.4 ml Miglyol 840[®], 15% triacetina, 50 mg triclosán, 40°C

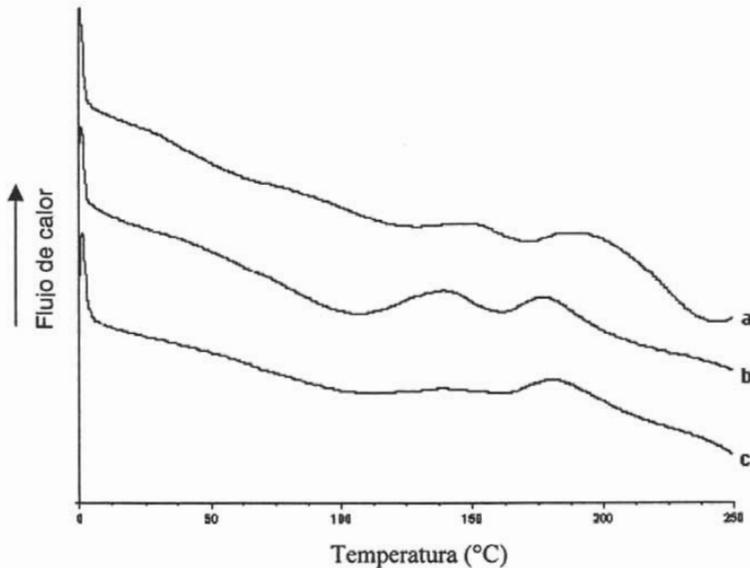


Figura 26. Termogramas de películas a partir de NE's. **a)** películas con 15% triacetina, 40°C, **b)** películas sin triacetina, sin triclosán, **c)** películas 15% triacetina, 100 mg triclosán.

En la *Figura 24* el termograma de la mezcla física se observa el pico del CAP esto se debe a que el triclosán se encuentra disuelto en el Miglyol 840[®] y este último no disuelve al CAP por lo tanto aparece el pico del polímero. En cuanto a los termogramas del CAP y del triclosán concuerdan con lo reportado en la literatura. (Wade & Séller, 1994). Ver *Anexo I*

Se realizaron los DSC a las películas a partir de NC's (*Figura 25*), en donde el plastificante hace que no exista la temperatura de transición vítrea (T_g) del CAP, hay suficiente movilidad para que se forme la película. En el termograma **b)** se observa una leve transición atribuida a la T_g del CAP, tomando en cuenta el termograma **c)** la T_g del CAP se recorre, esto es indicativo de que el triclosán tiene un efecto de plastificante no convencional que favorece la formación de las películas (Piñón y cols., 2000). En los termogramas **d)** y **e)** no se observa ninguna T_g por lo tanto hay movilidad de cadenas muy grande.

En los termogramas de películas a partir de NE's (*Figura 26*) se observa un comportamiento similar en los 3 casos, como se trata de una NE, es decir de una matriz sólida la parte interna se encuentra sin plastificar, la parte externa de la matriz se encuentra plastificada, al igual que en las películas a partir de las NC's el triclosán tiene un efecto de plastificante.

La *Figura 27* se muestra el perfil de liberación del triclosán a partir de las películas, en donde la liberación de la cantidad de triclosán en la película con 100 mg del activo fue de 7.6 % (7.6 mg) y en el caso de la película con 50 mg de triclosán se liberó un 7.7% (3.8 mg) del triclosán cargado, se sugiere que el medio de disolución no penetra a capas más profundas de la película y por lo tanto no se obtiene un 100 % de activo liberado. En el gráfico se puede apreciar que la liberación es rápida seguida de una liberación lenta (1-8 h).

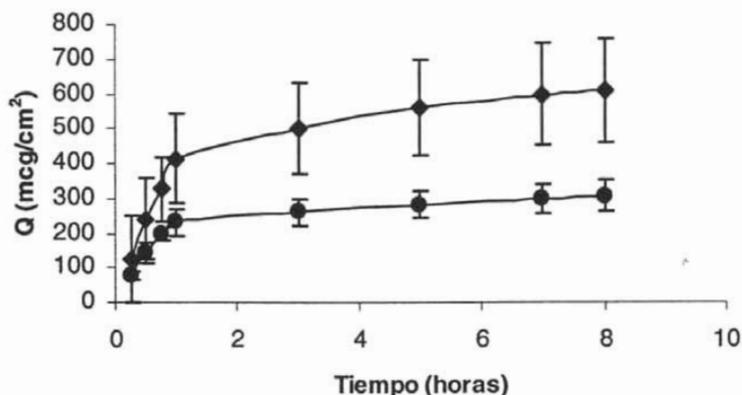


Figura 27. Perfil de liberación de triclosán a partir de las películas, considerando como área 2 cm^2 . (●) Película con 50 mg triclosán; (◆) Película con 100 mg triclosán.

En la *Figura 28* se esquematizan los resultados del análisis de la liberación del triclosán a partir de las películas. La liberación del triclosán a partir de las películas formadas con NC's puede ser considerada en dos etapas, la primera de 0 a 1 h y la segunda, después de 1 h. La *Tabla XIII* muestra los coeficientes de regresión y las constantes para la cinética de orden cero y de primer orden. Se observa que los coeficientes de orden cero son más descriptivos del tipo de liberación observada. Aunque es difícil predecir la causa del cambio de pendiente en las liberaciones, se puede prever una liberación dependiente de la profundidad en la película, que provoca un cambio en el gradiente de difusión en el sistema.

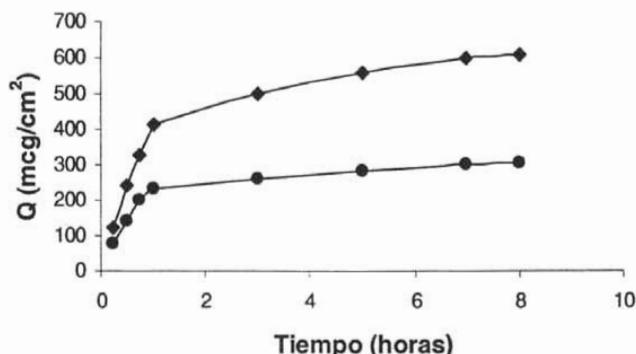


Figura 28. Cinética de liberación de triclosán a partir de las películas. (•) Película con 50 mg triclosán; (♦) Película con 100 mg triclosán.

La Tabla XIII muestra los coeficientes de regresión y las constantes para la cinética de orden cero y de primer orden.

Tabla XIII. Valores de los coeficientes de regresión (r^2) y las constantes para la cinética de orden cero y primer orden (K).

Sistema	ORDEN							
	CERO				PRIMER			
	K (mcg/cm ² h)	r ²	K (mcg/cm ² h)	r ²	K (h ⁻¹)	r ²	K (h ⁻¹)	r ²
	0 - 1 h	0 - 1 h	1 - 8 h	1 - 8 h	0 - 1 h	0 - 1 h	1 - 8 h	1 - 8 h
A	207.05	0.9791	10.647	0.9814	1.4548	0.9217	0.0308	0.9613
B	379.65	0.9932	27.567	0.9527	1.5596	0.937	0.052	0.9166

A= Película con 50 mg de triclosán

B= Película con 100 mg de triclosán

Para determinar el mecanismo de liberación del triclosán a partir de las películas se aplicó el modelo semiempírico de Peppas (Ecuación 1). La Ecuación 1 define el modelo de Peppas, el cual indica la fracción de la cantidad liberada del fármaco ($Mt/M\alpha$) como una función del tiempo (t), donde $M\alpha$ es la cantidad de fármaco que se libera a tiempos prolongados (Narasimhan y cols., 1999).

Este modelo es útil para determinar el mecanismo de difusión del fármaco en el sistema (Lowman y cols., 1999) a partir del exponente n .

$$\frac{Mt}{M\alpha} = Kt^n$$

Se graficó el $\ln Mt/Ma$ en función del \ln tiempo, (Figura 29). En ambas películas se determinó un exponente "n" de aproximadamente 1, 0.8106 para la primera fase y 0.1349 para la segunda fase en las películas con 50 mg de triclosán; 0.8635 para la primera fase y 0.1882 para la segunda fase en las películas con 100 mg de triclosán, los resultados obtenidos indican que el sistema se está comportando con dos tendencias (pendientes) que indican un cambio en el tipo de liberación por esta razón es que se obtienen dos valores de "n" para cada una de las películas, el mecanismo de transporte es anómalo o no Fickiano y es dependiente del tiempo, (Lowman & Peppas y cols., 1999). Los datos obtenidos pueden consultarse en el Anexo IV.

La Figura 29 muestra el modelo de Langer y Peppas aplicado a la liberación de triclosán a partir de las películas.

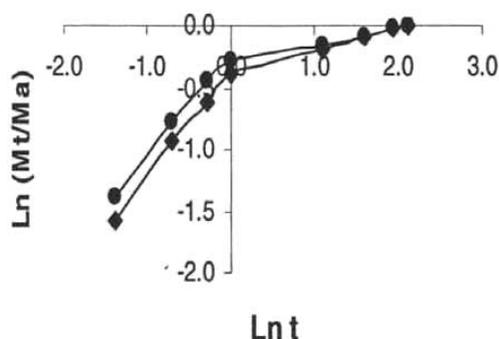


Figura 29. Modelo de Langer y Peppas aplicado a la liberación de triclosán a partir de las películas. (●) Película con 50 mg triclosán; (◆) Película con 100 mg triclosán.

El valor de n implica un mecanismo de liberación del fármaco el cual se evalúa según los datos de la Tabla XIV.

Tabla XIV. Mecanismo de transporte y tipo de liberación de acuerdo al valor de n en el modelo de Langer y Peppas aplicado a una membrana unidimensional (Lowman y cols., 1999).

Exponente n	Mecanismo de transporte	Tipo de liberación
0.5	Difusión Fickiana	Dependiente del tiempo $f(t^{1/2})$
$n < 0.5$	Transporte no Fickiano (anómalo)	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$
$0.5 < n < 1$	Transporte no Fickiano (anómalo)	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$
1	Transporte Caso II	Independiente del tiempo (orden cero)
$n > 1$	Transporte Super Caso II	Dependiente del tiempo $f(t^{n-1})$

Los resultados de la liberación de ambas películas se trataron de acuerdo al modelo de Higuchi (ecuación 2). La Ecuación 2 representa al modelo de Higuchi que estudia la liberación del fármaco a partir de sistemas matriciales (Martin, 1983), donde la cantidad de fármaco liberado por unidad de área ($Q = Mt/A$) está en función de la raíz cuadrada del tiempo.

$$Q = Kt^{1/2}$$

Se obtiene que la liberación de ambas películas no se ajusta a este modelo, resultando un valor de $r^2 = 0.8129$ para la película de 50 mg triclosán; $r^2 = 0.8821$ para la película de 100 mg de triclosán, (Figura 30). A partir de los resultados anteriores (ver Anexo IV) se concluye que estos sistemas tienen un comportamiento no Fickiano que se corrobora con el modelo semiempírico de Langer y Peppas.

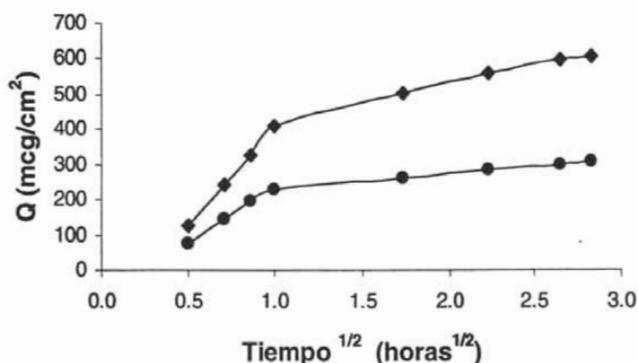


Figura 30. Modelo de Higuchi aplicado a la liberación de triclosán a partir de las películas. (●) Película con 50 mg triclosán; (◆) Película con 100 mg triclosán.

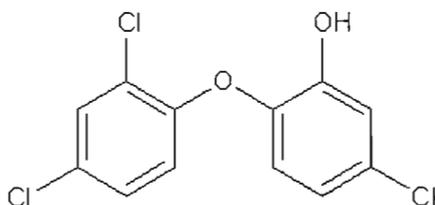
7. CONCLUSIONES

- Se prepararon NC's de acetato ftalato de celulosa cargadas con un aceite modelo (Miglyol 840[®]) en el cual pudo estar disuelto un principio activo (triclosán) por la técnica de emulsificación difusión.
- Se lograron obtener NC's con talla < 500 nm por la técnica de emulsificación difusión con alta tasa de encapsulamiento y eficiencia del proceso, comprobando la encapsulación por medio de un análisis de densidad.
- Para la formación de las películas se determinaron que las condiciones óptimas fueron: 15% de triacetina y 40°C.
- Como era esperado al aumentar la cantidad de triacetina, las películas son más transparentes, y mientras la temperatura es más alta la transparencia es mayor.
- La estructura vesicular de las NC's fue evidenciada por la técnica de microscopía electrónica de barrido (SEM), así como también fue evidenciada la formación de la película a partir de las NC's
- Las películas obtenidas se evaluaron mediante DSC, confirmándose que se tiene una distribución nanométrica del aceite después de formar dicha película.
- Se evaluó la cinética de liberación *in vitro* de las películas obtenidas a partir de las NC's cargadas con triclosán como modelo de sustancia activa, llevada a cabo por el método de celda de permeación vertical tipo Franz encontrando que la cinética es de orden cero, el mecanismo de transporte es de tipo no fickiano (anómalo) y el tipo de liberación es dependiente del tiempo, de acuerdo al modelo semi-empírico $dM/dt = Kt^{n-1}$, no se ajustan al modelo de Higuchi.

8. ANEXOS

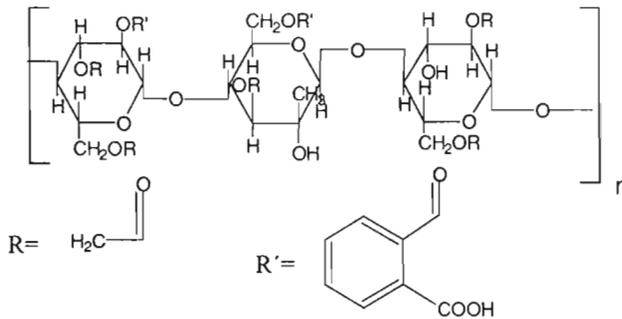
Anexo I. Estructuras químicas y generalidades de los materiales utilizados

1. Triclosán



- ❖ Nombre químico: 2, 4, 4'-tricloro-2-hidroxidifeniléter
- ❖ Fórmula condensada: $C_{12}H_7Cl_3O_2$
- ❖ Peso molecular: 289.50 g/mol
- ❖ Características: Polvo blanco cristalino
- ❖ Solubilidad: 5g de producto se disuelve en 45 ml de NaOH 1M, generando una soln. clara, moderadamente soluble en solventes orgánicos.
- ❖ Coeficiente de partición Etanol: 179
- ❖ pKa: 7.9
- ❖ Tf: 55-57.5°C
- ❖ Usos: Antiséptico, desinfectante

2. CAP (Acetato ftalato de celulosa)



❖ Nombre químico: 1,2-bencenodicarboxilato

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

❖ Características: Polvo blanco, que fluye libremente, higroscópico, sin olor o puede tener un ligero aroma a ácido acético.

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

❖ Tf: 192°C

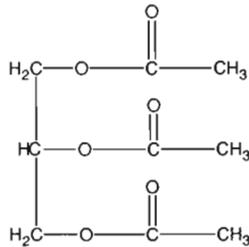
❖ Tg: 160-170°C

❖ Usos: Agente de recubrimiento

3. Miglyol 840®

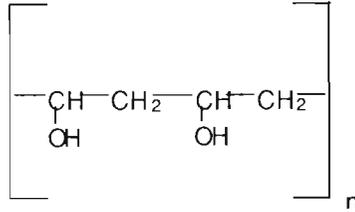
- ❖ Nombre químico: Propilen glicol dicaprilato
- ❖ Características: Líquido incoloro
- ❖ Solubilidad: Soluble a 20°C en hexano, tolueno, dietil éter, acetato de etilo, acetona, isopropanol, etanol 96%.
- ❖ Densidad a 20°C : 0.91-0.92 g/cm³
- ❖ Viscosidad a 20°C : 9-12 mPa*s
- ❖ Gravedad específica a 25°C: 0.92-0.96
- ❖ Estabilidad: no es sensible al calor, es estable a la oxidación.
- ❖ Usos: Puede ser utilizado en formulaciones farmacéuticas, o puede ser incluido en cremas, lociones, máscaras, aceites para masaje, así como para aceites de bebé.
- ❖ Toxicidad: El Miglyol 840® es un aceite neutro no irritante al contacto con la piel, no produce reacciones alérgicas, no produce irritación en mucosas como córnea o iris. Su DL₅₀ es mayor a 5g/Kg de peso corporal.

4. Triacetina



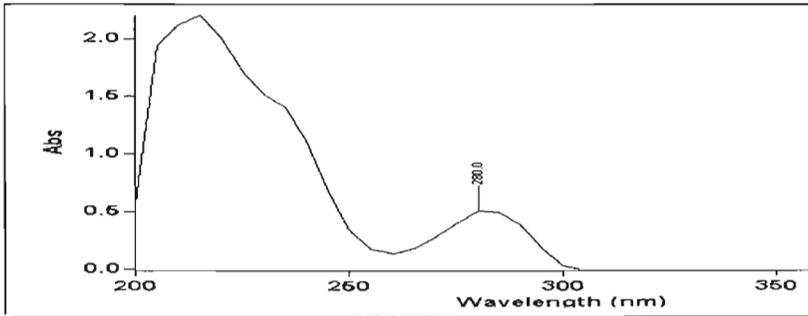
- ❖ Nombre químico: 1, 2, 3-propanotriol triacetato
- ❖ Fórmula condensada: $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_6$
- ❖ Peso molecular: 218.21 g/mol
- ❖ Características: Líquido transparente
- ❖ Solubilidad: Soluble en agua, miscible en etanol, éter y cloroformo
- ❖ Tf: -78°C
- ❖ Punto de ebullición: 258°C
- ❖ Densidad: 1.158-1.162 g/cm³
- ❖ Usos: Plastificante

5. Mowiol® 40/88

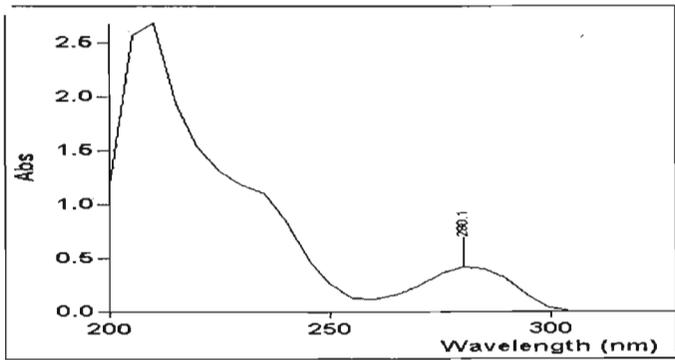


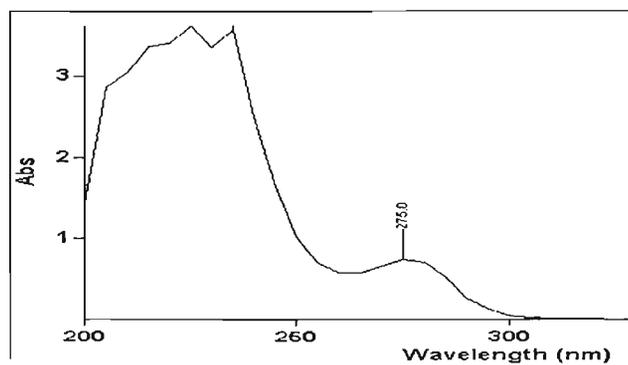
- ❖ Nombre químico: Alcohol polivinílico
- ❖ Peso molecular: 26,000 g/mol
- ❖ Características: Polvo granular blanco
- ❖ Solubilidad: Soluble en agua
- ❖ Densidad: 1.26-1.31 g/cm³
- ❖ Viscosidad: 40+/- 2.0 mPa*S
- ❖ Usos: Fabricación de adhesivos, surfactante

Anexo II. Resultados de los espectros realizados para triclosán y CAP

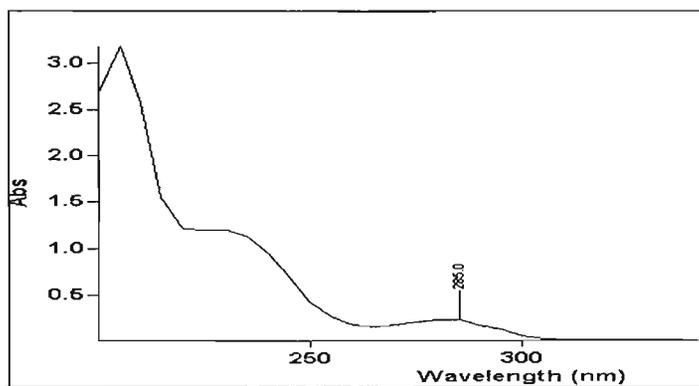


1. Barrido Triclosán en EtOH

2. Barrido Triclosán en EtOH:H₂O 70:30



3. Barrido CAP en EtOH



4. Barrido CAP en EtOH:H₂O 70:30

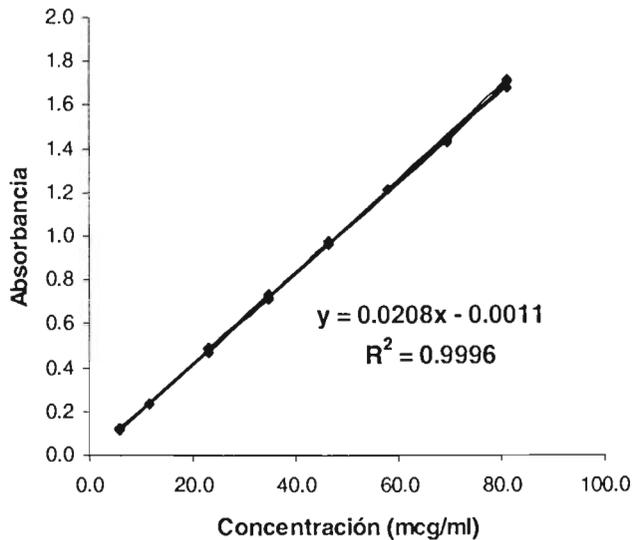
Anexo III. Curvas de Calibración

1. PVAL en agua destilada, $\lambda = 640\text{nm}$

Concentración ($\text{m}\mu\text{/ml}$)	Absorbancia	Abs / Conc ($\text{ml}/\mu\text{g}$)
5.8	0.1269	0.021879
5.8	0.1190	0.020517
5.8	0.1246	0.021483
11.6	0.2382	0.020534
11.6	0.2364	0.020379
11.6	0.2372	0.020448
23.2	0.4674	0.020147
23.2	0.4828	0.020810
23.2	0.4900	0.021121
34.8	0.7347	0.021112
34.8	0.7192	0.020667
34.8	0.7148	0.020540
46.4	0.9615	0.020722
46.4	0.9806	0.021134
46.4	0.9653	0.020804
58.0	1.2100	0.020862
58.0	1.2116	0.020890
58.0	1.2156	0.020959
69.6	1.4298	0.020543
69.6	1.4301	0.020547
69.6	1.4350	0.020618
81.2	1.6757	0.020637
81.2	1.7158	0.021131
81.2	1.7043	0.020989

$r = 0.99976$
 $r^2 = 0.99572$
 $m = 0.0280$
 $b = -0.001075$

Promedio = 0.020811
 D. E. = 0.00037768
 C. V. = 1.811480948 %



1a. Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema.

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración de PVAL y su respectiva absorbancia.

Hi: Existe una relación lineal entre la concentración de PVAL y su respectiva absorbancia.

Criterio de aceptación:

Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de PVAL y su respectiva absorbancia.

Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de PVAL y su respectiva absorbancia.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F calculada	F crítica ($\alpha=0.05$)
Concentración	1	6.7771	6.7771	51035.6028	4.3
Error	22	0.0029	0.00013		
Total	23	6.7801			

Se rechaza H_0 ; sí hay relación lineal entre la concentración del PVAL y su respectiva absorbancia.

1b. Prueba del intercepto.

Prueba de hipótesis:

H_0 : La ordenada al origen es igual a cero.

H_1 : La ordenada al origen es diferente de cero.

Criterio de aceptación

Si t calculada $<$ t crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es igual a cero.

Si t calculada $>$ t crítica se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

b	m	t calculada	t crítica ($\alpha=0.05$, g.l. n-2)
-0.0011	0.0280	224.4216	2.0739

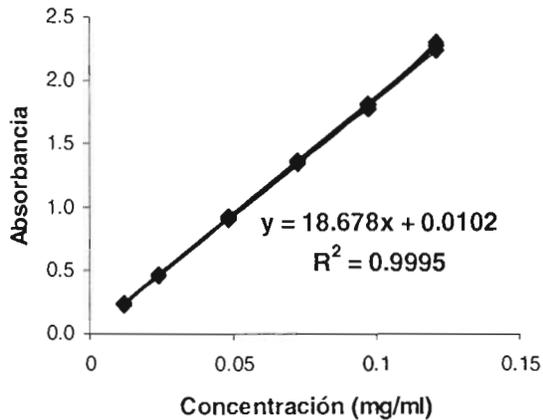
Como la t calculada $>$ t crítica, se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

2. Triclosán en Etanol, $\lambda=280\text{nm}$

Concentración (mg/ml)	Absorbancia	Abs/ Conc (ml/mg)
0.0121	0.2320	19.1736
0.0121	0.2295	18.9669
0.0121	0.2408	19.9008
0.0242	0.4578	18.9174
0.0242	0.4673	19.3099
0.0242	0.4673	19.3099
0.0484	0.9210	19.0289
0.0484	0.9071	18.7417
0.0484	0.9263	19.1384
0.0726	1.3834	19.0551
0.0726	1.3561	18.6791
0.0726	1.3675	18.8361
0.0968	1.8063	18.6601
0.0968	1.7828	18.4174
0.0968	1.8209	18.8110
0.121	2.3115	19.1033
0.121	2.2802	18.8446
0.121	2.2451	18.5545

$r = 0.99975147$
 $r^2 = 0.999503001$
 $m = 18.6783124$
 $b = -0.0102$

Promedio= 18.9684
D. E.= 0.3403
C. V.= 1.7940 %



2a. Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema.

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación entre la concentración lineal de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Hi: Existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Criterio de aceptación:

Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F calculada	F crítica ($\alpha=0.05$)
Concentración	1	9.3220	9.3220	32177.2269	4.49
Error	16	0.0046	0.00029		
Total	17	9.3266			

Se rechaza H_0 ; sí hay relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

2b. Prueba del intercepto.

Prueba de hipótesis:

H_0 : La ordenada al origen es igual a cero.

H_1 : La ordenada al origen es diferente de cero.

Criterio de aceptación

Si t calculada $<$ t crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es igual a cero.

Si t calculada $>$ t crítica se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

b	m	t calculada	t crítica ($\alpha=0.05$, g.l. $n-2$)
0.0102	18.6783	187.0356	2.1199

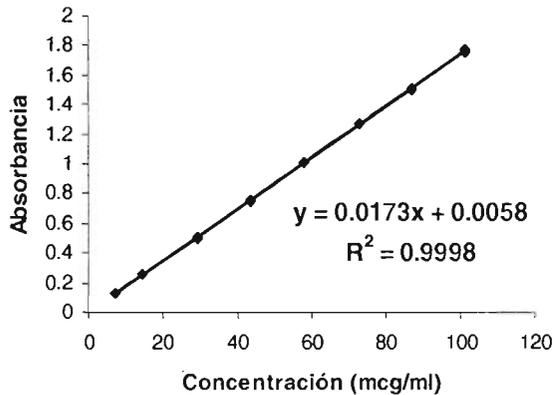
Como la t calculada $>$ t crítica, se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

3. Triclosán en Etanol/Agua, $\lambda=280\text{nm}$

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbancia	Abs/ Conc ($\text{ml/m}\mu$)
7.25	0.1335	0.0184
7.25	0.1313	0.0181
7.25	0.1337	0.0184
14.5	0.2569	0.0177
14.5	0.2560	0.0177
14.5	0.2557	0.0176
29	0.5060	0.0174
29	0.5036	0.0174
29	0.5012	0.0173
43.5	0.7654	0.0176
43.5	0.7482	0.0172
43.5	0.7548	0.0174
58	1.0132	0.0175
58	1.0076	0.0174
58	1.0134	0.0175
72.5	1.2715	0.0175
72.5	1.2705	0.0175
72.5	1.2728	0.0176
87	1.5147	0.0174
87	1.5040	0.0173
87	1.5071	0.0173
101.5	1.7746	0.0175
101.5	1.7565	0.0173
101.5	1.7447	0.0172

$r= 0.9999167$
 $r^2= 0.99983215$
 $m= 0.01730837$
 $b= 0.00578531$

Promedio= 0.0175
 D. E.= 0.00033361
 C. V.= 1.90115618 %



3a. Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema.

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación entre la concentración lineal de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Hi: Existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Criterio de aceptación:

Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

Fuentes de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F calculada	F crítica ($\alpha=0.05$)
Concentración	1	7.3163	7.3163	132033.973	4.3
Error	22	0.0012	0.00006		
Total	23	7.3175			

Se rechaza H_0 ; sí hay relación lineal entre la concentración de Triclosán y su respectiva absorbancia.

3b. Prueba del intercepto.

Prueba de hipótesis:

H_0 : La ordenada al origen es igual a cero.

H_1 : La ordenada al origen es diferente de cero.

Criterio de aceptación

Si t calculada $<$ t crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es igual a cero.
Si t calculada $>$ t crítica se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

b	m	t calculada	t crítica ($\alpha=0.05$, g.l. $n-2$)
0.0058	0.0173	183.9154	2.0739

Como la t calculada $>$ t crítica, se rechaza H_0 por lo tanto el intercepto es diferente de cero.

Anexo IV. Resultados de la liberación de triclosán

1. Resultados de la cinética de liberación

t (h)	(mcg/cm ²) 100 mg	(mcg/cm ²) 50 mg	t (h)	Ln (mcg/cm ²) 100 mg	Ln (mcg/cm ²) 50 mg
0	100	50	0	4.60517019	3.91202301
0.25	124.2888	76.5088	0.25	4.82260789	4.33740577
0.5	241.6887	142.8552	0.5	5.48765053	4.96183153
0.75	326.7565	197.8341	0.75	5.78921525	5.2874288
1	412.3051	230.7248	1	6.02176361	5.44122566
3	502.0852	260.0812	3	6.21876983	5.56099389
5	560.0097	282.9566	5	6.32795411	5.64529353
7	599.4871	298.5309	7	6.39607446	5.69887345
8	607.4448	306.4887	8	6.40926131	5.72518089

Regresión para películas de 50 mg triclosán

0-1 h				
Orden	r ²	r	m	b
Cero	0.9791	0.9894	207.05	32.574
Primer	0.9217	0.9600	1.4548	1.6275
1-8 h				
Orden	r ²	r	m	b
Cero	0.9814	0.9906	10.647	224.65
Primer	0.9613	0.9804	0.0383	0.2972

Regresión para películas de 100 mg triclosán

0-1 h				
Orden	r ²	r	m	b
Cero	0.9932	0.9965	379.65	38.981
Primer	0.937	0.9679	1.5596	1.8537
1-8 h				
Orden	r ²	r	m	b
Cero	0.9527	0.9761	27.567	403.95
Primer	0.9166	0.9574	0.052	0.3874

2. Resultados del modelo de Langer y Peppas

t (h)	Ln tiempo	Q (mcg/cm ²) 100mg	Ln (Mt/M _∞) 100 mg	Q (mcg/cm ²) 50mg	Ln (Mt/M _∞) 50 mg
0.25	-1.3863	124.2888	-1.5867	76.5088	-1.3878
0.5	-0.6931	241.6887	-0.9216	142.8552	-0.7633
0.75	-0.2877	326.7565	-0.6200	197.8341	-0.4378
1	0.0000	412.3051	-0.3875	230.7248	-0.2840
3	1.0986	502.0852	-0.1905	260.0812	-0.1642
5	1.6094	560.0097	-0.0813	282.9566	-0.0799
7	1.9459	599.4871	-0.0132	298.5309	-0.0263
8	2.1163	607.4448	0.0000	306.4887	0.0000

Regresión para películas de 50 mg triclosán

0-1 h	1 -8h
r= 0.99634	r= 0.9948
r ² = 0.9927	r ² = 0.9897
m= 0.8106	m= 0.1394
b= -0.2385	b= -0.2935

Regresión para películas de 100 mg triclosán

0-1 h	1 -8h
r= 0.9982	r= 0.9986
r ² = 0.9965	r ² = 0.9974
m= 0.8635	m= 0.1882
b= -0.368	b= -0.3893

3. Resultados del modelo de Higuchi

t (h)	t ^{1/2}	Cantidad liberada (mcg) 100 mg	Cantidad/Área (mcg/cm ²) 100 mg	Cantidad liberada (mcg) 50 mg	Cantidad/Área (mcg/cm ²) 50 mg
0.25	0.5	1561.8624	124.2888	961.4401	76.5088
0.5	0.7	3037.1563	241.6887	1795.1750	142.8552
0.75	0.9	4106.1525	326.7565	2486.0630	197.8341
1	1.0	5181.1902	412.3051	2899.3796	230.7248
3	1.7	6309.4033	502.0852	3268.2847	260.0812
5	2.2	7037.3062	560.0097	3555.7457	282.9566
7	2.6	7533.3945	599.4871	3751.4591	298.5309
8	2.9	7633.3945	607.4448	3851.4591	306.4887

Regresión para películas de 50 mg triclosán

$$r^2 = 0.8129$$

Regresión para películas de 100 mg triclosán

$$r^2 = 0.8821$$

9. REFERENCIAS

Al Khouri F.N., Roblot-Treupel L. Fessi H., Devissaguet J. Puisieux F. *Development of a new process for the manufacture of polyisobutylcyanoacrylate nanocapsules*. Int. J. Pharm. 28, pp. 125-132, (1986).

Álvarez Román R. "*Diseño, elaboración y evaluación de un parche transdérmico a partir de una dispersión polimérica coloidal de tamaño nanométrico formada por la técnica de emulsificación-difusión*", Tesis de licenciatura. UNAM. FES-Cuautitlán, (2000).

Chávez, B. I., Olvera, A. Ganem, D. Quintanar, *Liberación de sustancias lipofílicas a partir de nanocápsulas poliméricas*, Rev. Soc. Química de México, 349-356; No. 4, (2002).

Chávez Monroy F., "*Estudios de la liberación de sustancias lipofílicas en sistemas nanoencapsulados*", Tesis de licenciatura. UNAM, FES-Cuautitlán, (2002).

Chedgzoy P., Winckle G., *Triclosan: release from transdermal adhesive formulations and in vitro permeation across human epidermal membranes*, Int. J. Pharm. 235, pp. 229-236, (2002).

Clarke's Isolation and Identification of drugs, 2^a. Edición, London, pp. 533, 784, 487, 468, 830, 474, 911, (1986).

Diccionario de especialidades farmacéuticas, Ediciones PLM. 44^a. Edición, México, (1998).

Drexler K. *Nanotechnology (Engines of creation)*, Anchor Books, New Cork, (1986).

Donbrow M. *Microcapsules and nanoparicles in medicine and pharmacy*. CRC Press, USA, Charper 6, pp. 126-148, (1992).

Gary W. C. *Transdermal drug delivery*. Cosmetics Toiletries. 106(5), pp. 97-108 (1991).

Gasco M.R., Trotta M. *Nanoparticles from microemulsions*. Int. J. Phram. pp. 29, 267-268, (1986).

Gale R., et al. *Transdermal Drug Delivery, Pssive*. In, E. Mathiowitz (ed), Encyclopedia of Controlled+ Drug Delivery, vol. 2 John Wiley & Sons. New York. United States of America., pp. 976-990 (1999).

- English J. P. et al. *Fabrication of Controlled-Delivery Devices*. In, E. Mathiowitz (ed), *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, vol. 1, John Wiley & Sons. New York. United States of America., pp. 352, 353, 356, (1999).
- Hadgraft J., Guy R. H. *Transdermal Drug Delivery: Developmental issues and research initiatives*. Drugs and the Pharmaceutical Sciences vol. 35 Marcel Dekker, Inc., New York. (1989).
- Irache J.M., Bergougnoux L., Ezpeleta I. Gueguen J., Orecchioni A.M. *Optimization and in vitro stability of legumin nanoparticles obtained by a coacervation method*. Int. J. Pharm. pp. 126,103-109, (1995).
- Kalia Y. N., Guy R. H., *Modeling transdermal drug release*. Adv. Drug Del. Rev. 48, pp. 159-172, (2001).
- Kreuter J. et al.; *Colloidal Drug Delivery Systems*; Kreuter, Marcel Dekker, Inc.; N. York., USA, 353 págs, (1994).
- Lowman A. M. & Peppas N. A. et al. *Hydrogeles*, In, E. Mathiowitz (ed), *Encyclopedia of Controlles Drug Delivery*, vol. 1, John Wiley & Sons. New York. United States of America., pág. 405, (1999).
- Mcginity J. W. *Aqueous Polymeric Coating for Pharmaceutical Dosage Forms*, 2^a edition, Marcel Dekker. Inc New York., Charper 1, pp. 11-18, (1997).
- Martin A. *Physical Pharmacy*, Lea & Febiger, Philadelphia, Charper 15, pp. 399-400, (1983).
- Maron & Prutton, *Fundamentos de Fisicoquímica*, editorial Limusa, México, pp. 849-879, (2004).
- Peeters R. Kinget R. *Film-forming polymers for colonic drug delivery: I. Syntesis and chemical properties of methyl derivatives of Eudragit S*. Int. J. Pharm. 94, pp. 125-134, (1993).
- Pfister W. R., Hsich D. S. T. *Permeation enhancers compatible with transdermal drug delivery systems*. Part I: Selection and formulation considerations. Pharm . Tach. 9, pp. 132-140, (1900a).
- Pfister W. R., Hsich D. S. T. *Permeation enhancers compatible with transdermal durg delivery systems*. Part II: Systems deing consideration. Pharm. Tech. 10, pp. 54-60, (1900b).
- Piñón Segundo E. *“Desarrollo tecnológico y caracterización de partículas submicrónicas poliméricas como vectores terapéuticos para el tratamiento de enfermedades periodontales”*, Tesis de maestría. UNAM. FES-Cuautitlán, (2003).

Popovich N. G., Ansel H. C. *Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems*. 5th edition. Lea & Febiger. Philadelphia, pp. 307-346 (1990).

Quintanar-Guerrero D. Tesis Doctoral N°. 2950, Universidad de Ginebra, Suiza, (1997a).

Quintanar-Guerrero D.; Allémann E. ; Fessi H.; Doelker E. *Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers*. Drug Dev. Ind. Pharm., 24, 1113-1117 (1998).

Quintanar-Guerrero D.; Alléman E., Fessi H.; Doelker E. French Patent Appl. 97, 09, 672, (1997b).

Quintanar-Guerrero D.; Alléman E., Fessi H.; Doelker E. *Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly (D,L-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique*. Int. J. Pharm. 143 pp. 133-141 (1996).

Quintanar-Guerrero, Alléman, E., Doelker, E. y Fessi H. "A mechanistic study of the formation of polymer nanoparticles by the emulsification-diffusion technique". Colloid Polym, 640-647, (1997c).

Robert H. Perry, *Biblioteca del Ingeniero Químico*, 5ª. edición, Mc Graw Hill, México, pág. 3-98, (1982).

Rolland A. *Pharmaceutical particle carriers*. Therapeutic applications, Grunds and the Pharmaceutical Sciences vol. 61 Marcel Dekker, Inc. New York, pp. 367-421, (1993).

Silva Álvarez M. "Estudio del transporte de sustancias por vía cutánea o mucosal, evaluación de la liberación y penetración en piel de Naproxeno formulado en parches transdérmicos elaborados a partir de dispersiones submicrónicas", Tesis de licenciatura. UNAM. FES-Cuautitlán, (2004).

Tae-Wan Lee, Jin-Chul Kim, *Hydrogel patches containing Triclosan for acne treatment*, European J. Pharm. and Biopharm., 56, pp. 407-412, (2003).

The Merck Index. *An encyclopedia of chemical, drugs, and biological*. 20th edition. Merck & Co. Inc. New Jersey, pp. 631,521, (1996).

Toral María Teresa, *Fisicoquímica de superficies y sistemas dispersos*, Ediciones Urmo, Bilbao, pp. 126-154, (1973).

Vila Jato J. L., *Tecnología Farmacéutica*, Editorial Síntesis, Madrid España, pp. 441-445, vol. II, (2001).

Wade A., Weller P. J. *Handbook of pharmaceutical excipients*, 2a. Edición, Amer. Pharm. Ass: Washington and Pharmaceutical Press. London. (1994).