



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y USO
DE NANOPARTÍCULAS FARMACÉUTICAS
(INVESTIGACIÓN BIBLOGRÁFICA)”

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA
P R E S E N T A
MARICELA DE LA CRUZ MEDINA

ASESOR: DR. ROBERTO DÍAZ TORRES

CUAUTITLÁN IZCALLI EDO. DE MEX.

2010



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

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

ASUNTO: **VOTOS APROBATORIOS**
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DRA. SUEMI-RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES
ATN: **L.A. ARACELI HERRERA HERNANDEZ**
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

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

“Preparación, caracterización y uso de las nanopartículas farmacéuticas (Investigación bibliográfica)”

que presenta la pasante: Maricela de la Cruz Medina
con número de cuenta: 09802891-3 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

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

A T E N T A M E N T E
“POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU”

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 1 de Diciembre de 2009.

PRESIDENTE DAR. Juan José Díaz Esquivel

VOCAL DESS. Rodolfo Cruz Rodríguez

SECRETARIO Dr. Roberto Díaz Torres

PRIMER SUPLENTE Dra. Flora Adriana Ganem Rondero

SEGUNDO SUPLENTE MI. Claudia Mariano Hernández

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Roberto Díaz, por todo el apoyo y la paciencia que me tuvo durante el desarrollo de este trabajo, por sus consejos, y por haberme escuchado cuando lo necesitaba. Mil gracias Doc.

A mis sinodales por el tiempo que le dedicaron a la revisión de este trabajo.

A la FES porque en ella pude desarrollarme como persona para que ahora pueda desempeñarme como profesionalista

A mis amigos Hellen, Isela, Monse, Maine, Jaz, Agustín, Danny y Ray, por su amistad y su apoyo, y por todos los momentos agradables que compartimos.

A mis tías, tíos y abuelitos, por todo el apoyo que me han brindado en cada momento, por estar siempre que los necesitaba y por ser ejemplo para que yo llegara hasta este punto de la vida.

Sobre todo Gracias a Dios, por haber puesto en mi camino a todas estas personas tan maravillosas justo en el momento preciso para que me impulsaran cuando yo más lo necesite.

DEDICATORIAS

A mis padres Andrés y Laura, que me dieron la vida y me han apoyado en cada paso, por brindarme la oportunidad de crecer intelectualmente, por todos los sacrificios que tuvieron que hacer para brindarme esta oportunidad y que hasta ahora podrá comenzar a dar frutos, los amo papis.

A mis hermanos que con su cariño y apoyo me alentaron siempre para ser una mejor persona, a Ana Laura que fue mi cómplice muchas veces, y que me apoyo y defendió siempre; a Andrés que con su ejemplo me ha demostrado que es mejor caerse y levantarse mil veces antes que darse por vencido; y a Sandy, la más peke, que con su cariño me ha hecho sentir especial desde que nació, y que me ayudo a crecer junto con ella como persona. Va por ustedes mugrositos.

A mi esposo Jesús, por el amor y el apoyo que me ha dado desde que lo conocí, y que no me ha dejado caer desde entonces.

A mi chaparrita preciosa, Africa, que iluminó mi vida desde el día que llegó a este mundo y me ha llenado de amor desde entonces. Todo el esfuerzo que he hecho para poder culminar de este trabajo es por ti princesa, porque te has convertido en el motor que mueve mi vida. Te quiero mucho.

*“Para hacer cosas grandes y triunfar en la vida
hay que aprender a sacrificarse”*

I N D I C E

INDICE DE TABLAS	v
INDICE DE FIGURAS	vi
ABREVIATURAS	ix
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. OBJETIVOS.....	3
3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN	4
4. ANTECEDENTES	5
4.1. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA.....	5
4.1.1. SISTEMAS MOLECULARES	6
4.1.1.1. Ciclodextrinas	6
4.1.1.2. Dendrímeros.....	8
4.1.1.3. Anticuerpos	9
4.1.2. SISTEMAS CELULARES	10
4.1.3. SISTEMAS COLOIDALES	10
4.1.3.1. Microemulsiones.....	12
4.1.3.2. Liposomas	14
4.1.3.3. Nanopartículas	15
4.2. FUNDAMENTOS DE VELOCIDAD DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS.....	16
5. NANOPARTÍCULAS.....	20
5.1. DEFINICIÓN.....	20
5.2. CLASIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS	22
5.3. PROPIEDADES DE LAS NANOPARTÍCULAS.....	23
6. DISEÑO DE NANOPARTÍCULAS	25
6.1. LA ESTABILIDAD DE LAS NANOEMULSIONES.....	25
6.2. MÉTODOS DE EMULSIFICACIÓN DE ALTO CONSUMO DE ENERGÍA.....	27
6.3. MÉTODOS DE EMULSIFICACIÓN DE BAJO CONSUMO DE ENERGÍA	29

7. METODOS DE PREPARACIÓN DE NANOPARTICULAS	33
7.1. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR POLIMERIZACIÓN	33
7.1.1. Polimerización en emulsión	33
7.1.1.1. Polimerización en una fase acuosa continua	35
7.1.1.2. Polimerización en emulsión en una fase orgánica continua	42
7.1.2. Polimerización interfacial.	44
7.2. DEPOSICIÓN DE SOLVENTE	46
7.3. EMULSIFICACIÓN- EVAPORACIÓN DE SOLVENTE	47
7.4. SALTING-OUT	49
7.5. EMULSIFICACIÓN-DIFUSIÓN	50
7.6. MICROEMULSIÓN POR FUSIÓN	50
7.7. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS SOLIDAS LIPIDICAS	51
7.7.1. Homogenización a alta presión	53
7.8. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR PROTEÍNAS	55
7.8.1. Producción de nanopartículas de albúmina en una emulsión oleosa.....	55
7.8.2. Producción de nanopartículas de gelatina en emulsión oleosa.....	57
7.8.3. Producción de nanopartículas por desolvatación de macromoléculas.	58
7.9. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE CARBOHIDRATOS	61
7.10. PREPARACION DE BIOVECTORES SUPRAMOLECULARES	63
7.11. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE SUPERFICIE MODIFICADA.....	66
7.12. NANOPARTÍCULAS DE HIDROGEL	67
7.12.1. Nanopartículas de hidrogel a base de quitosán	68
7.12.2. Nanopartículas de hidrogel a base de alginato	71
7.12.3. Nanopartículas de hidrogel a base de alcohol polivinílico.....	72
7.12.4. Nanopartículas de hidrogel a base de óxido de polietileno y polietilén amina	72
7.12.5. Nanopartículas de hidrogel a base de poli vinil pirrolidona.....	73
8. METODOS DE CARACTERIZACIÓN.....	74
8.1. Tamaño de partícula.....	75
8.2. Peso Molecular.....	76
8.3. Densidad.....	76
8.4. Cristalinidad	76
8.5. Carga superficial	77
8.6. Hidrofobicidad	77
8.7. Otros métodos	78

8.7.1. Potencial zeta	78
8.7.2. Encapsulación de fármaco.....	79
8.7.3. Liberación del fármaco	79
9. ASPECTOS FARMACÉUTICOS	81
9.1. Purificación.....	81
9.2. Secado por congelación.....	83
9.3. Esterilización.....	84
10. APLICACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS EN PREPARACIONES FARMACÉUTICAS	85
10.1. PAPEL DE LAS NANOPARTICULAS EN FARMACIA	85
10.2. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS	86
10.2.1. Citostáticos.....	86
10.2.2. Antibióticos.....	87
10.2.3. Vacunas.....	88
10.3. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR LAS DIFERENTES VÍAS DE ADMINISTRACIÓN	89
10.3.1. Vía intravenosa	89
10.3.2. Vía oral.....	90
10.3.3. Vía subcutánea	92
10.3.4. Vía ocular.....	93
10.3.5. Vía nasal.....	94
10.3.6. Vía pulmonar.....	95
10.3.7. Vía tópica	96
11. PRINCIPALES MATERIALES USADOS EN LA ELABORACION DE NANOPARTICULAS.....	98
11.1. POLÍMERO IDEAL SOLUBLE	102
11.2. POLÍMEROS BIODEGRADABLES O BIOEROSIONABLES	102
11.3. PRINCIPALES POLÍMEROS EMPLEADOS EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS:	104
11.3.1. Poliésteres	104
11.3.2. Polímeros naturales	107
11.3.3. Polímeros sintéticos	109

11.4. INGREDIENTES PARA LA ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS (SLN)	111
11.5. TENSOACTIVOS MÁS EMPLEADOS EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....	111
11.6. SOLVENTES.....	112
12. CONCLUSIONES.....	115
13. APENDICES	116
13.1. INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA	116
13.2. HIDROGELES.....	121
14. GLOSARIO.....	125
15. REFERENCIAS	131

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Clasificación de liposomas.....	14
Tabla 2	Métodos de caracterización de nanopartículas.....	74
Tabla 3	Comportamientos térmicos observados por DSC	77
Tabla 4.	Estabilidad de suspensiones en base a su Potencial Z.....	79
Tabla 5	Principales métodos para la purificación de Nanopartículas en un laboratorio.	82
Tabla 6	Fármacos encapsulados, así como sus diferentes sitios/microorganismos blanco.	86
Tabla 7	Comparación de nanopartículas poliméricas y nanopartículas lipídicas	98
Tabla 8	Polímeros naturales y sintéticos usados en aplicaciones farmacéuticas:.....	100
Tabla 9	Lípidos usados para la elaboración de Nanopartículas Solidas Lipídicas (SLN).....	111
Tabla 10	Tensoactivos y cotensoactivos utilizados para la elaboración de nanopartículas	112
Tabla 11	Ejemplos de solventes empleados en la industria farmacéutica.....	113
Tabla 12	Ejemplos de solventes Clase 2 empleados en la industria farmacéutica.....	114
Tabla 13	Ejemplos de solventes clase 3 en la industria farmacéutica.....	114
Tabla 14	Influencia de la concentración del monomero, concentración del iniciador, y temperatura en el tamaño de partícula de nanopartículas de poli (metacrilato de metilo).	116
Tabla 15	Influencia de los estabilizantes y el medio ácido en el tamaño de partícula de nanopartículas de polibutilcianoacrilato.	116
Tabla 16	Nanoparticulas de copolímero acrílico.....	117
Tabla 17	Medicamentos y productos médicos nanotecnológicos aprobados por la FDA.....	118
Tabla 18	Fármacos y materiales biologicamente activos vinculados a nanoparticulas (incorporación o adsorción).....	119
Tabla 19	Monómeros comúnmente usados en la síntesis de hidrogeles sintéticos de aplicación farmacéutica	123

INDICE DE FIGURAS

Figura 1 a) Dimensiones de las ciclodextrinas, b) estructura cíclica.	7
Figura 2 Ubicación de los diferentes grupos funcionales en la molécula de ciclodextrinas.	7
Figura 3 Dendrímero PAMAM.....	9
Figura 4 Representación esquemática de la estructura de una microemulsión	13
Figura 5 Morfología de las diferentes estructuras de liposomas	15
Figura 6 Clases de sistemas de liberación controlada de fármaco	17
Figura 7 Liberación controlada de moléculas de fármaco desde un dispositivo de entrega de fármaco de membrana tipo reservorio de permeación controlada de varias formas en donde el fármaco es contenido en un compartimiento reservorio encerrado por una membrana polimérica	18
Figura 8 Liberación controlada de moléculas de fármaco desde un dispositivo de entrega de fármaco de matriz polimérica tipo dispersión por difusión controlada, en donde el fármaco sólido es dispersado homogéneamente en la matriz polimérica.....	19
Figura 9 Sistemas nanoscópicos.....	20
Figura 10 Representación esquemática de una nanopartícula sólida lipídica (SLN)	21
Figura 11 Representación esquemática de las NE y NC	23
Figura 12 Diagrama de la influencia de la estabilidad estérica en las partículas (gotas) de la emulsión	26
Figura 13 Paso de difusión en un sistema típico de agua/alcohol+tensoactivos.	30
Figura 14 (a) Diagrama típico de formulación-composición para un sistema de agua/tensoactivo no iónico, mostrando las zonas de inversión de emulsión. Diagrama típicos de equilibrio de fases para algunos sistemas HLD en función de la composición, (b) para cantidades bajas de tensoactivo, y (c) para cantidades altas de tensoactivo.....	32
Figura 15 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en emulsión	34
Figura 16 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de metacrilato de metilo).....	36

Figura 17	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de poli alquil cianoacrilato).....	37
Figura 18	Mecanismo de polimerización de poli alquil cianoacrilato	38
Figura 19	Mecanismo de polimerización del poli glutaraldehído	41
Figura 20	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de polimetildenemalonato).....	42
Figura 21	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en una fase orgánica continua	43
Figura 22	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización interfacial (NP's de Poli (N α -N ϵ -L-Lisin ditereftaloato).	45
Figura 23	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización interfacial (NP's de Poli alquil cianoacrilato).	46
Figura 24	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Deposición de solvente.....	47
Figura 25	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de evaporación de solvente	48
Figura 26	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Salting-Out	49
Figura 27	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Emulsificación difusión.....	50
Figura 28	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Microemulsión por fusión	51
Figura 29	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN).	54
Figura 30	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por Proteínas (Producción de NP's de albúmina en una emulsión oleosa).....	56
Figura 31	Representación esquemática de la producción de nanopartículas por Proteínas (NP's de gelatina en emulsión oleosa)	57
Figura 32	Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por Desolvatación de macromoléculas.....	59
Figura 33	Derivatización del polisacárido.....	61
Figura 34	Representación esquemática de la producción de nanopartículas de carbohidratos.	62

Figura 35 Estructura esquemática de (a) una lipoproteína de baja densidad y de (b) un BioVector Supramolecular.	63
Figura 36 Principio de la preparación de un Bio-Vector Supramolecular.	64
Figura 37 Representación esquemática de la preparación de biovectores supramoleculares.....	65
Figura 38 Nanopartículas de hidrogel a base de quitosan preparadas por el método micelar inverso. .	70
Figura 39 Técnica de purificación de fluido tangencial	83
Figura 40 Endocitosis de NP en cultivos celulares observados con microscopia electrónica de transmisión.....	89
Figura 41 Comportamiento adhesivo de un sistema de partículas coloidales después de una administración oral.....	91
Figura 42 Vía de administración subcutánea	93
Figura 43 Vía de administración nasal.....	94
Figura 44 Vía de administración pulmonar.....	95
Figura 45 Regiones amorfas y cristalinas en un polímero.	99
Figura 46 Diferentes métodos de sistemas de liberación de fármacos basados en polímeros biodegradables.....	103
Figura 47 Síntesis del poli (láctico-co-glicólico)	105
Figura 48 (a) microesferas de PLGA y (b) degradación de una micropartícula.....	106
Figura 49 Síntesis del poli (ácido glicólico) PGA.....	107
Figura 50 Estructura del quitosan.....	109
Figura 51 (a) Eudragit RL o RS, (b) Eudragit o Kollicoat EMM.....	110
Figura 52 Nuevos métodos de entrecruzamiento usados en hidrogeles	122

ABREVIATURAS

HA	Ácido hialurónico
PEG	Polietilen glicol
PLA	Ácido poliláctico
PLGA	Ácido poli láctico-co-glicólico
PCL	Policaprolactona
PHB	Polihidroxi butirato
PF	Propilen fumarato
EG	Etilen glicol
PBO	Oxido de polibutileno
CD	Ciclodextrina
PAAm	Poliacrilamida
PNIPAAm	poli (N-isopropil acrilamida)
PVA	Alcohol polivinílico
PVAmina	Poli vinil amina
PVAc	Polivinil acetato
PNVP	Poli N-vinil pirrolidona
PAAc	Ácido poli acrílico
HEMA	Hidroxietil metacrilato
PAN	Polialquilonitrilo
PGEMA	Poliglucosietil metacrilato
PEO	Oxido de polietileno
PPO	Oxido de polipropileno
PHPMA	Polihidroxi propil metacrilamida
PEMA	Poli etil metacrilato
PMMA	Poli metil metacrilato.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de los sistemas de liberación controlada (SLC) surge como una alternativa de las formas de dosificación convencionales, que presentan limitaciones para determinados fármacos que tienen una vida media biológica reducida y que requieren de una administración repetida a pequeños intervalos de tiempo, lo cual puede ser un gran inconveniente para el paciente, así como la causa de grandes fluctuaciones en los niveles de fármaco a nivel plasmático. Algunas formas de dosificación convencionales, tales como las tabletas o las inyecciones por vía intravenosas suministran una dosis de fármaco tan alta que en algunas ocasiones pueden causar reacciones adversas, y así mismo ser imprevisibles e ineficaces, ya que a menudo es necesaria la administración de una alta dosis de fármaco para asegurar que la cantidad de fármaco llega al sitio de acción, y en la cantidad adecuada. Debido a que el efecto terapéutico no solo se logra por la cantidad de fármaco que llega al sitio de acción, sino también por el tiempo que logra mantenerse dicho fármaco en el cuerpo en las concentraciones necesarias, estos SLC incrementan la duración del proceso de liberación del fármaco, logrando no solo la liberación controlada, sino prolongada. (Edlund y Albertsson 2002)

La propuesta de liberación controlada como una disciplina distinta en el área farmacéutica data de finales de la década de los 60's cuando nuevas tecnologías fueron exploradas. Los pioneros en SLC fueron los comprimidos orales, cápsulas y en algunos casos los transdérmicos. En la década de los 70's se introduce un nuevo concepto, los denominados sistemas terapéuticos que definen aquellos dispositivos que optimizan la terapia incorporando un sistema de ingeniería avanzada. (Barratt 2003)

El interés de la liberación de fármacos a través de acarreadores se ha incrementado considerablemente durante los últimos años. Las razones son obvias, si el acarreador tiene el potencial para dirigir al fármaco a su sitio de acción, un efecto farmacológico óptimo podría obtenerse y al mismo tiempo, los efectos adversos del fármaco podrían disminuir.

La ciencia farmacológica actual encamina sus estudios hacia la búsqueda de un vehículo capaz de transportar el fármaco hasta su lugar de acción, a fin de evitar, en lo posible, sus efectos adversos. De acuerdo con este criterio, en los últimos años se han desarrollado nuevos sistemas de administración de fármacos, como lo son los liposomas, las nanopartículas y las

micropartículas, entre otros, siendo portadores coloidales particulares que se usan como sistemas de liberación. (Ramos, y otros 2007)

Los sistemas de transporte a base de materiales sólidos poliméricos en forma de nanopartículas y micropartículas presentan mayores ventajas que los liposomas en cuanto a estabilidad y reproducibilidad, en un intento de favorecer la penetración de los fármacos en zonas corporales de difícil acceso (barreras hísticas, neoplasias, etc.). Por un lado deben evitarse concentraciones excesivas que provoquen mayor frecuencia y gravedad de efectos colaterales y por otro, concentraciones insuficientes que pueden originar la pérdida del efecto terapéutico.

Lo que se pretende con el siguiente trabajo es dar una visión de algunos de los métodos de preparación de nanopartículas, su caracterización, así como su aplicación terapéutica, con el fin de que sirva de apoyo para aquellos que se inician en este campo o que desean conocer un poco más sobre la preparación de las nanopartículas.

2. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Elaborar un documento de referencia para la preparación, caracterización y usos de nanopartículas farmacéuticas, mediante la revisión bibliohemerográfica, el cual pueda servir de apoyo didáctico a los alumnos de las licenciaturas de Químico Farmacéutico Biólogo y de Farmacia

OBJETIVOS PARTICULARES

- Recopilar información bibliohemerográfica sobre la elaboración de nanopartículas realizando una selección de diferentes fuentes, la cual nos permita demostrar la importancia de la aplicación de las nanopartículas en la industria farmacéutica
- Mencionar algunos de los materiales más utilizados en la preparación de nanopartículas de acuerdo a los diferentes métodos de preparación para ejemplificar la importancia del conocimiento de éstos para un empleo adecuado
- Ordenar y esquematizar la información de acuerdo a los diferentes métodos de preparación para que pueda ser utilizada como un documento de referencia para técnicos, industriales y docentes.

3. METODOLOGÍA DE INVESTIGACIÓN

Se llevó a cabo una investigación biblio-hemerográfica y electrónica sobre los métodos más empleados para la obtención de nanopartículas con aplicación farmacéutica.

Con la información recopilada se realizó un análisis de las fuentes consultadas y se seleccionaron los artículos y los libros que contenían la información que se consideró conveniente para satisfacer las necesidades del presente trabajo,

Se procuró que las fuentes consultadas estuvieran en un rango de entre 2000-2008, ya que como es un tema de actualidad las fuentes de información se siguen renovando constantemente, sin embargo se consideraron algunos textos que por su relevancia aun cuando fueron publicados antes del rango mencionado sirvieron de gran soporte para la realización de esta compilación de métodos de preparación de nanopartículas.

4. ANTECEDENTES

4.1. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

A partir de los 90`s y hasta la fecha se ha vivido un gran auge en la investigación de los sistemas de liberación controlada, obteniendo sistemas inteligentes que han revolucionado el área farmacéutica.

Los sistemas de liberación controlada abarcan una amplia gama de técnicas, desde aerosoles hasta cápsulas de alta tecnología que liberan su carga en un sitio específico del cuerpo.

Los SLC pueden clasificarse en tres grandes grupos (Melgoza, Rodríguez y Gonzalez 2002):

- a) Sistemas de liberación continua o sostenida
- b) Sistemas de liberación prolongada
- c) Sistemas de liberación repetida o diferida

Otra forma de lograr que el fármaco llegue a su sitio de acción es usando acarreadores que lleven el fármaco al lugar de acción en la dosis y tiempo deseados.

Los sistemas acarreadores presentan algunas ventajas, ya que el organismo esta protegido de la posible toxicidad de los activos, mientras que estos a su vez son protegidos de la acción del organismo, del medio ambiente y al mismo tiempo mantiene la velocidad de liberación. Los materiales más utilizadas para estos sistemas deben ser biodegradables, y dentro de ellos destacan las ciclodextrinas, fosfolípidos, esteroides, diferentes tipos de tensoactivos y polímeros naturales (albúmina, gelatina, colágeno) o sintéticos (poli anhídridos, poli ϵ -caprolactona, poliláctico-glicólico, poliortoésteres, etc.). (Ivonne 2007)

Para conseguir sistemas altamente eficientes se necesita que:

- La superficie sea hidrofílica
- La superficie no sea activante
- La adsorción de componentes del suero sea baja
- El tamaño de la partícula no importa si la superficie es la adecuada

Su éxito en la terapéutica depende de la capacidad para mantenerse en la circulación y su capacidad para alcanzar el tejido blanco.

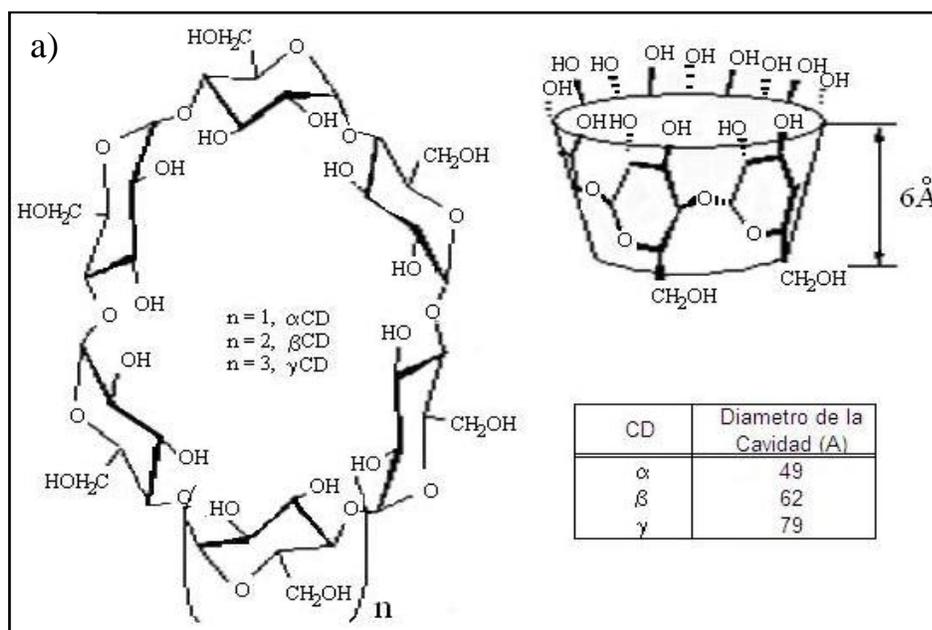
Los acarreadores más utilizados se pueden clasificar en tres grupos:

- a) Moleculares
- b) Celulares
- c) Coloidales

4.1.1. SISTEMAS MOLECULARES

4.1.1.1. Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas son una familia de oligosacáridos cíclicos naturales no reductores, constituidos por 6, 7, u 8 unidades de D (+)-glucopiranosas unidas por enlaces α (1 \rightarrow 4) glicosídicos, que se denominan α -, β - y γ -ciclodextrina, respectivamente. Las ciclodextrinas presentan una forma tridimensional de cono anular truncado. (Thorsteinn-Loftsson 2004)



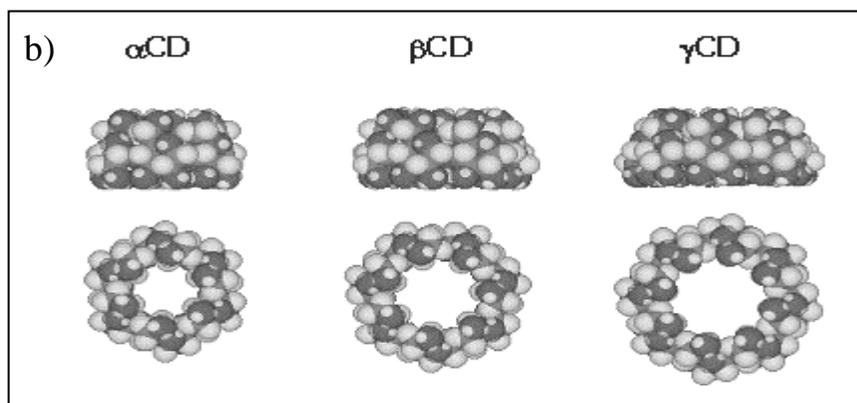


Figura 1 a) Dimensiones de las ciclodextrinas, b) estructura cíclica (Szejtli 1998).

Los grupos hidroxilo primarios enlazados al carbono 6 de cada unidad glucopiranosica quedan orientados hacia el borde más estrecho del cono, mientras que los hidroxilos secundarios situados en los carbonos 2 y 3 quedan, por consiguiente, dirigidos hacia el borde más ancho del cono anular. Así, todos los grupos hidrofílicos se ubican alrededor de las aberturas de la cavidad y orientados hacia afuera. De esta forma, la ciclodextrina presenta un revestimiento externo de naturaleza altamente hidrofílica. Los átomos de hidrógeno metálicos de los carbonos 3 y 5, así como los pares electrónicos de los enlaces glicosídicos quedan orientados hacia el interior de la cavidad, dándole un carácter marcadamente hidrofóbico y apolar. (Szejtli 1998)

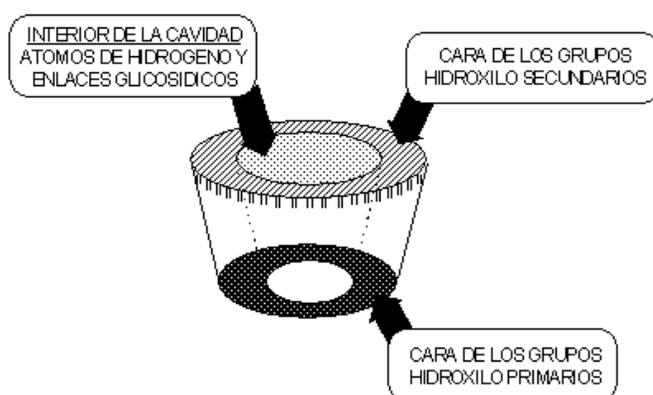


Figura 2 Ubicación de los diferentes grupos funcionales en la molécula de ciclodextrinas (Szejtli 1998).

4.1.1.2. Dendrímeros

Los dendrímeros son macromoléculas ampliamente ramificadas, con muchos brazos manando del centro. Los dendrímeros han mostrado ser de gran utilidad en el campo terapéutico, sobre todo para el desarrollo de vacunas, antivirales, antibacterianos y anticancerígenos.

Inicialmente los dendrímeros se estudiaron como acarreadores de fármacos usándolos como micelas convencionales unimoleculares (núcleo hidrofóbico y periferia hidrofílica) solubles en agua, micelas inversas unimoleculares (núcleo hidrofílico y periferia hidrofóbica) y cajas dendríticas para la encapsulación no covalente de fármacos. Por lo tanto los dendrímeros pueden ser utilizados como acarreadores de dos maneras: (Guillies-JMJF 2005) (Namazi-MA 2005)

- a) las moléculas de fármaco pueden estar atrapadas físicamente dentro de la estructura dendrítica.
- b) Las moléculas de fármaco pueden estar unidas covalentemente en la superficie o en otros sitios del dendrímero, formando conjugados fármaco-dendrímero.

Actualmente se usan dendrímeros PAMAM (poliamidoamina), poli (propilenamina) con diaminobutano (DAB) o diaminoetano (DAE), como núcleo y POE (poli óxido de etileno) como injertado con carbosilano (Csi-PEO) para su estudio sistémico in vitro. (Gonzalo y Muñoz-Fernandez s.f.)

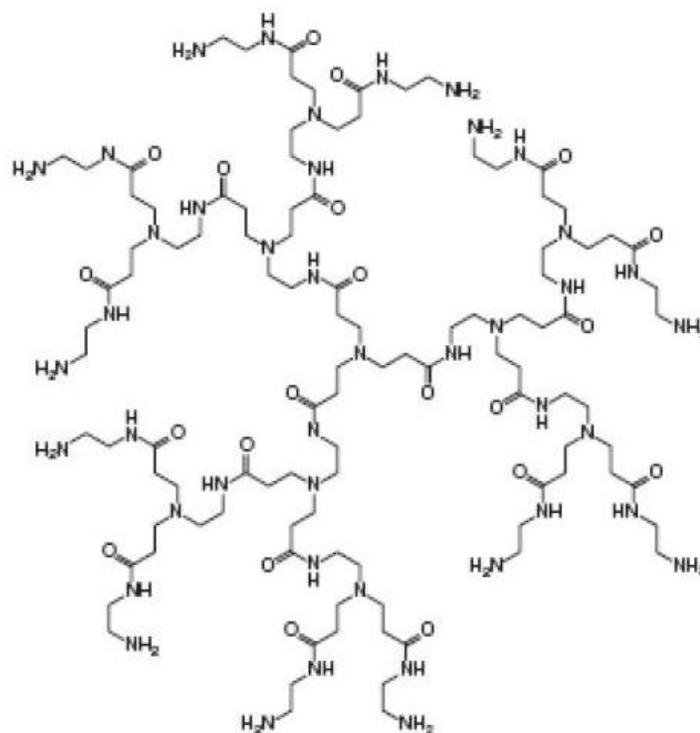


Figura 3 Dendrímero PAMAM (Gonzalo y Muñoz-Fernandez s.f.)

4.1.1.3. Anticuerpos

La conjugación de un fármaco con un anticuerpo hace posible la liberación de un fármaco en un sitio específico, incrementando su efectividad terapéutica. Por lo tanto esta liberación dirigida logra reducir las dosis de fármaco administrada, y con ello su toxicidad. Varios estudios han demostrado que los conjugados de acarreadores coloidales con anticuerpos pueden reconocer tejidos específicos, logrando una liberación dirigida y con ello un incremento en la eficiencia de estos acarreadores.

En la elección de los anticuerpos se desea que sea altamente específico y posea gran afinidad para unirse con las células correspondientes. En la elección del fármaco, éste debe tener un grupo funcional al cual se pueda unir el anticuerpo, sin pérdida de la actividad farmacológica. Para conseguir la conjugación entre fármaco y anticuerpo normalmente se utiliza una molécula de unión. Entre las más utilizadas están el dextrano y el ácido poliglutámico. (McCarron, y otros s.f.)

4.1.2.SISTEMAS CELULARES

Dentro de los sistemas celulares se encuentran los **Eritrocitos**: Los eritrocitos forman parte de los vectores para diferentes sustancias bioactivas, incluyendo fármacos y proteínas. Desde una perspectiva terapéutica, los eritrocitos han sido empleados con dos objetivos principales: (Gutierrez-Millán y Zarzuelo-Castañeda 2004)

1. Actuar como reservorios de fármacos, liberándolo de forma sostenida dentro del cuerpo, con lo que se logra modificar la posología del fármaco, así como los intervalos de dosificación.
2. Dirigir el fármaco específicamente al sistema fagocitario mononuclear para que lleguen al hígado, bazo y médula ósea, que son los sitios donde se lleva a cabo la destrucción de los eritrocitos.

4.1.3.SISTEMAS COLOIDALES

Por su parte los sistemas coloidales son utilizados para incrementar la disponibilidad del fármaco así como su índice terapéutico, mejorar su estabilidad química, controlar la velocidad de liberación o cambiar la velocidad de deposición del fármaco, marcar al fármaco para una liberación dirigida y disminuir el reconocimiento por el sistema inmune. (Boylan James 2002)

Dentro de los sistemas coloidales mas investigados se encuentran las nanopartículas, micro y nanoemulsiones, liposomas y los conjugados de polímeros-fármaco.

La existencia de estos sistemas coloidales ha sido de gran importancia debido a su gran impacto en el área farmacéutica y al uso que se les ha dado para conseguir los efectos deseados. Por supuesto, se deben considerar otros aspectos para que dichos sistemas cumplan su objetivo:

- La cantidad de fármaco que puede ser encapsulada,
- La posibilidad de marcar el fármaco de interés,
- El destino del sistema in vivo (interacción con el medio biológico, velocidad de degradación, acumulación en tejidos)

-
-
- Toxicidad aguda y crónica
 - Producción a gran escala
 - Características físicas y químicas que le confieren estabilidad al fármaco
 - Costos de producción

Existen diversas características para las cuales se pueden clasificar a los sistemas coloidales. Algunos de estos sistemas pueden ser clasificados de acuerdo a su forma física o a sus propiedades funcionales.

Una de las propuestas para su clasificación ha sido la de llamarlos sistemas coloidales de primera, segunda y tercera generación: (Ivonne 2007)

- Los llamados sistemas de la primera generación son capaces de ir liberando la sustancia activa específicamente en el sitio blanco, pero no son considerados como vectores porque ellos tienen que ser implantados en el sitio de acción.
- Los sistemas de la segunda generación son acarreadores y tienen un tamaño de partícula menor a $1\mu\text{m}$. Ellos son capaces no solo de liberar la sustancia activa en el sitio blanco, también pueden llevarlo por una ruta general después de su administración. Este grupo incluye a los llamados acarreadores coloidales pasivos, tales como los liposomas, nanocápsulas y nanoesferas. Sin embargo, después de la administración la mayoría de los acarreadores coloidales son rápidamente eliminados de la circulación por las células fagocíticas del hígado y del bazo. Esto limita su potencial para liberar su contenido en sitios específicos.
- Los sistemas que forman la tercera generación también son acarreadores, y son capaces de reconocer el sitio blanco. Por ejemplo, los anticuerpos monoclonales pertenecen a este grupo, así como también los liposomas, nanocápsulas y nanoesferas recubiertas con estos anticuerpos específicos u otros ligantes. Por supuesto, el acarreador coloidal es mucho más eficiente si es estable.

Otra forma de clasificar a los sistemas coloidales de liberación controlada puede ser la siguiente: acarreadores particulados (capsulares, monolíticos o celulares) y acarreadores solubles o moleculares (conjugados de macromoléculas y fármaco)

Dentro de los sistemas acarreadores particulados se encuentran los liposomas, microesferas, nanopartículas, microemulsiones, y eritrocitos. Las partículas acarreadoras más biocompatibles son las células del mismo paciente, tales como eritrocitos o linfocitos, los cuales son cargados *ex vivo* por electroporación o procesos osmóticos. Las desventajas de estos acarreadores son los procedimientos tan complejos que se llevan a cabo en su preparación.

Los sistemas moleculares incluyen polímeros solubles en los cuales las moléculas del fármaco se han unido covalentemente, conjugados de fármaco y anticuerpos como las inmunotoxinas y conjugados de fármacos con otras macromoléculas (ciclodextrinas y dendrímeros). Aunque los acarreadores moleculares permiten una extensa distribución del fármaco incorporado, una limitante para su uso es la pequeña carga de fármaco que puede estar llevando cada molécula, contrario a los acarreadores particulados, que pueden llevar un gran número de moléculas de fármaco en cada entidad. (Barratt 2003)

4.1.3.1. Microemulsiones

El término microemulsión fue introducido en 1940 por Hoar y Schulman, quienes generaron un sistema transparente a partir de la titulación de una emulsión con hexanol. El término microemulsión algunas veces es restringido para los sistemas en los cuales las gotas están tan pequeñas que las propiedades físicas de las dispersiones en una fase oleosa o acuosa son indistinguibles de las que corresponden a cada una de las fases.

La transparencia de las microemulsiones se debe a los diámetros tan pequeños de las gotas, normalmente menores a 140nm, las cuales son muy pequeñas comparadas con las gotas de las emulsiones normales (1 - 10 μ m).

La definición propuesta por Danielsson y Lindman considera una microemulsión como “sistemas que consisten de agua, solvente orgánico y anfifílico(s) que constituyen una solución líquida monofásica ópticamente isotrópica y termodinámicamente estable”

Una diferencia esencial entre una microemulsión y una emulsión es que la microemulsión se forma espontáneamente y, a diferencia de la emulsión, no requiere de un trabajo mecánico para su formación.

Una simple representación de la estructura de las microemulsiones es el modelo de gota donde las gotas de la microemulsión son rodeadas por una capa interfacial que consiste de ambas moléculas de un tensoactivo y un cotensoactivo: (J. Kreuter 2002) (Lawrence 2000)

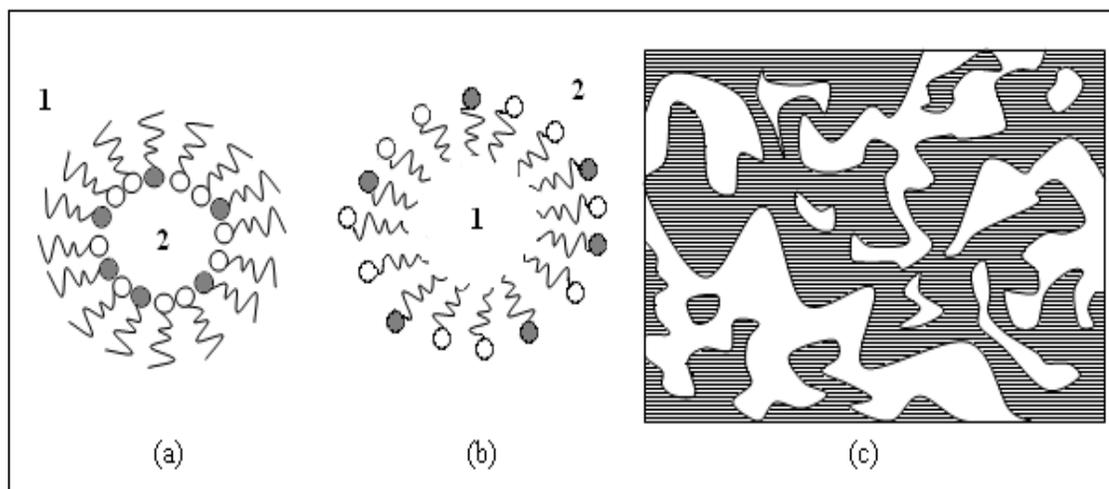


Figura 4 Representación esquemática de la estructura de una microemulsión. (a) Gotas de microemulsión agua en aceite; (b) gotas de microemulsión aceite en agua; (c) estructura bicontínua irregular. (1= aceite, 2 = agua) (J. Kreuter 2002)

Las ventajas farmacéuticas que proporcionan las microemulsiones son:

- Protección del fármaco solubilizado en la fase dispersa
- Aumento de la biodisponibilidad
- Solubilización asegurada
- Absorción por endocitosis, micelación o capilar linfático

4.1.3.2. Liposomas

Los liposomas son estructuras altamente versátiles con grandes aplicaciones terapéuticas y analíticas. Están compuestos por una bicapa lipídica, donde las cadenas hidrofóbicas de los lípidos forman la bicapa y sus cabezas polares están orientadas tanto hacia la parte extraventricular como hacia la cavidad interna. Estas estructuras son similares a las células, y pueden ser utilizados para acarrear moléculas de DNA, proteínas y fármacos. Los liposomas utilizados para el área farmacéutica consisten en un esqueleto de fosfolípidos y un tamaño menor a 100nm. (Edwards 2006)

Los liposomas pueden ser clasificados en base a sus propiedades estructurales o en base al método de preparación usado. Estos dos modos de clasificación son, en principio, independientes uno del otro. En la siguiente tabla se muestran las diferentes vesículas con sus siglas de uso regular, (J. Kreuter 2002)

Tabla 1 Clasificación de liposomas

A. En base a los parámetros estructurales	
MLV	Grandes vesicular multilamelares, > 0.5µm
OLV	Vesículas oligolamelares, 0.1-1µm
US	Vesículas unilamelares (todos los tamaños)
SUV	Pequeñas vesículas unilamelares, 20-100nm
MUV	Vesículas unilamelares de tamaño medio
LUV	Grandes vesículas unilamelares, > 100nm
GUV	Vesículas unilamelares gigantes (vesículas con diámetros > 1µm)
MVV	Vesículas multivesiculares (usualmente grandes > 1µm)
B. En base al Método de preparación del liposoma	
REV	Vesículas simples u oligolamelares hechas por método de evaporación en fase inversa
MLV-REV	Vesículas multilamelares hechas por el método de evaporación en fase inversa
SPLV	Vesículas plurilamelares estables
FATMLV	MLV congeladas y descongeladas
VET	Vesículas preparadas por métodos de exclusión
FPV	Vesículas preparadas por compresión francesa
FUV	Vesículas preparadas por fusión
DRV	Vesículas deshidratadas-rehidratadas
BSV	Bubblesomas

Clasificación de liposomas de acuerdo a sus siglas en ingles. (J. Kreuter 2002)

La siguiente figura muestra una representación esquemática de los principales tipos de liposomas:

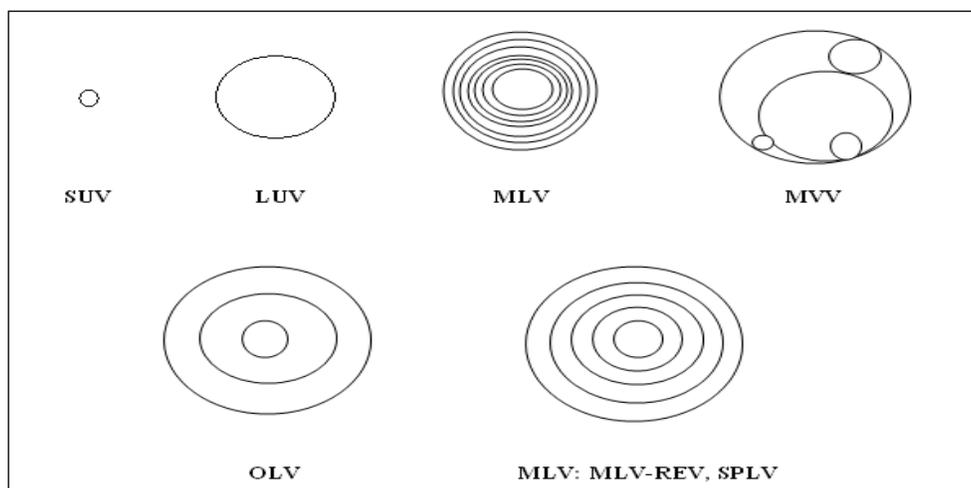


Figura 5 Morfología de las diferentes estructuras de liposomas. SUV = Pequeñas vesículas unilamelares. LUV = Grandes vesículas unilamelares. MLV (clásica) = Vesículas multilamelares. MVV = Vesículas multivesiculares. OLV = Vesículas oligolamelares. MLV (MLV-REV, SPLV) = Vesículas multilamelares no clásicas. (J. Kreuter 2002)

Las aplicaciones terapéuticas de los liposomas son:

- 1) Generar nuevos sistemas de liberación que sean estables, que permanezcan por largo tiempo en circulación, y formen complejos de DNA-liposomas catiónicos.
- 2) Liposomas para liberación tópica, ocular, dérmica, pulmonar, parenteral, oral, etc. (Ivonne 2007)

4.1.3.3. Nanopartículas

Las nanopartículas han sido usadas como potenciales sistemas de liberación de fármacos debido a su capacidad de solubilizar compuestos hidrofóbicos, mejorando su biodisponibilidad y protegiéndolos de la degradación biológica, física o química; además de poder ser dirigidas alrededor de un órgano en particular y, debido a su tamaño, atravesar barreras biológicas. (Date, Joshi y Patravale 2007)

Las características, así como sus propiedades se describen en el siguiente capítulo.

4.2. FUNDAMENTOS DE VELOCIDAD DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS.

El término “liberación controlada” tiene un sentido que va más allá del ámbito de la acción de mantener el fármaco. Esto también implica una predictividad y reproducibilidad en la cinética de liberación del fármaco, el cual quiere decir que la liberación del fármaco por un sistema de liberación controlada se desarrolla a una velocidad que solo es predecible cinéticamente, pero es reproducible de una unidad a otra.

Dependiendo de la sofisticación de la tecnología en uso, los sistemas de entrega de fármaco de liberación controlada pueden ser clasificados en las siguientes tres categorías:

1. Sistemas de liberación de fármaco de velocidad preprogramada
2. Sistemas de liberación de fármaco de activación modulada
3. Sistemas de liberación de fármaco de reacción regulada

Estas tres categorías de sistemas de liberación de fármaco (Figura 6) consisten de las siguientes características estructurales comunes:

1. Compartimiento reservorio de fármaco
2. Elemento de velocidad controlada
3. Fuente de energía

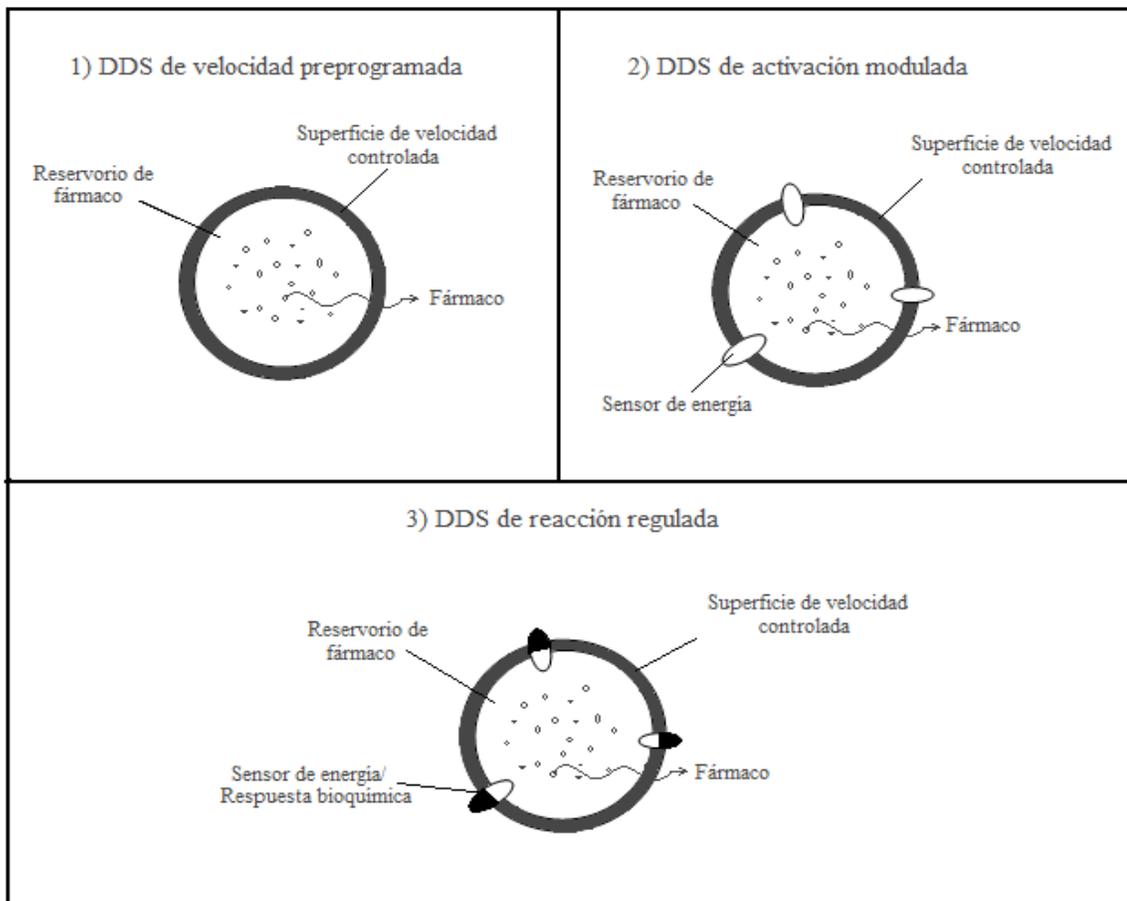


Figura 6 Clases de sistemas de liberación controlada de fármaco (Chien 1992)

Los sistemas de liberación de fármaco de velocidad preprogramada pueden verse como la primera generación de los sistemas de entrega de fármaco de liberación controlada (DDS por sus siglas en inglés, Drug Delivery Systems), proporcionando las bases tecnológicas para el posterior desarrollo de los sistemas de liberación de fármaco de activación modulada, que son la segunda generación de DDS, y de los sistemas de liberación de fármaco de reacción controlada, que son la tercera generación de los DDS. Por lo tanto el análisis de los mecanismos y fundamentos involucrados en los sistemas de liberación controlada de fármacos por los sistemas de liberación por velocidad preprogramada nos ayudarán a obtener un entendimiento básico de los principios científicos y tecnológicos fundamentales detrás de los distintos tipos de DDS, y en sentar las bases para el desarrollo de los sistemas de liberación por activación modulada y reacción modulada. (Chien 1992) (Rodríguez-Crespo 2002)

Esencialmente, los sistemas de liberación controlada de velocidad preprogramada están constituidos por los siguientes dos tipos de sistemas de liberación controlada.

A. Sistemas de liberación por permeación controlada de membrana polimérica.

En estos tipos de liberación controlada el compartimiento reservorio de fármaco es encapsulado dentro de una membrana polimérica, el cual actúa como un elemento de velocidad controlada, y la liberación del fármaco es controlada por esta permeación a través de una membrana de velocidad controlada (Figura 7).

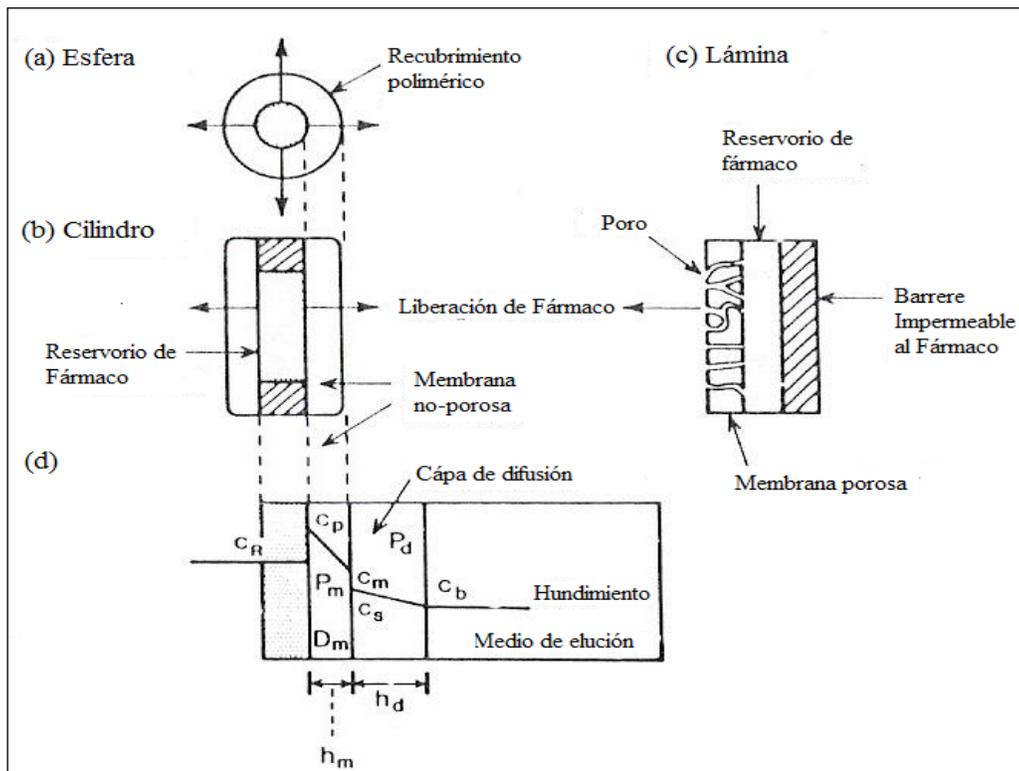


Figura 7 Liberación controlada de moléculas de fármaco desde un dispositivo de entrega de fármaco de membrana tipo reservorio de permeación controlada de varias formas en donde el fármaco es contenido en un compartimiento reservorio encerrado por una membrana polimérica. Donde C_R , es la concentración de fármaco en el compartimiento reservorio de fármaco; C_p , es la solubilidad del fármaco en la fase polimérica; C_m , es la concentración del fármaco en la interface polímero/solución; C_s , es la concentración de fármaco en la interface solución/polímero; C_b , es la concentración del fármaco en la mayor parte de la solución de elución; h_m , es el espesor de la pared de la membrana; y h_d , es el espesor de la capa de difusión hidrodinámica. (Chien 1992)

B. Sistemas de liberación por difusión controlada de matrices poliméricas.

En este tipo de sistemas de liberación controlada el reservorio de fármaco es dispersado homogéneamente a través de una matriz polimérica, la cual actúa como un elemento de velocidad controlada, y la liberación del fármaco es controlada por esta difusión a través de una matriz polimérica de velocidad controlada (Figura 8) (Chien 1992).

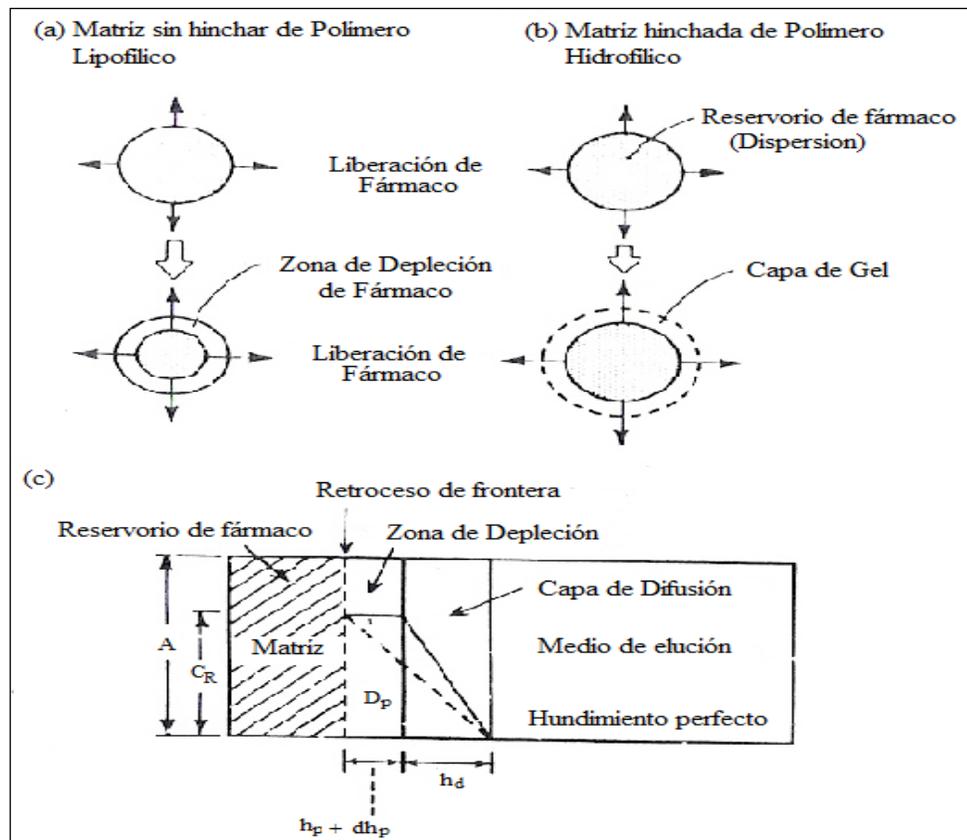


Figura 8 Liberación controlada de moléculas de fármaco desde un dispositivo de entrega de fármaco de matriz polimérica tipo dispersión por difusión controlada, en donde el fármaco sólido es dispersado homogéneamente en la matriz polimérica. Donde A , es la cantidad inicial de fármaco sólido impregnado en una unidad de volumen de la matriz polimérica; C_R , es la concentración de reservorio o la concentración saturada del fármaco en la fase polimérica; D_p , es la difusividad del fármaco en la matriz polimérica; h_p y h_d , son el espesor de la zona de depleción del fármaco en la matriz y de la capa de difusión hidrodinámica en la superficie inmediata del dispositivo, respectivamente; y $d(h_p)$, la diferencia de espesores en la zona deformada seguida de la liberación de más fármacos sólidos. (Chien 1992)

5. NANOPARTÍCULAS

5.1. DEFINICIÓN

Las nanopartículas con propósitos farmacéuticos son definidas por Kreuter en 1983 y esta definición fue adoptada por la Enciclopedia de Tecnología Farmacéutica la cual nos dice que éstas son partículas coloidales que se encuentran en un rango de tamaño de 1 hasta 1000nm (1 μ m), las cuales consisten de materiales macromoleculares y pueden ser usadas terapéuticamente como acarreadores de fármacos, en las cuales el activo (fármaco o material biológicamente activo) esta disuelto, entrampado, encapsulado, adsorbido o enlazado en la matriz de la nanopartícula. (J. Kreuter 2007)

Como sistemas nanométricos que son, permiten que el fármaco que llevan asociado pueda atravesar las diferentes barreras biológicas del organismo lo cual no se podría realizar con los sistemas convencionales de liberación ya que en éstos son fundamentalmente las propiedades fisicoquímicas las que condicionan su absorción y biodistribución. (Vila Jato 2006)

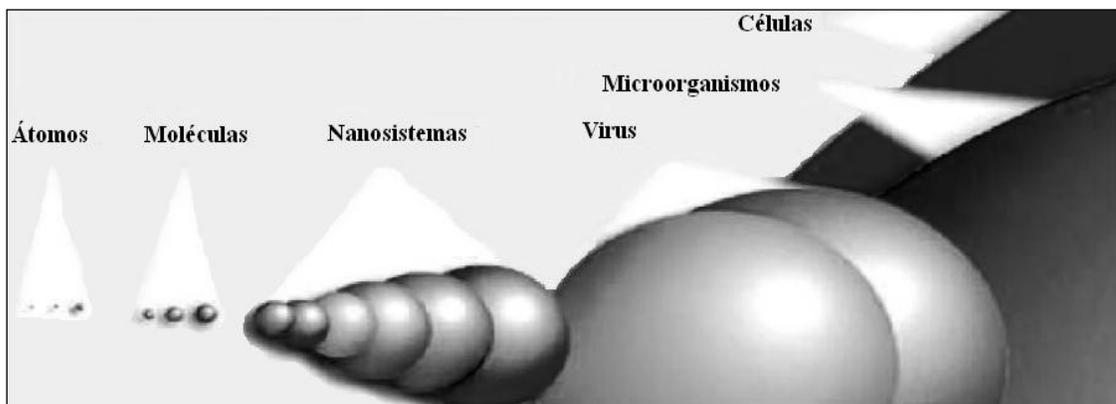


Figura 1 Los sistemas nanoscópicos son mayores que las moléculas típicas y algunos más pequeños que los virus. En tamaño son similares a muchas proteínas lo que constituye una de las razones por las que pueden interactuar en el interior de las células. (Vila Jato 2006)

Los métodos de preparación de nanopartículas son actualmente muy numerosos pudiendo agruparlos en aquellos en los que se realiza una polimerización a partir de monómeros o bien aquellos que parten del polímero. La elección del método de preparación depende de las características del material formador del sistema y de las características de solubilidad del principio activo que se desea incorporar. Las propiedades del material en aspectos como la biocompatibilidad, características de degradación, características de liberación deseadas para el principio activo son fundamentales a la hora de definir el tipo de aplicación biomédica. De éstas consideraciones es evidente que la formulación y método de preparación a utilizar requiera una definición inicial precisa de las necesidades y objetivos que se desean alcanzar.

Además de las nanopartículas poliméricas, destacan las formadas a partir de lípidos sólidos, conocidas como SLN (nanopartículas sólidas lipídicas). En las cuales se han conjuntado las ventajas de las partículas sólidas con las de las emulsiones y la de los liposomas. Las SLN se han generado simplemente intercambiando el lípido líquido de las emulsiones por un lípido sólido, lo que significa que las SLN son sólidas a temperatura ambiente así como a la temperatura del cuerpo. Las ventajas de la utilización de las nanopartículas lipídicas como transportadores incluyen la utilización de lípidos fisiológicamente aceptables para su preparación, la posibilidad de evitar el uso de solventes orgánicos en su preparación y un espectro de utilización alto ya que se utilizan para la administración sobre la piel, por vía oral y por vía intravenosa (Villafuerte y García 2008).

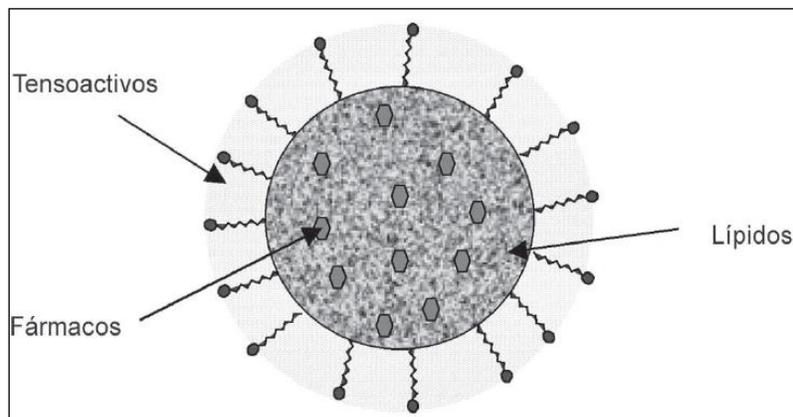


Figura 2 Representación esquemática de una nanopartícula sólida lipídica (SLN) (Villafuerte y García 2008)

Las ventajas de usar nanopartículas como sistemas de liberación son.

- a) El tamaño de partícula y las características de la superficie son fácilmente manipulables.
- b) El control sobre la liberación del fármaco durante la transportación hasta llegar al sitio específico de acción, logrando una mayor eficacia del fármaco y la reducción de los efectos adversos.
- c) La liberación controlada y las características de degradación de las partículas pueden ser modificadas por cambios en los constituyentes de la matriz.
- d) La localización en un sitio específico puede ser alterada mediante la unión de ligandos en la superficie de las partículas o usando guías magnéticas.
- e) El sistema puede ser usado para varias rutas de administración incluyendo oral, nasal, parenteral, intraocular, etc.
- f) La posibilidad de solubilizar activos hidrofóbicos.

5.2. CLASIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Las nanopartículas pueden ser clasificadas en dos familias, nanoesferas y nanocápsulas:

- Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los cuales el fármaco está contenido en una cavidad oleosa o acuosa, la cual está rodeada de una membrana polimérica. Estas pertenecen a los llamados sistemas no convencionales. Cumplen con dos objetivos fundamentales, liberación temporal y ubicación espacial.
- Las nanoesferas son sistemas coloidales sólidos formados por una densa matriz polimérica (biodegradable o no) en la que un activo puede ser dispersado, adsorbido o unido químicamente.



Figura 3 Representación esquemática de las NE y NC (Brigger, Dubernet y Couvreur 2002)

El principal desafío en la preparación de nanopartículas es la elección de la propia estructura que se propondrá al final para la liberación del fármaco, la biocompatibilidad del polímero, las propiedades fisicoquímicas del fármaco, y el propósito terapéutico. (Anton, Benoit y Saulnier 2008) (Boylan James 2002)

El tamaño de las nanopartículas permite que sean administrados en inyecciones intravenosas a diferencia de muchos otros sistemas coloidales que ocluyen las agujas y los capilares. Los materiales que se usan en la preparación de las nanopartículas son esterilizables, atóxicos y biodegradables, por ejemplo, la albúmina, etilcelulosa, caseína y gelatina, por lo general se preparan con un proceso similar al método de coacervación para microencapsulación (Brigger, Dubernet y Couvreur 2002).

5.3. PROPIEDADES DE LAS NANOPARTÍCULAS

Algunas de las propiedades fundamentales de las Nanopartículas incluyen su tamaño, el área superficial, la velocidad de sedimentación, las propiedades magnéticas y ópticas, y el transporte biológico (Ram B y Unday B 2006).

- g) Tamaño de partícula: Debido a su tamaño, comparado con el tamaño de los componentes en las células, las Nanopartículas son de gran interés en la liberación de fármacos.

-
-
- h) Superficie de las Nanopartículas: El número de moléculas presentes en una partícula incrementa el área superficial lo que disminuye el tamaño de partícula. Para una partícula esférica sólida de diámetro d , el área superficial por unidad de masa, S_g , está dado por la ecuación:

$$S_g = \left(\frac{\pi d^2}{4} \right) \left(\frac{\pi d^3 \rho_s}{6} \right)^{-1} = \frac{3}{2d\rho_s}$$

Cuando el tamaño de las partículas está en una escala nanométrica, las irregularidades de la superficie juegan un papel importante en la adhesión. Las Nanopartículas pueden mostrar una fuerte adhesión debido al incremento del área de contacto por atracción de Van de Waals.

- i) Suspensión y sedimentación de Nanopartículas: Debido al pequeño tamaño de las Nanopartículas, es fácil que se suspendan en un líquido. Las micropartículas grandes precipitan más fácilmente debido a la fuerza de gravitación, considerando que la fuerza de gravitación es mucho menor en una nanopartícula. Debido a lo anterior las suspensiones de micropartículas grandes tienen que indicar en la etiqueta “agítense antes de usarse”; es por eso también que las suspensiones de micropartículas no pueden ser usadas para inyecciones. Para las Nanopartículas la atracción gravitacional no es más fuerte que el movimiento térmico aleatorio de las partículas, por lo tanto, las nanopartículas no precipitan en las suspensiones, lo que ofrece una larga vida media.
- j) Propiedades magnéticas y ópticas: Las pequeñas Nanopartículas exhiben propiedades magnéticas y ópticas únicas. Algunos materiales son usados para la liberación dirigida y calentamiento de los fármacos. Por ejemplo, la interacción de pulsos electromagnéticos con Nanopartículas puede ser utilizado para mejorar la liberación del fármaco en tumores sólidos.

Las Nanopartículas de oro y plata muestran diferentes propiedades ópticas dependiendo de su tamaño. El color intrínseco de las Nanopartículas cambia con el tamaño debido a la superficie de resonancia. Algunas Nanopartículas son útiles en la detección molecular, así como en diagnóstico.

6. DISEÑO DE NANOPARTÍCULAS

La mayoría de las formulaciones de nanopartículas están basadas efectivamente en emulsiones de escala nanométrica, llamadas nanoemulsiones, el estudio de la formulación de nanopartículas ha tenido que incluir conocimientos en los fenómenos que gobiernan la formación de nanoemulsiones. Las nanoemulsiones son emulsiones de escala nanométrica, que típicamente exhiben diámetros por debajo de los 500nm. Las nanoemulsiones son frecuentemente conocidas como miniemulsiones, emulsiones finas dispersas, o emulsiones submicrónicas, pero todas son caracterizadas por una gran estabilidad debido a su tamaño tan pequeño, esencialmente a consecuencia de la significativa estabilización estérica entre las gotas, lo cual explica porque el crecimiento de Ostwald solo se adapta a las gotas en el proceso de desestabilización.

Las innumerables variantes de formulación de nanopartículas están principalmente basadas en tres diferentes grupos de métodos para la generación de nanoemulsiones, por ejemplo, métodos de alto consumo de energía, métodos de emulsificación espontánea de bajo consumo de energía, y el método de temperatura de inversión de fases (PIT) de bajo consumo de energía.

6.1. LA ESTABILIDAD DE LAS NANOEMULSIONES.

Las emulsiones son sistemas termodinámicamente inestables, debido a que la energía libre de la formación de la emulsión (ΔG_f) es mayor a cero. La gran energía interfacial positiva ($\lambda\Delta A$) es mayor que la entropía de formación ($T\Delta S_f$) de las gotas (partículas), que también es positiva. Los términos de λ y de ΔA representan respectivamente la tensión de la superficie y el área de la superficie generada por el emulsificante. La inestabilidad de la emulsión es por lo tanto inducida por un signo positivo de ΔG . Como se muestra en la siguiente ecuación:

$$\Delta G = \lambda\Delta A - T\Delta S_f$$

De acuerdo a esto, la desestabilización física de la emulsión está relacionada con la espontánea tendencia hacia una mínima área interfacial entre las dos fases inmiscibles. Por lo tanto, una disminución del área interfacial se consigue por dos mecanismos: (1) Floculación en mayor parte seguida de la coalescencia, y (2) crecimiento (maduración) de Ostwald.

En los sistemas de nanoemulsiones, la floculación se previene naturalmente por estabilización estérica, esencialmente debido al tamaño submicrónico de las gotas. En resumen cuando las capas se superponen en la superficie de las gotas, la repulsión estérica ocurre por dos orígenes principales. La primera es la infavorable mezcla de cadenas establecidas en la capa de adsorción, dependiendo de la densidad interfacial, el grosor de la capa interfacial δ , y el parámetro Flory-Huggins $X_{1,2}$ (el cual refleja la interacción entre la capa interfacial y el solvente). El segundo es la reducción de la entropía configuracional, debido a la tensión por el doblamiento de las cadenas, el cual ocurre cuando la distancia interparticular h disminuye hasta δ . (Anton, Benoit y Saulnier 2008)

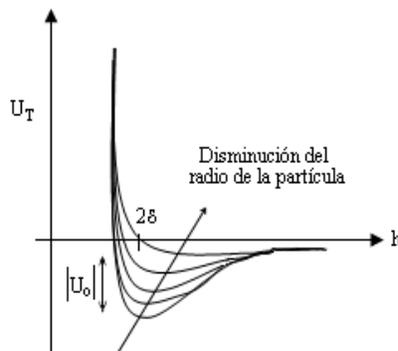


Figura 1 Diagrama de la influencia de la estabilidad estérica en las partículas (gotas) de la emulsión. En donde, U_T es la suma de las energías de interacción; $|U_0|$, la predisposición para coagular (Anton, Benoit y Saulnier 2008).

La desestabilización de las nanoemulsiones solo es debida al fenómeno de transferencia de masa entre las gotas a través de la fase gruesa (continua), lo cual es descrito en la literatura como el crecimiento de Ostwald en las emulsiones. En teoría, en este proceso de

desestabilización, cualquier cambio en el radio de las gotas (partículas) induce diferencias en el potencial químico del material dentro de las partículas. La reducción de la energía libre en la emulsión es resultado de la reducción del área interfacial, y por lo tanto del crecimiento de grandes gotas en la emulsión a expensas de algunas pequeñas. Como consecuencia, la difusión del material inerte de las partículas disminuye lentamente, reduciendo el grado de crecimiento.

6.2. MÉTODOS DE EMULSIFICACIÓN DE ALTO CONSUMO DE ENERGÍA.

La formación de este tipo de partículas de escala nanométrica esta determinada por parámetros de formulación directamente controlables tales como la cantidad de energía, la cantidad de tensoactivo y la naturaleza de los componentes, diferentes a los métodos de baja energía, determinados por las propiedades fisicoquímicas intrínsecas y el comportamiento del sistema.

Dispositivos y procesos: El proceso mecánico generalmente incluye emulsiones nanométricas, el primer paso para la obtención de las partículas, es la deformación y el rompimiento de las gotas macrométricas iniciales, seguido de la adsorción del tensoactivo en la interface para asegurar la estabilidad estérica. El reto de este mecanismo mecánico de nanoemulsificación es la combinación de estos dos pasos, a fin de permitir y optimizar la generación de nanoemulsiones.

Los aparatos tipo rotor, no proveen una buena dispersión en términos del tamaño de las gotas y la monodispersión en comparación con las nanoemulsiones generadas por otro tipo de aparatos. En efecto, la energía provista en su mayor parte es dispersada, generando calor y comenzando a perder viscosidad. Por lo tanto, la energía libre adicional ΔG_f necesaria para crear la enorme área interfacial de la nanoemulsión no es obtenida.

La agitación por ultrasonificación en dispersiones sólidas macroscópicas, resultado de una sucesión de depresión y compresión mecánica, generando burbujas de cavitación, que tienden irremediamente a implosionar. La eficiencia de la nanoemulsificación por sonicación depende tanto de la composición de la emulsión como del poder del aparato. La adición de tensoactivos y/o monómeros han mostrado un importante parámetro para reducir eficientemente el tamaño de las gotitas.

La elección del tensoactivo, los monómeros, la fase acuosa y oleosa: La naturaleza y cantidad del tensoactivo y del monómero usado en la formulación determina completamente la distribución del tamaño, la estructura y la estabilidad de la nanoemulsión y de las nanopartículas resultantes. Por ejemplo, Landfester presenta a partir de una nanoemulsión (por sonicación):

- 1) La formulación de las partículas inorgánicas jugando con las propiedades fisicoquímicas de gotas de sal fundida.
- 2) La formulación de nanoesferas poliméricas por síntesis polimérica in situ dentro de las gotas de la nanoemulsión.
- 3) La combinación de ambos tipos de tecnología para producir nanopartículas híbridas, y finalmente
- 4) El uso de aceites como fase hidrófoba para generar nanocápsulas por síntesis polimérica específica y segregación de la región aceite/agua, o por nanoprecipitación interfacial.

Potenciales ventajas y desventajas de los métodos de alto consumo de energía: En general, los métodos de nanoemulsificación de alto consumo de energía presentan un buen potencial para la generación de nanopartículas poliméricas, ya que los parámetros de la formulación son directamente controlables. Así que la adición de monómeros, iniciadores o la aparición de moléculas encapsuladas no tienen influencia en el proceso de emulsificación, determinado por el alto proceso de corte, en todo caso puede ser que las moléculas adicionales como monómeros, iniciadores o agentes estabilizadores interfieran con el proceso de emulsificación, a diferencia de los métodos de bajo consumo de energía donde la nanoemulsificación es totalmente determinada por el comportamiento fisicoquímico de los tensoactivos. Sin embargo cuando el objetivo es la encapsulación de moléculas frágiles como los péptidos, proteínas o ácidos nucleicos, los métodos de alto consumo de energía pueden dar lugar a la degradación, desnaturalización o pérdida de la actividad durante el proceso. El tiempo (por ejemplo la energía), provee un incremento en la homogeneidad de la nanoemulsión en función del volumen de nanoemulsificación, lo cual no es fundamental en el caso de los métodos de bajo consumo de energía (Anton, Benoit y Saulnier 2008)

6.3. MÉTODOS DE EMULSIFICACIÓN DE BAJO CONSUMO DE ENERGÍA

Las partículas de emulsiones de escala nanométrica pueden ser obtenidas por el cambio de las propiedades fisicoquímicas intrínsecas del tensoactivo, co-tensoactivo, y excipientes que componen la formulación. Dos grupos de métodos son propuestos y desarrollados en la literatura:

- 1) El primero describe a la emulsificación como un fenómeno espontáneo, donde se utiliza la rápida difusión de disolventes solubles en agua, solubilizando en primer lugar a la fase orgánica, moviéndose hacia la fase acuosa cuando las dos fases son mezcladas (efecto Ouzo, que consiste en la formulación de una nanoemulsión debido a la especificidad y la rápida difusión de un solvente orgánico desde la fase oleosa hacia la acuosa)
- 2) El segundo es llamado método de temperatura de inversión de fases (PIT), el cual usa las propiedades específicas de los tensoactivos polietoxilados para modificar sus coeficientes de partición en función de la temperatura, y conducir a la creación de sistemas bicontinuos donde la temperatura es cercana a la PIT, rompiendo la nanoemulsión generada.

Nanoemulsificación espontánea:

Mecanismo de difusión y teoría de la vía de difusión: Primero es la característica de espontaneidad de estos fenómenos, que simplemente son el resultado del no-equilibrio de los dos líquidos cuando se ponen en contacto sin agitación. Solo bajo condiciones específicas ocurre la emulsificación espontánea, y en algunos casos se generan las partículas nanométricas. El proceso de emulsificación espontánea incrementa por sí mismo la entropía y como consecuencia disminuye la energía libre de Gibbs del sistema. La evolución del sistema es básicamente promovido por la difusión de un soluto dentro de la fase en la que tiene mayor solubilidad. Este comportamiento de emulsificación espontánea puede ser previsto por el seguimiento de la vía de difusión en un diagrama de fases.

La emulsificación espontánea presuntamente se deriva principalmente de la turbulencia interfacial estrechamente relacionada con el gradiente de tensión superficial inducido por la difusión de solutos entre las dos fases. Las gotas (partículas) son creadas como resultado de un doblamiento lo suficientemente grande, similar al comportamiento dinámico entre las fronteras

de la microemulsión y la fase gruesa del sistema multifase en equilibrio. Dicho fenómeno ha sido llamado *dispersión*, la entropía aumenta espontáneamente y disminuye la energía libre de Gibbs del sistema. El otro mecanismo de emulsificación espontaneo, es conocido como *condensación*, también se supone que se relaciona inmediatamente a la floculación de la concentración anfifílica interfacial.

El mecanismo teórico es propuesto por Ruschak y Miller. La variación de la composición en cada fase (acuosa u oleosa) es directamente representada por líneas rectas en un diagrama ternario de fases, desde los reservorios infinitos, hasta la concentración interfacial. Tales representaciones esquemáticas de la evolución de la concentración dentro de cada fase son llamados pasos de difusión. Este modelo, esta basado en los siguientes supuestos:

- 1) Que no haya un equilibrio de fases que se ponga en contacto, y eventualmente, algunas especies, deberían difundir dentro de la fase opuesta
- 2) Para la fase “semi infinita”, la teoría esta limitada al tiempo, para que las proporciones de ambas fases en contacto mantengan su composición inicial
- 3) Que los coeficientes de difusión de todos los componentes sean igual en una fase, que es precisamente la condición para representar los pasos de difusión así como las líneas rectas, y finalmente,
- 4) Que la interface presente un equilibrio local.

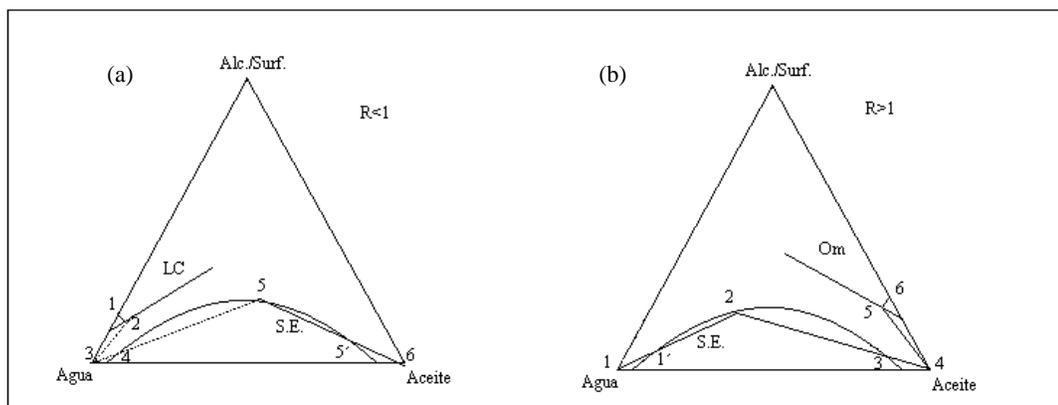


Figura 2 Paso de difusión en un sistema típico de agua/alcohol+tensoactivos. En el caso de la figura (a) con un tensoactivo hidrofílico ($R < 1$), la formación de la fase líquida cristalina (LC) aparece en equilibrio con una sub-fase acuosa pura (segmentos 2-3), después se establece el equilibrio local interfacial con la fase rica en aceite (segmentos 4-5). El paso de difusión es simple y presenta una emulsificación espontanea de gotas hidrofílicas (segmento oleoso 5-5'). El fenómeno es similar en el caso de tensoactivos lipofílicos ($R > 1$), donde en la figura b) se muestra una fase isotrópica que es generalmente formada en la región tensoactivo/fase oleosa. Subsecuentemente la emulsificación espontanea de las gotas de aceite en agua surgen en el segmento (1'-2). (Anton, Benoit y Saulnier 2008)

El estudio de la formulación de la nanoemulsión usando este modelo implica un establecimiento a través del diagrama de fase para revelar la viabilidad y la optimización. En este contexto, se deduce que la potencial influencia de los componentes adicionales debe ser investigada, tanto en los diagramas de fases como en los pasos de difusión. Esto puede, en cierta forma implicar restricciones en términos de facilidad de manejo, modificación y adaptación de acuerdo a las necesidades de la formulación de las nanopartículas.

Método de inversión del punto de emulsión: Este consiste en desviar las características intrínsecas de las microemulsiones termodinámicamente estables (D) o de un cristal líquido (LC) o de una nanoestructura por una dilución progresiva a fin de crear inestabilidad termodinámica pero estabilidad cinética, respectivamente en una nanoemulsión directa o inversa. La adición de agua (w), por ejemplo, en un medio continuo de aceite y tensoactivos (o+s) llevan a debilitar la curvatura interfacial aceite/agua, de este modo inducen al sistema a caer dentro de un estado termodinámicamente favorable de nanoemulsión al mismo tiempo, tal como el crecimiento de Ostwald.

Método de Temperatura de Inversión de Fases (PIT): El concepto de PIT fue introducido en la década pasada por Shinoda y Saito, usando la habilidad específica de los tensoactivos, usualmente no iónicos (NS), como los tensoactivos polietoxilados, para modificar la afinidad por el agua o el aceite en función de la temperatura, y por lo tanto someterse a una inversión de fases. Es más la llamada inversión de fases transicional, ocurre cuando se mezcla la composición, la relativa afinidad de los tensoactivos por las diferentes fases es cambiada, resultando en una gradual modificación de la temperatura. Cuando se utilizan principalmente NS para generar nanoemulsiones por el método PIT, se diseñan mapas de formulación-composición:

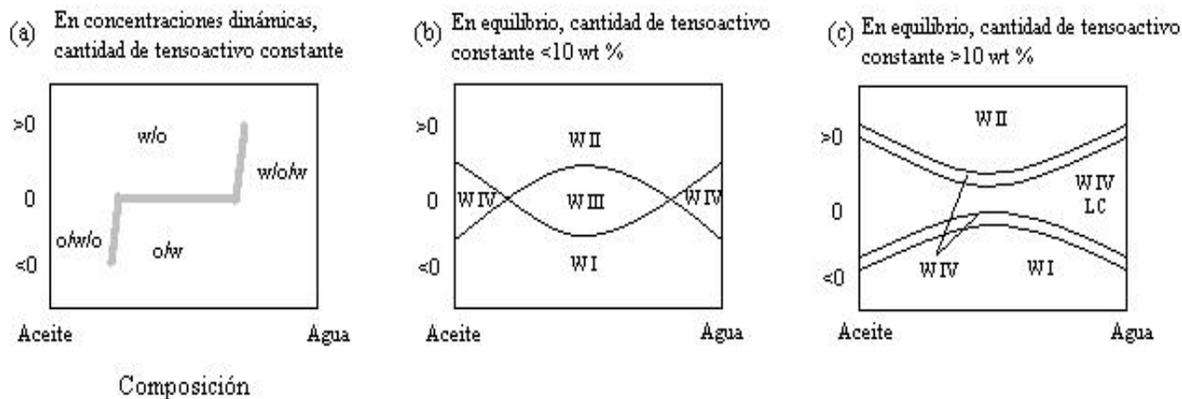


Figura 3 (a) Diagrama típico de formulación-composición para un sistema de agua/tensioactivo no iónico, mostrando las zonas de inversión de emulsión. Diagrama típicos de equilibrio de fases para algunos sistemas HLD en función de la composición, (b) para cantidades bajas de tensioactivo, y (c) para cantidades altas de tensioactivo. (Anton, Benoit y Saulnier 2008)

Bajo agitación constante y para una cantidad de mezcla de tensioactivos en la formulación, la emulsión gradualmente sufre una inversión de fases, el HLD es cambiado por la variación de la temperatura. De acuerdo a la variación de HLD, a una WOR (cantidad de tensioactivo o relación en peso de agua/ aceite) constante, el proceso es llamado *inversión de fases transicional*. (Anton, Benoit y Saulnier 2008)

7. METODOS DE PREPARACIÓN DE NANOPARTICULAS

En la actualidad existen diversos métodos de preparación de nanopartículas, los cuales son modificados constantemente, a continuación se mencionan algunos de los métodos de preparación de nanopartículas más comunes.

7.1. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR POLIMERIZACIÓN

7.1.1. Polimerización en emulsión

El término de polimerización en emulsión fue creado debido a que el monómero es emulsificado en un disolvente por medio de un emulsificador. Después de la polimerización, se obtienen pequeñas partículas en suspensión. Inicialmente se asume que estas partículas son producidas por polimerización de las gotas de monómero en emulsión. Estas se producen como resultado de las partículas del polímero que son tan pequeñas como las gotas de la emulsión inicial. Las micelas que se forman coexisten con una simple molécula de emulsificante que esta presente en la solución y con las moléculas de emulsificante que son adsorbidas en la interface emulsión /gotas, esto estabiliza las gotas de la emulsión. Si asumimos que las moléculas de monómero suelen difundir por las gotitas de la emulsión dentro de las micelas de emulsificante y que las moléculas de monómero solubilizan cuando la polimerización forma un polímero de látex.

Fitch y col. observaron que la concentración del emulsificante no afecta el grado de polimerización, y que la formación de partículas observadas por efecto Tyndall son independientes del grado de polimerización. El número de micelas de emulsificante presentes no afectan el número de partículas formadas. A menor concentración de monómero la polimerización por emulsión puede llevarse a cabo sin ninguna molécula de emulsificante presente. Estas observaciones de Fitch llevan a la conclusión de que el lugar de la iniciación de la polimerización es en la fase del solvente. La iniciación toma lugar en esta fase cuando las moléculas de monómero son alcanzadas por una molécula iniciadora o por una alta energía de radiación. La polimerización y la cadena de crecimiento son mantenidas por nuevas moléculas

de monómeros las cuales difunden con el crecimiento del polímero. La difusión de estas moléculas de monómero a través del crecimiento de las partículas del polímero es mucho más rápida que el proceso de polimerización, esto provee suficiente monómero alrededor de donde se lleva a cabo la polimerización. Las gotas de monómero y las micelas del emulsificante principalmente actúan como reservorios para futuros monómeros y en posteriores etapas como reservorios para las moléculas de emulsificante que estabilizan las partículas del polímero después de la separación de fases y para prevenir la coagulación. Se menciona que algunos sistemas pueden ser polimerizados sin ningún emulsificante.

Inicialmente durante la polimerización en emulsión el crecimiento de las moléculas de polímero permanecen disueltas alrededor de la fase continua. Después de alcanzar cierto peso molecular, las moléculas formadas llegan a ser insolubles de manera que la separación de fases y la formación de partículas indican que ocurre una dispersión de Tyndall. Después de la separación de fases, el monómero adicional y las moléculas de polímero, incluyendo los micro y macro radicales difunden en este aumentando las partículas de polímero, manteniendo el tamaño de futuras partículas. La terminación de la polimerización por la reacción de dos radicales puede tomar lugar antes o después de la formación de las partículas. Los tamaños de las partículas tienen un rango entre 10^3 Da en el caso de las nanopartículas de poli alquil cianoacrilato y 4×10^5 Da para nanopartículas de poli metacrilato metilo. (J. Kreuter 2002)

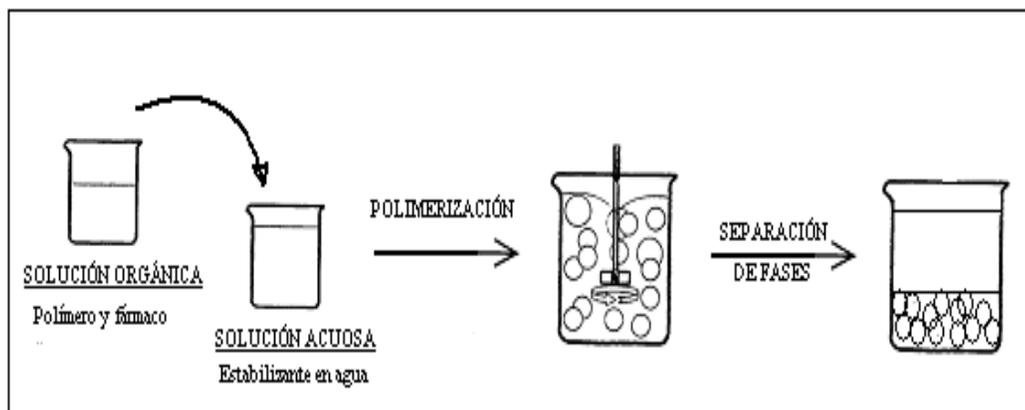


Figura 1 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en emulsión descrito en (J. Kreuter 2002)

7.1.1.1. Polimerización en una fase acuosa continua

I. Nanopartículas de poli metacrilato de metilo

Las nanopartículas de poli metacrilato metilo se degradan muy lentamente. Por esta razón, estas son convenientes como adyuvantes para vacunas cuando se desea lograr una respuesta inmune muy prolongada.

Los monómeros de metacrilato de metilo son solubles en agua en concentraciones superiores al 1.5%, después de la disolución del monómero, la polimerización es iniciada por cualquiera de las dos, alta energía de radiación (500 Krad de rayos γ por una fuente de ^{60}Co) o por la adición química de un iniciador de polimerización como el peroxodisulfato de amonio o potasio y calentando a altas temperaturas. La polimerización puede llevarse a cabo fuera del sistema agua- metacrilato metilo. En lugar de agua pura, una solución buffer de la solución del fármaco o de otro material relacionado con las nanopartículas que pueda ser usado en el medio de polimerización. (Boylan James 2002)

Otra posibilidad para la polimerización del metacrilato de metilo es la iniciación química. En este caso, el sistema es calentado a temperaturas por encima de 65°C , el iniciador (peroxodisulfato de potasio o amonio) es adicionado durante el calentamiento a aproximadamente 40 o 50°C . El peso molecular además del tamaño de partícula de las nanopartículas resultantes incrementa muy significativamente con el incremento de la concentración del monómero, y disminuye muy ligeramente con el aumento de la temperatura y con el incremento de la concentración del iniciador. Un incremento en la concentración del iniciador a una temperatura constante incrementa el número de radicales generados. A una concentración constante de monómero, estas disminuyen el peso molecular de las moléculas de polímero resultante. Un incremento en la temperatura tiene un efecto similar, debido al incremento de la desintegración de las moléculas del iniciador y por lo tanto del número de radicales de nucleación, aunque la concentración de las moléculas del iniciador permanece constante.

Durante este proceso, el peso molecular, así como el tamaño de partícula aumentan con un incremento en la concentración del monómero, disminución de la concentración del iniciador, y disminución de la temperatura. (Ver apéndice Tabla 15) (Donbrow 1991)

Las nanopartículas de poli metacrilato de metilo son generalmente producidas sin la adición de algún emulsificante. Sin embargo las macromoléculas hidrofílicas quizás se presenten en el medio de polimerización por varias razones llevando a una distribución homogénea del tamaño de partícula, debido al agente dispersante. (J. Kreuter 2002)

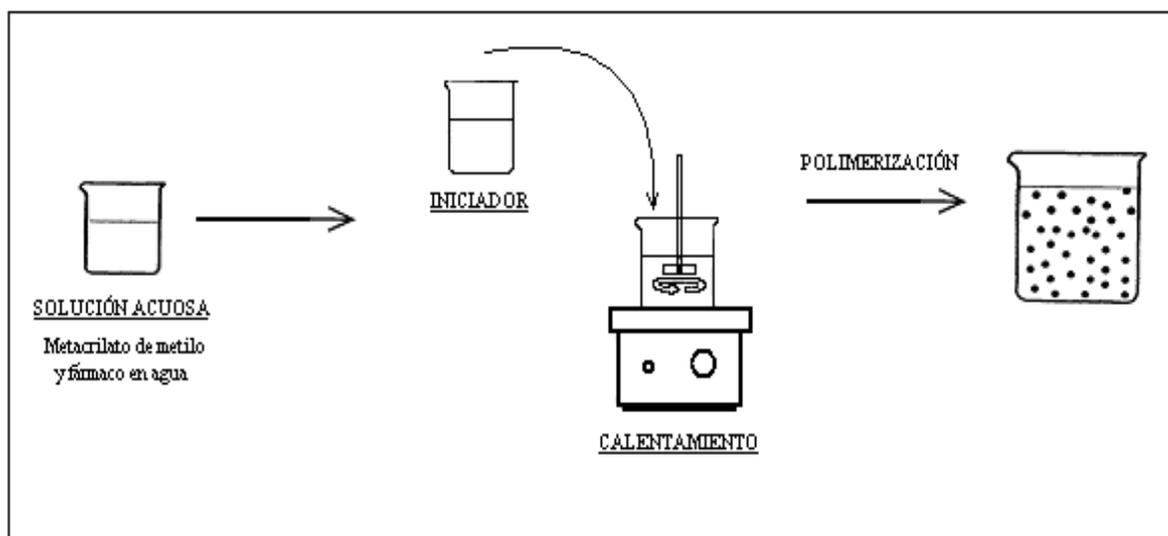


Figura 2 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de metacrilato de metilo) descrito en (J. Kreuter 2002).

La sustancia biológica activa, por ejemplo el fármaco o un antígeno, puede estar presente durante la polimerización o puede ser adicionado antes de producir las nanopartículas vacías.

II. Nanopartículas de poli alquil cianoacrilato

Las nanopartículas de poli alquil cianoacrilato son rápidamente biodegradables. Por esta razón son eliminadas del cuerpo en algunos días.

Los monómeros de cianoacrilato son adicionados al medio de polimerización acuosa en concentraciones de 0.05% y 7%.

El mecanismo de polimerización es un proceso aniónico iniciado por las bases presentes en el medio de polimerización. El cianoacrilato es el principal iniciador de los iones OH^- resultado de la disociación del agua, por algunos fármacos que solo actúan como iniciadores. Estos OH^- inducen la polimerización muy rápido. Por esta razón el pH debe mantenerse por debajo de 3.5, con algunos fármacos por debajo de 1.0 se favorece la formación de nanopartículas. La influencia de la temperatura, pH, monómero, tipo y concentración de electrolito, agente acidificante y emulsificante, usados en el proceso de polimerización es muy compleja. La razón por la que el medio de polimerización genera la iniciación con iones OH^- es porque también son simultáneos los iones H^+ los cuales terminan la reacción de polimerización (Figura 18). Como resultado de la terminación por iones H^+ el peso molecular después de la polimerización es muy bajo y disminuye con la disminución del pH.

Como resultado del bajo peso molecular, el crecimiento de las partículas es muy lento, así como el propenso de aglomeración. Por esta razón los estabilizantes tienen una influencia significativa en el tamaño de partícula y en el peso molecular. Esta influencia de los estabilizantes es también bastante compleja. Una alta concentración de estabilizante generalmente produce partículas grandes. (Ver apéndice Tabla 16) (Donbrow 1991)

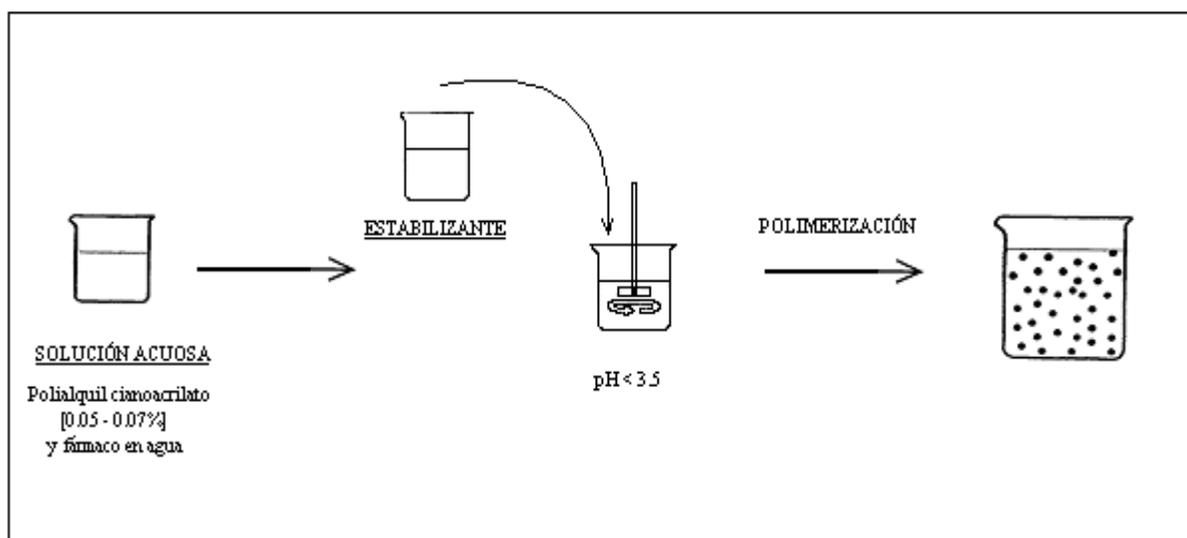


Figura 3 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de poli alquil cianoacrilato) descrito en (Donbrow 1991).

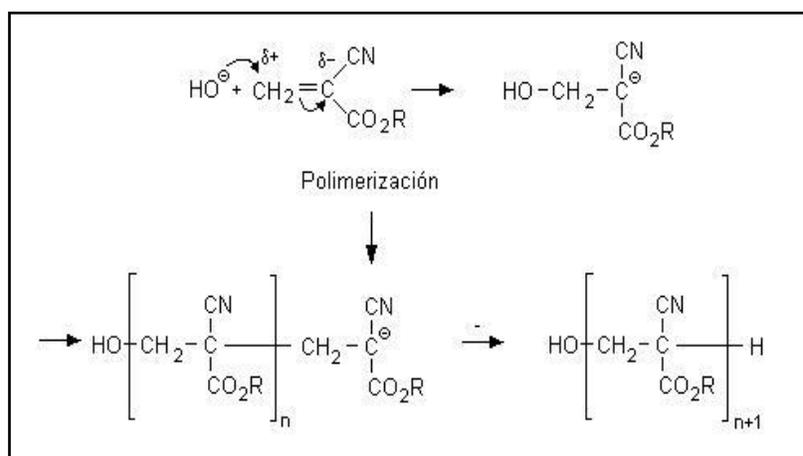


Figura 4 Mecanismo de polimerización de poli alquil cianoacrilato (J. Kreuter 2002)

Las nanopartículas producidas sin estabilizante o por uso de polisorbatos como tensoactivos presentan una distribución monomodal de peso molecular con una media de peso molecular de 1000-4000Da, mientras que algunos estabilizantes como el dextrano o poloxameros llevan a una distinta distribución de peso molecular con máximos de 1000-4000Da y 20 000-40 000Da. Esta distribución bimodal es indicativa de dos reacciones de polimerización separadas. Una reacción probablemente ocurre en la fase acuosa donde la terminación de la polimerización por iones H⁺ es rápida, principalmente pesos moleculares pequeños. Después de la formación de las partículas primarias, otro camino parece ser posible, es decir la polimerización captura el crecimiento indeterminado de estas partículas. Debido a la reducción de la concentración de H⁺ en el medio, frecuentemente se reduce la terminación. Consecuentemente, los pesos moleculares resultantes son mucho mayores. De cualquier modo puede ser posible que el incremento del peso molecular sea causado por la incorporación de dextranos o poloxameros dentro de las cadenas de polímero.

Otros factores que contribuyen al tamaño de partícula de las nanopartículas incluyen la concentración del monómero y la velocidad de agitación. Debido a que la finalización de la polimerización de los cianoacrilatos en agua es gobernada por los H⁺ inductores de la terminación, uno no puede esperar una mejor contribución de la concentración del monómero. El ligero incremento en el tamaño de las partículas ocasionado por el aumento de la velocidad de agitación es debido a la alta energía cinética en el sistema. Este incremento en

el nivel de energía cinética probablemente posibilita algunos oligómeros, pequeñas partículas semisólidas, y grandes partículas regulares que supera la barrera de energía interfacial alrededor de las partículas. Este incremento del tamaño de las partículas se acopla con el incremento en la polidispersividad.

Debido a la iniciación de la polimerización de cianoacrilatos por bases, los fármacos básicos solo pueden actuar como iniciadores de la polimerización. En este caso estos fármacos pueden ser incorporados en la cadena del polímero. Estos fármacos incorporados pueden prevenir en muchos casos una reducción del pH o un cambio en la composición del medio de polimerización. Los fármacos altamente básicos, de cualquier modo, todavía pueden interactuar con el monómero. Esta interacción se puede evitar por la adición del fármaco en las nanopartículas después de la polimerización.

Debido a la complejidad del proceso de polimerización de los cianoacrilatos el tamaño de partícula resultante en tales sistemas multicomponentes es difícil de predecir. (J. Kreuter 2002)

III. Nanopartículas de copolímero acrílico.

En este caso se emplea la irradiación gama como iniciador de la polimerización. Algunos de los monómeros empleados son: metacrilato de metilo, 2-hidroxietil metacrilato, ácido metacrílico, dimetil acrilato etilen glicol, acrilamida, *N*, *N*'-dimetilacrilamida, y 2-dimetilamina. (Ver apéndice Tabla 17). (J. Kreuter 2002)

Un incremento en el contenido de ácido acrílico de nanopartículas de copolímero de poli metacrilato de metilo tampoco incrementa el potencial Z ni se correlaciona con alguna de las ligeras variaciones observadas en el tamaño de partícula. Esto es algo sorprendente, desde entonces se supone que el ácido acrílico el cambio de superficie de las partículas, como resultado de esto, influye en el crecimiento de partícula y disminuye su tamaño.

Los anticuerpos, aminoácido, y moléculas fluorescentes pueden unirse covalentemente a las nanopartículas usando el método de bromuro cianógeno, carbodiamida, y glutaraldehído. (Donbrow 1991)

IV. Nanopartículas de poliestireno.

Las nanopartículas de poliestireno pueden ser producidas por métodos similares a las nanopartículas poliacrílicas. De cualquier modo la solubilidad en agua del estireno, es baja con respecto a los demás acrilatos. Por esta razón, se requiere el uso de tensoactivos. (J. Kreuter 2002)

V. Nanopartículas de poli (vinil piridina)

La polimerización se lleva a cabo fuera de la solución acuosa de metanol o acetona que contiene N, N-di-metilen acrilamida como agente ligante.

El tamaño de las partículas de poli (4-vinil piridina) puede ser monitoreada por la concentración de monómero y por la cantidad de metanol o acetona presentes en el agua.

En lugar de la 4-vinilpiridina, otras vinilpiridinas como la 2-vinilpiridina o 2-metil-5-vinilpiridina pueden ser usadas para la producción de este tipo de nanopartículas. El uso de estabilizantes como el oxido de polietileno, polisorbato 20, o polisorbato 85 posibilitan la polimerización en sistemas orgánicos acuosos libres de solvente.

Tanto las nanopartículas de poliestireno, como las de poli vinil piridina carecen de biodegradabilidad, por lo que no son usados para la administración parenteral, pero se pueden usar como inmunosorbentes. (Donbrow 1991)

VI. Nanopartículas de poli acroleína

Las nanopartículas de poli acroleína pueden ser producidas por polimerización acuosa de acroleína usando irradiación gama, o por polimerización bajo condiciones alcalinas usando NaOH. El tamaño de partícula puede ser controlado por el tensoactivo.

Entre los tensoactivos se incluyen el lauril sulfato de sodio, oxido de polietileno, alcohol polivinílico, y el polisorbato 20.

Los ligandos como los fármacos proteínicos, enzimas y antibióticos pueden ser unidos covalentemente a través de los grupos amino vía formación de bases de Schiff a las nanopartículas de poli acroleína. (J. Kreuter 2002)

VII. Nanopartículas de poli glutaraldehído

Las nanopartículas de poli glutaraldehído con un rango de tamaño de 50nm a 1500nm pueden ser obtenidas por poli condensación aldólica por monómero de glutaraldehído a un pH alcalino. El grado de reacción incrementa significativamente a pH>7. El mecanismo se muestra a continuación:

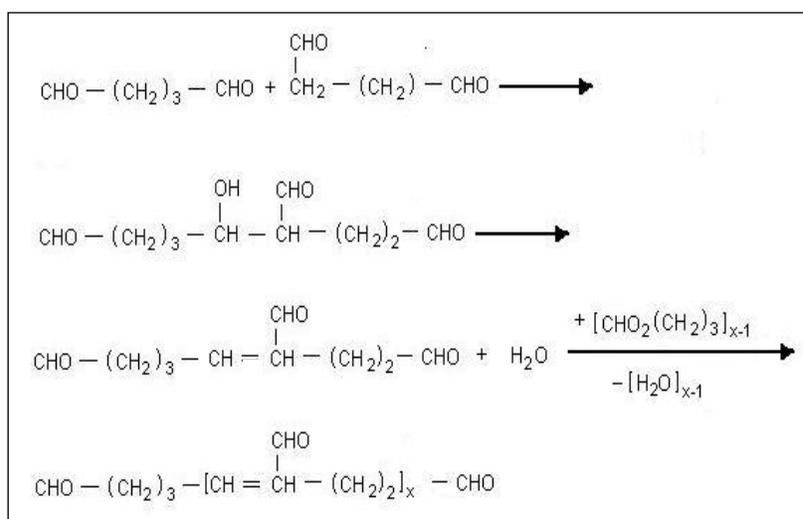


Figura 5 Mecanismo de polimerización del poli glutaraldehído (J. Kreuter 2002)

En presencia de tensoactivos como el Aerosil® 604 o una mezcla de 1% de Guar C-13 y 5% de oxido de polietileno con un peso molecular de 10 000 y en una solución acuosa básica, el glutaraldehído precipita fuera formando partículas esféricas coloidales. El diámetro de las partículas incrementa con el incremento de la cantidad de monómero o con la disminución de la concentración del tensoactivo. El incremento en el pH solo causa una disminución del tamaño de partícula, que es más probable durante la reacción de Cannizzaro. (J. Kreuter 2002)

VIII. Nanopartículas de Poli alquil metilidenemalonato

Los esteres de acido dialquí metilidenemalonato pueden ser polimerizados por OH^- induciendo polimerización cationica similar a los poli alquil cianoacrilatos. La ventaja de los esteres de acido metilidenemalonato es que la polimerización puede ocurrir a pH neutro. En contraste con los policianoacrilatos, estas nanopartículas no se degradan rápidamente: después de 90% de la dosis administrada persiste en el cuerpo por 90 días después de una inyección intravenosa en ratones. (J. Kreuter 2002)

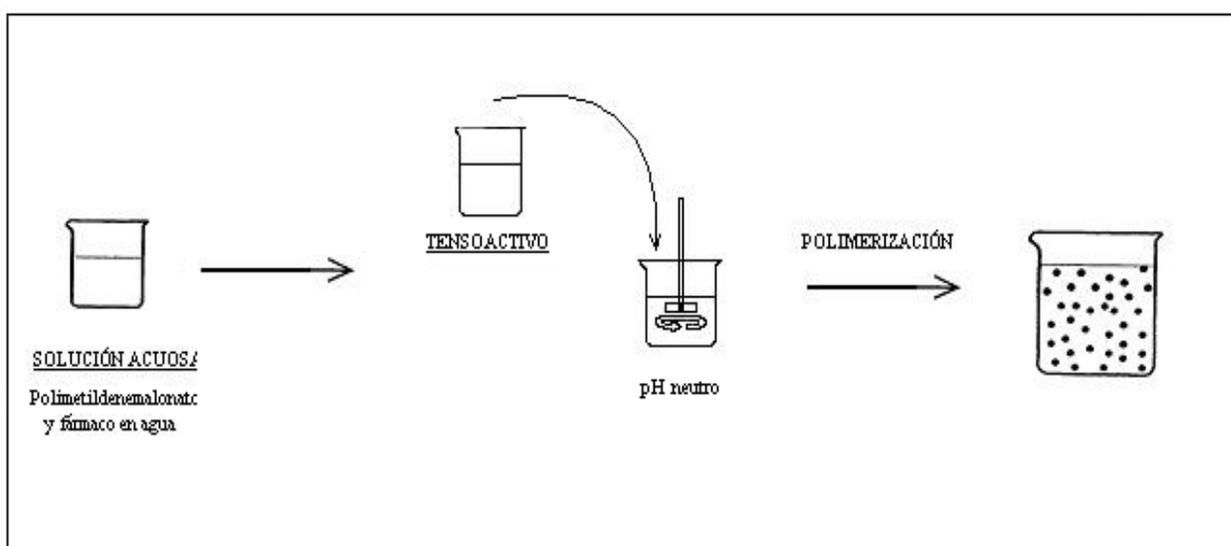


Figura 6 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en fase acuosa continua (NP's de polimetilidenemalonato) descrito en (J. Kreuter 2002).

7.1.1.2. Polimerización en emulsión en una fase orgánica continua

La polimerización en emulsión en una fase orgánica continua es uno de los primeros procesos para la producción de nanopartículas. En este proceso la fase es reversa y se emplean monómeros muy solubles en agua. Inicialmente la acrilamida y el N, N'-diacrilamida son usados como monómeros. El monómero es solubilizado por tensoactivos. La iniciación de la polimerización puede llevarse a cabo químicamente usando N, N, N', N'-tetrametil endiamina y peroxodisulfato de potasio como iniciadores o por radiaciones gama o UV.

Los monómeros de cianoacrilato son mucho menos tóxicos que la acrilamida y estos polímeros son degradados rápidamente. Por esta razón, más recientemente, el proceso de polimerización en emulsión en una fase orgánica continua es adaptado para la producción de nanopartículas de poli alquil cianoacrilatos. Sin embargo, en este caso el monómero es adicionado a la fase continua debido a la alta solubilidad en solventes orgánicos. Estas partículas sólidas son observadas más frecuentemente que las nanocápsulas. La razón por la que es posible la producción de nanopartículas por este proceso es la siguiente: El fármaco disuelto en una pequeña cantidad de agua es solubilizado por tensoactivos dentro de la fase orgánica. Dando como resultado, la formación de una microemulsión con micelas hinchadas de agua conteniendo el fármaco. Adicionalmente los monómeros de alquil cianoacrilato difunden en estas micelas y los iones OH⁻ y/o fármacos básicos inician la polimerización. Este proceso de polimerización en algunos casos es tan rápido que solo un polímero bastante impermeable tal vez forme una interface O/W, previniendo la difusión de futuras moléculas de monómero dentro del interior de estas partículas. Sin embargo se menciona que en muchos casos en el interior de las partículas además de la polimerización se formadas partículas monolíticas sólidas.

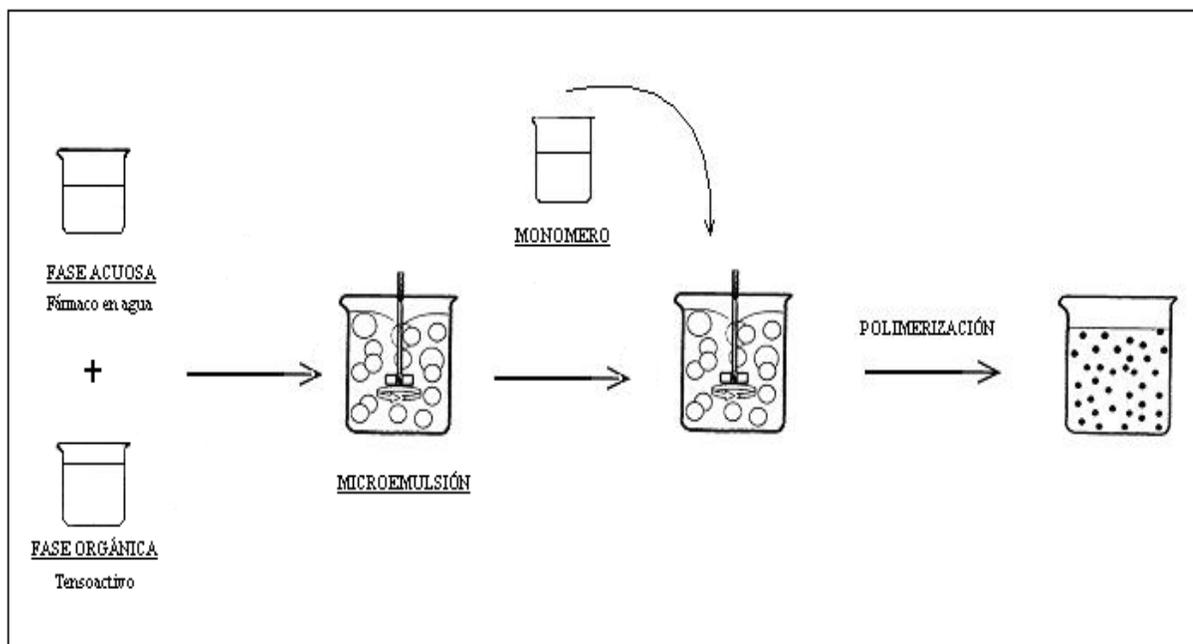


Figura 7 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización en una fase orgánica continua descrito en (Donbrow 1991).

Para este proceso se usan como fase orgánica: isooctano, ciclohexano-cloroformo (4:1), isopropil miristato-butanol (10:1), ciclohexano, diclorometano, n-pentano, n-hexano, butanol, toluol, aceite de ricino, y/o miristato de isopropílico. Como tensoactivos se emplean el troleato de sorbitan, Arlacel ® A, dioctil sulfosuccinato, Polisorbato 20 y 81, poli hidroxietilen-4-lauril éter, monolaureato de sorbitan, monopalmitato de sorbitan, monoestearato de sorbitan, y Cremophor RH 40®. Los fármacos que han sido encapsulados incluyen el triamcinolol, doxorubicina, fluoresceína y azul de metileno. (Donbrow 1991)

7.1.2. Polimerización interfacial.

La polimerización de alquil cianoacrilatos en un solvente orgánico contiene micelas hinchadas de agua que pueden llevar a la formación de una pared polimérica en la interface solvente micelar-agua. La mayoría de las partículas formadas por este proceso son partículas monolíticas continuas. Por lo tanto se requieren métodos alternativos para la formación adecuada de nanopartículas. Dos de estos procesos son los siguientes:

I. Nanopartículas de Poli(N^α,N^ε-L-Lisindiltereftaloil)

Arakawa y Kondo prepararon nanopartículas de poli (N^α, N^ε-L-Lisindiltereftaloil) conteniendo hemolisato por desolvatación de hemolisina, L-lisina y carbonato de sodio en agua. La mezcla es adicionada muy lentamente (0.042ml/min) a una solución de cloruro de ditereftaloil en una mezcla de ciclohexano, cloroformo y cloruro de tetrametil amonio usando agitación. Un potencial de 850 V es aplicado entre la aguja de agitación que sirve como ánodo y un alambre de platino que sirve como cátodo. El cátodo se localiza inmerso en la fase orgánica y a una distancia de 5mm de la aguja de agitación. El tamaño de las nanopartículas es de 380nm cuando se forman por este proceso. (Donbrow 1991)

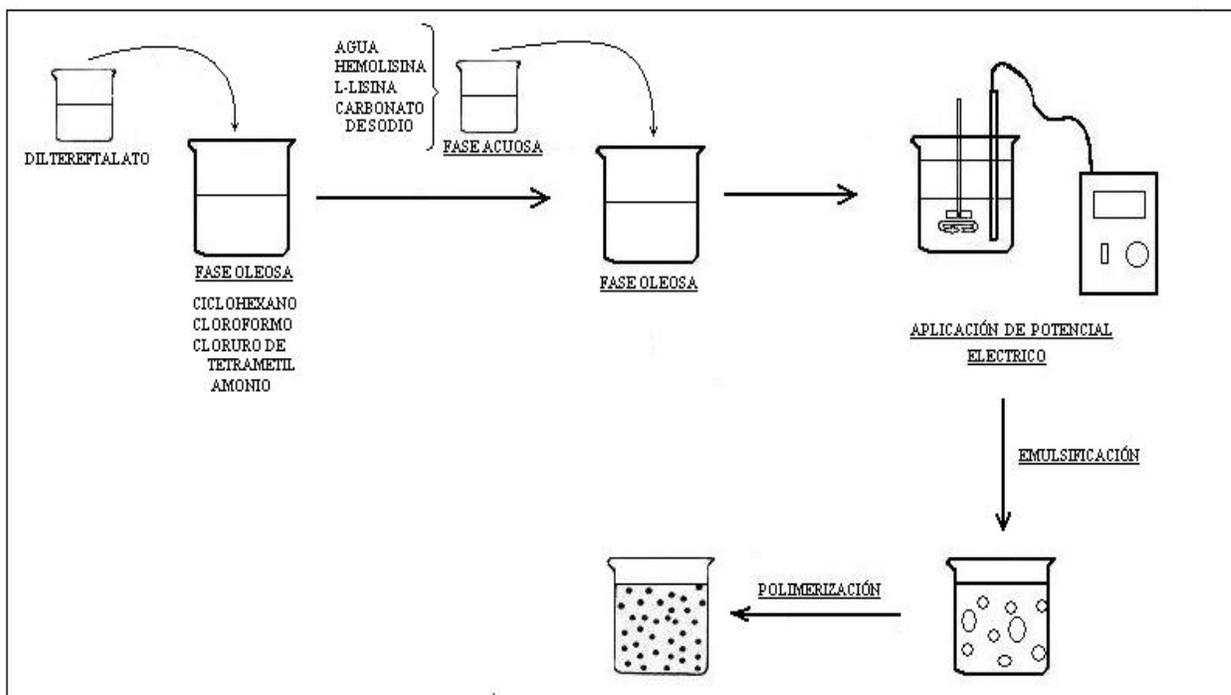


Figura 8 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización interfacial (NP's de Poli (N α -N ϵ -L-Lisin ditereftaloato) descrito en (Donbrow 1991).

En este proceso es aplicado un potencial eléctrico entre una fase oleosa y una acuosa, cuando este potencial excede cierto valor, la tensión interfacial es reducida a aproximadamente cero y ocurre una emulsificación espontánea. (J. Kreuter 2002)

II. Nanopartículas de poli alquil cianoacrilato

Estas nanopartículas pueden ser formadas por polimerización interfacial alrededor de una fase acuosa. En este proceso además del monómero de cianoacrilato el fármaco liposoluble es disuelto en una mezcla de etanol aceite. La cantidad de fase oleosa etanol es de aproximadamente 1:10 hasta 1:200. Los aceites usados pueden ser Miglyol®, ácido benzoico, u otro aceite. La solución orgánica contiene al fármaco y el monómero es adicionado lentamente (aproximadamente 0.5mL/min) a través de un tubo o de un capilar a una sol acuosa, agua o una solución buffer (pH 3-9) la cual contiene un tensoactivo como el poloxamero 188 o 407, o fosfolípidos. Las nanocápsulas consisten de una gota de aceite rodeada de una pared

polimérica la cual es formada espontáneamente por una polimerización aniónica del cianoacrilato en aceite después del contacto con los iones iniciadores OH^- del agua.

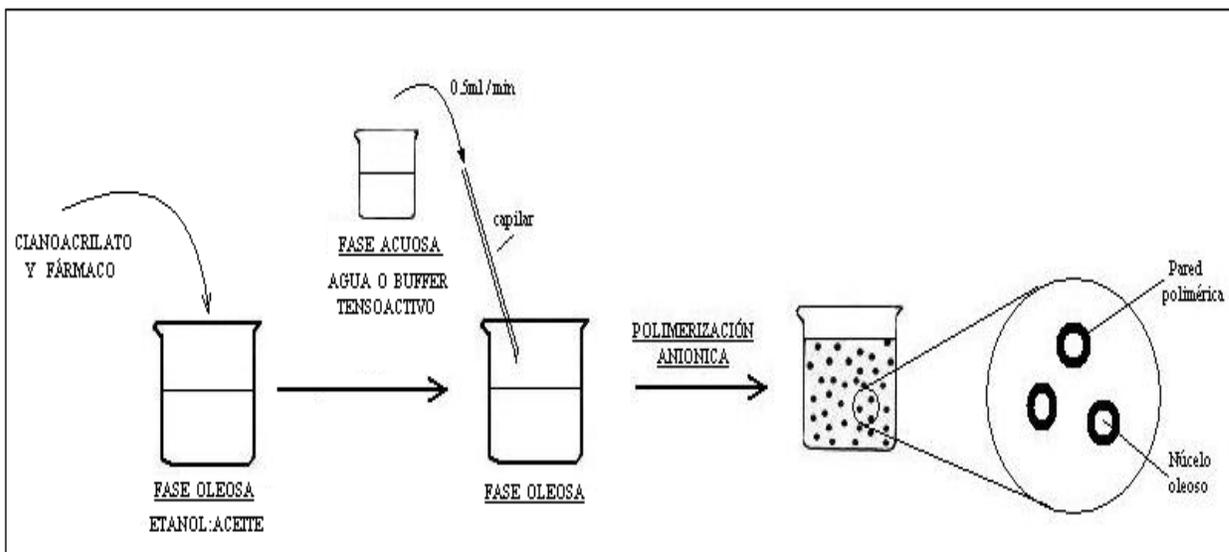


Figura 9 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Polimerización interfacial (NP's de Poli alquil cianoacrilato) descrito en (J. Kreuter 2002).

El diámetro de las cápsulas es controlada por la concentración de Miglyol®. El pH de la fase acuosa además de la saturación del monómero con dióxido de sulfuro, desaceleran la polimerización, y no tiene efecto significativo en el tamaño de partícula. El incremento de la concentración de monómero incrementa la densidad pero no el tamaño de las nanocápsulas. (J. Kreuter 2002)

7.2. DEPOSICIÓN DE SOLVENTE.

Las nanocápsulas de Poli (D-L-lactato) pueden ser producidas por un proceso llamado deposición de solvente. En este proceso el polímero Poli (D-L-lactato) además de los fosfolípidos son disueltos en acetona. Una solución del fármaco en benzoato de bencilo es adicionada a la fase orgánica, y esta mezcla posteriormente se vierte en agua la cual contiene 0.5% de poloxamero 188 bajo agitación moderada. Las nanocápsulas con una pared de poli (D-L-lactato) con un núcleo oleoso se forman instantáneamente. Esta suspensión es concentrada por evaporación de la acetona y por remoción parcial del agua por presión reducida.

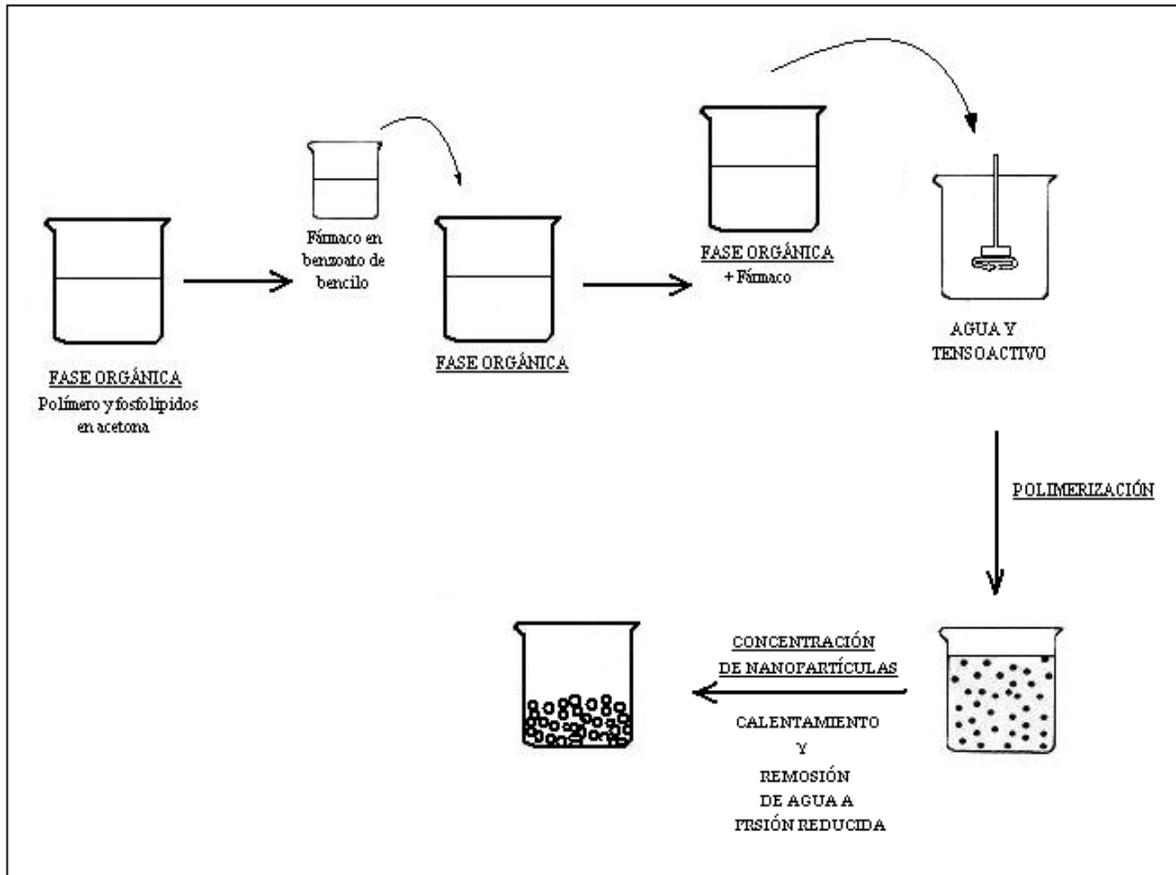


Figura 10 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Deposición de solvente descrito en (J. Kreuter 2002).

Las nanocápsulas de Poli-e-caprolactona así como de ácido poli-láctico-co-glicólico pueden ser producidas por un método similar. (J. Kreuter 2002) (Chawla 2002)

7.3. EMULSIFICACIÓN- EVAPORACIÓN DE SOLVENTE

El método de evaporación de solvente fue descrito para la preparación de microesferas con tamaños de aproximadamente $1\mu\text{m}$. Sin embargo, con este proceso se pueden obtener partículas menores a 1000nm . (J. Kreuter 2002)

La evaporación de solvente es un método bien establecido para la preparación de microesferas con un tamaño de $1\mu\text{m}$. El polímero es disuelto junto con el fármaco en un solvente orgánico, el cual es emulsificado en agua y posteriormente se evapora por

calentamiento y/o presión reducida. Por esta razón el tamaño de partícula de las partículas poliméricas depende del tamaño de las gotas en la emulsión antes de la evaporación del solvente. El tamaño puede ser controlado por un número de factores incluyendo grado de agitación, el tipo y la cantidad de agente dispersante, la viscosidad de la fase orgánica y acuosa, la configuración del vaso y del agitador, la cantidad de la fase acuosa y orgánica, y la temperatura.

Los emulsificantes empleados para este proceso pueden ser: acetato de polivinilo, polisorbatos, bromuro de cetil trimetil amonio, y lauril sulfato de sodio. (Hans AML 2002)

Algunos de los polímeros empleados son: Eudragit® RS, Eudragit® RL, y etil celulosa, que no requieren ningún tensoactivo o estabilizador polimérico. En otros casos se pueden emplear el polisorbato 80, poloxamero 188, lauril sulfato de sodio, Brij® 35, Myrj® 52, o acetato polivinílico. (Jung y Yung 1999)

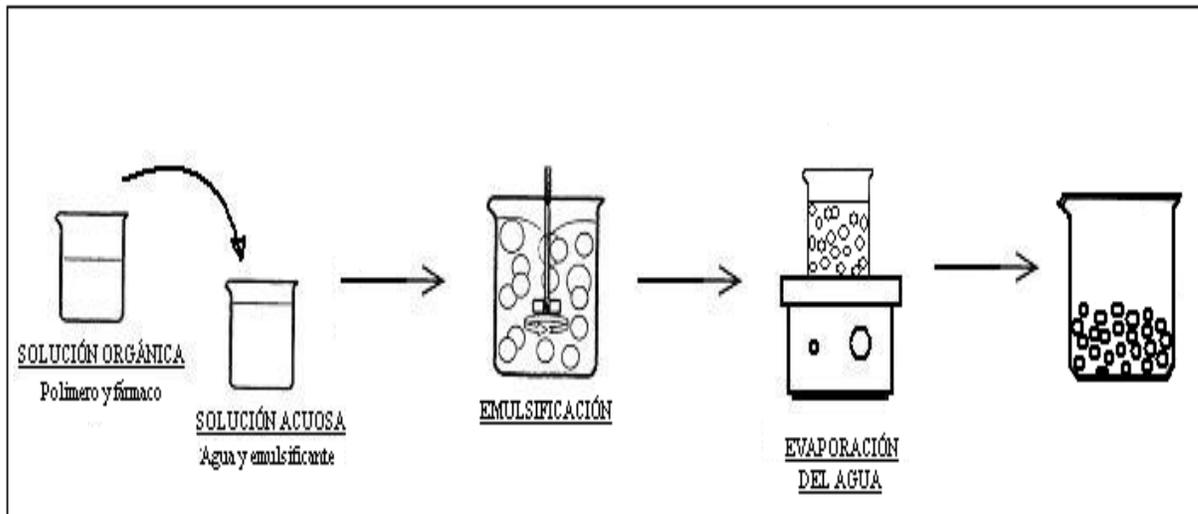


Figura 11 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de evaporación de solvente descrito en (J. Kreuter 2002).

El tamaño de las nanopartículas después de la evaporación de cloroformo depende del tensoactivo y del método de emulsificación. La emulsificación a presiones elevadas reduce el tamaño de partícula de 170 a 220nm. (Wise 2000)

7.4. SALTING-OUT

Este método se basa en la separación de un disolvente miscible con agua de una disolución acuosa mediante efecto de salting-out. En esta técnica no pueden ser utilizados los disolventes clorados, ya que puede existir alguna competencia entre los iones. Mediante esta técnica se obtiene una emulsión agua en aceite (w/o). La fase oleosa de la emulsión está compuesta por el polímero y el activo, los cuales están disueltos en acetona (ya que se conoce muy bien su comportamiento) y la fase acuosa contiene acetato de magnesio tetrahidratado (electrolito) y un estabilizante coloidal. Posteriormente se agrega agua hasta tener un volumen suficiente en el cual se permita la difusión de la acetona en la fase acuosa y se formen las nanopartículas. Esta suspensión puede ser separada por filtración o liofilización (Leroux 1996), (Leroueil-Le 1998)

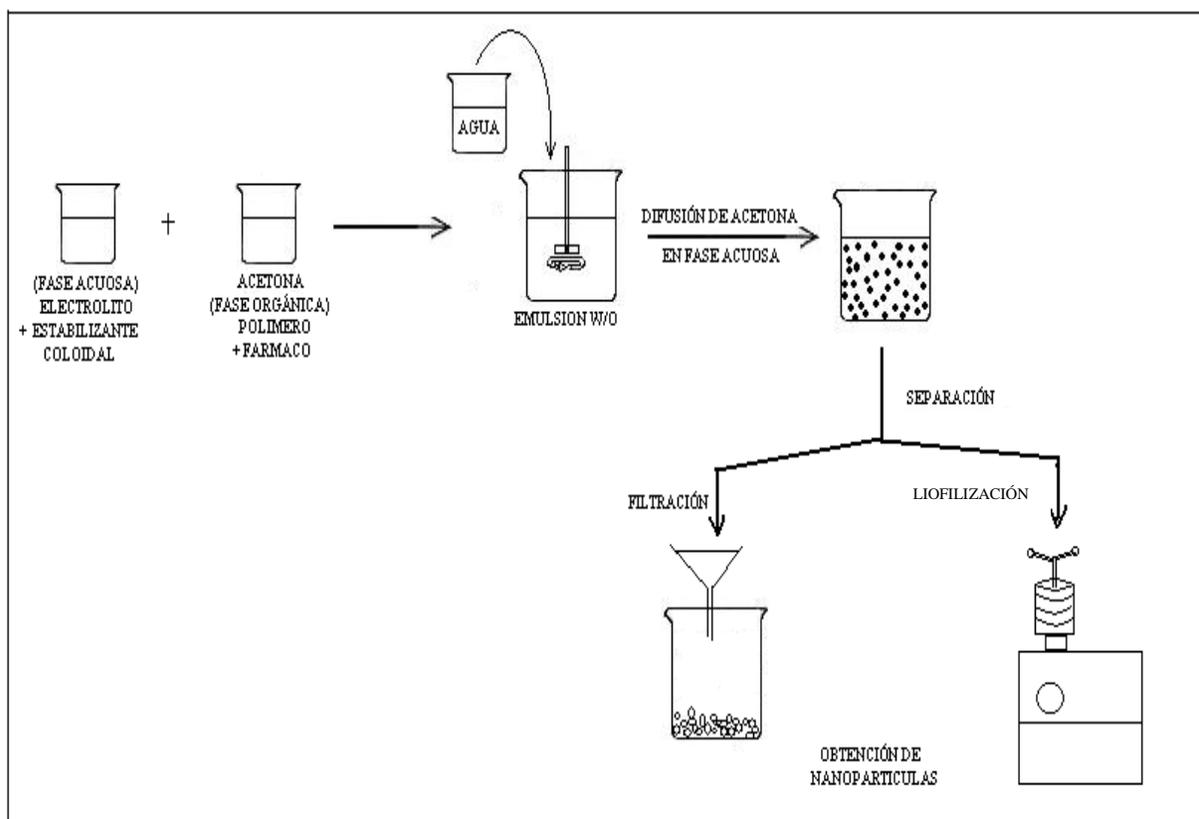


Figura 12 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Salting-Out descrito por (Leroueil-Le 1998).

7.5. EMULSIFICACIÓN-DIFUSIÓN

En este método se utiliza un disolvente miscible en agua, por ejemplo la acetona o el carbonato de propileno. El polímero y el activo se disuelven en el disolvente y posteriormente se emulsifica en una fase acuosa, la cual contiene un estabilizador. El estabilizador previene la agregación de las gotas ya que éste se adsorbe a la superficie de las gotas. Se agrega un poco más de agua para permitir la difusión del disolvente o la fase acuosa y se formen las nanopartículas. La solución se agita para precipitar a las nanopartículas, y pueden recolectarse por centrifugación o se puede eliminar el disolvente por diálisis. (Hye-Young, y otros 2001) (Quintanar-G y Ganem-Q 2005) (Takeuchi 2001)

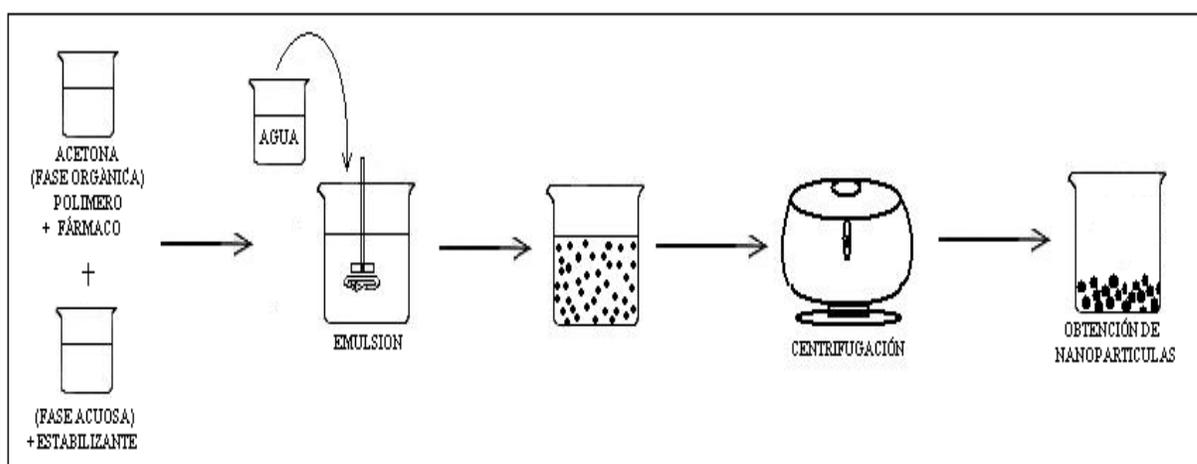


Figura 13 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método Emulsificación difusión descrito por (Hye-Young, y otros 2001).

7.6. MICROEMULSIÓN POR FUSIÓN

Se entiende por microemulsión un sistema de dos fases, compuesto por una fase interna y una fase externa donde el tamaño es menor a $1\mu\text{m}$, lo cual le confiere la característica de ser transparentes (por ejemplo, las microemulsiones o/w). Estas se obtienen por agitación constante a $60\text{--}70^\circ\text{C}$ hasta obtener una mezcla ópticamente transparente, que normalmente está compuesta por un ácido graso de punto de fusión bajo, un tensoactivo, un cotensoactivo y agua. La microemulsión caliente se dispersa en agua fría ($2\text{--}3^\circ\text{C}$) bajo agitación.

El volumen de agua fría que debe agregarse a la microemulsión caliente debe ser de 25 a 50 veces mayor. Es importante considerar que esta técnica es recomendada para obtener nanopartículas sólidas lipídicas, ya que el punto de fusión de los ácidos grasos es menor que el de los polímeros sintéticos, pero en algunos casos resulta ser una buena opción aplicarla para polímeros con bajo punto de fusión y que tengan la capacidad de disolver al fármaco en cuestión. (Boylan James 2002) (Wolfgang 2001)

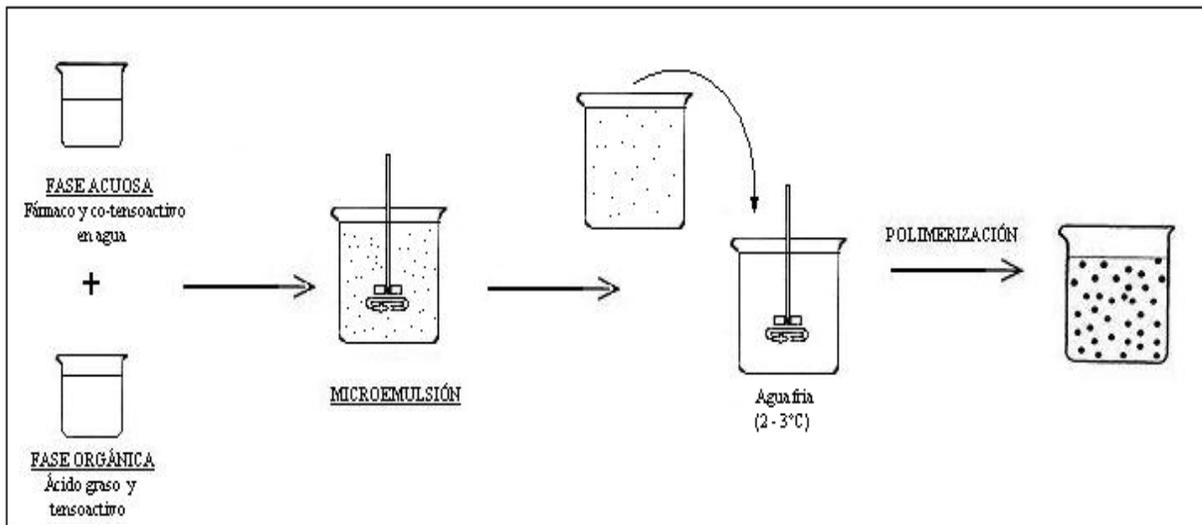


Figura 14 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por el método de Microemulsión por fusión descrito por (Boylan James 2002)

7.7. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS

A principios de los 90's la investigación se enfocó en la búsqueda de una alternativa para las nanopartículas poliméricas. Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) resultaron una adecuada opción para ser empleadas como acarreadores de fármacos. Una ventaja clara de las SLN sobre las poliméricas, es el hecho de que la matriz del lípido está formada de lípidos fisiológicos o de lípidos biodegradables/biocompatibles, con los que se disminuye el riesgo de que se presente una toxicidad crónica (Date, Joshi y Patravale 2007) (Trotta, Debernardi y O.Caputo 2003)

Las nanopartículas lipídicas sólidas combinan las ventajas de otros sistemas acarreadores como lo son: a) incrementar la estabilidad del fármaco, b) la posibilidad de controlar la liberación del fármaco, c) la incorporación de fármacos lipídicos e hidrofílicos, d) la vectorización del fármaco, y e) la nula biotoxicidad de los acarreadores (Wissing, Kayser y Müller 2004).

Para preparar nanopartículas lipídicas se deben considerar tres pasos:

El primero es la preparación de la fase oleosa mediante la fusión o disolución de los lípidos, los lípidos que formaran la matriz de la nanopartícula deberán seleccionarse considerando su capacidad para disolver el fármaco que constituye la carga. Dado que el fármaco queda disperso o disuelto en la fase oleosa, su concentración en la matriz pudiera tener un efecto significativo en el tamaño y en la estructura de la partícula.

El segundo consiste en la preparación de la fase acuosa, la cual generalmente es una solución de alta concentración de tensoactivos combinados con co-tensoactivos o con polímeros estabilizantes. Los cotensoactivos tienen un gran impacto en la calidad de las nanopartículas puesto que son adsorbidos en la superficie de la gota de lípido formando una barrera estérica que le imparte estabilidad.

El tercero consiste en la formación de una pre-emulsión, mezclando ambas fases en frío o en caliente, mediante agitación vigorosa. La última etapa consiste en la dispersión acuosa de las nanopartículas lipídicas mediante procesos de evaporación, centrifugación, secado o liofilizado.

A continuación se describe uno de los métodos de obtención de nanopartículas lipídicas, ya que también se pueden obtener por medio de algunos de los métodos mencionados anteriormente, como emulsificación-evaporación, o emulsificación-difusión. (Garzon, Hernandez y Vásquez 2008)

7.7.1. Homogenización a alta presión

La homogenización a alta presión ha surgido como una buena técnica para la producción de SLN. Los homogeneizadores empleados empujan un líquido a altas presiones (100-2000bar) a través de un espacio estrecho (un rango de pocos micrones). El fluido es acelerado a altas velocidades (1000 Km/h) a cortas distancias lo que provoca la división de las partículas a un rango submicrónico.

La producción de SLN por homogenización puede llevarse a cabo por homogenización en caliente y homogenización en frío. En ambos casos, un primer paso es la incorporación del fármaco en el lípido por disolución o dispersión del fármaco en el lípido fundido (Mehnert y Mäder 2001).

a) Homogenización a alta presión en caliente

La homogenización en caliente se lleva a cabo a temperaturas por arriba del punto de fusión del lípido (aproximadamente 5°C por arriba del punto de fusión). Primero se realiza una pre emulsión del lípido fundido que contiene el fármaco con la fase acuosa conteniendo estabilizante a la misma temperatura. Esta pre emulsión es sometida a una homogenización a alta presión de la cual resulta una nanoemulsión ya que el lípido se encuentra en estado líquido. Las partículas sólidas son formadas por un enfriamiento de la muestra a temperatura ambiente.

b) Homogenización a alta presión en frío

La homogenización en frío ha sido desarrollada debido a los siguientes problemas de la homogenización en caliente:

La alta temperatura produce la degradación del fármaco (fármacos termolábiles)

La distribución del fármaco en la fase acuosa durante la homogenización (fármacos hidrofílicos)

La complejidad del paso de cristalización de la nanoemulsión provoca modificaciones en el lípido

El primer paso es igual que el de la homogenización en caliente en donde se solubiliza o se dispersa el fármaco en el lípido fundido seguido de un rápido enfriamiento, altos rangos de enfriamiento favorecen una distribución homogénea del fármaco en la matriz lipídica e incrementa la fragilidad del lípido. El sólido es molido para generar micropartículas, las cuales son dispersadas en la fase acuosa con estabilizante para formar una pre emulsión la cual se someterá a una homogenización a alta presión a temperatura ambiente (Mehnert y Mäder 2001).

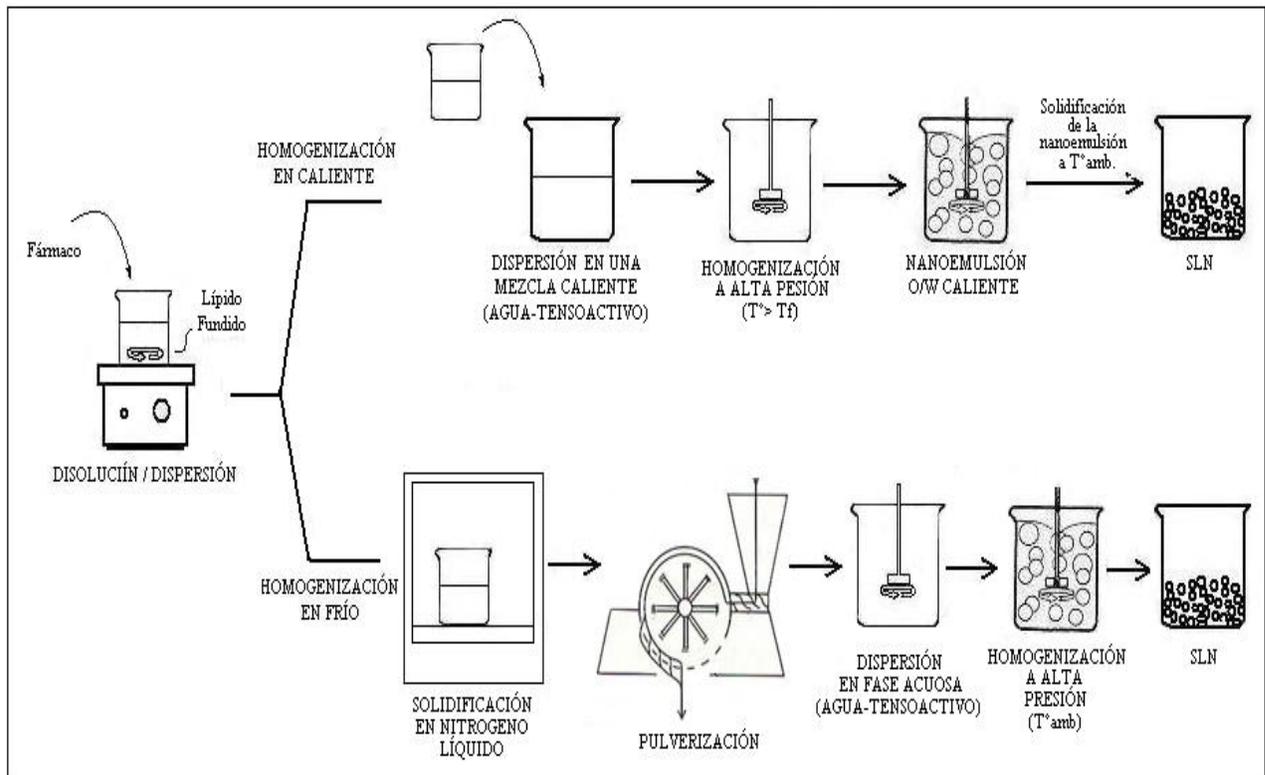


Figura 15 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas sólidas lipídicas (SLN) descrito por (Mehnert y Mäder 2001)

7.8. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR PROTEÍNAS

7.8.1. Producción de nanopartículas de albúmina en una emulsión oleosa

Las nanopartículas producidas por albúmina o alguna otra macromolécula, pueden ser producidas por emulsificación de una solución acuosa de estas macromoléculas y el fármaco que es incorporado dentro de las partículas en la fase oleosa. Las gotitas resultantes pueden endurecerse por entrecruzamiento con aldehídos u otro tipo de entrecruzamiento, o por la desnaturalización de las moléculas a altas temperaturas. Este procedimiento se usó anteriormente para la elaboración de microesferas.

El proceso de elaboración de nanopartículas por este medio es el siguiente, la albúmina u otra macromolécula similar en concentración aproximadamente de 100 - 500mg/ml es disuelta en agua. El fármaco hidrosoluble y las partículas magnéticas son adicionados en la fase acuosa. Esta fase es emulsificada en fase oleosa u otro medio lipofílico usando un emulsificador mecánico o por ultrasonificación. Después del endurecimiento las nanopartículas se desarrollan por adición de glutaraldehído u otro agente de entrecruzamiento. Alternativamente el endurecimiento puede ocurrir fuera al verter la emulsión en un volumen igual de aceite (fase oleosa) caliente, y la mezcla se guarda a temperaturas elevadas (100 a 180° C) durante 10 a 15min. El aumento de la temperatura en el aceite caliente lleva a una desnaturalización irreversible de la proteína y a la formación de las partículas. Posteriormente la mezcla es enfriada a temperatura ambiente. En algunos casos las partículas resultantes pueden ser separadas y lavadas con solventes orgánicos volátiles (éter).

La adición de tensoactivos como el polisorbato 20 u 80 u otro tensoactivo no solo estabilizan la emulsión, sino también ayudan a resuspender las partículas al final del secado en agua.

La concentración de albúmina, la temperatura de la emulsión antes de la adición del aceite caliente, la proporción del volumen de la fase acuosa a la no acuosa, la velocidad de agitación durante la desnaturalización, y la temperatura en el tiempo de estabilización tienen una pequeña influencia en el tamaño medio de las partículas. (Donbrow 1991) (J. Kreuter 2002)

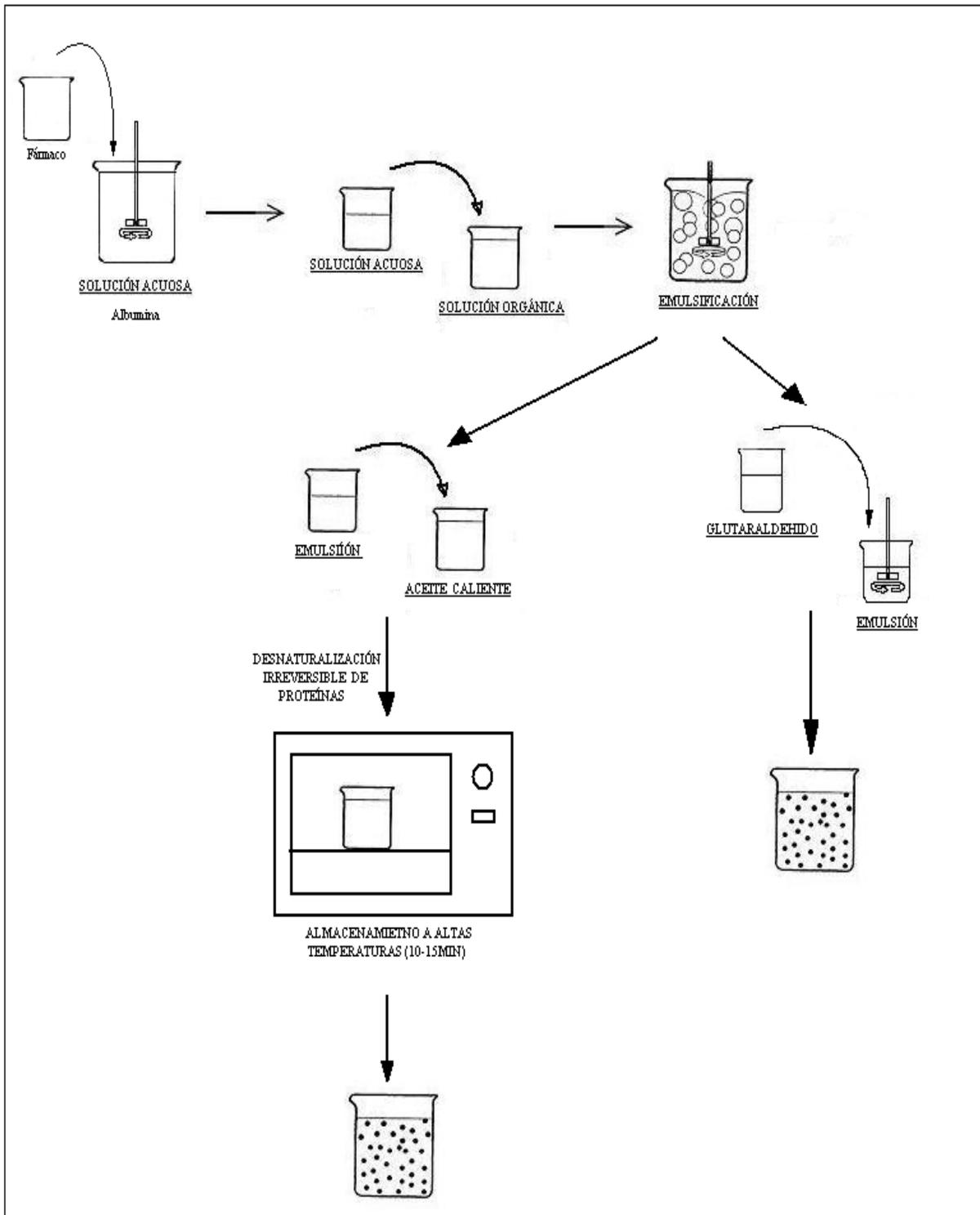


Figura 16 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por Proteínas (Producción de NP's de albúmina en una emulsión oleosa) descritas por (Donbrow 1991) y (J. Kreuter 2002).

7.8.2. Producción de nanopartículas de gelatina en emulsión oleosa

El método de reproducción de estas nanopartículas es similar al anterior. En este método se emplea una solución de gelatina que contiene al fármaco en un aceite (ej. aceite de ajonjolí), y emulsificantes (sesquioleato de sorbitan y polioxietileno derivado de aceite de ricino hidrogenado). En lugar de calentar, la emulsión resultante es enfriada en baño de hielo, resultando una gelación completa de gotitas de gelatina. Después de la dilución con acetona, la emulsión es filtrada a través de un filtro de membrana con un poro de 50nm. Al remover la fase oleosa, las partículas resultantes son lavadas con acetona y endurecidas por 10min con 30ml de una solución de formaldehído en acetona, seguido de un lavado con acetona y aire seco.

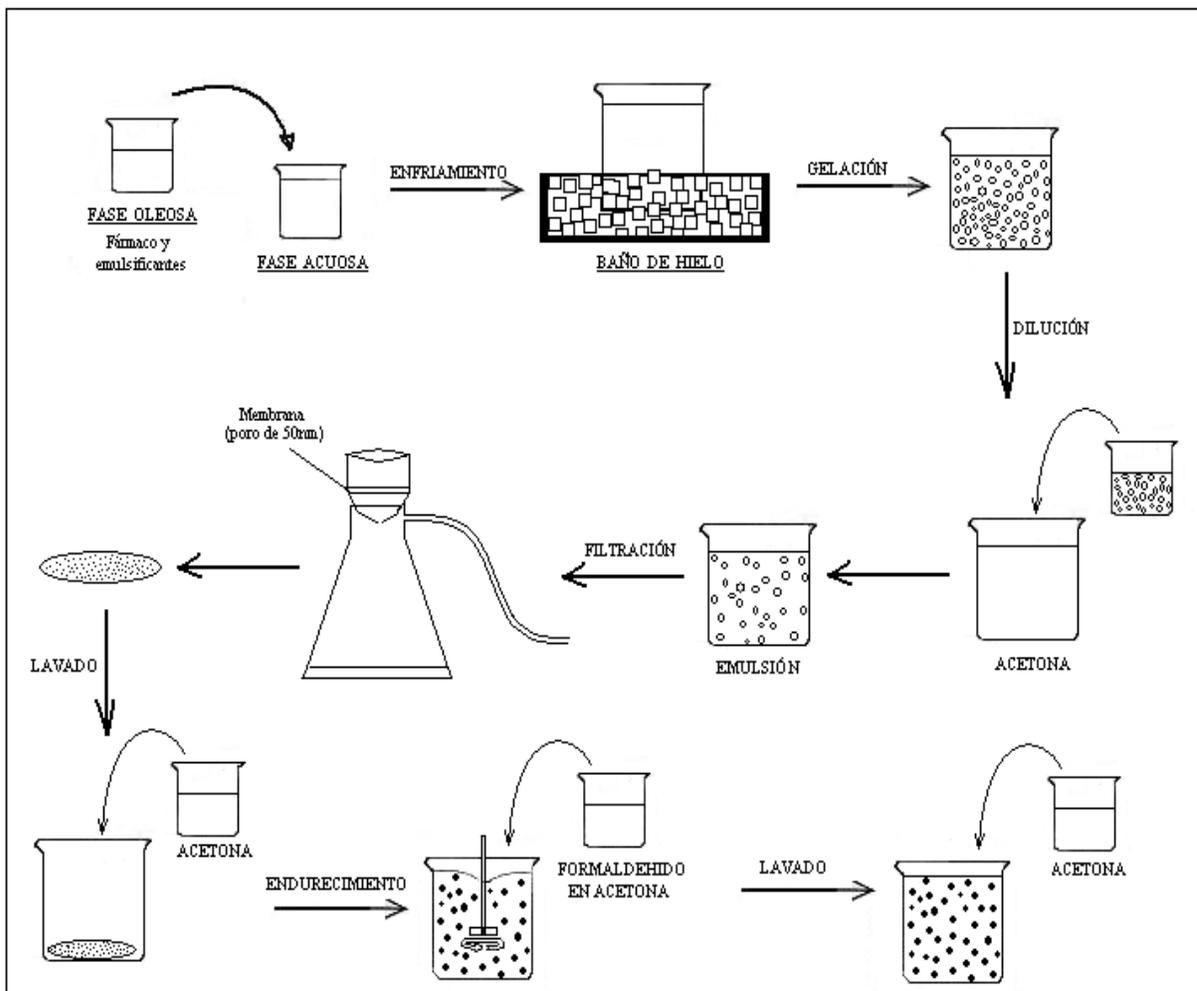


Figura 17 Representación esquemática de la producción de nanopartículas por Proteínas (NP's de gelatina en emulsión oleosa) descrito por (J. Kreuter 2002) y (Donbrow 1991).

En este procedimiento, la estabilización del entrecruzamiento de partículas de gelatina se lleva a cabo por enfriamiento por debajo del punto de gelación. El endurecimiento y la fijación se llevan a cabo con formaldehído. Después de la gelación, aun con el entrecruzamiento las partículas pasan a través de un filtro de 50nm, aunque las partículas obtenidas después del endurecimiento tienen un gran diámetro (100-600nm). Ya que las partículas resultantes están en estado esférico sin ningún signo de aglomeración o partículas pequeñas, las partículas obviamente cambian de forma y posiblemente comience la coalescencia sobre la remoción de la fase oleosa y posiblemente al emulsificar durante el procedimiento de lavado. De cualquier forma la velocidad del proceso de coalescencia parece que se reduce en cuanto las partículas se endurecen y su tamaño final no excede 1µm. (Donbrow 1991) (J. Kreuter 2002)

7.8.3. Producción de nanopartículas por desolvatación de macromoléculas.

Las macromoléculas se pueden desolvatar por cambios de carga, cambios de pH, o por la adición de un agente de desolvatación ocasionando el llamado fenómeno de salting-out. Esta desolvatación da lugar a la precipitación de las macromoléculas o en la formación de un coacervado. Como consecuencia, la desolvatación da lugar a una nueva fase. Ambos efectos, precipitación y coacervación, pueden ser considerados parte del área general de solubilidad y equilibrio de fases. Después de la separación de fases ocurre un cambio de conformación de las moléculas dando lugar a una solución diluida, donde las macromoléculas están sujetas a una acción osmótica del solvente que las rodea, las cuales tienden a hincharse. El mejor solvente es el que aumenta el hinchamiento de las moléculas. La adición de agentes de desolvatación invierten este proceso, y el diámetro de las macromoléculas se vuelve mas pequeño. Después de que se obtiene cierto grado de desolvatación, las moléculas comienzan a agregarse. Cuando ha ocurrido suficiente desolvatación, toma lugar la separación de fases.

Las soluciones de macromoléculas siempre inducen una ligera turbidez conocida como efecto Tyndall. La adición de un agente de desolvatación primero disminuye la turbidez y después disminuye el tamaño de las macromoléculas. La separación de fases ocurre después de la adición de una cantidad suficiente de agente de desolvatación, los cuales se acoplan de una manera muy significativa, incrementando rápidamente la turbidez.

Algunos autores han estudiado extensamente las condiciones óptimas para la formación de nanopartículas. Ellos usaron gelatina, suero de albúmina humana, suero de albúmina de bovino, caseína, y etilcelulosa como macromoléculas.

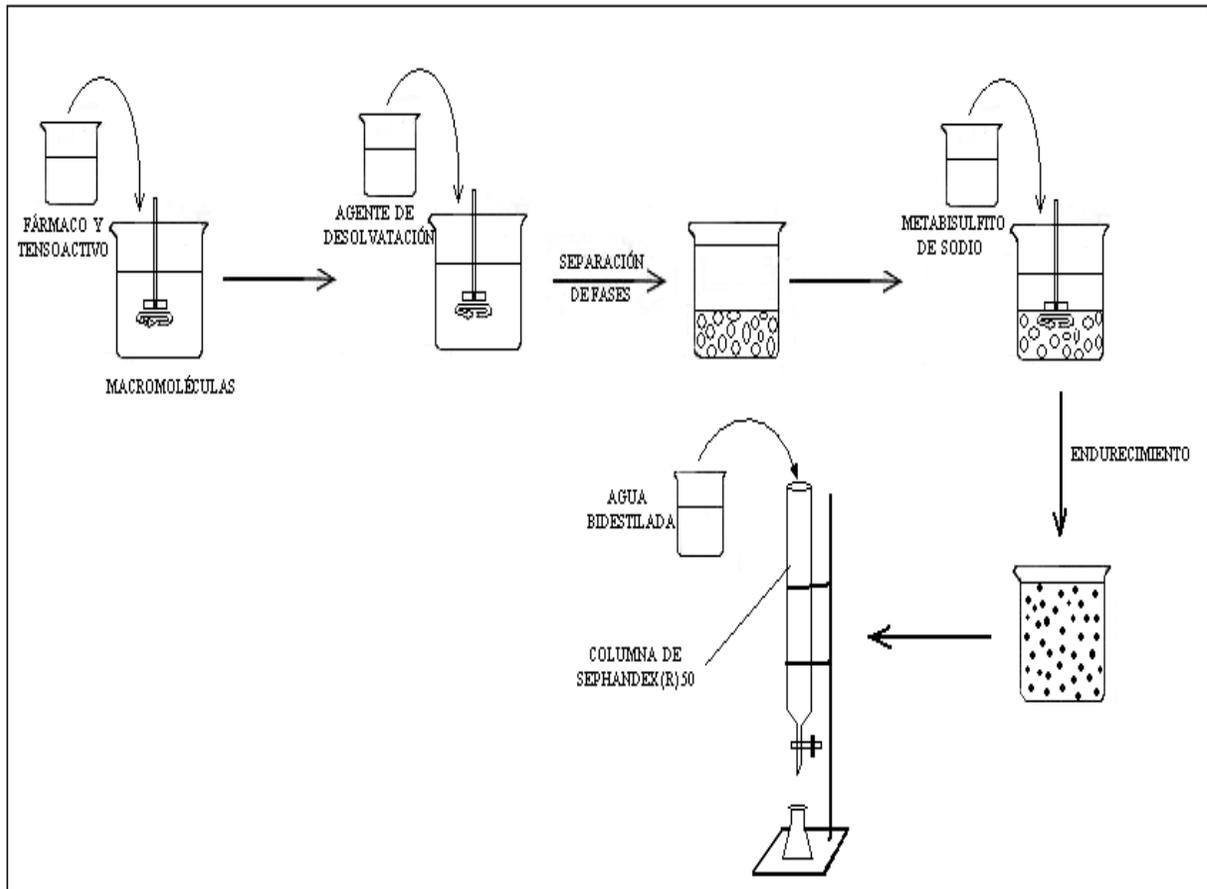


Figura 18 Representación esquemática de la preparación de nanopartículas por Desolvatación de macromoléculas descrita por (Donbrow 1991) y (J. Kreuter 2002).

La desolvatación de la gelatina puede llevarse a cabo con etanol o sulfato de sodio. La elección del agente de desolvatación depende principalmente del fármaco que se va a adherir a la nanopartícula. El etanol es más provechoso por que se remueve más fácilmente durante la liofilización. En algunos casos un tensioactivo, como polisorbato 20 o polisorbato 80, deben estar presentes a fin de solubilizar ciertos fármacos. El tensioactivo también facilita la redispersión del producto al final del enfriado. El endurecimiento del sistema puede ocasionar agregación y floculación de las partículas debido al entrecruzamiento ocasionado por los aldehídos. Este problema puede evitarse por la anteriormente mencionada adición de

pequeñas cantidades de agente de desolvatación antes del endurecimiento (el glutaraldehído puede ser el agente de endurecimiento por elección ya que es un aldehído bifuncional). El exceso de aldehído es removido con sulfito de sodio o metabisulfito de sodio ya que promueve el endurecimiento evitando la agregación de las nanopartículas de gelatina.

La purificación de los materiales de bajo peso molecular puede llevarse a cabo por el paso a través de una columna de Sephandex® 50 usando una solución de clorbutanol éter al 0.04% w/v, o agua bidestilada como diluyente. Una columna empacada con BioGel® A-5 provee una separación suficientemente moderada de micelas de polisorbato y extraños aglomerados de gelatina de las nanopartículas.

La producción de nanopartículas de albúmina requiere una ligera modificación del procedimiento descrito anteriormente para las nanopartículas de gelatina. La desolvatación puede llevarse a cabo con sulfato de amonio. La desolvatación con etanol parece ser menos favorable, debido al endurecimiento de estos sistemas obtenidos causando la formación de grandes agregados. El sulfato de sodio no es lo suficientemente soluble lo que ocasiona una desolvatación conveniente de suero de albúmina humana. De cualquier forma el sulfato de sodio puede ser usado para desolvatación de suero de albúmina humana si se encuentra presente 2% de polisorbato 20, ya que el polisorbato 20 previene o disminuye la precipitación de macromoléculas de suero de albúmina humana. El endurecimiento, la remoción del exceso de agente endurecedor y la purificación pueden llevarse a cabo usando agentes y métodos similares a los de nanopartículas de gelatina.

Las nanopartículas de suero de albúmina de bovino también pueden ser producidas usando técnicas similares. Se ha encontrado que es necesaria una ligera acidificación de la solución de suero de albúmina de bovino, en orden de desolvatación. La desolvatación de una solución de caseína alcalina puede llevarse a cabo con ácido clorhídrico o con sulfato de sodio, obteniéndose nanopartículas de entre 500 y 120nm después de la liofilización y desolvatación del sistema y con la adición de un agente endurecedor.

Las nanopartículas de etilcelulosa pueden ser obtenidas de una solución al 1% de éstas macromoléculas de tetracloruro de carbono con ciclohexano. (Donbrow 1991) (J. Kreuter 2002)

7.9. PRODUCCIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE CARBOHIDRATOS

Las nanopartículas de carbohidratos consisten de dextran acrilatado, maltodextran, manan, u otro derivado de almidón los cuales se producen por polimerización del grupo acrílico de la cadena después de la emulsificación de una solución acuosa de derivado de almidón en una solución de tolueno: cloroformo (4:1).

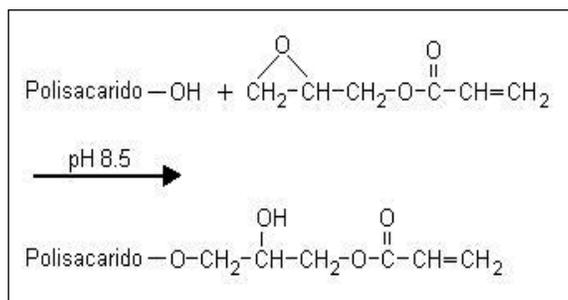


Figura 19 Derivatización del polisacárido (J. Kreuter 2002)

La derivatización del polisacárido puede ser caracterizada por la expresión D-T-C. En esta expresión el valor de D denota la concentración de la macromolécula derivatizada (g/100mL de solvente), el valor de T denota el valor total de la concentración del monómero acrílico (g/100mL de solvente) y C la concentración del agente de entrecruzamiento expresada como porcentaje (w/w) de la cantidad total de monómero acrílico.

El fármaco y en algunos casos la bis acrilamida, son disueltos en la solución de derivado de almidón acrilatado a pH de 8.5. Después de la adición de una sustancia auxiliar como el EDTA, peroxodisulfato de amonio, y poloxamero 188, esta fase acuosa es desoxigenada y emulsificada en la mezcla de tolueno: cloroformo (4:1) antes mencionada, resultando una emulsión W/O. La polimerización es iniciada por la adición de N, N, N', N'- tetrametil etilendiamina, resultando nanopartículas de aproximadamente 500 a 200nm. Estas nanopartículas pueden ser colectadas por centrifugación. Son purificadas de los solventes orgánicos por repetidos lavados con buffer de fosfatos.

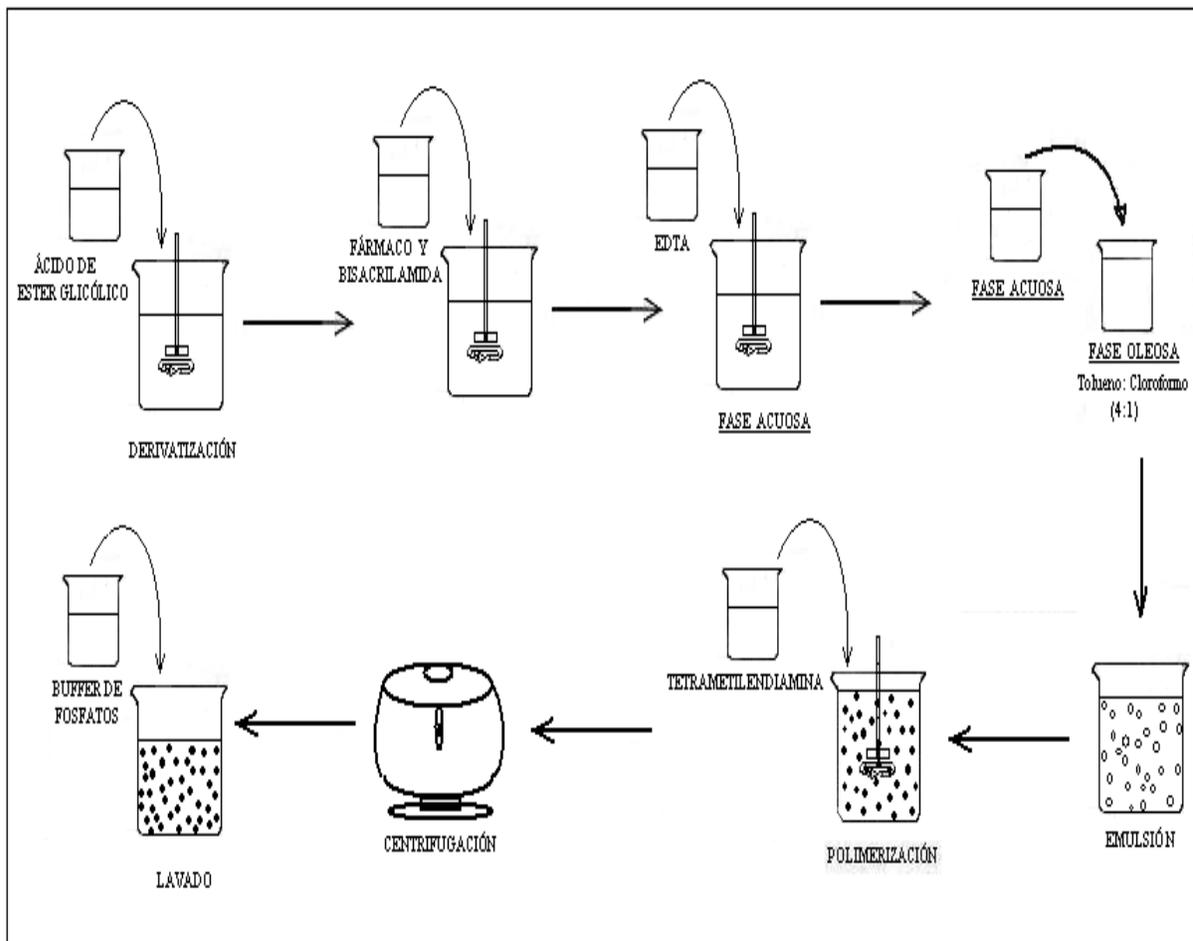


Figura 20 Representación esquemática de la producción de nanopartículas de carbohidratos descrito por (J. Kreuter 2002).

Un método alternativo para la obtención de estas nanopartículas, es usando aceite de maíz o aceite de algodón en lugar de la mezcla de tolueno/cloroformo. La solución acuosa de carbohidratos es emulsificada en estos aceites por agitación, y el tamaño de estas gotitas (partículas) es reducido por sonicación por 40s en un baño de hielo. Las micro gotitas resultantes de la emulsión se vacían lentamente en acetona la cual contiene 0.1% de polisorbato 80 con agitación a 1000rpm. Esto lleva a la cristalización y formación de partículas de carbohidratos. Las partículas precipitan y estas se lavan con una solución acuosa al 0.1% de polisorbato 80. Finalmente estas son suspendidas en una solución al 1% de polisorbato 80 en acetona y son secadas a temperatura ambiente. Una repetición continua del proceso descrito anteriormente lleva a la formación de nanopartículas. (J. Kreuter 2002)

7.10. PREPARACION DE BIOVECTORES SUPRAMOLECULARES.

Los biovectores supramoleculares (SMBVs) consisten de una nanoesfera de polisacáridos rodeada de una bicapa de fosfolípidos. En un principio, estos sistemas fueron desarrollados para simular la baja densidad de las lipoproteínas que son estructuras coloidales naturales que se encuentran en circulación y son designadas para el transporte in vivo de colesterol y esteres de colesterol.

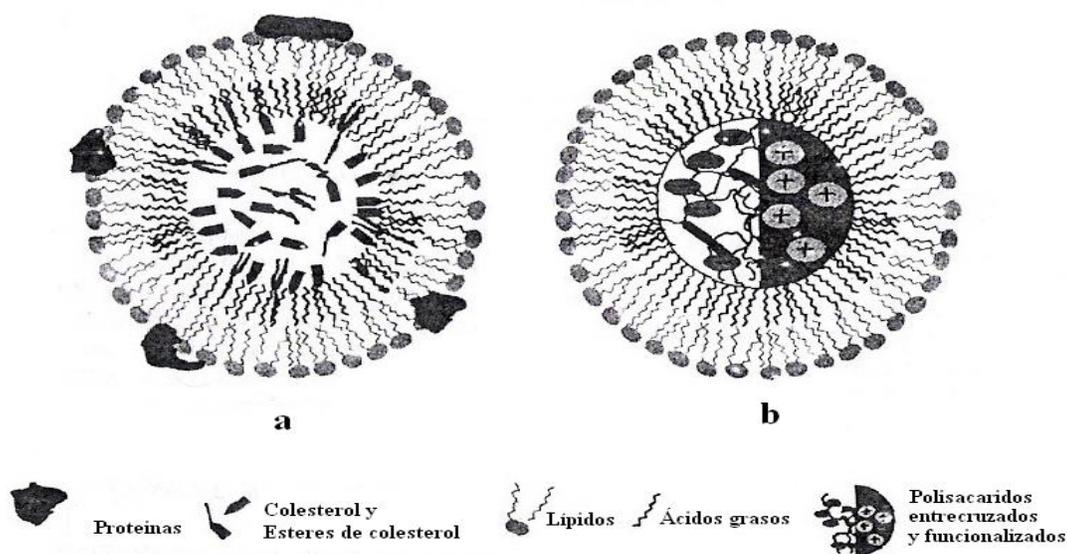


Figura 21 Estructura esquemática de (a) una lipoproteína de baja densidad y de (b) un BioVector Supramolecular (Boylan James 2002).

Los biovectores supramoleculares son preparados en varios pasos incluyendo la funcionalización y el entrecruzamiento químico de un polisacárido, la purificación y el lavado de los polisacáridos modificados, seguido de la fragmentación de los polvos resultantes bajo presiones elevadas para producir pequeñas nanopartículas de polisacáridos. Finalmente, la bicapa lipídica es adsorbida en la superficie de las nanopartículas.

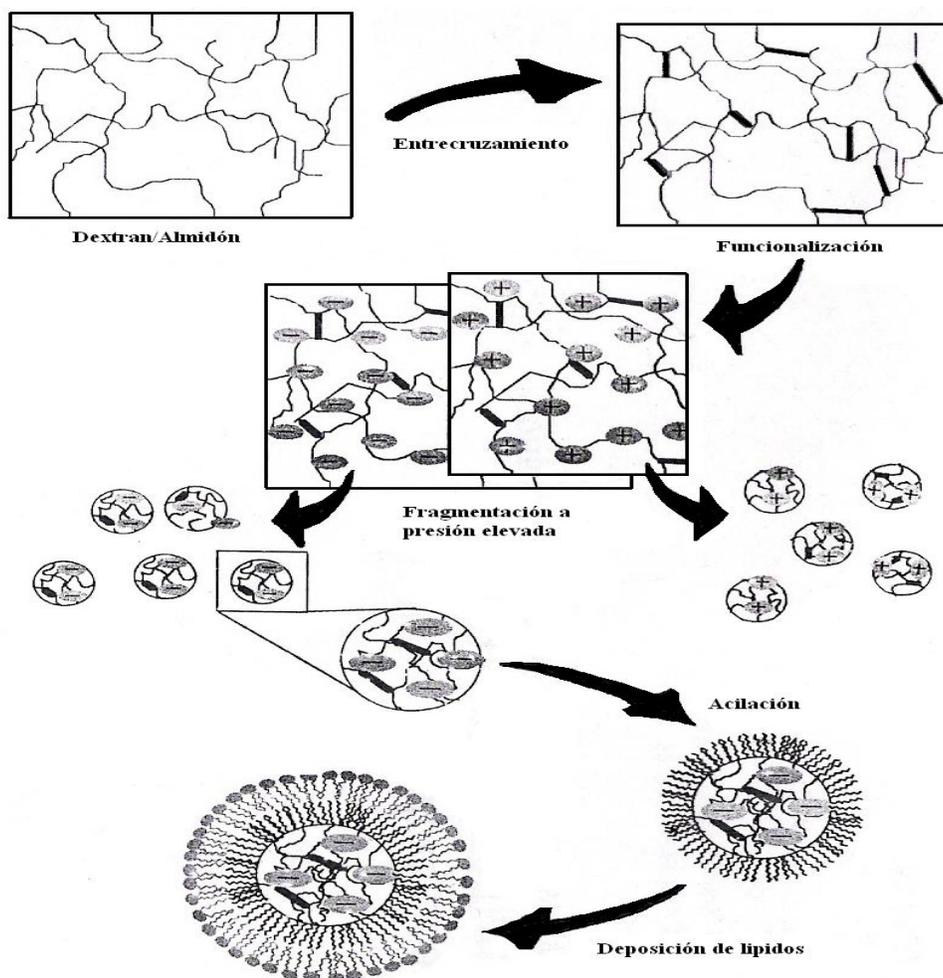


Figura 22 Principio de la preparación de un Bio-Vector Supramolecular (Boylan James 2002).

Los polisacáridos metabolizables como el dextran y el almidón son usados para crear el núcleo de los SMBV. Para lograr esto el polisacárido se entrecruza con reactivos bifuncionales para producir un gel. El gel es entonces funcionalizado con ligandos que confieren cierta carga negativa o positiva como una resina de intercambio iónico. La carga de fármaco de las partículas de polisacárido se puede lograr por medio de la interacción electrostática. El gel funcionalizado se divide en pequeños fragmentos bajo presión elevada. De esta manera, se pueden producir pequeñas partículas de 30nm de diámetro. Las partículas se secan bajo condiciones suaves y se dispersan en un solvente orgánico para lograr la unión de ácidos grasos en su superficie. La reacción de acilación se limita a la superficie de la

partícula cuando el disolvente orgánico no se hincha o penetra en las partículas del polisacárido. Para partículas muy pequeñas, puede ser necesario repetir la acilación varias veces antes de que la superficie de la partícula sea cubierta por los ácidos grasos. Por último, los lípidos son depositados en la superficie de las nanopartículas de polisacárido recubriéndolas de ácidos grasos unidos. Esto se consigue utilizando técnicas desarrolladas para la preparación de liposomas. La esterilización de las SMBVs puede llevarse a cabo por filtración estéril. Los SMBVs con recubrimiento catiónico son específicamente diseñados para la incorporación de ácidos nucleicos. (Boylan James 2002) (Wise 2000)

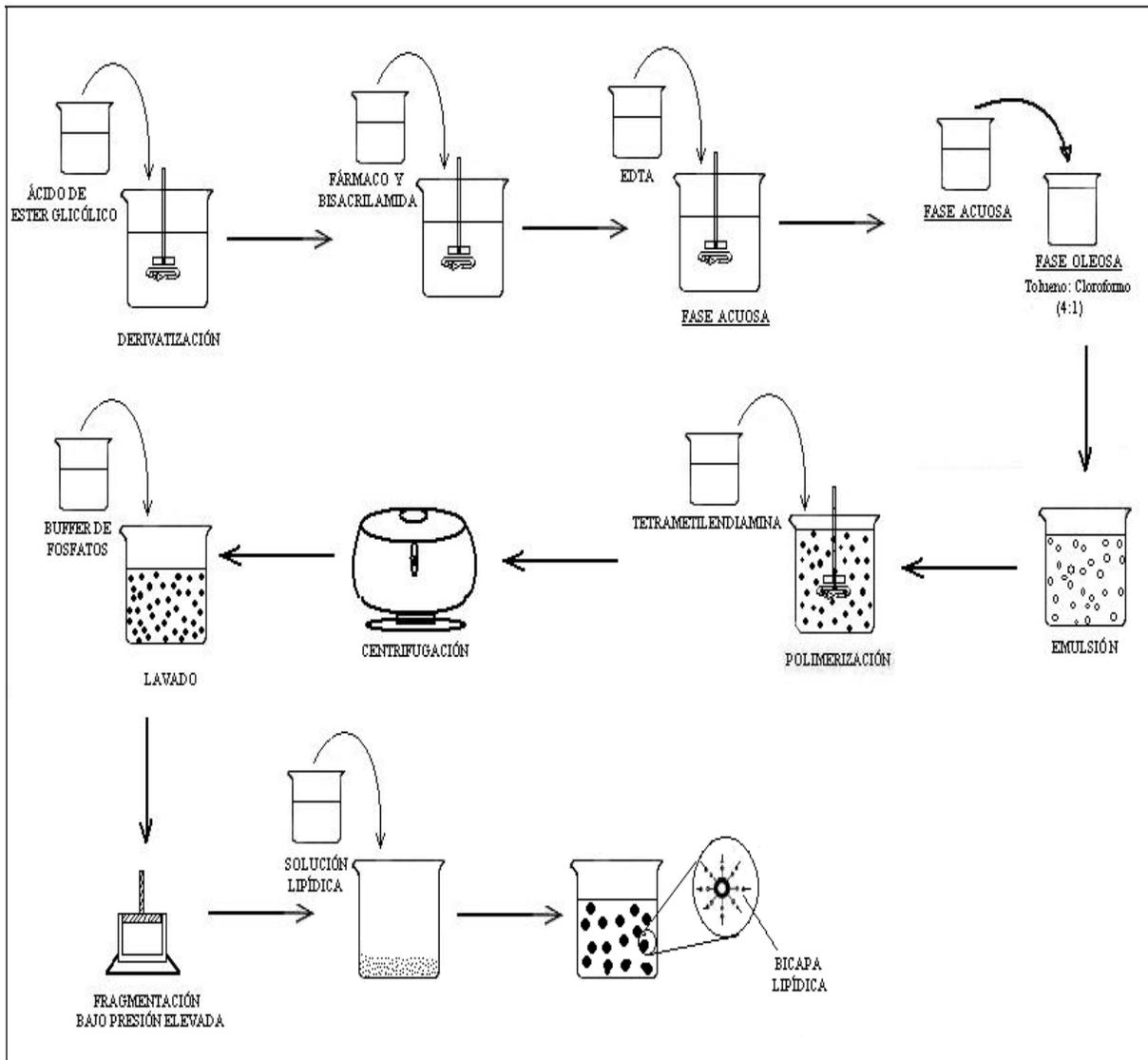


Figura 23 Representación esquemática de la preparación de biovectores supramoleculares descrita en por (Boylan James 2002)

7.11. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE SUPERFICIE MODIFICADA.

En una administración intravenosa, la distribución en el cuerpo de las nanopartículas es controlada por las propiedades del tensoactivo. En efecto, a pesar del tamaño tan pequeño, las nanopartículas muestran una enorme área superficial específica con la que se lleva a cabo la interacción con el medio que lo rodea el cual es especialmente importante para su destino in vivo. De este modo la preparación de la superficie de las nanopartículas modificadas recibe mucha atención durante la última década para producir nanopartículas que son capaces de circular por un largo periodo de tiempo en el torrente sanguíneo como el primero, y más reciente, que logra una meta efectiva de un recurso o mejora la bioadesividad a la mucosa.

Las nanopartículas que son capaces de circular por un largo tiempo en el torrente sanguíneo no deben ser reconocidas por los macrófagos del sistema fagocitario mononuclear. Para lograr esta meta, el menor de uno de los dos mejores mecanismos conocidos involucrados en el reconocimiento exterior de partículas por macrófagos debe ser evitado. Estos dos mecanismos incluyen al opsonización de las partículas y la activación del complemento, el cual consiste de la adsorción de proteínas y el reconocimiento subsecuente por macrófagos. Una barrera de adsorción de proteínas puede lograrse por la creación de una barrera eficiente de impedimento estérico, por lo tanto, se tiene una capa de polímeros hidrofílicos adsorbidos en la superficie de las nanopartículas. (Dunn, Garnett y Davis 1997)

La capa de las nanoesferas con poli etilenglicol puede obtenerse primero por una adsorción simple de un tribloque de copolímeros de polietilenglicol-polipropilenglicol-polietilenglicol en la superficie de las nanoesferas ya preparadas. Para mejorar la estabilidad de la capa de poli etilenglicol, las nanoesferas son preparadas por nanoprecipitación de evaporación del solvente de emulsificación usando copolímeros de ácido poli láctico-co-poli etilenglicol o por poli alquil cianoacrilato-co-poli etilenglicol. Finalmente el poli etilenglicol puede iniciar la polimerización del alquilcianoacrilato para producir nanopartículas de poli alquil cianoacrilato con capa de poli etilenglicol, por polimerización en emulsión.

Para que las nanopartículas sean capaces de escapar a la activación del complemento, algunos investigadores propusieron el recubrimiento de nanoesferas con heparina. Este compuesto, que es un polisacárido, es un inhibidor fisiológico de la activación del complemento in vivo.

Las nanopartículas de poli (metacrilato de metilo) recubiertas con heparina son preparadas por el método de polimerización en emulsión. (Boylan James 2002)

7.12. NANOPARTÍCULAS DE HIDROGEL

Las nanopartículas de hidrogel han ganado considerable atención en años recientes como uno de los más prometedores sistemas de liberación de fármacos debido a que únicamente potencializa la vía combinando las características del sistema hidrogel con una nanopartícula. (Ver apéndice de Hidrogeles)

Estos sistemas ofrecen muchas ventajas en la liberación de fármacos, principalmente enfocados en incrementar la seguridad y la eficiencia del fármaco, por ejemplo previendo un blanco en la liberación del fármaco, mejorando la biodisponibilidad, extendiendo el efecto en el órgano blanco, mejorando la estabilidad del agente terapéutico contra la degradación química y enzimática.

Por definición los hidrogeles son redes poliméricas con una configuración tridimensional capaz de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos. Esta afinidad de absorber agua es atribuida a la presencia de grupos hidrofílicos como los grupos $-OH$, $-CONH$, $-CONH_2$, y $-SO_3H$ en polímeros que forman estructuras de hidrogel. Debido a la contribución de estos grupos y al dominio en las redes, de esta manera el polímero es hidratado a diferentes grados (algunas veces más del 90% del peso total), dependiendo de la naturaleza de medio acuoso y de la composición del polímero. A pesar de esta gran afinidad de absorber agua, los hidrogeles muestran un comportamiento de hinchamiento en lugar de comenzar a disolverse en el medio que lo rodea como consecuencia del entrecruzamiento crítico presente en la estructura de los hidrogeles. Este entrecruzamiento se forma por dos principales categorías que incluyen: i) las físicas (enredándose o cristalizándose) y ii) las químicas (punto de ligadura y conexión). El entrecruzamiento en la red polimérica es provista de enlaces covalentes, puentes de hidrogeno, fuerzas de Van der Waals, o entrecruzamiento físico.

Las nanopartículas de hidrogel (NPs) (recientemente referidos como nanogeles) pueden ser clasificadas en base al tipo de material polimérico usado en la preparación de estas NP's. (Hamidi, Azadi y Rafiei 2008)

7.12.1. Nanopartículas de hidrogel a base de quitosan

El quitosan, α (1-4)-2-amino-2-deoxy β -D-glucano, es una forma diacetilada de la quitina, un polisacárido abundante presente en el caparazón de los crustáceos. Desde el punto de vista técnico es extremadamente importante que el quitosan sea hidrosoluble y con carga positiva. Estas propiedades posibilitan a este polímero a interactuar con polímeros de carga negativa, macromoléculas y con ciertos polianiones en contacto con el medio acuoso. Estas fuerzas interactivas y la sol-gel resultante del estado de transición han sido explorados con propósito de la nano-encapsulación. El potencial del quitosan para esta aplicación específica ha sido impuesto anteriormente por la capacidad demostrada del quitosan para abrir una estrecha conexión entre las células epiteliales a través de la pared epitelial. (Hamidi, Azadi y Rafiei 2008)

a) Nanopartículas a base de quitosan con entrecruzamiento covalente

Ohya y sus colaboradores fueron los primeros en presentar datos que involucran a las nanoesferas de quitosan con aplicación en la liberación de fármacos. Usando una emulsión agua en aceite (w/o) observaron un entrecruzamiento del glutaraldehido en los grupos amino del quitosan, produjeron nanoesferas cargadas de 5-fluoroacil (5-FU), un fármaco anticancerígeno. Los derivados del 5-FU en la formulación también contenían un amino terminal, la adición indiscriminada del glutaraldehido obligó al agente activo a la polimerización entre las cadenas de quitosan, causando una inmovilización del fármaco mayor que en la encapsulación.

b) Nanopartículas a base de quitosan con entrecruzamiento iónico

A no ser por la complejación con polímeros de carga negativa, una propiedad interesante del quitosan es su habilidad de gelificar en contacto con polianiones especiales, un proceso referido como “gelación ionotrópica”. Este proceso de gelación se debe a la formación de inter e intra entrecruzamientos entre y con cadenas de polímero, mediado por los polianiones. Más recientemente las NPs de quitosan han sido desarrolladas basadas en la gelación ionotrópica de quitosan con tripolifosfato (TPP), para la encapsulación de fármacos. Este ejemplo y la técnica directa involucra la adición de una fase alcalina (pH = 7-9) conteniendo tripolifosfato en una fase ácida (pH = 4-6) que contiene al quitosan. Las NPs son formadas inmediatamente sobre la mezcla de las dos

fases a través de la unión inter e intra molecular creado entre el TPP, fosfatos y grupos amino del quitosan.

b.1) Nanopartículas a base de quitosan preparadas por el método de desolvatación

El uso de agentes de desolvatación para la síntesis de partículas de quitosan surgió por los estudios de microencapsulación. Berthold y sus colaboradores fueron los primeros en proponer el uso de sulfato de sodio como un agente precipitante para la formación de partículas de quitosan. De este modo se adicionó el sulfato de sodio dentro de una solución de quitosan y polisorbato 80 (usado como estabilizante para la suspensión) bajo la agitación y ultrasonicación. Aunque los investigadores llamaron microesferas a la suspensión resultante, el tamaño de las partículas resultantes está en una interface entre micro y nano (900 + 200nm). La encapsulación de fármacos no se ha demostrado, pero demostraron que en virtud de la carga positiva en la superficie de la partícula, son capaces de absorber cantidades significativas (superior al 30% del peso) del corticoesteroide hidrofílico aniónico en la superficie de la partícula.

b.2) Nanopartículas a base de quitosan preparadas por el método de emulsión-coalescencia

El método de coalescencia por emulsión, introducido por Tokumitsu y sus colaboradores, utilizando el principio de emulsión por entrecruzamiento y por precipitación. En este método, en lugar del entrecruzamiento de las partículas estables, la precipitación es inducida por la coalescencia que se da entre las partículas de quitosan con las partículas de NaOH. La emulsión estable contiene una solución de quitosan con el fármaco que va a ser cargado en parafina líquida. Al mismo tiempo, se produce de la misma manera otra solución estable de quitosan que contiene NaOH. Cuando, finalmente, ambas emulsiones son mezcladas bajo agitación a alta velocidad, las gotitas de cada emulsión pueden ser colectadas al azar y coalescer, por eso las gotitas de quitosan precipitan para dar pequeñas partículas sólidas.

b.3) Nanopartículas a base de quitosan preparadas por el método micelar inverso

Las micelas inversas son mezclas líquidas de agua, aceite y tensoactivo termodinámicamente estables. Microscópicamente son homogéneos y consisten de estructuras isotrópicas de gotas acuosas en aceite separadas por una película rica en tensoactivo. Las NPs preparadas por el método convencional de emulsión por

polimerización, no solo son grandes ($> 200\text{nm}$), sino también tienen un amplio rango de tamaño.

En este método, el tensioactivo es disuelto en un solvente orgánico para preparar micelas inversas. A ésta, se le adiciona solución acuosa de quitosano y el fármaco gradualmente con agitación constante para evitar cualquier turbidez. La fase acuosa es regulada con un método semejante al que sigue una mezcla de una fase transparente de una microemulsión.

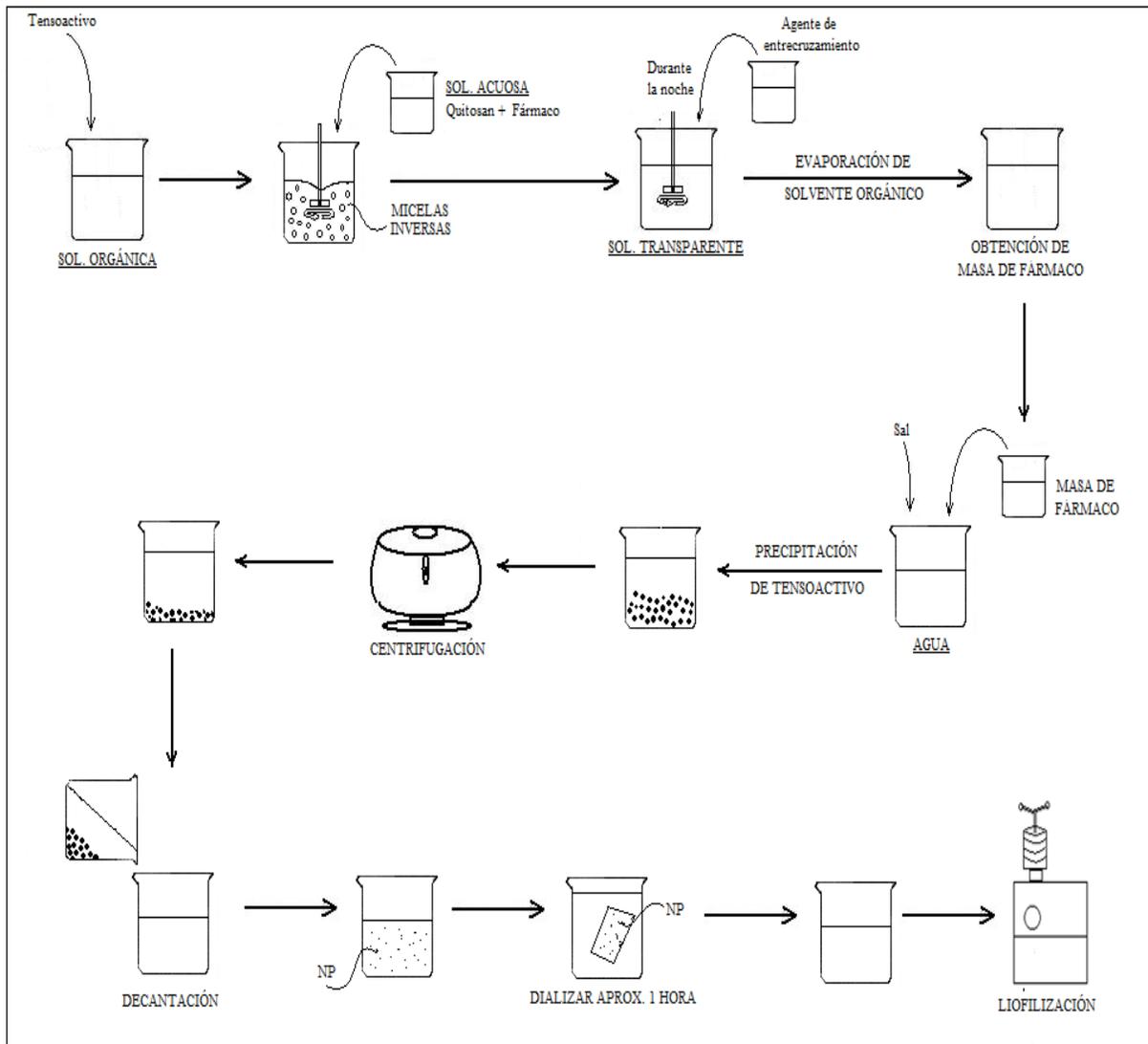


Figura 24 Nanopartículas de hidrogel a base de quitosano preparadas por el método micelar inverso descrito por (Hamidi, Azadi y Rafiei 2008).

La cantidad adicional de agua quizás sea adicionada para obtener NPs de gran tamaño. En esta solución transparente el agente de entrecruzamiento es adicionado con agitación constante durante la noche. La máxima cantidad de fármaco que puede ser disuelto en una micela inversa varía de fármaco a fármaco y tiene que ser determinada por el incremento gradual de la cantidad de fármaco hasta que la solución transparente es transformada en una solución traslucida. El solvente orgánico es, entonces, evaporado para obtener una masa de fármaco micelar transparente. El material remanente se dispersa en agua y entonces, por adición de una sal conveniente, el tensoactivo precipita. La mezcla es entonces sometida a centrifugación. La solución sobrenadante es decantada, la cual contiene a las NPs cargadas de fármaco. La dispersión acuosa es inmediatamente dializada a través de una membrana de diálisis por aproximadamente 1h y el líquido es liofilizado con el fármaco en polvo.

b.4) Nanopartículas a base de quitosan preparados por ensamblamiento vía modificación química

El ensamblamiento de quitosan modificado químicamente dentro de las NPs ha sido investigado para la liberación de macromoléculas. La conjugación fraccional de poli etilen glicol (PEG) vía unión de una amida para solubilizar al quitosan ha mostrado la producción de auto agregación a pH básico. Estos agregados pueden atrapar insulina seguido de la incubación en un buffer salino de fosfatos (PBS), probablemente durante las interacciones electrostáticas entre el monómero de quitosan sin conjugar y los residuos aniónicos de proteínas.

7.12.2. Nanopartículas de hidrogel a base de alginato

Generalmente llamado, entrecruzamiento secuencial, y formación de redes poliméricas, resultantes en acarreadores de hidrogel estructurado para la liberación de fármaco, como micro y nanopartículas sobre la adición de contraiones de alginato. Cualquier posible especie cationica puede iniciar la reacción secuencial, pero el cloruro de calcio es el más usado por muchos investigadores. Los métodos de preparación son usualmente determinados con lo que propone el control del fenómeno de gelación, lo que lleva a desear un rango de tamaño dependiendo de varios factores incluyendo la concentración y viscosidad del alginato, la concentración de contriões, el paso de la adición de la solución de contraiones a la solución de alginato, etc.

7.12.3. Nanopartículas de hidrogel a base de alcohol polivinílico

A finales de los 90's, fueron preparadas NPs de PVA con el objetivo de liberar fármaco proteína/péptido usando una emulsión cíclica de aceite en agua seguido del congelamiento-descongelamiento. En este estudio, la emulsión se pone a congelar a -20° C, seguido de una fase de descongelamiento a temperatura ambiente.

Los compuestos heterogéneos estructurados involucran al PVA y tienen interés en el campo de las nanopartículas de hidrogel. Los poliésteres biodegradables consisten de una cadena corta de poli lactona incrustados en el PVA o de carga modificada de sulfobutí PVA (SB-PVA) que son preparados y usados como una nueva clase soluble en agua registrados como poliésteres. Estos polímeros experimentan un auto ensamblamiento espontáneo que produce NPs, de esta forma los complejos estables con un cierto número de proteínas como la albúmina de suero humano, toxoide tetánico y citocromo C. De cualquier modo, el desarrollo de nanopartículas por polímeros semejantes no requieren el uso de solventes o tensoactivos.

7.12.4. Nanopartículas de hidrogel a base de oxido de polietileno y polietilen amina

Cuando se conduce a una solución acuosa homogénea, la reacción entre los grupos amino de la polietilen amina (PEI) e imidazolilcarbonil produce el fin de la actividad del oxido de polietileno (PEO) muy rápidamente, resultando en la producción de hidrogeles transparentes en solo 3-5min. Esta gran cantidad de hidrogeles retiene grandes cantidades de agua alcanzando aproximadamente 50 % del peso comparada con el de la sustancia seca. Para obtener un sistema disperso fino, la reacción de entrecruzamiento es desarrollada por un método modificado de evaporación-emulsificación de solvente. De acuerdo a este método, la solución de PEO activada con diclorometano es emulsificada en una solución acuosa de PEI por sonicación. El solvente orgánico es removido de la mezcla al vacío, resultando en la formación de una solución clara. La mayoría de las partículas de nano gel han tenido una densidad muy alta y pueden no ser fraccionados por ultracentrifugación. Por lo tanto, la suspensión de partículas de nano gel es fraccionada con cromatografía de permeación en gel. (Hamidi, Azadi y Rafiei 2008)

7.12.5. Nanopartículas de hidrogel a base de poli vinil pirrolidona

Baharalli y colaboradores han descrito un procedimiento para la preparación de NPs de hidrogel a base de PVP con un diámetro final menor a 100nm usando un núcleo acuoso de gotas de micela inversa como nano reactores. Ya que las gotas de micela inversa son altamente monodispersadas y el tamaño de las gotas puede ser controlado, las NPs preparadas usando un medio micelar inverso son monodispersas idealmente con un estrecho tamaño de distribución.

8. METODOS DE CARACTERIZACIÓN

Existe un gran número de métodos para caracterizar nanopartículas. El tamaño es el rasgo más destacado en las nanopartículas, sin embargo otros parámetros como la densidad, el peso molecular y sus características cristalinas tendrán una gran influencia en sus propiedades de liberación y degradación; al igual que las características de su superficie, tales como la carga en superficie, la hidrofilia y la lipofilia, que influirán en la interacción con el medio ambiente después de su administración a humanos y animales, y esto a su vez influirá en su distribución.

La información acerca de la estructura de las nanopartículas se puede obtener por difracción de rayos X y métodos termoanalíticos., tales como la calorimetría diferencial de barrido (DSC), análisis diferencial térmico (DTA), análisis gravimétrico térmico (TGA), análisis mecánico térmico (TMA) y el análisis óptico térmico (TOA). (J. Kreuter 2002)

En la siguiente tabla se muestran los principales parámetros así como los métodos empleados para dicho fin:

Tabla 1 Métodos de caracterización de nanopartículas.

Parámetro	Método
Tamaño de nanopartícula	Espectroscopia de correlación de fotón (PCS)
	Microscopía electrónica de barrido (SEM)
	Microscopía electrónica de transmisión (ITEM)
	Espectrometría de rayos X
Peso Molecular	Cromatografía en gel
Densidad	Picnometría de compresión de Helo
Cristalinidad	Difracción de rayos X
	Calorimetría diferencial de barrido
Carga superficial	Electroforesis
Hidrofobicidad	Cromatografía de interacción hidrofóbica
	Medición del ángulo de contacto

Ejemplificación de los métodos de caracterización de acuerdo a J. Kreuter 2002

8.1. Tamaño de partícula

El tamaño de partícula y la distribución del tamaño de partícula son características importantes de los sistemas nanoparticulados, debido a que ellos determinan su distribución *in vivo*, su destino biológico, su toxicidad, su capacidad de dirección, además de influenciar en la carga de fármaco y en la estabilidad de las nanopartículas. La liberación del fármaco es afectada por el tamaño, esto se debe a que las partículas pequeñas tienen una gran área superficial lo que facilita una rápida liberación a diferencia de partículas grandes que poseen un mayor núcleo por lo que la difusión del fármaco será lenta. (Mohanraj y Chen 2006)

La espectroscopia de correlación de fotones (PCS) y la difracción láser (LD) son las técnicas más utilizadas para medir tamaño de partícula. La PCS (también conocida como *dynamic light scattering*) mide la fluctuación de la intensidad de la luz esparcida, la cual es causada por el movimiento browniano de la partícula. Por esta razón, el tamaño de partícula está influenciado por la interacción de las partículas con el medio en el que se encuentran, por lo cual debe conocerse la viscosidad del medio. La precisión de los tamaños de partícula mejora si se utilizan factores de esparcimiento derivados de la teoría de Mie. El cálculo de los factores de Mie requieren conocer el índice de refracción de las partículas, el cual puede sustituirse por el índice de refracción del polímero con el cual se hayan fabricado las nanopartículas (J. Kreuter 2002). Este método abarca tamaños en un intervalo de pocos nanómetros hasta 6 micras. La PCS es una buena herramienta para la caracterización de nanopartículas, pero no es una buena opción para determinar tamaños de partículas muy grandes. (Wolfgang 2001)

Por otra parte la MEB (Microscopia Electrónica de Barrido) nos permite la observación y caracterización superficial de materiales, proporcionando información morfológica del material analizado. Las principales ventajas del MEB son la alta resolución (≈ 100 Å), la gran profundidad de campo que le da la apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras (Grágeda y Montesinos s.f.)

8.2. Peso Molecular

El peso molecular de las nanopartículas es principalmente determinado después de la disolución de las partículas en un solvente apropiado y la subsecuente cromatografía de permeación en gel. Con la técnica de cromatografía de gel que es necesario que el polímero quede totalmente disuelto. Por esta razón, la determinación del peso molecular de los polímeros entrecruzados y de las nanopartículas de macromoléculas naturales no es posible. (J. Kreuter 2002)

8.3. Densidad

La medición de la densidad puede ser desarrollada por Picnometría de compresión de helio y por centrifugación de gradiente de densidad. La comparación de estos dos métodos puede ofrecer información acerca de la estructura interna de las nanopartículas. (J. Kreuter 2002)

8.4. Cristalinidad

Con el análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se puede obtener información cuantitativa y cualitativa acerca de los cambios físicos y químicos que ocurren en una muestra. La DSC es ampliamente utilizada en la industria farmacéutica para determinar puntos de fusión, pureza y la temperatura de transición de los materiales, la cual depende del peso molecular de la muestra y de su acomodo estructural (Chien 1992). Existen otros parámetros que pueden medirse con DSC, como por ejemplo, cristalización, cuantificación de la cristalinidad y formación de polimorfos.

La DSC es una técnica analítica térmica que mide el flujo de calor intercambiado en una muestra al variar su temperatura con lo que se puede caracterizar las propiedades físicas y energéticas de una sustancia; y por medio de esta es posible obtener información cuantitativa acerca de los cambios exotérmicos, endotérmicos y la capacidad calorífica en función de la temperatura y el tiempo.

Los componentes simples pueden exhibir los siguientes comportamientos térmicos: fusión, cristalización, ebullición, sublimación, transiciones vítreas y transiciones polimórficas, las cuales pueden ser exotérmicas o endotérmicas (ver Tabla 3) (Clas, Dalton y Hancock 1999).

Tabla 2 Comportamientos térmicos observados por DSC

Endotérmicas	Exotérmicas
Fusión	Cristalización
Vaporización	Condensación
Sublimación	Solidificación
Degradación	Oxidación
Transición vítrea	Descomposición

Differential Scanning Calorimetry: Applications in Drug Development. Pharm. Sci. Technol. Today
Clas, Dalton y Hancock, 1999. 311-320

8.5. Carga superficial

La carga superficial de las nanopartículas es determinada comúnmente por movilidad electroforética. Una serie de métodos para la determinación de este parámetro, incluyen el examen ultramicroscópico del movimiento de las nanopartículas con patrones de difracción de luz láser, anemometría de láser Doppler, y la amplitud de la estructuración de fase ponderada

La carga superficial influye en la distribución de las cargas (iones) alrededor de la partícula desarrollando un campo eléctrico formado por una carga circulante formado por: a) una región interior donde los iones se encuentran frecuentemente enlazados (capa de Steren), y b) una región donde los iones están menos enlazados (capa difusa) (L.Chiu Li 2002). Además, esta carga superficial parece tener una mayor influencia en la absorción de las nanopartículas de las células fagocitarias in vitro. La influencia de la distribución de carga in vivo parece ser mucho menos pronunciada. (J. Kreuter 2002)

8.6. Hidrofobicidad

La Hidrofobicidad de la superficie de las nanopartículas parece tener una influencia mucho mayor sobre el cuerpo después de la distribución de una inyección I.V. que en la superficie de carga. Existen dos métodos principales para la determinación de la hidrofobicidad: la medición del ángulo de contacto con el agua y la cromatografía de interacción hidrofóbica. La medición del ángulo de contacto solo puede llevarse a cabo sobre una superficie plana, y no directamente sobre las nanopartículas hidratadas en su medio de dispersión. Por esta razón, la cromatografía de interacción hidrofóbica parece ser mejor, aunque más laborioso: la diferenciación entre las nanopartículas con diferentes propiedades puede obtenerse mediante la carga de las partículas en columnas de alkyl-sepharose y con un eluente Triton[®] con un gradiente X-100. (J. Kreuter 2002)

8.7. Otros métodos

8.7.1. Potencial zeta

La medida del potencial zeta permite hacer predicciones acerca de la estabilidad de la dispersión coloidal. En general, la agregación de las partículas es menor en aquellas que están cargadas (potencial zeta alto) debido a la repulsión eléctrica. Sin embargo, esta regla no puede aplicarse estrictamente a los sistemas que contienen estabilizantes, ya que la adsorción de los estabilizantes disminuirá el potencial zeta debido al cambio en la superficie de la nanopartícula. (Wolfgang 2001) (Zeta-MeterInc. s.f.)

El potencial zeta de una nanopartícula es utilizado para caracterizar la carga de la superficie; este refleja el potencial eléctrico de las partículas y es influenciado por la composición de la matriz y por el medio en el que son dispersadas. Como se muestra en la siguiente tabla las nanopartículas con potencial Z entre (+/-) 3mV son estables en suspensión y la carga en la superficie previene la agregación de las partículas. El potencial Z puede ser usado para determinar si un material con carga activa se encuentra encapsulado en el centro de una nanopartícula o adsorbido en la superficie (Riddick 1968)

Tabla 3. Estabilidad de suspensiones en base a su Potencial Z

Estabilidad	Potencial Z (mV)
Muy buena	-100 a -60
Buena	-60 a -40
Moderada	-40 a -30
Umbral de dispersión	-30 a -15
Umbral de aglomeración	-15 a -10
Fuerte aglomeración y precipitación	-5 a +5

Tipo de estabilidad de acuerdo al potencial zeta Riddick, Control of Colloid Stability through Zeta Potential. Zeta-Meter Inc. New York. 1968

8.7.2. Encapsulación de fármaco

La encapsulación del fármaco se refiere a la eficiencia de la incorporación del fármaco en la matriz polimérica. Sin embargo, hay varias alternativas donde el fármaco puede ser incorporado, y esto depende de la estructura del acarreador (micelas, micelas mixtas, liposomas, etc.), del tamaño de partícula, potencial zeta, modificación de la superficie, etc. El porcentaje de fármaco encapsulado dentro de la nanopartícula se reporta como porcentaje de encapsulación. Para determinar el porcentaje de encapsulación se utilizan la espectroscopia UV, HPLC entre otras. (Wolfgang 2001) (Clive 2006)

8.7.3. Liberación del fármaco

Un estudio de liberación in vitro revela información fundamental de la estructura de la nanopartícula, así como de la conducta de la formulación a nivel molecular, posibles interacciones entre el fármaco y el polímero, y su influencia en la velocidad y el mecanismo de liberación. Los métodos más comúnmente utilizados para sistemas nanoparticulados son flujo continuo, filtración, ultracentrifugación y diálisis. Los estudios de liberación van a depender de factores como la temperatura del medio de disolución, el pH, la velocidad de agitación y si el sistema se encuentra en condiciones sink (cuando la concentración del fármaco en el medio de disolución es mucho menor que la solubilidad del fármaco). (Jung, Kam y Breitenbach 2000) (Khan 1996)

El mecanismo de liberación de principios activos a partir de nanopartículas puede verse en tres etapas:

1. Una liberación inicial de fármaco enlazada a la superficie de la nanopartícula; seguida de,
2. Una liberación difusional a través de la matriz de las nanopartículas y a través de los poros durante la degradación de la matriz; y por último,
3. Una liberación erosional debido a la desintegración de la matriz y disolución después que la matriz pierde su integridad y es degradada a un tamaño suficiente para ser solubilizada (Ramos, y otros 2007).

El proceso de liberación de los fármacos a partir de nanopartículas esta influenciado por el mecanismo de liberación, la solubilidad, el coeficiente de difusión y la velocidad de degradación de los materiales que conforman la matriz, pero también depende en gran parte de la distribución del principio activo el cual puede estar distribuido homogéneamente o heterogéneamente (Mohanraj y Chen 2006)

9. ASPECTOS FARMACÉUTICOS

Debido a que las nanopartículas están destinados a ser utilizados como formas farmacéuticas en los seres humanos, es necesario que, (1) estén libres de cualquier impureza potencialmente tóxica, (2) deben ser fáciles de almacenar y administrar y, finalmente, (3) deben ser estériles si se proveen para su uso parenteral. (De Jaeghere y E. 1999)

9.1. Purificación.

Dependiendo del método de preparación, varias impurezas potencialmente tóxicas pueden ser encontradas en las suspensiones de nanopartículas incluyendo solventes orgánicos, monómeros residuales, iniciadores de polimerización, electrolitos, tensoactivos, estabilizadores, y grandes agregados poliméricos. La necesidad y el grado de purificación dependen del objetivo final de la formulación desarrollada.

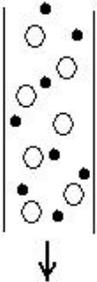
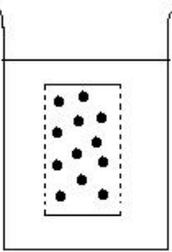
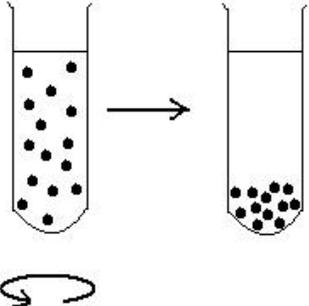
Aunque los agregados poliméricos pueden ser fácilmente removidos por una simple filtración a través de filtros de vidrio, la eliminación de impurezas requiere procedimientos más sofisticados. Los procedimientos más comúnmente reportados son la filtración en gel, la diálisis y la ultracentrifugación. Sin embargo, estos métodos no son enteramente satisfactorios ya que son restringidos a una escala de laboratorio o son incapaces de eliminar moléculas de alto peso molecular. (Ver tabla 5).

La necesidad de encontrar una técnica eficiente de purificación desde el punto de vista de escalonamiento en la industria lleva al desarrollo de un método de filtración de cruzamiento de flujo. En esta técnica, usada por Alléman y cols., la suspensión de nanopartículas es filtrada a través de membranas, donde la dirección del fluido es tangencial a la superficie de la membrana. En contraste, con el método de filtración perpendicular, se evita la obstrucción de los filtros (Figura 39). Dependiendo del tipo de membrana usado, se puede llevar a cabo una microfiltración o ultrafiltración. La suspensión es sometida a varios ciclos de filtración, ya que con el filtrado se descartan componentes más pequeños que los poros, así como las impurezas. En primer lugar, se obtiene una concentración de la suspensión, entonces, se agrega agua al

sistema, permitiendo así que el volumen de la circulación se mantenga constante (paso hemodiafiltración).

Esta técnica es fácil de usar y permite la purificación rápida de grandes cantidades de nanopartículas sin alterar su tamaño.

Tabla 1 Principales métodos para la purificación de Nanopartículas en un laboratorio .

Método	Principio esquemático	Inconvenientes
Filtración en gel		Difícil remoción de impurezas de alto peso molecular
Diálisis		Difícil remoción de impurezas de alto peso molecular Tardado Dificultad para escalamiento
Ultracentrifugación		Agregación de partículas Tardado Dificultad para escalamiento

Enciclopedia of Controlled Drug Delivery. De Jaeghere y E. John Wiley and Sons Inc. New York. 1999

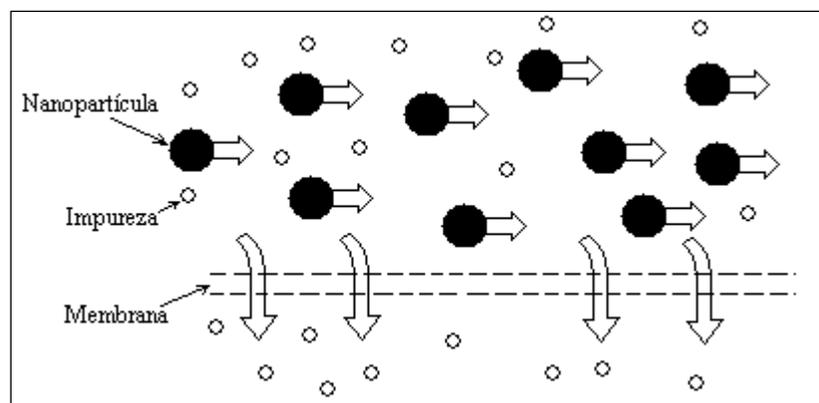


Figura 1 Técnica de purificación de fluido tangencial (De Jaeghere y E. 1999)

9.2. Secado por congelación.

Si las nanopartículas son almacenados como una suspensión acuosa, puede ocurrir la degradación y o la solubilización del polímero, fuga de fármaco, desorción del fármaco, y / o degradación del fármaco. El secado por congelación (liofilización) representa probablemente uno de los métodos más útiles para asegurar la conservación a largo plazo de las nanopartículas poliméricas. Esta técnica implica la congelación de la suspensión y la posterior eliminación de su contenido de agua por sublimación bajo presión reducida. Después de la desecación completa, las nanopartículas se obtienen en un lugar seco de la de fácil manejar y almacenar. Las nanopartículas secadas por congelación suelen ser muy redispersables en el agua sin la modificación de sus propiedades físico-químicas. Debido a que las nanopartículas son producidas generalmente con tensoactivos o estabilizadores, la presencia de residuos de estos compuestos en general, favorece la redispersión de las partículas. Sin embargo, en algunos casos específicos, puede ser difícil que se logre la redispersión total del sistema. Por ejemplo, los compuestos nanoencapsulados oleosos rodeados por una delgada pared polimérica tienden a agregarse durante el secado por congelación. De manera similar los problemas de agregación han sido reportados con nanoesferas hechas de varios materiales. Este problema se puede evitar por la disociación de estos sistemas en presencia de un apropiado agente lioprotector como mono- o di-sacáridos (ej. trealosa, sucrosa, glucosa). El mecanismo por el cual las azúcares protegen a las nanopartículas durante el proceso de secado por congelación es frecuentemente referido en la literatura como un “pobre entendimiento”. Se sugiere que esto comúnmente se debe a que durante el secado por congelación los azúcares pueden interactuar con el soluto de interés (liposomas o proteínas) a través de puentes de hidrógeno. Como

resultado el soluto puede ser mantenido en un estado “pseudo-hidratado” durante el paso de deshidratación por el secado por congelamiento, por lo tanto debe ser protegido del daño durante la deshidratación y la subsecuente rehidratación. Se debe tener cuidado, ya que el azúcar puede afectar la isotonicidad de la suspensión final de nanopartículas, y el siguiente paso de ajuste de tonicidad puede ser requerido antes de la administración parenteral u ocular. (De Jaeghere y E. 1999)

9.3. Esterilización.

Las nanopartículas que pretenden ser administradas vía parenteral requieren ser estériles y libres de pirógenos. La esterilización con filtros de $0.22\mu\text{m}$ no es adecuada para nanopartículas en suspensión debido a que los microorganismos y las nanopartículas generalmente tienen un tamaño similar ($0.25\text{-}1\mu\text{m}$). La esterilización puede llevarse cabo por otros sistemas microparticulares, cualquiera de las dos usando condiciones asépticas durante la formulación, o por un subsecuente tratamiento como el autoclave o radiación- γ . El tipo de tratamiento de esterilización depende de la susceptibilidad física del sistema. El autoclave y la radiación- γ han mostrado tener un impacto en las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas en varios sistemas, un ejemplo es la modificación del tamaño de partícula, la estabilidad y las características relacionadas con el fármaco. Hace algún tiempo, las modificaciones ocurrían como consecuencia de rompimiento del entrecruzamiento de las cadenas poliméricas, pero pueden ser resultado de la alteración de otros componentes como los agentes de superficie o los mismos fármacos. (De Jaeghere y E. 1999)

10. APLICACIÓN DE LAS NANOPARTICULAS EN PREPARACIONES FARMACÉUTICAS

10.1. PAPEL DE LAS NANOPARTICULAS EN FARMACIA

Después de que se comenzaron a desarrollar las nanopartículas, su aplicación para el diseño de suministro de fármaco se puso a disposición por el uso de polímeros biodegradables que se considera que podría ser muy adecuado para aplicación en el ser humano. En ese momento, la investigación sobre transportadores coloidales se centra principalmente en los liposomas, pero nadie fue capaz de producir vesículas estables de lípidos adecuados para aplicaciones clínicas. En algunos casos, las nanopartículas han demostrado ser más activas que los liposomas debido a su mejor estabilidad. Esta es la razón por la cual en las últimas décadas muchos medicamentos (por ejemplo, antibióticos, antivirales y antiparasitarios, citostáticos, proteínas y péptidos) se asociaron a nanopartículas.

La revolución que se ha dado en los últimos años para tratar de dosificar medicamentos de manera más efectiva, con menos efectos adversos y más específicos ha sido uno de los principales objetivos de las ciencias farmacéuticas. Los científicos en la actualidad han volteado la vista a tratar de mejorar los sistemas de liberación de fármacos. Muchos de los medicamentos actuales son bastante efectivos pero tienen que ser dosificados de manera más eficiente. La época en la que se administraban fármacos en grandes dosis para mantener un efecto terapéutico por un corto tiempo está cada vez más cerca de terminar.

Los fármacos por su naturaleza química se enfrentan a grandes desafíos en su paso por el organismo. Lo anterior ha hecho que se desarrollen estrategias como lo son los dendrímeros, la formación de complejos, las ciclodextrinas, los recubrimientos de gránulos, los recubrimientos de tabletas, los liposomas, la búsqueda de polimorfos más solubles, los profármacos, etc., con el fin de hacer llegar los fármacos a su sitio de acción de forma más eficaz y sin los efectos adversos que estos conllevan. (Ver en apéndice Tabla 17 y 18)

10.2. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Como se mencionó anteriormente una gran variedad de fármacos se ha podido encapsular, entre estos tenemos a los anticancerígenos, antibióticos, antituberculosos, hipoglucémicos, por mencionar algunos. En la siguiente tabla se muestra una variedad de fármacos encapsulados, desde antibióticos hasta fármacos con acción anticancerígena, que tienen la capacidad de llegar a diferentes sitios blanco.

Tabla 1 Fármacos encapsulados, así como sus diferentes sitios/microorganismos blanco.

Fármaco	Sitio / microorganismo blanco	Referencia
Ampicilina	<i>Salmonella typhimurium</i> <i>Listeria monocytogenes</i>	(Vauthier y Dubernet 2003)
Anfotericina B	Antibiótico Fungicida	(Espuelas, y otros 1997)
Ciprofloxacina	Infecciones intracelulares	(Page-Clisson, y otros 1998)
Doxorrubicina	Leucemias	(Vauthier y Dubernet 2003)
Enalapril	Antihistamínico	(Ahin, Kristi y Vreecer 2002)
Estradiol-benzoato	Terapia Hormonal	(Hye-Young, y otros 2001)
Fenil butazona	Tratamiento del reumatismo	(Alleman y Quintanar 1998)[2]
Gentamicida	Antibiótico amplio espectro	(J. Kreuter 2002)
Ibuprofeno	Analgésico y antipirético	(J. Kreuter 2002)
Indometacina	Antiinflamatorio	(Quintanar-Guerrero, y otros 1997)
Miconazol	Antimicótico	(J. Kreuter 2002)
Paclitaxel	Anticancerígeno	(Mu y Feng 2002)
Rifabutina	Tratamiento contra la Toxoplasmosis	(Dalencón, y otros 1997)
Rifampicina	Tuberculosis	(Calleja, y otros 2003)
Triclosan	Antibacteriano en enfermedades peri dentales	(Piñon-Segundo 2003)
Vitamina E	Antianémico	(Quintanar-Guerrero, y otros 1997)

10.2.1. Citostáticos

Una de las aplicaciones más prometedoras de nanopartículas es su utilización como soportes de los agentes antitumorales, debido a que las nanopartículas de poli alquil cianoacrilato muestran una tendencia a la acumulación en ciertos tumores. Una de las razones para ello podría ser el aumento de actividad endocitótica mostrada por una variedad de tumores. Esta mayor actividad endocitótica puede ser una explicación para el aumento tan pronunciado en el aclaramiento de lípidos en la prueba de aclaración de Lipofundin® en pacientes con cáncer. Otra posible razón del aumento de la acumulación

tumoral es que las nanopartículas se escapan en la vasculatura a través de fugas en el tejido endotelial en el tumor, o que las paredes de los vasos sanguíneos en el tumor poseen una mayor bioadhesividad para las partículas, comparable a la observada en los ojos después de inflamación. Este efecto puede conducir a la adsorción de las nanopartículas en la superficie de los vasos sanguíneos en el tumor.

Los resultados obtenidos con fármacos antitumorales acoplados a nanopartículas son muy prometedores. (De Jaeghere y E. 1999) (Donbrow 1991)

10.2.2. Antibióticos

Los antibióticos usualmente exhiben una pobre capacidad para penetrar en las células infectadas o una disminución de su actividad en los compartimentos intracelulares. Por tal motivo, sustancias cuyo desarrollo se ha detenido debido a sus propiedades farmacocinéticas desfavorables podrían ser eficientes y disponibles, utilizando nanopartículas.

Por ejemplo, la ampicilina y la gentamicina fueron usados para obtener nanopartículas de poli isobutil cianoacrilato y poli isohexil cianoacrilato por polimerización de los cianoacrilatos en presencia de los fármacos. La capacidad máxima de transporte fue 184µg de ampicilina/mg de polímero para nanopartículas de poli isobutil cianoacrilato y 256µg de ampicilina/mg de polímero para nanopartículas de poli isohexil cianoacrilato. En el caso de la gentamicina, el 70% de una solución de 30µg/ml se obtuvo de las nanopartículas. La tasa de liberación de estos fármacos se estudió con y sin esterasas. Para las nanopartículas de poli isobutil cianoacrilato, la liberación del fármaco aumenta en un medio que contiene esterasas. En contraste las nanopartículas de poli isohexil cianoacrilato no muestran un incremento causado por la degradación enzimática. Ambos fármacos retienen esta actividad antimicrobiana después de ligarse a la partícula. (De Jaeghere y E. 1999) (Donbrow 1991)

10.2.3. Vacunas

Como se mencionó anteriormente, la captación de partículas se lleva a cabo en la mucosa intestinal, y se demostró que esta captación se produce principalmente en la región linfática del intestino llamada placas de Peyer, a través de la acción de células epiteliales especializadas, llamadas células M. Estas células juegan un papel determinante en la toma de muestras y el transporte de antígenos lumenales en los tejidos linfoides y de la iniciación de la respuesta inmunológica adecuada.

Las primeras aplicaciones de nanopartículas han sido como adyuvantes en las vacunas. Birrenbach y Speiser desarrollaron el anticuerpo de respuesta en cobayas contra IgG humana y el toxoide tetánico significativamente por entrapamiento en nanopartículas de poli acrilato en comparación con el adyuvante inmunológico estándar de hidróxido de aluminio o fosfato y comparables a las vacunas sin líquido adyuvante.

Casi al mismo tiempo, un adyuvante más poderoso fue desarrollado por Kreuter y Speiser. Este adyuvante fue producido por polimerización de metacrilato de metilo en un medio acuoso libre de emulsificante, evitando así el uso de emulsificadores que posiblemente sean irritantes y de disolventes orgánicos. La polimerización se llevó a cabo por la irradiación de rayos gama o polimerización por calor.

Experimentos con nanopartículas de poli metacrilato de metilo, copolímero de poli metacrilato de metilo-2-hidroxietil-metacrilato), poliestireno, y poli alquil cianoacrilato han demostrado que el efecto adyuvante de estas nanopartículas poliméricas depende del tamaño de partícula y de su hidrofobicidad: un pequeño tamaño de partícula y una alta hidrofobicidad medible por un alto ángulo de contacto con el agua conducen a una alta respuesta significativa al anticuerpo. (De Jaeghere y E. 1999) (Donbrow 1991)

10.3. APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR LAS DIFERENTES VÍAS DE ADMINISTRACIÓN

10.3.1. Vía intravenosa

La administración I.V. es atractiva porque los fármacos son llevados directamente hacia la sangre para dar una respuesta inmediata, debido a que se mantienen altas concentraciones de fármaco en sangre. Pero hay limitaciones como la biocompatibilidad y tamaño de partícula de los fármacos inyectados; por ejemplo, algunas formas farmacéuticas al ser administradas bloquean pequeños capilares, por lo tanto, se requieren partículas pequeñas para una administración intravenosa. (Quintanar-G y Ganem-Q 2005)

En una administración I.V las NP son distribuidas en toda la circulación sanguínea, llegando a células del hígado, bazo y médula ósea, como se observa en la Figura 40. Estas partículas no bloquean los capilares debido a su tamaño nanométrico (menor a $1\mu\text{m}$). (Hans AML 2002)

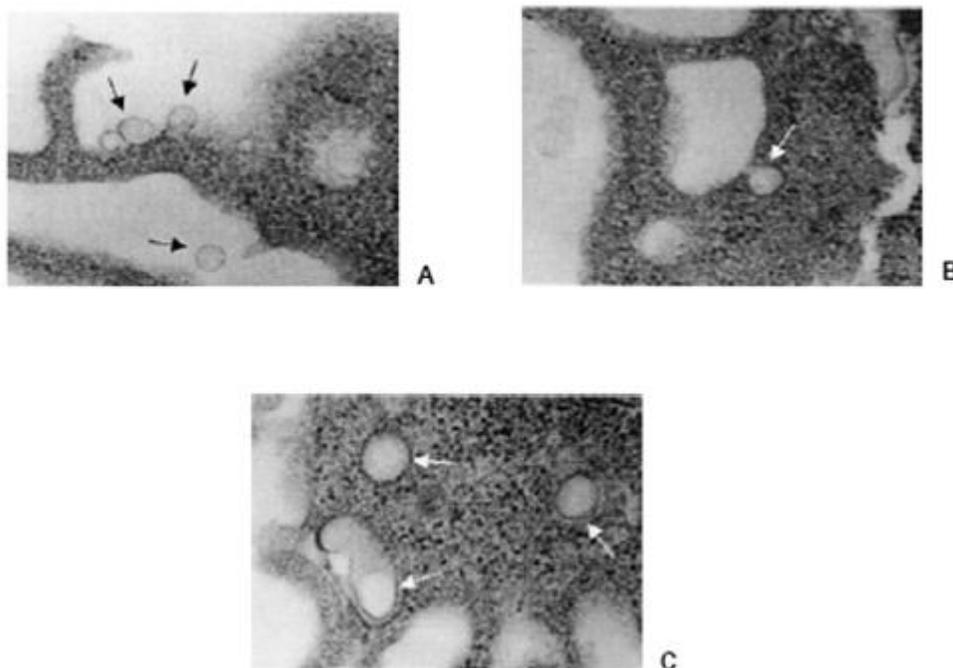


Figura 1 Endocitosis de NP en cultivos celulares observados con microscopía electrónica de transmisión. A) Interacción de nanopartículas con la membrana de las células. B) Endocitosis de las nanoesferas. C) Nanoesferas en fagosomas (las flechas indican la posición de las nanopartículas) (Hans AML 2002).

Como el hígado es un sitio de acumulación, las NP son capturadas por las células Kupffer. La interacción de las NP con las células Kupffer abre posibilidades para el tratamiento de algunas enfermedades parasitarias y bacterianas, porque las NP, después de una administración I.V., pueden ser fagocitadas por los macrófagos de la circulación sanguínea y así llegar a las células infectadas (Kupffer) y liberar el fármaco. Si la comparamos con una forma farmacéutica convencional, tendría ventaja, porque ésta llegaría en concentraciones mínimas a los macrófagos; problema que se puede resolver al encapsularlo dentro de nanopartículas (NP). (Barratt 2003)

Este tipo de infecciones intracelulares han sido establecidas como un campo de interés para la liberación de fármacos por medio de nanoesferas (NE). (Vauthier y Dubernet 2003)

Se han realizado varios experimentos y se ha comprobado que hay una mayor eficacia del fármaco encapsulado en NP, que en una forma convencional (Barratt 2003); por ejemplo: se han formulado NE cargadas de ampicilina contra el tratamiento de *Listeria monocytogenes* (localizada en macrófagos de hígado y bazo) y salmonelosis. Se hizo un estudio comparativo en donde se administró; por un lado, NP cargadas de ampicilina; y por otro, una forma farmacéutica convencional de ampicilina. Después de la administración de NE, la actividad terapéutica se incrementó en comparación con la forma farmacéutica convencional, esto se corroboró con un conteo bacterial, donde se determinó que había una reducción de la población bacteriana 20 veces menor con la administración de NE en comparación del fármaco libre. (Vauthier y Dubernet 2003)

10.3.2. Vía oral

Muchos fármacos tienen poca biodisponibilidad cuando son administrados por esta vía. Para mejorar su biodisponibilidad se ha propuesto la administración de sistemas nanoparticulados. Guilles y cols. (1997) administraron NP por vía oral en donde observaron que se quedaban adheridas a la mucosa del TGI. Este proceso se realiza en diferentes pasos, como se observa en la Figura 41. Primero, la suspensión de NP es administrada, llega al TGI e inmediatamente entra en contacto con una porción de la mucosa intestinal (paso II). El concentrado de NP actúa como un reservorio y sólo una fracción de las NP es adsorbida por la capa de la mucosa. Las que no son retenidas en la porción inicial del intestino transitan a través de éste (paso III),

facilitándose la absorción en pequeñas fracciones, las NP que no son atrapadas se eliminan por las heces (paso IV). (Gilles, Marie-Jeanne y Assia 1997)

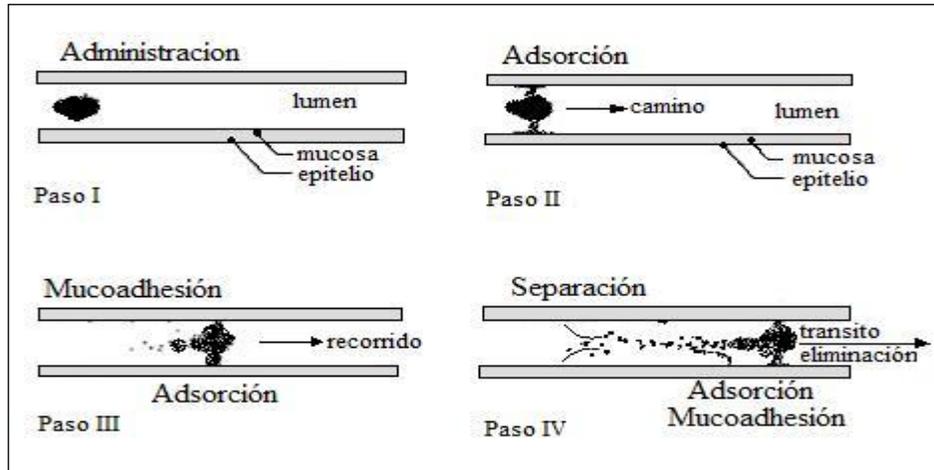


Figura 2 Comportamiento adhesivo de un sistema de partículas coloidales después de una administración oral) (Gilles, Marie-Jeanne y Assia 1997)

Se puede tener un efecto terapéutico prolongado debido a que las propiedades bioadhesivas de las partículas podrían ser absorbidas sobre la mucosa intestinal e incrementar el tiempo de residencia en el TGI y así liberar lentamente el activo (Gilles, Marie-Jeanne y Assia 1997). El encapsulamiento dentro de nanocápsulas (NC) mejora y prolonga el efecto terapéutico por la ruta oral. Sin embargo, las propiedades bioadhesivas de las NP podrían tener interesantes implicaciones para mejorar la pobre absorción de fármacos pocos solubles, así como proteger la mucosa del TGI (Barratt 2003).

Algunos autores han apoyado la idea de que las nanopartículas pueden mejorar la biodisponibilidad de los fármacos a base de péptidos o proteínas administrados por vía oral. La justificación de esto se basa en que las nanopartículas pueden proteger a estos medicamentos lábiles de la degradación enzimática en el tracto gastrointestinal (TGI) y mejorar su absorción (1) mediante la optimización de su interacción con el sitio de absorción en la pared intestinal o (2) directamente por el transporte a través de la mucosa intestinal a la circulación sistémica. Algunos ejemplos de nanopartículas para administración oral son:

a) Vincamina: Las nanopartículas de hexil cianoacrilato con vincamina fueron preparados por Mamcent y col., su tamaño medio es 230nm. Cerca de 82mg de vincamina podrían ser absorbidos por 1g de nanopartículas. La relativa biodisponibilidad peroral de la preparación de nanopartículas fue 162%, en comparación con una solución del fármaco.

b) Insulina: La insulina es encapsulado en nanopartículas utilizando el método de Al Khouri y col. La fase peptídica es mezclada directamente con la fase lipídica, que consiste de migliol (1ml), isobutil cianoacrilato (0,125ml) y etanol (25ml). Esta fase lipofílica se añade con una jeringa a 50ml de un solución acuosa al 0.25% de poloxamero 188 bajo agitación, lo que conducirá a la formación de nanocápsulas.

Estas nanocápsulas que contienen insulina inducen un importante efecto hipoglucemiante durante varios días en ayunas (hasta el día 20 con 50 U/kg) y en ratas con diabetes (hasta el sexto día con 100 U/Kg). Esta larga duración del efecto hipoglucemiante fue atribuido por Damgé y col por el paso retardado de las nanopartículas que contienen insulina a través de la mucosa del intestino. Existe evidencia de que las nanopartículas pueden ser capaces de pasar por el lumen intestinal hacia el compartimiento sanguíneo por medio de un camino paracelular. La encapsulación puede proteger a la insulina contra enzimas proteolíticas. Se ha observado que la adsorción de la insulina por nanopartículas no reduce los niveles de glucosa después de la administración peroral.

10.3.3. Vía subcutánea

Esta ruta de administración es comúnmente usada cuando las propiedades farmacocinéticas de un fármaco no son favorecidas por la administración oral; los fármacos incluyen vehículos como: geles, implantes, inyecciones subcutáneas usando sistemas biodegradables. (Robinson 1987).

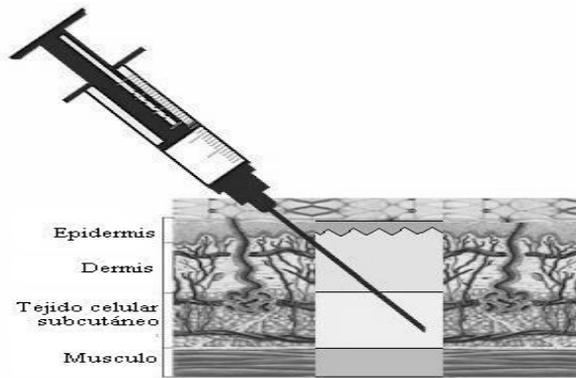


Figura 3 Vía de administración subcutánea

10.3.4. Vía ocular

Para el tratamiento de enfermedades oculares, la instilación tópica es la más escogida que otras vías de administración, porque se puede tener una alta absorción de fármaco sobre el epitelio corneal (Vargas y Delie s.f.), no solo maximiza la liberación de fármacos a tejidos oculares afectados, sino también minimiza los efectos sistémicos. De cualquier forma la aplicación tópica de fármacos a los ojos y su efectividad farmacológica se ve impedida significativamente por la eficiencia de los mecanismos de protección fisiológica, los de drenaje y circulación lagrimal. Cuando los fármacos son instilados en solución acuosa éstos son eliminados del área precorneal de 1-2 minutos, después de la aplicación, así que una dosis menor del 3 % del total penetra en el humor acuoso, y por ende, la acción del fármaco es corta y será necesario aplicar otra dosis. (Robinson 1987)

Debido al drenaje lagrimal y a la estructura hidrofóbica del epitelio corneal, la biodisponibilidad ocular predispone que las soluciones oftálmicas resulten ineficientes. Por lo tanto, se han experimentado con nuevos sistemas de entrega de fármacos, entre los cuáles, los más efectivos fueron las NP. Estos sistemas son capaces de encapsular y proteger el fármaco contra la degradación enzimática y química, además de incrementar el transporte y tiempo de vida media intraocular. Calvo y cols., 1994, realizaron NP de poli-ε -caprolactona (PECL), cargadas con ciclosporina A (Calvo, y otros 1994). Después, las administraron por vía tópica en conejos, conjuntamente con una solución oleosa. Las NP lograron mayores niveles de concentración, en comparación con la solución oleosa. Calvo y cols., 1994, suponen que las NP fueron tomadas por las células del epitelio corneal, logrando una liberación por un extenso periodo de tiempo, además de ser bien toleradas.

En otro experimento, algunos investigadores compararon el efecto después de la administración tópica de una dispersión de NP cargadas con policarpina por una parte, y de una solución (convencional) a conejos por vía ocular. En los resultados comprobaron que las NP tenían mayor retención debido a su bioadhesividad en comparación a la solución convencional. Indudablemente existe una clara ventaja sobre las formulaciones convencionales, las cuales, son incapaces de mantener los niveles terapéuticos en estos tejidos. Asimismo se detectaron bajos niveles de policarpina en sangre, lo cual, indica que se tienen mínimos efectos sistémicos.

10.3.5. Vía nasal

Una alternativa para la administración de las proteínas, los antígenos y los genes es la vía nasal. Esta ruta ofrece una serie de ventajas en comparación con la administración oral: debido a su fácil accesibilidad, a que la cantidad de fluidos en la cavidad nasal es muy baja, el material absorbido por epitelio nasal tiene acceso directo a la circulación sistémica, evitando así el paso a través del hígado.

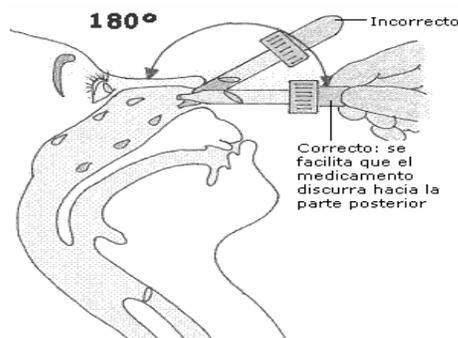


Figura 4 Vía de administración nasal

Debido a estas características, la vía nasal se ha probado con éxito para la administración de péptidos de bajo peso molecular, como la calcitonina. Varios investigadores han propuesto también la vía nasal como una forma muy eficiente para la inmunización, ya que los antígenos pueden ser concentrados localmente para una alta entrega en tejido nasal inmunológicamente activo, conocido como tejido linfoide asociado (NALT) y, eventualmente, llega al tejido

linfoide asociado a los bronquios (BALT). Tanto para la protección de las vías respiratorias superiores y la potenciación de la inmunidad sistémica se han documentado una serie de antígenos. Además, hay pruebas suficientes de que, como en el caso de la vía oral, en la asociación de antígenos a un adyuvante apropiado ayuda a inducir una inmunidad duradera. (Tobio, y otros 1998)

10.3.6. Vía pulmonar

En los últimos años, la absorción de macromoléculas terapéuticas para administración por vía pulmonar ha recibido gran atención. La gran superficie alveolar adecuada para la absorción del fármaco, la barrera de bajo espesor epitelial, la vascularización y la relativamente baja actividad proteolítica comparadas con otras vías de administración, junto con la ausencia del efecto de primer paso, hacen que la liberación pulmonar de péptidos y proteínas sean un objetivo destacado.

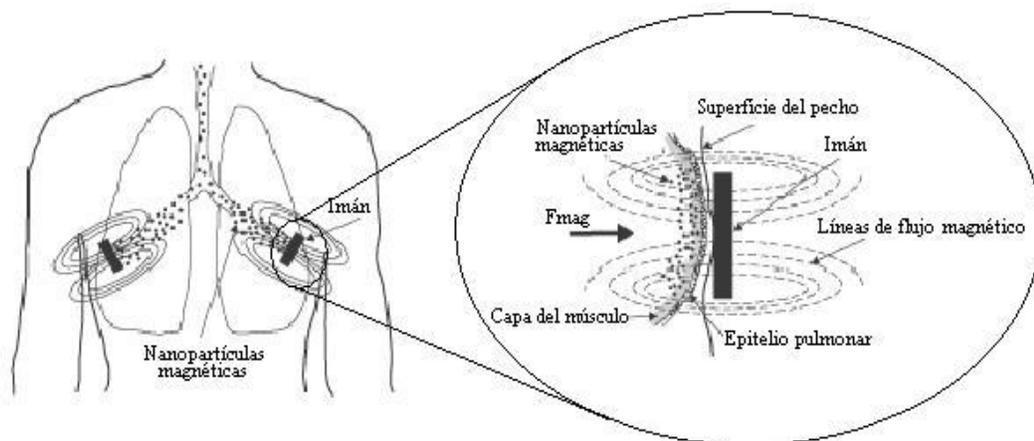


Figura 5 Vía de administración pulmonar

Sin embargo, las nanopartículas recientemente se han propuesto como medios valiosos para el transporte eficiente de fármacos por el epitelio pulmonar evitando la depuración mucociliar no deseada, como el mecanismo de fagocitosis. Sin embargo, la utilidad de las nanopartículas para la administración pulmonar se ve gravemente perjudicada por su baja inercia debida a sus dimensiones excesivamente pequeñas, que las lleva a escapar de la deposición del pulmón y ser predominantemente exhaladas. Además, el pequeño tamaño de las partículas lleva a la agregación de las partículas, haciendo que la manipulación física de las nanopartículas sea

difícil en formas líquidas y en polvo seco. Para resolver estas limitantes se ha propuesto la producción de aspersores de polvo seco que contienen nanopartícula, que se disuelven en los pulmones debido a que las dimensiones de las nanopartículas poliméricas son lo suficientemente pequeñas para evitar el aclaramiento mucociliar y la fagocitosis. En este sentido, una vez alcanzando el epitelio alveolar, las moléculas de gran tamaño no podría ser capaz de cruzarlo, por lo tanto, el uso de nanopartículas puede ser una forma ideal para la administración de proteínas por medio de la vía pulmonar. (Grenha, Seijo y Remuñan-López 2005)

10.3.7. Vía tópica

Debido a que hay menos riesgo de tener efectos secundarios sistémicos, el tratamiento tópico de las enfermedades de la piel parece favorable, sin embargo, el estrato córneo contrarresta la penetración de algunos fármacos como los xenobióticos en la piel viable, y sólo un pequeño porcentaje del fármaco aplicado es absorbido.

Las NP lipídicas han ganado gran interés en las formulaciones farmacéuticas y cosméticas, pues gracias a su tamaño pueden abarcar una gran superficie, permitiendo formar grandes películas sobre una parte específica en la piel. Esto se puede aplicar en bloqueadores solares, porque incrementan el efecto húmedo, lo que contribuye a la protección de la piel de los efectos adversos del sol. (Müller-Goyman 2004)

Por otra parte, se tendría una liberación sostenida de principios activos irritantes en altas concentraciones, ya que por otras vías no es posible administrarlos (intramuscular, oral o I.V.) porque el fármaco dañaría al organismo. O bien, si se pretende administrar un fármaco por un periodo prolongado y no se quiera tener daños fisiológicos, estos fármacos pueden ser formulados en NP para ser administrados sobre la piel sin que tengan algún efecto irreversible. (Müller-Goyman 2004)

Los sistemas acarreadores de partículas pueden mejorar la penetración cutánea de fármacos, debido a que los lípidos de la piel en gran medida contribuyen a su penetración. Entre estos sistemas acarreadores encontramos a los liposomas, las nanopartículas sólidas lipídicas (SLN), los acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLCs), las microesferas lipídicas, las

microemulsiones, y las nanodispersiones de fase hexagonal las cuales se adhieren a la superficie de la piel. (Radowski y Blaschke 2009)

El desarrollo de la nanotecnología, y la creciente presencia de las partículas sub-micrónicas (y otras estructuras de dimensiones similares) en formulaciones farmacéuticas y cosméticas diseñadas para su aplicación en la piel, son fundamentales para desarrollar técnicas que evalúen la deposición local de estos materiales. Aunque la función principal de la piel es una barrera de protección, es importante determinar si las estructuras sub-micra pueden encontrar su camino en y/o a través de este tejido, o si es que muestran una afinidad particular, por ejemplo, por los componentes específicos de la piel, tales como los bellos y los folículos de la cual emergen los bellos. (Wu, y otros 2009)

11. PRINCIPALES MATERIALES UTILIZADOS EN LA ELABORACION DE NANOPARTICULAS

Las nanopartículas pueden ser preparadas a partir de diversos materiales como polímeros, lípidos, proteínas o polisacáridos. La selección de la matriz depende de muchos factores, incluyendo:

- a) Tamaño de partícula requerido
- b) Propiedades inherentes del fármaco (ej. Solubilidad, estabilidad, etc.)
- c) Características de superficie como carga y permeabilidad
- d) Grado de biodegradabilidad, de biocompatibilidad y de toxicidad
- e) Perfil de liberación del fármaco requerido
- f) Antigenicidad del producto final (Mohanraj y Chen 2006)

La elaboración de nanopartículas con fines farmacéuticos principalmente es a base de polímeros y lípidos debido a las características que le confieren estos materiales al sistema acarreador: (Date, Joshi y Patravale 2007)

Tabla 1 Comparación de nanopartículas poliméricas y nanopartículas lipídicas

	SLN	Nanopartículas poliméricas
Liberación parenteral	Posible	Posible
Liberación oral	Posible	Posible
Liberación de fármacos hidrofílicos e hidrofóbicos	Si	Si
Estabilidad física	+++	+++
Estabilidad biológica	++	+++
Biocompatibilidad	+++	++
Fácil Esterilización	++	++
Vectorización	++	++
Carga de fármaco	De baja a moderada	++
Fácil comercialización	++	+
Aceptación de excipientes	+++	+

+++ Alta ++ Moderada + Baja

*Parasitic diseases: Liposomes and polymeric nanoparticles versus lipid nanoparticles
Advanced Drug Delivery Reviews. Date, Joshi y Patravale. 2007*

De acuerdo a lo anterior es necesario conocer las características de los principales ingredientes empleados para la obtención de éstas.

Las propiedades de los polímeros no solo están relacionadas con su naturaleza química, sino también con factores tales como la distribución y magnitud de la cristalinidad (pueden existir polímeros que sean totalmente amorfos pero no hay polímeros totalmente cristalinos), la distribución de longitudes de cadena, la naturaleza y cantidades de aditivo, por nombrar unos cuantos. Estos factores modifican en alguna medida sus propiedades físicas y química tales como resistencia al desgarre, resistencia química, dureza, flamabilidad, etc. (Seymour 1995) (Ureta 1989)

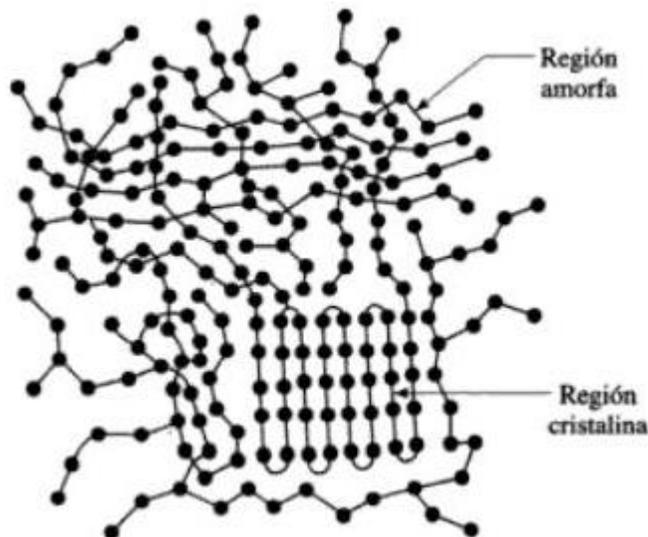


Figura 1 Regiones amorfas y cristalinas en un polímero. La región cristalina tiene una organización ordenada de las moléculas. Mientras más elevada sea la cristalinidad, más duro y rígido, así como menos dúctil, será el polímero (Ureta 1989).

El polímero fundido puede cristalizar formando dos regiones: la región cristalina y la amorfa. En la región amorfa las cadenas se enmarañan en completo desorden, mientras que en la región cristalina las cadenas están dobladas varias veces en zig.zag y se encuentran alineadas formando agrupaciones llamadas cristalitas. El número y el tamaño, así como la proporción de material amorfo, puede controlarse mediante la velocidad de enfriamiento. La velocidad de

cristalización depende de factores como la flexibilidad de las cadenas poliméricas, las condiciones de la cristalización y el grado o porcentaje de cristalización.

Ya que los polímeros son materiales viscoelásticos y sus propiedades dependen de la temperatura (Tg), las moléculas de agua adsorbidas o la humedad, entre otras; y sus propiedades pueden ser modificadas mediante aditivos, cargas, esfuerzos o la unión con otros polímeros (mezclas o copolímeros), así como mediante variantes en los procesos de transformación. (Seymour 1995) (Ureta 1989)

Tabla 2 Polímeros naturales y sintéticos usados en aplicaciones farmacéuticas:

Polímero	Función Principal
Polímeros Naturales	
Gelatina	aglutinante, coacervación
Acido alginico, Na	Encapsulación
Goma xantana, Goma arabiga	matriz, aglutinante
Quitosan	matriz, membrana
Polímeros sintéticos (derivados de celulosa)	
Metil celulosa	aglutinante, recubrimiento
Etil celulosa	matriz, recubrimiento
Hidroxietil celulosa	aglutinante, recubrimiento
Hidroxi propil celulosa	aglutinante, recubrimiento
Hidroxietilmetil celulosa	aglutinante, recubrimiento
Hidroxi propilmetil celulosa	matriz, recubrimiento
Carboximetil celulosa de sodio	aglutinante, desintegrante
Acetato de Celulosa	Membrana
Acetato butirato de Celulosa	Membrana
Acetato propionato de Celulosa	Membrana
Acetato eftalato de Celulosa	Entérico
Eftalato de Hidroxipropilmetil celulosa	Entérico

Polímeros sintéticos

Resinas de intercambio iónico (ácido metacrílico, poliestireno/divinilbenzeno sulfonatado)	Matriz
Ácido poliacrílico (Carbopol)	matriz, bioadhesivo
Poli (MMA/MAA)	Entérico
Poli (MMA/DEAMA)	matriz, membrana
Poli (MMA/EA)	Membrana
Poli (vinil acetato eftalato)	Entérico
Alcohol polivinílico	Matriz
Pirrolidina polivinilica	Aglutinante
Ácido poli láctico	Biodegradable
Ácido poli glicólico	Biodegradable
Ácido poli láctico/glicólico	Biodegradable
Poli etilen glicol	Aglutinante
Poli etilen oxido	matriz, aglutinante
Poli dimetil silicona	matriz, membrana
Poli hidroxietil metacrilato	matriz, membrana
Poli etilen/vinil acetato	matriz, membrana
Poli etilen/vinil alcohol	matriz, membrana
Poli butadiona	Adhesivo/matriz
Poli anhídrido	Bioerosionable
Poli ortoester	Biodegradable
Ácido poli glutámico	Biodegradable

Polímeros, estructura, propiedades y aplicación. Limusa, Mexico. Ureta E. 1989

Los polímeros sintéticos solubles han surgido como prometedores vehículos de liberación de fármacos. Su aparición ha sido más versátil que los acarreadores microparticulados debido al gran número de posibles sitios blanco en el cuerpo.

Las características ideales para un acarreador macromolecular de fármaco incluye una adecuada capacidad de carga de fármaco, retención de la carga de fármaco cuando se solubilice en agua, alto peso molecular suficiente para permitir la filtración glomerular, pero lo suficientemente bajo como para llegar a todos los tipos celulares, acarreadores sin modificar no capturados por el proceso de pinocitosis, acarreadores; un cruce estable de fármaco-acarreador a los fluidos del cuerpo, pero degradables en los lisosomas; una baja biodegradabilidad de los

acarreadores en los compartimentos extracelulares o degradación en lisosomas; no tóxicos; no inmunogénicos; y generalmente biocompatibles. (Vasant y Mannfred 2004)

11.1. POLÍMERO IDEAL SOLUBLE

De acuerdo a Duncan y Lloyd, un acarreador ideal de fármaco debe poseer las siguientes características: la unión del fármaco-polímero debe mostrar una biodegradabilidad controlada, un adecuado rango de peso molecular, posibilidad para incorporar residuos que puedan facilitar la dirección y la eficiencia de la pinocitosis para capturar células blanco, ausencia de ningún efecto tóxico perjudicial, y nanopersistencia en el cuerpo.

Los polímeros que se unen a la superficie de las células es probable que también se unan a las proteínas del plasma. Este hecho puede invariablemente alterar sus interacciones con las células e, in vivo, puede llevar a la formación de agregados.

11.2. POLÍMEROS BIODEGRADABLES O BIOEROSIONABLES

La tasa de liberación del fármaco por una matriz polimérica, o un dispositivo reservorio, se ha determinado únicamente por difusión. Se pensaba que la biodegradación de los polímeros no estaba bien definida y que era una variable experimental innecesaria. Posteriormente se dio un interés en el desarrollo de polímeros biodegradables por dos razones. La primera, era por que se quedaban materiales extraños no degradables en el cuerpo por un periodo largo de tiempo, lo que constituía un peligro toxicológico indeseable. La segunda, mientras que la difusión controlada de liberación es un medio excelente para lograr tasas de entrega predefinidas, están limitadas por la permeabilidad del polímero y las características del fármaco.

Desde hace algún tiempo se encuentra literatura importante sobre la liberación de fármaco a partir de polímeros bioerosionables que han sido generados al retomar la atención de los polímeros biodegradables sintetizados como de costumbre. Se han desarrollado tres enfoques básicos: (1) la erosión de la superficie de los polímeros con la liberación simultánea de fármacos atrapados físicamente, (2) la ruptura de los enlaces covalentes entre el polímero y los fármacos ocurre dentro del polímero o en la superficie, seguido por la difusión del fármaco; y

(3) liberación por difusión controlada del fármaco, con bioabsorción del polímero hasta después de que se termine el fármaco. El tercer enfoque evita cualquier reproducibilidad de la tasa de bioerosión y de la dificultad de tratar de sincronizar la difusión y el proceso de bioerosión para tratar de obtener una tasa de entrega específica.

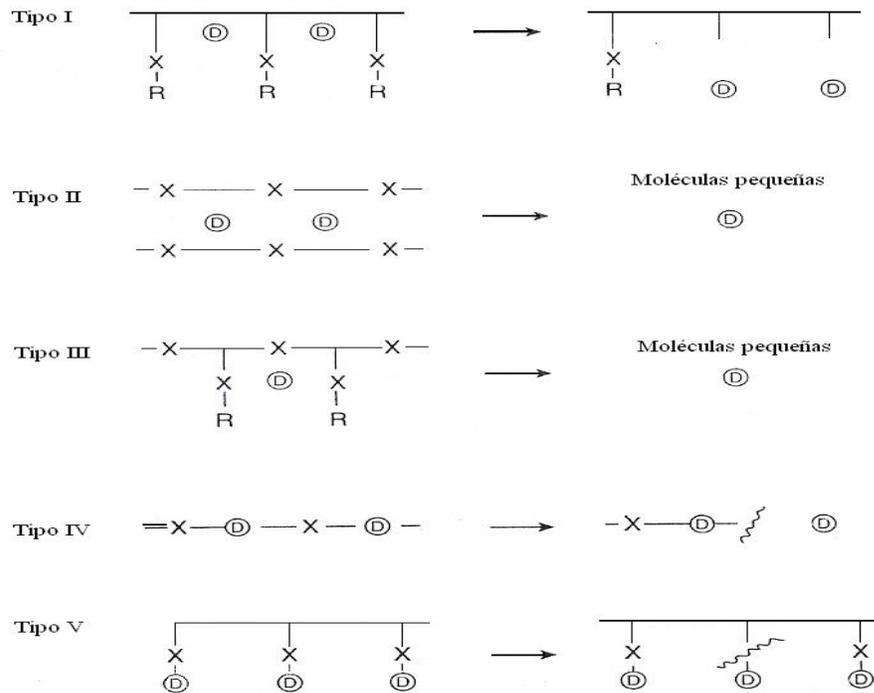


Figura 2 Diferentes métodos de sistemas de liberación de fármacos basados en polímeros biodegradables. (X es una vinculación biolábil; D es la molécula de fármaco) (Vasant y Manfred 2004)

Las propiedades fisicoquímicas específicas que contribuyen al grado de degradación del polímero son las siguientes:

1. La permeabilidad en agua y la solubilidad en agua, son un reflejo de la cantidad de polímero libre y de su hidrofiliidad, la cual determinará el grado de hidrólisis y si la degradación hidrolítica ocurre dentro o en la superficie. La autocatálisis del proceso de degradación es posible si los grupos ácidos o básicos son producidos por la ruptura del polímero, en el caso de polímeros y otros ésteres.

-
-
2. Cristalinidad del polímero, solo la fase amorfa del polímero es accesible a permeantes (por ejemplo: agua, fármaco) y al ataque enzimático.
 3. Temperatura de transición vítrea; la naturaleza elástica o vítrea puede estar reflejada en su permeabilidad y en la movilidad de la cadena molecular. La movilidad de la cadena parece ser un importante factor en la determinación de la susceptibilidad del ataque enzimático. Además, la incapacidad de los fragmentos para difundir fuera del polímero cristalino puede ampliar un proceso de autocatálisis hidrolítica. Esto puede contribuir al grado de degradación de polímeros tales como el ácido poli láctico y poli glicólico.
 4. Dimensiones físicas (ejemplo: tamaño y relación volumen-superficie); estos parecen ser significantes en las subsecuentes etapas de biodegradación, cuando la fagocitosis entra en juego.

De acuerdo a Sun y Watt, los factores que afectan la degradación del polímero involucran propiedades químicas como la estructura del monómero, lo cual afecta la labilidad del rompimiento enlaces y la composición del monómero; las propiedades físicas, tales como la hidrofiliidad y la cristalinidad, son controladas por la composición química de los monómeros y las condiciones del proceso; el peso molecular del polímero; los factores geométricos de los dispositivos poliméricos, como el tamaño, la forma y el área superficial; y los aditivos y factores del medio, como el pH y la fuerza iónica. La degradación de los polímeros biodegradables que son sensibles al pH del medio (por ejemplo el ácido poli láctico-co-glicólico) se degradan más rápidamente en buffers muy alcalinos que en ácidos y buffers fisiológicos, los poli anhídridos se degradan más rápidamente en condiciones básicas, y la hidrólisis de poli (orto esteres) es catalizada por ácidos. (Vasant y Mannfred 2004)

11.3. PRINCIPALES POLÍMEROS EMPLEADOS EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS:

11.3.1. Poliésteres

Los poliésteres son atractivos para desarrollar sistemas inyectables de liberación controlada por su disponibilidad, biodegradabilidad, nula toxicidad, biocompatibilidad, y por ser combinables con una amplia gama de principios activos (Ramos, y otros 2007).

a) *Ácido poli láctico*

El ácido poli láctico, PLA, es un polímero termoplástico, amorfo o semicristalino, que ha sido ampliamente estudiado en aplicaciones como la liberación controlada de fármacos, suturas biodegradables y diferentes implantes para la fijación de fracturas y para la elaboración de dispositivos vasculares.

Se obtiene mediante polimerización por apertura de anillo del dímero cíclico del ácido láctico. El monómero tiene un carbono asimétrico por lo que es factible preparar polímeros con diferentes tacticidades. Sus características térmicas están definidas por un elevado punto de fusión (175-178° C) y una temperatura de transición vítrea de 60-65° C. (Lunt 1998)

El D-L-poli láctico es un polímero amorfo ya que está constituido por las dos formas isoméricas (D-L) del ácido láctico. En este caso el polímero tiene baja resistencia a la tensión, alta elongación y una elevada velocidad de degradación que hace que sea un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos. Se preparan también copolímeros de L-PLA y D, L-PLA para disminuir la cristalinidad del polímero quiral y acelerar el proceso de degradación. (M., L. y C. 2009)

b) *Ácido poli láctico-co-glicólico*

Se han usado para la liberación de esteroides, agentes anticancerígenos, péptidos, proteínas, antibióticos, anestésicos y vacunas. Sus propiedades fisicoquímicas vienen determinadas por la arquitectura del copolímero y el peso molecular, aunque al tratarse de copolímeros la composición también juega un papel importante.

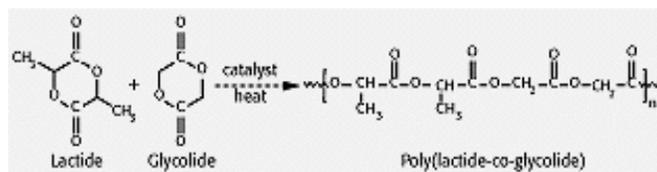


Figura 3 *Síntesis del poli (láctico-co-glicólico)*

Aunque se han desarrollado dispositivos implantables en forma de pastilla o de pequeños cilindros, desde hace pocos años ha aumentado el uso de estos polímeros en forma de inyectables conteniendo microesferas. La figura 48(a) muestra una micrografía en la que se puede apreciar la homogeneidad de las microesferas, y la figura 48(b) su proceso de degradación al poderse en contacto con los fluidos del cuerpo produciendo fragmentos de polímero más pequeños.

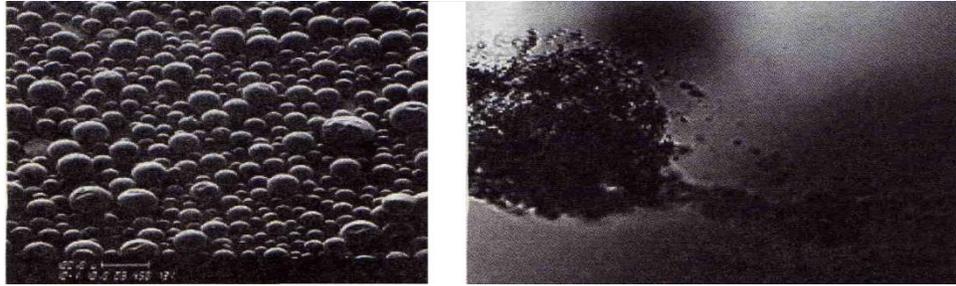


Figura 4 (a) microesferas de PLGA y (b) degradación de una micropartícula. (M., L. y C. 2009)

Con este sistema se ha elaborado un anticonceptivo inyectable que contiene microesferas portadoras de esteroides. Los beneficios que proporciona este sistema son: una magnífica biocompatibilidad, unida a una excelente reproducibilidad tanto en el proceso de microencapsulación como en el de liberación del principio activo.

En otros casos, como es el de la liberación de determinadas proteínas, péptidos o antígenos se han encontrado problemas. Por ejemplo, en el caso de dispositivos que contienen la hormona del crecimiento aparece una notable pérdida de actividad después de pocos días, que se atribuye a interacciones entre el polímero y la hormona. Por el contrario en otros casos, como es el de la hormona luteínica, se han encontrado muy buenos resultados, debido a que los polipéptidos de bajo peso molecular son muy estables tanto en presencia del copolímero como de sus residuos de bioerosión. (Jain 2000)

c) Ácido poli glicólico

Es el poliéster alifático lineal más simple. Es degradable hidrolíticamente, y se utilizó para desarrollar la primera sutura sintética totalmente absorbible, comercializada como Dexon en

la década de los 70 por Davis y Geck, Inc. (Danbury, CT). También es empleado como mecanismo de fijación ósea (clavos óseos) que son conocidos con la marca comercial Biofix.

Mediante la dimerización del ácido glicólico se obtiene el monómero, el cual polimeriza por apertura de anillo produciendo un material de alto peso molecular y con un porcentaje de monómero residual comprendido entre el 1% y el 3%.

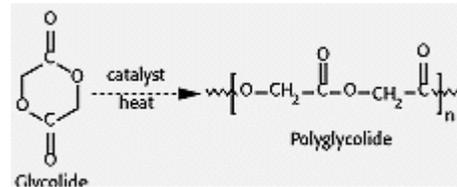


Figura 5 Síntesis del poli (ácido glicólico) PGA

Las fibras obtenidas a partir de PGA se caracterizan por su alta fuerza, pero son demasiado rígidas para ser usadas como suturas exceptuando si se usan en forma de material trenzado. En este sentido, el monómero del poli (ácido glicólico) se copolimeriza con otros monómeros para reducir la rigidez de las fibras resultantes.

Al igual que el ácido poli láctico se degrada en el organismo dando una sustancia no tóxica que es metabolizada de la misma manera por el ciclo del ácido cítrico.

11.3.2. Polímeros naturales

El uso de polímeros naturales sigue siendo un importante área de investigación, a pesar del gran desarrollo producido durante los últimos años en el campo de los polímeros biocompatibles y biodegradables de origen sintético. La ventaja de los polímeros de origen natural es que son más biocompatibles, se obtienen fácilmente y no son demasiados caros, además son fácilmente modificables químicamente. Se suele hacer una clasificación de estos polímeros basada en su estructura química:

- Polímeros de tipo proteínico: colágeno, gelatina, glicoproteína
- Polímeros de tipo carbohidrato: almidón, dextrano, quitina y ácido hialurónico.

La mayor parte de ellos pueden ser fabricados en forma de discos, films o microesferas, pero también se pueden unir covalentemente a fármacos.

a) ***Gelatina***

Se obtienen a partir del colágeno por hidrólisis parcial, consiguiéndose con este proceso la transformación del material fibroso en una proteína soluble en agua. Este polímero ha sido muy estudiado como agente encapsulante para la fabricación de sistemas de liberación de fármacos. Un producto basado en este polímero (Gelfoam) se emplea como homeostato en muchos procesos quirúrgicos.

b) ***Albúmina***

Las microesferas basadas en albúmina han sido muy investigadas en este campo. Puesto que la albúmina es soluble en agua, lo primero que se debe hacer para utilizarlas como microesferas es disminuir su solubilidad, para ello existen dos procesos, la desnaturalización de la proteína (70-90°C) o el entrecruzamiento con glutaraldehído. Mediante ambos se pueden obtener microesferas porosas con perfiles de liberación constante. Se ha confirmado la posibilidad de liberar un gran número de fármacos mediante estas microesferas de albúmina: corticoesteroides, antibióticos, péptidos y proteínas.

c) ***Fibrina***

Es una proteína natural que se aísla a partir del plasma sanguíneo. Para evitar su rápida degradación se entrecruza con formaldehído o glutaraldehído. Se han hecho muchos estudios sobre la biocompatibilidad de la fibrina, no obteniéndose ningún tipo de respuesta inmunológica frente al implante. Se degrada mediante reacción enzimática y mediante fagocitosis. Se utiliza como remplazamiento tisular temporal, y en muchos otros campos: artroplastia, desprendimiento retiniano, sellante quirúrgico etc.

d) ***Polisacáridos***

El Quitosan es un polisacárido natural biodegradable; biocompatible, no tóxico y un excelente formador de películas (filmógeno). Debido a su buena solubilidad puede ser modificado químicamente en diferentes formas y presentaciones (fibras, película, cápsulas, recubrimientos), su campo de aplicación se extiende desde su uso en el tratamiento de aguas

residuales hasta la producción de productos especiales en la medicina. Se usa mucho en formulaciones para liberación de fármacos. (Skaugrud, y otros 1999)

El Quitosan se obtiene en la actualidad en todo el mundo única y exclusivamente a través de desacetilación de Quitina de caparzones de camarones y gambas.

Dado que la disponibilidad de la Quitina es temporal y con ello limitada, la producción de Quitina a través de hongos para la producción de Quitosan crece en importancia.

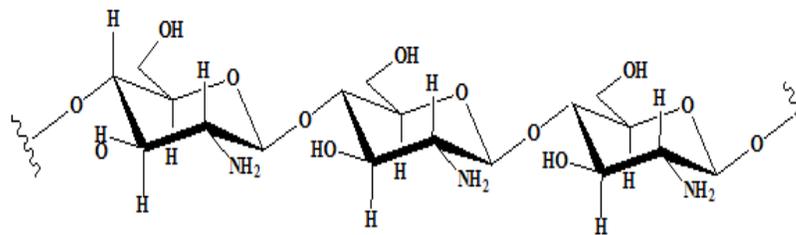


Figura 6 Estructura del quitosan

11.3.3. Polímeros sintéticos

a) *Poli vinil pirrolidona (PVP):*

La PVP es usado en aplicaciones farmacéuticas, como aglutinante o como agente espesante. Además la PVP forma complejos con algunos fármacos como la aspirina, el acetaminofen, sulfatiazol, y benzocaina, y los complejos pueden ser usados para liberación sostenida de formulaciones de uso tópico. La PVP también forma coprecipitantes con algunos fármacos poco solubles en agua en una dispersión sólida, mejorando la solubilidad. La PVP tiene excelentes propiedades para la formación de películas claras, transparentes y duras.

b) *Eudragit:*

Los polímeros de Eudragit tienen una estructura base con otros monómeros funcionales, la cual provee un área de aplicación especial. Los Eudragit son usados para recubrimiento de película.

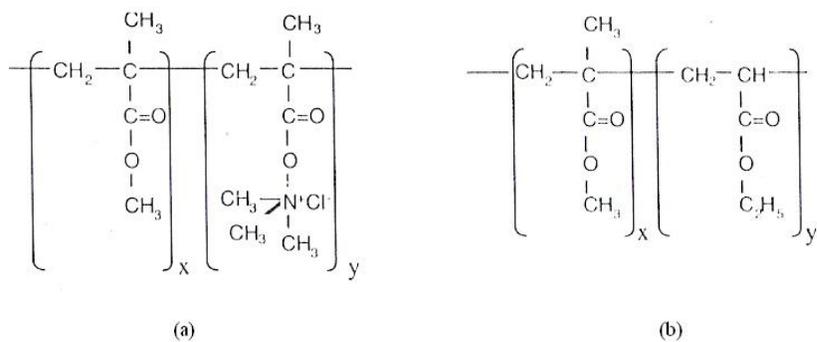


Figura 7 (a) Eudragit RL o RS, (b) Eudragit o Kollicoat EMM

También se pueden emplear polímeros como:

- Almidón poli acrílico
- Copolímero poli acrílico
- Dextran poli acrílico
- Etil celulosa
- Poli (alquil cianoacrilato)
- Poli (butil cianoacrilato)
- Poli (D,L-lactato)
- Poli (dietilmetilidenen malonato)
- Poli (etil cianoacrilato)
- Poli (hexil cianoacrilato)
- Poli (isobutil cianoacrilato)
- Poli (isohexil cianoacrilato)
- Poli (metil cianoacrilato)
- Poli (metil metacrilato)
- Poli (N α , N ϵ -L-lisin-ditereftalato)
- Poliacrilamida
- Poli-e-caprolactam
- Poliglutaraldehido

11.4. INGREDIENTES PARA LA ELABORACIÓN DE NANOPARTÍCULAS SÓLIDAS LIPÍDICAS (SLN)

Los ingredientes para la preparación de éstas SLN incluyen los lípidos, emulsificadores, agua, y dependiendo del medio solvente. La matriz de los SLN incluye lípidos naturales o sintéticos los cuales pueden ser degradados, incluyendo triglicéridos (ácido triesteránico, ácido tripalmitico, ácido triláurico), esteroides (colesterol) y ceras, algunos ejemplos se muestran en la siguiente tabla (Jun y Shi-wen 2007).

Tabla 3 Lípidos usados para la elaboración de Nanopartículas Solidas Lipídicas (SLN) .

Lípidos	
Triglicéridos	Tricaprin Trilaurin Tripalmitina Tristerina
Lípidos sólidos	Witepsol ® Gliceril monoestearato (Imwitor ®) Gliceril behenato (Compritol ®) Gliceril palmitoesterato (Precirol ®)
Ácido esteárico	Ácido palmítico Ácido behenico

New research on development of solid lipid nanoparticles. Journal of Medical College of PLA. Jun y Shi-wen. 2007. 385-390.

11.5. TENSOACTIVOS MÁS EMPLEADOS EN LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Algunos de los métodos de preparación de nanopartículas comúnmente usan tensoactivos, estos tensoactivos adicionados a la fase acuosa juegan un papel importante en la formación de la partícula, debido a que estos están presentes en la capa límite entre la fase acuosa y la fase orgánica durante la formación de la partícula. El tensoactivo puede ser incorporado dentro de la matriz polimérica de la nanopartícula de la interface o ser adsorbido debido a las interacciones iónicas o hidrofóbicas, lo cual modifica propiedades de la nanopartícula como su tamaño, el potencial zeta, la hidrofilidad/hidrofobicidad, la carga de la superficie, la adhesión, etc.

El tipo de tensoactivo y su concentración son de gran impacto en la calidad de la dispersión, debido a que reducen la tensión superficial y facilitan la partición de las partículas durante la homogenización. El tipo de tensoactivo usado va a depender de la naturaleza del material a emplear para la elaboración de las nanopartículas, algunos ejemplos de estos tensoactivos se muestran en la siguiente tabla (Mehnert y Mäder 2001):

Tabla 4 Tensoactivos y cotensoactivos utilizados para la elaboración de nanopartículas

Tensoactivos	Cotensoactivos
Poloxámero 188	Ácido taurocólico, sal sódica
Poloxamero 182	Ácido taurodexicólico, sal sódica
Poloxámero 407	Butanol
Lecitina de soya (Lipoid ® S 75, Lipoid ® S 100)	Ácido butírico
Lecitina (Lipoid ® E 80)	Dioctil sulfosuccinato de sodio
Fosfatidilcolina (Epikuron ® 170, 200)	Ácido monoocil fosfórico de sodio
Poloxamina 908	
Tyloxapol	
Polisorbato 20	
Polisorbato 60	
Polisorbato 80	
Alcohol polivinílico	

Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications. Advanced Drug Delivery Reviews. Mehnert y Mäder. 2001. 165-196.

Uno de los tensoactivos más empleados es el alcohol polivinílico (PVA), ya que funciona como un coloide protector para los glóbulos de la emulsión formada durante la preparación de las nanopartículas. Las partículas de PVA se encuentran adsorbidas formando una capa estable en la superficie de las nanopartículas lo cual permite una fácil redispersión cuando las nanopartículas han sido liofilizadas.

11.6. SOLVENTES

El empleo de solventes va a depender del método para la elaboración de nanopartículas, ya que en algunos métodos es necesario emplear solventes miscibles en agua y en otras ocasiones se va a necesitar un solvente inmisible en agua; además de que su uso está limitado a aquellos solventes que no representan algún nivel tóxico elevado para su uso en humanos.

Los residuos de solventes en la industria farmacéutica son definidos como químicos orgánicos volátiles que son usados o producidos en la manufactura de fármacos o excipientes y en la preparación de productos farmacéuticos. Los solventes empleados son removidos pero no son completamente eliminados.

Los solventes han sido clasificados en base a su toxicidad en tres clases:

Clase 1: Son solventes conocidos como agentes carcinógenos en humanos y peligrosos en el medio ambiente, por lo que serán evitados en la producción de fármacos y excipientes:

Tabla 5 Ejemplos de solventes empleados en la industria farmacéutica

Solvente	Concentración límite (ppm)	Riesgo
Benceno	2	Carcinógeno
Tetracloruro de carbono	4	Tóxico y peligro ambiental
1,2-dicloroetano	5	Tóxico
1,1,1-tricloroetano	1500	Peligro ambiental

ICHHT Guideline - Q3C (R3), 2005 - gaylordchemical.com. Committee s.f.

Clase 2: En esta clase se encuentran solventes que son agentes carcinógenos en animales, no genotóxicos o posibles causantes de una toxicidad irrelevante como neurotoxicidad o teratogenicidad siendo también solventes sospechosos de otras toxicidades significativas pero reversibles. Se limitará el uso de estos solventes y se cuantificará al final del proceso de manufactura para determinar si los residuos se encuentran dentro de los límites establecidos para cada uno de ellos:

Tabla 6 Ejemplos de solventes Clase 2 empleados en la industria farmacéutica (Committee s.f.)

Solvente	PDE (mg/día)	Concentración límite (ppm)
Acetonitrilo	4.1	410
Clorobenceno	3.6	360
Cloroformo	0.6	60
Ciclohexano	38.8	3880
1,2-dicloroetano	18.7	1870
Diclorometano	6.0	600
N,N-dimetilacetamida	10.9	1090
N,N-dimetilformamida	8.8	880
1,4-dioxano	3.8	380
Etilenglicol	6.2	620
2-etoxietanol	1.6	160
Formamida	2.2	220
Hexano	2.9	290
Metanol	30.0	3000
Metil butil cetona	0.5	50
Metilciclohexano	11.8	1180
Piridina	2.0	200
Tolueno	8.9	890
1,1,2-tricloroetano	0.8	80
Xileno*	21.7	2170

*Usualmente 60% m-xileno, 14% p-xileno, 9% o-xileno con 17% etilbenceno
ICHHT Guideline - Q3C (R3), 2005 - gaylordchemical.com. Committee s.f.

Clase 3: En esta clase se encuentran los solventes con baja toxicidad para los humanos, no hay límite de exposición necesario. Los solventes de clase 3 tienen una exposición diaria permitida (PDE) de 50mg por día o más. (Committee s.f.)

Tabla 7 Ejemplos de solventes clase 3 en la industria farmacéutica (Committee s.f.)

Solventes		
1-pentanol	1-propanol	2-metil-1-propanol
Acetato de etilo	Acetato de isobutilo	Acetato de isopropilo
Acetato de metilo	Acetona	Ácido acético
Ácido fórmico	Ácido fórmico	Anisol
Butanol	Butil acetato	Dimetilsulfoxido
Etanol	Etil acetato	Etil éter
Heptano	Isobutil acetato	Isopropil acetato
Metil acetato	Metil etil cetona	Metil etil cetona
Metil isobutil cetona	Pentano	Propanol
Propilacetato	Ter-butilmetil éter	Tetrahidrofurano

ICHHT Guideline - Q3C (R3), 2005 - gaylordchemical.com. Committee s.f.

12. CONCLUSIONES

Se elaboró un documento que esquematiza los métodos más importantes de preparación de nanopartículas farmacéuticas, con el cual se logra una mejor comprensión de cada uno de ellos para que sea un referente para nanotecnólogos.

Los métodos de fabricación de nanopartículas que se escogieron para este trabajo fueron recopilados en libros y revistas de corte científico y de importancia internacional. Por lo que la información que aquí se presenta muestra con gran precisión los avances más recientes en la materia.

Este trabajo se centró en los métodos de preparación de nanopartículas poliméricas, lipídicas y de polisacáridos. Por considerar estos materiales los más usados actualmente por los tecnólogos farmacéuticos dedicados a la elaboración de estos acarreadores submicrónicos.

Los usos que se le dan a las nanopartículas es aún limitado, es a nuestro parecer un tema de discusión con bastante contenido; cada día se utilizan estos sistemas para combatir diferentes males que aquejan al ser humano y cada vez son más los usos que se le han dado, así como las vías y tipos de fármacos. El límite no se ve cercano, y ese es el motor que nos mueve a seguir en este camino excitante y de grandes retos.

13. A P E N D I C E S

13.1. INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Tabla 1 Influencia de la concentración del monómero, concentración del iniciador, y temperatura en el tamaño de partícula de nanopartículas de poli (metacrilato de metilo).

Concentración de Peroxodisulfato de Potasio (mmol)	Tamaño de partícula (nm)							
	Concentración de metacrilato de metilo (mmol) a dos temperaturas (°C)							
	10		33.75		80		156.25	
	65°	85°	65°	85°	65°	85°	65°	85°
0.3	85	72	129	128	181	170	256	265
1.65	98	88	151	169	212	193	248	248
3.0	92	72	135	149	223	177	250	258

Encyclopedia of pharmaceutical technology. Boylan James. Marcel Dekker Inc. New York. 2002

Tabla 2 Influencia de los estabilizantes y el medio ácido en el tamaño de partícula de nanopartículas de polibutílicoacrilato.

Tensoactivo	Concentración (% w/v)	Tipo de ácido (0.01N, pH 2.25)	Tamaño de partícula (nm)
Dextran 70	0.05	HCL	212
	0.5	HCL	148
	1.0	HCL	138
	2.5	HCL	126
Dextran 40	0.05	HCL	243
	0.5	HCL	145
	1.0	HCL	134
	2.5	HCL	131
Dextran 10	0.05	HCL	770
	0.5	HCL	168
	1.0	HCL	139
	2.5	HCL	109
β-Ciclodextrina	0.75	HCL	3450
	1.0	HCL	3000
	1.75	HCL	2700
Polisorbato 20	0.5	HCL	51.58
Polisorbato 40	0.5	HCL	46

Polisorbato 60	0.5	HCL	38
Poloxamero 184	0.5	HCL	254
Poloxamero 188	0.5	HCL	160
Poloxamero 237	0.5	HCL	118
Poloxamero 238	0.5	HCL	71
Poloxamero 338	0.5	HCL	73
Dextran 70	0.5	Cítrico	131
	0.5	Sulfúrico	176
	0.5	Nítrico	158
	0.5	Acético	811
	0.5	Fosfórico	219

Encyclopedia of pharmaceutical technology. Boylan James. Marcel Dekker Inc. New York. 2002

Tabla 3 Nanopartículas de copolímero acrílico.

Composición	%	Diámetro (nm)
Metacrilato de metilo, y 2-hidroxietil metacrilato	66.6 33.3	360
Metacrilato de metilo, y 2-hidroxietil metacrilato	50 50	200
Metacrilato de metilo, 2-hidroxietil metacrilato, ácido metacrílico, y dimetacrilato de etilenglicol	53 30 10 7	40
Metacrilato de metilo, 2-hidroxietil metacrilato, ácido metacrílico acrilamida, y dimetacrilato de etilenglicol	33 25 10 25 7	80
2-Hidroxietil metacrilato, ácido metacrílico, y <i>N,N'</i> -dimetilenacrilamida	70 20 10	150
2-Hidroxietil metacrilato, acrilamida, <i>N,N'</i> -dimetilenacrilamida, y ácido metacrílico	30 30 30 10	60

Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. Alleman y Quintanar. Drug Developed and Industrial Pharmacy. 1998. 1113-1117

Tabla 4 Medicamentos y productos médicos nanotecnológicos aprobados por la FDA

PRODUCTO/FABRICANTE	Aprobación de la FDA	PROPÓSITO
<i>Albraxane</i> American BioScience, Inc.	Enero de 2005	Nano-partículas que contienen paclitaxel, que aumenta la cantidad medicamento anticancerosa disponible, para matar células cancerígenas en la mama.
<i>Daxil</i> Ortho Biotech Products	1999	<i>Sistemas de suministro de nanopartículas basado en lipomas recubiertos con polímeros, conocido como "Stealth" (El furtivo).</i> Daxil es el primer producto que incorpora esta tecnología para el tratamiento de cáncer de ovarios.
<i>Emend</i> Merck —tecnología bajo licencia de	Aprobado	Versión nano-particulada del medicamento <i>Aprepitant</i> , un antiemético, utilizado para prevenir la náusea en los pacientes de cáncer que reciben quimioterapia
<i>Rapamune</i> Wyeth —tecnología bajo licencia de Elan	2000	Formulación nano-particulada de Sirolimus (<i>Rapamune</i>) para prevenir el rechazo en pacientes que reciben trasplantes de órganos.
<i>Silcryst</i> Nucryst Pharmaceuticals/ producto distribuido por Smith&Nephew como <i>Asticoat</i>	Comercialmente disponible desde 1998. (La FDA lo aprobó para su uso sin prescripción en 2001.)	Plata nano-cristalina incorporada en los recubrimientos de las heridas por sus propiedades antimicrobianas.
<i>SilvaGard</i> AcryMed, Inc.	Diciembre de 2005	Catéter recubierto con nano-partículas antimicrobianas de plata para el uso interno en el cuerpo.
<i>TriCor</i> Abbott Laboratories —tecnología bajo licencia de Elan	Noviembre de 2004	Formulación nano-particulada del <i>TriCor</i> (un fármaco para tratar el colesterol alto).
<i>Verigene</i> Nanosphere, Inc.	Pendiente aprobación hasta 2006	Plataforma <i>In vitro</i> para probar muestras de sangre o saliva en la detección de ácidos nucleicos y proteínas que tengan concentraciones extremadamente bajas.

Medicina nanotecnológica. Aplicaciones médicas de las nanotecnologías. ETCGROUP s.f.

Tabla 5 Fármacos y materiales biológicamente activos vinculados a nanopartículas (incorporación o adsorción).

Fármaco	Polímero
Adenina	Poli (isoexil cianoacrilato)
Amicacina	Poli (butil cianoacrilato)
Anfotericina B	Poli (isobutil cianoacrilato)
Ampicilina	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isoexil cianoacrilato)
Anticuerpos	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isoexil cianoacrilato)
Antisense oligonucleotides	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isoexil cianoacrilato)
Betaxolol	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Ácido poli láctico-co-glicólico
	Poli-epsilon-caprolactam
Blood hemolysate	Poli (N α ,N ϵ -L-lisin-ditereftalato)
Ciclosporina	Poli (isohexil cianoacrilato)
Dactinomicina	Poli (metil cianoacrilato)
	Poli (etil cianoacrilato)
	Poli (butil cianoacrilato)
	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Gelatina
Darodipina	Poli (isobutil cianoacrilato)
Dehidroemetina	Poli (isohexil cianoacrilato)
Dexametasona	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isohexil cianoacrilato)
DNA	Poli (butil cianoacrilato)
Dexorubicina	Copolimero Poli acrílico
	Poli (butil cianoacrilato)
	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isohexil cianoacrilato)
	Albúmina
	Gelatina
	Fibrinógeno
Enzimas	Poliacrilamida
Fluoresceína	Poliacrilamida
	Poli (alquil cianoacrilato)
5-fluorocytosina	Poli (isobutil cianoacrilato)
5-fluorouracilo	Albumina
	Etil celulosa
	Poli (butil cianoacrilato)
	Poli (metil metacrilato)
	Poliglutaraldehido
Gentamicina	Poli (isobutil cianoacrilato)
Hormona de crecimiento (factor de liberación)	Poli (isobutil cianoacrilato)
	Poli (isohexil cianoacrilato)
Ibuprofeno	Copolímero poli acrílico
Indometacina	Etil celulosa
	Poli (metil metacrilato)
	Copolímero poli acrílico
	Poli (isobutil cianoacrilato)
Insulina	Poli (D,L-lactato)

Interferon	Gelatina
Lipiodol	Poli (isobutil cianoacrilato)
Mercaptopurina	Suero de albumina
Metotrexato	Albúmina
	Poli (metil cianoacrilato)
	Poli (etil cianoacrilato)
Metileno, azul	Poli (metil cianoacrilato)
β -Metilumbeliferona	Poliacrilamida
Metronidazol	Albúmina
	Gelatina
	Poliglutaraldehido
Miconazol	Poli (isobutil cianoacrilato)
Mitomicina C	Gelatina
Muramil, dipéptido	Gelatina
	Ácido poli láctico poliglicólico
Norefedrina	Poliacrilamida
Oxantrazole	Quitosan
Pilocarpina	Poli (etil cianoacrilato)
	Poli (butil cianoacrilato)
Primaquina	Albúmina
	Gelatina
	Poliglutaraldehido
	Poli (isohexil cianoacrilato)
	Poli (dietilmetilidenen malonato)
	Almidón poli acrílico
Progesterona	Poli (butil cianoacrilato)
Propanolol	Copolimeros poliacrílicos
Proteínas	Dextran poliacrílico
	Poliacrilamida
	Almidón poliacrílico
Pyrene butyric acid	Poliacrilamida
Rose-bengale	Copolímero poliacrílico
	Poli (butil cianoacrilato)
Testosterona	Ácido poliláctico
Timolol	Poli (etil cianoacrilato)
Triamcinolon	Albúmina
	Gelatina
	Ácido polilactico
	Poli (metil cianoacrilato)
Trimetroprim	Almidón poliacrílico
Verapamil	Poli (butil cianoacrilato)
Vidarabin	Poli (isohexil cianoacrilato)
Vinblastina	Poli (metil cianoacrilato)
	Poli (etil cianoacrilato)
Vincamicina	Poli (hexil cianoacrilato)
Antígenos	
Suero de albúmina de bovino	Poli (metal metacrilato)
HIV-2 split antigen	Poli (metal metacrilato)
Inmunoglobulina G	Poliacrilamida
Influenza whole virus	Poli (metal metacrilato)
Influenza Split antigen	Poli (metil metacrilato)
Toxoide tetánico	Poliacrilamida

Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers. Alleman y Quintanar. Drug Developed and Industrial Pharmacy. 1998. 1113-1117.

13.2. HIDROGELES

Los hidrogeles pueden ser clasificados basados en una variedad de características, incluyendo la naturaleza de los grupos (neutro o iónico), características mecánicas y estructurales, método de preparación, estructura física, y la respuesta al estímulo del medio ambiente (pH, radiaciones electromagnéticas, temperatura, etc.). Algunos ejemplos de los polímeros más usados en la preparación de hidrogeles son los siguientes:

POLIMEROS HIDROFILICOS USADOS EN LA PREPARACIÓN DE HIDROGELES

Polímeros naturales y sus derivados

Polímeros aniónicos: HA, ácido alginico, pectina, carragenina, sulfato de condroitin, sulfato de dextran

Polímeros catiónicos: quitosan, polilisina

Polímeros anfifílicos: colágeno (y gelatina), quitina carboximetil, fibrina

Polímeros neutros: dextran, agarosa, puluran

Polímeros sintéticos

Poliésteres: PEG-PLA-PEG, PEG-PLGA-PEG, PEG-PCL-PEG, PLA-PEG-PLA, PHB, grupos con terminación P(PF-co-EG)acrilato, P(PEG/PBO tereftalato)

Otros polímeros: PEG-bis-(PLA-acrilato), PEG6CDs, PEG-g-P(Aam-co-Vamina), PAAm, P(NIPAAm-co-Aac), P(NIPAAm-co-EMA), PVAc/PVA, PNVP, P(MMA-co-HEMA), P(AN-co-alil sulfonato), P(bicarboxi-fenoxi-fosfaceno), P(GEMA-suflato)

Combinaciones de polímeros naturales y sintéticos

P(PEG-co-peptidos), alginato-g-(PEO-PPO-PEO), P(PLGA-co-serina), colágeno-acrilato, alginato-acrilato, P(HPMA-g-péptido), P(HEMA/Matrigel®), HA-g-NIPAAm

Hidrogel nanoparticles in drug delivery. Mehrdad Hamidi. Advanced Drug Delivery Reviews 60 (2008) 1638-1649.

Los métodos rutinarios de entrecruzamiento usados para la preparación de hidrogeles se muestran en el siguiente esquema.

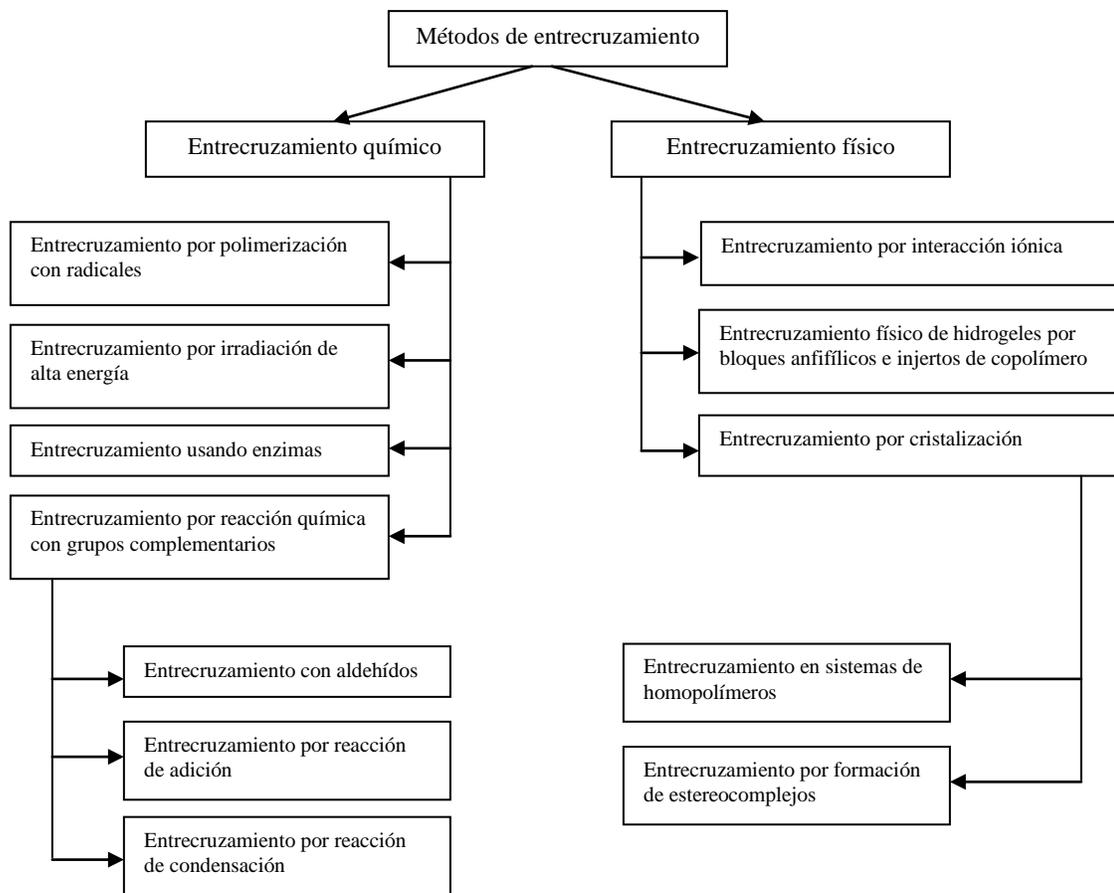


Figura 1 Nuevos métodos de entrecruzamiento usados en hidrogeles

En la siguiente tabla podemos observar un resumen de los monómeros más comúnmente usados en la fabricación de estructuras de hidrogel de interés farmacéutico.

Tabla 6 Monómeros comúnmente usados en la síntesis de hidrogeles sintéticos de aplicación farmacéutica.

Nombre químico del monómero	Abreviatura del monómero
Hidroxietil metacrilato	HEMA
Hidroxietoxietil metacrilato	HEEMA
Hidroxidietoxietil metacrilato	HDEEMA
Metoxietil metacrilato	MEMA
Metoxietoxietil metacrilato	MEEMA
Metoxidietoxietil metacrilato	MDEEMA
Etilen glicol dimetacrilato	EGDMA
N-vinil-2-pirrolidona	NVP
N-isopropil Aam	NIPAAm
Acetato de vinilo	VAc
Ácido acrílico	AA
Ácido metacrílico	MAA
N-(2-hidroxipropil) metacrilamida	HPMA
Etilen glicol	EG
PEG acrilato	PEGA
PEG metacrilato	PEGMA
PEG diacrilato	PEGDA
PEG dimetacrilato	PEGDMA

Hidrogel nanoparticles in drug delivery. Hamidi, Azadi y Rafiei. Adv. Drug Deliv. Rev. 2008. 1638-1649

Mecanismo de liberación de matrices de hidrogel

El mecanismo de liberación de fármaco por medio de hidrogeles es la difusión pasiva, donde las moléculas de diferentes tamaños y características pueden difundir libremente dentro/fuera de la matriz de hidrogel durante los periodos de carga y almacenamiento.

El mecanismo de liberación puede ser categorizado como: i) difusión controlada, ii) hinchamiento controlado, iii) control químico. De acuerdo a la primera ley de Fick (con un coeficiente de difusión constante o variable) el comportamiento de difusión controlada es el mas dominante aplicable al mecanismo que describe la liberación de fármaco por hidrogeles.

En el caso del mecanismo de hinchamiento controlado, cuando la difusión del fármaco sea más rápido que la desintegración del hidrogel, se considera que el hinchamiento puede ser controlado por el comportamiento de liberación. Finalmente la liberación por medio del control químico es determinada por la reacción química que ocurre dentro de la matriz de gel. Estas reacciones incluyen la división de cadenas poliméricas vía degradación hidrolítica o enzimática, o la reacción reversible/irreversible que ocurre entre la red polimérica y el fármaco liberado.

Sistemas de hidrogel de liberación controlada.

La liberación controlada o sistemas de liberación controlada son propuestos para proveer de fármaco o compuestos de interés a una superficie predeterminada temporal y/o de manera especial dentro del cuerpo para cumplir las necesidades terapéuticas específicas.

Los sistemas de liberación a base de hidrogel se dividen en dos categorías: i) sistemas controlados por el tiempo, y ii) sistemas de liberación estímulo-inducidas (sistemas de respuesta de hidrogel). Los sistemas de respuesta de hidrogel son desarrollados para liberar su contenido en respuesta a una condición de fluctuación en el camino que coincide con los requerimientos justo a tiempo y en el sitio apropiado.

Los sistemas de hidrogel estímulo-sensitivos también conocidos como “inteligentes” pueden subdividirse en las siguientes categorías:

- i) sistemas de liberación inducidos por medios físicos
- ii) sistemas de liberación inducidos por medios químicos
- iii) sistemas de liberación inducidas por otros estímulos

Aplicación farmacéutica de los hidrogeles

Los hidrogeles han sido tratados ampliamente para llevar a cabo un sistema de liberación ideal de fármaco con características terapéuticas deseables. La única característica biológica y fisicoquímica atractiva de los hidrogeles, junto con su enorme diversidad, colectividad, ha sido la considerable atención de estos materiales poliméricos como excelentes candidatos para sistemas de liberación de agentes terapéuticos.

Los hidrogeles farmacéuticos pueden ser clasificados como:

- i) sistemas de hidrogel orales
- ii) sistemas de hidrogel transdérmicos e implantes
- iii) sistemas de hidrogel tópicos y transdérmicos
- iv) dispositivos de hidrogel para la liberación gastrointestinal de fármaco, y
- v) sistemas de liberación ocular a base de hidrogel

14. GLOSARIO

Acción osmótica: La ósmosis es un fenómeno físico-químico relacionado con el comportamiento del agua —como solvente de una solución— ante una membrana semipermeable para el solvente (agua) pero no para los solutos. Tal comportamiento entraña una difusión simple a través de la membrana del agua, sin "gasto de energía". La ósmosis es un fenómeno biológico importante para la fisiología celular de los seres vivos.

Anticuerpos monoclonales: Un anticuerpo monoclonal es un anticuerpo homogéneo producido por una célula híbrida producto de la fusión de un clon de linfocitos B descendiente de una sola y única célula madre y una célula plasmática tumoral. Los anticuerpos monoclonales (Mab, del inglés monoclonal antibody), son anticuerpos idénticos porque son producidos por un solo tipo de célula del sistema inmune, es decir, todos los clones proceden de una sola célula madre. Es posible producir anticuerpos monoclonales que se unan específicamente con cualquier molécula con carácter antigénico. Este fenómeno es de gran utilidad en bioquímica, biología molecular y medicina.

Bases de Schiff: Una base de Schiff es un grupo funcional que contiene un enlace doble carbono-nitrógeno, con el átomo de nitrógeno conectado a un grupo arilo o alquilo, pero sin hidrógeno. Las bases de Schiff tienen la fórmula general $R_1R_2C=N-R_3$, donde R_3 es un grupo arilo o alquilo que hace que la base de Schiff sea una imina estable.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC): La Calorimetría de barrido diferencial (del inglés: Differential Scanning Calorimetry o DSC) es una técnica termoanalítica en la que la diferencia de calor entre una muestra y una referencia es medida como una función de la temperatura. La muestra y la referencia son mantenidas aproximadamente a la misma temperatura a través de un experimento. Generalmente, el programa de temperatura para un análisis DSC es diseñado de tal modo que la temperatura del portador de muestra aumenta linealmente como función del tiempo. La muestra de referencia debería tener una capacidad calorífica bien definida en el intervalo de temperaturas en que vaya a tener lugar el barrido. El principio básico subyacente a esta técnica es que, cuando la muestra experimenta una transformación física tal como una transición de fase, se necesitará que fluya más (o

menos) calor a la muestra que a la referencia para mantener ambas a la misma temperatura. El que fluya más o menos calor a la muestra depende de si el proceso es exotérmico o endotérmico.

Coacervación: El término “coacervación” fue introducido en la química de los coloides por Bungenberg de Jong y Kruyt en 1929 para describir el fenómeno de agregación macromolecular o separación de fases líquidas que tenía lugar en el seno de un sistema coloidal. Se obtienen dos fases líquidas, una rica (coacervado) y otra pobre en coloides (sobrenadante). La coacervación es una etapa intermedia entre disolución y precipitado; es decir, conlleva una desolvatación parcial en contraposición a la desolvatación exhaustiva asociada al proceso de precipitación. Cualquier factor que induzca la desolvatación del polímero producirá el fenómeno de coacervación. Entre los procedimientos inductores de la coacervación se puede destacar un cambio en la temperatura, una modificación del pH y la adición de un “no solvente”, una sal o un polímero incompatible.

Coacervado: Es como un conjunto de moléculas coloidales en las que las moléculas de agua están rígidamente orientadas respecto a ellas y rodeadas por una película de agua, que delimitan nítidamente los coacervados del líquido en el cual flotan. El coacervado es un glóbulo formado de una membrana que tiene en su interior sustancias químicas; a medida que aumenta su complejidad, el coacervado se separa del agua formando una unidad independiente, que sin embargo interactúa con su entorno.

Coefficientes de partición: La lipofilidad suele expresarse como coeficiente de partición (P) de un compuesto entre dos fases inmiscibles entre sí, una fase polar (acuosa) y una no polar (orgánica) en equilibrio, cuyo valor es comúnmente expresado en su forma logarítmica ($\log P$).

Crecimiento (maduración) de Ostwald: Durante el periodo isotérmico en estado semisólido, los lóbulos de fase sólida crecen según el mecanismo de maduración coalescente de Ostwald. Este crecimiento normalmente se describe con la siguiente relación:

$$D^m - D_0^m = Kt$$

donde D_0 es el tamaño de grano inicial; D es diámetro promedio de los glóbulos después de un tiempo, t , de permanencia en el estado semisólido; K es una función de las propiedades termofísicas de la

aleación y de la fracción nominal del líquido presente, por lo tanto, depende de la temperatura y m el exponente de crecimiento igual a 3 según la bibliografía.

Cromatografía de permeación en gel: La cromatografía de exclusión, también llamada de filtración en gel o cromatografía de permeación en gel, se basa en la diferencia de penetración de las moléculas en los poros de la fase estacionaria debido a que la separación obtenida depende del tamaño de la molécula. El tiempo de retención es proporcional al peso molecular de los mismos, por lo que no es muy usada con los compuestos de alto peso molecular. Este tipo de separación por tamaño difiere de las demás técnicas de cromatografía en que no existen interacciones físicas o químicas entre el analito y la fase estacionaria. Es una técnica reproducible, escalable y rápida.

Dispersión de Tyndall: Cuando un haz de luz paralelo de radiación de la zona visible, atraviesa y golpea una suspensión de partículas coloidales ocurre lo siguiente: una parte de la luz es reflejada (a), una parte es diseminada en todas direcciones (dispersión Tyndall) (b), parte es absorbida (c) y parte es transmitida (d) (generalmente la suma de c y d es la mayor fracción). Como consecuencia (b) es una medida indirecta de la turbidez y dicha fracción de luz dispersada se puede usar para el análisis cuantitativo de disoluciones o suspensiones coloidales, emulsiones, humos o nieblas (soluciones no homogéneas)

Efecto ouzo: El efecto Ouzo permite generar de forma espontánea diversas emulsiones sin tener que recurrir a tensoactivos. Estas emulsiones se obtienen al disolver un aceite hidrófobo en un disolvente completamente miscible en el agua, solución en la cual se añade a continuación una cantidad sobrante de agua. El aceite pasa a ser sobresaturado, y se agrega en forma de una infinidad de pequeñas gotas. En el presente artículo se levanta el balance de los recientes desarrollos realizados durante estos dos últimos años y relativos al efecto Ouzo. La primera parte propone una descripción relativa a nuestra comprensión del fenómeno de emulsificación de moléculas modelos, que incluyen a ciclosiloxanos, y cómo se podía correlacionar (o disociar) dicho efecto de la emulsificación por descomposición espinodal. En la segunda parte, la síntesis de nanocápsulas de polímero por policonsensación interfacial será examinada. Finalmente, se llevará a cabo un estudio fundamental relativo a la microdispersión de cristales nanoestructurados a partir de moléculas modelos bisuretanos y bisurados.

Energía libre de Gibbs: En termodinámica, la energía libre de Gibbs (o energía libre) es un potencial termodinámico, es decir, una función de estado extensiva con unidades de energía, que da la condición de equilibrio y de espontaneidad para una reacción química (a presión y temperatura constantes). La energía libre de Gibbs, sirve para calcular si una reacción ocurre de forma espontánea tomando en cuenta solo las variables del sistema.

Entropía: En termodinámica, la entropía (simbolizada como S) es la magnitud física que mide la parte de la energía que no puede utilizarse para producir trabajo. Es una función de estado de carácter extensivo y su valor, en un sistema aislado, crece en el transcurso de un proceso que se dé de forma natural. La palabra entropía procede del griego (ἐντροπία) y significa evolución o transformación.

Espectroscopia de correlación de fotones (PCS): En la PCS se utiliza el principio del movimiento browniano para medir el tamaño de las partículas. La PCS analiza los patrones de cambio constante de la luz laser dispersada o difractada por las partículas en movimiento browniano y monitoriza la velocidad de cambio de la luz dispersada durante la difusión.

Fenómeno de gelación: Fenómeno de coagulación o precipitación de las sustancias

Funcionalización: Introducir grupos funcionales químicos a la superficie de la partícula.

Liofilización: Es un proceso utilizado para la eliminación del agua mediante desecación al vacío y a muy bajas temperaturas. En este proceso se congela producto y una vez congelado se introduce en una cámara de vacío para que se separe el agua por sublimación. De esta manera se elimina el agua desde el estado sólido del producto al gaseoso del ambiente sin pasar por el estado líquido. Para acelerar el proceso se utilizan ciclos de congelación-sublimación con los que se consigue eliminar prácticamente la totalidad del agua libre contenida en el producto original.

Lipofilidad: La capacidad de una sustancia para atravesar membranas biológicas es uno de los aspectos fundamentales dentro de las características farmacocinéticas de una droga, ya que le permite

acceder al sitio de acción y así, generar el efecto biológico (terapéutico o tóxico). Existen numerosas propiedades fisicoquímicas que pueden afectar esta facultad. Entre ellas, la lipofilicidad es la de mayor interés para el desarrollo de drogas, debido a la relación directa que presenta con la habilidad para atravesar membranas biológicas por difusión pasiva, como así también, por contribuir en forma entrópica a la unión entre ligando y receptor.

Movilidad electroforética: El parámetro que determina el comportamiento de una molécula bajo la acción de un campo eléctrico se denomina movilidad electroforética (“U”) y se define como la velocidad de migración por unidad de campo eléctrico.

Parámetro Flory-Huggins: El parámetro de interacción de Flory-Huggins puede usarse predecir el comportamiento en equilibrio entre las fases líquidas que contengan un polímero amorfo. Esta teoría puede utilizarse también para predecir el punto de nube que se encuentra justo por debajo de la temperatura crítica de disolución T_c a la cual se unifican las dos fases. El parámetro de interacción Flory-Huggins puede usarse para medir el poder de un disolvente.

Polimerización aniónica: La Polimerización anionica representa una técnica química de polimerización. Esta técnica de polimerización representa un sistema muy importante ya que el resultado de este tipo de reacciones logra la menor dispersión de pesos moleculares, lo que significa gran homogeneidad en las moléculas, donde el promedio de pesos moleculares representa la mayor parte de estos. La reacción inicia con iones formados alcalís metálicos, arilos, alcóxidos, cianuros e hidroxilos. La reacción de iniciación puede ser considerada como una reacción ácido-base, de acuerdo con la clasificación de Lewis

Potencial Zeta: El potencial Z es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción entre las partículas. Su medida proporciona una idea detallada de los mecanismos de dispersión y es la clave del control de dispersión electrostático.

Reacción de Cannizzaro: La reacción de Cannizzaro se efectúa por adición nucleofílica de OH⁻ a un aldehído para generar un intermediario tetraédrico que expulsa un ion hidruro como grupo saliente. Una segunda molécula de aldehído acepta dicho ion en otra etapa de adición nucleofílica, el resultado es una oxidación y una reducción simultáneas; o sea, una desproporción. Una molécula de aldehído sufre una sustitución de H⁻ por OH⁻ y, por consiguiente se oxida, mientras que una segunda molécula de aldehído experimenta una adición de H⁻, por lo que se reduce a alcohol.

Salting-out: Es un método de separación de proteínas basado en el principio de que las proteínas son menos solubles a altas concentraciones de sal. La concentración de sal necesaria para que la proteína precipite fuera de la solución varía de proteína a proteína. Este proceso también es usado para concentrar soluciones diluidas de proteínas. La diálisis puede ser usada para remover la sal si es necesario.

Sistemas terapéuticos: Son sistemas de liberación sostenida; y por tanto, su objetivo es el de suministrar el medicamento a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante.

Teoría de Mie: Esta teoría describe la interacción de una onda plana con un dieléctrico esférico. La teoría de Mie se basa en las ecuaciones de Maxwell, a partir de las cuales se puede obtener la ecuación de onda vectorial en coordenadas esféricas. Haciendo uso de la separación de variables, se puede expresar la solución de los campos eléctrico y magnético de la onda incidente en forma de funciones matemáticas. Para el campo de dispersión a mucha distancia de la esfera, la dispersión y la sección de extinción se pueden determinar en función de una serie infinita que contiene asociados los polinomios de Legendre y las funciones esféricas de Bessel.

15. REFERENCIAS

Ahin, P., A. Kristi, y F. Vrečer. «Investigation of polymeric nanoparticles as carriers of enalaprilat for oral administration.» *Int. J. Pharm.*, nº 239 (2002): 113-120.

Alleman, E., y G. Quintanar. «Preparation techniques and mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from mechanism of formation of biodegradable nanoparticles from preformed polymers.» *Drug Developed and Industrial Pharmacy*, nº 24 (1998): 1113-1117.

Anton, N., J Benoit, y P. Saulnier. «Desing and production of nanoparticles formulated from nano-emulsion templates.» *A review. Journal of controlled release*, nº 128 (2008): 185-199.

Barratt, G. «Colloidal drug carriers: achievements and perspectives.» *Cell and Mol Life Sci* 60 (2003): 21-37.

Boylan James, C. *Encyclopedia of pharmaceutical technology*. segunda edición. New York: Marcel Dekker Inc., 2002.

Brigger, I., C. Dubernet, y P. Couvreur. «Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis.» *Advanced Drug Delivery Reviews*, nº 5 (2002): 631-651.

Calleja, A.I., V.M. Dios, E. N. Ruiz, O.M. Renedo, y P.M. Blanco. «Desarrollo y caracterización de nanopartículas de rifampicina para su aplicación en el tratamiento de tuberculosis.» (IV Congreso SEFIG y 3a Jorn. Tecn. Farm.) 2003: 57-59.

Calvo, P., C. Thomas, Ma.J. Alonso, J.L. Vila-Jato, y J.R. Robinson. «Study of the mechanism of interaction of poly(e-caprolactone) nanocapsules with the corneal by confocal laser scanning microscopy.» *International Journal of Pharmaceutics*, nº 3 (1994): 283-291.

Chawla, Jugminder S. MMA. «Biodegradable poly(e-caprolactone) nanoparticles for tumor targeted delivery tamoxifen.» *Inter Journal of Pharm*, nº 249 (2002): 127-138.

Chien, Yie W. *Novel Drug Delivery Systems*. 2a. New York: Marcel Dekker Inc., 1992.

Clas, S-D., C.R. Dalton, y B.C. Hancock. «Differential Scanning Calorimetry: Applications in Drug Development.» *Pharm. Sci. Technol. Today*, nº 2 (1999): 311-320.

Clive, A. Prestige SS. «Nanoparticle encapsulation of emulsion droplets.» *International Journal of Pharm.*, nº 324 (2006): 92-100.

Committee, ICH Steering. «ICHHT Guideline - Q3C (R3), 2005 - [gaylordchemical.com](http://www.gaylordchemical.com).» <http://www.gaylordchemical.com/bulletins/bulletin113.pdf> (último acceso: 9 de Febrero de 2010).

Dalencón, F., Y. Amjaud, C. Lafforgue, F. Derouin, y H. Fessi. «Atavoque and rifabutine load nanocapsules: formulation studies.» *Int. J. Pharm.*, nº 153 (1997): 127-130.

Date, Abhijit A., Medha D. Joshi, y V. B. Patravale. «Parasitic diseases: Liposomes and polymeric nanoparticles versus lipid nanoparticles.» *Advanced Drug Delivery Reviews* 59 (2007).

De Jaeghere, F., y Doelker E. *Enciclopedia of Controlled Drug Delivery*. Vol. 2. New York: John Wiley and Sons Inc., 1999.

Donbrow, Max. *Microcapsules and Nanoparticles in Medicine and Pharmacy*. Boca Raton: CRC Press, 1991.

Dunn, Susan E. AGAC, Martin C. Garnett, y Stanley S. Davis. «In vitro cell interaction and in vivo biodistribution of poly(lactide-co-glycolide) nanospheres surface modified by poloxamer and poloxamine copolymers.» *Journal of Contr Rel*, n° 44 (1997): 65-76.

Edlund, U., y C. Albertsson. «Biodegradable polymer microspheres for controlled drug delivery.» *Adv in Polymer Sci* 157 (2002): 68-105.

Edwards, Katie A. «Analysis of liposomes.» *Talanta*, n° 68 (2006): 1432-1441.

Espuelas, M.S., y otros. «Poly (ε-caprolacton) nanospheres as an alterantive way to reduce amphotericin B toxicity.» *International Journal Pharm.*, n° 158 (1997): 19-27.

ETCGROUP. *Medicina nanotecnológica. Aplicaciones médicas de las nanotecnologías*. http://www.etcgroup.org/es/materiales/publicaciones.html?pub_id=598 (último acceso: 15 de Agosto de 2009).

Garzon, Ma. Lourdes, Alejandra Hernandez, y Ma. Luisa Vásquez. «Preparación de nanopartículas sólidas lídicas (SLN) y de acarreadores lipídicos nanoestructurados (NLC).» *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, n° 4 (2008): 50-66.

Gilles, P., M. Marie-Jeanne, y D. Assia. «Mucoadhesive of colloidal particle systems in the gastrointestinal tract.» *Europ. J. Pharm. Biopharm.*, n° 44 (1997): 5-31.

Gonzalo, T., y Ma. A. Muñoz-Fernandez. «Dendrimeros y sus aplicaciones biomédicas.» Laboratorio de InmunoBiología Molecular, Hospital General Universitario Gregorio Marañón . <http://www.analesranfa.com> (último acceso: 30 de Agosto de 2009).

Grágeda, M., y S. Montesinos. «Aplicaciones del Microscopio Electronico de Barrido.» Facultad de ciencias físicas y matemáticas, Universidad de Chile. <http://cabierta.uchile.cl/revista/28/articulos/pdf/edu3.pdf> (último acceso: 5 de Diciembre de 2009).

Grenha, A., B. Seijo, y C. Remuñan-López. «Microencapsulated chitosan nanoparticles for lung protein delivery.» *European Journal of Pharmaceutical Science* 25 (2005): 427-437.

Guillies-JMJF, E.R. «Dendrimers and dendritic polymers in drug delivery.» *Drug Discovery Today*, n° 10 (2005): 35-43.

Gutierrez-Millán, Carmen MLSM, y Aranzazu JML. Zarzuelo-Castañeda. «Drug, enzyme and peptide delivery using erythrocytes as carriers.» *Journal of Cont. Rel.*, n° 95 (2004): 27-49.

Hamidi, M., A. Azadi, y p. Rafiei. «Hidrogel nanoparticles in drug delivery.» *Adv. Drug Deliv. Rev.*, nº 60 (2008): 1638-1649.

Hans AML, M.L. «Biodegradable nanoparticles for drug delivery and targeting.» *Current Options in Solid State and Mat Sci.*, nº 6 (2002): 319-327.

Hye-Young, K., L. Jun-Young, C. Sung-Wook, J. Yangsoo, y K. Jung-Hyun. «Preparation of PLGA nanoparticles containing estrogen by emulsification-diffusion method.» *Colloids and Surfaces a Physicochem Engin Aspects*, nº 182 (2001): 123-130.

Ivonne, Garcia Salas Claudia. *Obtención de nanopartículas de Poli e-caprolactona (PLC) e Ivermetacina modificadas con polietilenglicol (PEG) 6000 y su evaluación en el proceso de fagocitosis.* Mexico D.F.: Facultad de Química, 2007.

Jain, R.A. «The manufacturing techniques of various drug loaded biodegradable poly(lactide-co-glycolide) (PLGA) devices.» *Biomaterials*, nº 21 (2000): 2475-2490.

Jun, H., y Z. Shi-wen. «New research on development of solid lipid nanoparticles.» *Journal of Medical College of PLA*, 2007: 385-390.

Jung, Chul Ha SKY., y Moo Lee Yung. «Poly (ethylene oxide), poly (propylene oxide)-poly (ethylene oxide) (Pluronic)/poly (2-caprolactone) (PCL) amphiphilic block copolymeric nanospheres. Preparation and characterization.» *Journal of Controlled Release*, nº 62 (1999): 318-392.

Jung, T., W. Kam, y A. Breitenbach. «Biodegradable nanoparticles for delivery of peptides: is there a role for polymers to affect mucosal uptake?» *Eur. Journal Pharm. Biopharm.*, nº 50 (2000): 147-160.

Khan, MZI. «Dissolution testing for sustained or controlled release oral dosage forms and correlation with in vivo data: challenges and oportunities.» *International Journal of Pharm.*, nº 140 (1996): 131-143.

Kreuter, Jörg. «Nanoparticles -a historical perspective.» (*International Journal of Pharmaceutics*), nº 331 (2007): 1-10.

Kreuter, Jörg. *Colloidal Drug Delivery Systems.* New York: Marcel Dekker Inc., 2002.

L.Chiu Li, Y. Tian. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.* 2a. Vol. 3. New York: Marcel Dekker, 2002.

Lawrence, M. Jayne GDR. «Microemulsion-besed media as novel drug delivery systems.» *Adv. Drug Del. Rev.*, nº 45 (2000): 89-121.

Leroueil-Le, Martine Verger. «Preparation and characterization of nanoparticles containing and antihypertensive agent.» *European Journal Pharm. Biopharm.*, nº 46 (1998): 137-145.

Leroux, Jean-Christophe. «Biodegradable nanoparticles from sustainer release formulations to improved site specific drug delivery.» *Journal of Controlled Release*, nº 39 (1996): 339-350.

Lunt, J. «Large-scale production, properties and commercial applications of polylactic acid polymers.» *Polymer Degradation and Stability*, n° 59 (1998): 145-152.

M., Marín Ruiz, San Hipólito Marín L., y Belarra Arenas C. «Avances en Periodoncia a Implantología Oral.» 2009. <http://scielo.isciii.es/scielo.php> (último acceso: 17 de Octubre de 2009).

McCarron, Paul A., Shane A. Olwill, Waleed M.Y. Marouf, Richard J. Buick, Brian Walker, y Christopher J. Scott. «Molecular interventions.» <http://molinterv.aspetjournals.org> (último acceso: 13 de Octubre de 2009).

Mehnert, W., y K Mäder. «Solid lipid nanoparticles. Production, characterization and applications.» *Advanced Drug Delivery Reviews*, n° 47 (2001): 165-196.

Melgoza, Luz María C.LCC., Sandra H. Rodríguez, y Mario T. Gonzalez. «Sistemas matriciales de liberación controlada.» *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, n° 33 (2002): 58-67.

Mohanraj, VJ., y Y. Chen. «Nanoparticles -A Review.» *Tropical Journal of Pharmaceutical Research* 1, n° 5 (2006): 561-573.

Mu, L, y S.S. Feng. «Vitamin E TPGS used as emulsifier in the solvent evaporation/extraction technique for fabrication of polymeric nanospheres for controlled release of paclitaxel (Taxol (R)).» *J. Control. Rel.*, n° 80 (2002): 129-144.

Müller-Goyman, C.C. «Physicochemical characterization of colloidal drug delivery systems such as reverse micelles, vesicles, liquid crystals and nanoparticles for topical administration.» *Europ. J. Pharm. Biopharm.*, n° 58 (2004): 343-356.

Namazi-MA, H. «Dendrimers of citric acid and poly (ethylene glycol) as the new drug-delivery agents.» *Biomaterials Sci.*, n° 26 (2005): 1175-1183.

Page-Clisson, M.E., H. Pinto-Alphandary, M. Ourevitch, y A. Andremont. «Development of ciprofloxacin-loaded nanoparticles: physicochemical study of the drug carrier.» *Journal of Controlled Release*, n° 56 (1998): 23-32.

Piñon-Segundo, E. *Desarrollo tecnológico y caracterización de partículas submicrónicas poliméricas como vectores terapéuticos para el tratamiento de enfermedades periodontales*. Mexico: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan, Universidad Nacional Autónoma de México, 2003.

Quintanar-G, D., y A. Ganem-Q. «Adaptation and optimization of the emulsification-diffusion technique to prepare lipidic nanospheres.» *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, n° 26 (2005): 211-218.

Quintanar-Guerrero, D, E. Alleman, E. Doelker, y H. Fessi. «A mechanistic study of the formation of polymer nanoparticles by the emulsification-diffusion technique.» *Colloid. Polym. Sci.*, n° 275 (1997): 211-218.

Radowski, Sara Kuchler: Michal R., y Tobias Blaschke. «Nanoparticles for skin penetration enhancement - A comparison of a dendritic core-multishell-nanotransporter and solid lipid nanoparticles.» *European Journal of Pharmaceutics an Biopharmaceutics* 71 (2009): 243-250.

Ram B, Gupta, y Kompella Unday B. *Nanoparticle technology for dug delivery*. New York: Taylor and Francis Group, 2006.

Ramos, D., M. Gómez, D. Fernández, y L. Nuñez. «Microesferas biodegradables de liberación controlada para la administración parenteral.» *Rev. Cubana Farm.* 34, nº 1 (2007).

Riddick, T.M. *Controll of Colloid Satbility trough Zeta Potential*. New York: Zeta-Meter Inc., 1968.

Robinson, R.J. *Controlled drug delivery. Fundaments and Applications*. Segunda edición. New York: Marcel Dekker Inc., 1987.

Rodríguez-Crespo, Gema. «Preparación y evaluación de sistemas poliméricos biocompatibles portadores de Trifusal.» 28 de octubre de 2002. <http://www.ictp.csic.es> (último acceso: 13 de Agosto de 2009).

Seymour, R. *Polymer Chemistry an Introduction*. New York: Marcel Dekker Inc., 1995.

Skaugrud, O., A. Hagen, B. Borgersen, y M. Dornish. «Biomedical and pharmaceutical applications of alginate and chitosan.» *Biotechnol. Genet. Eng. Rev.*, nº 16 (1999): 23-40.

Szejtli, József. «Introduction and General Overview of Cyclodextrin Chemistru.» *Chem. Rev.*, nº 5 (Junio 1998): 1743-1754.

Takeuchi, H. YH. «Mucoadhesive nanoparticles systems for peptide drug delivery.» *Adv. Drug Del. Rev.*, nº 47 (2001): 39-54.

Thorsteinn-Loftsson, MEBaMM. «Role of Cyclodextrins in Improving Oral Drug Delivery.» *Am Journal Drug Del.*, nº 2 (2004): 261-275.

Tobio, M., R. Gref, A. Sánchez, y R. Langer. «Stealth PLA-PEG Nanoparticles as protein carriers for nasal administration.» *Pharmaceutical Research* 15, nº 2 (1998).

Trotta, M., F. Debernardi, y O.Caputo. «Preparation of solid lipid nanoparticles by a solvent emulsification-diffusion technique.» *International Journal of Pharmaceutics*, nº 257 (2003): 153-160.

Ureta, E. *Polímeros, estructura, propiedades y aplicación*. México: Limusa, 1989.

Vargas, A., y F. Delie. <http://scielo.isciii.es> (último acceso: 4 de Septiembre de 2009).

Vasant, V. Ranade, y A. Hollinger Mannfred. *Drug Delivery Systems*. Segunda edición. U.S.A.: CRC Press. Pharmacology and toxicology series, 2004.

Vauthier, C., y C. Dubernet. «Poly (alkylcyanoacrilate) as biodegradable materials for biomedical applications.» *Adv. Drug Del. Rev.*, nº 55 (2003): 519-548.

Vila Jato, José Luis. <http://www.ranf.com/pdf/discursos/numero/vila.pdf>. Instituto de España Real Academia Nacional de Farmacia. 2006. (último acceso: 10 de septiembre de 2009).

Villafuerte, Leopoldo, y Beatriz García. «Nanopartículas Sólidas Lipídicas.» *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas* 39, n° 001 (2008).

Wise, Donald L. *Handbook of Pharmaceutical Controlled Release Technology*. New York: Marcel Dekker Inc., 2000.

Wissing, S.A., O. Kayser, y R. H. Müller. «Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery.» *Advanced Drug Delivery Reviews*, n° 56 (2004): 1257-1272.

Wolfgang, Metchnert KM. «Solid Lipid Nanoparticles. Production, characterization and applications.» *Adv. Drug Del. Rev.*, n° 47 (2001): 165-196.

Wu, Xiao, Bruno Biatry, Colette Cazeneuve, y Richard H Guy. «Drug delivery to the skin from sub-micron polymeric particle formulations: Influence of particle size and polymer hydrophobicity.» *Pharmaceutical Research* 26, n° 8 (2009).

Zeta-MeterInc. «Potencial Zeta. Un curso completo en 5 minutos.» http://depa.pquim.unam.mx/amyd/archivero/PotencialZetaDLVO_3882.pdf (último acceso: 22 de Septiembre de 2009).