



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE MEZCLAS
POLIMÉRICAS COMO POSIBLES SOPORTES DE
LIBERACIÓN MODIFICADA DE FÁRMACOS.**

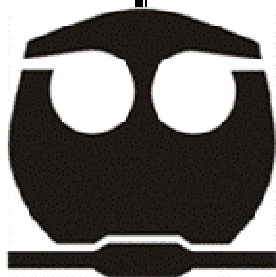
T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

MARTHA IVONNE GARCÍA MARTÍNEZ



MÉXICO, D.F.

2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: María Del Socorro Alpizar Ramos.

VOCAL: María Josefa Bernad Bernad.

SECRETARIO: Luis Jesús García Aguirre.

1er. SUPLENTE: Kenneth Rubio Carrasco.

2do. SUPLENTE: Abraham Faustino Vega.

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

El presente trabajo se realizó en el laboratorio 102 del Edificio F del Departamento de Farmacia. Facultad de Química. UNAM.

ASESORA DEL TEMA:

Dra. María Josefa Bernad Bernad.

SUPERVISORA TÉCNICA:

M. en C. Lorena García González.

SUSTENTANTE:

Martha Ivonne García Martínez.

ESTA TESIS ESTÁ DEDICADA...

A MI MAMÁ

Porque eres mi ejemplo de vida, gracias por enseñarme el valor de ser mujer y por ser mi máximo referente de superación personal. Por apoyarme, por tu fortaleza, por tu amor y porque gracias a ti he podido realizar éste logro en mi vida que también es tuyo. Ninguna frase o palabra puede describir lo orgullosa que estoy de ser tu hija, GRACIAS MAMÁ.

A MI FAMILIA.

A mis tíos, primos y abuelita, por su cariño, su interés y apoyo, gracias por ser parte de mi vida. Especialmente a la familia Martínez Rodríguez por su apoyo primordial para realizar mis estudios, pues sin éste hubiese sido más difícil el camino. A mi hermano por ser parte de mi vida y ser un modelo de mejora personal.

A TI ARMANDO.

Por todo tu amor incondicional durante todo este tiempo, por todo tu apoyo y por ser mi soporte. Gracias por ayudarme en los momentos más difíciles, por tus comentarios certeros y alentadores, por estar a mi lado, entenderme y comprenderme; pero sobre todo por creer en mí y recordármelo día a día. Mil gracias por ser parte de éste logro. Te agradezco por llegar a ser tan valioso en mi vida. Te amo por sobre todas las cosas.

AGRADECIMIENTOS.

A LA DRA. MARÍA JOSEFA BERNAD BERNAD.

Por compartir conmigo sus conocimientos, tanto de vida como académicos. Por ser mi guía, por sus consejos y su apoyo. Agradezco su comprensión y paciencia, así como su valiosa amistad.

AL DR. LUIS MEDINA TORRES.

Por sus comentarios y sugerencias en la realización de esta tesis.

AL DR. TECANTE.

Por las facilidades brindadas para la realización de esta tesis.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS.

Por todas las alegrías y tristezas compartidas durante la carrera. Por brindarme su apoyo y amistad siempre.

A LA MÁXIMA CASA DE ESTUDIOS.

La **Universidad Nacional Autónoma de México** y en especial a la **Facultad de Química**, en cuyas aulas logré mi formación profesional y humana. A todos los profesores que además de compartir sus conocimientos profesionales, me enseñaron a ser una mejor persona.

SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

α	Alfa.
β	Beta.
γ	Gama.
ABC	Área Bajo la Curva.
Abs	Absorbancia.
CMI	Concentración Mínima Inhibitoria.
Cp_{max}	Concentración plasmática máxima.
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido.
FF	Florfenicol.
FMVZ	Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
IR	Infrarrojo.
IM	Vía de administración intra-muscular.
PA	Principio activo.
PVA	Polivinil alcohol.
PVAc	Poliacetato de vinilo.
QUIT	Quitosan o Chitosan.
rpm	Revoluciones por minuto.
RX	Rayos X.

SEM	Microscopía diferencial de barrido.
SLM	Sistema de liberación modificada.
SNC	Sistema nervioso central.
$t_{1/2 \alpha}$	Semivida de absorción
$t_{1/2 \beta}$	Semivida de eliminación.
T_{amb}	Temperatura ambiente 25 °C.
T_g	Temperatura de transición vítrea.
VO	Vía de administración oral.

CONTENIDO

1.- RESUMEN.	1
2.- INTRODUCCIÓN.	3
3.- ANTECEDENTES.	4
3.1. SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA.	4
3.2. POLÍMEROS EN EL CONTROL DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS.	6
3.3. MEZCLAS DE POLÍMEROS.	14
3.4. FORMAS DE LAS MATRICES POLIMÉRICAS DE LIBERACIÓN.	15
3.4.1. Nano y micropartículas.	16
3.4.2. Ciclodextrinas.	21
3.4.3. Películas.	23
3.5. POLÍMEROS EVALUADOS.	24
3.5.1. AGAR.	24
3.5.2. ALGINATO DE SODIO.	26
3.5.3. ALMIDÓN.	27
3.5.4. PECTINA.	29
3.5.6. QUITOSAN.	30
3.5.7. POLIVINIL ALCOHOL (PVA).	31
3.6. FÁRMACO PROTOTIPO: FLORFENICOL (FF).	33
3.7. PROPIEDADES MECÁNICAS DE PELÍCULAS.	39
3.8. SISTEMAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE FLORFENICOL (FF).	44
4.- OBJETIVOS.	47
4.1. OBJETIVO GENERAL.	47
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES.	47
5.-METODOLOGÍA.	48
5.1.- MATERIALES.	48

5.2. ELABORACIÓN DE PELÍCULAS. _____	48
5.3. CARACTERIZACIÓN DE LAS PELÍCULAS. _____	50
5.3.1. Descripción visual. _____	51
5.3.2. Espectroscopía IR (FTIR). _____	51
5.3.3. Rayos X de polvos (RX). _____	51
5.3.4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). _____	52
5.3.5. Microscopía Electrónica (SEM). _____	52
5.3.6. Ganancia de agua y degradación por pérdida de peso. _____	52
5.3.7. Estudio de las propiedades mecánicas. _____	54
5.4. ESTUDIOS DE LIBERACIÓN IN VITRO DEL FLORFENICOL. _____	55
6.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN. _____	57
6.1. DESCRIPCIÓN VISUAL. _____	57
6.2. CARACTERIZACIÓN CON: ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO (FTIR), DIFRACCIÓN DE RAYOS X (RX) Y CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC). _____	58
6.3. ASPECTO DE LAS PELÍCULAS MEDIANTE MICROSCOPIA ELECTRÓNICA (SEM). _____	63
6.4. GANANCIA DE AGUA Y DEGRADACIÓN POR PÉRDIDA DE PESO. _____	64
6.5. PROPIEDADES MECÁNICAS. _____	68
6.6. ESTUDIOS DE LIBERACIÓN <i>IN VITRO</i> . _____	72
7.- CONCLUSIONES. _____	74
8.- PERSPECTIVAS. _____	76
9.- APÉNDICE. _____	77
10.- BIBLIOGRAFÍA. _____	81

1.- Resumen.

El diseño y aplicación de sistemas de liberación modificada de fármacos es actualmente uno de los aspectos de mayor relevancia en el desarrollo de nuevas formas de dosificación. La utilización de materiales poliméricos como soportes de principios activos para regular y dosificar su liberación en aplicaciones específicas, es un aspecto que ha adquirido gran interés, esto se atribuye a las características fisicoquímicas propias de las macromoléculas, así como a la capacidad de estos materiales a liberar fármacos de forma modificada y proveer de una gran variedad de rutas de administración como son oral, parenteral, transdérmica, nasal, ocular, etc.

A pesar de que un solo polímero es capaz de presentar estas propiedades, en muchas ocasiones no son suficientes para obtener un sistema de liberación apropiado, es por esto que se recurre a una mezcla de polímeros, para lograr un acercamiento más estrecho entre las características tangibles y las ideales del soporte a desarrollar.

En este trabajo, se pretende lograr el desarrollo y la caracterización de un soporte tipo malla, formado por la técnica de evaporación-moldeo, basado en mezclas de polímeros hidrosolubles de bajo precio. Se han probado diferentes composiciones poliméricas, mostrando que una mezcla de Quitosan (QUIT) y Alcohol Polivinílico (PVA) presenta características de degradación y propiedades físico-mecánicas adecuadas para los fines que en este trabajo se persiguen. El fármaco modelo utilizado en la matriz desarrollada es el Florfenicol (FF) un antibiótico de amplio espectro de uso veterinario. Queda por entendido, que el hecho de utilizar un solo fármaco (FF) para la evaluación del soporte diseñado, se debe exclusivamente a los fines que conlleva este proyecto. Además, como parte de la caracterización, el presente trabajo intenta establecer el tipo de liberación que realiza la matriz polimérica, del fármaco modelo, mediante estudios de liberación *in vitro*.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

RESUMEN

Infrarrojo (IR), calorimetría diferencial de barrido (DSC), disolución, degradación, liberación y propiedades mecánicas (resistencia a la tensión, módulo de Young, resistencia a la fluencia y ductilidad), fueron evaluadas para la caracterización del sistema polimérico.

Dentro de las características que se atribuyen a la matriz desarrollada, se pueden mencionar: su elevada capacidad de captación de agua, resistencia a la tensión en ambientes poco húmedos y su lenta disolución en medio acuoso a pH neutro. Éstas características contribuyen a vislumbrar la capacidad de la película a permitir una liberación de principio activo no inmediata, además de entrever las posibilidades de aplicación que pueden ser adjudicadas a la película.

Los resultados muestran que la película con la mezcla de QUIT:PVA posee las características óptimas para un sistema de liberación modificada. Sin embargo el principio activo evaluado (FF) no presenta alta afinidad a la matriz, hecho por el cual la capacidad de liberación modificada por parte de la base polimérica no pudo observarse, ya que el fármaco se liberó casi de forma inmediata del sistema.

Sin embargo queda abierta la posibilidad de evaluar el mismo sistema pero con un fármaco cuyas propiedades lo hagan más afín a las características de la película desarrollada.

2.- Introducción.

Es bien sabido que la dosificación de fármacos para el control, tratamiento o prevención de algún padecimiento que requiera la aplicación de más de una dosis del medicamento, genera hasta cierto punto, variabilidad en la administración, la cantidad de fármaco que es suministrado y en consecuencia la acción del mismo. Acciones que en consecuencia crean complicaciones en los tratamientos, además de provocar en cierta medida un descontento, olvido o malestar al paciente. Estos inconvenientes se intensifican si los pacientes a los cuales va dirigido el medicamento se encuentran dentro del área veterinaria, a las complicaciones antes mencionadas, se suma la variante de la persona que administra el medicamento. Es por esto que el presente trabajo se enfoca al desarrollo de un sistema que pueda ser orientado al área veterinaria, con liberación modificada para aquellos medicamentos multidosis, en particular para el Florfenicol, antibiótico de amplio espectro, esto con la finalidad de disminuir el estrés en los animales provocado por el suministro del medicamento así como los posibles accidentes que conlleva.

El desarrollo del sistema de liberación modificada queda abierto hacia cualquier objetivo en particular, entre los cuales se sugieren: soporte en heridas de recuperación tardía, tratamiento de hernias, como lentes de contacto en caballos de carrera, fuentes de dosificación en tinas para alimento de aves, en criadero de animales acuáticos, transdérmicos, etc.

La velocidad de degradación de la matriz polimérica podrá ser determinante para dirigirla hacia un objetivo dado, así como su tiempo de liberación, sus características mecánicas y fisicoquímicas.

Dentro de los materiales más utilizados para desarrollo de sistemas de liberación modificada se encuentran los polímeros y entre estos destacan: albúmina, gelatina, colágeno, polianhidridos, poli-e-caprolactona, poliláctico-glicólico, poliortoésteres PVA, quitosan, pectina, agar y PVAc.

3. - Antecedentes.

3.1. Sistemas de liberación modificada.

Generalidades y clasificación.

Actualmente, es conocido que modificando tiempos y tipos de liberación de los medicamentos, podemos aumentar su eficacia y, a la vez, reducir la dosis de principio activo. Se han estudiado formas de liberación, en las que los sistemas que regulan la liberación del principio activo garantizan diversas cinéticas de cesión del fármaco. Se trata, según los casos, de mantener constantes los niveles plasmáticos durante largos periodos de tiempo, retardar o prolongar la liberación (o también acelerarla) y alcanzar los mismos efectos con una dosis menor. El desarrollo experimentado por la ciencia de los polímeros (los materiales más empleados en este campo), la tecnología farmacéutica y la biología han contribuido al rápido avance de nuevos sistemas de liberación modificada.

Los sistemas de liberación modificada se consideran como todos aquellos cuya liberación del fármaco no es inmediata[1]. El término liberación modificada define a las especialidades farmacéuticas que se han diseñado de tal forma que se ha modificado el lugar o la velocidad de liberación del principio activo. Bajo la denominación sistemas de liberación modificada (SLM) se agrupan diferentes sistemas:

1. **Liberación sostenida o prolongada:** el fármaco es liberado lentamente a una velocidad regulada por el sistema. La velocidad de disolución o de difusión del principio activo a partir de tal forma, en condiciones experimentales dadas, debe ser inferior a la del principio activo a partir de una forma de liberación convencional. Desde el punto de vista de la biodisponibilidad, tiene como finalidad la prolongación de la duración de absorción del principio activo. Generalmente contiene una cantidad

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

de principio activo superior a la de la forma convencional y tiene como objetivo la prolongación de su acción, la modificación de la frecuencia de administración y, en la eventualidad, la reducción de los efectos indeseables.

2. **Liberación controlada:** el fármaco se libera a una tasa constante y las concentraciones plasmáticas después de la administración no varían de forma significativa con el tiempo. [2]

3. **Liberación acelerada:** La velocidad de liberación del fármaco es más rápida que la de una forma de liberación convencional destinada a la misma vía. La velocidad de disolución o de difusión del fármaco a partir de una forma de liberación acelerada, en condiciones experimentales dadas, debe ser superior a la del principio activo de la forma convencional.

4. **Liberación retardada:** La liberación del fármaco se encuentra retardada en el organismo mediante un método de fabricación apropiada. En condiciones experimentales determinadas (por Ej.: bajo la influencia del pH), una forma de liberación retardada libera el fármaco después que una forma de liberación convencional. En ocasiones, el objetivo es liberar el principio activo en un sitio dado del organismo, para evitar una interacción entre el principio activo y los tejidos de la vía de administración.

Las ventajas teóricas de estas nuevas formas farmacéuticas según el tipo son:

- Disminución de la frecuencia de administración por aumento del intervalo posológico.
- Menor incidencia de reacciones adversas por la reducción de las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas.
- Facilidad en la administración de algunos SLM.

Los sistemas de liberación modificada también tienen algunos inconvenientes:

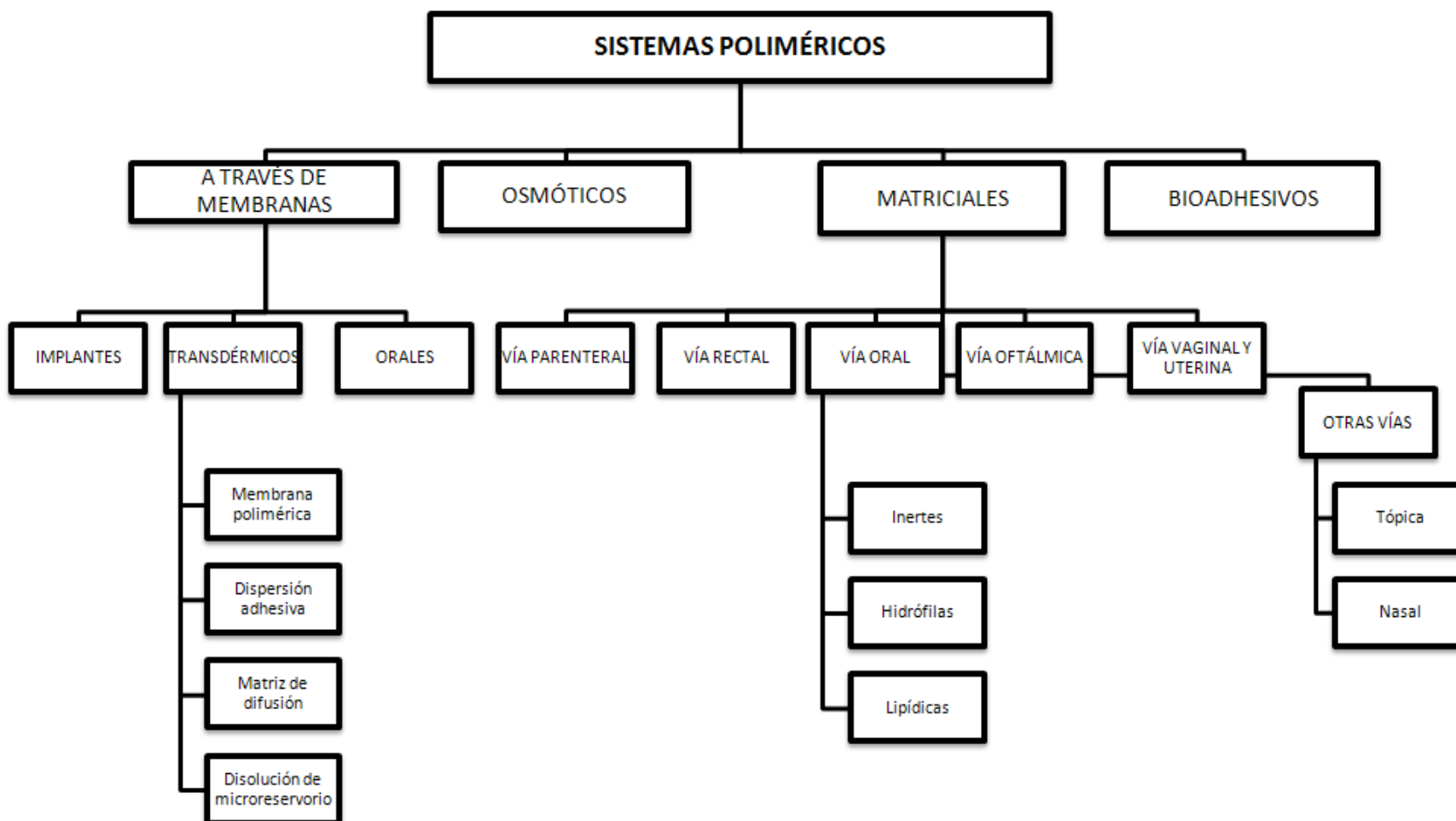
- Sobredosificación por manipulación incorrecta del medicamento.
- Agravamiento o peor control de situaciones de sobredosis, de aparición de reacciones adversas o alergias.
- Interacciones de farmacéuticas y farmacocinéticas.
- Mayor precio.
- Mayor complejidad en el proceso de manufactura.

Las formas farmacéuticas de liberación modificada intentan desarrollar un esquema de entrega de fármacos al organismo que produzcan un nivel terapéutico efectivo de la manera más rápida posible y que luego esta concentración se mantenga durante un tiempo prolongado de manera reproducible. Para la elaboración de estos sistemas es necesario contar con materias primas adecuadas que garanticen esta función. En la mayoría de los SLM, el fármaco, se introduce en el interior de lo que se denomina matriz, siendo éste normalmente un material polimérico [3].

3.2. Polímeros en el control de liberación de fármacos.

Los polímeros en farmacia se han utilizado como envases de medicamentos, recubrimiento de comprimidos, aglutinantes en granulación, modificadores de la velocidad de disolución en cubiertas peliculares, cubiertas entéricas de comprimidos, agentes viscosantes de suspensiones y soluciones oftálmicas, coloides protectores para estabilizar emulsiones y suspensiones, formadores de geles hidrosolubles y bases para ungüentos, y como excipientes para modificar la liberación de fármacos (matrices inertes o erosionables o como membranas de barrera)[4]. Diferentes estrategias para lograr la modificación de la liberación de principios activos mediante polímeros, se presentan de forma resumida en el *Esquema 1*.

Esquema 1. Diferentes estrategias para lograr el control de liberación de fármacos [5].



Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

La gran cantidad de posibilidades de síntesis de polímeros así como el descubrimiento de nuevos y la caracterización de los ya existentes, particularmente orientados al área de la salud, han permitido la clasificación de los mismos de acuerdo a sus características.

Así, entran en la escena los polímeros que por su tipo de degradación se distinguen en: **biodegradables** y no **biodegradables**. [5] Ambos con grandes cualidades que permiten su aplicación a diversos campos de la farmacia. De manera particular el uso de los polímeros biodegradables para la dosificación de fármaco ha ido en aumento, esto debido a sus grandes ventajas, entre las más destacadas es que no requiere la eliminación quirúrgica del sistema una vez que el suministro de PA se ha agotado.

En contraste con los polímeros biodegradables, los no biodegradables no quedan exentos de ser retirados de forma quirúrgica, sin embargo, a diferencia de lo que se pudiera pensar, esto es también una cualidad ya que pueden ser utilizados debidamente con otro enfoque, por ejemplo como soportes en heridas con extensas áreas de piel expuestas.

Otra clasificación propuesta es debido a su origen en **naturales** (agar agar, pectina, almidón, entre otros) y **sintéticos** (PVC, polietileno, poliestireno, etc.). Los polímeros sintéticos, poseen la característica de ser creados para funciones específicas y poseen características para cumplir estas mismas. Los polímeros naturales se destacan como una alternativa atractiva no solo por ser usualmente biodegradables sino también por su disponibilidad, bajos costos y posibilidad de ser modificados Sin embargo es importante mencionar que la elección de la materia prima depende exclusivamente de los objetivos planteados, ya que evidentemente los polímeros sintéticos poseen ventajas que se pueden aprovechar o que pueden ser cruciales en el cumplimiento de dichas metas a cumplir.

Por naturaleza también son clasificados debido a su **solubilidad**. El mayor o menor grado de solubilidad dependerá de los grupos funcionales que pueda tener el polímero en su cadena macromolecular, el grado de ramificación y de reticulación, algunos casos de polímeros con cadenas son:

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

- a) Lineales o poco ramificadas y con grupos funcionales polares: En este caso es muy probable que el polímero sea soluble en disolventes polares.

- b) Lineales o poco ramificadas: En este caso es factible que se produzca la solvatación y dado el tamaño de las moléculas de soluto, estas disoluciones se verán como coloidales.

- c) Ramificadas y con un cierto grado de reticulación: En este caso se producirá una solvatación parcial lo que originará que el polímero se hinche.

- d) Extremadamente reticuladas: En este caso es prácticamente imposible que el disolvente penetre entre las cadenas de la macromolécula, puesto que éstas se encuentran fuertemente compactadas en virtud de la reticulación existente. Por tanto, el polímero será muy poco soluble.

Es claro que la cantidad de polímeros existentes y sus vastas características, dejan en evidencia la amplia gama de posibilidades de elección e investigación dirigida al área de la salud, sin embargo, es de vital importancia la característica principal que deben tener, el ser biocompatibles.

Biocompatibilidad.

La definición original de biomaterial se modificó para incluir los materiales que presentan mínima interacción con el medio, ya que resulta prácticamente imposible encontrar un biomaterial absolutamente inerte. Esto es cierto siempre que la respuesta fisiológica al biomaterial se mantenga dentro de unos límites aceptables. Por tanto, la biocompatibilidad puede expresarse como la capacidad de un material para cumplir con una respuesta apropiada cuando actúa como huésped en un organismo vivo para una aplicación específica.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

La alteración de los biomateriales por el ambiente fisiológico es la biodegradación. Los organismos vivos poseen una compleja pero estructurada organización, que le permite identificar, rechazar o admitir cualquier cuerpo extraño introducido en él. Las interacciones de cualquier sustancia de origen natural o sintético con el medio fisiológico determinan el periodo necesario para su reconocimiento y la intensidad de la reacción del organismo para rechazar o asimilar el cuerpo extraño introducido y restablecer así el equilibrio interno. Este tipo de interacciones se conocen como biocompatibilidad.

Los sistemas basados en materiales poliméricos diseñados para aplicaciones médicas tienen en cuenta una serie de factores tales como: la naturaleza de la enfermedad, las propiedades del fármaco, el tipo de terapia (puntual o crónica), la fisiología del paciente, la ruta de administración, la localización de la terapia, y las características del material polimérico empleado, incluyendo el mecanismo de liberación del fármaco. Los materiales deben ser, principalmente, biodegradables, es decir que su degradación en el organismo sea más rápida que fuera de él y que ni ellos ni sus productos de degradación sean tóxicos. Destacan los polímeros naturales (albúmina, gelatina y colágeno) o sintéticos (polianhídridos, poli-ε-caprolactona, poliláctico-glicólico y poliortoésteres). Entre los polímeros de síntesis que actualmente están siendo utilizados o estudiados para liberaciones prolongadas, destacan los diseñados para degradarse o reabsorberse dentro del organismo: polímeros del ácido poliláctico, del ácido poliglicólico y los copolímeros de ambos, la policaprolactona, las poli(p-dioxanonas), los polianhídridos y poliortoésteres, aunque éstos son todavía materiales de alto costo, sin embargo existen otras alternativas de bajo costo que no han sido muy estudiadas.

Sin embargo, algunos de ellos presentan problemas como rápido aclaramiento de las partículas coloidales por los macrófagos del sistema retículo-endotelial. Se conoce que éste puede ser evitado, o al menos, disminuido, de los siguientes modos: modificando el tamaño de partícula, modificando la carga de la superficie, modificando la hidrofobicidad de la superficie o modificando algunos grupos expuestos en la superficie. Se ha observado que entre más lipofílica sea la superficie mayor es la interacción con muchos de los

ANTECEDENTES

componentes del organismo y por ello mayor respuesta inmune. Sin embargo, la elección de los polímeros dependerá de la vía de administración de la forma farmacéutica. La utilización de polímeros no biodegradables se acepta en aplicaciones en las cuales el sistema de liberación puede recuperarse después de la liberación del fármaco (Ej. retirada del inserto o parche) o para aplicaciones en las cuales el polímero pasa a través del tracto gastrointestinal (vía oral); de lo contrario, se recomienda utilizar polímeros biodegradables. En las últimas décadas se han sintetizado un gran número de polímeros y se ha evaluado su comportamiento en contacto con biomoléculas, virus, bacterias, fluidos corporales y células. Estos estudios son una parte de la tendencia creciente de diseñar *polímeros inteligentes*. Existen principalmente tres tipos fundamentales de polímeros empleados en entornos biológicos[6]:

A. Polímeros usados como biomateriales en el reemplazamiento de órganos y cirugía ósea. Deben ser biocompatibles y no deben tener ningún efecto adverso sobre el sistema biológico al que están expuestos. También han de ser bioestables y/o biodegradables.

B. Polímeros que actúen como matrices que permitan la liberación controlada de una sustancia activa. Esta sustancia activa puede ser liberada de la matriz intacta o bien por medio de la bioerosión (hidrolítica) o biodegradación (enzimática) del polímero. De nuevo, el polímero y sus subproductos de degradación no deben tener ningún efecto biológico adverso, es decir, han de ser biocompatibles.

C. Polímeros sintéticos solubles, que por sí mismos desarrollan actividad biológica. Estos pueden ser activos en función de su carga, microestructura y conformación. Por otro lado pueden ser utilizados como transportadores de moléculas que se unan a sus sitios activos, como son aditivos para alimentos, pesticidas, insecticidas o sustancias farmacológicamente activas.

Es importante que los biomateriales poliméricos posean poca o ninguna actividad biológica intrínseca.

Interacción Matriz Polimérica-Fármaco.

Con los polímeros se elaboran sistemas para la liberación controlada de fármacos en los que el principio activo habitualmente se encuentra disperso en el seno del material polimérico. La liberación se produce, de forma prolongada en el tiempo, por un mecanismo combinado de difusión a través de la matriz polimérica y/o degradación o erosión de la misma. Podemos considerar dos mecanismos de liberación del fármaco:

1. Sistemas de **difusión controlada**, en ellos el medicamento se libera por difusión de la solución a través de una membrana polimérica, o bien se incrusta en una matriz polimérica que controla la velocidad de liberación de la sustancia activa.
2. Sistemas de **erosión o degradación controlada**, en cuyo interior la liberación del fármaco tiene lugar debido a la disolución, desintegración o biodegradación del polímero.

Sistemas controlados por factores físicos, químicos y procesos bioquímicos, donde el contenido es liberado dependiendo de la naturaleza del proceso. La velocidad de liberación de la sustancia activa desde dicho sistema al medio que la rodea, viene determinada por las propiedades del propio polímero y, en algunos casos, depende de los factores ambientales, como pueden ser el pH, la temperatura y los fluidos del organismo. Se pueden clasificar en:

1. Sistemas de liberación activados por medios físicos como son:

- a) Presión osmótica.
- b) Presión hidrodinámica.
- c) Presión de vapor.
- d) Por fuerzas mecánicas.
- e) Activados por fuerzas magnéticas.
- f) Ionoforesis y sonoforesis.
- g) Activados por hidratación.

2. Sistemas de liberación activados por agentes químicos:

- a) Por pH.
- b) Ión activado.
- c) Hidrólisis.

3. Sistemas de liberación activados por factores bioquímicos:

- a) Por enzimas.
- b) Activadores bioquímicos.[7]

Los sistemas en los que el fármaco se encuentra encapsulado, disuelto o disperso en una estructura polimérica, se clasifican en función de su tamaño y de su estructura. En general, las partículas de dimensiones superiores a 1 μm se denominan micropartículas, y nanopartículas aquellas de tamaño inferior a 1 μm . A su vez, y según su estructura física, adquieren la denominación de microcápsulas y microesferas.[4]. Además, los sistemas poliméricos pueden ser usados en plataformas macroscópicas tales como implantes cilíndricos o películas.

Efectos de los biomateriales en el organismo receptor.

Los biomateriales empleados en Medicina son numerosos y difieren entre sí en cuanto a su naturaleza química, grado y condiciones de polimerización, peso molecular, y presencia de aditivos e impurezas. También es muy importante la forma, estructura, textura, rigidez o flexibilidad de la matriz, estabilidad y tolerabilidad. Dentro de las manifestaciones más comunes que suelen aparecer se encuentran los procesos inflamatorios y la formación de cápsulas fibrosas e infecciones provocadas por matrices poliméricas.[6]

3.3. Mezclas de polímeros.

La mezcla es el paso clave en los procesos cuyo principal componente son polímeros, afectando las propiedades de estos materiales, proceso y costos. Los polímeros son combinados con otros para complementar sus propiedades y en ocasiones para mejorar de manera sustancial sus características físicas. Varios aditivos y agentes reforzantes son mezclados con los polímeros para controlar propiedades específicas de la mezcla, como son degradación, propiedades mecánicas y aspecto.

Algunos autores reportan que en ciertas mezclas poliméricas con agar, presentan cambios dentro de la cantidad de humedad retenida, así como la mejora de las propiedades mecánicas de elongación y resistencia a la tensión, dejando como resultados que el uso de agar como matriz polimérica es viable, ya que contribuye al incremento en las propiedades mecánicas en combinación con otros polisacáridos.

El alginato, otro material polimérico, ha sido estudiado por sus propiedades muco-adhesivas, que en combinación con entrecruzadores funciona como una excelente barrera de adhesión tisular, con aplicaciones como injerto, auxiliar en cirugías.

ANTECEDENTES

Las propiedades físicas y químicas de películas poliméricas basadas en Quitosan ya han sido investigadas por varios autores entre ellos Ban, W. y Jianguo Song en el año de 2006, quienes mencionan que la inclusión de Quitosan en membranas poliméricas provee a estas de una alta hidrofiliidad, aumentando sustancialmente la absorción de agua. [8] De la misma manera las membranas poliméricas basadas en Quitosan proveen a las mismas de propiedades mecánicas altamente resistentes, siempre dependientes de la cantidad de polímero adicionada a la base.[9]

Resultados experimentales han demostrado que las películas de PVA poseen aplicaciones potenciales para aplicaciones comerciales.

Sin embargo los polímeros en combinación constituyen una atractiva opción para el desarrollo de bases poliméricas pues, como ya se ha mencionado anteriormente, las propiedades de estos se logran sinergizar, es así que las mezclas de Quitosan y PVA muestran un incremento en las propiedades físicas de la formación de la membrana como resistencia a la tensión, elongación y viscosidad, comparadas con las películas de éstos polímeros por separado. [10] Está comprobado que las mezclas entre Quitosan y PVA no presentan citotoxicidad siendo biocompatibles en fluidos simulados.[11]

Membranas preparadas con Quitosan por el método de evaporación con base en Quitosan y ácido fólico como principio activo, demostraron que la cantidad de sorción del PA depende de la composición del soporte polimérico así como de la acidez del medio.[12-13]

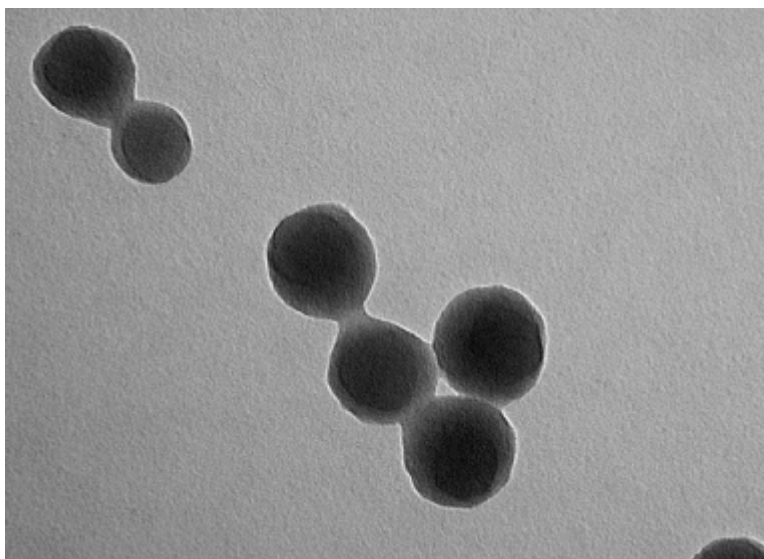
3.4. Formas de las matrices poliméricas de liberación.

Como ya ha sido comentado en los apartados anteriores, existen diversas formas de preparación de matrices poliméricas. A continuación se explican las más comunes.

3.4.1. Nano y micropartículas.

Nanopartículas[14]

Son partículas coloidales en el rango de tamaños entre 10 y 1000 nm (*Figura 1*).



*Figura 1. Fotografía de nanopartículas poliméricas obtenidas por microscopía electrónica de transmisión.
Barra 200nm.[15].*

Están hechas de material macromolecular en el cual el activo está disuelto, disperso o encapsulado y al cual puede ser adsorbido o unido, este material debe de ser preferentemente biodegradable. La elección del polímero, tamaño y método de preparación dependerá de la bioaceptabilidad del mismo, las propiedades fisicoquímicas del fármaco, del polímero y de la meta terapéutica.

Métodos de preparación

Se pueden dividir en aquellos en los que se parte del polímero previamente sintetizado o los que se parte de los monómeros. Entre los primeros:

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Emulsificación-evaporación.

El polímero y el fármaco se disuelven en un medio orgánico inmiscible con el agua y se adiciona a una disolución acuosa con estabilizador mediante agitación u otro mecanismo que lleve a disminuir el tamaño del glóbulo de la preemulsión formada. Se elimina el disolvente orgánico mediante vacío, calor o ambos.

El resultado es la formación de una dispersión de nanoesferas.

Desplazamiento del disolvente.

Se disuelve el polímero, el fármaco, y en ocasiones, un estabilizador en un medio semipolar, miscible con el agua. Se adiciona la mezcla a una disolución acuosa con un estabilizante (frecuentemente PVA) manteniendo agitación. Las nanopartículas se forman inmediatamente debido a una rápida difusión del disolvente no acuoso, el cual es eliminado mediante vacío.

Salting-out.

Se basa en la separación de un disolvente miscible con agua de una disolución acuosa mediante efecto de salting-out. El polímero y el fármaco son disueltos en acetona (ya que se conoce muy bien su comportamiento). Mediante agitación es emulsificada en un gel acuoso que contiene los electrolitos y un estabilizante coloidal.

Se adiciona la suficiente cantidad de agua para que aumente la difusión de acetona a la fase acuosa y se formen las nanoesferas.

Emulsificación-difusión[16].

El polímero se mezcla con un disolvente parcialmente miscible con agua, el cual ha sido previamente saturado en agua. Posterior a esto se adiciona la fase anterior a una disolución acuosa que contiene un estabilizante. A continuación se adiciona más agua, lo que permite un proceso de difusión y se formen las nanopartículas.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Entre los métodos de preparación en los que se parte de monómeros, tenemos:

Polimerización en emulsión.

Se disuelve el monómero en un no-disolvente con la ayuda de un tensoactivo. Se inicia la reacción de polimerización y comienza la precipitación de las nanopartículas.

Polimerización en fase acuosa continua.

Se disuelve el monómero en una disolución acuosa, con o sin estabilizantes, en la que también está disuelto el fármaco. Mediante radiación comienza la precipitación de nanopartículas. Debido a que el polímero es insoluble en el medio utilizado hay una precipitación y formación de las nanopartículas.

Polimerización interfacial.

Se disuelven fármaco y monómero en la fase en que son solubles. La fase orgánica o acuosa se adiciona, según sea el caso, con agitación. (En caso de ser necesario, la fase externa deberá tener un iniciador de la polimerización). Si el proceso de polimerización es muy rápido, se forma una capa impermeable del polímero, dando como resultado microcápsulas. Si el proceso es lento, la polimerización se dará en el total de la masa y se formarán nanopartículas sólidas.

Aplicaciones[17].

Al igual que las micropartículas han supuesto un gran auge como sistemas de liberación de fármacos, suponiendo una mejora a las anteriores, dado que al ser su tamaño más pequeño supone un menor problema inmunológico. Además de que su facilidad para alcanzar ciertos lugares se ve incrementada. Se han utilizado con citostáticos, antiinfecciosos, péptidos y antiinflamatorios.

Micropartículas[18].

Son partículas pequeñas, del orden de micras. Pueden ser preparadas a partir de diferentes materiales y sus características físicas dependerán del uso que se les vaya a dar. La elección del material dependerá de: el activo, el destino, la duración de acción y la toxicidad de la materia prima.

Se habla de microesferas cuando el fármaco se encuentra disuelto o disperso en una matriz polimérica sólida, mientras que se habla de microcápsulas cuando el fármaco se encuentra en una fase líquida interior y rodeada por una membrana polimérica.

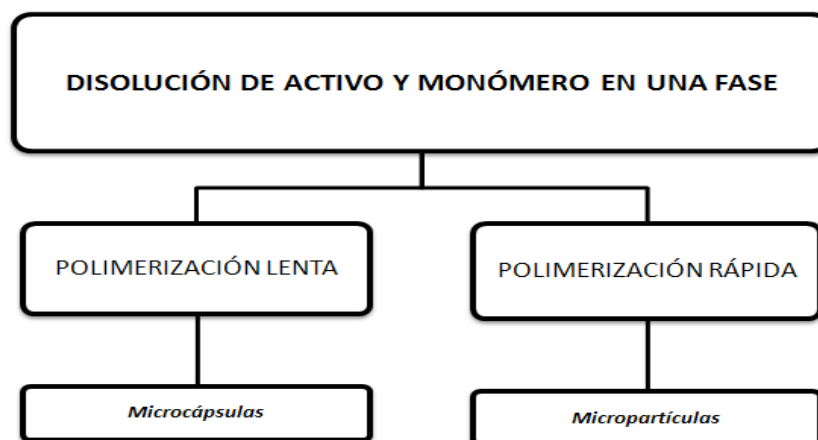
Preparación.

La técnica utilizada va a depender de la naturaleza del material, la naturaleza del activo, el tamaño deseado y las especificaciones de carga y liberación.

En general se pueden hablar de técnicas basadas en:

- Polimerización de monómeros.

Esquema 2. Polimerización de monómeros.



Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

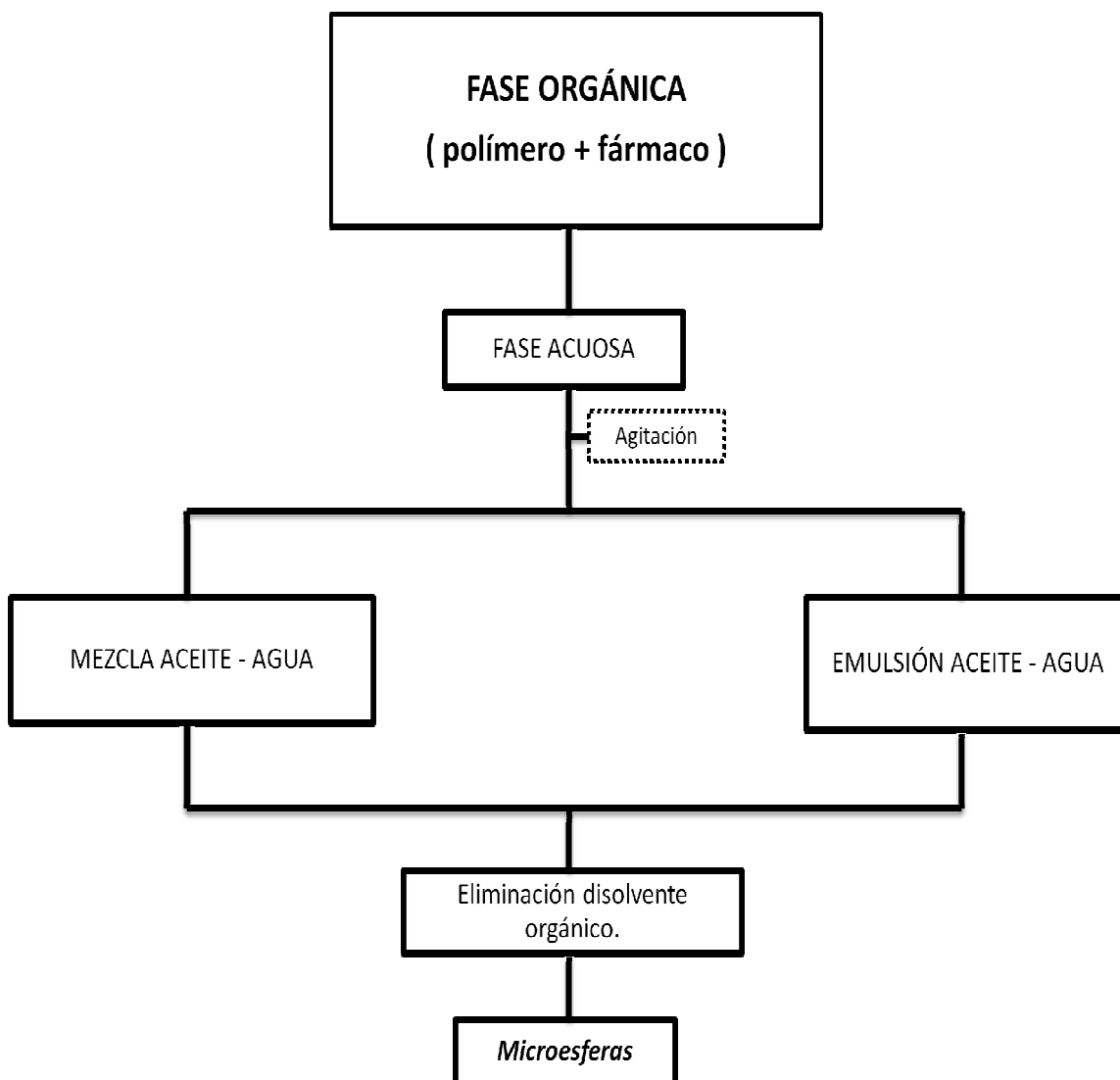
ANTECEDENTES

Este tipo de polimerización se puede hacer también en fase continua con iniciador, las nanopartículas precipitan por disminución de la solubilidad del polímero.

- Polímeros preformados

Si polímero y fármaco son solubles en disolventes diferentes se realizan emulsiones múltiples, dejando al fármaco en la fase más interna (fase acuosa) y el polímero en la fase media (fase orgánica) y emulsificando éstos en una fase externa acuosa.

Esquema 3. Polímeros preformados.



Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

La técnica de preparación utilizada será elegida según las propiedades del polímero, el fármaco, el tamaño deseado y las especificaciones de carga. El tamaño y distribución del mismo dependerá de: método de emulsificación, tipo y concentración de tensoactivo, viscosidad de la fase acuosa, relación fase orgánica/fase acuosa, tipo de disolvente orgánico, concentración de polímero en la fase orgánica, tipo de polímero, velocidad de agitación y velocidad de evaporación del disolvente.

Carga y liberación de fármaco.

Para que las micropartículas sean efectivas deben de llevar suficiente carga de activo y liberarlo según un perfil de tiempo determinado. La incorporación se puede hacer durante el proceso de manufactura (ocurriendo un acoplamiento covalente al polímero o la formación de una dispersión o disolución sólida), consiguiendo alta eficacia de carga y liberación lenta, o bien posterior a la manufactura (puede haber unión covalente o adsorción: en superficie), pero se logra baja eficacia de carga y liberación rápida.

Aplicaciones.

El uso de micropartículas ha sido generalizado en los últimos años. Se pueden encontrar sistemas de liberación dirigidos prácticamente a cualquier vía de administración que involucren estas partículas microestructuradas. Sin embargo, debido a su tamaño existe el riesgo de activación del sistema inmune y la posibilidad de producir toxicidad. Se han utilizado con antineoplásicos, broncodilatadores y antiinflamatorios, lo cual ha desencadenado en el ámbito farmacéutico.

3.4.2. Ciclodextrinas [19].

Son sistemas potenciales de liberación de fármacos (***Figura 2***), ya que tienen la capacidad de alterar las propiedades físicas, químicas y biológicas de la molécula huésped por medio de la formación de complejos de inclusión. Se sabe que las ciclodextrinas están constituidas por moléculas de glucosa unidas entre sí por enlaces α 1 \rightarrow 4 glucosídicos, las

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

más comunes, α -, β - y γ - ciclodextrinas, están constituidas por 6, 7 y 8 unidades de glucosa, respectivamente y tienen una cavidad hidrofóbica con los bordes exteriores hidrofílicos, estas presentan forma de cono truncado.

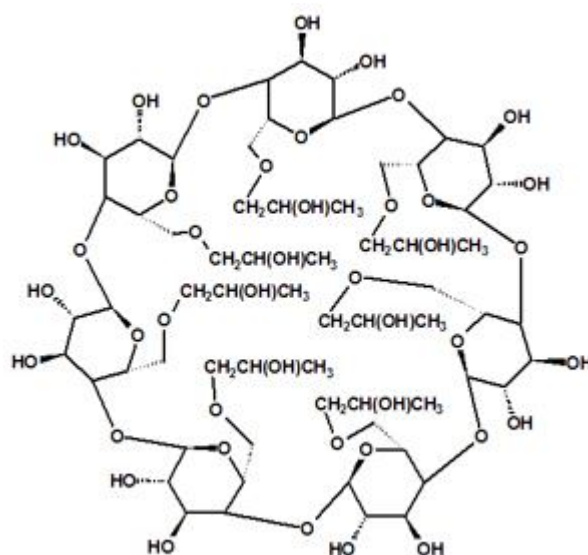


Figura 2. Estructura de ciclodextrina [20].

En la actualidad se conocen muchas propiedades de las ciclodextrinas, las cuales son importantes en el proceso de complejación. Aprovechando la capacidad de las cicloamilosas para formar complejos de inclusión, fueron surgiendo paulatinamente otros campos de aplicación como son la biotecnología, ciencia de los alimentos, química analítica y farmacia.

Un mejor conocimiento de las fuerzas intermoleculares ciclodextrina-huésped va a traer como consecuencia una mejora en el diseño de nuevos sistemas supramoleculares, los cuales pueden ser utilizados en el área de tecnología farmacéutica para lograr una liberación modificada.

Sistemas de liberación modificada basados en ciclodextrinas.

Como se ha comentado existen diferentes tipos de ciclodextrinas en base a sus grupos funcionales, de tal modo que hay cicloamilosas con características hidrofílicas o hidrofóbicas en su exterior. En general, las primeras son utilizadas para lograr liberación inmediata, mientras que las segundas se utilizan con la finalidad de lograr un sistema de liberación modificada. El tipo de liberación dependerá también de la constante de estabilidad del complejo formado.

3.4.3. Películas.

El uso de recubrimiento con polímeros ha ido tomando importancia en los sistemas de liberación de fármacos en los recientes años. Fármacos y excipientes (polímeros) son usualmente manufacturados en varios arreglos membranosos para crear un sistema de liberación de fármacos conveniente. Películas delgadas de polímero podrían ser utilizadas como recubrimiento de principios activos inestables o proteínas, además como películas poliméricas o matrices de fármacos, asimismo como sistema transdérmico para la administración de medicamentos.

Los patrones de liberación y velocidad de liberación de fármaco de los sistemas de revestimiento polimérico por lo general dependen de los materiales de revestimiento, el espesor de la película y el sitio de aplicación. La liberación del fármaco puede estar influenciada por el pH, la presión osmótica, temperatura, o por la ruptura de la película de revestimiento.

El adecuado diseño de un dispositivo de liberación de fármacos con base en polímeros, debe tener en cuenta que las propiedades físicas y mecánicas de los mismos sean las apropiadas, ya que el fallo de estos sistemas a menudo tiene su origen en una inadecuada resistencia mecánica. En este sentido, los parámetros más importantes que han de ser

ANTECEDENTES

considerados son las propiedades elásticas, el grado de hinchamiento, la resistencia a la tracción y a la compresión, la cizalla bajo cargas estáticas y dinámicas, la resistencia al desgarre y a la fatiga. La degradación térmica es de menor importancia debido a las relativamente pequeñas fluctuaciones de temperatura que se dan en el organismo.[6]

Los requisitos de tipo biológico dependen de la aplicación específica del sistema de liberación. Los materiales poliméricos a utilizar no deben inducir fenómenos cancerígenos, tóxicos o nocivos en general. La toxicidad se encuentra relacionada con la liberación (migración) de pequeñas cantidades de monómeros residuales u otros aditivos. Con excepción de los sistemas bioerosionables, las propiedades físicas, químicas y mecánicas de los polímeros no deben ser modificadas por la acción del medio biológico. Además, no deben inducir reacciones inflamatorias al contacto con los tejidos y deben tener capacidad de esterilización .[6]

3.5. Polímeros evaluados.

A continuación se exponen brevemente las descripciones de los polímeros utilizados para el desarrollo del sistema de liberación, haciendo hincapié en dos de éstos, ya que figuran dentro de la formulación final de la matriz polimérica desarrollada. Así como también se describe el principio activo utilizado para la carga del sistema.

3.5.1. AGAR. [21-23]

El agar, o agar –agar (*Figura 3*), es un polisacárido que se obtiene de algas del género *Gelidium*, algas que se han utilizado en la cocina tradicional japonesa, por sus propiedades gelificantes, desde hace muchos siglos. También se obtiene de otras algas, entre ellas especies de los géneros *Gracillaria*, de las que procede actualmente la mayoría del agar, y de *Gelidiella* y *Pterocladia*, que aportan pequeñas cantidades.

ANTECEDENTES

El agar se considera formado por la mezcla de dos tipos de polisacáridos, la agarosa y la agarpectina. La agarosa es el componente principal, representando alrededor del 70% del total. Tanto la agarosa como la agarpectina tienen la misma estructura básica.

Estructura.

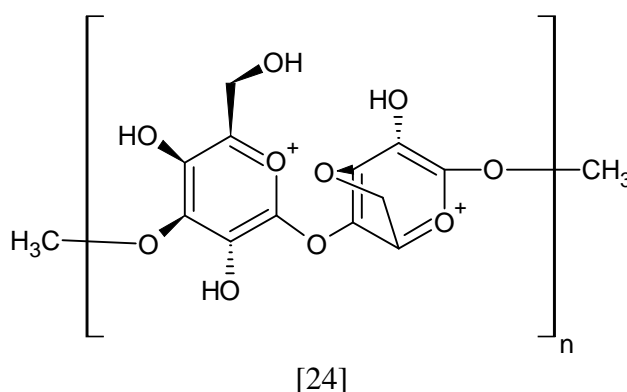


Figura 3. Estructura de agar.

Fórmula Empírica y Peso Molecular.

$(C_{12}H_{18}O_9)_n$, **PM:** 35 000 – 150 000.

La cadena de polisacárido está formada por unidades alternas de galactosa y de anhidrogalactosa, ambas en forma piranosa, unidas por enlaces α -1-4- y β -1-6-, también alternos. La longitud de la cadena es muy variable, y en el agar comercial predomina los tamaños entre 35.000 y 150.000 de peso molecular.

En disolución, a temperatura alta, las cadenas de agar están desenrolladas y plegadas al azar. Los geles de agar se forman fundamentalmente por uniones en forma de doble hélice entre las cadenas de agarosa. La presencia de grupos sulfato, como sucede en la agarpectina, impediría la formación de estas hélices. [24-25]

3.5.2. ALGINATO DE SODIO.[26-29]

El Alginato de Sodio (*Figura 4*) es una sal sódica del ácido algínico, un polisacárido de origen natural, producido por diferentes algas de la familia *Phaeophyceae* (*Macrocystis pyrifera*, *Laminaria digitata*, *L. cloustoni*, *Ascophyllum nodosum*) en Estados Unidos y el Reino Unido. "Alginato" es un polisacárido, que se encuentra en gran cantidad en las algas marinas pardas, representando el 30% a 60% de su peso (base seca). El ácido algínico se acumula en las algas marinas en forma de "cuerpos gelatinosos" después de combinarse con las sales del agua de mar. Estos "cuerpos gelatinosos" llenan las células de las algas. La flexibilidad de las algas que crecen en el océano es el resultado de la flexibilidad de estos cuerpos gelatinosos, es decir, los alginatos le confieren al alga su estructura típica.[30]

Estructura.

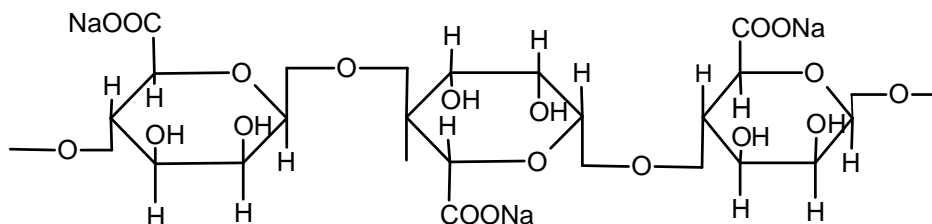


Figura 4. Estructura del alginato de sodio.

Fórmula Empírica y Peso Molecular.

$(C_6H_7O_6Na)_n$, PM: 10000-600000.

Forma una solución viscosa coloidal con agua, es soluble en alcohol, éter, cloroformo y otros solventes orgánicos. [31]

Aplicaciones en formulaciones farmacéuticas.

Agente espesante y emulsificante.

3.5.3. ALMIDÓN.[8, 32]

El almidón se encuentra en semillas, raíces y tubérculos, lugares donde la planta almacena energía. Alimentos como el maíz tierno y las patatas tienen alrededor de 15% de almidón, los cereales pueden llegar a tener el 70%. El almidón se encuentra formando granos esféricos que pueden verse al microscopio y se pueden diferenciar por su apariencia entre unas y otras especies.

Es un polímero de α -glucosa (*Figura 5*) en el que los monómeros se encuentran enlazados por enlaces 1-4 y ocasionalmente se ramifican formando un enlace adicional en posición 1-6.

El almidón está compuesto por dos polímeros distintos, ambos de glucosa, la amilosa y la amilopectina. El almidón presenta en su conjunto una estructura cristalina. Bajo luz polarizada presenta el esquema típico de "Cruz de Malta". De esta estructura cristalina es responsable la amilopectina debido a que en ella se forman puentes de hidrógeno entre las ramificaciones dando lugar a una estructura muy estable que se puede considerar como cristalina. Se puede decir que la amilopectina es la parte insoluble mientras que la amilosa es la parte soluble.

Amilosa: Polímero compuesto por unión de unidades de α glucosa (OH del carbono anomérico en posición axial). Sólo aparecen enlaces 1-4, por lo que su estructura es lineal formando una hélice. Aparece en una proporción en torno al 20-25% del almidón total.

Amilopectina: Polímero compuesto por unión de unidades de α glucosa mediante enlaces 1-4, pero ramificado con uniones 1-6 cada 20 a 25 restos de glucosa. Es la parte ramificada del almidón.

Estructura

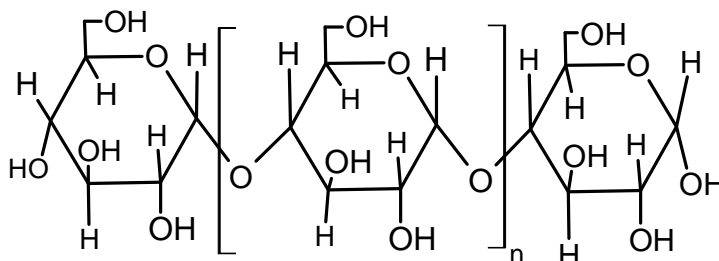


Figura 5. Estructura del almidón.

Formula empírica y peso molecular.

$(C_6H_{10}O_5)_n$, **PM:** 10×10^6 - 500×10^6 .

Almidón pregelatinizado: es el modificado más simple. Se obtienen a partir de un almidón que sólo ha llegado a gelatinizarse. Se calienta hasta que se forma la pasta y luego se deseca hasta conseguir un polvo fino y seco que se utiliza como ingrediente en industrias que no realizan la gelatinización. Es decir, este almidón ha sido gelatinizado pero no gelificado (no ha formado el gel). Su solubilidad en agua (90°C) es de 50 g/L.

Aplicaciones en formulaciones farmacéuticas.

El interés farmacéutico del almidón y de sus derivados se basa principalmente en sus características físico-químicas que les confieren un papel determinante en la formulación de comprimidos y en la obtención de geles, cuyas propiedades reológicas pueden mejorarse modificando la estructura inicial del almidón mediante tratamientos físicos (almidones pregelatinizados), tratamientos químicos (oxidación con hipoclorito sódico, esterificación) o tratamientos enzimáticos (despolimerización controlada).

De todos los derivados obtenidos a partir del almidón de aplicación en farmacia es importante destacar las ciclodextrinas, oligosacáridos cíclicos que estructuralmente corresponden a 6, 7 y 8 unidades de glucosa, que se obtienen por degradación enzimática del almidón. La enzima (ciclodextrina-glucosil-transferasa) procede de diferentes bacilos

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

(*Bacillus macerans* y *B. circulans*). Se emplean como encapsuladores moleculares de diferentes sustancias (fármacos, aromas, colorantes, etc.) pues presentan una cavidad central hidrófoba y una superficie exterior hidrófila que puede mejorar su solubilidad y por ello su biodisponibilidad.

3.5.4. PECTINA.[33-35]

Se deriva de desechos de frutas, particularmente de desechos y subproductos de la manufactura de jugos (manzana y cítricos). La pectina es un polisacárido (**Figura 6**) de peso molecular variable que van de 20.000 a 400.000, en función del número de monómeros de los hidratos de carbono.

Fórmula Estructural.

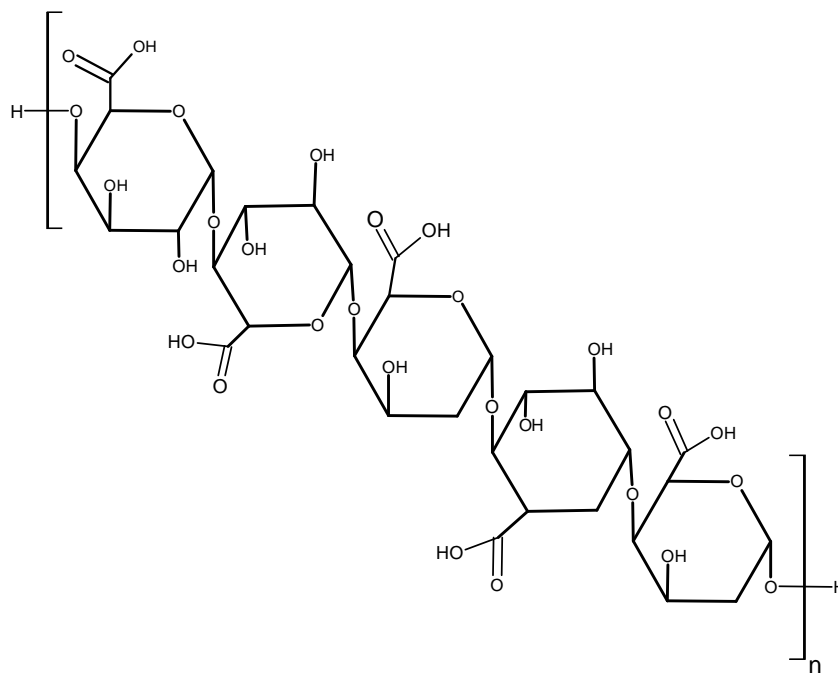


Figura 6. Estructura de Pectina.

Estructura Empírica y Peso Molecular.

$C_5H_{10}O_5$, **PM:** 20 000 – 400 000.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Tiene como componente principal, a una cadena lineal central constituida de unidades de ácido poli- α -D-galacturónico unidas por enlaces glicosídicos 1-4.

Dependiendo del origen botánico y el proceso de extracción los grupos carboxílicos están parcialmente esterificados con metanol y en ciertas pectinas los grupos hidroxilo están parcialmente acetilados. Azúcares neutros también están presentes, a saber, ramnosa, arabinosa, galactosa, xilosa y glucosa. De acuerdo al grado de esterificación (GE), forma geles en un medio ácido y alta concentración de azúcar (pectinas de alto GE -mayor a 50 %), o por interacción con cationes divalentes, particularmente Ca^{2+} (pectina de bajo GE -menor a 50 %). Una vez extraída, la pectina es un polvo amarillento grueso o fino que es altamente soluble en agua formando soluciones coloidales. En presencia de iones de calcio, forma un gel de pectina, que es más resistente a la alteración en el intestino que el gel de alginato.

Aplicaciones en formulaciones farmacéuticas.

Viscosante y Suplementos nutricionales.

3.5.6. QUITOSAN. [9, 36-37]

El Quitosan es un polímero lineal de β -1,4-D-glucosamina (*Figura 7*), derivado de la desacetilación de la quitina, la cual se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza y forma parte estructural de insectos, crustáceos e incluso hongos.

Fórmula Estructural.

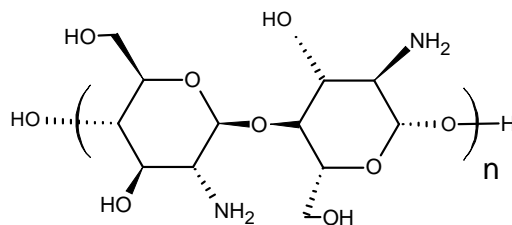


Figura 7. Estructura del Quitosan.

Fórmula Empírica y Peso Molecular.

$(\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_9)_n$: De acuerdo al grado de polimerización, el Quitosan se clasifica en Quitosan de bajo peso molecular y de alto peso molecular.

ANTECEDENTES

Es un compuesto insoluble en agua, pero soluble en ácidos orgánicos diluidos, como ácido acético, ácido succínico y ácido fórmico. Se ha comprobado que a concentraciones inferiores o iguales al 0,1% de ácido acético, permite diluir el Quitosan sin afectar el crecimiento de levaduras [38].

Aplicaciones en formulaciones farmacéuticas.

Se le han asociado diversas propiedades terapéuticas, fundamentalmente como hipoglicemiante o como biopiel en pacientes con quemaduras. Es un compuesto seguro, biocompatible y biodegradable. De esta manera, es un compuesto que se ha utilizado tanto por vía oral, como por vía tópica. Recientemente se ha descrito una actividad antimicrobiana de Quitosan frente a bacterias y hongos[39].

3.5.7. POLIVINIL ALCOHOL (PVA). [36, 40-42]

Polímero sintético (*Figura 8*) de gran flexibilidad y resistencia, proviene de la hidrólisis controlada del poli(acetato de vinilo) (PVAc). Es resistente al agua, aceite y grasas. Es inodoro y no tóxico. Tiene un punto de fusión de 230 °C (hidrolizado completo) y 180-190 °C (parcialmente hidrolizado). El grado de hidrólisis es de principal importancia ya que define su solubilidad en agua y su actividad superficial.

Fórmula Estructural.

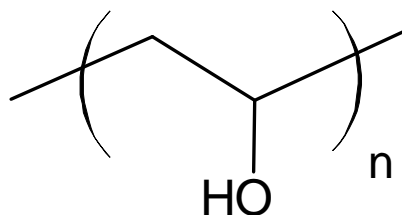


Figura 8. Estructura de PVA.

Fórmula empírica y peso molecular.

$(C_2H_4O)_n$, PM: 30 000 – 70 000

El PVA tiene un punto de fusión de 230 °C y 180-190 °C para los grados de hidrolización parciales y totales. Se descompone rápidamente alrededor de los 200°C, de tal forma que puede sufrir pirolisis si se expone a temperaturas superiores.

Presenta valores elevados de resistencia a la tensión y flexibilidad, así como la capacidad de formar pozos para altas cantidades de oxígeno y como barrera aromática. Probablemente estas propiedades son dependientes de la humedad, en otras palabras, cuando el grado de humedad es alto, mayor es la cantidad de agua absorbida. El agua, cuando actúa como plastificante, suele reducir su resistencia a la tensión, pero incrementa su elongación y su resistencia a la ruptura.

Es soluble en agua e insoluble en solventes orgánicos. Su disolución requiere de una dispersión en agua a temperatura controlada (90°C) y con agitación constante.

Es estable cuando se conserva en contenedores cerrados, en lugares frescos y secos. Las soluciones acuosas son estables en contenedores cerrados resistentes a la corrosión. El PVA sufre una lenta degradación a 100°C y una rápida a 200°C, es estable a la exposición de luz.

Aplicaciones en formulaciones farmacéuticas.

Posee excelentes propiedades como formador de películas, emulsificante y adhesivo. Es utilizado como lubricante, estabilizador, modificador de viscosidad y como agente de recubrimiento, primordialmente en formulaciones oftálmicas y tópicas.

Incompatibilidades.

Sufre esterificación. Se descompone con ácidos fuertes y se ablanda cuando se disuelve en ácidos y bases débiles. Es incompatible en altas concentraciones con sales inorgánicas, especialmente con sulfatos y fosfatos.

3.6. Fármaco prototipo: FLORFENICOL (FF).

Florfenicol (*Figura 9*) es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro que se desarrolló a partir del Tianfenicol al sustituir un radical hidroxilo de la cadena alifática por uno de flúor, esta diferencia estructural le confiere ventajas en la actividad frente a bacterias resistentes a Cloranfenicol y Tianfenicol. Presenta actividad similar a Cloranfenicol, incluyendo muchos organismos Gram positivos y Gram negativos; sin embargo el Florfenicol no lleva el riesgo de inducir anemia aplástica en humanos, la que si está asociada a Cloranfenicol.[43]

Fórmula Estructural.

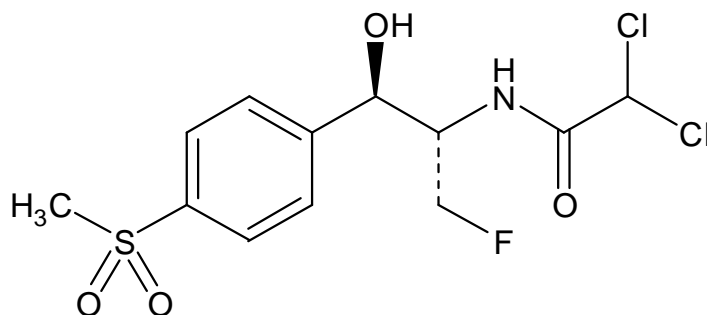


Figura 9. estructura química del Florfenicol.[44]

Formula Empírica y Peso Molecular

$C_{12}H_{14}Cl_2FNO_4S$, **PM:** 358.22.

Nombre Químico: (D-tre-2,2-dicloro-N-c- α -(fluormetil)- β -hidroxi-p-(fenetil)acetamida.[43]

Nombre CAS: 2,2-Dicloro-N-[(1S,2R)-1-(fluorometil)-2-hidroxi-2-[4-(metilsulfonil)fenil] etil] acetamida.

Nombres adicionales: D-(treo)-1-p-metilsulfonilfenil-2-amino-3-fluoro-1-propanol; fluorotiamfenicol.

Por ciento Composición: C 40.24%, H 3.94%, Cl 19.79%, F 5.30%, N 3.91%, O 17.86%, S 8.95%.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Solubilidad: Soluble en disolventes orgánicos polares, altamente soluble en acetona, medianamente soluble en etanol y ligeramente soluble en agua. [43]

Punto de fusión: p.f. 153-154°.

Indicación terapéutica: Antibacterial.

Apariencia: polvo o cristales blancos.[44]

Mecanismo de Acción:

Florfenicol actúa sobre las bacterias uniéndose en forma reversible a la subunidad 50 S del ribosoma, inhibiendo en forma específica la actividad de la enzima peptidiltransferasa, e impidiendo por tanto el proceso de elongación de la cadena polipeptídica. Puesto que la unión es reversible, actúa como bacteriostático.[45]

Espectro de acción:

Se ha demostrado actividad in vitro e in vivo de Florfenicol contra *Manheimia* (*Pasteurella*) *haemolytica*, *Pasteurella multocida* y *Haemophilus somnus*. Estudios in vitro han demostrado actividad contra *Rickettsias*, *Chlamydias*, *Aeromonas salmonicida*, *Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klasiella pneumoniae*, *Salmonella typhi*, *Shigella dysenteriae*, *Manheimia*, *Pasteurella* y *Haemophilus*. El Florfenicol es activo también contra algunas cepas resistentes a Cloramfenicol, posiblemente porque es menos afectado por la principal enzima plasmidal que genera resistencia contra Cloramfenicol y Tiamfenicol. En la **Tabla I** se muestran las CMI de Florfenicol para ciertos patógenos, en la cual se muestra el número de aislamiento que corresponde al número de cepas evaluadas. Es uno de los fármacos de primera línea de elección frente a las bacterias anaeróbicas obligadas. Las especies de *Mycobacterium* y *Nocardia* son resistentes.

Tabla I. CMI del florfenicol para algunos patógenos implicados en el complejo respiratorio bovino.[43]

MICROORGANISMO	# AISLAMIENTO	CMI ₅₀ (µg/mL)	CMI ₉₀ (µg/mL)
<i>Actinobacillus pleuropneumoniae</i>	374	0.2	1.5
<i>Pasteurella multocida</i>	350	0.5	1
<i>Haemophilus somnus</i>	66	0.25	0.5

Farmacocinética[46]:

Al ser un compuesto neutro liposoluble, el Florfenicol atraviesa fácilmente las barreras celulares. Además, posee una tasa de unión a proteínas relativamente baja (30 –45%), lo que le permite difundirse rápidamente por todo el organismo, alcanzando tejidos y fluidos como: pulmón, corazón, páncreas, músculo esquelético, bazo, cerebro, líquido cefalorraquídeo o estructuras internas del ojo que son inaccesibles para otros fármacos antibacterianos. [45] [43] Su volumen de distribución aparente es alto, más de 1 L/Kg en la mayoría de las especies, permitiéndole una buena distribución hacia los tejidos poco irrigados.[45]

En *animales monogástricos y terneros jóvenes*, el Florfenicol se absorbe bien a través del tracto gastrointestinal. En los rumiantes adultos, por el contrario, el antibiótico es inactivado en el rumen, probablemente, debido a la actividad bacteriana. En perros y gatos se puede administrar por vía oral, intramuscular o por inyección intravenosa lenta.

En general tiene buena distribución corporal, incluyendo el SNC y el ojo. En líquido cefalorraquídeo alcanza concentraciones muy elevadas (30 – 50% de las concentraciones plasmáticas en ausencia de meningitis) y las concentraciones cerebrales se mantienen por mayor tiempo que las plasmáticas.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Salmón atlántico: El Florfenicol se distribuye a todos los órganos y tejidos con una dosis de 10 mg/kg cuando la temperatura del agua es de 8.5 a 11.5 °C. Las concentraciones en el músculo y la sangre son similares a las concentraciones del suero, mientras que la grasa y el sistema nervioso central, tienen concentraciones inferiores. Sólo el 25% de las concentraciones en suero son encontradas en el cerebro.

Cerdos: Se ha demostrado que la biodisponibilidad del Florfenicol es mayor cuando es administrado por vía oral (VO) que por vía intramuscular (IM), lográndose una $C_{p_{max}}$ por VO (14.5 ± 3) del doble del obtenido por vía IM (14.5 ± 3). Presenta además $t_{1/2\beta}$ de 2.3 ± 0.8 por vía IM y un $t_{1/2\beta}$ de 3.0 ± 0.8 por VO.

Biotransformación:

Ganado Bovino: Aproximadamente el 64% de una dosis de 20 mg/kg intramuscular /48 h, administrado dos veces, es excretado como fármaco inalterado en la orina. Metabolitos urinarios incluyen Florfenicol amina, Florfenicol alcohol, Ácido florfenicol oxámico y Monocloroflorfenicol. El Florfenicol y sus metabolitos, como monocloroflorfenicol y el ácido Florfenicol oxámico, también son eliminados en las heces fecales. Florfenicol amina se mantiene como metabolito principalmente en el hígado, y, por lo tanto, esto es usado como marcador para la cuantificación.

Salmón atlántico: Florfenicol es rápidamente metabolizado a temperaturas de 8.5 a 11.5 °C y su metabolito principal es Florfenicol amina.

Aves: En pollos broiler, tras dosis única de 15 y 30 mg/kg p.v. tras administración intravenosa, intramuscular y oral. Las concentraciones de Florfenicol en plasma tras la inyección intravenosa frente al tiempo declinan biexponencialmente, ajustándose adecuadamente a un modelo abierto bicompartimental para su análisis cinético, con rápidas semividas de distribución ($t_{1/2\alpha}$) y de eliminación ($t_{1/2\beta}$). Los procesos de absorción, distribución y eliminación asociados con este modelo obedecen a cinéticas de orden uno.

Indicaciones:

Salmón atlántico: En el tratamiento y control de la furunculosis causada por patógenos sensibles.

Cerdos y pollos: Tratamiento de enfermedades causadas por gérmenes sensibles al Florfenicol.

Dosificación:

Salmones: 10 mg/Kg por día, durante 10 días.

Cerdos: 20 mg/Kg por día durante 5 días en al agua de bebida.

Pollos: 30 mg/Kg por día durante 3 días en el agua de bebida.

Tolerancia:

El Florfenicol es bien tolerado en las dosis terapéuticas. Sin embargo hay casos de la aparición de diarrea suave, consumo disminuido de alimento, disminución en el consumo de agua, todos éstos por lo general transitorios.

Compatibilidad:

La acción bacteriostática del Florfenicol puede inhibir la acción bactericida de los antibióticos β -lactámicos, por lo que no se pueden utilizar conjuntamente. Por otra parte, la presencia de Florfenicol prolonga los efectos farmacológicos de otros fármacos con un intenso metabolismo hepático, ya que es un potente inhibidor del citocromo P-450. No puede administrarse conjuntamente con ionóforos como la monensina o el lasalocid, ya que puede provocar degeneración muscular en algunas especies.[45]

Contraindicaciones:

Hipersensibilidad a Florfenicol.

Efectos adversos:

El Florfenicol produce irritación moderada en el sitio de inyección. En equinos se presenta diarrea cuando se administra una dosis de 22 mg/kg por vía oral o parenteral. En becerros, con una dosis elevada por vía intra-muscular se provoca anorexia marcada.

Las personas deben evitar el contacto directo con ojos, piel y ropa.[43]

Período de Resguardo:

12 días.

Precauciones:

Almacenar los envases bien cerrados en un lugar fresco y seco.

Mantener fuera del alcance de los niños.[45]

3.7. Propiedades mecánicas de películas. [47-50]

Las propiedades mecánicas describen cómo se comporta un material cuando se le aplican fuerzas externas. Las fuerzas externas que se aplican sobre un material se clasifican en:

1. **Fuerzas de tensión.** La fuerza aplicada intenta estirar al material a lo largo de su línea de acción.
2. **Fuerzas de compresión.** La fuerza aplicada intenta comprimir o acortar al material a lo largo de su línea de acción.
3. **Fuerza cortante.** Las fuerzas se aplican de tal forma que intentan cortar o seccionar al material.
4. **Fuerza de torsión.** La fuerza aplicada intenta torcer al material. La fuerza externa recibe el nombre de torque o momento de torsión.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Cualquier fuerza externa que se aplique sobre un material causa deformación. Para el caso de una fuerza en tensión, el material se alarga en el sentido de aplicación de la fuerza, y se acorta en dirección transversal a la fuerza aplicada.

La deformación del material se define como el cambio en longitud a lo largo de la línea de aplicación de la fuerza. En forma matemática:

$$\Delta L = L_f - L_0$$

Dónde ΔL es la deformación, L_f la longitud final entre ambas fuerzas y L_0 la longitud inicial.

Para el estudio del comportamiento de los materiales a las fuerzas externas que se les aplican, se utiliza el concepto de esfuerzo (*Figura 10*).

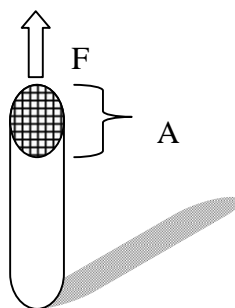


Figura 10. Esfuerzo.

Cuya fórmula matemática es:

$$\sigma = \frac{F}{A}$$

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Donde σ se refiere al esfuerzo, F a la fuerza aplicada y A al área inicial sobre la cual se aplica la fuerza. El esfuerzo tiene las mismas unidades de la presión, es decir, unidades de fuerza por unidad de área (N/m^2 , libras/pulg²).

En este tipo de estudios también entra en juego la deformación unitaria que se define como la medida de la deformación, acción y efecto de un cambio de forma, respecto a la dimensión de referencia. Existen dos tipos:

1. **Deformación unitaria de Ingeniería (ϵ)**. Se define como la deformación (ΔL) dividida entre la longitud inicial (L_0) del material.

$$\epsilon = \frac{\Delta L}{L_0}$$

2. **Deformación unitaria verdadera (ϵ_v)**. Se define de la siguiente manera:

$$\epsilon = \ln \left(\frac{L_f}{L_0} \right)$$

Donde L_f es la longitud final del material deformado.

De la acción en el incremento de fuerza aplicada a un material en estudio, en función del tiempo, hasta que éste material sufre la deformación máxima (es decir se rompe), se obtiene la gráfica representativa “Curva fuerza – tiempo” (*Figura 11*), en esta se muestra la señal típica obtenida con el uso del equipo SINTECH 1/S, de la cual se obtienen varias propiedades mecánicas en tensión para dicho material.

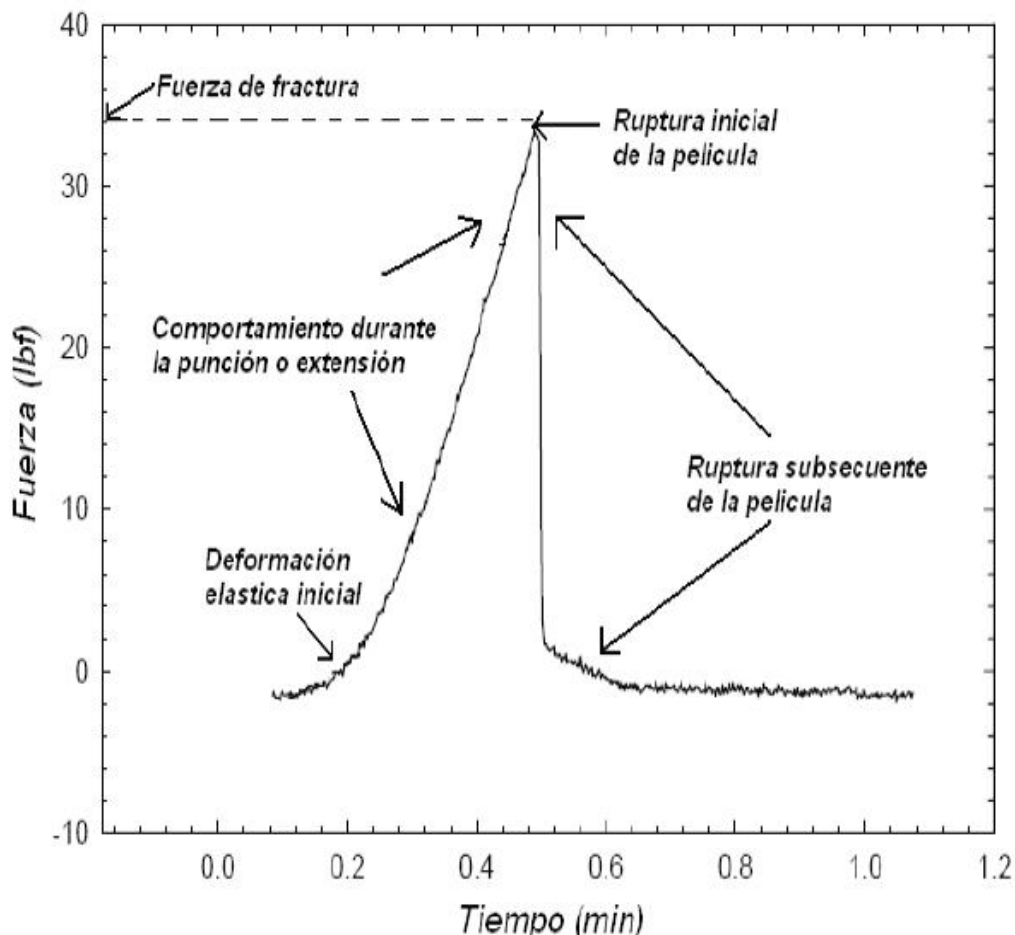


Figura 11. Señal típica obtenida en el equipo SINTECH 1/S durante la aplicación de fuerza con respecto al tiempo.

En la zona de deformación elástica inicial se observan los principales puntos de la curva, al inicio de esta se puede detectar una linealidad la cual indica una relación proporcional entre el esfuerzo y la deformación, es decir en esta zona el material presenta un comportamiento elástico. Una vez superado un punto límite de proporcionalidad la película presenta aun elasticidad pero su deformación es no lineal hasta un límite elástico, este caso corresponde a la zona donde se observa el comportamiento de la película durante la punción o extensión.

Finalmente la zona del punto máximo de la gráfica corresponde a la ruptura inicial de la película y la pendiente a la ruptura subsecuente, a partir de este punto máximo la película ya no puede recuperar ni parcialmente su forma original.

Ahora bien si cada cierto tiempo se grafica el esfuerzo aplicado contra la deformación unitaria, la gráfica resultante se llama “Curva esfuerzo – deformación unitaria” (*Figura 12*), propia del material evaluado.

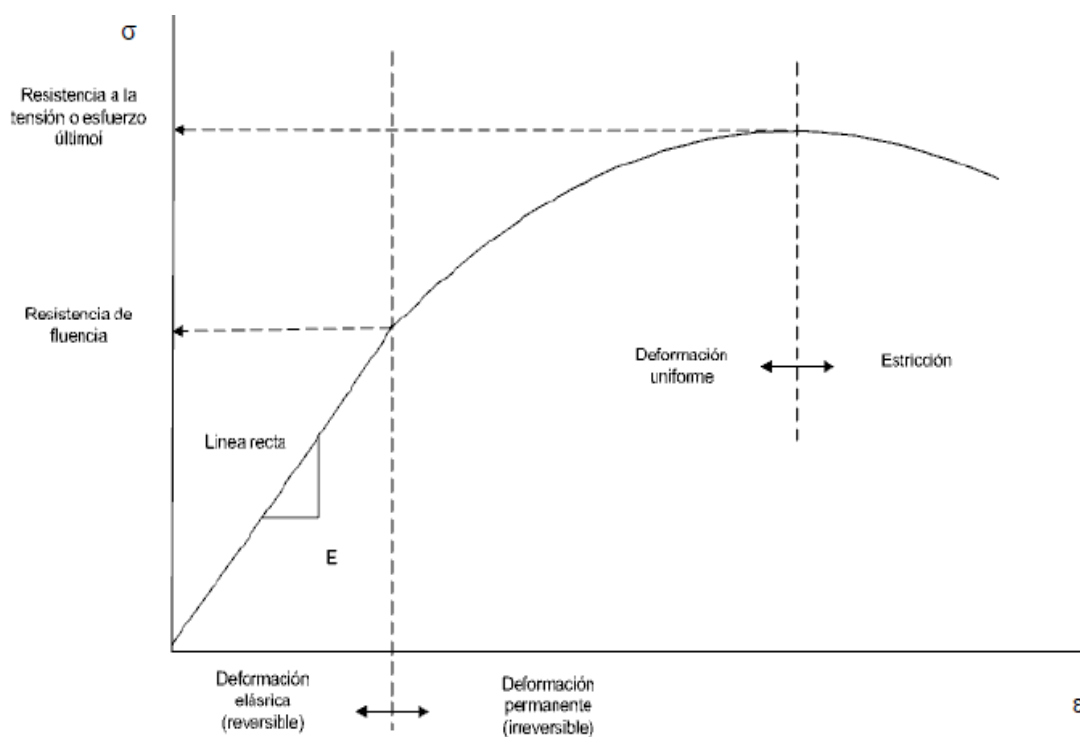


Figura 12. Curva esfuerzo – deformación.

De la curva resultante se obtienen varias propiedades en tensión para el material:

- 1.- Resistencia a la fluencia (α_y). Valor del esfuerzo que al ser aplicado, produce una deformación permanente de 0.2%.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

2.- Módulo de elasticidad (E). Pendiente de la línea recta que se forma en la zona elástica de la curva. Para la zona elástica se cumple que $\sigma = E\varepsilon$.

3.- Módulo de resistencia (E_r). Área bajo la curva en la zona elástica.

4.- Resistencia a la tensión (σ_u). Valor máximo del esfuerzo de ingeniería que se puede aplicar sobre el material.

5.- Ductilidad. Medida de la cantidad de deformación plástica, antes de que el material se rompa.

6.- Tenacidad. Área bajo la curva.

3.8. Sistemas de liberación modificada de Florfenicol (FF).

Existen en el mercado veterinario diversos medicamentos cuyo principio activo es el FF. En la **Tabla II** se muestra una lista de los principales, así como la presentación de los mismos y el laboratorio fabricante.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

Tabla II[51]. Principales medicamentos veterinarios cuyo principio activo es el florfenicol.

NOMBRE DE MEDICAMENTO	PRESENTACIÓN	FABRICANTE
* <u>ACTIFLOR PREMIX.</u>	<i>Premezcla.</i>	ANIMAL CARE
* <u>AFLORAC.</u>	<i>Premezcla.</i>	VIRBAC
* <u>AQUAFEN.</u>	<i>Premezcla.</i>	SCHERING PLOUGH
* <u>COLMAX LA.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	ARANDA
* <u>ECO-FLOR 10% ORAL.</u>	<i>Solución oral.</i>	ECOZOO
* <u>FC-100.</u>	<i>Oral.</i>	COLLINS
* <u>FC-80.</u>	<i>Oral.</i>	COLLINS
* <u>FENICLOR PREMIX.</u>	<i>Premezcla.</i>	SCHUTZE SEGEN
* <u>FLOR-BLEND.</u>	<i>Premezcla.</i>	AVI-MEX
* <u>FLORMAXICOL.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	FIORI
* <u>FLORTEC PREMIX.</u>	<i>Oral, premezcla.</i>	LAPISA
* <u>FLORYCOL.</u>	<i>Oral, premezcla.</i>	IQF ENAMEX
* <u>HEMOFLOR PREMIX.</u>	<i>Premezcla.</i>	FARVET
* <u>KARIFLOR 2%.</u>	<i>Premezcla.</i>	KARIZOO
* <u>KARIFLOR 30%.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	KARIZOO
* <u>KARIFLOR SOLUBLE 10%.</u>	<i>Solución oral.</i>	KARIZOO
* <u>LIDER PREMIX 2%.</u>	<i>Premezcla.</i>	SENOSIAIN
* <u>MAXFLOR L.A..</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	VIRBAC
* <u>NUFLOR INYECTABLE.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	SCHERING PLOUGH
* <u>NUFLOR PREMIX.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	SCHERING PLOUGH
* <u>NUFLOR SOLUCION ORAL 10%.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	SCHERING PLOUGH
* <u>PECFLOR INYECTABLE.</u>	<i>Sol. inyectable.</i>	PECUARIUS
* <u>PECFLOR PREMIX.</u>	<i>Oral.</i>	PECUARIUS
* <u>PREM-SOL ULTRA 10.</u>	<i>Oral.</i>	PREMEZCLAS DE MEXICO

De la vasta cantidad de medicamentos veterinarios que contienen como principio activo el Florfenicol, solo el Nuflor se reporta como un sistema de liberación modificada, se trata de una solución concentrada de fármaco fabricada a base de n-metil-2-pirrolidona, propilenglicol y polietilenglicol. [52-53]

Aparte de este preparado comercial, pocos estudios aparecen mencionados en la literatura. El primero de ellos data de 1994, Lobell *et al.* indican haber logrado una liberación lenta en sistemas administrados vía intramuscular en ganado vacuno.[54]

Y no es hasta el 2010 que de nuevo aparecen reportes de logros referentes a sistemas de larga acción, terminando éstos en el lanzamiento al mercado de un nuevo producto, Florgane. El cual se formula a 300 mg/mL en forma de suspensión para administración

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

ANTECEDENTES

intramuscular y tras una administración a una dosis de 30 o 40 mg/Kg da una cobertura de 96 horas en el tratamiento de la enfermedad respiratoria bovina.[55]

Otros estudios recientes utilizan el Florfenicol como antibiótico de elección en el tratamiento de larvas de bacalao u otras especies comunes en piscifactorías. Para lograr el efecto deseado, bioencapsulan el fármaco en *Artemia franciscana*, misma que es utilizada como acarreador[56-57].

Finalmente, en el 2010, Song *et al.* utilizaron nanopartículas de silica para adsorber el fármaco y lograr de este modo una liberación sostenida[58].

4.- Objetivos.

4.1. Objetivo general.

Desarrollar y caracterizar un nuevo sistema tipo malla de liberación modificada de fármacos, con base en mezclas poliméricas biodegradables, para su probable uso dentro de un amplio campo de vías de administración, usando como fármaco modelo el antibiótico de uso veterinario: Florfenicol.

4.2. Objetivos particulares.

1. Elaborar mezclas poliméricas en forma de membranas.
2. Caracterizar las membranas poliméricas mediante calorimetría diferencial de barrido, difracción de rayos X, espectroscopía de IR, pruebas mecánicas y disolución-degradación en un medio acuoso.
3. Cargar el sistema polimérico con el principio activo Florfenicol, caracterizarlos mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC), difracción de rayos X, espectroscopía IR, pruebas mecánicas, disolución-degradación y liberación del fármaco, en un medio acuoso, para la evaluación de la capacidad de la matriz como posible “sistema de liberación modificada”.

5.-Metodología.

5.1.- Materiales.

Materiales.

El Agar agar, Almidón pregelanzado, Quitosan (desacetilación $\geq 75\%$), PVA (87-89% hidrolizado, PM 85000-124000) y el Ácido acético glacial, todos grado reactivo, fueron adquiridos de SIGMA ALDRICH. El Alginato de sodio (grado reactivo) fue comprado en FULKA. La Pectina, grado reactivo, fue donada amablemente por HELM de México y el Florfenicol por la FMVZ de la UNAM. Agua desionizada obtenida mediante el sistema destilador de agua Nanopure Barnstead.

Todos los materiales fueron usados sin ninguna purificación adicional en el momento de la compra y/o entrega.

5.2. Elaboración de películas.

Una vez realizada la elección de los polímeros candidatos, en base a sus características tales como: biodegradabilidad, solubilidad y origen; se procedió a evaluar experimentalmente la capacidad de cada uno para formar películas. Esto se llevo a cabo solubilizando 100 mg de cada polímero a evaluar, en el volumen adecuado de disolvente, el cual fue elegido basados en la literatura, en la mayoría se procuró utilizar agua, por la facilidad de adquisición y la ausencia de toxicidad de la misma.

Las características físicas perceptibles evaluadas, definidas en base a la manipulación de la película enfocándonos al uso en medicina veterinaria, fueron:

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

METODOLOGÍA

- *Transparencia:* Característica evaluada mediante descripción visual, considerado para la presentación de la película. Esta prueba es descriptiva, queda por entendido que no se busca un criterio en específico, ya que depende del uso al que se destine el sistema estudiado.
- *Tiempo de secado:* Evaluada con el tiempo que tarda la película en secarse, durante la preparación de la misma. El criterio de elección para esta evaluación esta sujeto a la mejora de la eficiencia del método de elaboración, de este modo las membranas con menor tiempo requerido de sacado serán las más aptas.
- *Resistencia a la ruptura:* Determinada en base a la facilidad de manipulación manual de la película. Esta prueba, cualitativa, es de las más importantes, tomando en cuenta el uso del sistema polimérico evaluado para el área veterinaria y a que en la mayoría de los casos son los criadores (ganaderos acuicultores, porcicultores, avicultores, etc.) los que se encargan de la administración de los medicamentos. Por lo tanto, las películas deben ser resistentes a la ruptura en condiciones de campo.

En el **Apéndice A** se enlistan las características y los resultados obtenidos de dichas pruebas. Dichas características permitieron descartar la posibilidad de la creación con un componente unitario, ya que todas ellas presentaban al menos una característica no apta para el fin buscado.

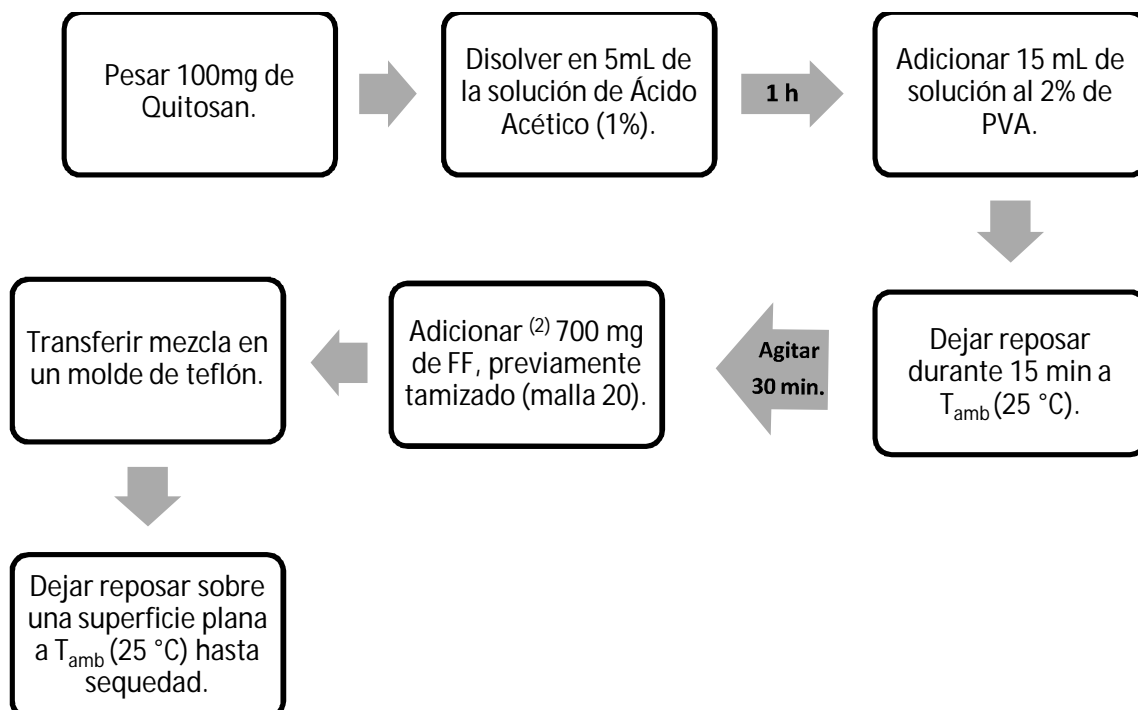
Debido a los resultados obtenidos, y a que es bien sabido que las propiedades de los polímeros pueden ser aditivas, se decidió utilizar una mezcla entre el PVA y los polímeros restantes, tomando como base a éste (PVA) por presentar una mayor resistencia a la fractura con respecto a los demás. Sin embargo, el polímero a utilizar debería de presentar un tiempo de disolución más amplio. El polímero elegido fue el QUIT. Sin embargo, al evaluar el tiempo de disolución de esta membrana en proporción 1:1(m/m) de ambos polímeros el tiempo de disolución fue >28 días, por lo cual se tomo la decisión de modificar la proporción a 3:1 (3PVA:QUIT) con lo cual el tiempo de disolución resultante disminuye a 21 días. La adición del fármaco prototipo se realizó agregándolo directamente

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

METODOLOGÍA

a la mezcla de ambos polímeros disueltos. Quedando finalmente el método para la fabricación de la membrana seleccionada, de la forma mostrada en el *Esquema 4*:

Esquema 4. Pasos para la producción de la membrana 3PVA:QUIT:FF.⁽¹⁾



⁽¹⁾ Eliminar la adición de QUIT o PVA al realizar las membranas con los polímeros de forma independiente.

⁽³⁾ Queda por entendido la eliminación de este paso para la fabricación de las membranas sin principio activo.

5.3. Caracterización de las películas.

Una vez formada la película se dispuso a caracterizarla, para evaluar su posibilidad de fungir como soporte de liberación modificada de fármacos. Entre los parámetros a evaluar se consideraron los siguientes:

- Descripción visual.
- Espectroscopía IR (FTIR).
- Rayos X de polvos (RX).
- Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).
- Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).
- Ganancia de agua y degradación por pérdida de peso.
- Pruebas mecánicas.

5.3.1. Descripción visual.

Las observaciones visibles fueron evaluadas para completar la caracterización. Se considera importante esta determinación, debido a que existen características determinantes en la membrana formada, tal es el caso del tiempo de secado, la capacidad de paso de luz y resistencia a la ruptura.

5.3.2. Espectroscopía IR (FTIR).

La caracterización por IR permitió la visualización de grupos químicos en el hidrogel, así como la observación de la interacción de los grupos funcionales de los polímeros. Ésta caracterización se realizó mediante el equipo Spectrometer FT-112, modelo Spectrum RXI, Perkin Elmer, usando ATR (reflexión local atenuada). Se utilizó modificando las membranas en capas, para obtener al menos un grosor de 100-200 μm de espesor. La recolección de datos se llevó a cabo desde 4500 a 500 cm^{-1} , por 64 barridos con una resolución de 2 cm^{-1} .

5.3.3. Rayos X de polvos (RX).

Los estudios de difracción de rayos X se realizaron a las películas poliméricas con y sin fármaco, en un equipo SIEMENS D5000, con anticátodo de cobre, $\lambda = 1.5406$ Amstrongs y el software Diffracc AT (1993), versión 3.3 a 35 kV y 30 mA, con detector de centelleo.

5.3.4. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

El análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido (DSC) se hizo tanto en el calorímetro de modelo Shimadzu DSC 60 calibrado con estándar de indio. El comportamiento térmico fue estudiado por el calentamiento de aproximadamente 4mg de cada muestra en celdas de aluminio, bajo una atmósfera de nitrógeno con un flujo de 30-40 mL/min, la velocidad de calentamiento fue de 10°C/min.

5.3.5. Microscopía Electrónica (SEM).

Se analizaron las membranas cargadas con el principio activo realizando un barrido mediante el microscopio electrónico JEOL JSM-5900 LV. Para determinar la distribución del fármaco se aplicó espectroscopía de energía dispersiva de RX (EDS).

5.3.6. Ganancia de agua y degradación por pérdida de peso.

Ganancia de agua.

Con la finalidad de simular el comportamiento de las películas en condiciones reales, se estudió la cantidad de agua retenida por el soporte polimérico en función del tiempo. Para ello, se fabricó un lote de membranas poliméricas con diferentes proporciones de QUIT y PVA, las cuales se describen en la **Tabla III**.

Tabla III. Componentes y proporciones utilizadas en la fabricación de membranas para la determinación de la cantidad de agua retenida.

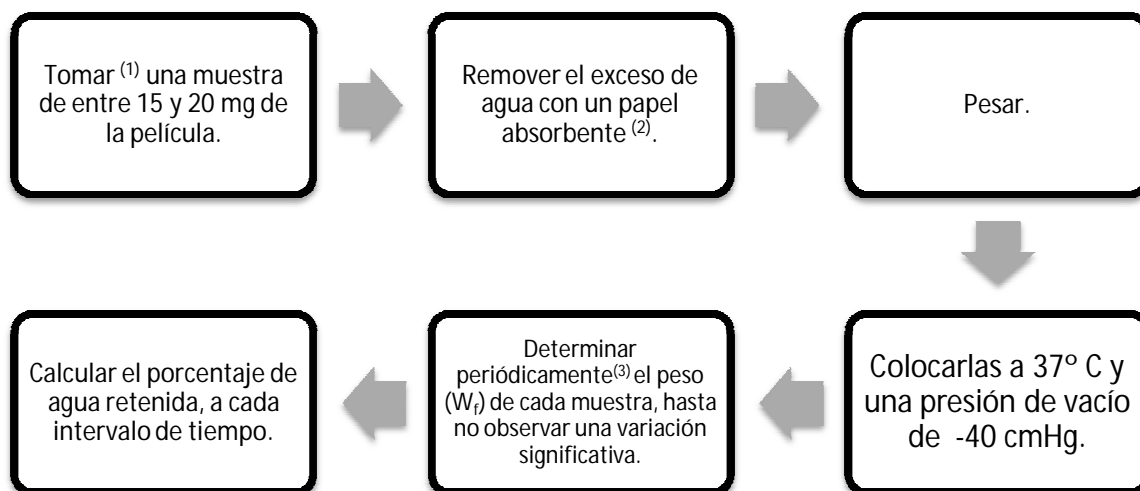
MUESTRA	PVA	QUIT	PROPORCIÓN (PVA: QUIT)
A	X	X	1 : 1
B	X	X	1 : 3
C ⁽¹⁾	X		1 : 0
D ⁽¹⁾		X	0 : 1

⁽¹⁾ Membranas utilizadas como blancos.

Una vez obtenidas las membranas especificadas en la tabla 3, se procedió a colocar las membranas (W_0) en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4, siguiendo la siguiente relación:

A una temperatura de 35°C. El procedimiento general para la toma de muestras se resume en el *Esquema 5*.

Esquema 5. Procedimiento para la toma de muestras utilizado para la determinación de ganancia de agua.



⁽¹⁾ Manipular la muestra con pinzas.

⁽²⁾ De preferencia un papel absorbente que no deje residuos.

⁽³⁾ Cada 24 h.

Este procedimiento se llevó a cabo por un periodo total de 9 días, tomando muestras cada 24 h y fue repetido por duplicado. La absorción de agua (W) está dada por la siguiente ecuación:

$$W = \frac{W_f - W_0}{W_0} \times 100$$

Degradación por pérdida de peso[59].

Con la finalidad de conocer el índice de degradación (D_i) de las películas formadas, en ausencia y presencia de FF, un estudio similar al de captación de agua fue llevado a cabo por duplicado. Tras sacar las muestras del medio, éstas fueron secadas en un desecador a 35 °C y una presión de -40 cmHg. Posteriormente y asegurándose que ya se había perdido toda el agua, se registró su peso. La ecuación siguiente muestra como se obtuvo el índice de degradación.

$$D_i = \frac{W_0 - W_t}{W_0} \times 100$$

Donde W_0 corresponde al peso inicial y W_t es el peso después del tiempo de inmersión.

5.3.7. Estudio de las propiedades mecánicas.

Para el estudio de las propiedades mecánicas se utilizó el texturómetro MTS modelo SINTECH 1/S con una celda de carga de 50 N. Las muestras se cortaron en probetas, cuyas dimensiones del área sometida al estudio fueron de 15 mm de largo por 10 mm de ancho y se sujetaron por los extremos mediante mordazas. La fuerza y la elongación fueron determinadas hasta el rompimiento de las películas. La separación de la mordaza fue el correspondiente a la altura de probeta y la velocidad de carga de 50 mm/min. Todas las medidas fueron realizadas por triplicado sobre cortes de la muestra fresca.

Este estudio permitió la determinación de la resistencia a la ruptura de las membranas poliméricas desarrolladas y por ende la comparación de la resistencia de cada malla.

5.4. Estudios de liberación in vitro del Florfenicol.[59]

Para la prueba de liberación del FF las muestras, por duplicado, se colocaron en frascos de vidrio con tapa, se añadió el volumen de solución amortiguadora de fosfatos (NaH₂PO₄) 0.1 M pH 7.4, de acuerdo a la relación siguiente:

$$\frac{2 \text{ mg de película}}{\text{mL de solución amortiguadora}}$$

Los frascos fueron sellados y acondicionados en un baño a 50 °C con una agitación aproximada de 2000 rpm. A intervalos regulares de tiempo (1 h por un total de 12 h), se tomo una alícuota correspondiente a 1 mL de solución amortiguadora y se cuantificó en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 267.67 nm, característica del Florfenicol. Así mismo, se realizó una curva de calibración de Florfenicol con 12 puntos en un rango de 0.2 – 0.5 mg/mL, al realizar la regresión lineal la ecuación resultante fue:

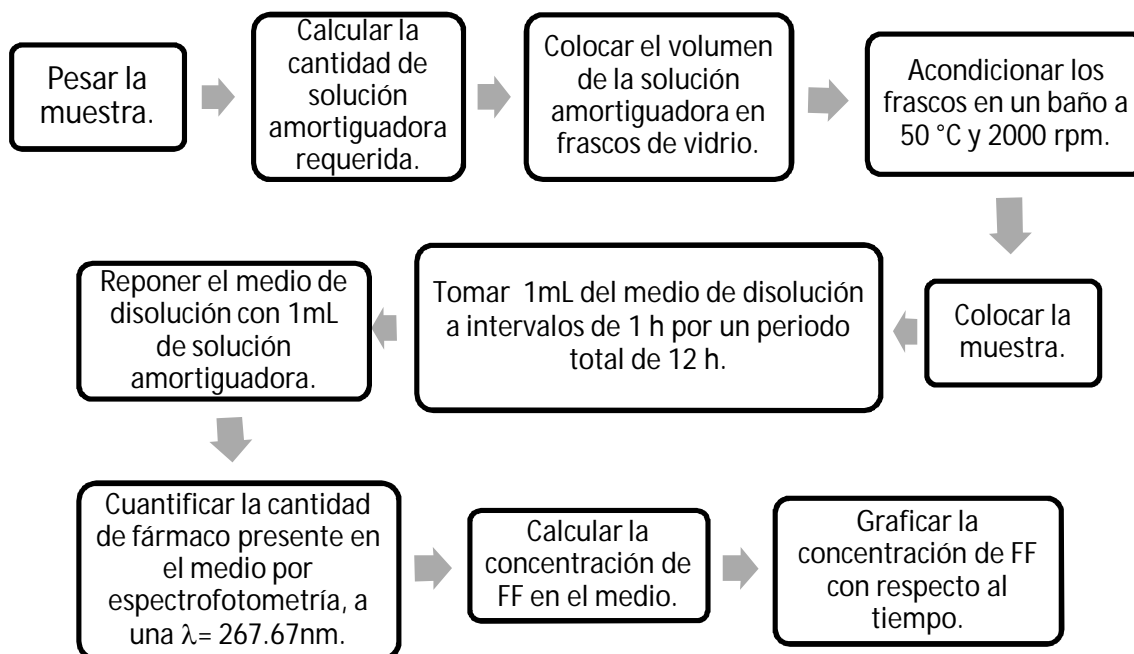
$$Abs = 0.0023 [\text{Concentración FF}] + 0.0317.$$

Con un coeficiente de correlación de $r = 0.9972$. Las condiciones finales del análisis se enlistan en la *Tabla IV*. El *Esquema 6* muestra el proceso para la realización del estudio de liberación *in vitro*.

Tabla IV. Condiciones finales para la determinación de liberación in vitro de FF.

CONDICIÓN	ESPECIFICACIÓN
Medio de disolución.	Solución amortiguadora de NaH ₂ PO ₄ , 0.1M, pH=7.4.
Volumen de muestra.	1 mL.
Temperatura de baño.	50 °C.
Velocidad de agitación.	2000 rpm.
Longitud de onda.	267.7 nm.

Esquema 6. Procedimiento para la determinación de liberación in vitro de FF.



6.- Resultados y discusión.

6.1. Descripción visual.

A continuación se presenta un resumen de las características visuales realizadas a las membranas.

Tabla V. Descripción visual de membranas.

POLÍMERO	TRANSPARENCIA	TIEMPO DE SECADO	RESISTENCIA A LA RUPTURA^{(1) (2)}
PVA	TRANSPARENTE	7 DÍAS	RESISTENTE
PVA:FF	OPACO	7 DÍAS	MEDIANAMENTE RESISTENTE
QUIT	TRANSPARENTE	< 7 DÍAS	MUY RESISTENTE
QUIT:FF	OPACO	< 7 DÍAS	MEDIANAMENTE RESISTENTE
3PVA:QUIT	TRANSPARENTE	< 7 DÍAS	RESISTENTE
3PVA:QUIT:FF	OPACO	< 7 DÍAS	RESISTENTE

⁽¹⁾ Recordar que esta determinación es estrictamente visual y se realiza de forma manual.

⁽²⁾ **Poco Resistente:** Se rompe al contacto.

Resistente: Puede ser moldeado con poca fuerza.

Muy resistente: Puede ser moldeado con fuerza.

Medianamente Resistente: Puede ser moldeado con fuerza pero en función del tiempo se destruye.

En la *Tabla V* podemos observar que la membrana más resistente y con un tiempo de secado menor a 7 días es la de QUIT. Aunque, al adicionar el FF a éste sistema se observa una disminución en la resistencia a la ruptura. Caso similar ocurre con las membranas de PVA. La mezcla de ambos polímeros (3PVA:QUIT) mantiene sus características de tiempo de secado y resistencia a la ruptura aún cuando es enriquecida con FF.

6.2. Caracterización con: Espectroscopía de Infrarrojo (FTIR), Difracción de rayos X (RX) y Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC).

FTIR

En la *Figura 13* y sus ampliaciones las *Figuras 14* y *15* se muestran los espectros FTIR correspondientes a las membranas de PVA, QUIT, 3PVA:QUIT y 3PVA:QUIT:FF.

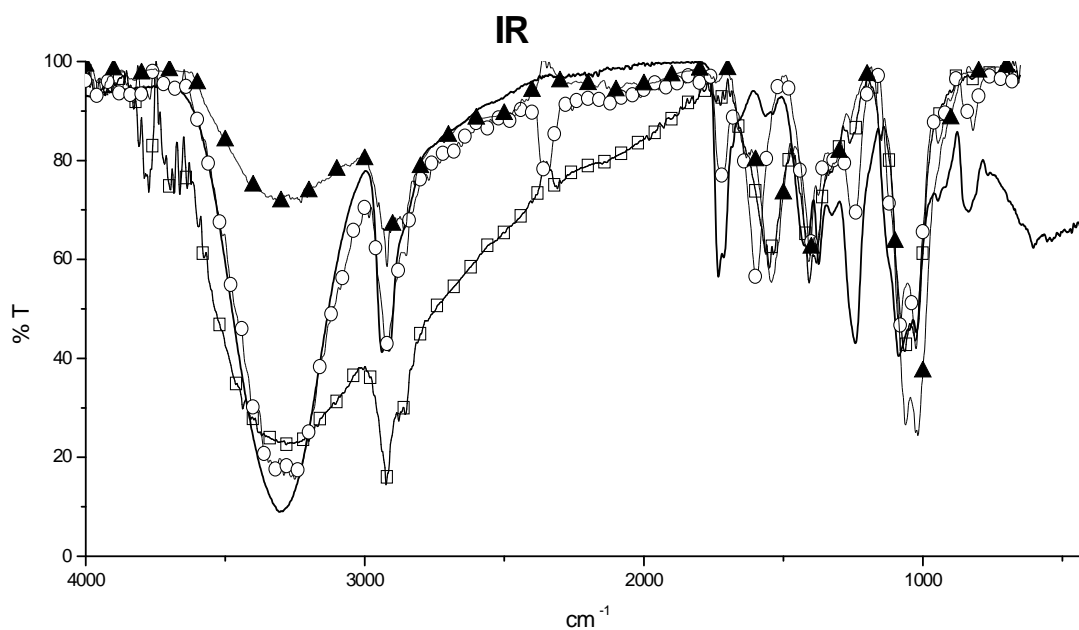


Figura 13. Espectros de IR correspondientes a las películas de ○PVA, ▲QUIT, □3PVA:QUIT, —3PVA:QUIT:FF.

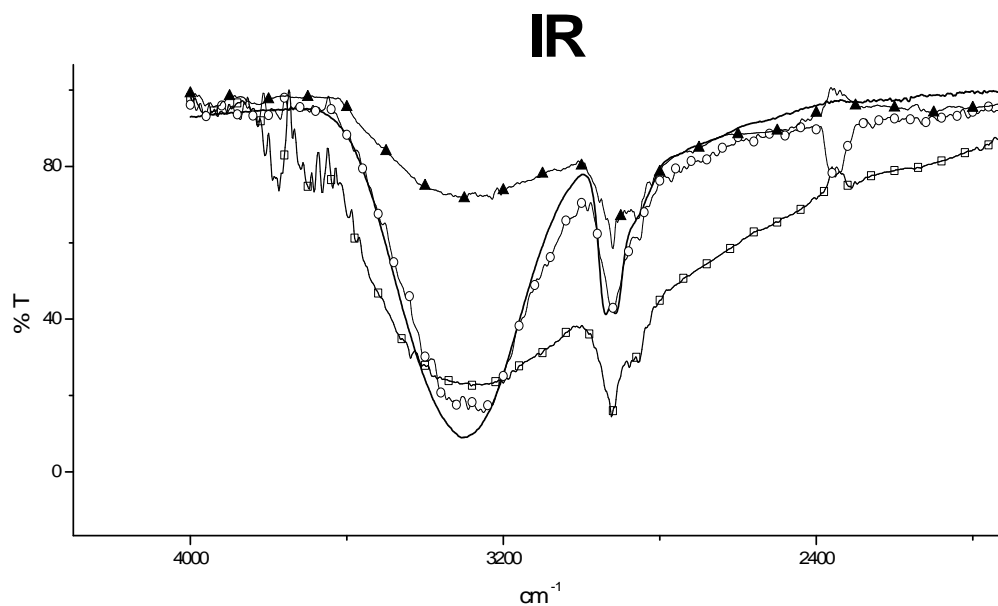


Figura 14. Espectros de IR correspondientes a las películas de ○ PVA, ▲ QUIT, □ 3PVA: QUIT, — 3PVA:QUIT:FF, de 4000 a 2000 cm^{-1} .

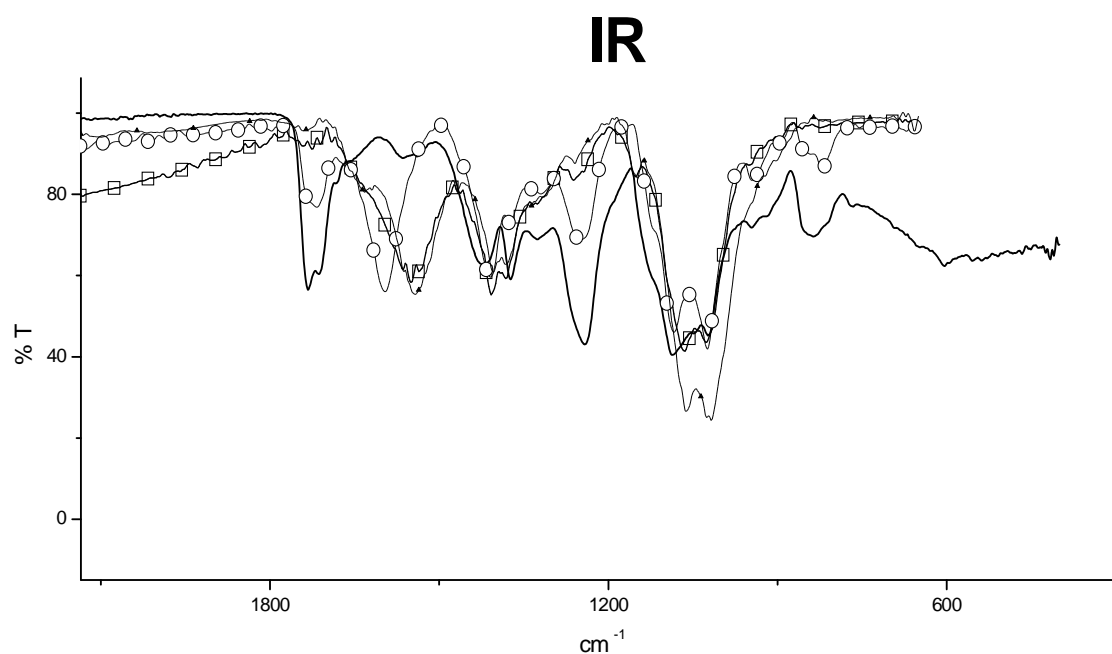


Figura 15. Espectros de IR correspondientes a las películas de ○PVA, ▲QUIT, □ 3PVA:QUIT, — 3PVA:QUIT:FF, de 2000 a 500 cm^{-1} .

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el espectro correspondiente al QUIT se pueden apreciar bandas entre 839 y 1094 cm^{-1} correspondientes a la estructura de los polisacáridos del QUIT (unidad repetitiva del QUIT), además de varias bandas agrupadas en el rango entre 1727 y 1236 cm^{-1} correspondientes a grupos amina, típicos del polímero. Las bandas agudas entre 1365 y 1442 cm^{-1} se asignan al modo de deformación simétrica del grupo CH_3 . La banda extendida entre 1022 y 1084 cm^{-1} indica la vibración C-O. Otra banda característica, utilizada para el análisis cualitativo de la desacetilación del QUIT, es el correspondiente a la amina N-H que se observa en 3304 cm^{-1} en conjunto con el observado en 1622.

El análisis del espectro correspondiente a la membrana de PVA, nos permite observar principalmente todas las bandas anchas relacionadas con los grupos hidroxilo y acetato. Específicamente la banda ancha observada entre 3600 y 3000 cm^{-1} asociada al estiramiento intermolecular e intramolecular de los enlaces de H correspondientes al grupo O-H. La banda vibracional observada entre 2762 y 3000 cm^{-1} se debe al estiramiento C-H de grupos alquilo y las bandas visibles entre 1726 y 1718 cm^{-1} corresponden al estiramiento C=O y C-O del grupo acetato del PVA (polivinilo acetato).

Los espectros IR de la película con la mezcla polimérica 3PVA:QUIT, son diferentes a los mostrados por los polímeros en forma individual, debido a la ionización de los grupos amino primarios. La banda a 1536 cm^{-1} indica la presencia de ácidos carboxílicos en los polímeros, los cuales se deben al ácido acético utilizado para disolver el QUIT. Además en las mezclas, las contribuciones están dadas por la presencia de acetatos (carbonilos C=O, en 1700-1720 cm^{-1}) de las estructuras del QUIT y PVA (desacetilación y grado de hidrólisis). La región de 3200 cm^{-1} hasta 3500 cm^{-1} , fue mayor en la mezcla de polímeros lo cual se atribuye principalmente a las señales de la superposición de los grupos, hidroxilos (-OH, QUIT y PVA) y amino (-NH, del QUIT). Además, en la bibliografía se reporta que el desplazamiento de bandas alrededor de 1600 cm^{-1} es debido a puentes de hidrógeno entre QUIT y PVA[59].

En esta determinación podemos observar en el espectro de 3PVA:QUIT:FF la banda intensa presente en 1244 cm^{-1} representativa de la interacción entre C-F así como la banda intensa y ancha que se observa en 834 cm^{-1} correspondiente a la interacción C-Cl. Y,

conociendo el espectro de FF, las bandas observadas en la **Figura 14** (de 4000 a 2000 cm^{-1}) correspondientes al FF no presentan cambios significativos y al no disminuir la visibilidad de dichas bandas, no se observa la interacción del PA con la película.

RX

En el difractograma (**Figura 16**) se observa que tanto el QUIT como PVA presentan un comportamiento de características semicristalinas. Los picos característicos de ambos polímeros podemos observarlos en $2\theta = 24$, $2\theta = 19.3$ y $2\theta = 11.8$ para QUIT, $2\theta = 19.4$ y $2\theta = 11.82$ para PVA. Sin embargo, en el difractograma correspondiente a la malla formada con la mezcla de ambos polímeros, se observa la disminución (casi a grado de desaparición) de las señales características de PVA de $2\theta = 19.4$ y de QUIT de $2\theta = 19.3$, lo cual indica que, en combinación, los polímeros están perdiendo cristalinidad. De igual manera y conociendo que el FF es un fármaco cristalino podemos ver que desaparece completamente en la mezcla 3PVA:QUIT:FF, debido a la técnica empleada.

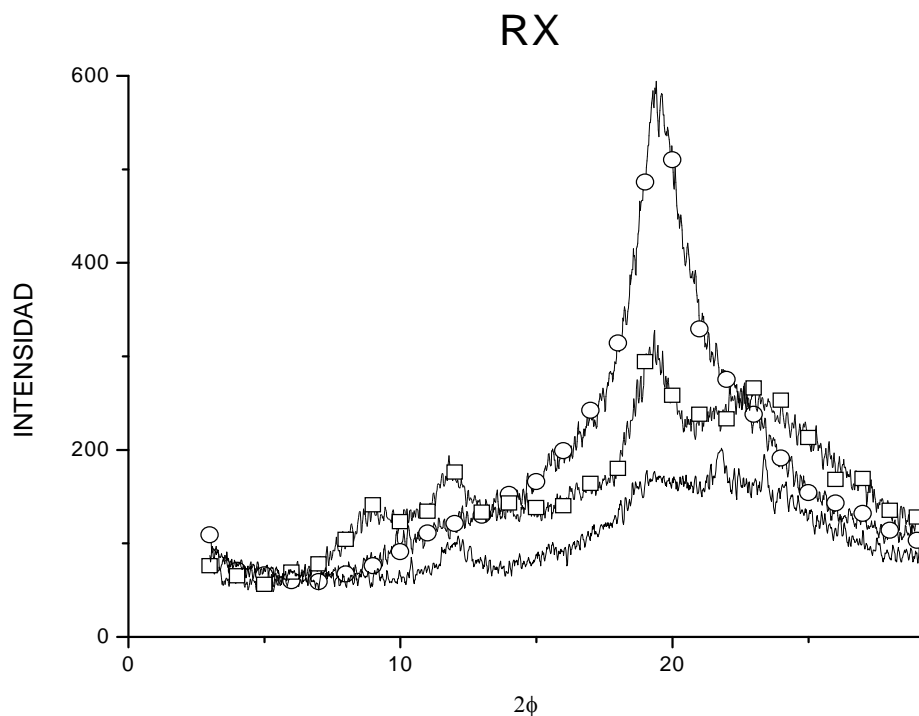


Figura 16. Difractogramas correspondientes a películas de \square QUIT, \circ PVA, —3PVA:QUIT:FF.

La disminución en la cristalinidad de los polímeros puede deberse a las interacciones que se dan entre las unidades poliméricas, provocando un rearrreglo más desordenado.

DSC

Con la finalidad de observar la interacción de los polímeros una vez formada la película, se hizo uso de la técnica de DSC. Los resultados obtenidos demuestran que la interacción entre ambos polímeros se da principalmente por enlaces débiles.

Los estudios de DSC (*Figura 17*) muestran la propiedad amorfa tanto del PVA como del QUIT, ya que en ambas muestras de polímero solo se observa la presencia de una transición vítrea a bajas temperaturas. Al hacer la película mixta se observa que la Tg disminuye y no coincide con la de los polímeros aislados, esto es claramente indicativo de una interacción débil entre ambas macromoléculas. Por otra parte los amplios picos a temperaturas cercanas a 100 °C muestra la pérdida del agua de adsorción procedente de la técnica de preparación. El pico característico de PVA a altas temperaturas también se ve modificado por la presencia del QUIT apoyando la formación de una red mixta por efecto de fuerzas intermoleculares de naturaleza débil.

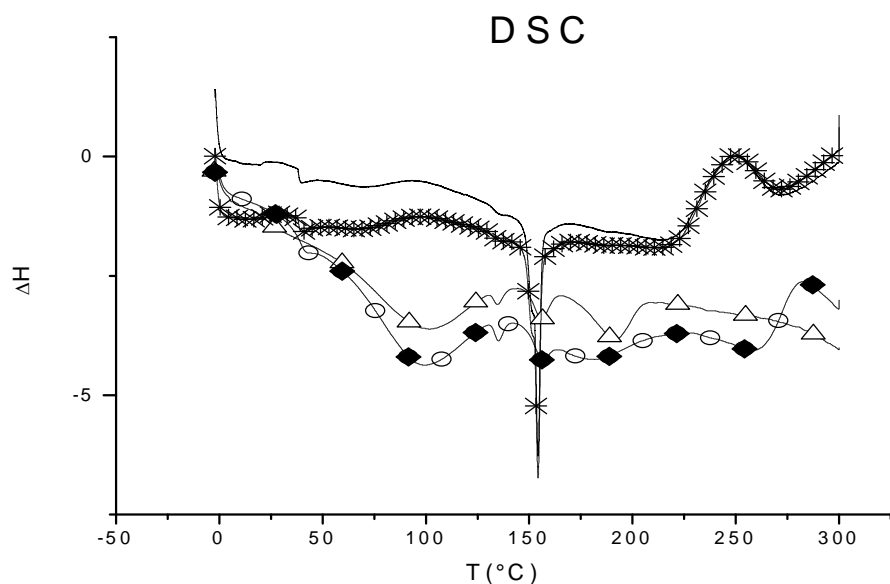


Figura 17. Termogramas correspondientes a películas de ΔPVA , $\circ QUIT$, $\blacklozenge 3PVA:QUIT$, $\triangle 3PVA:QUIT:FF$ y $\times FF$.

Es evidente, al observar los gráficos la presencia del principio activo en la membrana, esto debido al pico correspondiente a la temperatura de fusión del fármaco[60], visible a $154.11^{\circ}C$, en la membrana $3PVA:QUIT:FF$ y en el termograma de FF . Lo cual indica que este fármaco se encuentra escasamente a nivel molecular en la mezcla de polímeros.

Se observa que la interacción entre los polímeros es débil, ya que las películas de $QUIT$ y PVA presentan el mismo patrón de señales comparadas con las mostradas por la película de $3PVA:QUIT$.

6.3. Aspecto de las películas mediante microscopía SEM.

Se logró determinar el aspecto final de la distribución del fármaco en la membrana polimérica $3PVA:QUIT:FF$, mediante un mapeo con microscopía electrónica de barrido.

Con un seguimiento de cloro (Cl) y azufre (S), se lograron obtener las imágenes de la distribución de estos. *Figura .18.*

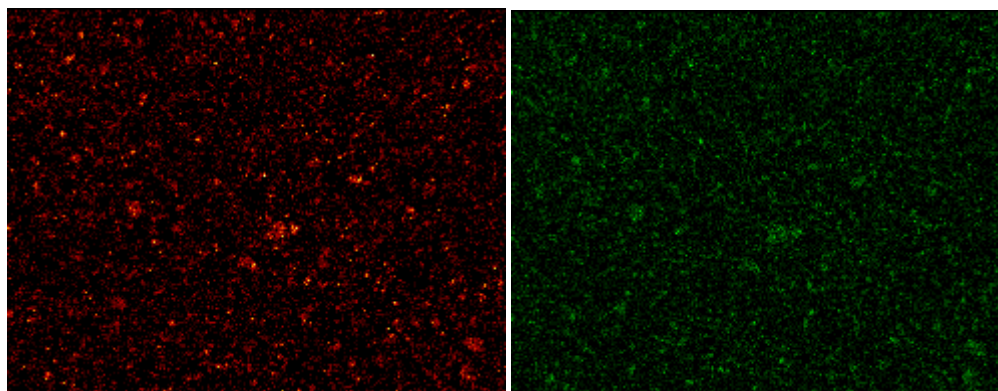


Figura 18. Imágenes que muestran en rojo la distribución del Cl y en verde del S en la membrana polimérica.

Estas imágenes nos permiten observar que la distribución de ambos elementos parece ser uniforme y basándonos en la estructura química del FF, podemos decir que la distribución del fármaco en la estructura tipo malla desarrollada es uniforme, lo cual aumenta la probabilidad de distribución en la membrana.

6.4. Ganancia de agua y degradación por pérdida de peso.

Los resultados obtenidos para la determinación de ganancia de agua se muestran como porcentajes obtenidos para la cantidad de agua retenida por las diferentes membranas evaluadas (*Figura 19* y *Figura 20*). El PVA no pudo ser estudiado por esta técnica ya que el tiempo de disolución de éste es casi inmediato.

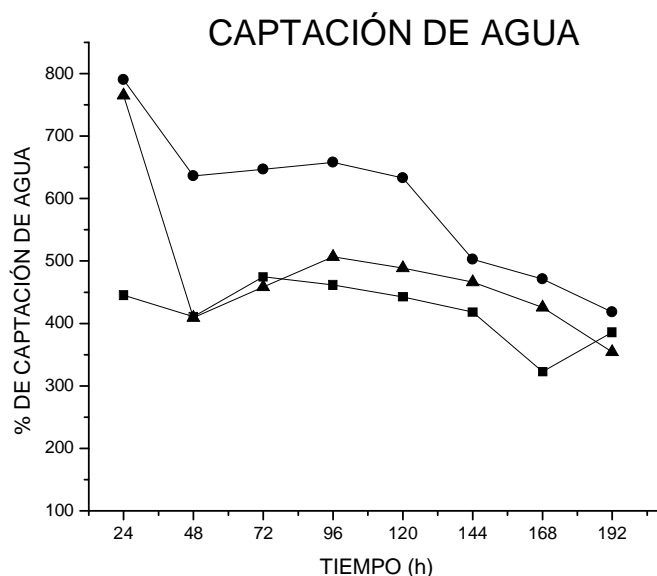


Figura 19. Porcentaje de agua captada por membrana sin fármaco ■QUIT, ▲PVA:QUIT, ●3PVA:QUIT.

Por los resultados de esta determinación podemos evidenciar que la malla del QUIT es capaz de captar hasta un 450% de su peso en agua en un tiempo inferior a 24 horas; sin embargo, con la misma velocidad, en que el QUIT capta el agua, éste es capaz de liberarla fácilmente en condiciones de secado. Para la membranas con la mezcla PVA:QUIT (1:1 y 3:1), se puede observar una captación de agua alrededor de 800 %, esto puede deberse a la solubilidad del PVA en el medio, ya que al aumentar la hidrofiliidad de la malla con el disolvente, la interacción con el agua se ve favorecida propiciando un aumento en la cantidad de agua captada. Esto también se puede evidenciar con la comparación de las membranas de QUIT y PVA:QUIT, éstas presentan un comportamiento similar entre sí a partir de las 48 h, si consideramos que el PVA se disuelve casi al 100 % antes de éste tiempo, es de esperarse esta similitud, pues lo que impera en la membrana a partir de ese tiempo es QUIT. Caso similar ocurre con la membrana de 3PVA:QUIT ya que a partir de 68 h el comportamiento de dicha membrana es semejante con las otras dos, la presencia

predominante de PVA en la matriz, provoca que el sistema capte grandes cantidades de agua.

La presencia de los grupos amino en el QUIT y los grupos hidroxilo en ambos polímeros, favorecen la interacción con las moléculas de agua. Además si consideramos que la mezcla de polímeros en la matriz es homogénea y que se da la disolución del PVA, es de esperarse que la captación de agua sea mayor en la membrana con mayor cantidad de éste polímero.

Las membranas fabricadas con los polímeros presentan captación de agua similar a las enriquecidas con FF cercana a 500% para QUIT:FF y 800% para 3PVA:QUIT:FF (*Figura 20*).

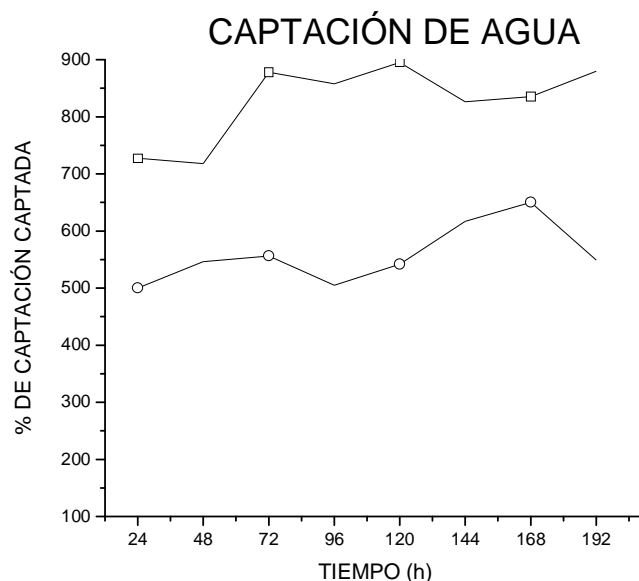


Figura 20. Porcentaje de agua captada total, para membranas con fármaco. □QUIT:FF y ○3PVA:QUIT:FF.

Al considerar la presencia de FF en el soporte polimérico y considerando que el fármaco es poco afín al sistema, la similitud en la cantidad absorbida de agua entre las matrices comparadas es de esperarse y puede deberse al comportamiento antes mencionado del PA.

Es factible que al captar, ambas membranas, más de 500% de agua, éstas sufran un hinchamiento, durante los 9 días de duración del estudio, tal que provoque un aumento en el área intramolecular de las mismas y con esto la liberación casi inmediata del fármaco. Induciendo con este hecho un aumento en la porosidad de la película incrementando así el área de contacto de la matriz y por ende la ganancia de agua.

La exposición al medio de FF, PVA y QUIT estimula la degradación por pérdida de peso. Esto es confirmado con la **Figura 21**, en la cual se puede apreciar cómo, de forma casi inmediata, las membranas se degradan en casi un 85% con respecto a su peso dentro de las primeras 24 hrs, debido tanto a la liberación de fármaco como al desprendimiento de cadenas poliméricas y su pronta disolución en el medio.

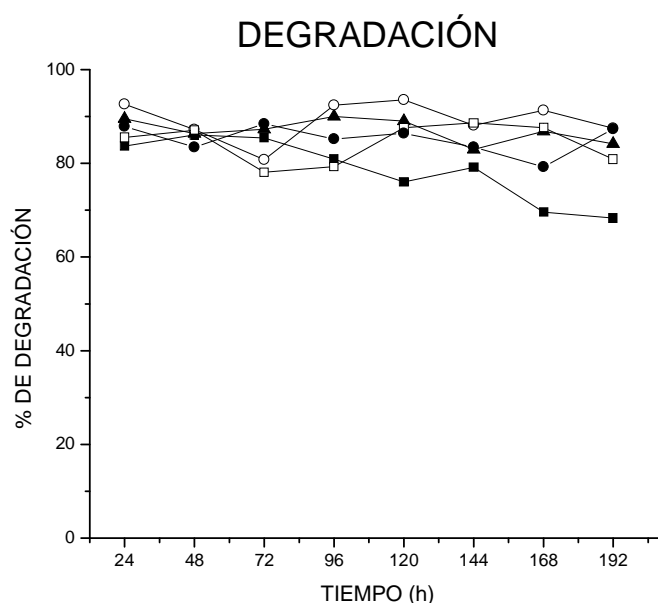


Figura 21. Degradación de matriz polimérica ■QUIT, ▲PVA:QUIT, ●3PVA:QUIT, □QUIT:FF y ○3PVA:QUIT:FF.

Durante el estudio se observó que las membranas evaluadas no modificaron su forma geométrica durante el tiempo de evaluación (9días) y no se observó la formación de poros

macroscópicos. Sin embargo, se logró ver que a mayor captación de agua, las membranas exhibían un aumento de plasticidad muy probablemente por la presencia de agua, disolvente que presenta propiedades plastificantes. Al captar mayor cantidad del sistema se promueve la degradación de la película.

6.5. Propiedades mecánicas.

En la *Figura 22* se muestran los resultados para la evaluación de las propiedades mecánicas de las membranas, las cuales fueron determinadas en presencia y ausencia del fármaco modelo.

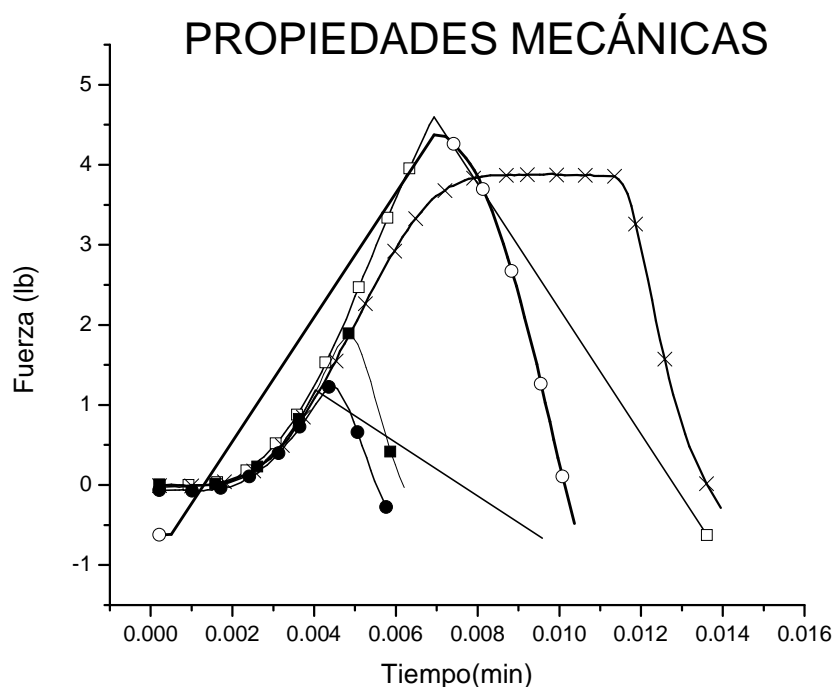


Figura 22. Pruebas mecánicas realizadas a las membranas poliméricas con y sin FF,

□QUIT, ○PVA, ●PVA:FF, ×3PVA:QUIT, ■QUIT:FF y —3PVA:QUIT:FF.

La matriz formada solo con QUIT es la que presenta más elasticidad ya que exhibe mayor resistencia a la fuerza aplicada con respecto al tiempo, en comparación a las demásSe

puede apreciar en la *Figura 22* que las películas con mayor resistencia a la ruptura son las de PVA, QUIT y 3PVA:QUIT. La adición de FF a las membranas imparte fragilidad a las mismas lo cual podemos confirmar con las gráficas de PVA:FF, QUIT:FF y 3PVA:QUIT:FF. Esto puede deberse a que la apariencia de la matriz, una vez enriquecida con el principio activo parece formar doble capa, es decir, las características táctiles de ésta son distintas en ambas caras, la superior es lisa y uniforme, mientras que la parte inferior la que se encuentra en contacto con el molde tiene características rugosas e irregulares. Además es indicativo de que la interacción entre los polímeros no parece ser muy fuerte ya que la resistencia a la tensión de los polímeros por separado es mayor comparada con la mezcla.

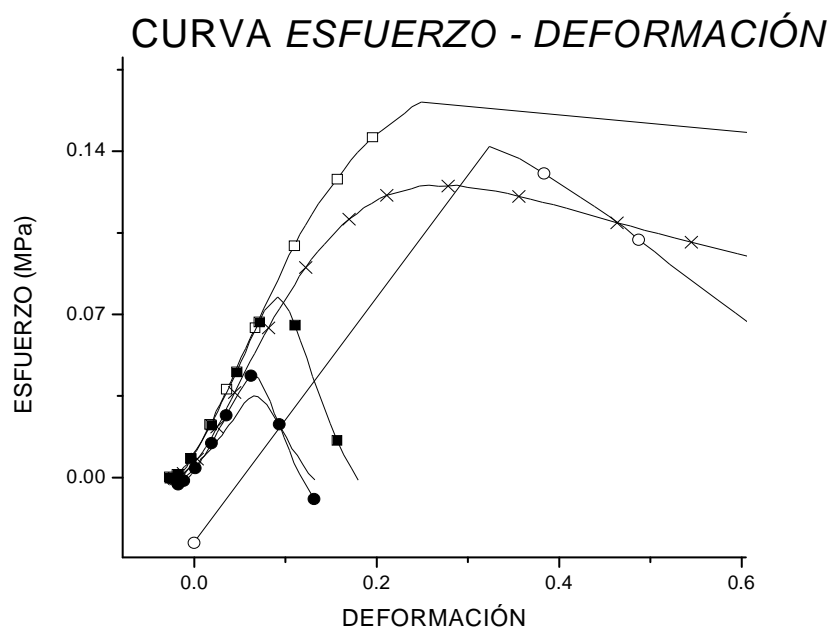


Figura 23. Curva Esfuerzo – Deformación.

□QUIT, ○PVA, ●PVA:FF, ×3PVA:QUIT, ■QUIT:FF y —3PVA:QUIT:FF.

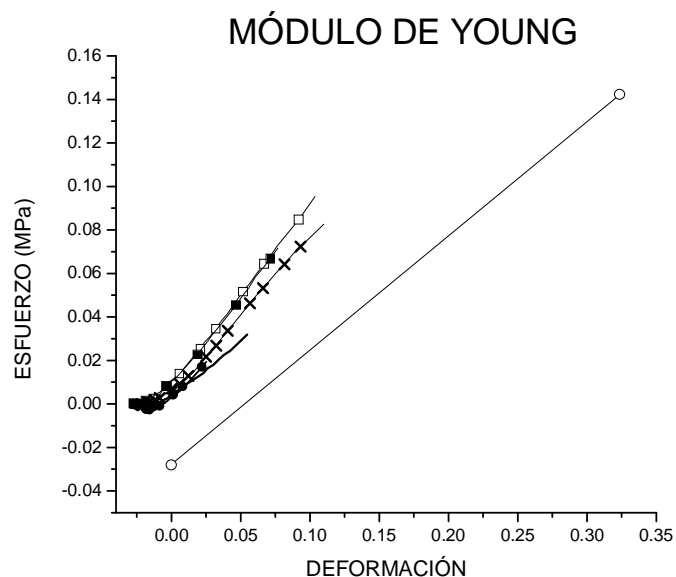


Figura 24. Curva Esfuerzo – Deformación.

□QUIT, ○PVA, ●PVA:FF, ×3PVA:QUIT, ■QUIT:FF y —3PVA:QUIT:FF.

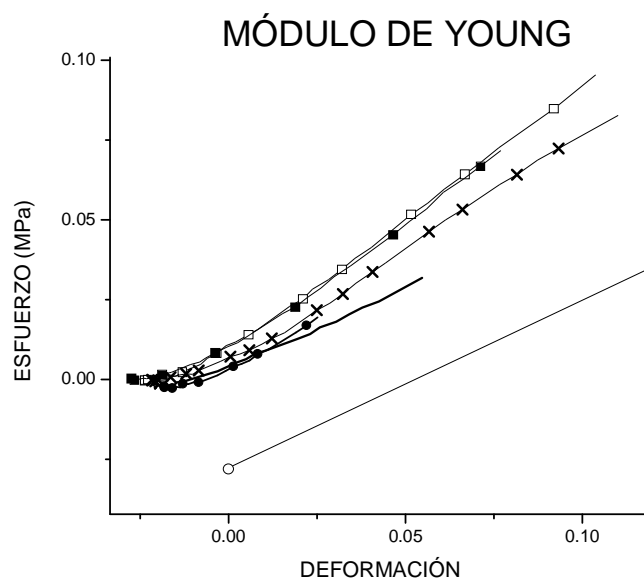


Figura 25. Módulo de Young (ampliación).

□QUIT, ○PVA, ●PVA:FF, ■QUIT:FF, ×QUIT:PVA y —3PVA:QUIT:FF.

Tabla VI. Regresión lineal para las muestras evaluadas.

ECUACIÓN $y=a + bx$			
b= Módulo de Young			
	PARÁMETRO	VALOR	r
QUIT	a	0.013	0.989
	b	0.746	
PVA	a	-0.028	0.999
	b	0.525	
3PVA:QUIT	a	0.009	0.985
	b	0.642	
QUIT:FF	a	0.014	0.979
	b	0.679	
PVA:FF	a	0.005	0.958
	b	0.475	
3PVA:QUIT:FF	a	0.005	0.988
	b	0.434	

Tabla VII. Valores calculados para las propiedades mecánicas (Curva Esfuerzo – Deformación).

MEMBRANA	α_y (MPa)	E	σ_μ (MPa)	DUCTILIDAD ⁽¹⁾
QUIT	0.112	0.746	0.161	6
PVA	0.142	0.525	0.136	4
3PVA:QUIT	0.086	0.642	0.124	5
QUIT:FF	0.071	0.679	0.077	3
PVA:FF	0.039	0.475	0.043	2
3PVA:QUIT:FF	0.032	0.434	0.031	1

⁽¹⁾ Medida cualitativa. Valores de 1-6 en forma ascendente de la propiedad.

Basados en la bibliografía capítulo 3.7, se obtuvieron los valores de resistencia a la tensión (α_y), resistencia a la fluencia (σ_μ), ductilidad y, calculando la pendiente de la zona lineal de

la *Curva Esfuerzo - Deformación* (*Figuras 23, 24 y 25*), se obtuvo el Módulo de Young, todos estos datos se muestran de forma resumida en la *Tabla VI*, se puede apreciar claramente que la membrana que presenta un esfuerzo máximo a la ruptura es la de QUIT. Sin embargo aun cuando la mezcla de ambos polímeros (muestra 3PVA:QUIT) mejora el esfuerzo necesario para producir ruptura en comparación al esfuerzo mostrado por las muestras de los polímeros individualmente, la deformación permanente (σ_{μ}) de ésta ocurre más rápido que las muestras de ambos polímeros por separado, así como el esfuerzo último (σ_{μ}) que se puede aplicar a la película antes de presentarse la ruptura. La presencia de FF provee a las muestras fragilidad. La ductilidad evidencia que las muestras más maleables son QUIT, 3PVA:QUIT y PVA ya que presentan mucha deformidad. La muestra más frágil, menos maleable y la menos resistente a la tensión es la muestra 3PVA:QUIT:FF.

6.6. Estudios de liberación *in vitro*.

La *Figura 26* muestra el comportamiento de la liberación del FF en el medio representado como la cantidad de FF acumulada en el medio. Éste comportamiento es confirmativo de que el fármaco es liberado prontamente dentro de las primeras 12 hrs.

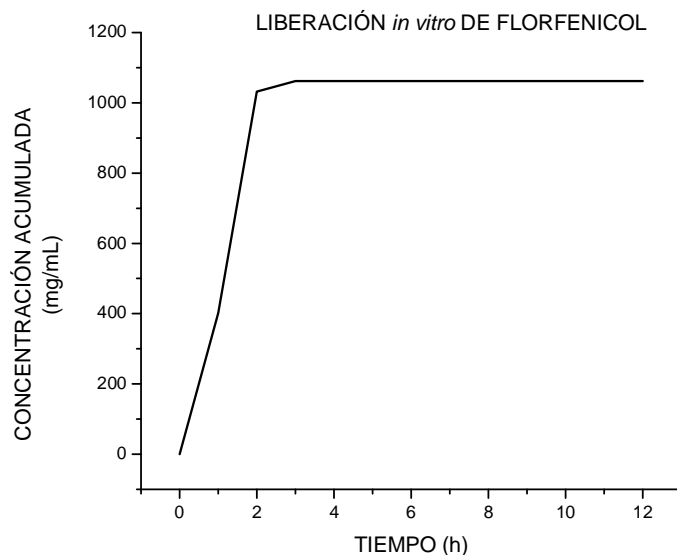


Figura 26. Liberación *in vitro* del fármaco en la matriz polimérica (3PVA:QUIT).

Se puede inducir que la interacción del FF con los polímeros es débil pues aún cuando el fármaco es poco soluble en el medio, éste es liberado con rapidez lo cual indica que la relación con los polímeros se encuentra menos favorecida que con el medio.

A partir de este tiempo, la concentración de fármaco acumulada en el sistema se mantiene constante, representando la presencia de la totalidad del fármaco en el medio.

El aumento en la porosidad, las interacciones medio-sistema y fármaco-sistema propician que la liberación del principio activo sea de forma casi inmediata.

7.- Conclusiones.

Mediante los resultados mostrados anteriormente es posible concluir que:

- Se lograron obtener diferentes membranas a partir de mezclas poliméricas de QUIT, PVA y PVA:QUIT, éstas últimas en proporciones 1:1 y 3:1.
- A partir de la caracterización instrumental se puede deducir que la interacción de ambos polímeros se debe a interacciones débiles intermoleculares.
- La captación de agua en el sistema evaluado es debido a un proceso de adsorción y no de hidratación, ya que una vez retirado del medio de disolución la pérdida de agua es muy rápida. Es evidente que al aumentar la cantidad de polímero hidrofílico aumenta la captación de agua.
- Los resultados de las pruebas mecánicas demostraron que las membranas que presentan mayor rigidez son las de QUIT, PVA y 3PVA:QUIT.
- La degradación del sistema se debe a la pérdida de unidades poliméricas y su disolución en el medio, característica que puede ser utilizada para modificar la velocidad de degradación y por lo tanto ser enfocado a diferentes medios. Al igual que en la captación de agua la degradación y la cantidad de polímero hidrofílico en la membrana influye directamente en la degradación.
- Tanto el análisis instrumental como la observación visual de las membranas cargadas con FF indica que la interacción del fármaco con el sistema es débil.
- La captación de agua, la degradación y las propiedades mecánicas de las membranas son similares a las mostradas sin PA.
- Las membranas enriquecidas, no presentan liberación modificada del Fármaco debido a la poca afinidad de éste con la mezcla de polímeros y de las interacciones QUIT-PVA.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

CONCLUSIONES

En este desarrollo se puede concluir que el sistema evaluado con la mezcla de PVA y QUIT (3:1) presenta una eficiente captación de agua, aspecto visual agradable, interacciones a nivel molecular de tipo débil, características mecánicas que mejoran en resistencia, manteniendo fuerza de ruptura y aún cuando la degradación se presenta rápidamente, la membrana puede durar bastante tiempo sin alterar su aspecto, además de estar fabricada con materiales biocompatibles. Al elaborar matrices con mezcla de polímeros, éstos complementan sus características individuales proporcionando herramientas clave para la elaboración de sistemas con objetivos de uso específicas.

8.-Perspectivas.

- ✓ Cabe señalar que aún cuando la liberación del fármaco modelo fue de forma inmediata, es evidente que sólo se trata de un modelo y la membrana deberá ser evaluada con diferentes fármacos para comprobar su comportamiento. Fármacos que deberán ser más afines al sistema.

- ✓ La caracterización de las membranas fabricadas con los polímeros de forma individual y las mezclas, proporcionan una visión amplia del comportamiento de las mismas lo cual es relevante para la elaboración de sistemas con objetivos específicos; es decir, con características concretas para usos determinados.

- ✓ La matriz desarrollada puede reforzarse con la adición de un entrecruzador el cual podría controlar la degradación, ayudando de esta forma a regular la liberación del fármaco.

- ✓ La continuación del estudio para el sistema tipo malla evaluado en esta tesis, dirigida a uso veterinario, traería como consecuencia la disminución en la cantidad de aplicaciones del medicamento, reduciendo por ende el estrés en el paciente que acompaña a esta actividad, así como una reducción en tiempo y costos medicamento-hombre.

9.- Apéndice.

A. Optimización de la técnica de fabricación de las películas.

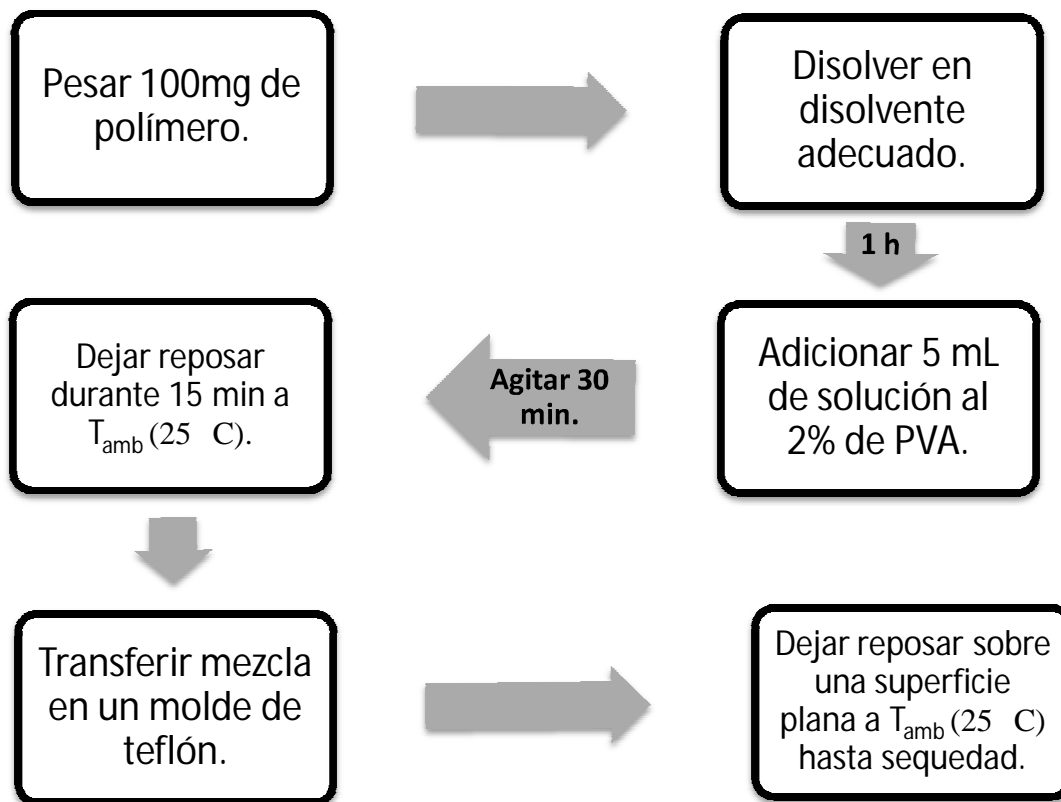
- Evaporación a temperatura ambiente: Se comenzó la optimización de la técnica para el desarrollo de películas formadas con mezclas de PVA y diferentes polímeros, por el método de secado a temperatura ambiente.

En la *Tabla A* se muestran los polímeros utilizados así como la cantidad utilizada para la formación de las mallas y el disolvente empleado.

Tabla A. Polímeros evaluados para el desarrollo del sistema de liberación modificada.

POLÍMERO	CANTIDAD	DISOLVENTE
Agar.	100 mg	Agua desionizada.
Alginato de Sodio.	100 mg	Agua desionizada y etanol (2:3).
Almidón.	100 mg	Agua desionizada.
Quitosan.	100 mg	Ácido acético 1%.
PVA	100 mg	Agua desionizada
Pectina.	100 mg	Agua desionizada.

Esquema I. Procedimiento general para la preparación de membranas.



Para la el procedimiento de preparación de las películas, la parte de secado a temperatura ambiente es crucial para la obtención de las mismas y sus características visibles (en cuanto a apariencia), además cabe mencionar que el proceso es dependiente, en gran medida, de la humedad del ambiente, pues se ha comprobado en esta etapa de optimización que a mayor humedad ambiental mayor tiempo de secado requieren la películas.

Tabla B. Descripción visual de membranas.

MEMBRANA (POLÍMERO)	TRANSPARENCIA	TIEMPO DE SECADO	RESISTENCIA A LA RUPTURA ^{(1) (2)}
Agar	TRANSPARENTE	> 7 DÍAS	RESISTENTE
Almidón	TRANSPARENTE	7 DÍAS	RESISTENTE
PVA	TRANSPARENTE	7 DÍAS	RESISTENTE
QUIT	TRANSPARENTE	< 7 DÍAS	MUY RESISTENTE
Alginato de Sodio	TRANSPARENTE	7 DÍAS	RESISTENTE
Pectina	TRANSPARENTE	7 DÍAS	MEDIANAMENTE RESISTENTE

⁽¹⁾ Recordar que esta determinación es estrictamente visual y se realiza de forma manual.

⁽²⁾ **Poco Resistente:** Se rompe al contacto.

Resistente: Puede ser moldeado con poca fuerza.

Muy resistente: Puede ser moldeado con fuerza.

Medianamente Resistente: Puede ser moldeado con fuerza pero en función del tiempo se destruye.

B. Prueba de disolución para membranas de cada polímero.

Se realizó la prueba de disolución en las siguientes condiciones:

- Medio de disolución: Solución amortiguadora de fosfatos pH: 7.4.
- Temperatura: 50 °C.
- Velocidad de agitación: 2000 rpm.
- Volumen del medio de disolución:

$$\frac{2 \text{ mg de película}}{\text{mL de solución amortiguadora.}}$$

Éste estudio permitió determinar que el pH del medio de disolución, así como el volumen y la cantidad de polímero disuelto, son factores importantes que determinan el tiempo de disolución.

Tiempos de disolución de membranas:

Tabla C. Tiempos de disolución para los polímeros evaluados.

POLÍMERO + PVA	TIEMPO DE DISOLUCIÓN (min)
Agar.	2.00
Alginato de Sodio.	2.50
Almidón.	2.55
QUIT.	2.17 ⁽¹⁾
PVA	0.40

⁽¹⁾La membrana sufre hinchamiento.

Tabla D. Tiempos de disolución para la membrana seleccionada a proporciones 1:1 (PVA:QUIT) y 3:1 (PVA:QUIT).

MEMBRANA	TIEMPO DE DISOLUCIÓN (días)
QUIT:PVA	>28
3PVA:QUIT	21

El medio de disolución a pH 7.4, utilizado en la prueba de disolución, se sustenta con el promedio obtenido entre el pH a nivel ocular y el pH del flujo sanguíneo; considerando su posible uso en lentes de contacto y en soporte de hernias.

El volumen del medio de disolución y el pH se maneja de la siguiente manera:

- *Volumen de medio de disolución:*

$$\frac{2 \text{ mg de película}}{\text{mL de solución amortiguadora.}}$$

- *pH: 7.4.*

10. Bibliografía.

1. Breuer, E., et al., *Glossary Of Terms Related To Pharmaceutics (IUPAC Recommendations 2009)*. Pure and Applied Chemistry, 2009. **81**(5): p. 971-999.
2. *Modified-Release Preparations*. MeReC Bulletin, 2000. **11**(4): p. 13-16.
3. Virginia Sáez, E.H.y.L.S.A., *Mecanismos De Liberación De Fármacos Desde Materiales Polímeros*. Revista Iberoamericana de Polímeros, Marzo de 2004. **Volumen 5**(1).
4. Stanton, T.B., et al., *Collateral Effects Of Antibiotics: Carbadox And Metronidazole Induce VSH-I And Facilitate Gene Transfer Among Brachyspira Hyodysenteriae Strains*. Applied and Environmental Microbiology, 2008. **74**(10): p. 2950-2956.
5. Ijeoma F. Uchegbu, A.G., *Polymer In Drug Delivery*. 2006, New York: Taylor And Francis Group.
6. Sáez., *Sistemas De Liberación Controlada De Medicamentos*. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2002. **Volumen 3**(3).
7. Mosher, G., in *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, J.C.B. ed. James Swarbrick, Editor. 2002.
8. Ban, W., et al., *Improving The Physical And Chemical Functionality Of Starch-Derived Films With Biopolymers*. Journal of Applied Polymer Science, 2006. **100**(3): p. 2542-2548.
9. Ahmed, M.G., et al., *Formulation And In-Vitro Evaluation Of Chitosan Films Containing Tetracycline For The Treatment Of Periodontitis*. Asian Journal of Pharmaceutics, 2009. **3**(2): p. 113-119.
10. Kim, E., *Properties Of Chitosan, PV, And Chitosan/PVA Films And Evaluation Of Their Anti-Dispersal Effect Of Botryosphaeria Dothidea Spores*. Korean Journal of Applied Microbiology and Biotechnology, 1996. **24**(5): p. 546-552.
11. Min, G.J., et al., *Preparation And Properties Of Poly(Vinyl Alcohol)/Chitosan Blend Films*. Polymer (Korea), 2004. **28**(3): p. 253-262.
12. Martinac, A., et al., *Liberation Of Folic Acids From Composite Chitosan Films*. Liberace kyseliny listové z kompozitních chitosanových filmů, 2004. **53**(4): p. 177-182.
13. Nakano, Y., et al., *Structure And Mechanical Properties Of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol) Blend Films*. Macromolecular Symposia, 2007. **258**: p. 63-81.
14. Villafuerte, L. (2009) *Nanotecnología Farmacéutica*. Primera revista digital en América Latina especializada en tópicos de Comunicación, p. 2-19.
15. IRACHE, J.M. (2008) *Nanomedicina: Nanopartículas Con Aplicaciones Médicas*. **21 n1**, p. 7 - 10.
16. Faviola Chávez, B.I.O., Adriana Ganem, David Quintanar, *Liberación De Sustancias Lipofílicas A Partir De Nanocápsulas Poliméricas*. Journal of the Mexican Chemical Society, 2002. **46**(004): p. 349-356.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

BIBLIOGRAFÍA

17. Gonzalo Hernández, A.M., Francisco Zaragoza, Alberto Porras, *Tratado De Medicina Farmacéutica*. 2010, México, D.F.: Ed. Médica Panamericana.
18. Kumar, M.N.V.R., *Nano And Microparticles As Controlled Drug Delivery Devices*. J. Pharm Pharmaceut Sci, 2000, **3**(2).
19. Hernández, M., *Ciclodextrinas. Propiedades y Usos en Farmacia*. Revista Salud Pública y Nutrición, 2006. **11**.
20. Gilpin, R.K. and L.A. Pachla, *Pharmaceuticals And Related Drugs*. Analytical Chemistry, 2005. **77**(12): p. 3755-3769.
21. El-hefian, E.A., M.M. Nasef, and A.H. Yahaya, *Rheological And Morphological Studies Of Chitosan/Agar/ Poly (Vinyl Alcohol) Blends*. Journal of Applied Sciences Research, 2010. **6**(5): p. 460-468.
22. Phan The, D., et al., *Biopolymer Interactions Affect The Functional Properties Of Edible Films Based On Agar, Cassava Starch And Arabinoxylan Blends*. Journal of Food Engineering, 2009. **90**(4): p. 548-558.
23. Raphael, E., et al., *Agar-Based Films For Application As Polymer Electrolytes*. Electrochimica Acta, 2010. **55**(4): p. 1455-1459.
24. ChemBlink. *Agar*. 2010; Available from: <http://www.chemblink.com/products/9002-18-0.htm>.
25. Calvo, M. *Bioquímica De Los Alimentos*. 2009-10-13; Available from: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/azucares/agar.html>.
26. Cho, W.J., S.H. Oh, and J.H. Lee, *Alginate Film As A Novel Post-Surgical Tissue Adhesion Barrier*. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2010. **21**(6-7): p. 701-713.
27. Benli, B. and M.S. Celik. *Rheological Properties And Characterization Of Alginate/Bentonite Biocomposite Systems*. 2007.
28. Çaykara, T. and S. Demirci, *Preparation And Characterization Of Blend Films Of Poly(Vinyl Alcohol) And Sodium Alginate*. Journal of Macromolecular Science, Part A: Pure and Applied Chemistry, 2006. **43**(7): p. 1113-1121.
29. Çaykara, T., et al., *Surface Properties Of Binary Blend Films Of Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) And Poly(Vinyl Alcohol) With Sodium Alginate*. Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics, 2006. **44**(2): p. 426-430.
30. *E401: Alginato De Sodio*. 2010-10-26; Available from: <http://www.food-info.net/es/e/e401.htm>.
31. *Directiva 2009/10/CE de la Comisión*. 2009 Available from: <http://eurlex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2009:044:0062:01:ES:HTML>.
32. Almasi, H., B. Ghanbarzadeh, and A.A. Entezami, *Physicochemical Properties Of Starch-CMC-Nanoclay Biodegradable Films*. International Journal of Biological Macromolecules, 2010. **46**(1): p. 1-5.
33. Tripathi, S., G.K. Mehrotra, and P.K. Dutta, *Preparation And Physicochemical Evaluation Of Chitosan/Poly(Vinyl Alcohol)/Pectin Ternary Film For Food-Packaging Applications*. Carbohydrate Polymers, 2010. **79**(3): p. 711-716.
34. Filippov, M.P., *IR Spectra Of Pectin Films*. Journal of Applied Spectroscopy, 1974. **17**(2): p. 1052-1054.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

BIBLIOGRAFÍA

35. Ghaffari, A., et al., *Preparation And Characterization Of Free Mixed-Film Of Pectin/Chitosan/Eudragit® RS Intended For Sigmoidal Drug Delivery*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2007. **67**(1): p. 175-186.
36. Mosher, G., *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology* James Swarbrick, J. C. B., USA 2002.
37. Angelova, N., et al., *Preparation And Properties Of Modified Chitosan Films For Drug Release*. Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 1995. **10**(4): p. 285-298.
38. Corporation, S.-A. *SIGMA-ALDRICH. Material Safety Data Sheet*. 2011
Cited 2011; Available from:
<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/DisplayMSDSContent.do>.
39. Tapia P, C., et al., *Efecto Antifúngico De Quitosán De Alto Peso Molecular En Cepas De Candida Sp Aisladas De Muestras Clínicas*. Revista chilena de infectología, 2009. **26**: p. 515-519.
40. Chan, K.S., H.B. Senin, and I. Naimah. *Structural And Mechanical Properties Of Polyvinyl Alcohol (PVA) Thin Film*. 2009.
41. Chen, Z., et al., *Optimization Of Filming Technology Of Water-Soluble PVA Film*. Nongye Gongcheng Xuebao/Transactions of the Chinese Society of Agricultural Engineering, 2008. **24**(7): p. 247-250.
42. De Souza Costa Jr, E., M.M. Pereira, and H.S. Mansur, *Properties And Biocompatibility Of Chitosan Films Modified By Blending With PVA And Chemically Crosslinked*. Journal of Materials Science: Materials in Medicine, 2009. **20**(2): p. 553-561.
43. Sumano, L.H. and C.L. Ocampo, *Farmacología Veterinaria*. 3ª ed. 2006, México: Mc Graw Hill.
44. Maryadele, J.O.N. and S. Ann, *THE MERCK INDEX. AN ENCYCLOPEDIA OF CHEMICALS, DRUGS, AND BIOLOGICALS THIRTEENTH EDITION*. Ed. 2001, Whitehouse Station, NJ: MERCK & CO., INC.
45. Brown, C., et al., *Effect Of Glycerol On The Release Of Pegylated GM-CSF From Chitosan/Glycerol Films*. Annals of Biomedical Engineering, 2000. **28**(SUPPL. 1): p. S-25.
46. Insua, A.R., *Biodisponibilidad Y Metabolismo De Un Derivado Fluorado Del Tianfenicol En Pollos Broiler*, in Departamento de Toxicología y Farmacología. 2004, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID: Madrid. p. 247.
47. James F, S., Ph. D., ed. *Rheological Methods In Food Engineering*. Second edition. 1992, Freeman Press: USA.
48. Macosko, C.W., *RHEOLOGY: Principles, Measurements and Applications*. 1994, Canada: WILEY-VCH.
49. Torres, L.M., *Estudio Reológico Del Mucilago De Nopal Y Su Efecto Sinergico Con Otros Hidrocoloides De Uso Alimenticio.*, In Facultad De Química, Departamento De Alimentos Y Biotecnología. 2005, UNAM: México D.F. p. 2003.
50. L. Medina Torres, E.B.D.L.F., B. Torrestiana Sánchez, S. Alonso, *Mechanical Propertis Of Gels Formed By Mixtures Of Mucilage Gum (Opuntia Ficus Indica) And Carregeenans*. Carbohydrate Polymers, 2003. **52**: p. 143-150.

Desarrollo y caracterización de mezclas poliméricas como posibles soportes de liberación modificada de fármacos.

BIBLIOGRAFÍA

51. *Prontuario De Especialidades Veterinarias, Farmacéuticas, Biológicas Y Nutricionales*, THOMSON, Editor. 2008.
52. Medlicott, N.J., N.A. Waldron, and T.P. Foster, *Sustained Release Veterinary Parenteral Products*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004. **56**(10): p. 1345-1365.
53. Sun, Y., Scruggs, D.W., Peng, Y., Johnson, J.R., Shukla, A.J., *Issues And Challenges In Developing Long-Acting Veterinary Antibiotic Formulations*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 2004. **56**(10): p. 1481-1496.
54. Lobell, R.D., et al., *Pharmacokinetics Of Florfenicol Following Intravenous And Intramuscular Doses To Cattle*. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 1994. **17**(4): p. 253-258.
55. Embrechts, J., et al., *An Innovative Long Acting Florfenicol Formulation For The Treatment Of Bovine Respiratory Disease*. *Cattle Practice*, 2010. **18**(3): p. 195-196.
56. Roiha, I.S., et al., *Uptake And Elimination Of Florfenicol In Atlantic Cod (Gadus Morhua) Larvae Delivered Orally Through Bioencapsulation In The Brine Shrimp Artemia Franciscana*. *Aquaculture*, 2010. **310**(1-2): p. 27-31.
57. Roiha, I.S., E. Otterlei, and O.B. Samuelsen, *Bioencapsulation Of Florfenicol In Brine Shrimp, Artemia Franciscana, Nauplii*. *Journal of Bioanalysis and Biomedicine*, 2010. **2**(3): p. 60-64.
58. Song, M., et al., *Silica Nanoparticles As A Carrier In The Controlled Release Of Florfenicol*. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 2010. **20**(5): p. 349-352.
59. De Souza, E., *Properties And Biocompatibility Of Chitosan Films Modified By Blending Whit PVA And Chemically Crosslinked*. Springer, 2008. **20**: p. 553-561.
60. Marciniac, B., et al., *Thermal And Spectroscopic Analysis Of Florfenicol Irradiated In The Solid-State*. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 2008. **Vol. 93** (3): p. 733-737.