



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN FARMACÉUTICA

Efecto del tipo de aceite y velocidad de agitación en la formación de micropartículas esféricas Sol-gel que contienen glibenclamida

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

Miguel Ángel Hernández Carrizal

Director de Tesis

Dr. Vicente Jesús Hernández Abad

Asesor de Tesis

Dra. Elizabeth Guadalupe Sánchez González

Ciudad de México, 2018





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.

AGRADECIMIENTO

El desarrollo de esta tesis fue financiado en su totalidad con recursos del proyecto PAPIIT IT200815 “Diseño de matrices híbridas de liberación modificada preparadas mediante el proceso sol-gel, con actividad hipoglucemiante, aplicables en el tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2”, por lo que se agradece el apoyo de la Universidad Nacional Autónoma de México, a través de la dirección General de Asuntos del Personal Académico.

AGRADECIMIENTO

Se agradece a la Dra. A. Lourdes Castillo Granada, responsable del Proyecto PAPIME PE206115, del Laboratorio de Espectroscopia de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza por su valiosa enseñanza y apoyo a este proyecto a través del análisis espectroscópico por infrarrojo de las muestras.

AGRADECIMIENTOS

Gracias a Dios por la vida y todas las oportunidades que me ha dado.

A mis padres Guillermina Carrizal y Emiliano Hernández, gracias por todo el apoyo y confianza que me han brindado en todo momento, por ayudarme a llegar a este momento y por nunca dejarme solo, mil gracias los quiero.

A Mari, mi hermana por brindarme en todo momento su cariño y apoyo.

A la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza de la Universidad Nacional Autónoma de México por todo el conocimiento adquirido a lo largo de todos estos años, con los que pude llegar a terminar este trabajo.

A la Dra. Elizabeth Guadalupe Sánchez González, el Dr. Vicente Jesús Hernández Abad y la Mtra. Cynthia Espinosa Contreras, por permitirme ser parte del Laboratorio de Investigación Farmacéutica así como de transmitirme parte de su conocimiento.

A mis sinodales la Mtra. Teresa Benítez y el Mtro. José Luis Trejo por sus observaciones y enseñanzas adquiridas cuando fui su alumno.

A esas increíbles personas que conocí en este camino llamado licenciatura que comenzaron como mis compañeros y terminaron como mis amigos Karen, Brenda, Circe, Eli, Mitzi, Alan, Cristabel y Karla gracias químicos.

A mi querida Fany contigo inicié este camino y contigo terminé, gracias por todo.

Una mención especial a mi amiga Angie, por el tiempo que me regalaste en la primera parte de la tesis y por confiar en mí.

A mis compañeros de laboratorio y de tesis Jennie, Gaby, Alejandro, Frida y Jonathan, por todo el tiempo, risas y experiencias que compartimos en este camino.

Contenido

1.0 Introducción.....	8
2.0 Marco teórico.....	9
2.1 Formas farmacéuticas.....	9
2.2 Formas farmacéuticas de liberación modificada	9
2.3 Ventajas teóricas de las formas de liberación modificada.....	10
2.4 Micropartículas.....	11
2.5 Características ideales de las micropartículas	14
2.6 Métodos de preparación de micropartículas	15
2.6.1 Método de la emulsión aceite en agua (o/w).	15
2.6.2 Método de la emulsión agua en aceite en agua (w/o/w).	16
2.6.3 Método de emulsión aceite en aceite (o/o)	17
2.6.4 Método de separación de fases (coacervación).	18
2.7 Alternativa de fabricación proceso sol-gel.....	19
2.8 Generalidades proceso sol-gel	20
2.9 Formación de materiales particulados	22
3.0 Planteamiento del problema.....	26
4.0 Objetivos	27
5.0 Hipótesis.....	28
6.0 Diseño de experimentos.....	29
7.0 Materiales y equipos	30
8.0 Metodología.....	31
8.1 Pruebas de control de calidad para los aceites empleados	32
8.1.1 Densidad.....	32
8.1.2 Determinación de índice de saponificación.....	32
8.1.3 Viscosidad	33
8.1.4 Índice de acidez	33
8.1.5 Caracterización de la pureza del aceite por calorimetría e interacción fármaco excipiente.....	34
8.2 Fabricación de materiales microparticulados	35
8.3 Descripción	36

8.4 Caracterización de los materiales obtenidos por calorimetría diferencial de barrido.....	37
8.5 Análisis por espectroscopia de absorción por infrarrojo.....	37
8.6 Determinación de la distribución del tamaño de partícula.....	37
8.7 Análisis estadístico de la matriz de experimentos.....	38
9.0 Resultados y análisis de resultados	39
9.1 Pruebas de control de calidad a los aceites empleados	39
9.1.1 Densidad.....	39
9.1.2 Viscosidad	40
9.1.3 Índice de saponificación (IS).....	40
9.1.4 Índice de acidez.....	41
9.1.5 Caracterización por espectroscopía de infrarrojo de los aceites empleados	41
9.1.6 Caracterización de la pureza del aceite por calorimetría e interacción fármaco excipiente.....	44
9.2.1 Descripción	46
9.2.2 Análisis térmico de las partículas, por calorimetría diferencial de barrido .	48
9.2.3 Análisis de espectroscopía de absorción por infrarrojo.....	53
9.2.4 Distribución del tamaño de partícula	60
9.2.5 Análisis de varianza para un diseño de experimentos anidado de la cantidad de materiales particulados obtenidos.	63
10.0 Conclusiones.....	68
11.0 Recomendaciones.....	69
12.0 Referencias	70

1.0 Introducción

La nanotecnología ha permitido a la tecnología farmacéutica el desarrollo de nuevas alternativas de tratamiento para las enfermedades que afectan a los seres humanos. La búsqueda de nuevas formas de administración de fármacos, así como el desarrollo de nuevos sistemas de liberación modificada implica el reto de saber aprovechar las propiedades de la molécula, así como de los excipientes. En el caso del empleo del método de síntesis sol-gel, se pretende obtener micropartículas que contenga al fármaco, con una estructura que le confiera soporte y protección, así como también la capacidad de liberarse de una forma controlada.

En esta investigación se empleó la glibenclamida que es un fármaco que pertenece a la familia de las sulfonilureas, Clase II en la Clasificación Biofarmacéutica de Fármacos, además es uno de los más empleados en el tratamiento de la diabetes mellitus como hipoglucemiante oral. En investigaciones previas se había comprobado que la glibenclamida puede ser incorporada de manera eficiente en monolitos sol-gel, y en otros trabajos se han diseñado formas de encapsular fármacos mediante este proceso; de allí la idea de poder fabricar micropartículas que contengan la glibenclamida en su interior anclado a la estructura interna de estas.

Para el proceso de fabricación se ocuparon tres aceites de origen vegetal y cuatro diferentes velocidades de agitación. Finalmente, de los resultados obtenidos se encontró que las mejores condiciones de fabricación fueron fabricar con aceite de oliva a 600 rpm.

2.0 Marco teórico

2.1 Formas farmacéuticas

Una forma farmacéutica se le define como la disposición física que se le da a los fármacos y aditivos para constituir un medicamento y facilitar su dosificación y administración.¹ En términos generales, se pueden clasificar en formas líquidas, como las suspensiones y los jarabes; formas sólidas, como los comprimidos y las capsulas y del tipo semisólidas como las cremas y los ungüentos. Partiendo de las necesidades de los pacientes y de mano de la tecnología farmacéutica se han desarrollado otro tipo de medicamentos.

2.2 Formas farmacéuticas de liberación modificada

Las formas farmacéuticas de liberación modificada son aquellas diseñadas de tal manera que se modifica la velocidad o el lugar de liberación del principio activo respecto a las formas farmacéuticas de liberación inmediata del mismo principio activo. Los sistemas de liberación modificada pueden dividirse en las siguientes categorías:²

- ❖ Liberación retardada. El principio activo es liberado en un momento distinto al de la administración, pero no se prolonga el efecto terapéutico (no hay cambios en ningún otro parámetro terapéutico).
- ❖ Liberación sostenida. El principio activo se libera a una velocidad constante con el objetivo de conseguir una velocidad de absorción también constante y así disminuir las fluctuaciones de los niveles plasmáticos.

- ❖ Acción prolongada. El principio activo se libera inicialmente en proporción suficiente para producir su efecto, y después se libera de forma lenta a una velocidad no necesariamente constante, manteniendo la concentración eficaz durante más tiempo que con las formas de liberación inmediata.

2.3 Ventajas teóricas de las formas de liberación modificada

- ❖ Reducción de la frecuencia de administración para mejorar el cumplimiento terapéutico. Las formas farmacéuticas de liberación modificada permiten que los medicamentos con una duración de acción corta puedan ser administrados con menor frecuencia. Sin embargo, esta posología puede tener algunos inconvenientes como:²
 - Sobredosificación: los pacientes pueden olvidar que han tomado su dosis y repetirla a lo largo del día.
 - Infradosificación: la pérdida de dosis es particularmente problemática en preparados de administración única semanal o diaria, porque se pueden producir niveles plasmáticos subterapéuticos de forma prolongada.
- ❖ Reducción de las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas. La reducción de picos plasmáticos elevados puede minimizar los efectos adversos, especialmente en medicamentos de absorción rápida.
- ❖ Control del sitio de liberación del fármaco en el tracto gastrointestinal. Este es el caso de las formas con cubierta entérica liberan el fármaco directamente en el intestino delgado. Esto permite proteger al fármaco de la degradación por el ácido del estómago y también proteger teóricamente el estómago de una posible acción gastrolesiva del medicamento.

2.4 Micropartículas

La microencapsulación de compuestos con actividad biológica (ADN, fármacos, proteínas, probióticos, enzimas, etc.), desde el punto de vista tecnológico, podría definirse como el proceso de recubrimiento de dichos compuestos, bajo la forma de moléculas, partículas sólidas o glóbulos líquidos, con materiales de distinta naturaleza, para dar lugar a partículas de tamaño micrométrico. El producto resultante de este proceso tecnológico recibe la denominación de “micropartículas”, “microcápsulas” o “microesferas”, dependiendo de cuál sea su morfología y estructura interna.³

Las micropartículas se definen como partículas poliméricas esféricas, con tamaños de 1 a 250 μm . En todos los tipos de micropartículas, el principio activo se encuentra disuelto, atrapado, encapsulado y/o adsorbido en el seno de la matriz que forma el vehículo portador. Según las técnicas de fabricación utilizadas y en función de su morfología, es posible distinguir tres categorías de micropartículas:^{4,5 y 6}

- ❖ Microcápsulas: partículas esféricas constituidas por un recubrimiento sólido que contiene en su interior una sustancia sólida, líquida o pastosa. Cada microcápsula constituye un sistema reservorio que da lugar a un estado de heterogeneidad máximo.
- ❖ Microesferas: partículas esféricas constituidas por una red continua de material soporte o polimérico en el cual la sustancia a encapsular está dispersada al estado molecular (solución sólida) o al estado particular

(dispersión sólida). Esta estructura, en estado de homogeneidad máximo, constituye un sistema matricial.

- ❖ Microcápsulas homogéneas (formas multinucleares) o microesferas heterogéneas (dispersiones particulares): son sistemas intermedios entre los dos estados posibles de heterogeneidad (microcápsulas) y homogeneidad (microesferas). Se identifican por la presencia de zonas ricas y pobres en principio activo y por tener una estructura interna de tipo dispersión cristalina.

Visualmente se pueden apreciar este tipo de micropartículas en la figura 1.

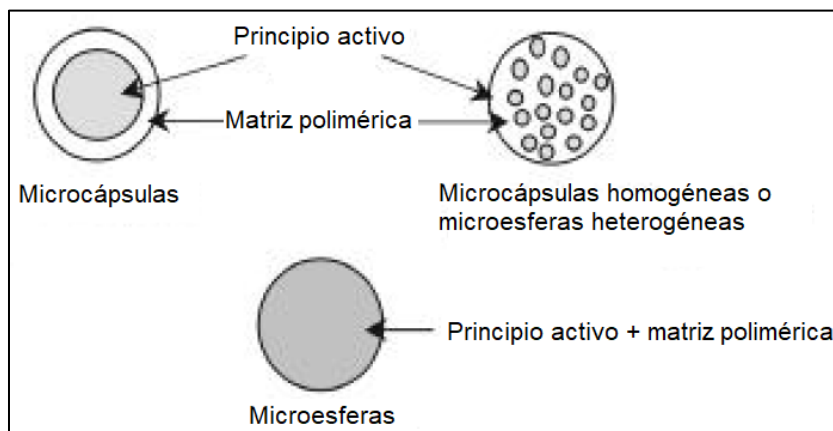


Figura 1. Tipos de micropartículas.⁷

Paralelamente, se puede distinguir a las nanopartículas que son sistemas sólidos coloidales, cuyo tamaño de partícula oscila entre 10 nm y 1 μm ^{2,5} estas se dividen en dos tipos principales según el proceso de fabricación: así se pueden obtener nanoesferas de tipo matricial y nanocápsulas de tipo vesicular, formadas por un núcleo rodeado por una fina capa de material polimérico constitutivo, estas se pueden apreciar en la figura 2.^{2, 4, 7}

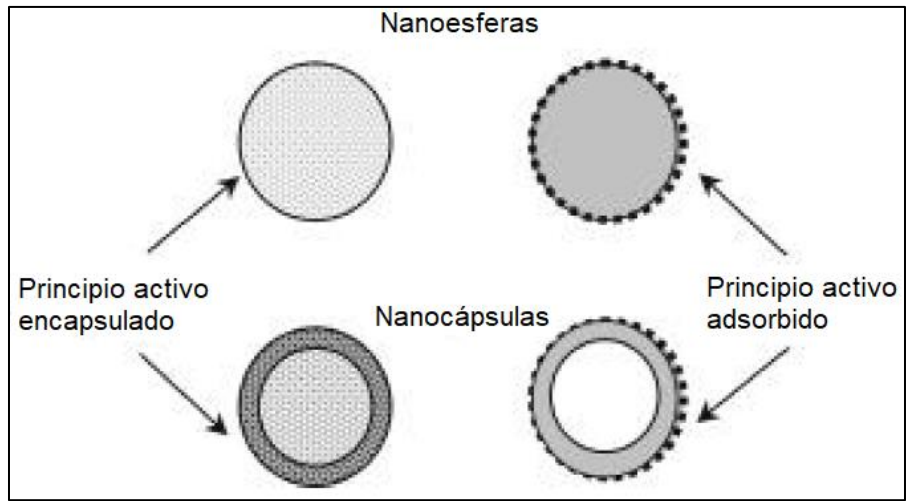


Figura 2. Tipo de nanoesferas.^{4,7}

Regresando a las micropartículas, durante el proceso de fabricación se han reportado la formación de otro tipo de partículas como son las que se muestran en la figura 3.

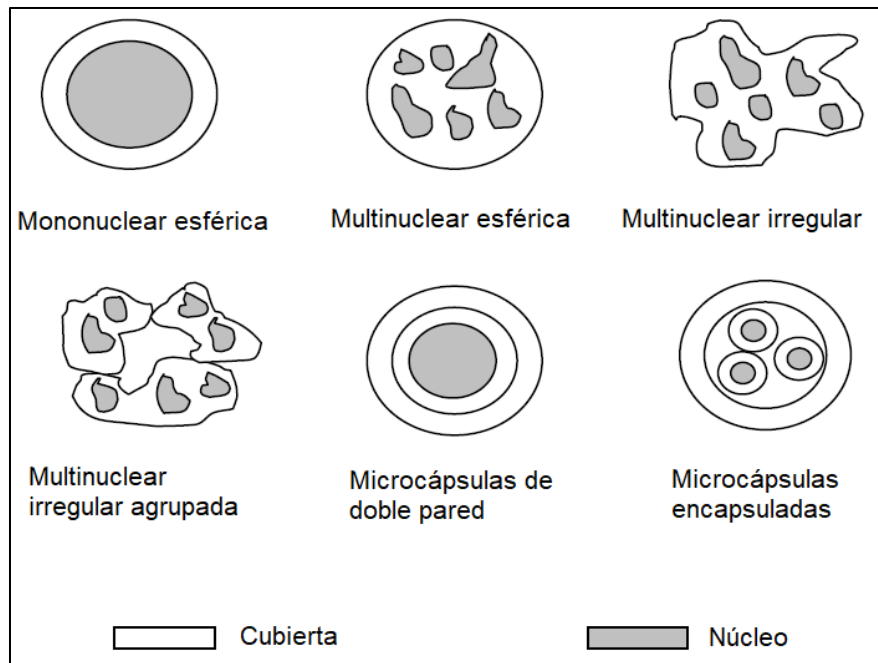


Figura 3. Otras estructuras que se pueden encontrar durante la producción de micropartículas.⁷

2.5 Características ideales de las micropartículas

La elección de la técnica de microencapsulación se hace principalmente sobre la base de las características fisicoquímicas del polímero y del principio activo a encapsular y se deben tener en cuenta los requerimientos siguientes:⁸

- ❖ El rendimiento de micropartículas con el intervalo de tamaños deseado debe ser alto.
- ❖ La eficiencia de encapsulación del principio activo debe ser alta.
- ❖ La actividad biológica del principio activo debe mantenerse durante el proceso de encapsulación.
- ❖ La reproducibilidad lote a lote en términos de un perfil cualitativo y de liberación del principio activo debe estar dentro de los límites especificados.
- ❖ El perfil de liberación debe ser ajustable mediante el control de la composición y las variables del proceso.
- ❖ Las micropartículas no deben agregarse, deben ser un polvo fino que fluya libremente.

Como se vio las micropartículas deben de presentar estas características de manera ideal. Para tratar de acercarse a la idealidad se debe de ocupar el método de síntesis adecuado, a continuación se menciona brevemente estos métodos.

2.6 Métodos de preparación de micropartículas

2.6.1 Método de la emulsión aceite en agua (o/w).

En este método la fase orgánica que contiene el polímero y el principio activo se emulsifica en una fase acuosa que contiene un surfactante. Posteriormente las gotas orgánicas emulsificadas que contienen el polímero y el principio activo son endurecidas como microesferas por eliminación del disolvente orgánico (Figura 4).^{8, 9}

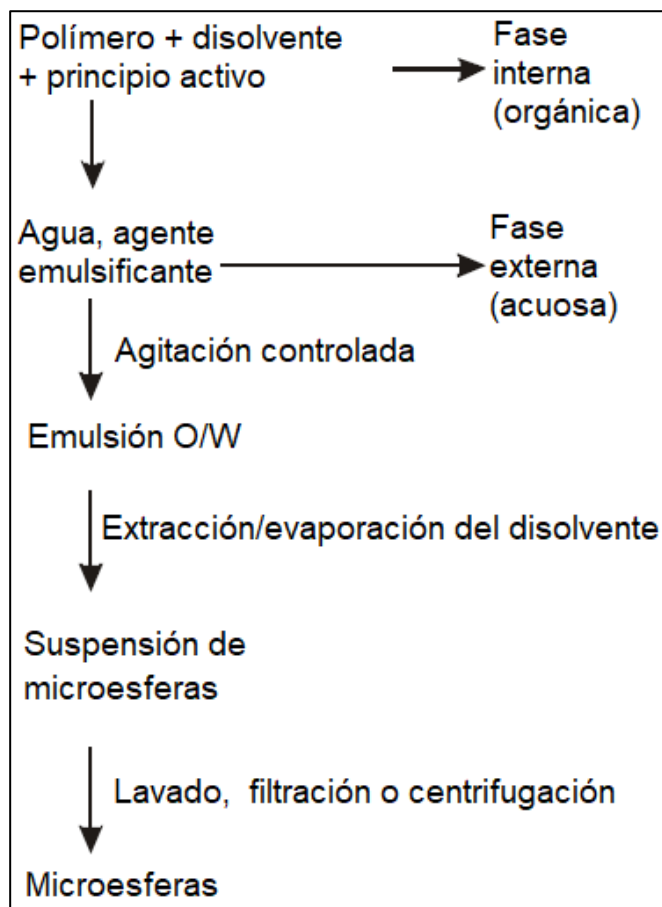


Figura 4. Método de la emulsión (o/w)⁸

Ventajas del método o/w:

- ❖ Es ampliamente usado en la encapsulación de principios activos liposolubles.
- ❖ Amplio rango de tamaños, esencialmente controlados por la velocidad y las condiciones de agitación.
- ❖ Las microesferas tendrán propiedades superficiales hidrofílicas, lo que permite su resuspensión sin agregación.

Desventajas del método o/w:

- ❖ La incorporación de principios activos solubles en agua es muy baja debido a la repartición del principio activo en la fase acuosa externa de la emulsión.

2.6.2 Método de la emulsión agua en aceite en agua (w/o/w).

También se conoce como método de la emulsión múltiple. Es una modificación del método o/w. Se utiliza para encapsular principios activos solubles en agua y se ha probado que es muy eficiente para encapsular este tipo de sustancia. En este método el principio activo se disuelve en agua (fase acuosa) y el polímero se disuelve en un solvente orgánico (fase orgánica). Ambas fases se mezclan obteniéndose la emulsión w/o, la que se adiciona lentamente sobre un medio acuoso que contiene un emulsificante como el alcohol polivinílico. Luego el disolvente orgánico es eliminado y se obtienen las microesferas (Figura 5).⁸

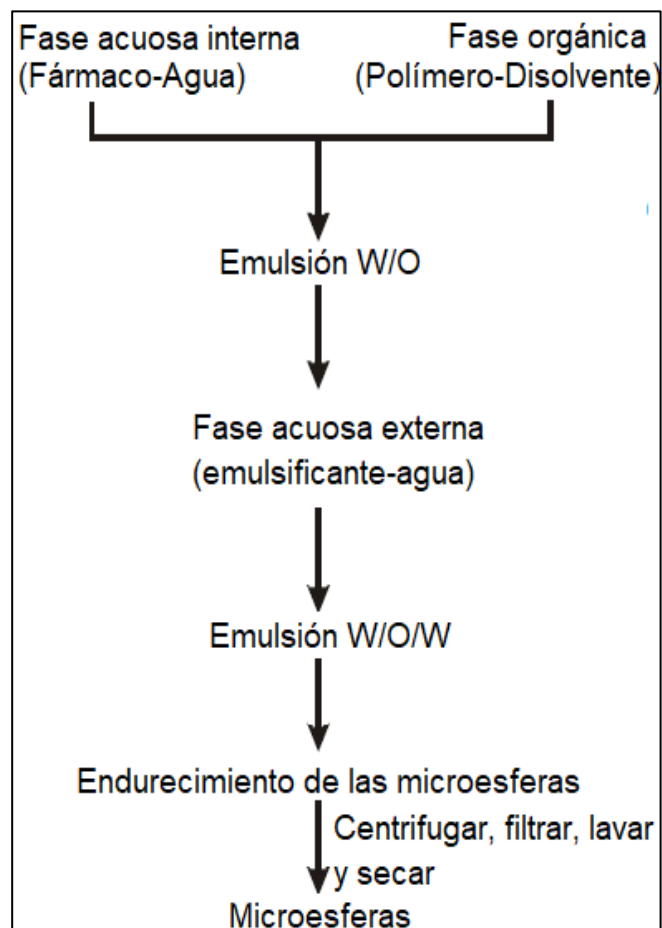


Figura 5. Método de la emulsión (w/o/w).^{8,9}

2.6.3 Método de emulsión aceite en aceite (o/o)

Emulsión (o/o). Este método es otra modificación de la emulsión o/w y la fase continua estará formada por un líquido orgánico como el aceite mineral y se forma la emulsión o/o. Se usa para encapsular eficazmente principios activos solubles en agua (Figura 6).

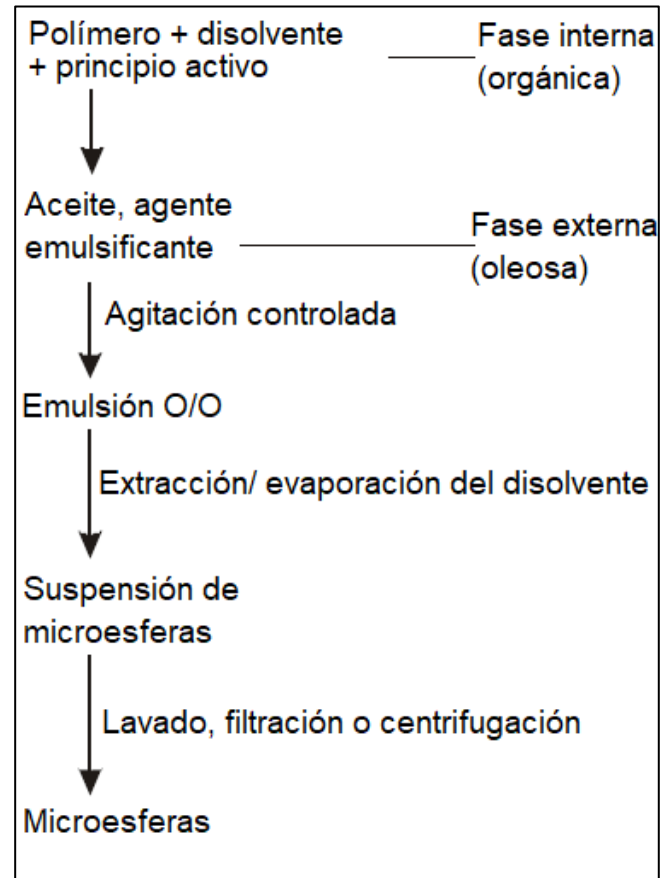


Figura 6. Método de la emulsión (o/o).⁸

Desventajas del método o/o:

- ❖ Se hace difícil la obtención de microesferas pequeñas (menores de 50 μm).
- ❖ Las microesferas tienden a agregarse cuando se resuspenden en vehículos acuosos debido a la naturaleza hidrófoba de su superficie y la ausencia de un estabilizador hidrofílico.

2.6.4 Método de separación de fases (coacervación).

Es un método no acuoso de preparación de microesferas, utilizado fundamentalmente para principios activos solubles en agua. Consiste en disolver primeramente el polímero en el disolvente orgánico y el principio activo en agua. Luego la emulsión microfina se obtiene por la adición de la solución acuosa a la solución orgánica. Un primer no disolvente para el polímero se adiciona lentamente al sistema, formándose coacervados que son muy blandos para ser recolectados, por lo que se hace necesaria la adición de una mayor cantidad de un segundo no disolvente para endurecer las microgotas o coacervados, las que ahora serán llamadas microesferas (Figura 7).^{8,9}

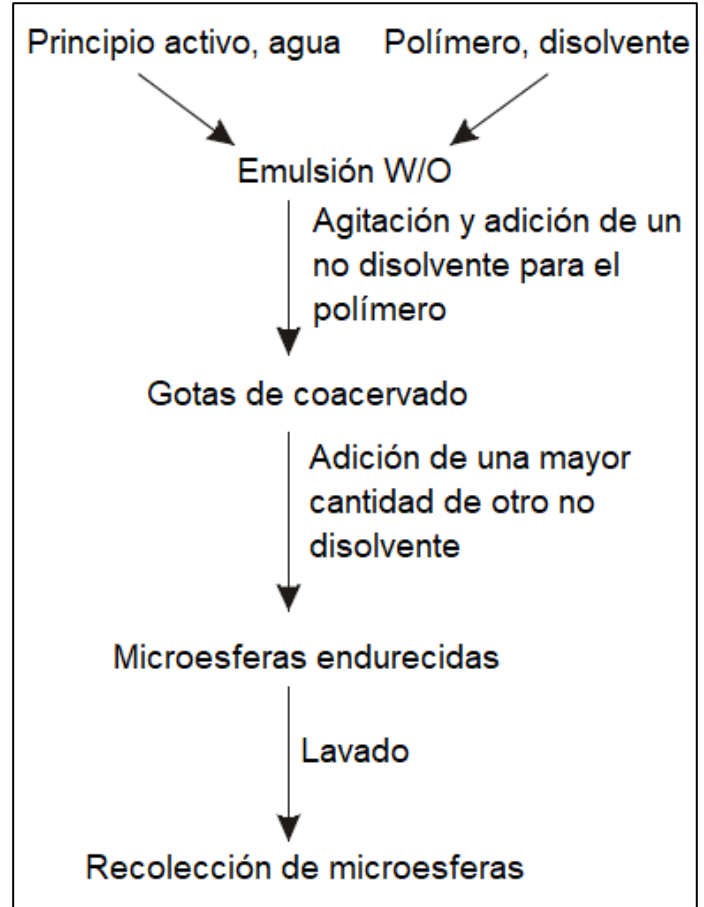


Figura 7. Método de la separación de fase.⁸

Desventajas del método de separación de fases:

- ❖ Frecuente aglomeración porque no hay un estabilizador.
- ❖ La variación lote a lote ha causado problemas tanto en el proceso de coacervación como en el perfil de velocidad de liberación.
- ❖ Más costoso comparado con los otros métodos debido a la gran cantidad de disolventes que se necesitan.

2.7 Alternativa de fabricación proceso sol-gel

El proceso sol-gel es un método de síntesis en el cual, partiendo de precursores moleculares como alcóxidos metálicos o sales inorgánicas, se obtiene un esqueleto del óxido mediante reacciones de hidrólisis y polimerización a baja temperatura, lo cual permite la síntesis de una fase metaestable de óxido e incluso de sólidos mixtos órgano-inorgánicos. Las especiales características de los soles y geles permiten la síntesis de fibras, láminas, cadenas, geles y polímeros tridimensionales¹⁰. La química de estos materiales ofrece la capacidad de producir una amplia gama de nano y microestructuras con diferentes arreglos que dan lugar a materiales con diferente tamaño de poro. El método de síntesis sol-gel ofrece una mezcla a nivel molecular que es capaz de mejorar la homogeneidad química del material resultante. Esto abre nuevas puertas no sólo a composiciones de materiales previamente inalcanzables, sino también estructuras únicas. Los materiales biocerámicos sol-gel resultantes tienen un gran potencial para la aplicación como un soporte que proporciona un alto grado de biocompatibilidad y promueve una respuesta rápida a la curación con los eventos biológicos adversos

mínimos. Sin lugar a duda, uno de los principales beneficios de la aplicación de sol-gel se acerca a la producción de soportes bioactivos a temperaturas relativamente bajas en las que se puede lograr la síntesis.

La síntesis de baja temperatura también permite la inclusión de materiales que de otra manera serían destruidos por temperaturas excesivamente altas como fármacos pequeños y biomoléculas¹¹, el proceso general de síntesis sol-gel es el siguiente:

2.8 Generalidades proceso sol-gel

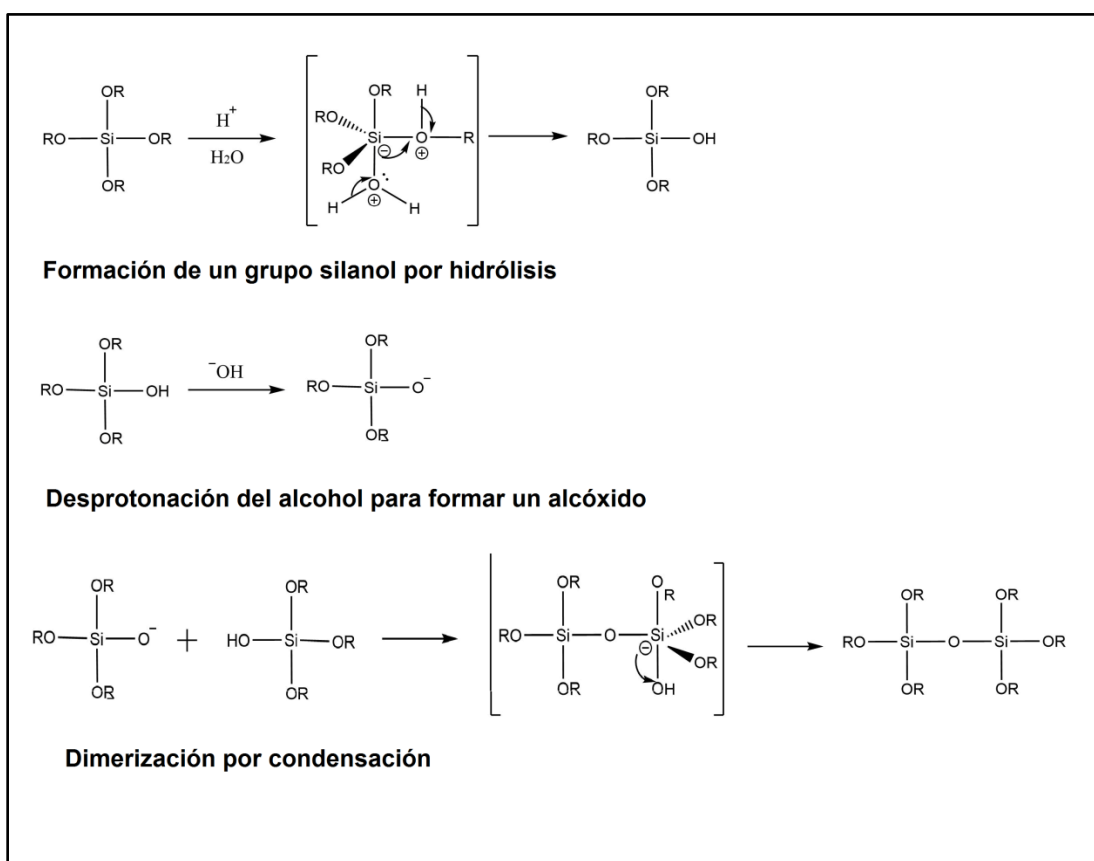


Figura 8. Reacción general del proceso sol-gel (R= $-\text{CH}_2\text{CH}_3$, $-\text{OH}$)

Tal como se puede apreciar en la figura 8, la primera etapa del proceso consiste en la hidrólisis para formar un alcóxido. En esta etapa se obtiene una suspensión coloidal que contiene partículas de tamaño inferior a 100 nm a la vez que se forman grupos silanol (Si-OH) y se libera el alcohol correspondiente. A continuación, los grupos silanol forman dímeros que inmediatamente comienzan a polimerizar por condensación, formando estructuras tridimensionales unidas por enlaces siloxano (Si-O-Si) con eliminación de agua y alcohol concomitante. En esta segunda etapa de condensación se forma un gel, más o menos compacto y denso. Además se da la presencia y formación de micelas. La nanopartícula va aumentando de tamaño hasta que la carga neta negativa, que introducen las especies de sílice, es tan elevada que esta deja de crecer.

Hay que señalar que el tamaño, la forma y la regularidad de las nanopartículas dependen de diversas variables como son la temperatura, la velocidad de adición, la agitación y la cantidad de catalizador utilizado respecto a la de ortosilicato de tetraetilo (TEOS). De todos estos factores se ha determinado que el que más afecta al tamaño de la partícula es la proporción de base respecto a la cantidad de TEOS, seguido de la temperatura.^{10, 12 y 13}

2.9 Formación de materiales particulados

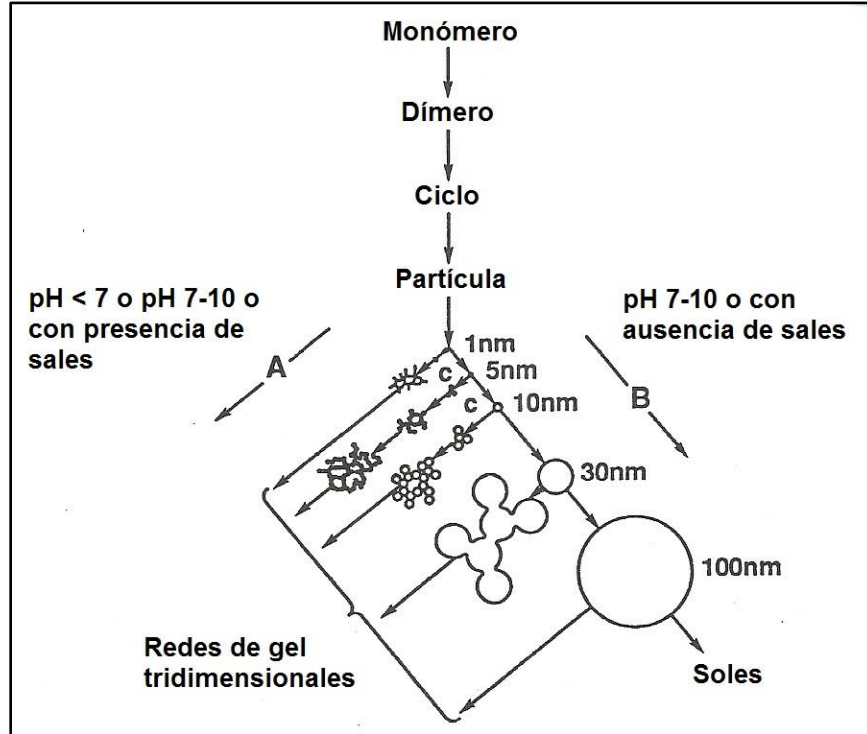


Figura 9. Formación de partículas mediante el proceso sol-gel¹²

Al encontrarse los derivados del ácido silícico en solución comienza la formación de partículas que se agregan hasta formar cadenas y posteriormente redes, dando inicio de esta manera a un proceso de polimerización, que se puede dividir en tres partes: ¹²

1. Polimerización de monómeros a partir de partículas
2. Crecimiento de partículas
3. Unión de partículas en cadenas, posteriormente redes y finalmente en geles

Esta condensación tiene lugar de tal manera que se maximiza el número de enlaces Si-O-Si y se minimiza el número de grupos hidroxilo terminales a través de la condensación interna. De este modo se forman rápidamente anillos a los que

se añaden monómeros, creando partículas tridimensionales. Estas partículas se condensan hasta el estado más compacto dejando grupos -OH en el exterior.

De acuerdo con esta secuencia de generación de geles mediante el método sol-gel, el proceso tiene la bondad de la formación de redes las cuales al entrelazarse podrán formar partículas (ver figura 10), que atrapen a alguna molécula, en este caso la glibenclamida, la cual podría quedar en el interior de la partícula por medio de la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos amino de la glibenclamida con los oxígenos de los enlaces Si-O-Si, tal como se muestra en la figura 10 y 11.

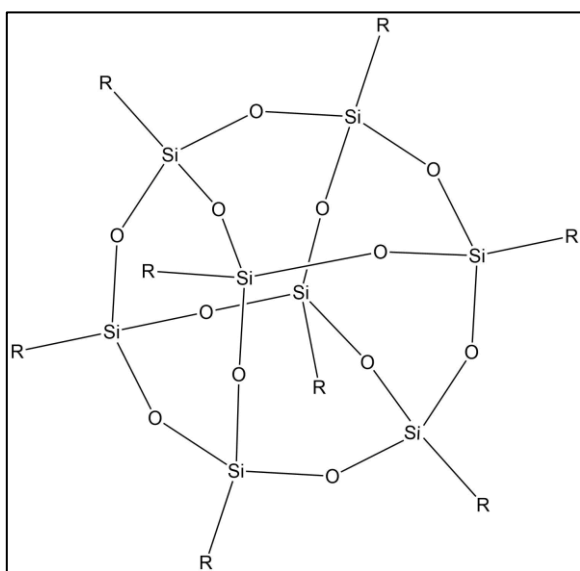


Figura 10. Estructura de una partícula de sol-gel.¹² R= -OCH₂CH₃, -OH.

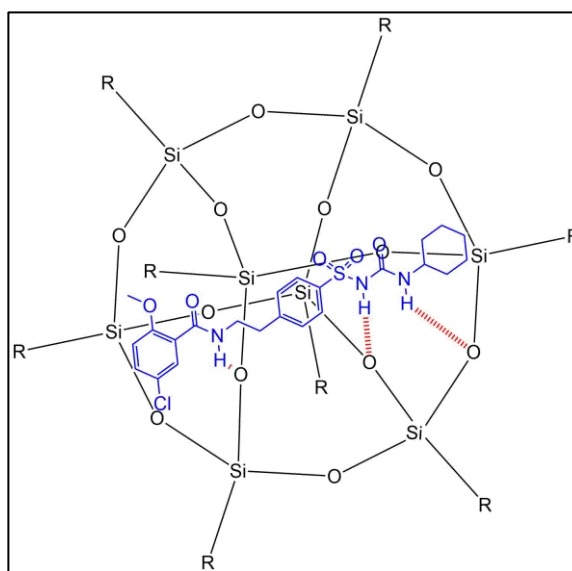


Figura 11. Encapsulación de la glibenclamida (en color azul) en el interior de una partícula de sol-gel. R= -OCH₂CH₃, -OH.

La finalidad principal de este trabajo radica en obtener materiales microparticulados con forma definida; en otros estudios^{14, 15} se han reportado la

obtención de estos materiales mediante el uso de surfactantes aniónicos y polímeros (estos últimos funcionan como soporte del fármaco) los cuales por movimientos de cargas, orientan a la molécula del principio activo para que esta forme una partícula con el polímero y que al final se pueda retirar el surfactante sin el problema de desestabilizar la micropartículas. Retomando la figura 9, un procesó de síntesis sol-gel requiere un pH entre 7 a 10, o una ausencia de sales para la formación de partículas con forma definida, como un método de obtención algunos autores^{16, 17} que trabajaron con el proceso sol-gel, reportaron que obtuvieron las partículas con el empleo de un aceite de origen vegetal.

En este caso particular el aceite al estar compuesto de ácidos grasos de cadena larga cumple el efecto del surfactante aniónico, que induce la formación de una suspensión sol/aceite, la cual al pasar por un proceso de microgoteo forma coacervados como los de la figura 12.

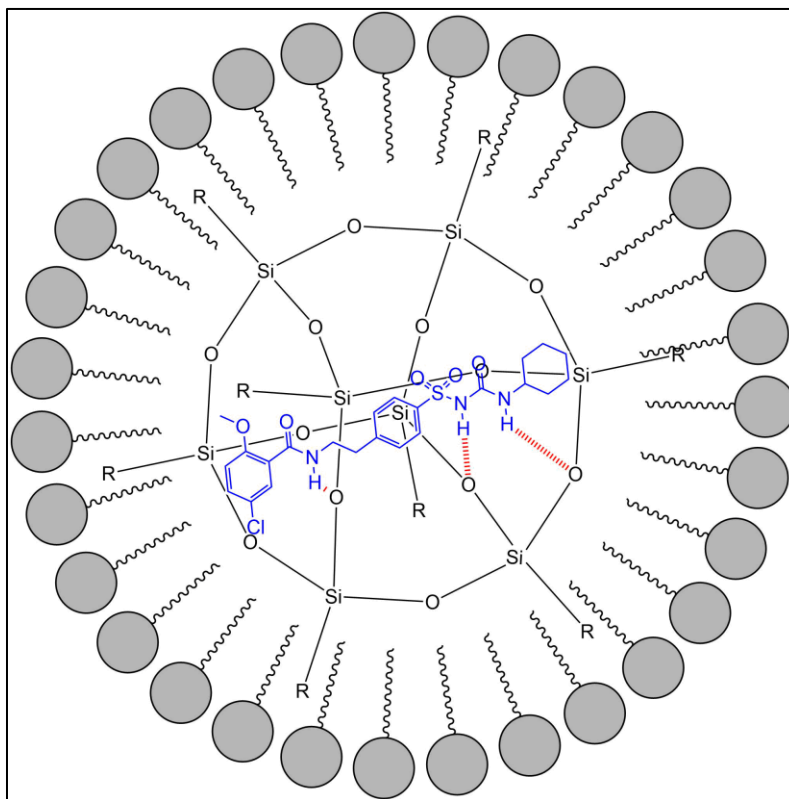


Figura 12. Micropartícula sol-gel, que tiene a la glibenclamida encapsulada y a su vez rodeada de una película de ácidos grasos y triglicéridos.

Los cuales en su interior tienen la partícula sol gel que a su vez contiene la glibenclamida fijada a la estructura mediante fuerzas de Van der Waals y enlaces de hidrogeno entre los grupos amino de la glibenclamida y la cadena de siloxanos formada por la polimerización del TEOS.

3.0 Planteamiento del problema

Una de las bondades de la tecnología sol-gel, es la capacidad, a partir de un monómero para formar redes de un solo tipo de polímero, en este caso de un polímero que tiene como base una cadena de Si-O-Si. La capacidad de estas redes de poder anclar una molécula durante su proceso de formación para dejarla en el interior representa una forma sencilla de encapsularla, además de que le puede atribuir o mejorar sus propiedades, lo cual representa una ventaja para que en el futuro se pueda diseñar una nueva forma de administración de este fármaco. Por ello, la encapsulación resulta ser el punto de partida del futuro diseño, para ello es necesario encontrar las condiciones óptimas para lograrlo, así como comprobar que en efecto se logra la encapsulación del fármaco en una micropartícula esférica modificando el tipo de aceite y la velocidad de agitación del proceso de síntesis, ya que como se mencionó anteriormente el aceite al estar compuesto de ácidos grasos de cadena larga orientara a la glibenclamida a el interior de una red de silicio producida por la polimerización del TEOS, formando una micropartículas que en su interior contendrá a la glibenclamida unida a la red de silicio mediante enlaces de hidrogeno y en su exterior el aceite empleado el cual podrá ser retirado sin comprometer la estabilidad de la partícula formada.

4.0 Objetivos

Objetivo general

Conocer el efecto del tipo de aceite y velocidad de agitación en la formación de micropartículas esféricas sol-gel que contienen glibenclamida.

Objetivos particulares

- ❖ Encontrar las condiciones de fabricación adecuadas de materiales particulados.
- ❖ Evaluar el impacto del tipo de aceites en la fabricación de los materiales particulados.
- ❖ Evaluar el impacto de la agitación en la fabricación de los materiales particulados.
- ❖ Comprobar mediante calorimetría diferencial de barrido e IR la encapsulación de la glibenclamida dentro de los materiales obtenidos.
- ❖ Conocer mediante el tamizado, la distribución del tamaño de partícula del producto final.

5.0 Hipótesis

El tipo de aceite y velocidad de agitación modifican la formación de micropartículas esféricas Sol-gel que contienen glibenclamida, afectando la encapsulación del fármaco dentro de las mismas y la distribución de su tamaño de partícula.

6.0 Diseño de experimentos

a) Tipo de diseño de investigación

Prospectivo, Transversal, Descriptivo, Experimental

b) Condiciones de fabricación de los materiales particulados

Se fabricaron los materiales particulados con los tres tipos de aceites planeados oliva, uva y aguacate, a cuatro diferentes condiciones de agitación, agitación magnética, 200 rpm, 600 rpm y 1000 rpm, dando un total de doce combinaciones, las cuales se realizaran tres veces cada una.

c) Población objetivo

Materiales particulados de tetraetil-ortosilicato (TEOS) que contengan glibenclamida. Fabricados en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza mediante el proceso sol-gel.

d) Población a estudiar

Materiales particulados de tetraetil-ortosilicato (TEOS) que contengan 100 mg de glibenclamida. Fabricados en el Laboratorio de Investigación Farmacéutica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza mediante el proceso sol-gel a las diferentes velocidades de agitación y tipos de aceites.

e) Criterios de inclusión

Materiales particulados fabricados a las cuatro velocidades de agitación y tres tipos diferentes de aceites.

f) Criterios de exclusión

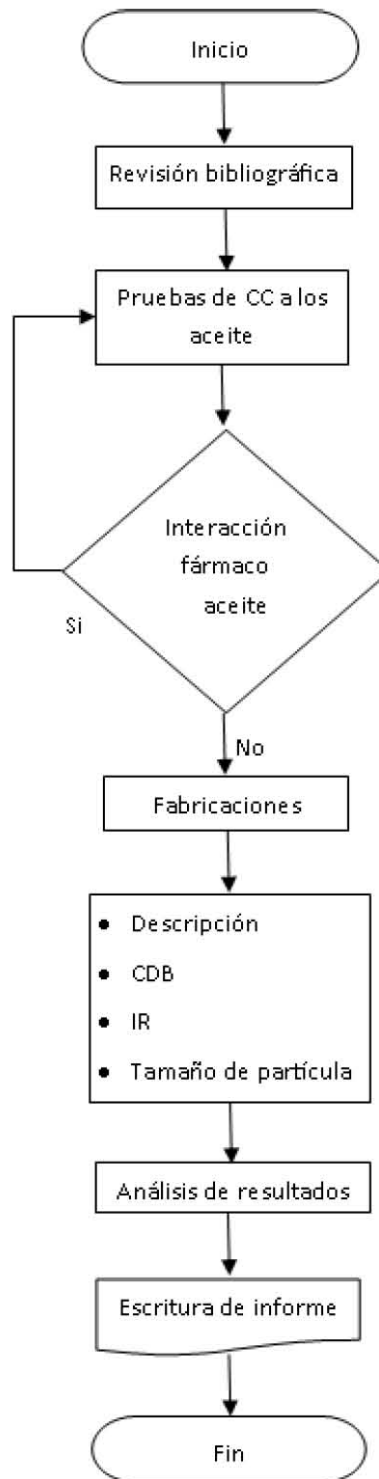
Materiales fabricados por el proceso sol-gel que no presenten forma definida.

7.0 Materiales y equipos

<i>Reactivos</i>	Glibenclamida (Principio activo)	Química alcano
	Ortosilicato de tetraetilo (TEOS)	JT Baker
	Ácido clorhídrico	Merck
	Hidróxido de amonio	Baker
	Aceite de oliva	Great Value
	Aceite de uva	Droguería mercurio
	Aceite de aguacate	Droguería mercurio
<i>Equipos</i>	Agitador vertical	Velp científica
	Bomba de vacío	Gast
	Microscopio	Biomedica-Lab
	Cámara para microscopio	Biomedica-Lab
	Estufa	Quincy Lab
	Centrifuga	Sol-Bat aparatos científicos
	Vortex	Thermolyne
<i>Instrumentos</i>	Calorímetro diferencial de barrido	Perkin Elmer DSC 7
	Balanza analítica	Mettler
	Micro balanza	OHAUS
	Balanza granataría	Ohaus
	Viscosímetro	Brookfield
<i>Material</i>	Normogotero	
	Matraces Erlenmeyer de 1L	
	Cajas Petri	
	Vasos de precipitados de diversos volúmenes	
	Gradilla	
	Tubos de ensayo	
	Probeta	
	Desecador	
	Embudo Buchner	
	Matraz Kitazato	
	Papel filtro poro cerrado	
	Picnómetro	
	Termómetro de inmersión parcial	

8.0 Metodología

Diagrama de flujo



8.1 Pruebas de control de calidad para los aceites empleados

8.1.1 Densidad

Para calibrar el picnómetro se lavó y se dejó que seque a temperatura ambiente, una vez hecho se pesó y registró el peso, posteriormente se vertió agua a 20°C hasta la sección donde comienza el esmerilado del tapón, una vez hecho esto se colocó el termómetro del picnómetro, el agua que se desbordó se limpió con papel absorbente, y se colocó la tapa del picnómetro, después se procedió a pesarlo.

Para las muestras, con el picnómetro limpio y seco se procedió a realizar el mismo método que para la calibración con agua, solo que con el aceite, cuidando de no formar burbujas y evitando dejar rastros de aceite en la superficie del picnómetro, sin dejar de tener el aceite a 20°C.¹⁸

8.1.2 Determinación de índice de saponificación

Se colocó en un matraz con tapón esmerilado de 250 mL, de 1.5 a 2.0 g del aceite, se agregó 25 mL de hidróxido de potasio 0.5 N en alcohol. Se ensambló al matraz un condensador adecuado y se procedió a calentar, manteniendo el reflujo durante 30 minutos agitando el contenido del matraz. Al finalizar se agregó 1 mL de fenolftaleína y se valoró el exceso de hidróxido de potasio con ácido clorhídrico 0.5 N previamente estandarizado. Se corrió simultáneamente una prueba de blanco de reactivos usando las mismas cantidades y valorando de la misma manera, el cálculo del índice de saponificación se realizó con la siguiente fórmula:¹⁸

Dónde:

$$28.05 \left[\frac{B - V}{m} \right]$$

28.05= Miliequivalente de la solución de hidróxido de potasio 0.5 N

B= Mililitros de la solución de ácido clorhídrico 0.5 N gastados en la valoración del blanco.

V = Mililitros de la solución de ácido clorhídrico 0.5 N gastados en la valoración de la muestra.

m = Peso en gramos de la muestra.

8.1.3 Viscosidad

Se montó los aditamentos del viscosímetro *Broockfield*, portavasos, regulador y aguja cilíndrica del número 1. Se procedió a ajustar la burbuja de nivelación. Se llenó un vaso Berzelius con el aceite a analizar a una temperatura de 20°C y se colocó de tal manera que la aguja del número uno quedara cubierta hasta la marca de agua o que el portavaso quedara a un centímetro de la base del vaso Berzelius, además este no debía de tocar las paredes del vaso. Se ajustó a una velocidad de 30 rpm y se encendió el equipo dejando que se estabilizara la rotación por 30 segundos a un minuto y se procedió a registrar la medición que marco la aguja. Se buscó el factor y se multiplico para obtener la viscosidad en centiPoise (mPa*s).¹

8.1.4 Índice de acidez

En un matraz Erlenmeyer de 250 mL con tapón esmerilado, se disolvieron 10.0 g de la muestra en 50 mL de una mezcla de alcohol-éter dietílico (1:1), se agregó 1.0 mL de fenolftaleína y se procedió a titular con hidróxido de sodio 0.1 M previamente estandarizado, hasta que un color rosa persistiera por lo menos

durante 15 segundos. Para calcular el índice de acidez se empleó la siguiente fórmula: ¹⁸

$$I = 5.61 \frac{V}{m}$$

Dónde:

I = índice de acidez de la muestra.
5.61 = Miliequivalente de la SV de hidróxido de potasio 0.1 M
V = Mililitros de SV de hidróxido de potasio 0.1 M, usados en la valoración.
m = Peso en gramos de la muestra tomada.

8.1.5 Caracterización de la pureza del aceite por calorimetría e interacción fármaco excipiente.

Se pesó una gota de aceite de entre 15 y 20 mg en un crisol de aluminio y este se colocó en el horno del calorímetro *Perkin-Elmer DSC*. Se programó un barrido térmico en el intervalo de 50 °C a 200°C, a una velocidad de 10 °C por min en una atmosfera de nitrógeno.

Para conocer si ocurren interacciones fármaco-excipiente se realizó una mezcla de aceite con glibenclamida en proporción uno a uno, de esta mezcla se pesó una muestra de entre 15 y 20 mg de la mezcla y se procedió a realizar el barrido térmico a las mismas condiciones anteriores.

Los termogramas obtenidos se analizaron con el software *Data Analysis*, de la paquetería *Pyris Manager 9.1*, corrigiendo para cada uno de ellos una línea base que corresponde al comportamiento térmico de un crisol vacío.

8.2 Fabricación de materiales microparticulados

Se montó un dispositivo de agitación mecánica compuesto por un motor vertical, soporte, base, gancho y un eje de agitación de hélice. Se colocó en un baño de hielo a un temperatura entre -2 a 2°C un vaso de precipitados de 100 mL de acero inoxidable. Se midió 10 mL de ortosilicato de tetraetilo (TEOS) y se depositó dentro del vaso, se vertió 2.4 mL de HCl 0.1 M y 100 mg de glibenclamida. Se encendió el motor y con un dispositivo de microgoteo se vertieron 2.4 mL de NH_4OH 0.08 M lentamente, una vez terminado el goteo se dejó agitando la reacción en frío por un lapso de 30 minutos (figura 13), para el caso de la agitación magnética se empleó la velocidad máxima que no generara problemas de estabilidad del vaso.

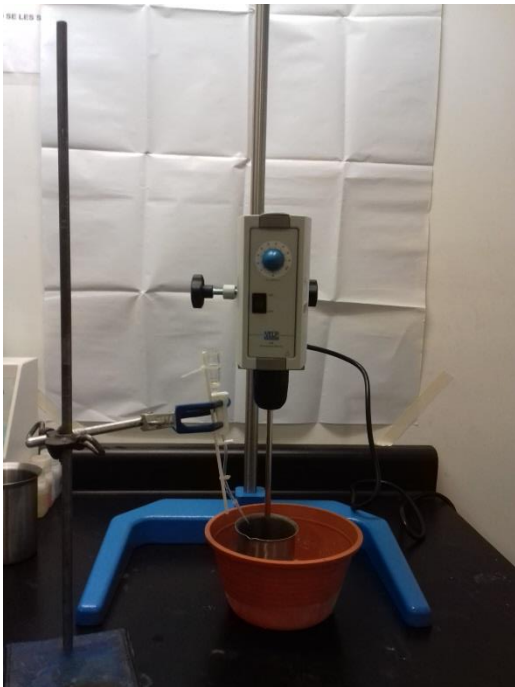


Figura 13. Microgoteo de NH_4OH en frío sobre el TEOS previamente acidificado.



Figura 14. Agitación mecánica del TEOS con el aceite.

Una vez concluido el tiempo de la reacción, se retiró el baño de hielo y se midió el volumen resultante. Se aplicó la relación de emplear 100 mL de aceite por cada 5 mL de sol. Se midió la cantidad de aceite necesaria y se depositó en un vaso de acero inoxidable de 600 mL (figura 14), se inició la agitación mecánica a las mismas revoluciones y se adicionó el sol mediante goteo auxiliado por una pipeta graduada de 10 mL. Una vez terminado de adicionar el sol se esperó un tiempo de 2 horas. Trascorrido ese tiempo se detuvo la agitación mecánica y se trasvasó la solución con el aceite a tubos de ensayo para posteriormente centrifugarse a 2000 rpm durante 5 minutos. Al finalizar se desechó la mayor cantidad de aceite sobrenadante y se guardó para estudios posteriores, se agregó agua a 1-2 °C al tubo y con una asa bacteriológica y agitación mecánica se desprendió el botón formado en el fondo del tubo, una vez terminado esto se centrifugó cada tubo a 2000 rpm durante 5 minutos. Se desechó el aceite y el sobrante se filtró a vacío. Una vez terminado el lavado, se secó el material filtrado en una estufa de calentamiento por un lapso de una hora a 60°C.

8.3 Descripción

Empleando un microscopio óptico con los aumentos de 5 y 10X, se registraron en fotografías las observaciones pertinentes de cada muestra.

8.4 Caracterización de los materiales obtenidos por calorimetría diferencial de barrido

Se homogenizó y pesó en la micro balanza una cantidad de 3 a 5 mg de muestra, se programó el barrido térmico con las siguientes condiciones 50 °C a 200°C, a una velocidad de 10 °C por min en una atmosfera de nitrógeno.

De igual manera se pesó una gota de entre 15 y 20 mg de peso, de los diferentes aceites después de las producciones, y se corrió a las mismas condiciones experimentales.

8.5 Análisis por espectroscopia de absorción por infrarrojo.

Se realizó el análisis de espectroscopía de absorción de infrarrojo a los aceites empleados y de los materiales sol-gel con el instrumento *Perkin Elmer FR-IR Spectrometer. Modelo Spectrum Two*. La información fue obtenida por ATR con cristal de diamante, los máximos de absorción de los materiales se comparó con la referencia correspondiente a la glibenclamida.

8.6 Determinación de la distribución del tamaño de partícula

Se colocaron los tamices de malla 20, 40, 60, 80, 100, 200, 270 y 400 con su respectiva tapa y base en forma de torre sobre el agitador mecánico, previamente se pasaron los materiales por una malla del número 10 para inducir la separación de los conglomerados, se pesó 1 g del material particulado y se procedió a tamizar por tres minutos. Una vez finalizado el tiempo de tamizado se procedió a pesar cada una de las fracciones obtenida y realizar un gráfico de tamaño de partícula vs por ciento de cantidad recuperada.

8.7 Análisis estadístico de la matriz de experimentos

Para conocer la influencia de las variables de estudio en la obtención de los materiales particulados, se realizó un diseño de experimentos anidado de dos etapas, el cual fue realizado con el software de la paquetería *Statgraphics Centurion XVI*.

Estadísticamente el diseño del experimento quedo de la siguiente manera:

$$y_{ijk} = \mu + \tau_i + \beta_{j(i)} + \varepsilon_{(ij)k} \quad \begin{cases} i = 1, 2, \dots, a \\ j = 1, 2, \dots, b \\ k = 1, 2, \dots, n \end{cases}$$

Es decir, hay 3 (a) tipos de aceites para la fabricación de la matriz, los cuales se evaluaron a 4 (b) tipos de velocidad de fabricación diferentes, siendo cada experimento por triplicado (n).

9.0 Resultados y análisis de resultados

9.1 Pruebas de control de calidad a los aceites empleados

Tabla 1. Resultados de las pruebas de densidad, viscosidad, índice de saponificación e índice de acidez realizado a los aceites empleados en la fabricación de los materiales particulados.

Prueba Aceite	Densidad (g/mL)	Viscosidad (CPs)	Índice de saponificación (mg de KOH por 1 g de aceite)	Índice de acidez
Oliva	$\delta=0.9134$	$v= 70.33$	$IS= 230.72$	$I= 0.3841$
	$S= 0.0008$	$S= 0.2886$	$S= 2.77$	$S= 0.0016$
	$CV= 0.0891$	$CV= 0.4104$	$CV= 1.20$	$CV= 0.4256$
Uva	$\delta=0.9243$	$v= 54$	$IS= 238.79$	$I= 0.3730$
	$S=0.0002$	$S=0.0$	$S= 0.87$	$S= 0.0018$
	$CV=0.0312$	$CV=0.0$	$CV= 0.36$	$CV= 2.2022$
Aguacate	$\delta=0.9237$	$v= 54$	$IS= 186.64$	$I= 0.3970$
	$S=0.0002$	$S=0.0$	$S= 2.52$	$S= 0.0017$
	$CV=0.0221$	$CV=0.0$	$CV= 1.35$	$CV= 1.9829$

9.1.1 Densidad

La densidad de los aceites más comunes, teniendo como referencia el agua, varía entre los 0.91 a 0.97 g/mL¹⁸. Al observar la tabla 1, los tres aceites se encuentran en ese intervalo. Una característica importante de la densidad de los aceites es

que esta disminuye cuando aumenta la saturación del ácido graso y viceversa esta aumenta cuando el ácido graso es insaturado.¹⁹

9.1.2 Viscosidad

Cuanto mayor sea el tamaño de la molécula de un aceite, tanto más alta será su viscosidad; de igual forma esta se ve aumentada respecto a la presencia de saturaciones a lo largo de la cadena de carbonos y disminuida por la instauración de la cadena.²⁰

De acuerdo con lo anterior se puede decir, que el aceite de oliva es menos denso que los aceites de uva y aguacate, pero más viscoso que estos, lo cual contrasta con lo anteriormente dicho y se puede esperar que esté compuesto en mayor medida de ácidos grasos más saturados. Por otro lado los aceites de uva y aguacate son más densos y menos viscosos, tal como sucede en los aceites que se encuentran formados por ácidos grasos más insaturados.^{20, 21}

9.1.3 Índice de saponificación (IS)

El índice de saponificación ²² (IS) se define como el número de miligramos de KOH requeridos para saponificar los ácidos grasos libres y combinados, presentes en un gramo de grasa y su valor es una manifestación del peso molecular promedio. Las grasas que contienen ácidos grasos de cadena corta consumen más KOH en su saponificación mostrando IS más grandes y las que se encuentran formadas por ácidos grasos de cadena larga consumen menos álcali exhibiendo valores pequeños de Índice de saponificación. En cuanto a los aceites empleados se puede decir que el aceite de uva tiene una cadena de carbonos más larga,

siguiéndole el aceite de oliva y el aceite de aguacate al final, siendo este el más pequeño.

9.1.4 Índice de acidez

La acidez mide la cantidad de ácidos grasos libres que hay en el aceite, por eso la acidez es un indicador general de la calidad de los aceites, este se define como la cantidad de miligramos de hidróxido necesaria para neutralizar los ácidos grasos libres presentes en un gramo de aceite y constituye una medida del grado de hidrólisis de una grasa. Tomando como referencia el aceite de oliva se dice que cuando es extra virgen su índice de acidez es menor o igual que 0.8° y cuando es virgen es menor a 2.0° , y se dice que mientras más bajo sea este valor es de mayor calidad, de acuerdo a los resultados de la tabla 1 los aceites presentan un índice de acidez muy similar entre $0.37-0.39^\circ$ lo cual es un indicativo que su grado de hidrólisis es mínimo.^{23, 24}

9.1.5 Caracterización por espectroscopía de infrarrojo de los aceites empleados

La espectroscopía del infrarrojo es sumamente útil para determinaciones cualitativas de compuestos orgánicos y para deducir estructuras moleculares a partir de sus grupos funcionales tanto de compuestos orgánicos como inorgánicos. En el análisis cualitativo la espectroscopia de infrarrojo puede usarse para la identificación de sustancias puras o para la absorción, localización e identificación de impurezas.²⁵

En la figura 15 se pueden apreciar los espectros de infrarrojo de las muestras de los aceites empleados.

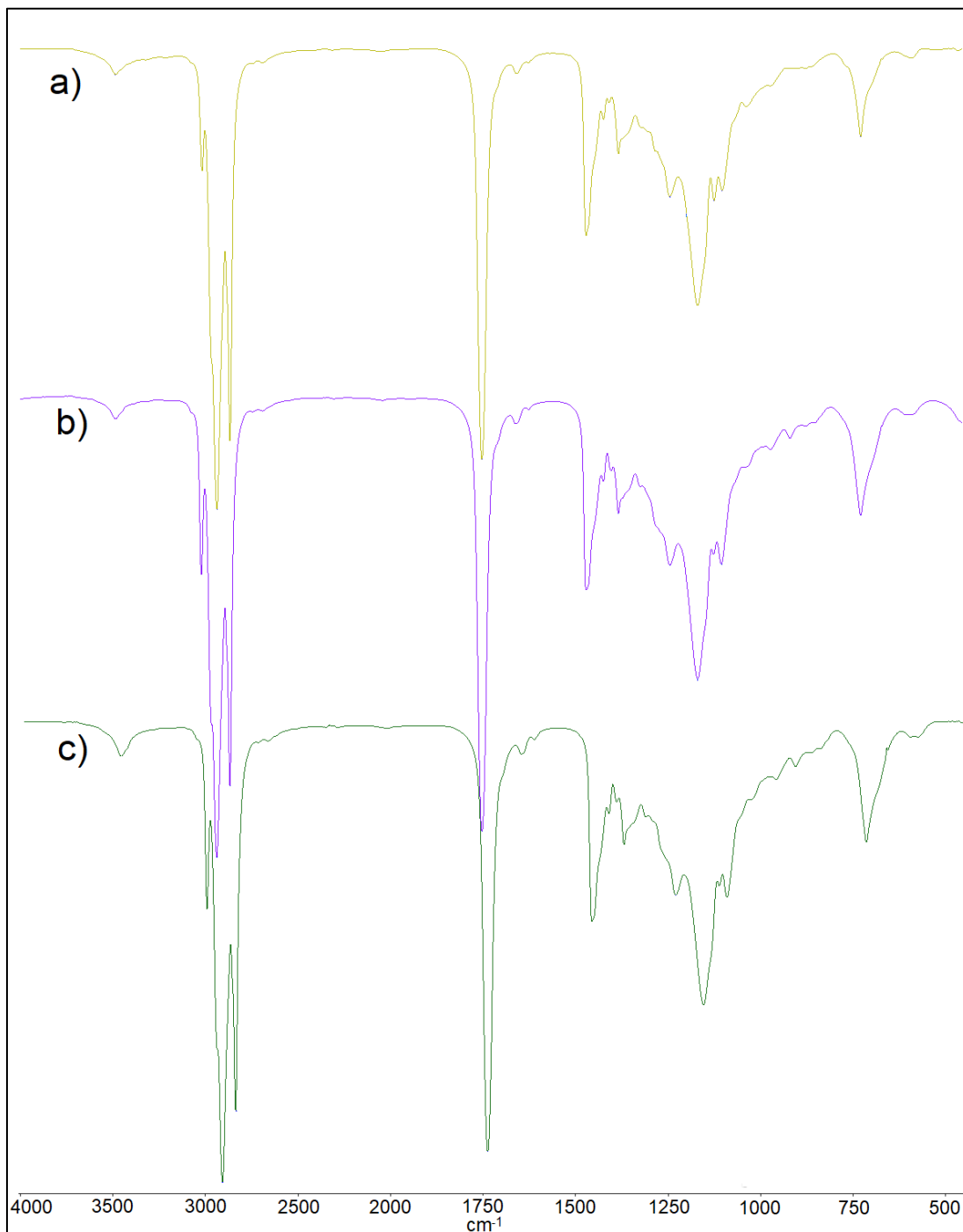


Figura 15. Espectros IR realizados a los aceites empleados. a) aceite de oliva, b) aceite de uva y c) aceite de aguacate.

Se pone en evidencia a simple vista que para los tres aceites los espectros IR son prácticamente iguales, lo que se puede interpretar como que su composición química es similar. Para evidenciar más aun esto en la siguiente tabla 2 se exponen la longitud de onda a la que absorben los grupos funcionales más comunes en un aceite.

Tabla 2. Datos obtenidos a través de los espectros de infrarrojo de los aceites.

Grupo funcional	O-H v 3650-3200	-CH₂- v_{as}= 2925 v_s= 2850 δ= 725-720	C=O De un Éster v=1750-1735	C=C v= 1640-1680	-CH₃ δ_{as}= 1460
Oliva	3472.64	2925.08 2854.33 722.82	1745.54	1640.09	1465.08
Uva	3472.98	2925.98 2854.68 722.91	1745.16	1640.23	1454.88
Aguacate	3471.54	2925.60 2854.53 722.76	1745.93	1640.24	1464.77

v= estiramiento, v_{as}= Estiramiento asimétrico, v_s= Estiramiento simétrico, δ= torsión.

Con estos datos se puede deducir que los aceites se encuentran formados por triglicéridos que poseen ácidos grasos de cadena larga que poseen insaturaciones en su estructura, además se pone de manifiesto que como estos aceites tienen

una estructura química similar, el impacto en la formación de micropartículas no depende de la estructura química sino de alguna otra característica.^{26, 27 y 28}

9.1.6 Caracterización de la pureza del aceite por calorimetría e interacción fármaco excipiente

La Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) es una técnica de análisis térmico empleada en la medida de temperaturas y flujos de calor asociados con transiciones de fases de la materia como cristalización, fusión y evaporación, o con reacciones químicas como hidrólisis y oxidación, todo esto como una función de la energía y de la temperatura. En el estudio de los aceites vegetales se emplea para conocer las propiedades fisicoquímicas y las interacciones entre los triglicéridos que componen un aceite vegetal.^{29, 30}

En la figura 16 se aprecian los termogramas realizados como control de calidad de los aceites de oliva, uva y aguacate así como su comportamiento al adicionarse glibenclamida en una proporción uno a uno. En la figura 16 a, se visualiza que la glibenclamida tiene una endoterma que indica su punto de fusión a los 176.5°C. Respecto a las figuras 16 b, d y f se puede apreciar que las muestras de aceite no presentan signos de impurezas o degradación térmica que se presentarían como variaciones de la energía formando endotermas a lo largo del proceso de calentamiento.

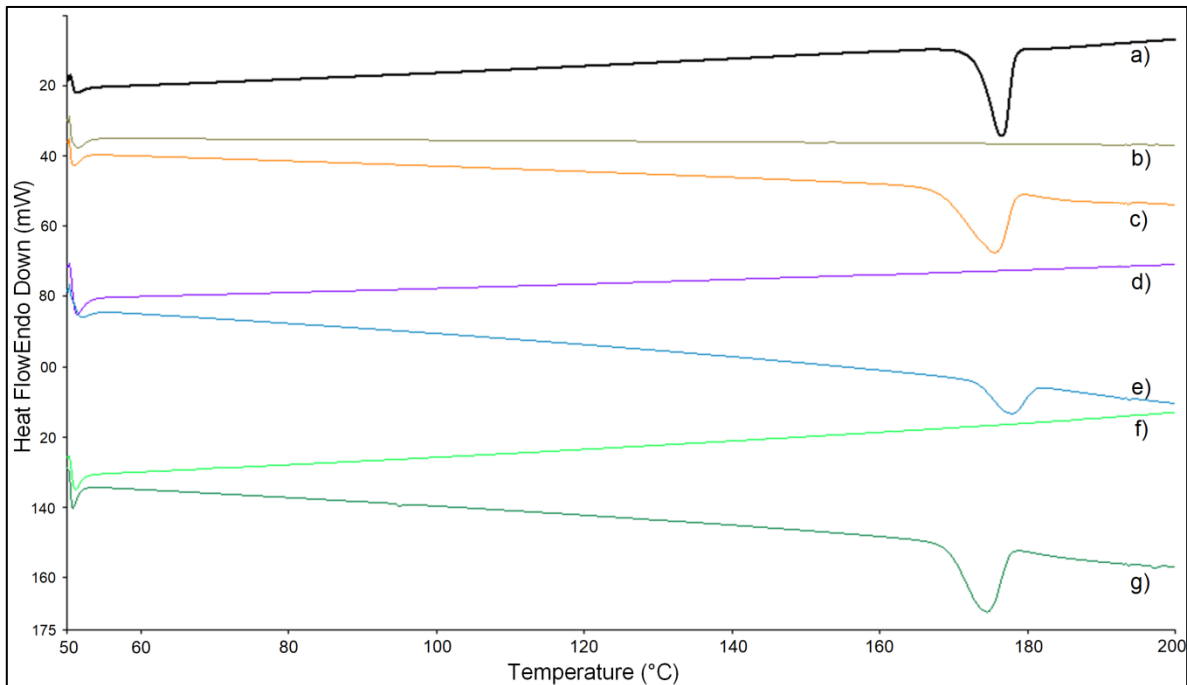


Figura16. Análisis térmico de los aceites empleados, así como mezclas de estos con glibenclamida. a) Glibenclamida, b) Aceite de oliva, c) Aceite de oliva con glibenclamida, d) Aceite de uva, e) Aceite de uva con glibenclamida, f) Aceite de aguacate , g) Aceite de aguacate con glibenclamida.

Respecto a la temperatura de fusión de las mezclas de aceite con glibenclamida son las siguientes, aceite de uva con glibenclamida (figura c) 175.5°C, para la glibenclamida con aceite de uva (figura 16 e) el punto de fusión aumento a 177.67°C y por ultimo disminuye nuevamente para la mezcla con aceite de aguacate llegando a los 174.5°C. Cabe recordar que el intervalo de fusión que se obtiene de la glibenclamida como materia prima es de 173.12-178.21°C por lo cual estos puntos de fusión de la mezclas entran en el intervalo y no ocurre alguna interacción.

9.2.1 Descripción

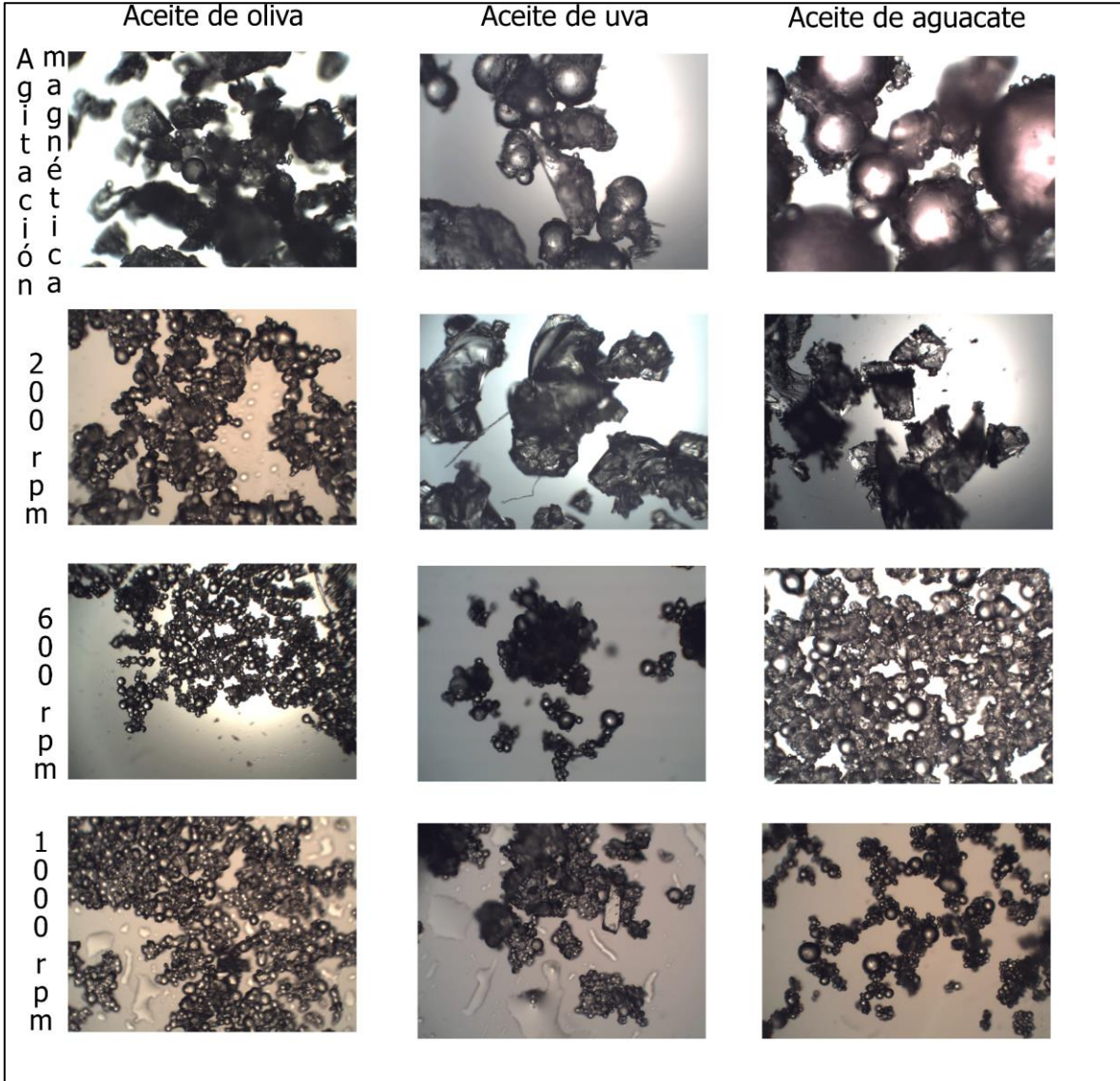


Figura 17. Partículas sol-gel obtenidas con tres tipos de aceites diferentes así como a diferentes velocidades. Aumento de 10 X.

En la figura 17 se muestra una fracción de las partículas sol-gel cargadas con glibenclamida, algunas de forma esférica, además se puede observar variabilidad en las producciones principalmente entre las partículas fabricadas con las velocidades más bajas que son la agitación magnética y las 200 rpm. Cabe resaltar que los productos resultantes de agitación magnética de aceite de oliva y

uva presentaron una combinación entre partículas esféricas y fragmentos de sol que gelificó sin formar estructuras de forma definida, respecto a las partículas fabricadas con aceite de aguacate resultaron ser las más grandes, pero al observar más detenidamente la imagen se aprecian esferas pequeñas pegadas a las más grandes. Además estas partículas fabricadas con aceite de aguacate presentaron la característica de tener un color rosa al finalizar la producción, lo cual se repitió en toda la serie fabricada con este aceite.

En la serie de 200 rpm se aprecia que solo en las fabricadas con aceite de oliva presentaron forma definida y las de uva y aguacate solo presentan fragmentos de sol sin una forma predominante.

Las fabricaciones de los tres tipos de aceite a las velocidades de 600 y 1000 rpm presentaron una morfología similar en todas las combinaciones. Se aprecian partículas de forma esférica con un tamaño similar entre ellas, además de que visualmente presentan un tamaño similar entre unas y otras.

9.2.2 Análisis térmico de las partículas, por calorimetría diferencial de barrido

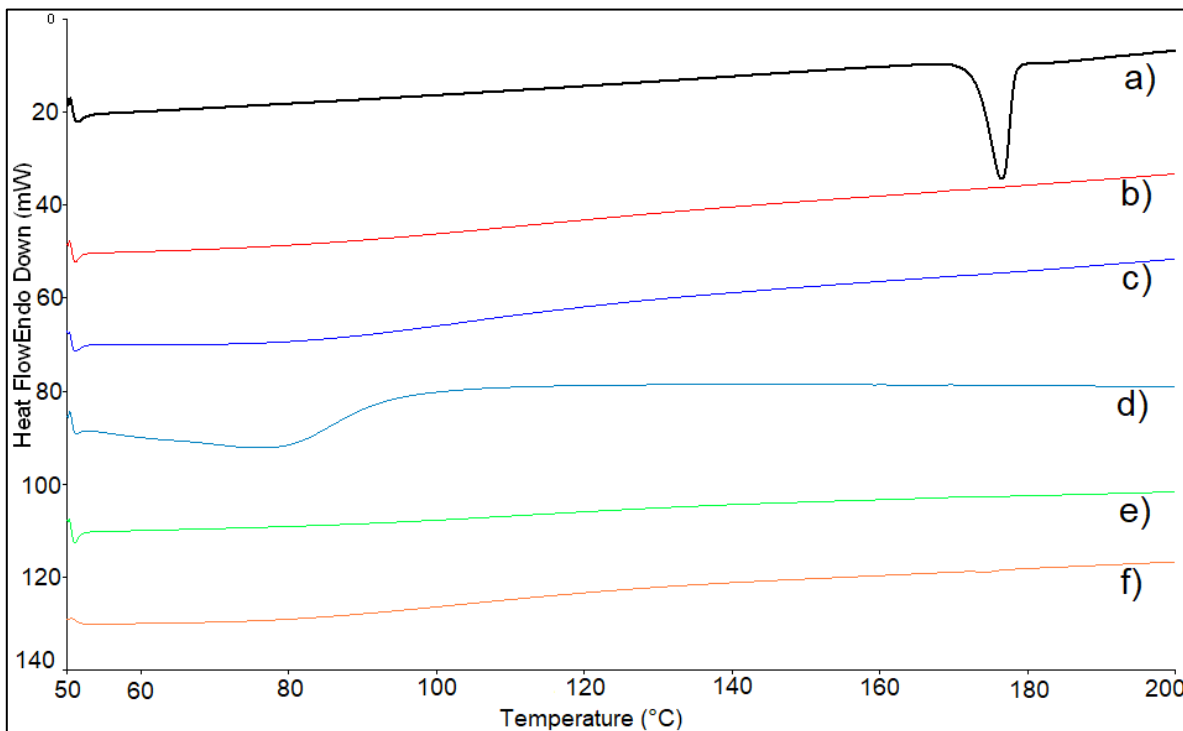


Figura 18. Análisis térmico de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de oliva a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

La figura 18 presenta los termogramas de las partículas obtenidas con aceite de oliva, en los termogramas b, c, d, e y f se puede apreciar que antes de los 100°C ocurre un cambio en la pendiente lo que se puede interpretar como la pérdida de agua, la cual quedó como remanente de los lavados para tratar de eliminar el aceite de las partículas. Para las figuras 18 c, d, e y f se observa que a los 176.5°C no se presentan endotermias de fusión, lo cual se puede interpretar como que la red de siloxanos encapsuló la glibenclamida, fijándola y de esta manera impidiendo que se funda.^{13, 31}

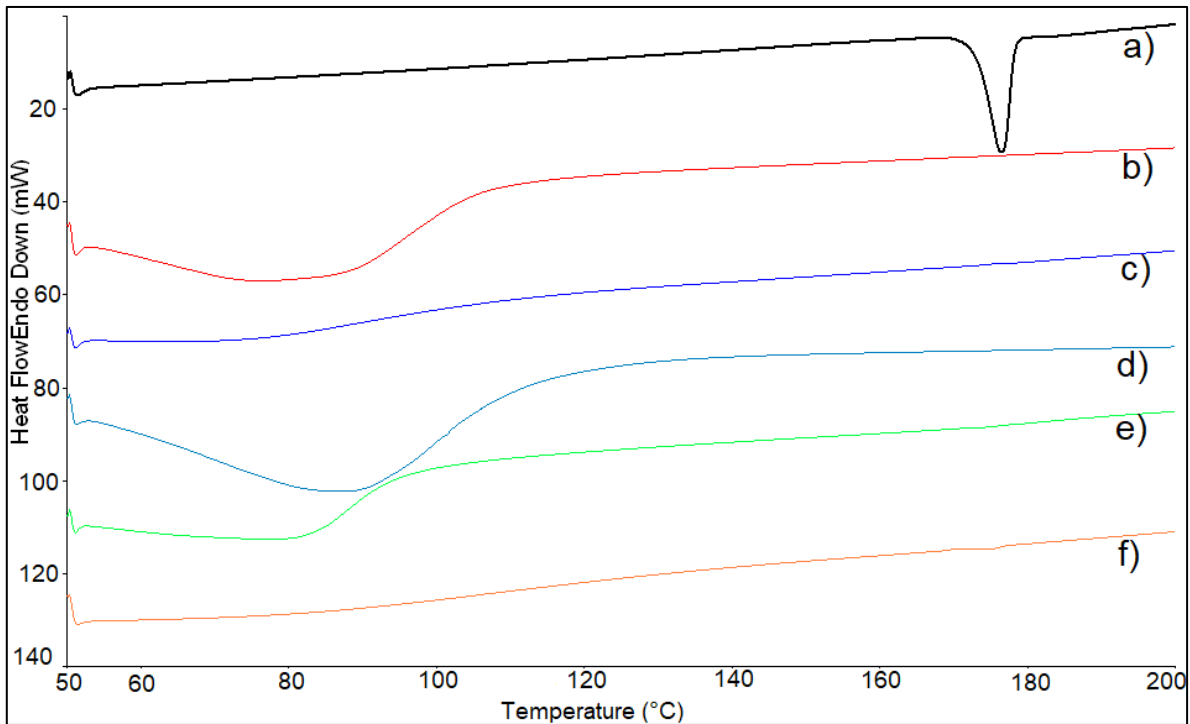


Figura 19. Análisis térmico de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de uva a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

En la figura 19 se distinguen de manera general para estos materiales sol-gel, que antes de los 100°C se pierde el agua adquirida durante el proceso de lavado. En los procesos de agitación magnética, 200 rpm y 600 rpm, no se presenta endoterma de fusión salvo, en el proceso de 1000 rpm que presenta una perturbación del proceso a los 176.17°C, con un 0.3183 mW de energía y 0.9971 J/mol de entalpia cedida por el sistema la cual es mínima.

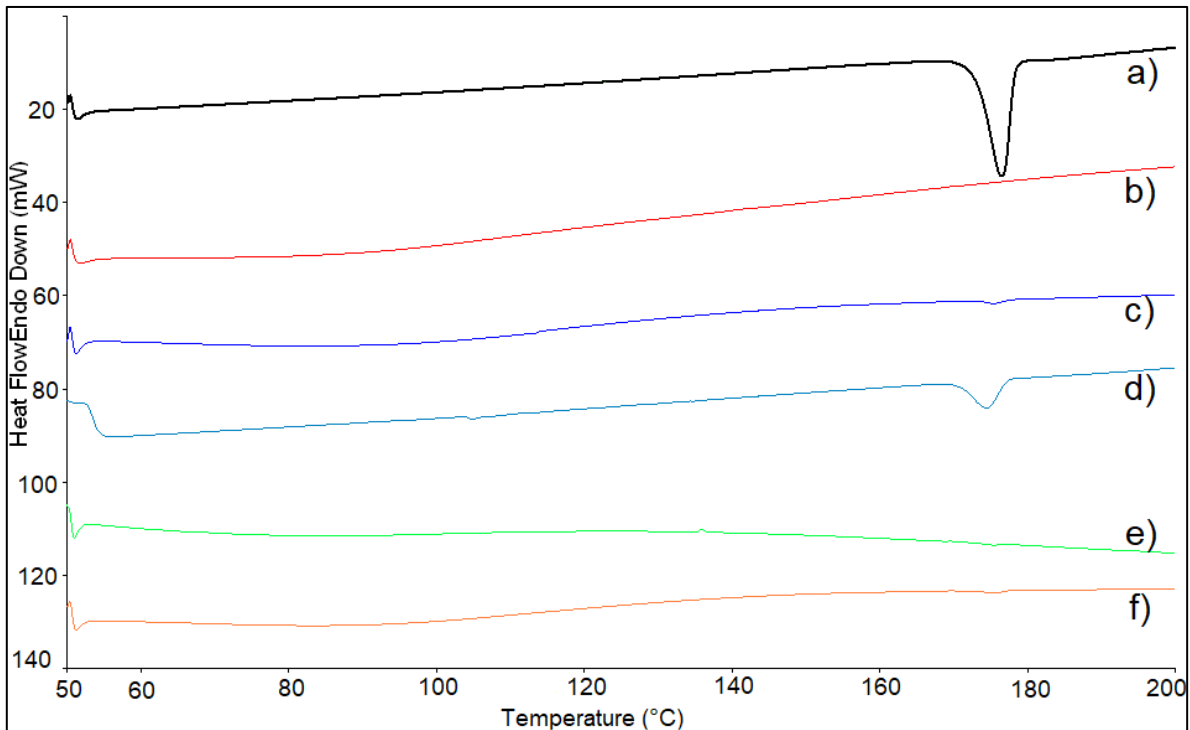


Figura 20. Análisis térmico de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de aguacate a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

En esta figura 20 se distingue que en todas las producciones se presentan la pérdida de humedad característica de estos materiales antes de los 100 °C. Al situar la zona del punto de fusión de la glibenclamida se tiene que los materiales presentan endotermias de fusión en todos los procesos, en agitación magnética a los 175.5 °C con una intensidad de 0.6449 mW y un ΔH de 1.7374 J/g, en las partículas de a fabricadas con 200 rpm se obtuvo que presentan una fusión a los 174.5 °C con una intensidad de 5.7604 mW y un ΔH de 21.537 J/g, las fabricadas a 600 rpm la presenta en menor medida a los 175.5 °C con una intensidad de 0.4797 mW y un ΔH de 0.6464 J/g. Finalmente la fabricación a 1000 rpm tiene una fusión a 175.33 °C con 0.4797 mW y 7.3559 J/g. De acuerdo con lo anterior se puede decir que en este caso la producción con aceite de aguacate no logró el

objetivo de que en la red de siloxanos atrapara la glibenclamida e impidiera su movimiento y de esta forma quedar fijada.

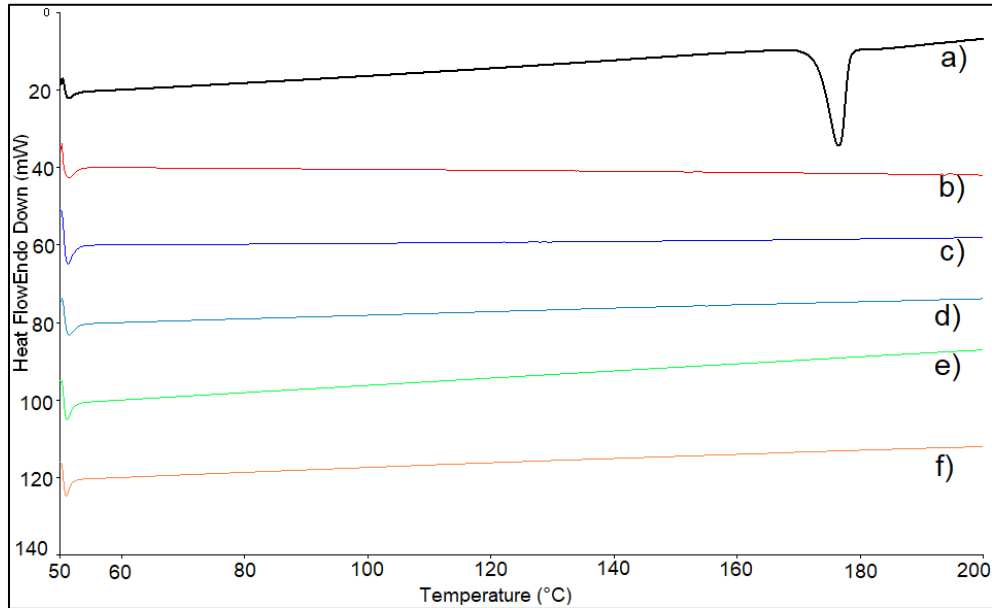


Figura 21. Análisis térmico del aceite de oliva al finalizar la producción de materiales particulados a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

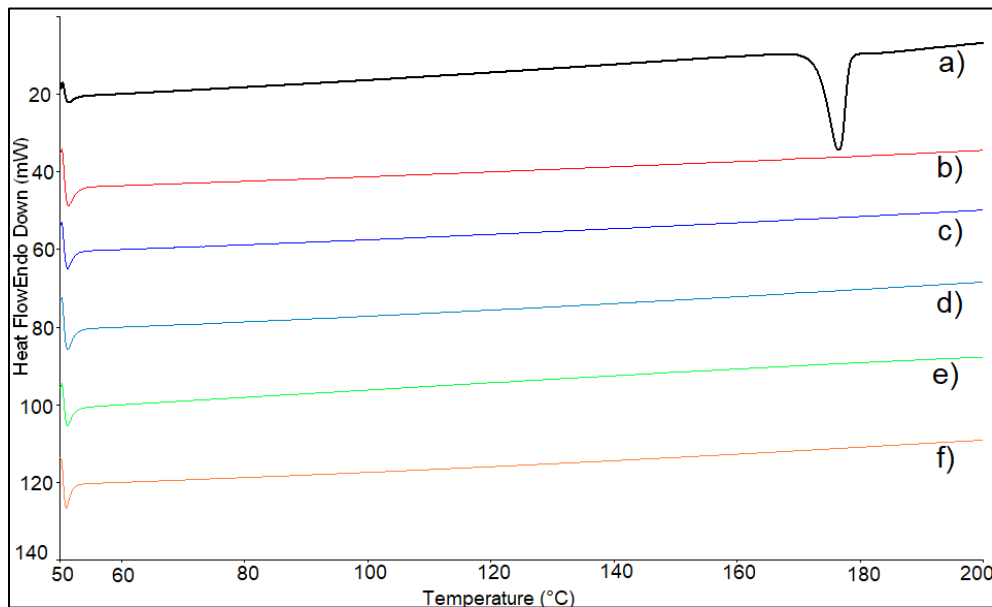


Figura 22. Análisis térmico del aceite de uva al finalizar la producción de materiales particulados a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

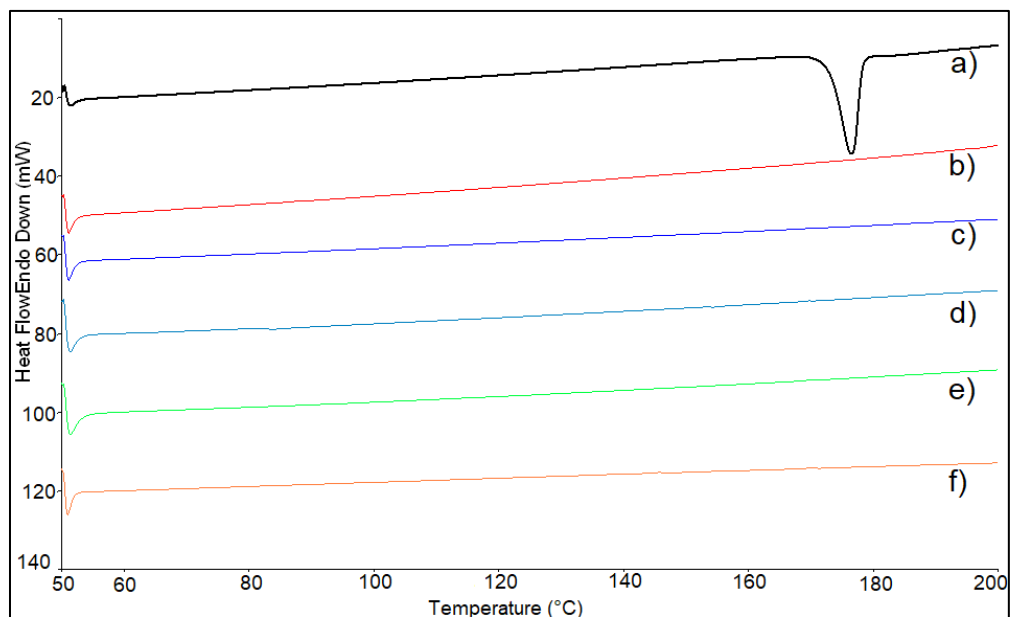


Figura 23. Análisis térmico del aceite de aguacate al finalizar la producción de materiales particulados a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

Al analizar los termogramas de la figuras 21, 22 y 23, de manera general se pone de manifiesto que en ninguno de los aceites que quedan del proceso de fabricación, presenta endotermas de fusión a los 176.5 °C, lo cual se puede interpretar indirectamente como que el fármaco quedó atrapado en la reacción de polimerización de los siloxanos, lo cual le impide fundir libremente.

9.2.3 Análisis de espectroscopía de absorción por infrarrojo.

En la figura 24 se pueden apreciar los espectros de infrarrojo de la glibenclamida como materia prima, al igual que el de las partículas sol-gel, en la figura 24 se tiene a la glibenclamida que presenta a los 3312.7 cm^{-1} una señal de alargamiento del enlace N-H de la urea, a los 1713.83 y 1615.57 cm^{-1} se encuentran las señales de alargamiento del grupo carbonilo de la urea y amida respectivamente. La señal de 1519.58 cm^{-1} corresponde a la torsión del enlace N-H de la amida secundaria. En los 1340.74 cm^{-1} y 1156.46 cm^{-1} se tiene a las señales del doble enlace S=O del grupo sulfonilo de la sulfonamida.

En la figura 24 b se tiene el espectro de infrarrojo de placebo de las micropartículas fabricadas con aceite de olivo, en el intervalo de los 3500 cm^{-1} a los 3200 cm^{-1} se presenta el alargamiento del grupo hidroxilo de los silanoles (Si-OH), posteriormente a los 2923.12 , 2853.67 y 722.17 cm^{-1} las bandas de alargamiento asimétrico, alargamiento simétrico y torsión de los metilenos (-CH₂-) los cuales se forman las cadenas alifáticas de los ácidos grasos que componen el aceite de oliva, a los 1744.76 cm^{-1} se encuentra la señal de alargamiento del grupo carbonilo de un éster, en los 1039.78 cm^{-1} se distingue la banda característica de torsión de los enlaces siloxanos (Si-O-Si) y finalmente en los 789.44 cm^{-1} se encuentra la señal de torsión del enlace Si-O.^{32,33 y 34} con estos resultados se pone en evidencia de que se formó una cadena de siloxanos por el proceso de polimerización.

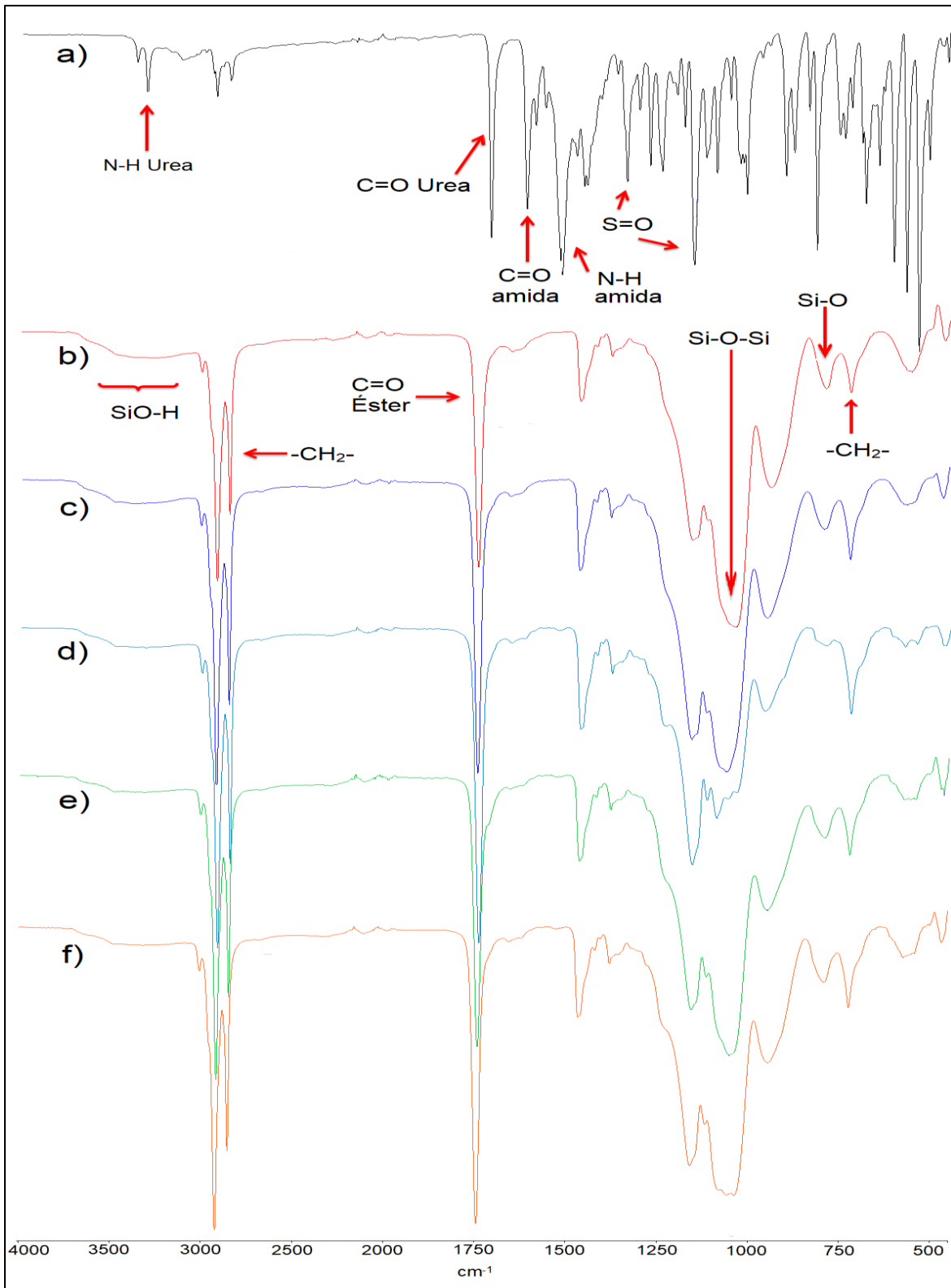


Figura 24. IR de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de oliva a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

En las figuras 24 c, d, e y f se presentan los espectro infrarrojo de las partículas que contienen glibenclamida en su proceso de fabricación a distintas velocidades, de manera general en estos se pueden observar las señales de alargamiento de los enlace Si-OH previamente vistas en la muestra de placebo, lo cual se explica que en la estructura final tienen grupos silanoles libres que pueden formar enlace de hidrogeno, al ir disminuyendo la longitud de onda se aprecian las bandas de los metilenos a los 2923, 2853 y 722 cm^{-1} y a los 1744 cm^{-1} tenemos el alargamiento del carbonilo de un éster con lo cual podemos decir que existen trazas de aceite de oliva que no se pudieron eliminar durante el proceso de lavado. Entre los 1158 y 1156 cm^{-1} se tiene una señal que de igual forma aparece en el placebo, pero a su vez esta aparece en la glibenclamida como el alargamiento del grupo sulfonilo a los 1156 cm^{-1} , pero ya que no se distingue banda significativa en los 1340 cm^{-1} no es posible poner de manifiesto la no encapsulación de la glibenclamida en las partículas sol gel.

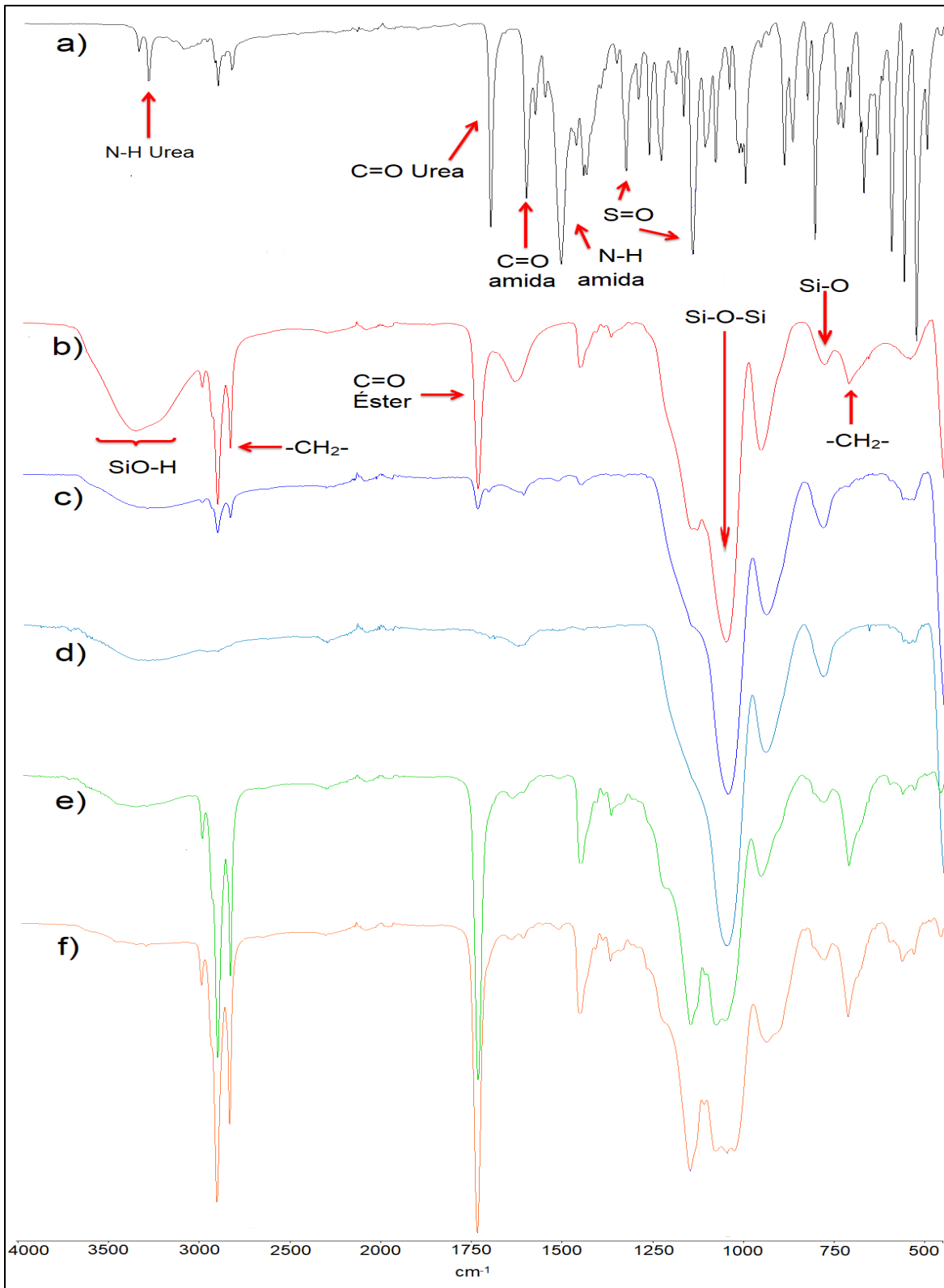


Figura 25. IR de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de uva a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

En la figura 25 se tiene el espectrograma de la glibenclamida en comparación de las partículas sol gel, pero ahora estas fabricadas con aceite de uva, en primera instancia en el inciso a se tiene a la glibenclamida anteriormente explicada. En inciso b se tiene el placebo fabricado con aceite de uva, se aprecia en los 3377.89 cm^{-1} las interacciones de alargamiento de los enlaces de los silanoles, características de compuestos resultantes de la polimerización del TEOS, a los 2924.35 , 2854.31 y 721.79 cm^{-1} se presentan los metilenos de las cadenas de los ácidos grasos y a los 1744.41 cm^{-1} el carbonilo del éster de ácido carboxílico. En los 1059.63 cm^{-1} se aprecia la banda producto de la torsión del enlace de los siloxanos y a los 789.44 cm^{-1} la vibración de estos mismos en la red recientemente formada.

En la figura 25 c y d, se encuentran las muestras que corresponden a las partículas fabricadas a las velocidades más bajas con el aceite de uva, cabe recordar que estas partículas no presentaron una forma esférica sino que irregular, en ambos espectrogramas se observa, las bandas producidas por los silanoles entre los 3700 y 3500 cm^{-1} , no se observan señales de los metilenos en la región fundamental y tampoco en la región de la huella dactilar, además de que la señal del éster es mínima en comparación de las demás y si se observa las señales alargamiento de los enlaces Si-O-Si y de Si-O a los 1054 y 792 cm^{-1} respectivamente.

En comparación en los incisos e y f se aprecian nuevamente las mismas bandas que presenta el placebo 2923 , 2854 , 722 cm^{-1} de lo metilenos, 1744 cm^{-1} del éster, 1058 cm^{-1} de los enlaces Si-O-Si y los 792 cm^{-1} de los alargamientos de Si-O.

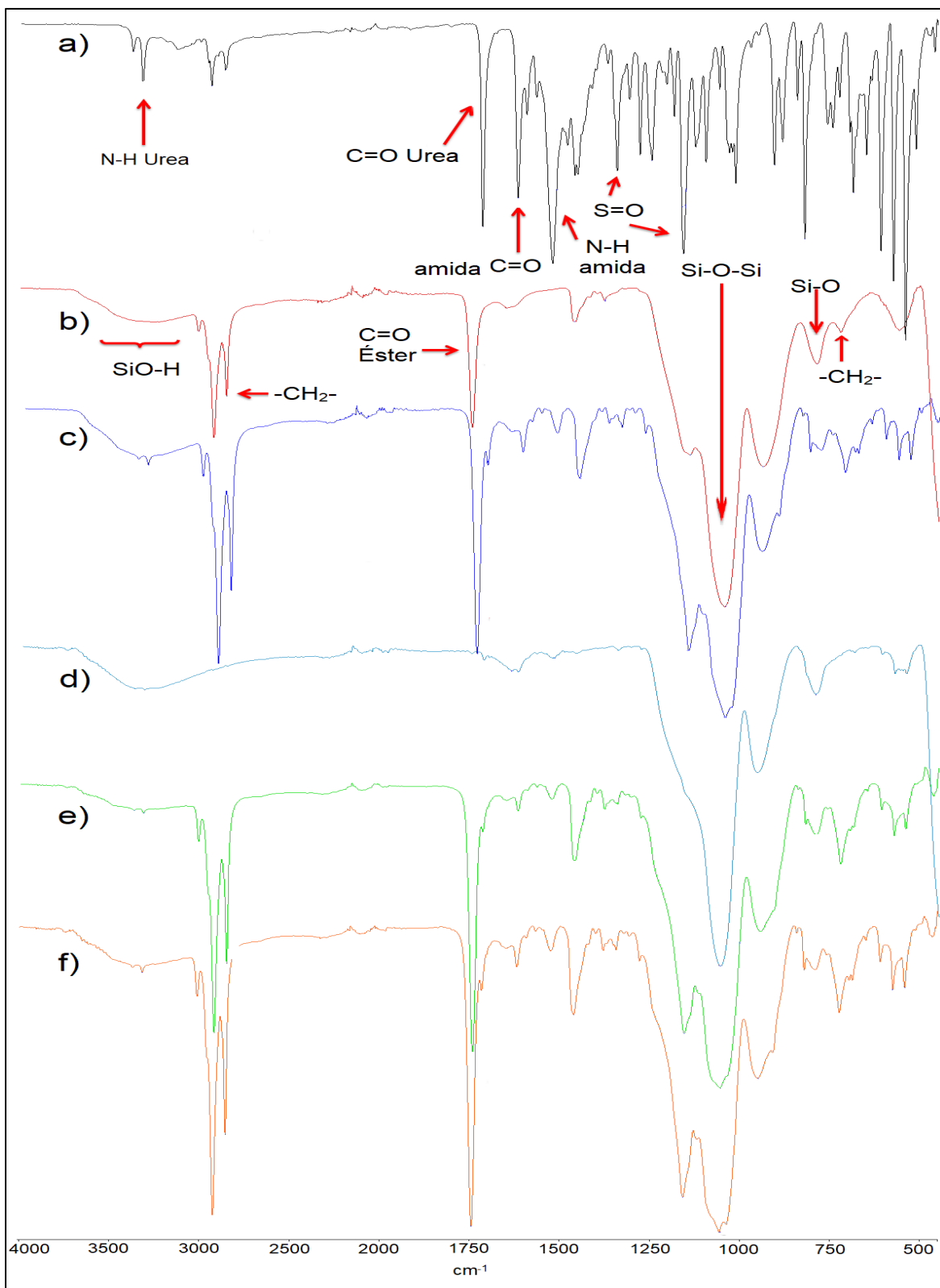


Figura 26. IR de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de aguacate a distintas velocidades. a) Glibenclamida, b) placebo, c) agitación magnética, d) 200 rpm, e) 600 rpm y f) 1000 rpm.

En la figura 26 se tienen los espectros infrarrojos de la micropartículas fabricadas con aceite de aguacate, en primer lugar se tiene el espectros de la glibenclamida, en la figura 26 b se tiene entre los 3500 y 3200 cm^{-1} las interacciones de alargamiento de los silanoles, además estas se confirman con las banda que se encuentran en los 1044.14 cm^{-1} correspondiente a la cadena de siloxanos y en los 788.11 cm^{-1} el alargamiento de los enlaces Si-O. En los 2924.13, 2854.12 y 768.11 cm^{-1} se encuentran las bandas de los metilenos y en los 1744.75 cm^{-1} la señal de alargamiento del carbonilo del éster, con lo que se pone de manifiesto que en la estructura de la micropartículas no se retira todo el aceite del proceso de producción. En cuanto a las especies químicas presentes en la figuras 24 c, d, e y f se observa que estas presentan una cadena de siloxanos (1058-1055 cm^{-1}) que sufre una torsión (794 y 789 cm^{-1}) y que posee grupos hidroxilo libres (3500-3200 cm^{-1}). Además que esta tiene cadenas alifáticas (2924, 2854 y 722 cm^{-1}) excepto en la figura 26 d que corresponde al proceso sometido a 200 rpm en el cual no se aprecia rastro de estas cadenas y además no presenta banda a los 1744 cm^{-1} que corresponde al éster, como en el caso de las otras micropartículas que si lo tienen. De manera particular en este grupo de micropartículas se presenta una banda a los 3312 cm^{-1} que corresponde con la que presenta el enlace N-H de la urea de la glibenclamida, además en la región de la huella dactilar se presentan una banda a los 1520 cm^{-1} que confirmaría que el enlace N-H no fue encapsulado por la red de siloxanos.

9.2.4 Distribución del tamaño de partícula

El tamaño de partícula es de suma importancia ya que de él depende la clasificación de las partículas fabricadas^{3 y4} y la futura vía de administración⁶, este se evaluó mediante el tamizado de las muestras y se obtuvieron los siguientes resultados.

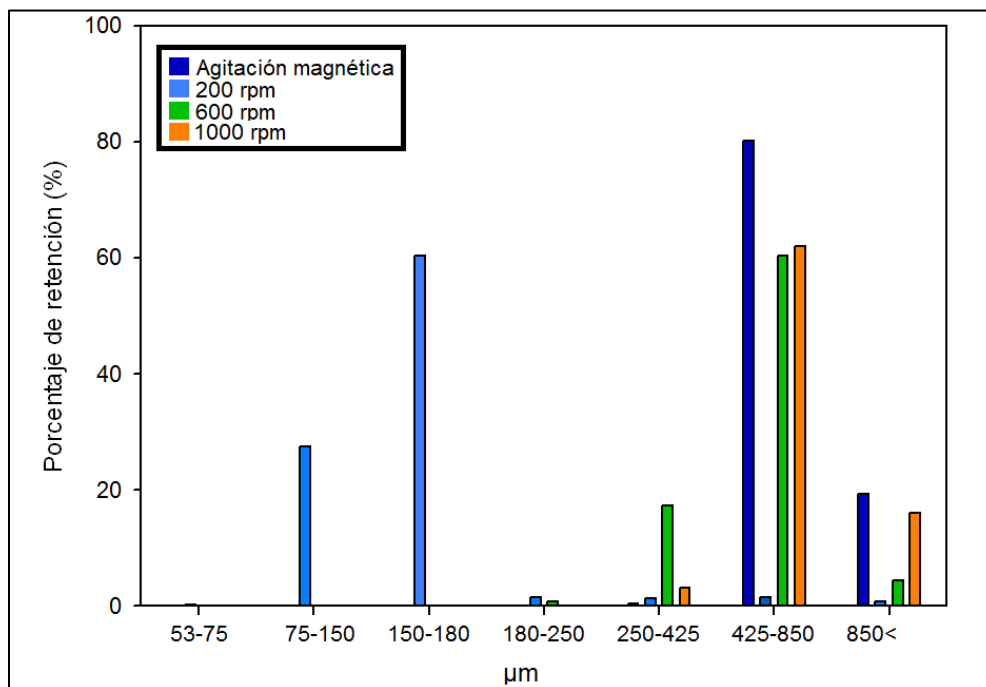


Figura 27. Distribución del tamaño de partícula de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de oliva a distintas velocidades.

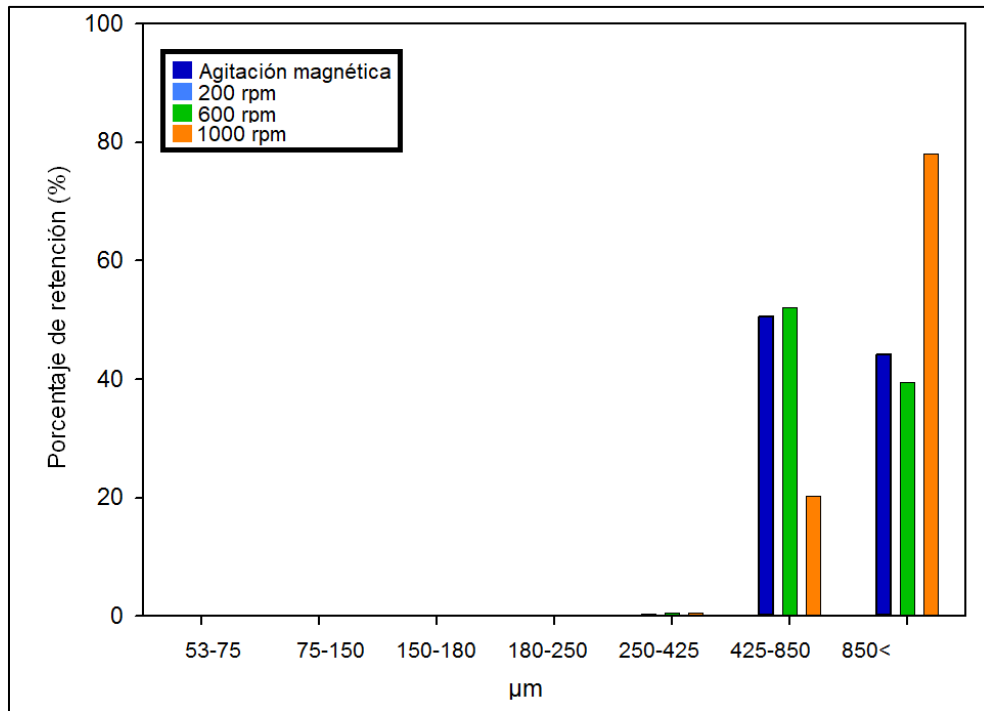


Figura 28. Distribución del tamaño de partícula de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de uva a distintas velocidades.

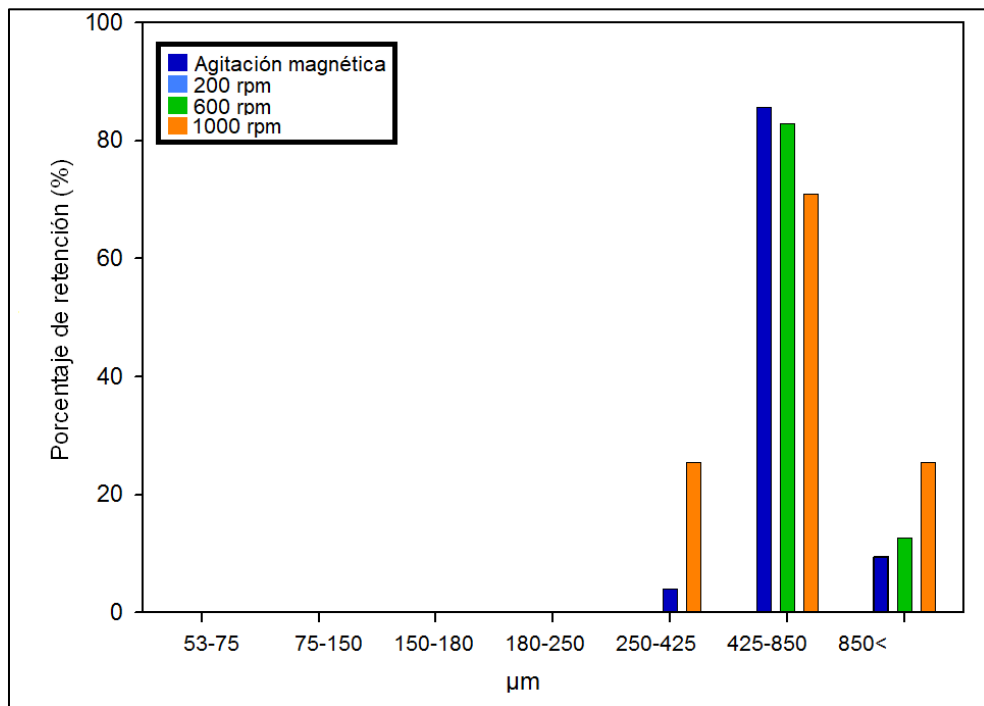


Figura 29. Distribución del tamaño de partícula de los materiales sol-gel obtenidos con aceite de aguacate a distintas velocidades.

En las gráficas de las figuras 27, 28 y 29 se observa una tendencia que corresponde a que el tamaño de partícula predominante se encuentra en un intervalo de los 425 a 850 μm , lo que clasificaría como partículas a los materiales obtenidos en las distintas fabricaciones, salvo en el caso de las partículas obtenidas a 200 rpm, en aceite de oliva (figura 27) que presenta un mayor porcentaje de tamaño de partícula entre los 150 a 180 μm , lo que indicaría la presencia de micropartículas. Otra tendencia que se observó fue que en todas las fracciones retenidas en las mallas, presentaron la formación de conglomerados, los cuales al observarse en el microscopio se apreciaban que estaban compuestos por partículas más pequeñas, en la figura 30 se presentan los conglomerados rotos.

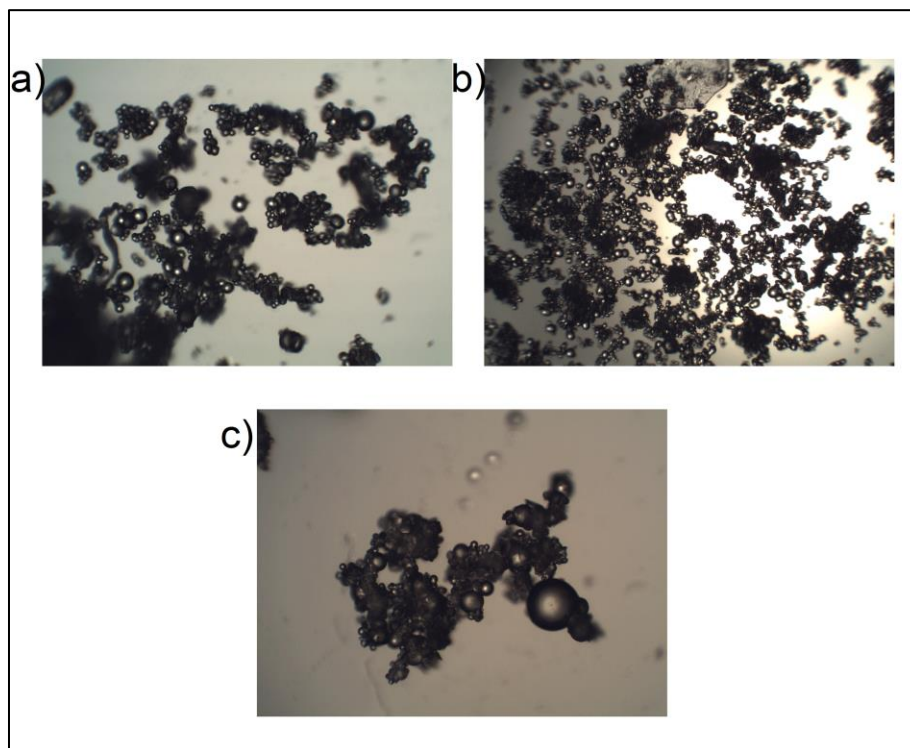


Figura 30. Vista al microscopio de los conglomerados con un tamaño de partícula mayor a 250 μm . a) Aceite de oliva, b) aceite de uva y c) aceite de aguacate.

De acuerdo a lo anterior se puede asegurar que mediante el tamizado no se puede determinar la distribución del tamaño de partículas de los materiales fabricados ya que indica la presencia de conglomerados de micropartículas que forman partículas, más no el tamaño de las micropartículas.

9.2.5 Análisis de varianza para un diseño de experimentos anidado de la cantidad de materiales particulados obtenidos.

Los datos de peso de los materiales particulados, así como de las condiciones de estudio, fueron analizados con el software de la paquetería *Statgraphics Centurion XVI*, se obtuvieron los siguientes resultados.

Tabla 3. Análisis de Varianza para Gramos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Modelo	24.6737	11	2.24307	0.78	0.6593
Residuo	69.2937	24	2.88724		
Total (Corr.)	93.9675	35			

A partir de la tabla 3 se puede decir que no hay una relación estadísticamente significativa entre los gramos de materiales particulados obtenidos y la variable aceite con un nivel de confianza del 95.0% con lo cual se corrobora que el diseño anidado fue el indicado ya que le valor-P no es mayor del 0.05.

Tabla 4. Suma de Cuadrados Tipo III

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Tipo de aceite	1.32677	2	0.663386	0.23	0.7964
Velocidad(Tipo de aceite)	23.347	9	2.59411	0.90	0.5416
Residuo	69.2937	24	2.88724		
Total (corregido)	93.9675	35			

En la tabla de ANOVA anterior se prueba la significancia estadística de los factores estudiados. Se tiene que el valor p del tipo de aceites es de 0.7964, que a su vez es más grande que el valor p de la velocidad y es más grande que el 0.05, con lo que se puede asegurar que no es estadísticamente significativo el empleo de cualquiera de los 3 aceites en la fabricación de las micropartículas. Y de igual forma no es estadísticamente significativo el impacto de la velocidad en la fabricación.

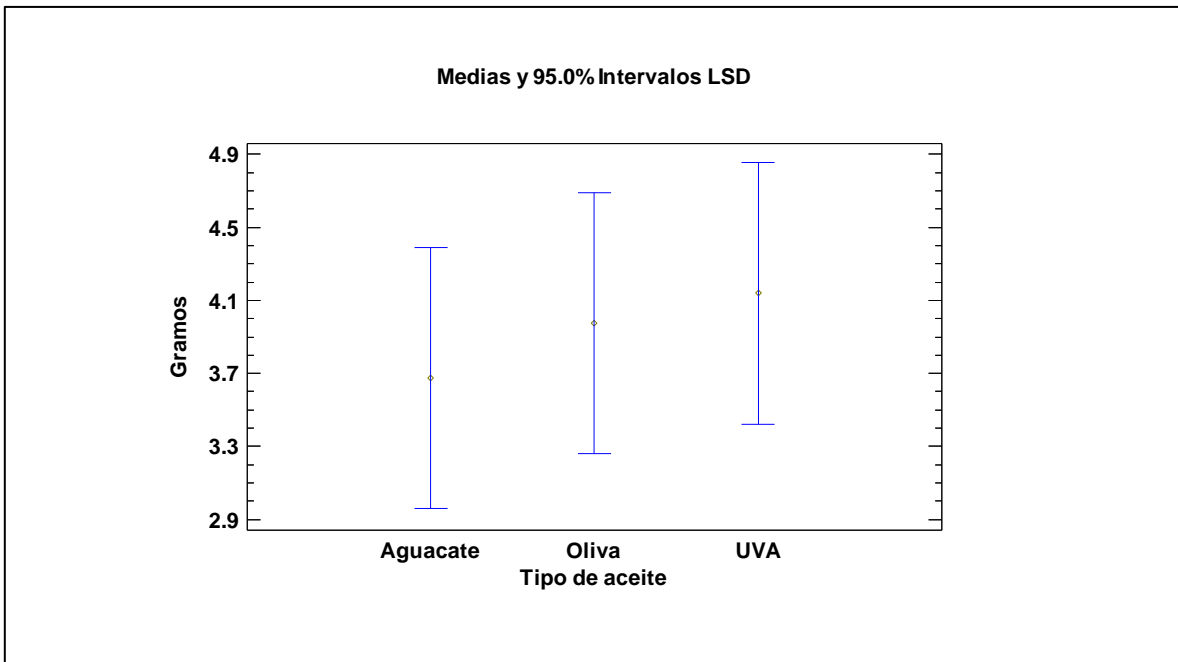


Figura 31. Medias e intervalos LSD para la cantidad de gramos y tipo de aceites.

En el gráfico anterior se pone en evidencia que las producciones de aceite de uva presentaron mayores cantidades recuperadas que las demás producciones.

Pero a su vez en el gráfico 32 es el aceite de oliva quien presenta una mayor variabilidad entre las muestras, seguido del aceite de aguacate y para finalizar las producciones de aceite de oliva fueron las que menos variabilidad tuvieron entre ellas.^{35, 36 y 37}

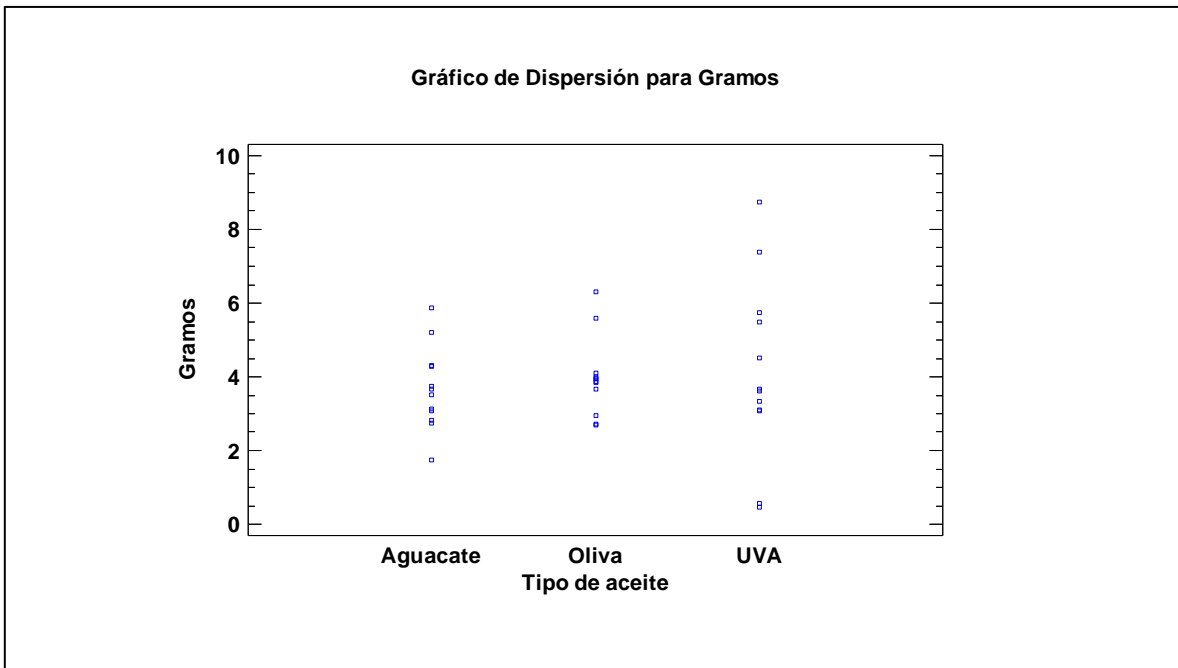


Figura 32. Gráfico de dispersión de los gramos de microesferas en función del tipo de aceite.

9.2.6 Resumen de resultados

Tabla 5. Resumen de los resultados obtenidos

Producción Prueba	Producción											
	O-MAG	O-200 rpm	O-600 rpm	O-1000 rpm	U-MAG	U-200 rpm	U-600 rpm	U-1000 rpm	A-MAG	A-200 rpm	A-600 rpm	A-1000 rpm
Calorimetría	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	X	X	X	X	X
IR	✓	✓	✓	✓	X	X	✓	✓	X	X	X	X
Cantidad	✓	✓	✓	✓	X	X	✓	✓	✓	X	✓	✓
Presencia de esferas	X	✓	✓	✓	X	X	✓	✓	✓	X	✓	✓

✓ =cumple, X= no cumple

Se descarta el uso de aceite de uva y aguacate, porque a relativamente bajas velocidades no se obtienen partículas esféricas, las cuales son el eje principal de

un posible uso como forma de liberación modificada. Además el aceite de aguacate queda descartado por el hecho de presentar una coloración que por las observaciones en el laboratorio indica que algún pigmento presente en el aceite, reacciona dentro de las partículas, lo que podría ocasionar algún tipo de problema en la calidad subjetiva de un producto en el mercado o afectar al principio activo.

10.0 Conclusiones

Se logró conocer que el tipo de aceite no tiene influencia estadísticamente significativa en la producción de micropartículas sol gel que contiene glibenclamida como principio activo, igual que la velocidad de agitación tampoco presenta un impacto mayor.

Por medio de la calorimetría diferencial de barrido y de la espectroscopia de infrarrojo se logró comprobar que no en todas las condiciones de fabricación se logró encapsular la glibenclamida satisfactoriamente. En resumen a partir de todos los resultados anteriores se puede decir que el aceite que se emplearía para una futura producción a gran escala sería el aceite de oliva ya que este demostró producir micropartículas en todas las velocidades controladas de manera mecánica con el motor vertical, esto se le pueden atribuir a su mayor viscosidad la cual dentro del proceso de agitación le ha de conferir un mayor control de los coacervados de silicio. Se propone emplear la velocidad de 600 rpm ya que esta no es tan vigorosa y le facilita al proceso un mayor control externo del mismo, además que en las producciones a altas velocidades no se observó una completa encapsulación del principio activo para todos los aceites.

No se logró determinar el tamaño de partícula de las microesferas por medio de tamizado.

11.0 Recomendaciones

- ❖ Para conocer el tamaño de partícula se recomienda realizar una microscopía electrónica de barrido, de igual forma para conocer a detalle su morfología.
- ❖ Conocer la cantidad de fármaco retenido por las micropartículas por medio de un método de valoración que permita cuantificar en las matrices cuanta glibenclamida se encuentra y si queda algo de esta en el aceite postproducción.

12.0 Referencias

1. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 11a ed. México: Secretaría de Salud Pública, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; 2014. p. 303 y 447
2. Servicio Navarro de salud. Formas farmacéuticas de liberación modificada y estereoisómeros. Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra. 2005; 13(1): 3-4.
3. Lopretti, M. et al. Microencapsulación de compuestos de actividad biológica. Publicación anual del laboratorio tecnológico del Uruguay. 2007; 2: 19-21.
4. Murillo M. et al. Liberación controlada de principios activos mediante el empleo de formulaciones galénicas. Rev Med Univ Navarra. 2001; 45(4):19-25.
5. Gennaro AR. Remington Farmacia. 20^a ed. Argentina: Médica Panamericana; 2003. p. 1072-1073.
6. Sáez V, Hernáez E, Sanz-Angulo L, Katime I. Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. Revista Iberoamericana de Polímeros. 2004; 5(2): 87,
7. López G. Diseño de formas farmacéuticas líquidas de liberación modificada para el tratamiento del dolor [Tesis doctoral]. España: Universidad de Granada, Departamento de farmacia y tecnología farmacéutica; 2008. p.32-52.
8. Ramos D. Gómez M, Fernández D. Métodos de obtención de microesferas biodegradables. Revista cubana de farmacia. 2001; 35(2): 126-135.

9. Pathak Y, Thassu D. Drug delivery nanoparticles formulation and characterization. Estados Unidos de América: Drugs and the pharmaceutical sciences: 2009. p. 25-27.
10. Rojas M. Diseño y síntesis de materiales “a medida” mediante el método sol-gel. Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia; 2015.
11. Owens G, Singh R, Foroutan F, Alqaysi M, Han C, Mahapatra C, Kim H, Knowles J. Sol-gel based materials for biomedical applications. Progress in Materials Science. 2016; 77(1): 71–79
12. Brinker CJ, Scherer GW. Sol-gel science, the physics and chemistry of sol-gel processing. Reino Unido: Academic Press; 1990. p. 99- 102.
13. Llinas M, Sanchez-Garcia D. Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. Afinidad. 2013 62(565): 21-22.
14. Pathak Y, Thassu D. Drug delivery nanoparticles formulation and characterization. Estados Unidos de América: Drugs and the pharmaceutical sciences: 2009. p. 25-27.
15. Couvreur P, Kante B, Roland M, et al. Polycyanoacrylate nanocapsules as potential lysosomotropic carriers: Preparation, morphology and sorptive properties. Journal of pharmacy and pharmacology. 1979; 31. p. 331–332.
16. Radin S, Chen T, y Ducheyne P. The controlled release of drugs from emulsified, sol gel processed silica microspheres. Biomaterials. 2009; 30(36): p.851–853.
17. Radin S, Chen T, y Ducheyne P. Emulsified Sol-Gel Microspheres for Controlled Drug Delivery. Key Engineering Materials. 2007, 19(1): p. 1025-1026.

18. Plank R. El empleo del frío en la industria de la alimentación. Barcelona: Editorial Reverte; 2005. p. 457.
19. Valencia E, Valenzuela E, Núñez P, Barrera-Arellano. Estudio de algunas características fisicoquímicas de aceites comerciales sometidos a procesos de fritura intermedia de patatas. Información Tecnológica, 2002; 13(4): 19-21.
20. Méndez M, Núñez M, Solarza J. Introducción a la Reología. México: Instituto Politécnico Nacional; 2001. p. 39.
21. Ibarz A, Barbosa-Cánovas G. Operaciones unitarias en la ingeniería de alimentos. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa; 2011. p. 138.
22. Rodríguez J, Hernández M, Estrada E, Santoyo M. Índice de saponificación de mayonesas. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2016; 1(2): 838.
23. Norma Mexicana NMX-F-101-SCFI-2012. Alimentos – aceites y grasas vegetales o animales – determinación de ácidos grasos libres - método de prueba. México: Diario Oficial de la Federación; 2012.
24. Rodríguez J, Hernández M, Estrada E, Santoyo M. Determinación del índice de acidez y acidez total de cinco mayonesas. Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, 2016; 2016; 1(2): 844-846.
25. Skoog D, Leary J, Holler J. Principios de análisis instrumental, 6° ed. México: Cengage Learning; 2008. p. 409-461.
26. Jiménez M, Aguilar M, De la Luz M, Kolar E. Propiedades físicas y químicas del aceite de aguacate obtenido de puré deshidratado por

- microondas. Revista de la Sociedad Química de México: 2001; 45(2): 89-90.
27. Castorena-García J, Rojas-López M, Delgado-Macuil R, Robles R. Análisis de Pulpa y Aceite de Aguacate con Espectroscopia Infrarroja. Conciencia Tecnológica: 2011; 42: 6-7.
28. Quirantes R, Domínguez J, Segura A, Fernández A. Técnicas de análisis del aceite de oliva. En: Junta de Andalucía conserjería de turismo, comercio y deporte de, Editores. Panorama de la competencia en Andalucía. Granada: Unicaja; 2007. p. 262-265.
29. Jiménez A Beltrán G. Aplicación de la Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB) en la caracterización del aceite de oliva virgen. Grasas y Aceites: 2003; 54(4):403-409.
30. Chiavaro E. Differential scanning calorimetry applications in fat and oil technology. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2015. p. 5-7, 77-78.
31. Fernández Diez A. Inclusión de AINEs en distintas matrices inorgánicas. Estudios de solubilidad y liberación. Tesis Doctoral. Universidad de Salamanca; 2008.
32. Cervera E, Romo A. Colección de espectros de infrarrojo para ejercicios de interpretación. México: Facultad de química, Universidad Nacional Autónoma de México; 2003. p. 9-20.
33. Rubinson K, Rubinson J. Análisis Instrumental. Madrid: Pearson Education; 2001. p. 448-456.

34. Jaramillo N, Paucar C, García C. Nanopartículas de sílice: encapsulación de fármacos y tratamiento de enfermedades. *Revista Colombiana de Materiales*: 2013; 5: 74-83
35. Montgomery D. *Diseño y análisis de experimentos*. 2ª ed. México: Limusa Wiley; 2002. p. 557-560.
36. Guerra T, Marques M, López J. *Cuaderno de problemas resueltos y propuestos de probabilidad y estadística*. 2ª ed. México: Facultad De Estudios Superiores Zaragoza; 2009. p. 247-250.
37. Marques M, Cervantes A. *Diseño de experimentos curso práctico*. México: Facultad De Estudios Superiores Zaragoza; 2007. p. 135-150.