



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE  
NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS  
CARGADAS CON RESVERATROL**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN FARMACIA**

**P R E S E N T A:**  
**DIANA TÉLLEZ HUERTA**

**A S E S O R:**  
**DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO**

**CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO 2022**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN



DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN  
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO  
Jefa del Departamento de Titulación  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de tesis y examen profesional.**

**Preparación y caracterización de nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol.**

Que presenta la pasante: **Diana Téllez Huerta**

Con número de cuenta: **309311131** para obtener el título de: **Licenciada en Farmacia**

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

**ATENTAMENTE**

**“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Julio de 2022.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

|                      | NOMBRE                            | FIRMA                     |
|----------------------|-----------------------------------|---------------------------|
| <b>PRESIDENTE</b>    | Dr. David Quintanar Guerrero      |                           |
| <b>VOCAL</b>         | Dr. Julio César Botello Pozos     |                           |
| <b>SECRETARIO</b>    | Dr. Benjamín Velasco Bejarano     |                           |
| <b>1er. SUPLENTE</b> | Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz |                           |
| <b>2do. SUPLENTE</b> | L.F. Miguel Ángel Trejo Rodríguez | Trejo Rodríguez Miguel A. |

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional

MCVB/cga\*



## AGRADECIMIENTOS

A mi alma mater, la **Universidad Nacional Autónoma de México**, por mi formación académica y las herramientas proporcionadas desde el bachillerato *Escuela Nacional Preparatoria No.3* hasta la licenciatura en la *Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1*.

A los proyectos **PAPIIT-2019143**, **CONACYT CB-221629**, **CONACYT INFRA 251940** y **PIAPI 001** por el financiamiento otorgado durante la realización de este trabajo de investigación.

Al **Dr. David Quintanar Guerrero** por recibirme, asesorarme y apoyarme con la realización de este trabajo, por las herramientas brindadas, sus extensos conocimientos, el apoyo y su paciencia.

A los miembros del jurado:

**Dr. Julio César Botello Pozos**, **Dr. Benjamín Velasco Bejarano**, **Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz** y al **L.F. Miguel Ángel Trejo Rodríguez** por su tiempo, sus valiosas aportaciones y observaciones para enriquecer este trabajo.

Al **Ing. Draucin Jiménez Celi** encargado del taller de soplado de vidrio de la FES-C, por su trabajo y apoyo técnico para la elaboración de materiales utilizados en este trabajo.

A mis **compañeros** del laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-323) de la FES-C por su apoyo, conocimientos y la calidez recibida dentro del laboratorio.



---

---

## DEDICATORIAS

Le dedico este trabajo con todo mi amor y cariño...

A mis padres **Adriana Huerta C.** y **Alberto L. Téllez L.** por ser los mejores padres que la vida me obsequio, y de los cuales siempre estaré eternamente agradecida y orgullosa. Son un gran ejemplo para nosotras; les agradezco por su amor, su gran apoyo, compromiso, esfuerzo y cansancio; siempre están cuando los necesito y nos apoyan incondicionalmente. Quiero agradecerles eternamente por tolerar, quererme y aceptarme con el mal carácter que tengo, por cuidarme y procurarme en todos los aspectos (como con aquellas deliciosas ensaladas que mi madre me preparo y me alimentaron durante toda mi trayectoria académica y a la inmensa paciencia de mi padre cada mañana).

Gracias por enseñarme a ser quien soy, no dejarnos solas y estar siempre con nosotras sin importar la situación o el motivo. Gracias por siempre confiar en mí. Somos y siempre seremos una familia. ¡Los amo con todo mi corazón y mi alma, los amo y amaré infinitamente!

A mi hermana **Susana Téllez Huerta**, por siempre escucharme cuando no paro de hablar, por ser mi pequeña hermanita a la que siempre voy a molestar sin cansancio. Por los mil momentos que hemos pasado y pasaremos juntas, buenos y malos con risas y peleas. Gracias por el amor incondicional ¡Te amo y te adoro Zu! Y siempre contarás conmigo.



Parte de este trabajo lo escribí en compañía de Bonnie, Kira y sus 5 pequeños ñeños ("Tommy") (Tobby, Leia, Nala y Yuuki), la mejor, cálida y amorosa compañía.

A todos mis **compañeros** y **amigos** que he conocido a lo largo de mi vida, en la escuela y fuera de ella, a los compañeros con los que trabajé directamente y con los que no, pero estuvieron presentes a lo largo de esta aventura, compartiendo esos momentos de diversión, risas e incluso de nerviosismo o estrés de cada fin de semestre.

Brenda, Fernanda, Jael, Alexis, Javier, Pablo, Irving ♡ e Isaí, les agradezco por todos los momentos inolvidables; es un honor coincidir en esta vida.

Me quedo con un cachito de ustedes, y les deseo lo mejor; cumplan todas sus metas.



## PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN

El resveratrol (RVT) cuenta con diversas limitaciones fisicoquímicas y biológicas para su aplicación *in vivo*, por este motivo es necesario desarrollar un sistema capaz de protegerlo y transportarlo a través de las membranas biológicas, y lograr aumentar su biodisponibilidad con la finalidad de alcanzar niveles plasmáticos terapéuticos con los cuales logre ejercer su efecto biológico (Fonseca y Khalil et al., 2017).

Una alternativa tecnológica para lograr ingresar de manera más eficaz al organismo es mediante la creación de sistemas nanométricos de administración de fármacos para resolver problemas relacionados con la baja biodisponibilidad, efectos adversos, inestabilidad y problemas de dosificación. Estos nanotransportadores de fármacos presentan diversas ventajas como tamaños de partícula que oscilan de 1 a 1,000nm, capacidad para incorporar fármacos de naturaleza hidrofílica y lipofílica y la entrega de fármacos a su sitio de acción de manera eficaz, segura y controlada (Wcislo, 2014).

En los últimos años, la nanoencapsulación se ha convertido en una nueva área para la administración de fármacos. Tales nanoformulaciones pueden dirigir el fármaco a células específicas, reduciendo las dosis requeridas y, por lo tanto, la toxicidad. En diversos trabajos se puede ver que la incorporación de resveratrol en nanoformulaciones supera con éxito algunas limitaciones fisicoquímicas del resveratrol.

Actualmente, se han propuesto una variedad de nanoformulaciones de resveratrol para eludir sus obstáculos fisicoquímicos con diversas ventajas a través de diferentes sistemas, en el 2012 Amri y Chaumeil et al., presentan un listado de formulaciones desarrolladas para aumentar la biodisponibilidad del resveratrol, clasificándolas por su objetivo; empleando nanoemulsiones, soluciones micelares, liposomas, nanocápsulas poliméricas de núcleo lipídico o nanopartículas lipídicas sólidas.

En el 2014 Davidov Pardo y McClements, trabajaron con formulaciones donde la encapsulación de resveratrol se utiliza para mejorar su solubilidad en agua, estabilidad



química y su biodisponibilidad, utilizando sistemas de emulsiones, liposomas/niosomas<sup>1</sup>, complejos de inclusión<sup>2</sup> y partículas de biopolímeros.

En el 2015 Summerlin y Soo et al., evaluaron nanoformulaciones de resveratrol como liposomas, nanopartículas lipídicas sólidas, nanopartículas poliméricas y ciclodextrinas donde examinan las limitaciones de las propiedades farmacocinéticas del resveratrol y los éxitos y desafíos de las formulaciones que se han diseñado; donde las formulaciones más destacadas son las micelas poliméricas con un 89% de eficiencia de encapsulación y tamaño de partículas menor a 100nm, los liposomas con un 95% de eficiencia de encapsulación y un tamaño de partícula de 100 a 120nm y finalmente las nanopartículas poliméricas con un porcentaje de encapsulación entre 42 y 98% y un tamaño de partículas de 90 a 365nm.

También diversos autores han trabajado con liposomas (Soo y Thakur et al., 2016), nanoemulsiones de resveratrol (Kumar y Kaur et al., 2017), encapsulación en biopolímeros, quitosano o células de levadura, entre otras.

Considerando los diferentes tipos de nanopartículas, el desarrollo de nanopartículas poliméricas sólidas se ha convertido en un área de investigación importante en el campo de la administración de fármacos, por su uso de materiales biocompatibles y biodegradables, el desarrollo de una vectorización, su adaptación a procesos industriales de fabricación (Gómez Gaete, 2014), la capacidad de suministrar una amplia gama de compuestos para las diferentes vías de administración por períodos de tiempo sostenido, mayor estabilidad y una capacidad única para liberar al fármaco de manera controlada en comparación con los liposomas; que han mostrado una baja eficiencia de encapsulación, baja estabilidad durante el almacenamiento, y rápida liberación de fármacos solubles en medios biológicos (Llabot y

---

<sup>1</sup> Niosoma: Son vehículos prometedores de una liberación controlada del fármaco.

<sup>2</sup> Complejos de inclusión: Son sistemas que presentan la estructura de un clatrato, es decir, una molécula que contiene un segundo tipo de molécula. El compuesto huésped se sitúa en la cavidad del hospedador sin alterar su estructura de forma significativa.



Palma et al., 2008). Encapsular fármacos en nanopartículas poliméricas los protege de la degradación, mejora la penetración intracelular y mejora la biodisponibilidad (Summerlin y Soo et al., 2015).

Para la fabricación de nanopartículas poliméricas biocompatibles, se han utilizado diversos excipientes, uno de estos excipientes importantes son los polímeros.

Los polímeros comúnmente empleados incluyen poli (láctico-co-glicólico) (PLGA), polietilenglicol (PEG), policaprolactona (PCL) y poliláctico (PLA). Estos polímeros al no ser tóxicos han sido aprobados para su uso por la FDA (Summerlin y Soo et al, 2015).

La policaprolactona es uno de los mejores polímeros utilizados, reconocido por sus buenas propiedades de liberación sostenida y su perfil de degradación lenta (García Rojas, 2016).

La policaprolactona en comparación con el ácido poli (láctico-co-glicólico), al contar con una biodegradación más lenta, aumenta la semivida biológica de las moléculas encapsuladas, permitiendo su uso en formulaciones nanoparticuladas para la administración de principios activos para los cuales es necesaria una liberación mantenida durante periodos de tiempo prolongados (Rocha Formiga y Ansorena et al., 2009).

En cuanto a la preparación de nanopartículas, el método de emulsificación-difusión presenta buenos resultados para diversos fármacos como los de carácter lipofílico y su producción en comparación con el resto de los métodos de preparación de nanopartículas (Aguirre Pineda, 2005).

En diferentes artículos científicos, es posible identificar diversas nanoformulaciones del resveratrol, donde el tamaño de nanopartícula y el porcentaje de encapsulación, son algunas de las características más importantes a tener en consideración. Este trabajo de grado tiene por objetivo general, determinar que sistema nanoparticulado de resveratrol en nanopartículas poliméricas, presenta mejores resultados.



# ÍNDICE

|   |              |
|---|--------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS.....</b>   | <b>III</b>   |
| <b>DEDICATORIAS .....</b>   | <b>IV</b>    |
| <b>PROBLEMÁTICA Y JUSTIFICACIÓN .....</b>   | <b>V</b>     |
| <b>ÍNDICE.....</b>  | <b>VIII</b>  |
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>   | <b>XII</b>   |
| <b>LISTA DE TABLAS .....</b>  | <b>XV</b>    |
| <b>LISTA DE GRÁFICAS.....</b>   | <b>XVI</b>   |
| <b>ABREVIACIONES Y SIGLAS .....</b>   | <b>XVIII</b> |
| <b>I. MARCO TEÓRICO.....</b>  | <b>1</b>     |
| 1.1. RESVERATROL.....   | 1            |
| 1.1.1. <i>Propiedades fisicoquímicas del resveratrol.</i> .....                                   | 6            |
| 1.1.2. <i>Parámetros farmacocinéticos del resveratrol.</i> .....                                  | 7            |
| 1.2. ISOMERIZACIÓN Y DEGRADACIÓN .....  | 8            |
| 1.2.1. <i>Isomerización.</i> .....  | 8            |
| 1.2.2. <i>Degradación.</i> .....  | 9            |
| 1.3. NANOTECNOLOGÍA.....  | 11           |
| 1.3.1. <i>Historia de la nanotecnología.</i> .....  | 12           |
| 1.3.2. <i>Nanomateriales en la vida cotidiana.</i> .....  | 14           |
| 1.4. NANOPARTÍCULAS.....  | 15           |
| 1.4.1. <i>Nanocápsulas y Nanoesferas.</i> .....   | 18           |
| 1.4.2. <i>Tipos de nanopartículas.</i> .....  | 19           |
| 1.4.2.1. <i>Nanopartículas Lipídicas Sólidas.</i> .....   | 19           |
| 1.4.2.2. <i>Transportadores Lipídicos Nanoestructurados.</i> .....                                | 20           |
| 1.4.2.3. <i>Nanopartículas Poliméricas Sólidas.</i> .....   | 21           |
| 1.4.3. <i>Métodos de estabilización de nanopartículas.</i> .....                                  | 23           |
| 1.4.3.1. <i>Estabilización electrostática</i> .....   | 23           |
| 1.4.3.2. <i>Estabilización estérica</i> .....   | 24           |
| 1.4.3.3. <i>Estabilización electrostérica</i> .....   | 24           |
| 1.5. COMPONENTES .....  | 25           |
| 1.5.1. <i>Polímero.</i> .....   | 25           |
| 1.5.1.1. <i>Aplicación de polímeros como dispositivos en la liberación de medicamentos.</i> ..... | 28           |



|             |  |           |
|-------------|--|-----------|
| 1.5.2.      | <i>Agente tensoactivo o coloide protector</i> .....                            | 29        |
| 1.6.        | MÉTODOS PARA LA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS .....                | 31        |
| 1.6.1.      | <i>Método de preparación de nanopartículas con polímeros preformados</i> ..... | 32        |
| 1.6.1.1.    | Emulsificación-Evaporación de disolvente .....                                 | 32        |
| 1.6.1.2.    | Desplazamiento de disolvente .....   | 33        |
| 1.6.1.3.    | Nanoprecipitación .....  | 33        |
| 1.6.1.4.    | Salting out .....  | 34        |
| 1.6.1.5.    | Emulsificación-Difusión .....  | 36        |
| 1.7.        | CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS .....  | 39        |
| 1.7.1.      | <i>Tamaño de partícula</i> .....   | 40        |
| 1.7.2.      | <i>Índice de polidispersión</i> .....  | 43        |
| 1.7.3.      | <i>Potencial zeta</i> .....  | 45        |
| 1.7.4.      | <i>Densidad</i> .....  | 47        |
| 1.7.5.      | <i>Calorimetría diferencial de barrido</i> .....                               | 48        |
| 1.7.6.      | <i>Eficiencia de Entrampamiento o Encapsulación</i> .....                      | 49        |
| 1.7.6.1.    | Espectroscopia o Espectrofotometría ultravioleta-visible .....                 | 50        |
| 1.7.6.2.    | Métodos de calibración .....   | 51        |
| 1.8.        | VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO .....  | 54        |
| 1.8.1.      | <i>Características analíticas en la validación</i> .....                       | 56        |
| <b>II.</b>  | <b>OBJETIVOS</b> .....   | <b>58</b> |
| <b>III.</b> | <b>HIPÓTESIS</b> .....   | <b>59</b> |
| <b>IV.</b>  | <b>MATERIALES Y EQUIPOS</b> .....  | <b>60</b> |
| 4.1         | REACTIVOS .....  | 60        |
| 4.2.        | MATERIALES .....   | 60        |
| 4.3.        | EQUIPOS .....  | 61        |
| <b>V.</b>   | <b>METODOLOGÍA</b> .....   | <b>62</b> |
| 5.1.        | ELECCIÓN DEL MEDIO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS .....              | 64        |
| 5.2.        | DETERMINACIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN DEL RESVERATROL ..... | 65        |
| 5.3.        | ISOMERIZACIÓN DEL RESVERATROL .....  | 65        |
| 5.4.        | VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO .....  | 66        |
| 5.4.1.      | <i>Linealidad del sistema</i> .....  | 66        |
| 5.4.2.      | <i>Precisión del sistema</i> .....   | 66        |
| 5.4.3.      | <i>Repetibilidad</i> .....   | 66        |
| 5.4.4.      | <i>Precisión intermedia</i> .....  | 67        |



|            |  |           |
|------------|--|-----------|
| 5.5.       | ELECCIÓN DEL ACEITE PARA LA PREPARACIÓN DE NANOCÁPSULAS.....   | 67        |
| 5.5.1.     | <i>Determinación de la solubilidad del resveratrol en diferentes aceites.....</i>                    | 67        |
| 5.5.2.     | <i>Determinación de la densidad del aceite seleccionado.....</i>                                     | 68        |
| 5.5.3.     | <i>Determinación de la solubilidad máxima de resveratrol en el aceite seleccionado.....</i>          | 69        |
| 5.6.       | PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.....  | 69        |
| 5.6.1.     | <i>Curva calibración para nanoesferas.....</i>   | 70        |
| 5.6.2.     | <i>Curva calibración para nanocápsulas.....</i>  | 71        |
| 5.7.       | ELECCIÓN DEL MEDIO PARA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....   | 72        |
| 5.8.       | PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....   | 73        |
| 5.8.1.     | <i>Preparación de nanocápsulas.....</i>  | 74        |
| 5.8.2.     | <i>Preparación de las nanoesferas.....</i>   | 75        |
| 5.8.3.     | <i>Purificación y recuperación de nanopartículas.....</i>  | 76        |
| 5.9.       | CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS.....   | 78        |
| 5.9.1.     | <i>Determinación del tamaño de partícula y del índice de polidispersión.....</i>                     | 78        |
| 5.9.2.     | <i>Determinación de potencial zeta.....</i>  | 78        |
| 5.9.3.     | <i>Densidad.....</i>   | 78        |
| 5.9.4.     | <i>Calorimetría diferencial de barrido.....</i>  | 80        |
| 5.9.4.1.   | Calibración del equipo calorimétrico diferencial de barrido.....                                     | 80        |
| 5.9.4.2.   | Determinación del punto de fusión y obtención de termogramas de los compuestos nanoparticulados..... | 80        |
| 5.9.5.     | <i>Cuantificación del resveratrol en las nanopartículas obtenidas.....</i>                           | 81        |
| 5.9.5.1.   | Determinación de la eficiencia de entrapamiento y encapsulación.....                                 | 81        |
| <b>VI.</b> | <b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>   | <b>82</b> |
| 6.1.       | MEDIO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....  | 82        |
| 6.2.       | LONGITUD DE ONDA DE MÁXIMA ABSORCIÓN DEL RESVERATROL.....  | 83        |
| 6.3.       | ISOMERIZACIÓN DEL RESVERATROL.....   | 84        |
| 6.4.       | VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO.....   | 87        |
| 6.4.1.     | <i>Linealidad del sistema.....</i>   | 87        |
| 6.4.2.     | <i>Precisión del sistema.....</i>  | 89        |
| 6.4.3.     | <i>Repetibilidad.....</i>  | 90        |
| 6.4.4.     | <i>Precisión intermedia.....</i>   | 92        |
| 6.5.       | SOLUBILIDAD DEL ACEITE PARA LA PREPARACIÓN DE NANOCÁPSULAS.....                                      | 93        |
| 6.5.1.     | <i>Solubilidad del resveratrol en diferentes aceites.....</i>  | 93        |
| 6.5.2.     | <i>Densidad del labrafac™.....</i>   | 94        |
| 6.5.3.     | <i>Solubilidad máxima del resveratrol en labrafac™.....</i>  | 94        |
| 6.6.       | CURVA DE CALIBRACIÓN.....  | 95        |





|              |  |            |
|--------------|--|------------|
| 6.7.         | MEDIO PARA PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....                              | 97         |
| 6.8.         | PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS .....  | 99         |
| 6.9.         | CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....                                     | 102        |
| 6.9.1.       | <i>Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta.....</i> | <i>102</i> |
| 6.9.2.       | <i>Densidad de las nanopartículas. ....</i>                                | <i>108</i> |
| 6.9.3.       | <i>Calorimetría diferencial de barrido. ....</i>                           | <i>112</i> |
| 6.9.4.       | <i>Porcentaje de entrapamiento o encapsulación.....</i>                    | <i>118</i> |
| 6.10.        | RECOPIACIÓN DE LOS RESULTADOS .....  | 119        |
| <b>VII.</b>  | <b>CONCLUSIONES.....</b>   | <b>120</b> |
| <b>VIII.</b> | <b>PERSPECTIVAS.....</b>   | <b>121</b> |
| <b>IX.</b>   | <b>FICHAS TÉCNICAS.....</b>  | <b>122</b> |
|              | RESVERATROL.....   | 122        |
|              | ACETATO DE ETILO .....   | 122        |
|              | ACETONITRILLO .....  | 123        |
|              | METANOL .....  | 124        |
|              | CLORURO DE SODIO .....   | 125        |
|              | ALCOHOL POLIVINÍLICO .....   | 126        |
|              | POLICAPROLACTONA .....   | 127        |
|              | ACEITE DE GIRASOL .....  | 128        |
|              | CAPTEX® 200.....   | 129        |
|              | LABRAFAC™ LIPOPHILE WL 1349.....   | 130        |
|              | MAISINE™ 35-1 .....  | 130        |
|              | PECEOL™ .....  | 131        |
| <b>X.</b>    | <b>ANEXOS.....</b>   | <b>132</b> |
| <b>XI.</b>   | <b>REFERENCIAS.....</b>  | <b>137</b> |



## LISTA DE FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| Figura I.1. Estructura química del <i>trans</i> -RVT y <i>cis</i> -RVT.....  | 1  |
| Figura I.2. Eléboro blanco <i>Veratrum Grandiflorum</i> O. Loes.....   | 2  |
| Figura I.3. Planta ornamental <i>Polygonum Cuspidatum</i> y su raíz.....   | 2  |
| Figura I.4. Representación esquemática de los diversos efectos biológicos del <i>trans</i> -RVT. ....  | 2  |
| Figura I.5. Sistema de clasificación biofarmacéutica.....  | 4  |
| Figura I.6. Representación de un isómero óptico.....   | 8  |
| Figura I.7. Estructuras químicas de isómeros geométricos. ....   | 9  |
| Figura I.8. Sol de oro de 1925.....  | 12 |
| Figura I.9. Richard Feynman.....   | 13 |
| Figura I.10. Norio Taniguchi.....  | 13 |
| Figura I.11. K. Eric Drexler. ....   | 13 |
| Figura I.12. Representación esquemática de NP's.....   | 15 |
| Figura I.13. Representación del incremento del área superficial con respecto al tamaño de partícula ..   | 17 |
| Figura I.14. Nanopartículas poliméricas. a) fármaco disuelto en el núcleo oleoso; b) fármaco adsorbido en la pared polimérica; c) fármaco adsorbido o disperso molecularmente en la matriz polimérica.....   | 18 |
| Figura I.15. Representación esquemática de una SLN's.....  | 19 |
| Figura I.16. Representación esquemática de los diferentes tipos en NLC's.....  | 20 |
| Figura I.17. Nanopartícula Polimérica Sólida.....  | 21 |
| Figura I.18. Representación de la estabilización electrostática.....   | 23 |
| Figura I.19. Representación del impedimento estérico.....  | 24 |
| Figura I.20. Representación de la estabilización electrostérica.....   | 24 |
| Figura I.21. Estructura del polímero PLA.....  | 26 |
| Figura I.22. Estructura del polímero PLGA.....   | 27 |
| Figura I.23. Estructura del polímero PCL.....  | 28 |
| Figura I.24. Estructura química del PVA.....   | 30 |
| Figura I.25. Representación esquemática del método Emulsificación-evaporación.....   | 32 |
| Figura I.26. Representación esquemática del método Desplazamiento de disolvente.....   | 33 |
| Figura I.27. Representación esquemática del método de Nanoprecipitación.....   | 34 |
| Figura I.28. Representación esquemática del método <i>Salting out</i> .....  | 35 |
| Figura I.29. Método de emulsificación-difusión (1) Disolvente orgánico parcialmente miscible en agua saturado con agua. (2) agua saturada con disolvente. (3) fase orgánica con polímero y fármaco disuelto. (4) fase acuosa compuesta de agua y estabilizante. (5) emulsificación y (6) adición de agua para la difusión de disolvente y formación de la NP. .... | 36 |



|   |    |
|---|----|
| Figura I.30 Representación de una emulsión convencional aceite en agua (o/w).....   | 37 |
| Figura I.31 Representación de una emulsión convencional agua en aceite (w/o).....   | 37 |
| Figura I.32. Esquematación de los fenómenos ocurridos en la formación de NP's por la técnica de emulsificación-difusión .....   | 38 |
| Figura I.33. Movimiento browniano de partículas grandes.....  | 41 |
| Figura I.34. Movimiento browniano de partículas pequeñas.....   | 41 |
| Figura I.35. Alta frecuencia: la longitud de onda es corta, y la frecuencia alta, la intensidad es más aguda. Baja frecuencia: cuanto más lejos, la longitud de onda es larga y la frecuencia baja, la intensidad es menor..... | 41 |
| Figura I.36 Distribución estrecha de una muestra homogénea.....   | 42 |
| Figura I.37 Distribución de nanopartículas de distinto tamaño .....   | 42 |
| Figura I.38. Esquema de gráficas de la intensidad de luz dispersa y la función de correlación obtenidas de una suspensión con partículas grandes y otra con partículas pequeñas. ....   | 43 |
| Figura I.39 Correlograma del coeficiente de correlación, dependiente del tamaño de partículas. ....   | 44 |
| Figura I.40. Esquema de una NP y su carga superficial.....  | 45 |
| Figura I.41. Representación de la técnica ELS.....  | 46 |
| Figura I.42. Potencial Zeta como función del pH .....   | 46 |
| Figura I.43. Representación de la Centrifugación isopícnica .....   | 47 |
| Figura I.44. Esquema de los diferentes picos presentes en cualquier termograma de un DSC.....   | 48 |
| Figura I.45. Temperaturas presentes en un termograma .....  | 49 |
| Figura I.46. Preparación de curva de calibración con estándares externos.....   | 52 |
| Figura I.47. Representación gráfica por el método de calibración con estándares externos .....  | 52 |
| Figura I.48. Preparación de curva de calibración con adición de estándares a las muestras .....   | 53 |
| Figura I.49. Representación gráfica por el método de adición de estándares a las muestras.....  | 54 |
| Figura I.50. Combinaciones entre preciso y exacto.....  | 57 |
| Figura V.1. Desarrollo experimental completo para la preparación de nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol .....   | 62 |
| Figura V.2. Desarrollo experimental para la preparación de nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol.....   | 63 |
| Figura V.3. RVT disuelto en metanol o en acetonitrilo. ....   | 64 |
| Figura V.4. Método para la determinación de la solubilidad del RVT en aceite. ....  | 67 |
| Figura V.5. Método para la obtención de la densidad del aceite. ....  | 68 |
| Figura V.6. Solubilidad máxima del RVT en aceite.....   | 69 |
| Figura V.7. Método de preparación para la curva de calibración de Nanoesferas. ....   | 70 |
| Figura V.8. Método de preparación para la curva de calibración de Nanocápsulas.....   | 71 |
| Figura V.9. Saturación del agua y acetato de etilo.....   | 72 |



|  |     |
|--|-----|
| Figura V.10. RVT disuelto en AcOEt saturado. ....  | 73  |
| Figura V.11. Preparación de NC's de RVT.....   | 74  |
| Figura V.12. Preparación de NE's de RVT. ....  | 75  |
| Figura V.13. Retiro de exceso de acetato de etilo. ....  | 76  |
| Figura V.14. Ultracentrifugación de nanoesferas.....   | 76  |
| Figura V.15. Ultracentrifugación de nanocápsulas.....  | 76  |
| Figura V.16. Recuperación y resuspensión del pellet en agua destilada.....   | 77  |
| Figura V.17. Liofilización para obtención de muestras para calorimetría diferencial de barrido.....  | 77  |
| Figura V.18. Preparación de las muestras para la determinación de la densidad.....   | 79  |
| Figura V.19. Medición de las bandas marcadas después de la centrifugación.....   | 79  |
| Figura V.20. Preparación para la cuantificación de las nanoesferas.....  | 81  |
| Figura V.21. Preparación para la cuantificación de las nanocápsulas.....   | 81  |
| Figura VI.1. Esquema de espectro de absorción de la Isomerización de <i>trans</i> -RVT a <i>cis</i> -RVT.....  | 84  |
| Figura VI.2. Gráficos de espectros de absorción UV/VIS. (A) Isomerización con luz UV a temperatura ambiente y (B) degradación en buffer con pH 7.4 a 37 °C.....            | 85  |
| Figura VI.3 Formación de la emulsión, aceite en agua del resveratrol.....  | 99  |
| Figura VI.4. Mecanismo de formación de NP por el método de emulsificación-difusión. a) Antes del paso de difusión, b) Durante la difusión.....                             | 100 |
| Figura VI.5. Representación esquemática de la formación de nanopartículas por el proceso de difusión del disolvente basado en el mecanismo de turbulencia interfacial..... | 100 |
| Figura VI.6. Representación esquemática de la adsorción del agente estabilizante y su efecto protector por impedimento estérico.....                                       | 101 |
| Figura VI.7. Mecanismo de formación para obtener nanocápsulas por el método de Emulsificación-difusión. A) Antes de la difusión, B) Durante la difusión.....               | 101 |
| Figura VI.8. Representación de la miscibilidad. ....   | 104 |
| Figura VI.9. Representación esquemática de las muestras obtenidas de los sistemas nanoparticulados. ....   | 108 |
| Figura VI.10. Representación esquemática de la densidad de NP's, centrifugada a diferentes ángulos.....  | 110 |



## LISTA DE TABLAS

|   |     |
|---|-----|
| Tabla I.1. Propiedades fisicoquímicas del resveratrol.....  | 6   |
| Tabla I.2. Parámetros farmacocinéticos del resveratrol. ....  | 7   |
| Tabla I.3. Parámetros variables del alcohol polivinílico (mowiol). ....   | 30  |
| Tabla VI.1. Medidas de variación respecto a la comparación de las disoluciones del RVT disueltas en metanol y acetonitrilo protegidas de la luz. ....                                   | 83  |
| Tabla VI.2. Resultados de la determinación de linealidad del sistema en metanol. ....   | 88  |
| Tabla VI.3. Resultados obtenidos del estudio de la precisión del sistema.....   | 90  |
| Tabla VI.4. Resultados obtenidos de repetibilidad del método analítico.....   | 91  |
| Tabla VI.5. Resultados del estudio de precisión intermedia .....  | 92  |
| Tabla VI.6. Solubilidad cualitativa del resveratrol en diversos aceites.....  | 93  |
| Tabla VI.7. Resultados obtenidos para la determinación de la densidad del labrafac™.....  | 94  |
| Tabla VI.8. Solubilidad máxima del resveratrol en labrafac™.....  | 94  |
| Tabla VI.9. Resultados de la caracterización de las nanopartículas. ....  | 103 |
| Tabla VI.10. Valores de densidad del fabricante, respecto a la distancia obtenida en la experimentación (medida del fondo del tubo al centro de la banda de las perlas marcadoras)..... | 109 |
| Tabla VI.11. Resultados obtenidos de las NP's.....  | 112 |
| Tabla VI.12. Puntos de fusión del principio activo y excipientes. ....  | 115 |
| Tabla VI.13. Porcentaje del resveratrol en NE's y NC's.....   | 118 |
| Tabla VI.14. Resultados de la caracterización de nanoesferas y nanocápsulas.....  | 119 |



## LISTA DE GRÁFICAS

|  |     |
|--|-----|
| Gráfica VI.1. Comparación entre el tiempo y el porcentaje de isomerización del RVT disuelto en metanol (MetOH) y acetonitrilo (ACN) expuesto a la luz (c/L) y protegido de la luz (s/L). .....               | 82  |
| Gráfica VI.2. Representación gráfica del espectro de absorción del resveratrol obtenido en una disolución de metanol a una concentración de $8\mu\text{g/mL}$ (absorbancia frente a longitud de onda). ..... | 84  |
| Gráfica VI.3. Representación gráfica del espectro de absorción del RVT de dos muestras a un tiempo de 24h, una expuesta a la luz y la otra protegida. ....   | 85  |
| Gráfica VI.4. Representación gráfica del espectro de absorción de la isomerización de una muestra de resveratrol en metanol expuesta a la luz desde el tiempo 0 min a 40 días.....                           | 86  |
| Gráfica VI.5 Representación gráfica del espectro de absorción de la isomerización de una muestra de resveratrol en metanol protegida de la luz desde el tiempo 0min a 40 días. ....                          | 87  |
| Gráfica VI.6. Representación gráfica de la curva 1 de calibración obtenida de la cantidad adicionada de resveratrol y el valor obtenido de su absorbancia. ....  | 89  |
| Gráfica VI.7. Curva de calibración por el método UV/VIS para nanoesferas de resveratrol en metanol. ....   | 95  |
| Gráfica VI.8. Curva de calibración por el método UV/VIS para nanocápsulas de resveratrol en metanol. ....  | 96  |
| Gráfica VI.9. Representación gráfica del espectro de absorción del resveratrol disuelto en acetato de etilo (AcOEt). ....  | 97  |
| Gráfica VI.10. Resveratrol disuelto en acetato de etilo saturado (AcOEt) sin exponer a la luz (s/Luz), y resveratrol en acetato de etilo saturado con exposición a la luz (c/Luz). ....                      | 98  |
| Gráfica VI.11. Distribución del tamaño de las nanoesferas. ....  | 102 |
| Gráfica VI.12. Distribución del tamaño de las nanocápsulas.....  | 103 |
| Gráfica VI.13. Curva de correlación proporcionada por el equipo Malvern Zetasizer Nano ZS para las nanoesferas. ....   | 106 |
| Gráfica VI.14. Curva de correlación proporcionada por el equipo Malvern Zetasizer Nano ZS para las nanocápsulas.....   | 106 |
| Gráfica VI.15. Relación de la altura de los marcadores en función de la densidad de las perlas marcadoras.....   | 109 |
| Gráfica VI.16. Regresión de raíz cuadrada de la distancia [mm] y log de la densidad [g/mL]. ....   | 111 |
| Gráfica VI.17. Termograma obtenido experimentalmente de la muestra de indio de alta pureza como compuesto de referencia. ....  | 113 |
| Gráfica VI.18. Termograma experimental del resveratrol (RVT), policaprolactona (PCL) y alcohol polivinílico (PVA).....   | 114 |
| Gráfica VI.19. Termograma obtenido experimentalmente del resveratrol. ....   | 116 |



---

---

Gráfica VI.20. Termograma comparativo entre las NE's y NC's (c/f=con fármaco, s/f= sin fármaco)... 117



---

---

## ABREVIACIONES Y SIGLAS

|         |   |
|---------|---|
| °C      | Grados centígrados                            |
| µg      | Microgramo                                    |
| µL      | Microlitros                                   |
| µm      | Micrómetro                                    |
| ACN     | Acetonitrilo                                  |
| AcOEt   | Acetato de Etilo                              |
| c/u     | Cada uno                                      |
| CV      | Coeficiente de variación                      |
| DLS     | Dispersión de la luz dinámica                 |
| DSC     | Calorimetría diferencial de barrido           |
| EE      | Eficiencia de Entrampamiento/Encapsulación    |
| ERO/ROS | Especies reactivas de oxígeno                 |
| FDA     | Food and Drug Administration                  |
| g       | Gramo(s)                                      |
| h       | Hora(s)                                       |
| HPLC    | Cromatografía líquida de alta eficacia        |
| HPTLC   | Cromatografía de capa fina de alta resolución |
| M       | Molar   |
| MetOH   | Metanol                                       |
| mg      | Miligramo(s)                                  |
| min     | Minuto(s)                                     |
| mL      | Mililitro(s)                                  |
| mV      | Milivoltios                                   |
| NC's    | Nanocápsulas                                  |
| NE's    | Nanoesferas                                   |
| nm      | Nanómetro(s)                                  |
| NP's    | Nanopartículas                                |






---



---

|                      |   |
|----------------------|---|
| NPS                  | Nanopartículas Poliméricas Sólidas                      |
| o/w                  | Aceite/agua   |
| P.A. / API           | Principio Activo  |
| PCL                  | Policaprolactona  |
| PDI / IPD            | Índice de Polidispersión                                |
| PEG                  | Polietilenglicol  |
| PGA                  | Ácido poliglicólico                                     |
| pH                   | Potencial de hidrógeno                                  |
| PLA                  | Ácido poliláctico                                       |
| PLGA                 | Ácido poli (láctico-co-glicólico)                       |
| pp                   | Precipitado   |
| PVA                  | Alcohol Polivinílico                                    |
| PVAc                 | Poli (Acetato de Vinilo)                                |
| R <sup>2</sup>       | Coefficiente de determinación                           |
| rpm                  | Revoluciones por minuto                                 |
| RVT                  | Resveratrol   |
| s                    | Segundo(s)  |
| SLN                  | Nanopartículas Lipídicas Sólidas                        |
| T°                   | Temperatura   |
| TP                   | Tamaño de partícula                                     |
| UV                   | Ultravioleta  |
| VAc                  | Acetato de Vinilo                                       |
| VIS                  | Visible   |
| v/v                  | Volumen a volumen                                       |
| w/o                  | Agua/aceite   |
| ζ / PZ               | Potencial Zeta  |
| λ / λ <sub>máx</sub> | Longitud de onda / Longitud de onda de máxima absorción |
| $\bar{x}$            | Promedio  |
| S / DE               | Desviación estándar                                     |



## I. MARCO TEÓRICO

### 1.1. Resveratrol

El resveratrol (3,5,4'-trihidroxiestilbeno) es un polifenol<sup>3</sup> derivado de plantas (Urbaniak y Delgado et al., 2017), que pertenece a la familia del estilbeno<sup>4</sup> y es producido por la enzima

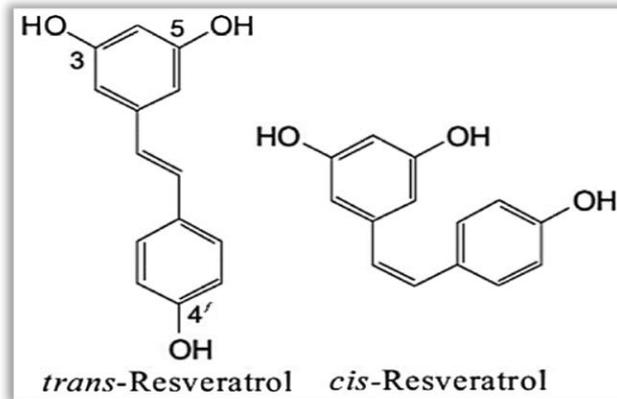


Figura I.1. Estructura química del *trans*-RVT y *cis*-RVT.

*estilbeno sintasa* (Chemical Book, 2022). Del resveratrol se distinguen dos isómeros<sup>5</sup>, el *cis*-RVT y *trans*-RVT (Figura I.1). La forma más estudiada es el isómero *trans*-, por ser la forma biológicamente activa.

Se encuentra comúnmente en muchas plantas como cacahuates y derivados, pistaches, fresas y chocolate negro. Sin embargo, su principal fuente de extracción es la uva (en mayor cantidad de las pepitas y su piel), la piel de uva fresca contiene de 50 a 100µg/g de *trans*-RVT. El vino tinto también contiene RVT, ya que se obtiene por la maceración de la uva (Galán Gutiérrez, 2013).

El compuesto *trans*-RVT fue aislado por primera vez en 1939 por el investigador japonés Michio Takaoka de la raíz del eléboro blanco (Figura I.2) (*Veratrum Grandiflorum* O. Loes) (Pezzuto, 2019); más tarde se extrajo de raíces secas de *Polygonum Cuspidatum* (Figura I.3), siendo esta una de las fuentes más ricas del resveratrol (Lucas Abellán, 2009). El resveratrol se produce desencadenando la rápida activación de la enzima *estilbeno sintasa*

<sup>3</sup> Polifenol: Compuesto orgánico de la naturaleza que presenta una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos (Quiñones, 2012).

<sup>4</sup> Estilbeno: Hidrocarburos aromáticos de fórmula molecular C<sub>14</sub>H<sub>12</sub>, producidos por algunas plantas de la familia de las vitaceae en respuesta al ataque de algunos hongos (Garrido, 2015).

<sup>5</sup> Isómero: Moléculas que tienen la misma fórmula molecular pero diferente estructura.



en respuesta a factores ambientales de estrés como lesiones, infecciones fúngicas e irradiación UV, (Summerlin y Soo et al., 2015).



Figura I.2. Eléboro blanco  
*Veratrum Grandiflorum* O. Loes



Figura I.3. Planta ornamental  
*Polygonum Cuspidatum* y su raíz

Se especula que el término resveratrol proviene de su estructura química (resorcinol<sup>6</sup>) y de su fuente vegetal de la cual se extrajo (del género de hierbas *Veratrum*) (Pezzuto, 2019).

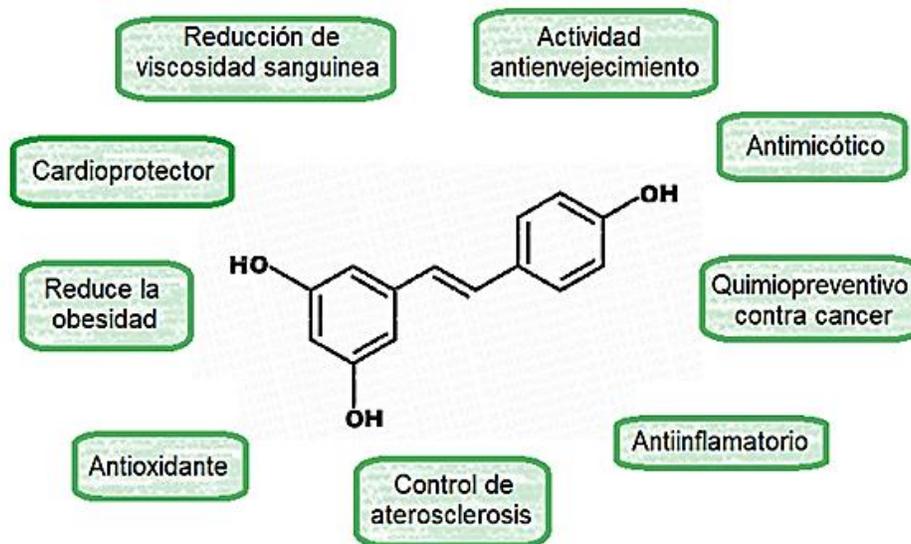


Figura I.4. Representación esquemática de los diversos efectos biológicos del *trans*-RVT.

Estudios realizados sobre su uso, han revelaron que presenta diversos beneficios para la salud (Figura I.4), el resveratrol puede utilizarse en el control de la aterosclerosis (acumulación de grasas, colesterol y otras sustancias en las paredes de las arterias), artritis, trastornos autoinmunes o cáncer (Fulda, 2010); cuenta con un efecto antiinflamatorio (Amri y Chaumeil et al., 2012); actividad antienvjecimiento (Mikula Pietrasik y Kuczmaraska et al.,

<sup>6</sup> Resorcinol: Tipo de polifenol clasificado por su número y tipo de subcomponentes fenólicos



2012) mediante la activación de proteínas que pueden reparar el material genético (Galán Gutiérrez, 2013); actividad antioxidante, principalmente en la regulación de los niveles de especies reactivas de oxígeno (ERO o ROS); reduce la viscosidad sanguínea (Galán Gutiérrez, 2013); mantiene el flujo sanguíneo (Galán Gutiérrez, 2013); inhibe la vasodilatación (Kumar y Poornachandra et al., 2014); posee propiedad quimiopreventiva, antimicótica, cardioprotectora (Singh y Pai, 2014), antiinfecciosos y de antidegeneración cerebral (Wcislo, 2014); además se utiliza para prevenir la diabetes (Huang y Dai et al., 2017).

También existe una amplia evidencia científica que demuestra que el resveratrol protege contra la obesidad inducida por la dieta alta en grasas, mejora la sensibilidad a la insulina, disminuye los niveles de glucosa sérica en varios modelos animales y mejora la enfermedad renal diabética en roedores (Chandra K., 2015)

Sin embargo, el resveratrol presenta ciertas limitantes para su uso, entre las cuales se conoce que es un compuesto extremadamente fotosensible a la radiación ultravioleta o visible, causando su isomerización (Amri y Chaumeil et al., 2012) (Kumar y Kaur et al., 2017), asimismo, se conoce que es más estable a temperatura y pH bajo (Zupančič y Lavrič et al., 2015), ya que su estabilidad es limitada bajo ciertos niveles de pH y temperatura que pueden causar su degradación (Soo y Thakur et al., 2016), además presenta una baja solubilidad en agua y escasa biodisponibilidad (Suktham y Koobkokkrud et al., 2018). Diversos estudios farmacocinéticos han indicado que la biodisponibilidad oral de *trans*-RVT es casi nula (Singh y Pai, 2014) y tiene una vida media variable, siendo un obstáculo importante en estudios clínicos (Huminiecki y Horbańczuk, 2018).

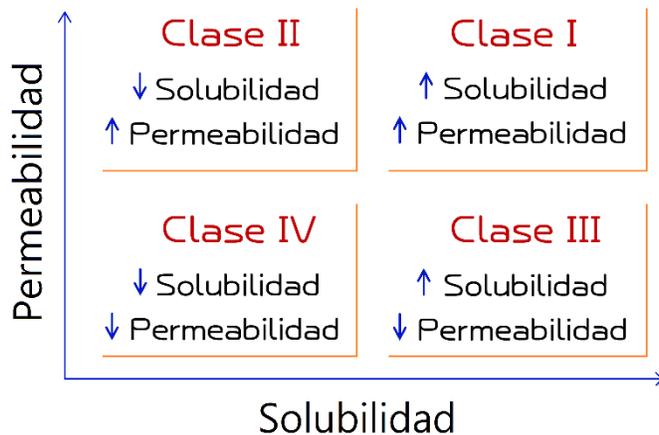


Figura I.5. Sistema de clasificación biofarmacéutica

El resveratrol se considera un compuesto de Clase II en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (Figura I.5) (Singh y Pai, 2014). Las sustancias de Clase II presentan baja solubilidad en medio acuoso, pero son fácilmente absorbidas por la mucosa gastrointestinal. La baja solubilidad del resveratrol está asociada con el perfil lipofílico de la molécula, el cual favorece

el paso a través de las barreras naturales (Ochoa Sánchez, 2018).

En cuestión a su perfil farmacocinético en estudios clínicos humanos a voluntarios sanos, el resveratrol demuestra un metabolismo rápido y extenso después de dosis orales únicas o múltiples de resveratrol entre 0.5 y 5.0g cada uno, donde se ha encontrado que el resveratrol es seguro y razonablemente bien tolerado hasta 5.0g/día, además varios estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos<sup>7</sup> en humanos demuestran que el resveratrol no parece tener efectos secundarios a corto plazo después de hasta una dosis de 1.0g de resveratrol.

Existen diferentes estudios que mencionan distintas dosis usadas, con diferentes resultados, por este motivo, todavía se debe determinar una dosis óptima o incluso relevante del resveratrol para diferentes indicaciones en estudios clínicos (Chandra K., 2015).

En el caso de los estudios con animales se ha usado una amplia gama de dosis de resveratrol, donde se ha demostrado que el resveratrol es bien tolerado en ratas a dosis de 750mg/kg peso por día sin presentar efectos tóxicos (Chandra K., 2015).

<sup>7</sup> Farmacodinámica: o farmacodinamia, es el estudio de los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos y de sus mecanismos de acción y la relación entre la concentración del fármaco y el efecto de este sobre un organismo.



Actualmente, el resveratrol se comercializa como un suplemento nutricional disponible en formas de dosificación tradicionales que incluyen tabletas, cápsulas y polvos, aunque los datos sobre su eficacia son escasos; los nuevos sistemas de administración de fármacos, como las nanopartículas poliméricas, las ciclodextrinas, las micelas y los liposomas, proporcionan varias ventajas sobre las formas tradicionales, incluida la capacidad de mejorar la solubilidad acuosa y la biodisponibilidad del resveratrol, mejorar la estabilidad fisicoquímica y permitir la liberación dirigida y controlada de fármacos (Summerlin y Soo et al., 2015).



### 1.1.1. Propiedades fisicoquímicas del resveratrol.

Las propiedades del resveratrol reportadas en la literatura se muestran en la Tabla I.1.

Tabla I.1. Propiedades fisicoquímicas del resveratrol.

| PROPIEDAD   | VALOR   | REFERENCIA                   |
|---|---|------------------------------|
| Fórmula molecular   | $C_{14}H_{12}O_3$   | Amri y Chaumeil et al., 2012 |
| Peso Molecular  | 228.24 g* $mol^{-1}$ 253-255 °C   | Chemical Book, 2022          |
| T° de Fusión  | 254 °C  | DrugBank, 2021               |
| Solubilidad   | Lipofílico / Liposoluble<br>Agua 0.0688mg/mL<br>Etanol 50mg/mL<br>DMSO 16mg/mL<br>PBS pH 7.2 (~ 100 y 181g/mL)<br>Metanol y acetona 50mg/mL | DrugBank, 2021               |
| T° de almacenamiento                                      | -20 °C  | Chemical Book, 2022          |
| Aspecto   | Polvo blanquecino, con un leve tono amarillo.   | Amri y Chaumeil et al., 2012 |
| Especificaciones  | Se degrada o isomeriza fácilmente por exposición a la luz, calor, pH y oxígeno.   | DrugBank, 2021               |
| Estabilidad de <i>cis</i> -RVT                            | pH neutro cuando está completamente protegido de la luz   | Amri y Chaumeil et al., 2012 |
| Estabilidad de <i>trans</i> -RVT<br>(Protegido de la Luz) | Durante al menos 42 h (CV $\leq 1\%$ ) y durante al menos 28 días (CV $\leq 4,7\%$ ) en tampones de pH 1-7                                  | Amri y Chaumeil et al., 2012 |



### 1.1.2. Parámetros farmacocinéticos del resveratrol.

“La farmacocinética es el estudio de las variaciones en las concentraciones del fármaco y sus metabolitos en función del tiempo en los diferentes fluidos y tejidos del organismo y de las relaciones matemáticas necesarias para desarrollar modelos que permitan interpretar tales datos” (Gibaldi y Perrier, 1982).

En otras palabras, la farmacocinética es la rama de la farmacología que estudia los procesos a los que un fármaco es sometido a través de su paso por el organismo desde el momento en el que es administrado hasta su total eliminación del cuerpo.

Los parámetros evaluados para la farmacocinética son expresiones numéricas de procesos biológicos y que justamente al tener un valor numérico se pueden evaluar, comparar y establecer diferencias.

Para el resveratrol, algunos de sus parámetros farmacocinéticos se indican en la Tabla I.2.

Tabla I.2. Parámetros farmacocinéticos del resveratrol.

| PROPIEDAD                     | VALOR  | REFERENCIA                               |
|-------------------------------|--|--|
| Vida Media                    | 2-12 h   | Valverde Iniesta, 2017                   |
|                               | 9.2 h  |  |
| Absorción                     | 75%  | Sáenz Chávez y Garza Ocañas et al., 2014 |
| Biodisponibilidad Oral        | Baja, menor a 1%                               |  |
| Clasificación Biofarmacéutica | Clase II                                       | Singh y Pai, 2014                        |
| Metabolitos                   | Glucurónidos, sulfatos e hidroxilatos estables | Sáenz Chávez y Garza Ocañas et al., 2014 |



El resveratrol se metaboliza extensamente en el intestino y el hígado mayormente por glucuronidación<sup>8</sup> y sulfatación<sup>9</sup>, esta última llevada a cabo por las *sulfotransferasas de fenol* (SULT1A1 y SULT1E1) (Sáenz Chávez y Garza Ocañas et al., 2014).

## 1.2. Isomerización y Degradación

### 1.2.1. Isomerización.

Se define como isomerización al proceso químico mediante el cual una molécula es transformada en otra que posee los mismos átomos, pero dispuestos de forma distinta.

De este modo, se obtiene una molécula denominada isómero, el cual generalmente tienen menor actividad terapéutica (Viades Trejo, 2012).

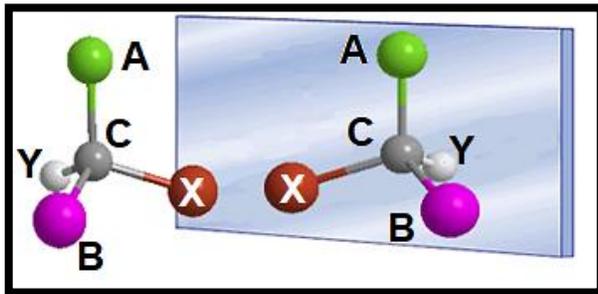


Figura I.6. Representación de un isómero óptico.

Existe el isómero óptico o enantiómero siendo una imagen especular no superponible de sí mismo, tienen las mismas propiedades físicas y químicas, excepto por la interacción con el plano de la luz polarizada (actividad óptica). Se denomina isómero D al que presenta el grupo funcional a la derecha del espectador e isómero L con su grupo funcional a la izquierda.

Por otro lado, el isómero geométrico se presenta en alquenos y cicloalcanos, que difieren en las posiciones de los átomos (o grupos) en relación con un plano de referencia: en el isómero

<sup>8</sup> Glucuronidación: (Biotransformación Fase II) La reacción consiste en agregar un grupo glucuronil en un grupo hidroxilo, amino o sulfhidrilo del tóxico. La enzima que cataliza la reacción es la *UDP* (uridina difosfato) glucuronil transferasa y el donador del grupo polar es el ácido UDP glucurónico. La enzima se encuentra localizada en el retículo endoplásmico (The University of Arizona, 2019).

<sup>9</sup> Sulfatación: Consiste en la transferencia de un grupo sulfato de PAPS (3'-fosfoadenosil-5'-fosfosulfato) a un grupo hidroxilo o amino en el xenobiótico. La reacción es catalizada por *sulfotransferasas*, enzimas solubles localizadas en el citosol (The University of Arizona, 2019).



*cis* los átomos están en el mismo lado y en el isómero *trans* están en lados opuestos; en algunos casos se adopta la nomenclatura E - Z. Esta nomenclatura está basada en las palabras alemanas E=entgegen (separados) y Z=zusammen (juntos). Estos isómeros geométricos tienen diferentes propiedades químicas y físicas.

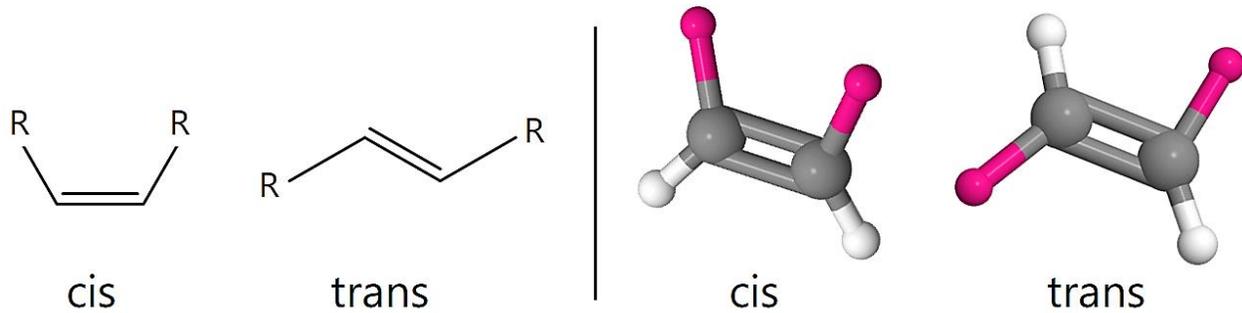


Figura I.7. Estructuras químicas de isómeros geométricos.

### 1.2.2. Degradación.

La degradación de un fármaco se puede dar por la inestabilidad química del principio activo, provocando su pérdida de actividad. Esta degradación se da por reacciones con agentes inertes del ambiente, como el agua, el oxígeno o la luz.

Los mecanismos de degradación de un fármaco más importantes son la hidrólisis, la oxidación y la degradación fotoquímica (SEMARNAT, 2007).

#### 🌸 Hidrólisis:

Es una reacción química entre una molécula de agua y el fármaco, en la cual la molécula de agua se divide y sus átomos pasan a formar parte de otra especie química (Checa Rojas, 2021).

Prevención: Estabilización mediante el pH óptimo de estabilidad, inclusión del principio activo en micelas, uso de disolventes que disminuye la velocidad por incremento de la polaridad del medio (Viades Trejo, 2012).



### Oxidación

Es la pérdida de un átomo electropositivo, radical o electrón, o bien, la adición de un átomo electronegativo o radical (SEMARNAT, 2007). Una molécula pobre en electrones es más difícil de oxidar que una molécula rica en electrones (Checa Rojas, 2021).

El proceso de oxidación se puede iniciar por:

Autooxidación (no catalítica) muy lenta que involucra oxígeno molecular, generalmente el oxígeno atmosférico es el responsable de estas reacciones.

Proceso en cadena: iniciación, propagación, descomposición y terminación de los radicales libres (Checa Rojas, 2021).

Prevención: Protección de la luz, eliminación del oxígeno, evitar temperaturas elevadas, contacto con metales pesados, adición de antioxidantes (Viades Trejo, 2012).

### Degradación Fotoquímica

La exposición a luz normal del sol o la de iluminación de interiores puede ser responsable de la degradación de algunas moléculas de fármacos, debido a que la absorción de luz produce una especie excitada e inestable que puede emitir radiación de diferente longitud de onda. Estas son reacciones que se asocian comúnmente a las de oxidación en presencia de  $O_2$ , donde la luz se considera el iniciador.

Prevención: Uso de recipientes opacos o vidrio colorido y almacenar en la oscuridad, proteger el principio activo mediante microencapsulación (Viades Trejo, 2012).



### 1.3. Nanotecnología

La palabra "nanotecnología" se usa extensivamente para definir las ciencias y técnicas que se aplican a nivel de nanoescala. Una de las definiciones más completas de este término se puede considerar la siguiente: "La nanotecnología es el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala" (Castillo Rodríguez, 2012).

En términos prácticos, la nanotecnología es el estudio y fabricación de estructuras y dispositivos en una dimensión de nanómetros donde el prefijo "nano" significa  $10^{-9}$  (Villafuerte R. y García F., 2008). El desarrollo de esta disciplina se produce a partir de las propuestas del Físico Richard Feynman ganador del premio Nobel de Física (Castillo Rodríguez, 2012).

Una de las ramas de la nanotecnología es la nanotecnología farmacéutica, en la actualidad se considera un campo interdisciplinario en búsqueda de dar respuesta o prevenir problemas de salud, desarrollando medicamentos con sistemas o estructuras de escala nanométrica, con los cuales se busca resolver ciertos problemas de solubilidad o estabilidad de los fármacos y biofármacos, particularmente en fluidos biológicos (Quirino Barreda, 2014). Sin embargo, la nanotecnología farmacéutica seguirá requiriendo las técnicas tradicionales como el desarrollo de formas de dosificación, validación de métodos analíticos y los estudios de estabilidad (Villafuerte R. y García F., 2008).

Otra ventaja de las nanoestructuras es evitar al sistema inmune y atravesar algunas barreras como la hematoencefálica y la pared del tracto gastrointestinal, barreras que el cuerpo utiliza para evitar la penetración de sustancias extrañas o no deseadas. Al reducir el tamaño de partículas de los fármacos al nivel de nanoescala, aumenta la velocidad de disolución y el límite de saturación de la solubilidad, lo cual permite un mejor desempeño del fármaco *in vivo* (Villafuerte R. y García F., 2008).



Por otra parte, la rama de la nanofarmacia se podría definir como el uso de la nanotecnología para la prevención, diagnóstico y tratamiento de enfermedades y heridas, así como para mejorar la salud y funcionamiento del organismo humano y de otros seres vivos; las aplicaciones de la nanofarmacia incluyen el descubrimiento de nuevos fármacos, el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos con localización o direccionamiento específico (vectorización).

### 1.3.1. Historia de la nanotecnología.

Históricamente, los nanomateriales<sup>10</sup> han estado presentes en la tecnología humana desde hace cientos de años, aproximadamente desde el año 500 a.C., un ejemplo de este hecho es en los óxidos que daban color a las vidrieras<sup>11</sup> y en el esmalte plateado y dorado de las cerámicas Andalusíes donde se observan nanopartículas metálicas. Así mismo, se ha descubierto que la dureza de los mejores aceros de la historia es debido a la presencia de nanopartículas de carbono colocadas en cierto orden, cuya presencia no se pudo explicar hasta el descubrimiento de estos compuestos (Universidad de Burgos, 2020).

Los nanomateriales pueden ser subdivididos en nanopartículas, nanocapas y nanocompuestos (Castillo Rodríguez, 2012).



Figura I.8. Sol de oro de 1925.

En el año 1925 el químico vienés Richard Adolf Zsigmondy realizó un estudio detallado sobre soles de oro (Figura I.8) y otros nanomateriales con tamaños de hasta 10nm, donde acuñó el término coloides y el término nanómetro para describir el tamaño de las partículas que observó.

<sup>10</sup> Nanomaterial: Material natural, accidental o fabricado que contiene partículas, sueltas o forman un agregado o aglomerado (Universidad de Burgos, 2020).

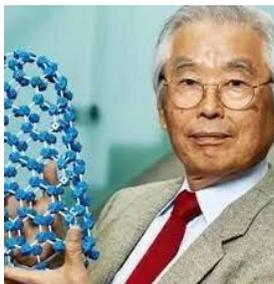
<sup>11</sup> Vidriera: Estructura de cristales, generalmente de colores, que con fines decorativos va colocada en una ventana o una puerta cerrándola o formando parte de ella.



En 1959 el físico teórico Richard Feynman (Figura I.9) (considerado el padre o el primer teórico de la nanotecnología) dio lo que sería la primera conferencia sobre tecnología e ingeniería a escala atómica en el instituto tecnológico de California (Caltech) "There is plenty of room at the bottom" (Hay mucho espacio en la parte inferior), donde describió el proceso de manipulación de átomos y moléculas individuales con instrumentos de gran precisión para el diseño y construcción de sistemas en nanoescala, átomo a átomo, esta conferencia es considerada el punto de partida de dos disciplinas científicas: la computación cuántica y la nanotecnología (Castillo Rodríguez, 2012).



**Figura I.9. Richard Feynman**



**Figura I.10. Norio Taniguchi.**

En 1974 el término de "nanotecnología" como concepto fue acuñado por el científico japonés Norio Taniguchi (Figura I.10), quien, en su artículo para una revista científica, "On the basin concept of Nano-Technology" lo definió como el procesamiento, separación y manipulación de materiales en átomos independientes.

En 1981 K. Eric Drexler (Figura I.11) publicó un artículo titulado "Ingeniería molecular: un enfoque para el desarrollo de capacidades generales para la manipulación molecular" donde describió sus ideas sobre la nanotecnología.

Y en 1986 publicó un libro, "Engines of Creation", que popularizaría el concepto y el término de nanotecnología en el resto del mundo, no solo en la comunidad científica (Universidad de Burgos, 2020).



**Figura I.11. K. Eric Drexler.**



### 1.3.2. Nanomateriales en la vida cotidiana.

Los nanomateriales mejoran diferentes ámbitos de la vida como la medicina, transportes, construcción, electrónica, moda, deporte, entre otras.

**MEDICINA:** Unos de los avances más revolucionarios es el rápido diagnóstico de enfermedades, como el VIH o el Ébola, gracias a nanopartículas magnéticas que, acopladas a un biosensor, actúan como traductoras de información procedente de los propios virus que originan estas enfermedades.

**COSMÉTICA:** Se encuentran nanomateriales en productos antiedad, correctores de ojeras, maquillaje, cremas para el tratamiento del prurito, protectores solares, entre otras.

**TRANSPORTE:** Las nanopartículas acrílicas empleadas como recubrimiento a las pinturas de algunos aviones, generan una película que impide el posterior depósito de contaminantes y otras sustancias presentes en la atmosfera, consiguiendo aparatos más aerodinámicos y con menor consumo de combustibles. Nanopartículas de sílice en neumáticos prolonga su vida haciéndolos menos propensos a desgastarse y de este modo reducen el consumo de combustibles y las emisiones de gases contaminantes.

**CONSTRUCCIÓN:** Los nanotubos de carbono son empleados para la prevención de grietas en el cemento.

**ELECTRÓNICA:** La nanoelectrónica desarrolla dispositivos electrónicos capaces de almacenar más información en un espacio cada vez más pequeño.

**TEXTIL:** La fabricación de un tejido compuesto con partículas o fibras de tamaño nanométrico permite mejorar las propiedades de la tela sin un aumento significativo de peso, grosor o rigidez.

**DEPORTE:** En materiales empleados en el ámbito deportivo, como raquetas, zapatos y ropa deportiva o cuadros de bicicleta, se introducen pequeñas cantidades de grafeno (100 veces más duro que el acero) en sus estructuras, lo que les confiere mejores propiedades mecánicas, o una redistribución optimizada del peso.

**OTRAS:** El proyecto denominado “Aplicaciones del Grafeno en Equipos Personales para la Defensa, (A.G.E.P.A.D)” desarrolló chalecos antibalas con grafeno para incrementar la resistencia, sin perder el confort (Livián López, 2018).



## 1.4. Nanopartículas

En el campo farmacéutico las nanopartículas son partículas sólidas coloidales<sup>12</sup> en un intervalo de tamaño de 1nm a 1,000nm que se utilizan como agentes de dosificación de fármacos (Villafuerte R. y García F., 2008) en las cuales el activo (fármaco o material biológicamente activo) está disuelto, entrampado, encapsulado, adsorbido<sup>13</sup> o enlazado en la matriz de la nanopartícula. La tecnología de las nanopartículas (NP's) inició su desarrollo como una estrategia para atacar problemas de formulación asociados con fármacos que son poco solubles tanto en agua como en lípidos (De la Cruz Medina, 2010).

Nanopartícula es un término colectivo empleado tanto para las nanoesferas como para las nanocápsulas (Figura I.12) (Esquivel Chávez, 2013).

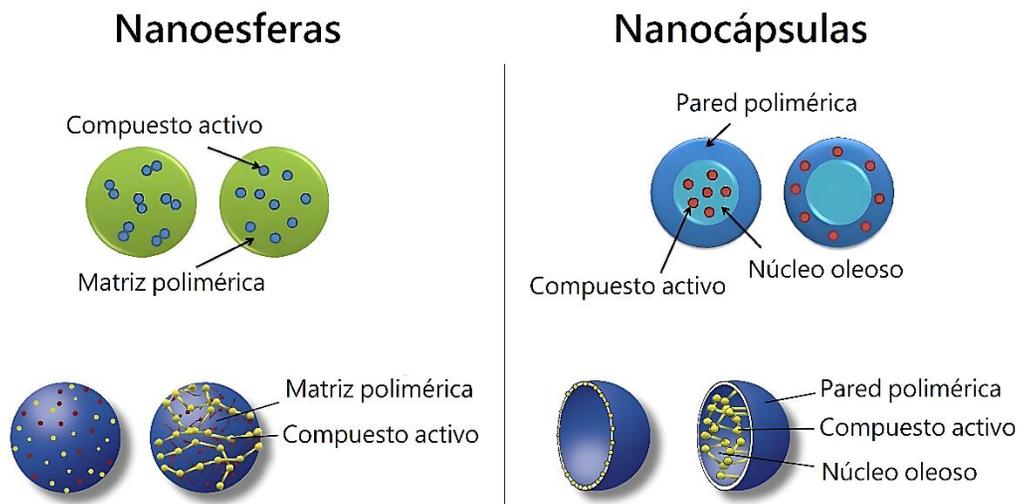


Figura I.12. Representación esquemática de NP's  
(Esquivel Chávez, 2013).

<sup>12</sup> Coloides: Son mezclas heterogéneas de por lo menos dos fases diferentes con la materia de una de las fases en forma finamente dividida (sólido, líquido o gas), denominada fase dispersa, mezclada con la fase continua (sólido, líquido o gas), denominada medio de dispersión (González, 2011).

<sup>13</sup> Adsorción: La tendencia de un componente del sistema a concentrarse en la interfase, donde la composición interfacial es diferente a las composiciones correspondientes al seno de las fases. Absorción: Existe una penetración física de una fase en la otra (Viades Trejo, 2013).



En cuanto a las ventajas del uso de nanopartículas como sistemas de liberación de fármacos, las más importantes son las siguientes (De la Cruz Medina, 2010):

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

Las nanopartículas cuentan con ciertas propiedades físicas de importancia, como son (De la Cruz Medina, 2010):

*Tamaño de partícula:* Las nanopartículas son de gran interés en la liberación de fármacos debido a su tamaño, comparado con el tamaño de los componentes en las células.

*Superficie de las Nanopartículas:* Tamaño de partículas pequeñas aumentan el número de átomos situados en la superficie, la superficie específica es la relación del área superficial respecto al volumen, partículas con menor diámetro tienen una mayor área superficial, como se observa en la Figura I.13.

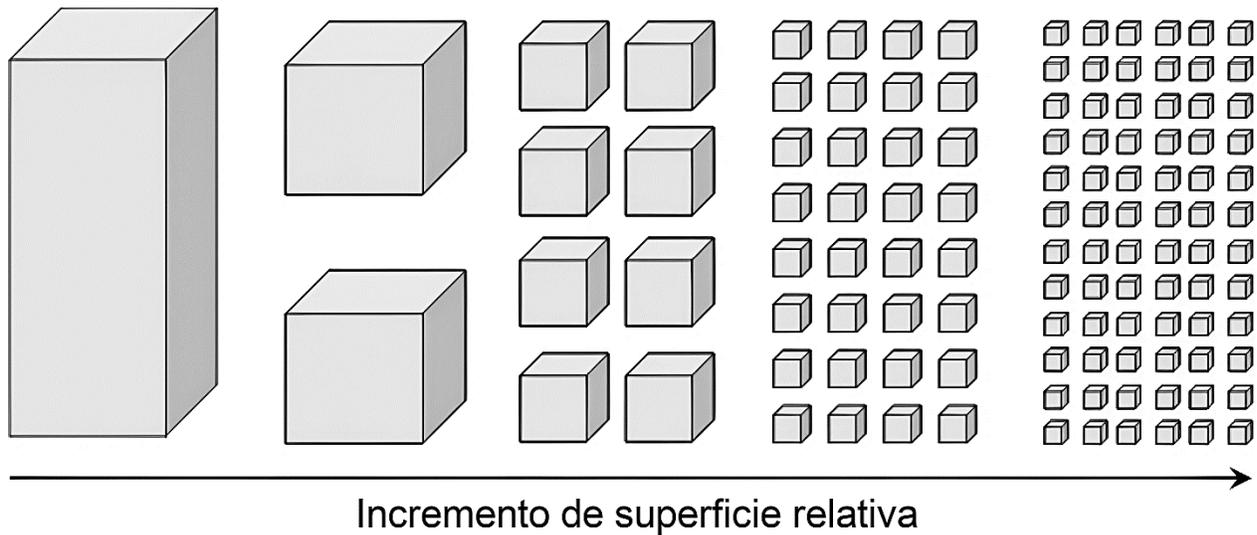


Figura I.13. Representación del incremento del área superficial con respecto al tamaño de partícula (Cornejo, 2015).

Con la reducción de tamaño se incrementan las fuerzas de atracción de Van der Waals<sup>14</sup> y las nanopartículas tienden a atraerse entre sí y aglomerarse reduciendo su reactividad química<sup>15</sup>; para evitar este efecto es necesario estabilizar las nanopartículas individuales reduciendo su energía superficial libre; un método para reducir la energía de superficie es mediante la estabilización estérica o polimérica (Cornejo, 2015).

*Suspensión y sedimentación de Nanopartículas:* Las nanopartículas no precipitan en las suspensiones, ya que su atracción gravitacional no es más fuerte que el movimiento térmico aleatorio de las partículas.

<sup>14</sup> Fuerzas de Van der Waals: Son atracciones débiles que mantienen unidas a moléculas eléctricamente neutras, en algún momento estas moléculas presentan lo que se denomina un dipolo inducido, es decir, la molécula adquiere una carga parcialmente positiva y otra parcialmente negativa, de manera momentánea, provocando que se atraigan entre sí por el efecto electrostático generado por la atracción del polo positivo de una molécula con el polo negativo de otra.

<sup>15</sup> Reactividad química: Se refiere a la capacidad de una sustancia para sufrir una reacción química, ya sea con ella misma o con otras sustancias o reactivos, transformándose en uno o varios productos y liberando energía.



### 1.4.1. Nanocápsulas y Nanoesferas.

#### a. Nanocápsulas (NC's).

Las nanocápsulas son sistemas en los cuales el fármaco está disuelto en una cavidad o núcleo líquido generalmente oleoso rodeado por una membrana polimérica que controla la cinética de liberación dependiendo de su naturaleza química (Esquivel Chávez, 2013), sin embargo, en algunos casos el fármaco también puede ser adsorbido a la superficie de la cápsula (Figura I.14) (Llabot y Palma et al., 2008).

#### b. Nanoesferas (NE's).

Las nanoesferas son sistemas matriciales en los cuales el fármaco se encuentra incrustado en la matriz polimérica de manera uniforme (Figura I.14) (Esquivel Chávez, 2013). De igual forma, el fármaco se puede encontrar disuelto, atrapado, disperso, químicamente enlazado o adsorbido al constituyente polimérico de la matriz (Hernández Salgado, 2015).

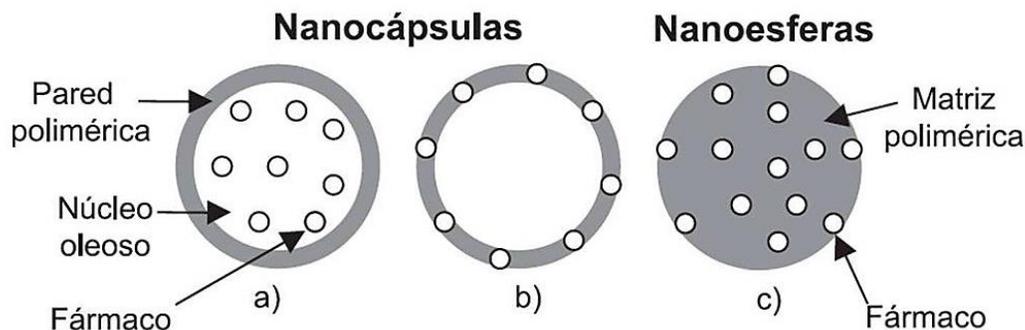


Figura I.14. Nanopartículas poliméricas. a) fármaco disuelto en el núcleo oleoso; b) fármaco adsorbido en la pared polimérica; c) fármaco adsorbido o disperso molecularmente en la matriz polimérica

(Rezende Schaffazick, 2003).

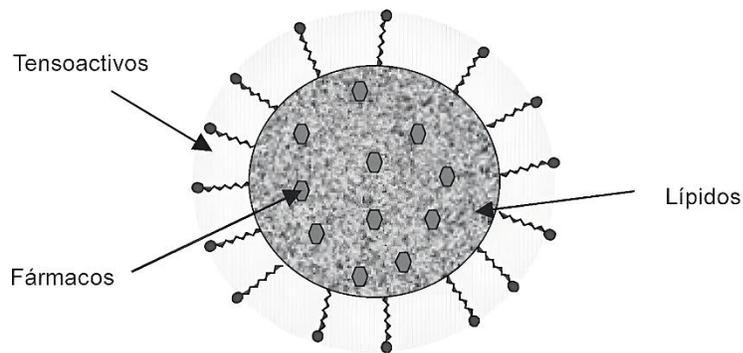


### 1.4.2. Tipos de nanopartículas.

Existen diversos tipos de nanopartículas, las más conocidas son las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN) y las nanopartículas poliméricas sólidas (NPS).

#### 1.4.2.1. *Nanopartículas Lipídicas Sólidas.*

Las nanopartículas lipídicas sólidas (SLN, por sus siglas en inglés) de forma esférica con un



diámetro inferior a  $1\mu\text{m}$ , son consideradas como sistemas de liberación prolongada. Las SLN (Figura I.15) poseen un núcleo sólido lipídico estabilizado con tensoactivos o estabilizante que puede solubilizar fármacos lipofílicos. También se pueden utilizar fármacos hidrofílicos

**Figura I.15. Representación esquemática de una SLN's**  
(Villafuerte R. y García F., 2008).

(modificados, por ejemplo, formando conjugados con sustancias lipídicas), e inclusive aceites volátiles.

Entre sus desventajas está el crecimiento de las partículas durante su almacenamiento, una tendencia hacia una gelificación impredecible, cambios inesperados en sus transiciones polimórficas y su inherente baja capacidad de incorporación de los fármacos debido a la estructura cristalina del lípido sólido (Villafuerte R. y García F., 2008).



#### 1.4.2.2. Transportadores Lipídicos Nanoestructurados.

Una nueva generación de nanopartículas lipídicas sólidas son los transportadores lipídicos

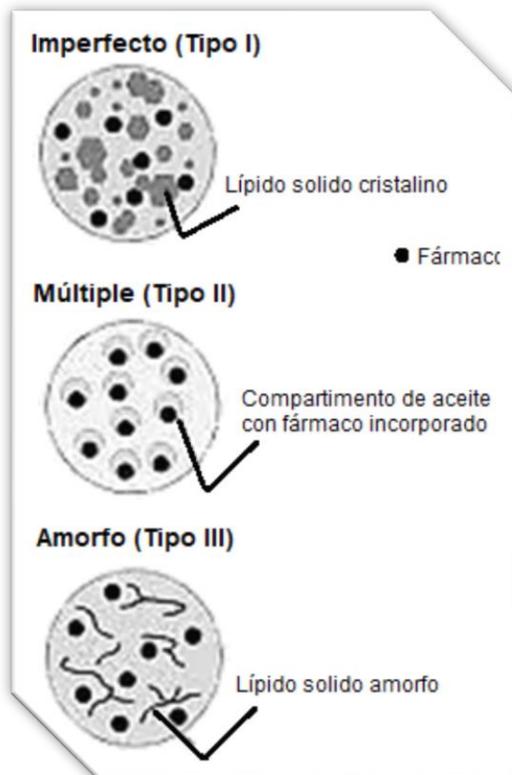


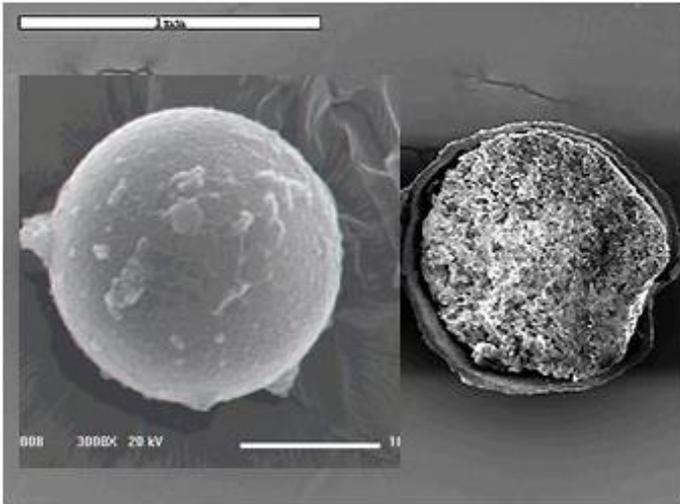
Figura I.16. Representación esquemática de los diferentes tipos en NLC's

nanoestructurados (NLC, por sus siglas en inglés). Tienen las mismas ventajas de las nanopartículas lipídicas sólidas, sin embargo, los NLC minimizan o evitan algunos posibles problemas como una baja capacidad de carga y el alto contenido de agua de las dispersiones de las SLN. En los NLC aumenta la capacidad de carga de los fármacos en el seno de las nanopartículas por su matriz sólida lipídica menos ordenada (Figura I.16).

Los transportadores lipídicos nanoestructurados se han considerado adecuados para la liberación de fármacos hacia la piel (Villafuerte R. y García F., 2008).



### 1.4.2.3. Nanopartículas Poliméricas Sólidas.



**Figura I.17. Nanopartícula Polimérica Sólida.**

Las nanopartículas poliméricas sólidas (Figura I.17) se definen como partículas de tamaño inferior a  $1\mu\text{m}$ , generalmente entre 10 y 500nm, elaboradas a partir de materiales poliméricos de diferente naturaleza (Gómez Gaete, 2014). Tienen la capacidad de suministrar una amplia gama de compuestos para las diferentes vías de administración, un

ejemplo es la administración por tiempo sostenido. Las nanopartículas poliméricas se pueden preparar a partir de polímeros sintéticos por polimerización o por polímeros preformados, los más utilizados son el ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA), y su copolímero ácido poli (láctico-co-glicólico) (PLGA); son conocidos por su biocompatibilidad, por la posibilidad de manipular la tasa de degradación y, en consecuencia, la velocidad de liberación de fármacos.

Los polímeros naturales (proteínas o polisacáridos) no han sido ampliamente utilizados para este fin, ya que varían en pureza, y a menudo requieren entrecruzamientos para aumentar la estabilidad física del sistema, lo que podría modificar la encapsulación de fármacos (Llabot y Palma et al., 2008).

Las nanopartículas de polímeros biodegradables al ser estables se consideran importantes para los sistemas de liberación de fármacos, se adaptan fácilmente a los procesos industriales de fabricación y se pueden modificar en su superficie para modular sus propiedades.

Estas nanopartículas se pueden diseñar para controlar tanto la velocidad de liberación de los fármacos, así como para controlar su localización en algún lugar específico del organismo (Villafuerte R., 2009).



La producción de nanopartículas poliméricas cuenta con muchas variables independientes. Un parámetro clave es el tipo de tensoactivo/surfactante o estabilizante (coloide protector) a utilizar, la concentración del tensoactivo utilizado también tiene efecto sobre las propiedades de las nanopartículas.

Particularmente, si la concentración del tensoactivo o estabilizante es demasiado baja, se producirá la agregación de las “nanogotas” del polímero durante la preparación de las nanopartículas y en consecuencia se obtendrá un rendimiento muy bajo. Por otra parte, si se utiliza demasiado tensoactivo o estabilizante, la incorporación de fármacos a la nanopartícula puede reducirse debido a la interacción entre el fármaco y el tensoactivo.

Sin embargo, estudios realizados demostraron que cuando la concentración del tensoactivo está dentro de ciertos límites, se puede utilizar como forma de controlar el tamaño de nanopartícula. Otro factor que afecta las propiedades de las nanopartículas debido a la posible agregación es el proceso de liofilización, el cual impacta de manera decisiva el tamaño de las nanopartículas y en consecuencia su comportamiento biofarmacéutico. Se ha informado que los aditivos tales como sacáridos (sacarosa, manosa, etc.) son necesarios para crear un efecto de crioprotección de las nanopartículas, ya que actúan como espaciadores entre las partículas para evitar su agregación.

El polímero que se utiliza para formular las nanopartículas también afecta de manera importante la estructura, sus propiedades y aplicaciones de las partículas (Billmeyer, 1975).

Otra característica de las nanopartículas poliméricas es el potencial zeta, el cual es una medida de la carga de la partícula, cuanto mayor es el valor absoluto del potencial zeta mayor es la cantidad de carga de la superficie.

El potencial zeta representa un índice de la estabilidad de las partículas. Para el caso de partículas cargadas, cuando el potencial zeta aumenta las interacciones repulsivas serán de mayor magnitud, lo que puede llevar a la obtención de nanosuspensiones físicamente más estables, ya que este efecto de repulsión evita la formación de posibles agregados (Llabot y Palma et al., 2008).



### 1.4.3. Métodos de estabilización de nanopartículas.

Las partículas coloidales son inestables, presentan una tendencia a aglomerarse, así que deben ser estabilizadas para conservar el coloide. La utilización de un tensoactivo o agente estabilizante origina una fuerza de repulsión que contrarresta las fuerzas de Van der Waals que atraen partículas a distancias cortas. La estabilización se puede dar por efectos electrostáticos, por impedimento estérico o por una combinación de ambos (Gómez Villarraga, s.f.).

#### 1.4.3.1. Estabilización electrostática

Compuestos iónicos disueltos en disolución pueden causar este tipo de estabilización. La presencia de iones sobre la superficie de las partículas y sus respectivos contraiones, producen una doble capa a su alrededor, esto genera una repulsión de tipo electrostático entre las partículas (Figura I.18) lo que evita la agregación si la diferencia de potencial en la doble capa es lo suficientemente alta (Gómez Villarraga, s.f.). Valores altos del potencial zeta indican una alta estabilidad de las emulsiones debido a que las partículas se encuentran a mayor distancia entre ellas (Peredo Luna y Jiménez Munguía, 2012).

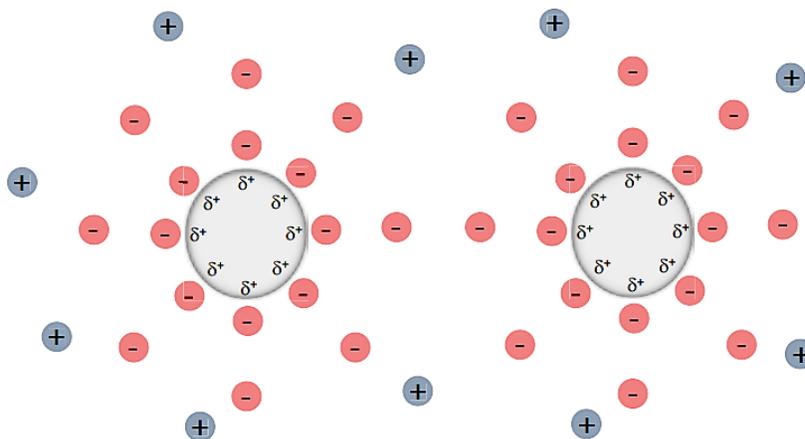
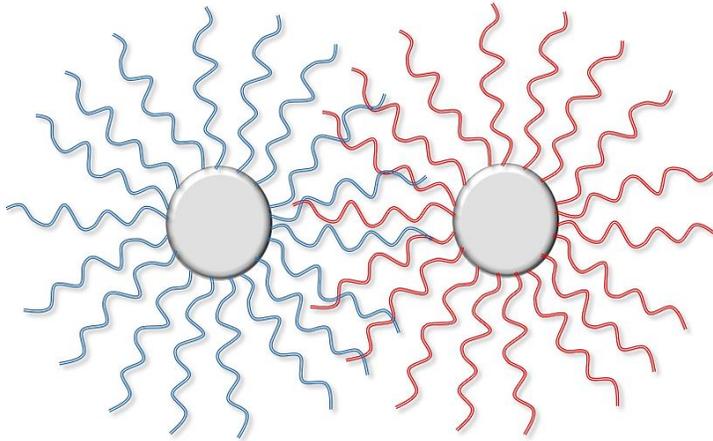


Figura I.18. Representación de la estabilización electrostática  
(Gómez Villarraga, s.f.).



#### 1.4.3.2. Estabilización estérica

La estabilización estérica, o el impedimento estérico, se genera con la adsorción de



**Figura I.19. Representación del impedimento estérico**  
(Gómez Villarraga, s.f.).

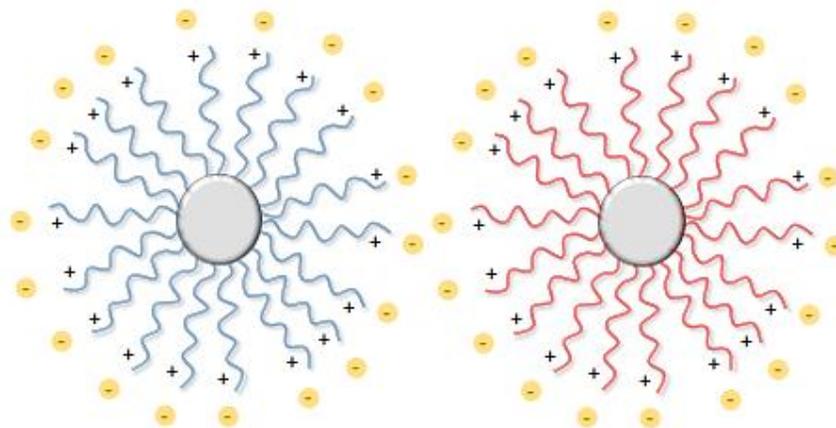
moléculas (polímeros, dendrímeros o estabilizante) o la coordinación de ligandos sobre la superficie de las partículas que proporcionan una capa protectora que evita la agregación (Figura I.19) (Gómez Villarraga, s.f.).

El estabilizante se adsorbe en la interfaz externa y forman películas gruesas semisólidas que promueven

la estabilidad impidiendo la aglomeración de las partículas (Peredo Luna y Jiménez Munguía, 2012).

#### 1.4.3.3. Estabilización electrostérica

Se puede combinar la estabilización electrostática y la estérica. Los compuestos usados (agentes tensoactivos iónicos) contienen un grupo polar capaz de generar una doble capa eléctrica y una cadena lipofílica capaz de provocar la repulsión estérica (Figura I.20) (Gómez Villarraga, s.f.).



**Figura I.20. Representación de la estabilización electrostérica**  
(Gómez Villarraga, s.f.).



## 1.5. Componentes

### 1.5.1. Polímero.

Un polímero es una macromolécula construida por la repetición de pequeñas unidades químicas simples. En algunos casos la repetición es lineal, como una cadena con eslabones, en otros casos las cadenas son ramificadas o interconectadas formando retículos tridimensionales. La longitud de estas cadenas depende del grado de polimerización<sup>16</sup> (DP, por sus siglas en inglés).

La unidad repetitiva del polímero es usualmente equivalente o casi equivalente a un monómero<sup>17</sup> o material de partida del que se forma el polímero. Un ejemplo es el poli (cloruro de vinilo) en el cual la unidad repetitiva es el monómero cloruro de vinilo, donde la masa molar del polímero es el producto de la masa molar de la unidad repetitiva por el grado de polimerización (Billmeyer, 1975).

El polímero utilizado para formular las nanopartículas también afecta de manera importante a la estructura, propiedades y aplicaciones de las partículas. La concentración y peso molecular del polímero a utilizar también afectarán a la formación de nanopartículas. Nanopartículas de aproximadamente 100nm, se pueden preparar con polímeros de baja masa molar, sin embargo, se reduce la eficiencia de encapsulación del fármaco. Por otra parte, un aumento de la concentración de polímeros aumenta la eficiencia de encapsulación, pero también el tamaño de las nanopartículas (Llabot y Palma et al., 2008).

---

<sup>16</sup> Grado de polimerización: Es una medida de la longitud de las cadenas poliméricas, ya que es el número promedio de unidades monoméricas por molécula de polímero y es directamente proporcional al peso molecular promedio en número. La "n" indica cuántas unidades repetitivas se encuentran en el polímero.

Polimerización: Es el proceso mediante el cual las moléculas simples, iguales o diferentes, reaccionan entre sí por adición o condensación y forman otras moléculas de peso doble, triple, etc.

<sup>17</sup> Monómero: Son compuestos de baja masa molar que pueden unirse a otras moléculas pequeñas (ya sean iguales o diferentes) para formar macromoléculas de cadenas largas comúnmente conocidas como polímeros (QuimiNet, 2003).



Existen diferentes tipos de polímeros que se pueden clasificar en:

- ☼ Polímero natural: Utilizados desde tiempos remotos, como el asfalto, resinas y gomas.
- ☼ Polímero sintético: Son todos aquellos elaborados por el humano en los laboratorios o a escalas industriales.
- ☼ Polímero biodegradable: Un polímero cuyo esqueleto hidrolizable es susceptible a la degradación química o microbiana.

Los polímeros naturales (proteínas o polisacáridos) no han sido ampliamente utilizados para el desarrollo de nanopartículas, ya que varían en pureza, y a menudo requieren entrecruzamientos para aumentar la estabilidad física del sistema, mientras que los polímeros sintéticos son conocidos por su biocompatibilidad y por la posibilidad de manipular la tasa de degradación y, en consecuencia, la velocidad de liberación de fármacos, por aumento de hidrofobicidad o un aumento de hidrofiliidad de la nanopartícula, siendo los más utilizados para el desarrollo de nanopartículas poliméricas sólidas (Llabot y Palma et al., 2008).

#### ➤ Polímeros Sintéticos

Entre algunos ejemplos de polímeros sintéticos se encuentran el ácido poliláctico, ácido poli(láctico-co-glicólico) y la policaprolactona.

Los más importantes son el ácido poliláctico y la policaprolactona, tanto por su facilidad de obtención y procesabilidad, como por su versatilidad y obtención relativamente económica (Labeaga Viteri, 2018).

#### ❖ Ácido poliláctico

El ácido poliláctico (PLA), visualizado en la Figura I.21, fue descubierto en 1932 por Wallace Carothers (inventor del nailon y líder del departamento de química orgánica de DuPont) y

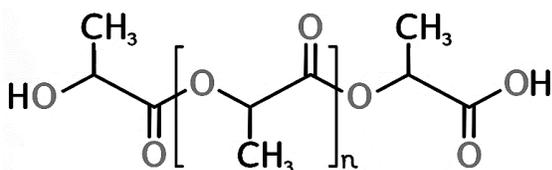


Figura I.21. Estructura del polímero PLA.

desde entonces se continúa investigando en nuevas formas de obtención y optimización de sus propiedades (Labeaga Viteri, 2018), es un biopolímero termoplástico cuya molécula

precursora es el ácido láctico proveniente del almidón. Debido a su biodegradabilidad,

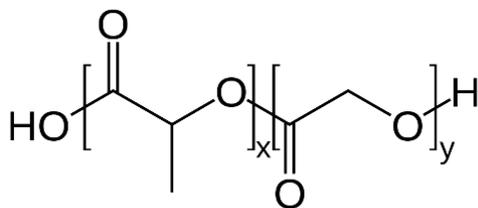


propiedades de barrera y biocompatibilidad, este biopolímero ha encontrado numerosas aplicaciones, ya que presenta un amplio rango inusual de propiedades, desde el estado amorfo hasta el estado cristalino (Serna C., 2003).

La razón de que el ácido poliláctico es un polímero tan versátil es que posee átomos de carbono asimétricos, por lo que se pueden obtener tres isómeros distintos, el isómero L (PLLA) que posee una estructura muy cristalina, con una temperatura de fusión bastante alta (aproximadamente a los 180°C), mejores propiedades mecánicas que los otros isómeros y es más difícil de hidrolizar; el isómero D (PDLA) (ópticamente activo) también da lugar a un polímero cristalino, pero el isómero D a diferencia del isómero L, no es compatible con el organismo humano, por lo que no se ha profundizado tanto en su desarrollo; y la mezcla racémica de los dos isómeros DL (PDLLA) (ópticamente inactiva), da lugar a un polímero completamente amorfo y, por lo tanto, se degrada muy fácilmente por la acción combinada de procesos de hidrólisis y enzimáticos (Labeaga Viteri, 2018). Sin embargo, su uso se ve obstaculizado por su escasa solubilidad en agua (Summerlin y Soo et al., 2015).

#### ❖ Ácido poli(láctico-co-glicólico)

El ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA) (Figura I.22) es un copolímero de ácido poliláctico (PLA) y ácido poliglicólico (PGA).



**Figura I.22. Estructura del polímero PLGA.**

El ácido poliglicólico contiene un alfa-carbono asimétrico que se describe típicamente como la forma D o L en términos estereoquímicos clásicos.

Ha sido el polímero biodegradable más investigado, en parte debido a su aprobación en

formulaciones de medicamentos y dispositivos médicos por la FDA y a su versatilidad en términos de disponibilidad, composiciones y tasas de degradación variables para los depósitos de medicamentos. El ácido poli(láctico-co-glicólico) es un polímero ampliamente utilizado para preparar nanopartículas debido a su biocompatibilidad y utilidad bien documentada para la liberación sostenida del fármaco (Zakharova y Pashirova et al., 2017). Puede ser combinado con otros polímeros o revestidos con diferentes ligandos, atribuyendo a las nanopartículas características importantes (García Rojas, 2016).

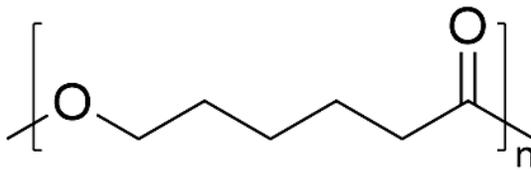


Este material ha suscitado un gran interés, ya que se pueden ajustar propiedades como su velocidad de degradación, dependiendo de la proporción de PLA y PGA que se emplee (Labeaga Viteri, 2018).

#### ❖ Policaprolactona

La policaprolactona (PCL) (Figura I.23) fue uno de primeros polímeros biodegradables sintetizados en el año de 1930 por Wallace Carothers, siendo comercializado en el ámbito médico (Labeaga Viteri, 2018).

Es un poliéster semicristalino que posee un punto de fusión bastante bajo, en torno a los 60°C y es muy soluble en disolventes orgánicos por su carácter hidrofóbico.



**Figura I.23. Estructura del polímero PCL.**

La policaprolactona tiene un tiempo de biodegradación mayor que el resto de los polímeros anteriormente descritos (entre 2 y 3 años). Su degradación es mucho más lenta

debido a la alta cristalinidad del polímero, esta degradación se da por hidrólisis de sus enlaces éster en condiciones fisiológicas (como en el cuerpo humano) y se metaboliza de tal manera que no deja ningún tipo de residuo en el organismo (Labeaga Viteri, 2018).

La policaprolactona es un poliéster hidrófobo reconocido por sus buenas propiedades de liberación sostenida y su perfil de degradación lenta, se puede adaptar para controlar la tasa de liberación del fármaco, disminuir la frecuencia de administración y adecuar la dosificación de los principios activos en el sitio de interés, mejorando la eficacia terapéutica y minimizando cualquier efecto secundario (García Rojas, 2016).

#### 1.5.1.1. *Aplicación de polímeros como dispositivos en la liberación de medicamentos.*

La administración controlada de fármacos en el organismo es un aspecto extensamente investigado por la comunidad científica. El objetivo es mejorar el efecto que los medicamentos tienen en el organismo al ser administrados, ya que muchas veces su efecto no está focalizado en donde realmente es necesario, y como consecuencia, aumenta tanto la cantidad de fármaco que se administra como el tiempo de efecto (Labeaga Viteri, 2018).



Por esto se ha investigado el desarrollo de nuevos polímeros adecuados para esta función, y para ello los polímeros deben cumplir varias características:

- ⊗ La matriz polimérica que contiene el principio activo ha de ser biodegradable para que, cuando el fármaco haya cumplido su función, esta desaparezca del organismo.
- ⊗ El polímero debe ser biocompatible, es decir, el organismo no debe presentar signos de rechazo cuando sea introducido.

### 1.5.2. Agente tensoactivo o coloide protector.

Los tensoactivos son moléculas que se caracterizan por poseer en la misma estructura una parte polar (parte hidrófila) y otra no polar (parte hidrófoba). La parte polar puede ser; una carga positiva, negativa, ambas o ninguna, siendo esta la que define el carácter del tensoactivo como catiónico, aniónico o no iónico, entre otros.

Los coloides protectores o estabilizantes estéricos son polímeros solubles en agua que se utilizan como agentes estabilizadores o de suspensión. Este tipo de agentes estabilizantes se usan en cantidades relativamente pequeñas (0.1 a 5% en peso de monómero). Al disolverse en agua disminuye la tensión interfacial entre el glóbulo de monómero y el agua, favoreciendo la dispersión de los glóbulos; por otra parte, se adsorbe sobre la superficie del glóbulo formando una fina capa que evita la coalescencia mediante una estabilización estérica.

Se considera que los coloides protectores se adsorben en la superficie del glóbulo formando lazos, donde, diversas partes no contiguas de la cadena polimérica del estabilizador se adsorben o se anclan sobre la superficie de la partícula y el resto de la cadena (con grupos polares) se sumerge en el medio de reacción polar (agua) proporcionando el efecto estérico (Cuéllar & Ramírez, 2001).

Los compuestos solubles en agua con alto peso molecular, tales como el alcohol polivinílico (PVA), se utilizan comúnmente como coloides protectores.

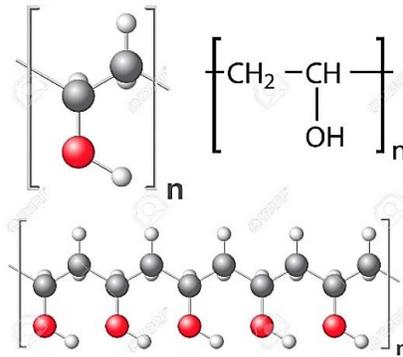


Figura I.24. Estructura química del PVA  
(Flores Villaseñor, 2011).

El alcohol polivinílico (PVA, PVOH o PVAL) cuya estructura se visualiza en la Figura I.24 es una macromolécula longitudinal hidrocarbonada formada por la hidrólisis<sup>18</sup> parcial del poli (acetato de vinilo) (PVAc) (Flores Villaseñor, 2011). Su comportamiento depende de parámetros variables, como el grado de hidrólisis (grado de saponificación) y su viscosidad (peso molecular) (Cuéllar & Ramírez, 2001).

En la Tabla I.3 se muestra como se identifica el grado de hidrólisis y la viscosidad del alcohol polivinílico.

Tabla I.3. Parámetros variables del alcohol polivinílico (mowiol).

| Grado de hidrólisis (grado de saponificación) |   |
|---|---|
| a) Mowiol 18 - <b>88</b>                      | Grado de saponificación <b>88</b> Mol%    |
| b) Mowiol 20 - <b>98</b>                      | Grado de saponificación <b>98</b> Mol%    |
| Viscosidad (Peso molecular)                   |   |
| a) Mowiol <b>8</b> - 88                       | Viscosidad <b>8</b> mPas (4% disolución)  |
| b) Mowiol <b>26</b> - 88                      | Viscosidad <b>26</b> mPas (4% disolución) |
| c) Mowiol <b>40</b> - 88                      | Viscosidad <b>40</b> mPas (4% disolución) |

mPas = mili Pascal

<sup>18</sup> Hidrólisis: Descomposición de sustancias orgánicas e inorgánicas complejas en otras más sencillas por acción de agua.



En el caso del alcohol polivinílico parcialmente hidrolizado, los grupos acetato residuales actúan como puntos de adherencia hidrofóbica, mientras que los grupos OH están dirigidos directamente dentro de la fase acuosa continua (Cuéllar & Ramírez, 2001).

### **1.6. Métodos para la preparación de nanopartículas poliméricas**

Durante las últimas tres décadas se han desarrollado numerosos métodos para la obtención de nanopartículas poliméricas.

Convencionalmente, se han preparado a través de procesos de nanoencapsulación, empleando dos vías: polimerización de monómeros y el uso de polímeros preformados (Alcalá Alcalá, 2014).

Métodos para la preparación de NP's poliméricas utilizando la polimerización de monómeros;

- a) Emulsión
- b) Interfacial

Métodos para la preparación de NP's poliméricas empleando polímeros preformados;

- a) Emulsificación-Evaporación de disolvente
- b) Desplazamiento de disolvente
- c) Nanoprecipitación
- d) *Salting out*
- e) Emulsificación-Difusión de disolvente

Para los métodos donde se utiliza la polimerización de monómeros, se generan residuos tóxicos o no biodegradables tales como monómeros e iniciadores, lo que requiere un amplio trabajo de purificación para dar como resultado un producto farmacéuticamente aceptable. Uno de los desafíos para activar la polimerización es el requerimiento de radicales libres o luz ultravioleta (Crucho, 2017) limitando la preparación de nanopartículas para el uso terapéutico. Es por lo cual la atención se ha enfocado al uso de polímeros preformados biodegradables para la preparación de nanopartículas (Alcalá Alcalá, 2014).

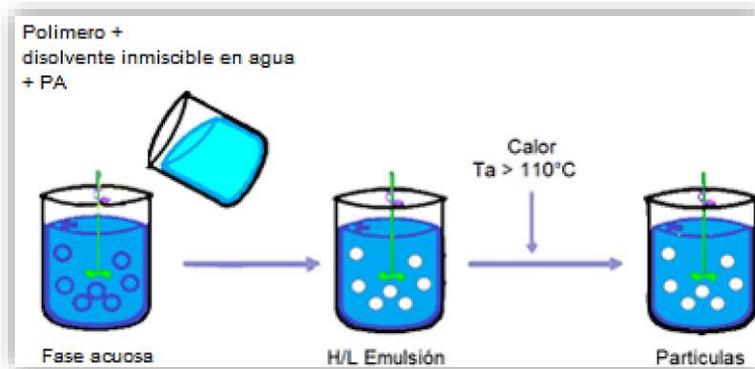


Los métodos de preparación de nanopartículas son en general parecidos entre sí, debido a que involucran una fase orgánica donde es disuelto el material polimérico y la incorporación de un no disolvente (como el agua) que contiene un agente tensoactivo o estabilizante, con la finalidad de generar la agregación del polímero y la formación de la nanoestructura (Alcalá Alcalá, 2014).

### 1.6.1. Método de preparación de nanopartículas con polímeros preformados.

#### 1.6.1.1. Emulsificación-Evaporación de disolvente.

El polímero se solubiliza en un disolvente inmiscible en agua y el principio activo se dispersa o disuelve en la disolución polimérica. La mezcla resultante se adiciona a una fase acuosa



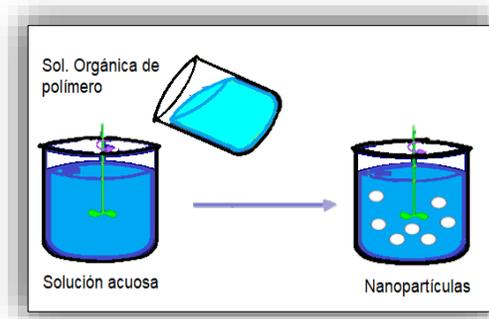
**Figura I.25. Representación esquemática del método Emulsificación-evaporación.**

en la que se emulsifica con ayuda de un agitador mecánico obteniendo gotas discretas (o/w), conforme se produce la evaporación del disolvente (Llera Rojas, 2018) mediante calor por agitación y/o rotavapor a presión reducida (Aguirre Pineda, 2005) se obtienen nanocápsulas (Llera Rojas, 2018) (Figura I.25). Esta técnica ha dado buenos resultados para encapsular fármacos hidrofóbicos, pero ha tenido pobres resultados en la incorporación de agentes bioactivos de carácter hidrofílico (Llabot y Palma et al., 2008).



### 1.6.1.2. Desplazamiento de disolvente.

En la Figura I.26 se muestra que para este método se involucra el uso de un disolvente orgánico que es completamente miscible con la fase acuosa. Este método permite la



**Figura I.26. Representación esquemática del método Desplazamiento de disolvente.**

obtención de nanoesferas y nanocápsulas sin necesidad de formar previamente una emulsión.

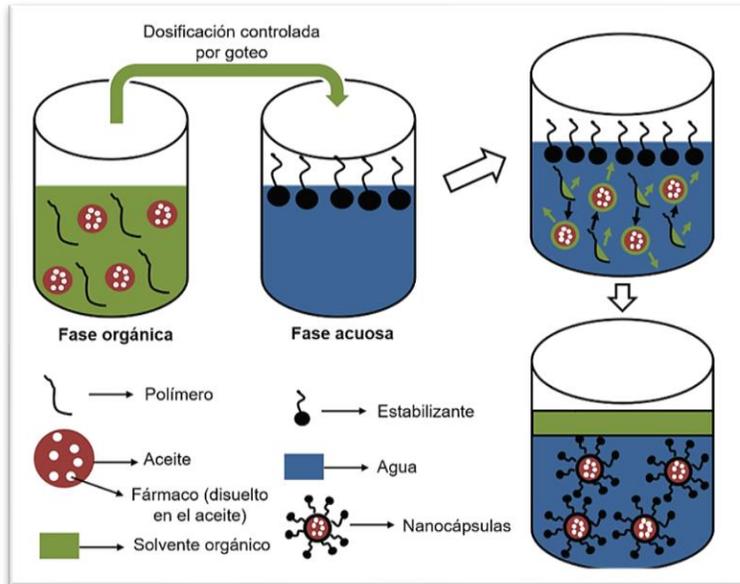
La precipitación del polímero es inducida directamente en un medio acuoso (conteniendo o no un estabilizante) por la adición de la fase acuosa a la disolución de polímero con agitación magnética.

Este método se limita a fármacos que son muy solubles en disolventes polares, pero ligeramente solubles en agua para evitar la

pérdida de fármaco durante la difusión del disolvente (Aguirre Pineda, 2005).

### 1.6.1.3. Nanoprecipitación.

Requiere de dos disolventes que sean miscibles entre sí, idealmente, el polímero y el fármaco son solubles en el primer disolvente, pero no en el segundo. La nanoprecipitación ocurre debido a la desolvatación del polímero cuando la disolución de este se adiciona al segundo "no" disolvente (en forma de goteo), ya que conforme el disolvente que contiene al polímero difunde a través del medio de dispersión, el polímero precipita, encapsulando al fármaco (Figura I.27) (Llera Rojas, 2018).



**Figura I.27. Representación esquemática del método de Nanoprecipitación (Echeverri Ulloa, 2017).**

En caso de que el fármaco sea hidrófobo, la fase orgánica se compone de un disolvente apolar, un polímero (el cual servirá de recubrimiento del núcleo oleoso), un tensoactivo hidrofóbico (w/o el cual emulsionará el agua en el aceite), un aceite (que será el núcleo del nanosistema y el medio para disolver el fármaco) y por último una sustancia activa. Por otra parte, la fase acuosa se compone

generalmente de agua como disolvente y un agente tensoactivo. Sin embargo, de acuerdo con la literatura, este procedimiento no es tan eficiente para encapsular fármacos hidrófilos (Rivera Parra, 2017).

#### 1.6.1.4. *Salting out.*

Para esta técnica se selecciona un disolvente semipolar que sea miscible en agua donde se disuelve el polímero y el principio activo (Aguirre Pineda, 2005). La emulsión se obtiene mediante la disolución en la fase acuosa de altas concentraciones de alguna sal o sacáridos, que son seleccionadas por su gran capacidad de producir el efecto de *salting out*.

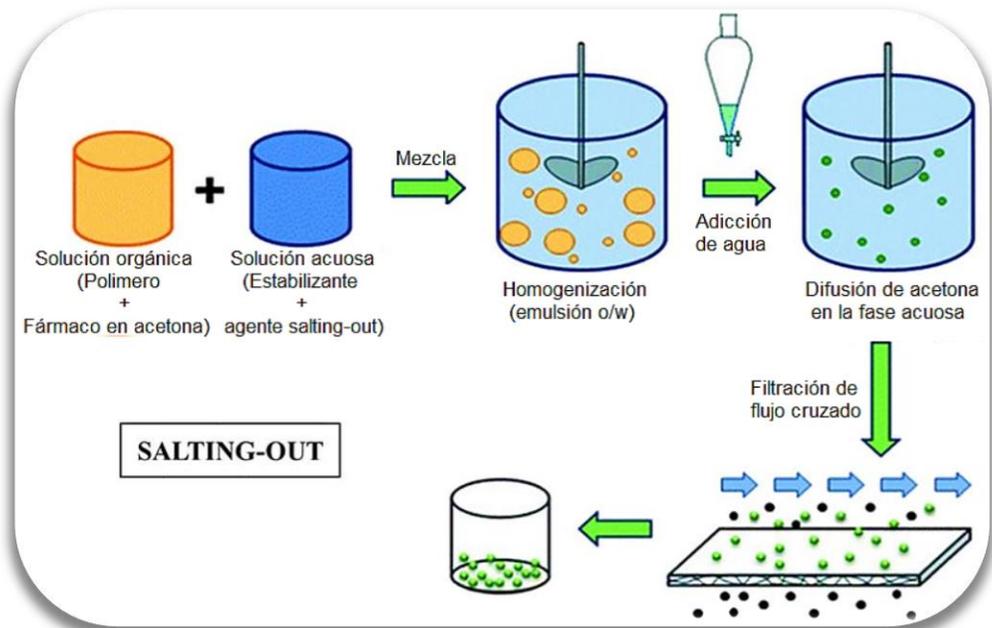


Figura I.28. Representación esquemática del método *Salting out* (Modificado de (Chen y Hong, 2018)).

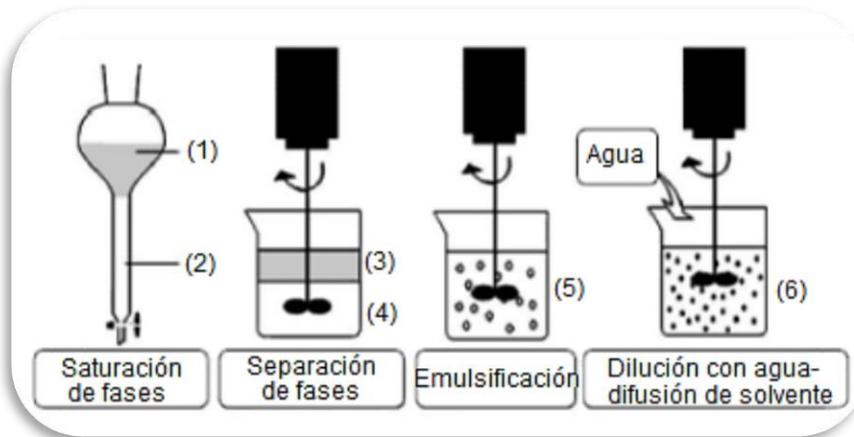
La precipitación del polímero disuelto se induce al diluir la emulsión, lo que produce una súbita disminución de la concentración de la sal o sacarosa en la fase continua de la emulsión, induciendo al disolvente del polímero a migrar fuera de las gotas de la emulsión (Llera Rojas, 2018). El disolvente y el agente *salting out* se eliminan por medio de filtración tangencial (Figura I.28) o ultracentrifugación (Aguirre Pineda, 2005).



### 1.6.1.5. Emulsificación-Difusión.

Es eficiente para encapsular fármacos lipofílicos, es considerado como una modificación del proceso de *salting out*, evitando el uso de sales y pasos de purificación intensivos. Implica el uso de un disolvente parcialmente miscible en agua, el cual previamente se satura en agua para asegurar el equilibrio termodinámico entre ambos líquidos.

Los polímeros y el fármaco se disuelven en el disolvente saturado con agua (Quintanar



**Figura I.29. Método de emulsificación-difusión (1) Disolvente orgánico parcialmente miscible en agua saturado con agua. (2) agua saturada con disolvente. (3) fase orgánica con polímero y fármaco disuelto. (4) fase acuosa compuesta de agua y estabilizante. (5) emulsificación y (6) adición de agua para la difusión de disolvente y formación de la NP.**

Guerrero D. y Allémann, et al., 1998), en el caso de nanocápsulas se adiciona un aceite (Piñón Segundo y Llera et al., 2018) y esta fase orgánica se emulsiona bajo agitación vigorosa en una disolución acuosa que contiene un estabilizante. La subsecuente adición de agua al sistema

causa que el disolvente difunda a la fase externa, formando las nanopartículas (Figura I.29) (Quintanar Guerrero D. y Allémann, et al., 1998).

En general, el método consiste en preparar emulsiones convencionales aceite en agua (o/w) (Figura I.30) en una proporción recomendada 1:2 (Piñón Segundo y Llera et al., 2018). Dependiendo del punto de ebullición del disolvente, este puede ser eliminado por destilación o filtración de flujo cruzado (Quintanar Guerrero D. y Allémann, et al., 1998).



Figura I.30 Representación de una emulsión convencional aceite en agua (o/w)



Figura I.31 Representación de una emulsión convencional agua en aceite (w/o)

Los inconvenientes que presenta este método son los altos volúmenes de agua a eliminar de la suspensión, y la fuga del fármaco soluble en agua a la fase externa acuosa saturada durante la emulsificación (Quintanar Guerrero D. y Allémann, et al., 1998).

Sin embargo, las ventajas del método de emulsificación-difusión con respecto a las técnicas mencionadas anteriormente son (Aguirre Pineda, 2005):

- El uso de disolventes orgánicos aceptados para uso farmacéutico.
- No involucra un proceso de homogenización.
- Se obtienen altos rendimientos.
- Existe reproducibilidad lote a lote.
- Se puede escalar a lotes de mayor tamaño.



En la técnica de emulsificación-difusión para la formación de las nanopartículas ocurre una serie de fenómenos secuenciales mostrados en la Figura I.32 (Aguirre Pineda, 2005):

I. Mutua saturación del disolvente en agua y del agua en disolvente. Esta saturación favorece la existencia de un estado de equilibrio termodinámico entre los dos disolventes.

II. Formación de la emulsión. Ocurre una dispersión de los glóbulos del disolvente que contiene disuelto el polímero. El estabilizante será adsorbido en el área interfacial creada entre los glóbulos y la fase continua.

III. Difusión del disolvente.

El disolvente difunde hacia la parte externa de los glóbulos, debido a la adición de agua al sistema que ocasiona la ruptura del equilibrio termodinámico y la formación de nuevos glóbulos de tamaño nanométrico o zonas de alta concentración de polímeros.

IV. Precipitación o agregación del polímero en nanopartículas. Los nuevos glóbulos formados van a transformarse en diminutos agregados de polímero (pseudonanopartículas o protonanopartículas) con la posterior difusión del disolvente, las zonas de alta concentración de polímero que no pueden subsistir se transforman en agregados de polímero o en nanopartículas.

V. Estabilización de la dispersión. La presencia del agente estabilizante es muy importante para evitar un fenómeno de coalescencia. Durante el proceso de difusión del disolvente, el agente estabilizante se mantiene en la interfase líquido-líquido llevando a cabo un efecto de protección por el cual se forman las nanopartículas después de la completa difusión del disolvente.

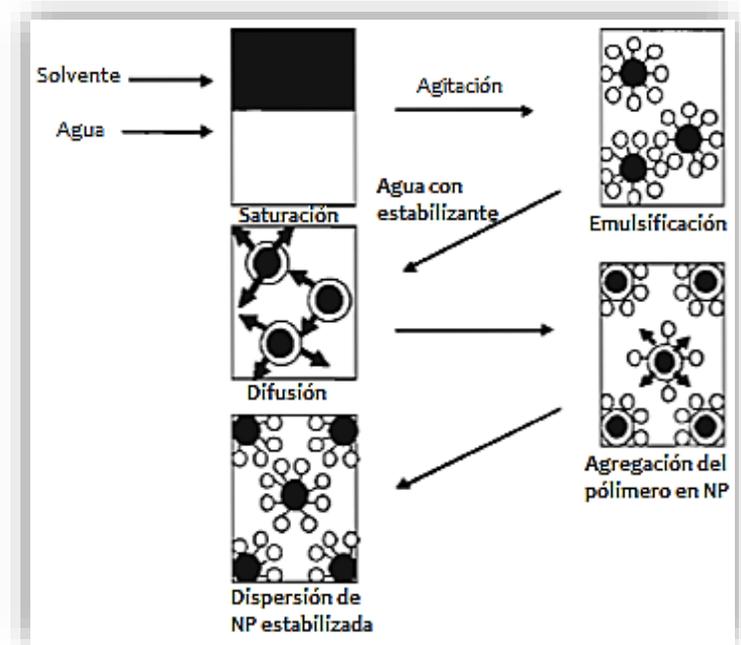


Figura I.32. Esquemización de los fenómenos ocurridos en la formación de NP's por la técnica de emulsificación-difusión (Aguirre Pineda, 2005).



Para la estabilización de la dispersión, se emplean agentes estabilizantes, donde en un sistema estabilizado por coloides protectores, se presenta un efecto protector por impedimento estérico, pero en un sistema estabilizado por agentes iónicos las partículas son estabilizadas por repulsión electrostática.

Los coloides protectores pueden utilizarse como agentes estabilizadores en la polimerización por emulsión debido a que se absorben en la superficie de la partícula, quedando libre la parte hidrofílica formando un efecto estérico o de rebote, lo que impide la coalescencia de los glóbulos (Gutiérrez Escamilla, 2005).

Todas las técnicas descritas con anterioridad requieren de varios pasos de purificación, pues se pueden encontrar impurezas potencialmente tóxicas tales como disolventes orgánicos, tensoactivos o estabilizante, y grandes agregados poliméricos, por lo que se recurre a diversas metodologías de recuperación y purificación, las más utilizadas son la ultrafiltración, ultracentrifugación, diálisis, filtración en gel y evaporación a presión reducida (Llera Rojas, 2018).

### **1.7. Caracterización de nanopartículas**

Considerando la importancia de las propiedades superficiales y características fisicoquímicas de las nanopartículas, estas deben ser caracterizadas durante su elaboración, para poder asociar estas propiedades con el comportamiento *in vitro/in vivo* (Gómez Gaete, 2014).

Existen ciertos parámetros que se pueden tomar en cuenta como medidas para la caracterización de las nanopartículas, las cuales se pueden dividir en las siguientes:

- Tamaño de partícula (TP)
- Índice de polidispersión (PDI/IPD)
- Potencial Zeta (PZ,  $\zeta$ )
- Densidad
- Calorimetría diferencial de barrido (DSC)
- Eficiencia de Entrampamiento o Encapsulación (EE)



### 1.7.1. Tamaño de partícula.

La liberación del fármaco es afectada por el tamaño; partículas pequeñas tienen una gran área superficial, lo que facilita una rápida liberación a diferencia de partículas grandes que poseen un mayor núcleo, provocando que la difusión del fármaco sea lenta (De la Cruz Medina, 2010). Teniendo en cuenta el reducido tamaño de las nanopartículas (TP), el diámetro medio debe ser evaluado a través de métodos altamente sensibles (Gómez Gaete, 2014).

El método más empleado para obtener el tamaño de partícula promedio de las suspensiones de nanopartículas, es mediante la técnica de dispersión de la luz dinámica (DLS). La serie Malvern Zetasizer es uno de los instrumentos más utilizados en el mundo para mediciones de tamaño de nanopartículas/coloides (El Hadji Mamour Sakho, 2017).

La técnica de dispersión de luz dinámica (DLS) es también conocida como: “Espectroscopia de correlación de fotones” o “Velocimetría doppler con láser” (CFATA-UNAM, 2019).

El principio de la dispersión de luz dinámica se basa en las partículas finas y las moléculas que están en constante movimiento térmico aleatorio, llamado movimiento browniano<sup>19</sup>, que se difunden a una velocidad relacionada con su tamaño; las partículas más pequeñas se difunden más rápido que las partículas más grandes (Figura I.33 y Figura I.34).

---

<sup>19</sup> Movimiento browniano: Es un movimiento al azar de las partículas debido al “golpeteo” de las moléculas del disolvente alrededor de ellas, donde a mayor tamaño, menor movimiento.



Partículas grandes-movimientos lentos y pequeños

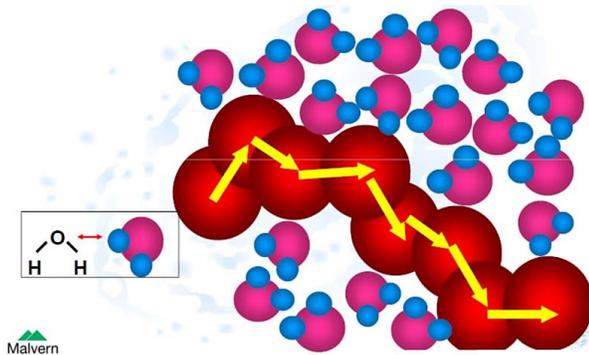


Figura I.33. Movimiento browniano de partículas grandes  
(Morilla, s.f.)

Partículas pequeñas- movimientos rápidos y amplios

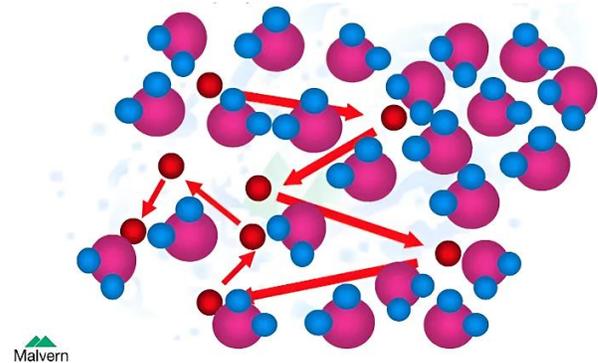


Figura I.34. Movimiento browniano de partículas pequeñas  
(Morilla, s.f.)

En otras palabras, la dispersión de luz dinámica mide la velocidad del movimiento browniano y lo relaciona con el tamaño de partícula. Cuando un rayo láser monocromático excita una

suspensión de partículas, la longitud de onda de la luz entrante cambia después de golpear las partículas en movimiento, lo que crea un desplazamiento Doppler<sup>20</sup> (Figura I.35), que es un pequeño cambio de frecuencia en la luz dispersada en comparación con la luz no dispersada, este cambio proporciona información sobre el tamaño, distribución, forma y

### Efecto Doppler

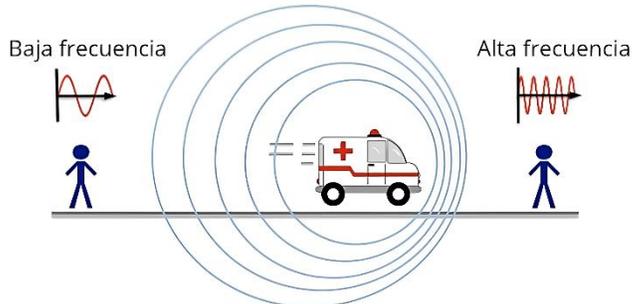


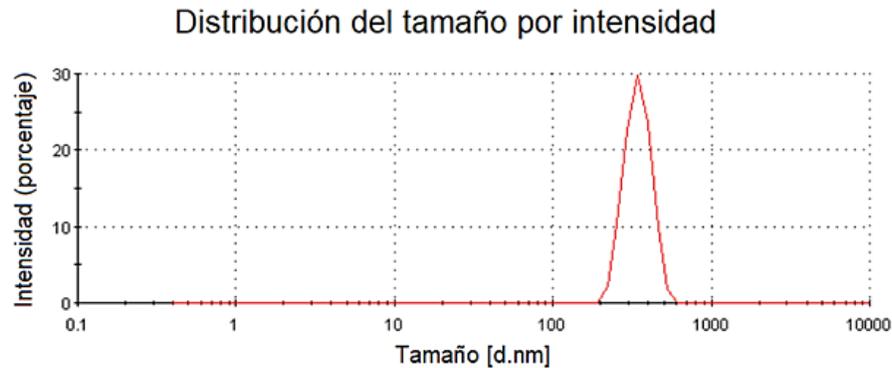
Figura I.35. Alta frecuencia: la longitud de onda es corta, y la frecuencia alta, la intensidad es más aguda. Baja frecuencia: cuanto más lejos, la longitud de onda es larga y la frecuencia baja, la intensidad es menor.

estructura de las partículas. La velocidad del movimiento browniano también está determinada por la temperatura, por lo que el control preciso de la temperatura es esencial para una medición precisa del tamaño (El Hadji Mamour Sakho, 2017).

<sup>20</sup> Efecto Doppler: Es el cambio en la frecuencia percibida de cualquier movimiento ondulatorio, se utiliza para evaluar el movimiento mediante la medición de cambios en la frecuencia de los ecos reflejados por las estructuras que se mueven.

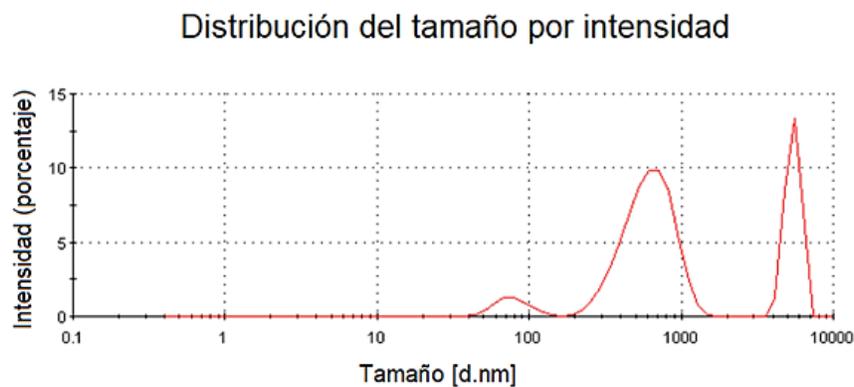


La dispersión de luz dinámica permite estimar el tamaño de las nanopartículas tomándolas como un conjunto (Llinàs y Sánchez García, 2014).



**Figura I.36** Distribución estrecha de una muestra homogénea.

La obtención de una distribución estrecha y un solo pico corresponde a una muestra de tamaño homogéneo (Figura I.36) (Llinàs y Sánchez García, 2014).



**Figura I.37** Distribución de nanopartículas de distinto tamaño

Pero la obtención de varios picos significa la existencia de diversas poblaciones de nanopartículas de distinto tamaño (Figura I.37) (Llinàs y Sánchez García, 2014).

El equipo con el cual se analizan las muestras también proporciona gráficas que se pueden analizar para obtener el tamaño y distribución de partícula (Figura I.38) (Malvern, 2018).

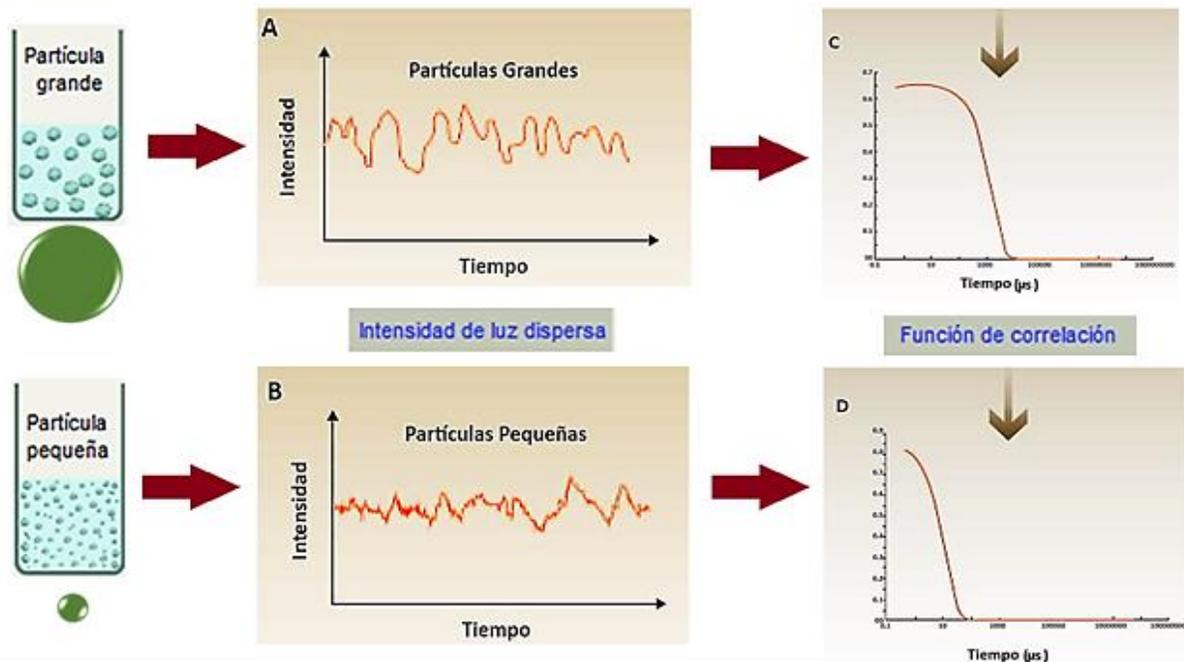


Figura I.38. Esquema de gráficas de la intensidad de luz dispersa y la función de correlación obtenidas de una suspensión con partículas grandes y otra con partículas pequeñas.

La gráfica de intensidad de luz dispersa muestra la velocidad de las fluctuaciones de la intensidad de la luz dispersada dependientes del tamaño de partícula, donde las partículas pequeñas hacen fluctuar la intensidad dispersada más rápidamente.

### 1.7.2. Índice de polidispersión.

El índice de polidispersión (PDI/IPD) indica la amplitud de la dispersión en la distribución del tamaño de partículas. Para un sistema monodisperso<sup>21</sup> el valor es de 0 (Villafuerte R. y García F., 2008).

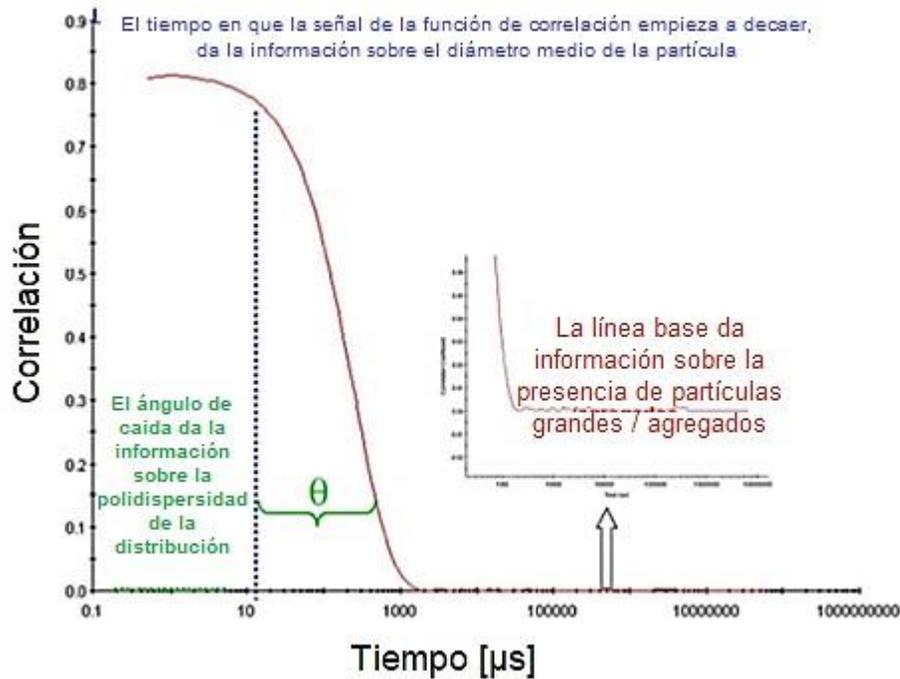
La dispersión se puede visualizar gráficamente en la curva de “función de correlación”, donde el tiempo en el cual la correlación comienza a decaer proporciona la información del diámetro medio de la partícula y el ángulo de caída indica la polidispersidad de la distribución (Figura I.39). En presencia de partículas grandes la señal irá cambiando lentamente y la correlación persistirá por un largo tiempo (Figura I.38 C).

<sup>21</sup> Sistema monodisperso: Sistema coloidal en que las partículas son de tamaño uniforme.



Cuanto más abrupta es la caída, la muestra es más monodispersa; y contrariamente, si el decaimiento es más suave, mayor es la polidispersidad. En partículas pequeñas que se mueven más velozmente la correlación se reducirá más rápido (Figura I.38 D).

## Interpretación del correlograma



## Interpretación correlograma

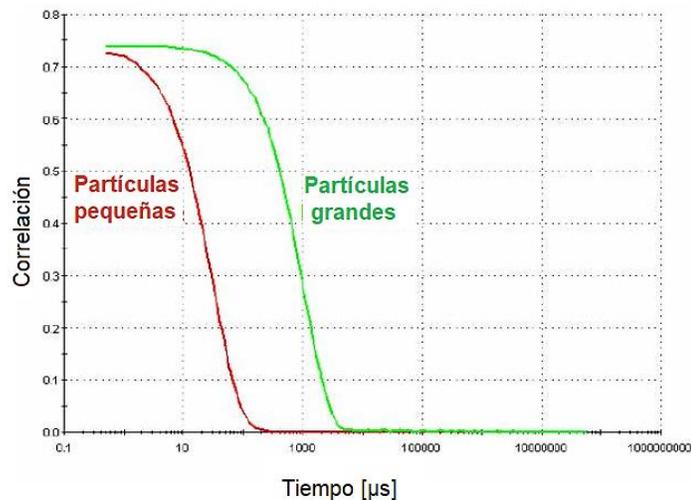


Figura I.39 Correlograma del coeficiente de correlación, dependiente del tamaño de partículas.



### 1.7.3. Potencial zeta.

El potencial zeta (PZ,  $\zeta$ ), también conocido como potencial electrostático, es una propiedad física de atracción o repulsión de carga entre las partículas, exhibida por cualquier partícula en suspensión (Infinitia Industrial Consulting, 2020); este potencial zeta proporciona información sobre la carga superficial de la nanopartícula, ya que es el potencial eléctrico del plano de corte, generado en la doble capa eléctrica que rodea una partícula en un medio acuoso (Gómez Gaete, 2014). Cada partícula dispersa en una disolución se rodea de iones cargados con carga opuesta que se denomina capa fija o capa Stern unida fuertemente a la superficie; fuera de esta capa de Stern, existen distintas composiciones de iones de polaridad opuesta, formando un área nebulosa llamada capa difusa donde la distribución de iones se determina por un balance de fuerzas electrostáticas y movimiento termal aleatorio. De esta manera se crea una doble capa eléctrica en la región de interfase partícula-líquido (Figura I.40) (Lenntech B.V., 2022).

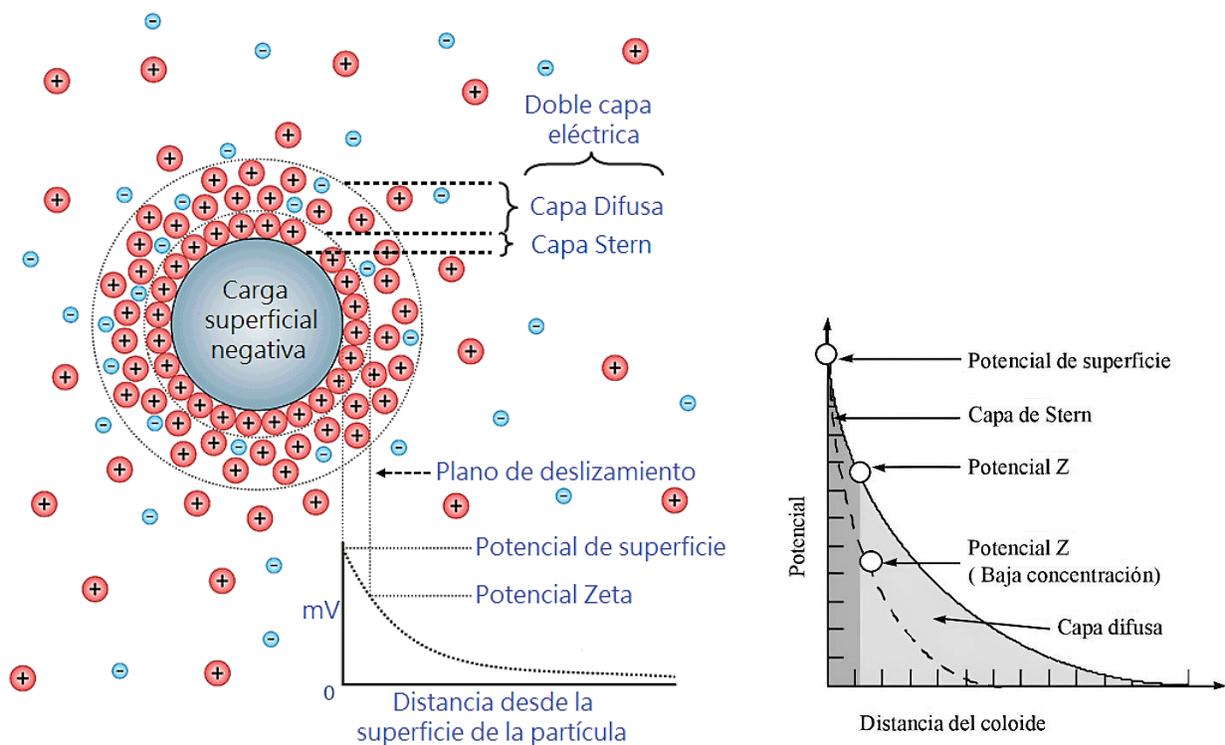


Figura I.40. Esquema de una NP y su carga superficial.



Para efectuar esta determinación se emplea la técnica de la dispersión de luz electroforética (ELS), esta técnica mide la movilidad electroforética (relacionada con su potencial zeta) de partículas en dispersión o moléculas en disolución. El principio físico fundamental es la electroforesis, donde se introduce una dispersión en una celda que contiene dos electrodos a la cual se aplica un campo eléctrico (Figura I.41 A, B) para que las partículas o moléculas sean atraídas por el electrodo de polaridad opuesta (Figura I.41 C); la velocidad (movilidad electroforética) con la que las

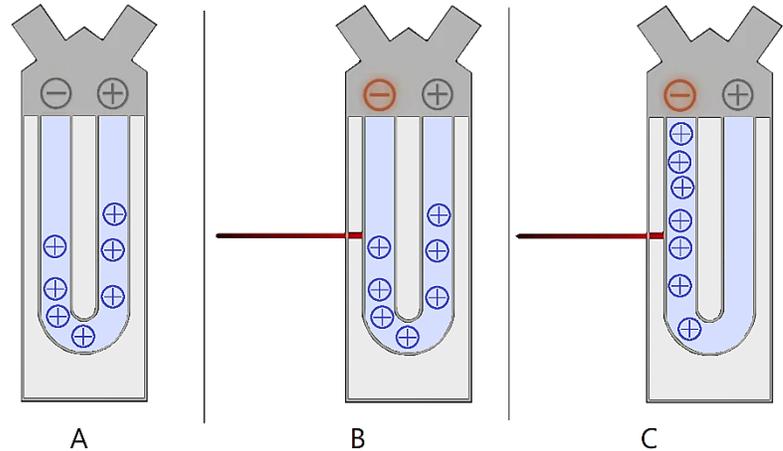


Figura I.41. Representación de la técnica ELS.

partículas migran se mide en función de la intensidad de la luz dispersada, cuanto más rápido se mueven, el valor absoluto del potencial zeta es mayor (Malvern Panalytical Ltd, 2022).

En general, si todas las partículas en suspensión tienen elevado potencial zeta (negativo o positivo) las partículas se repelen (debido a la repulsión eléctrica donde las fuerzas de repulsión superan a las fuerzas de atracción, lo que da lugar a un sistema relativamente estable) y el sistema no flocula<sup>22</sup>, por el contrario, si es pequeño el potencial zeta, el sistema tiende a flocular (Salas Ambrosio, 2013). Generalmente, se toman valores por arriba de 30mV o por debajo de -30mV para que una suspensión o dispersión coloidal se considere estable físicamente (Figura I.42), sin embargo, en

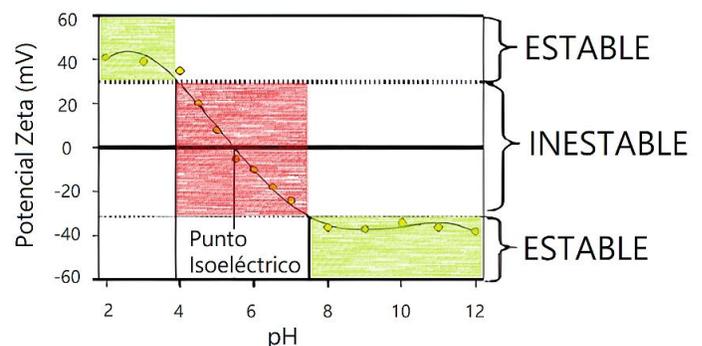


Figura I.42. Potencial Zeta como función del pH (QuimiNet, 2007).

<sup>22</sup> Floculación: Es un proceso de agregación de partículas en dos pasos en el que un gran número de partículas pequeñas forman una pequeña cantidad de grandes flóculos.



términos de estabilidad, un valor absoluto de potencial zeta por encima de 60mV produce una excelente estabilidad evitando la agregación, valores de 30mV presentan una buena estabilidad y valores de 20mV una estabilidad a corto plazo aceptable; en cuanto a valores menores de 5mV presentan una agregación rápida de partículas y nanopartículas de -10mV a +10mV se consideran neutras (De la Cruz Medina, 2010).

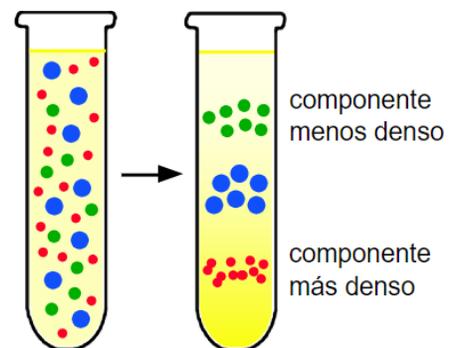
Esta regla es válida solo para la estabilización electrostática pura o en combinación con agentes tensoactivos de bajo peso molecular, ya que la adsorción del estabilizante disminuirá el potencial zeta debido al cambio en la superficie de la nanopartícula y no es válida cuando estabilizadores de alto peso molecular están presentes (De la Cruz Medina, 2010; y Hernández Salgado, 2015).

El potencial zeta también puede ser usado para determinar si un material con carga activa se encuentra encapsulado en el centro de una nanopartícula o adsorbido en la superficie (De la Cruz Medina, 2010).

#### 1.7.4. Densidad.

La densidad se mide mediante el método de centrifugación isopícnica (Figura I.43) en un gradiente de densidad de sílice coloidal de percoll®. El fundamento del método de centrifugación isopícnica, se basa en la separación de las partículas en un gradiente de densidades en función de la densidad de estas. Las partículas se mueven en el gradiente hasta que llegan a un punto donde su densidad y la del gradiente son idénticas (punto isopícnico o posición de equilibrio).

Se lleva a cabo sometiendo a centrifugación una muestra de las nanopartículas y una muestra de los marcadores de densidad, donde en ambas, las partículas se mueven hasta que su densidad es equivalente a la del medio (Contreras Ortiz, 2015).



**Figura I.43. Representación de la Centrifugación isopícnica (Centrifugación, s.f.).**



### 1.7.5. Calorimetría diferencial de barrido.

El fundamento de la calorimetría diferencial de barrido (DSC) consiste en calentar una muestra y un compuesto de referencia, de tal manera que la temperatura es en todo momento igual en el compuesto de referencia y en la muestra. Se aplican velocidades de calentamiento (en grados/s o min) uniformes en la muestra y en la referencia para realizar el barrido de temperaturas donde se detectan transiciones entre la muestra y la referencia que implican intercambio de energía, sea almacenamiento de calor (procesos endotérmicos) o liberación de calor (procesos exotérmicos).

La representación de la potencia de calentamiento frente a la temperatura es lo que se denomina diagrama DSC o, dado que se realiza frente a la temperatura, termograma (Lic. en Biotecnología, s.f.).

Empleando técnicas como difracción de rayos X y calorimetría diferencial de barrido se puede determinar la interacción principio activo/polímero, así como el estado físico en que se encuentra la molécula activa una vez encapsulada. De igual forma, la calorimetría diferencial de barrido permite evaluar el comportamiento térmico de los componentes de las nanopartículas después de ser sometidas a las condiciones de fabricación.

En la Figura I.44 se engloban los diferentes picos que se pueden presentar en cualquier tipo de termograma (Gómez Gaete, 2014).

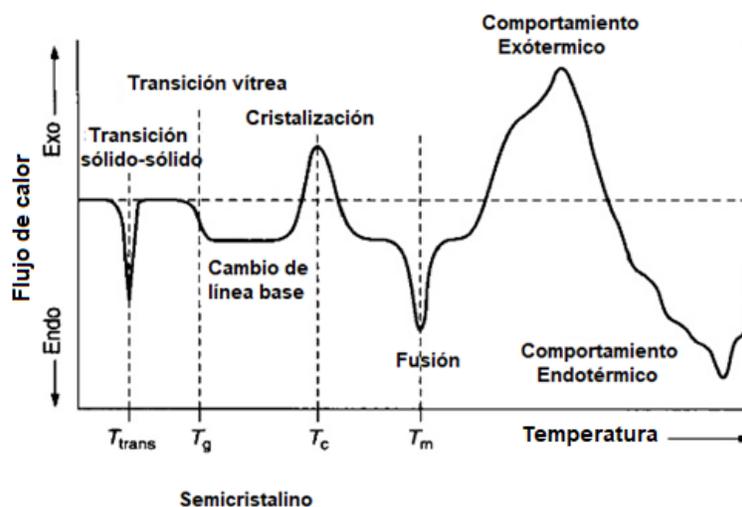


Figura I.44. Esquema de los diferentes picos presentes en cualquier termograma de un DSC.



Los picos de las temperaturas se identifican por la forma del pico y la dirección respecto al flujo de calor, exotérmico<sup>23</sup> (exo) o endotérmico<sup>24</sup> (endo) como se observa en la Figura I.45 (Andino, 2015).

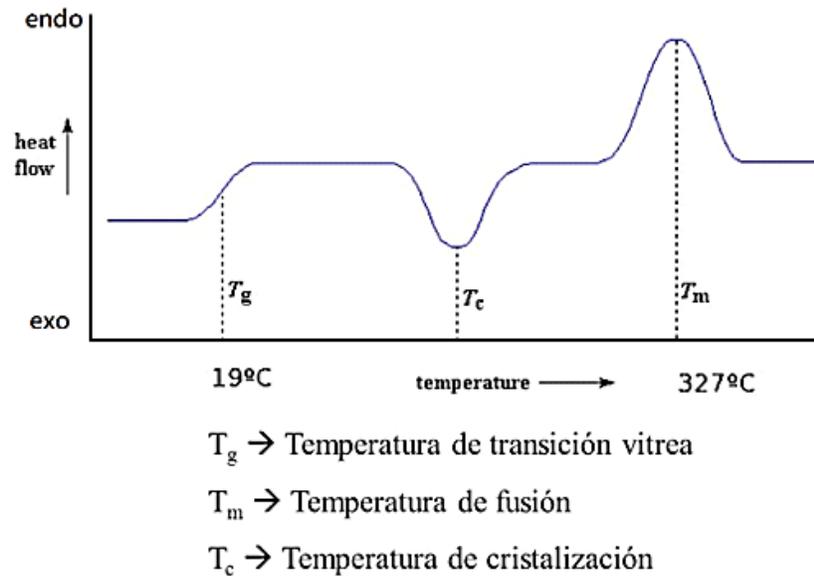


Figura I.45. Temperaturas presentes en un termograma (Andino, 2015).

#### 1.7.6. Eficiencia de Entrampamiento o Encapsulación.

Se entiende como porcentaje de entrampamiento al fármaco dentro de las nanoesferas, mientras que el porcentaje de encapsulación corresponde al fármaco en el interior de las nanocápsulas. La cantidad de fármaco entrampado o encapsulado puede ser determinado mediante diversas metodologías analíticas como HPLC, HPTLC o espectrofotometría UV/VIS. Es necesario implementar y validar un apropiado proceso de extracción del fármaco atrapado, ya sea de manera directa (rompiendo las nanopartículas) o indirecta (fármaco no encapsulado en la fase continua). En ambos casos se realiza una ultracentrifugación para separar las nanopartículas de la fase continua.

<sup>23</sup> Exotérmica: Reacción química que desprende energía en forma de luz o calor. En ella, la energía o entalpía de los reactivos es mayor que la de los productos.

<sup>24</sup> Endotérmica: Reacción química que absorbe energía en forma de luz o calor. En ella, la energía o entalpía de los reactivos es menor que la de los productos.



Una vez cuantificada la muestra, es posible determinar la eficiencia de atrapamiento o encapsulación (%EE), la cual se define como la relación entre la cantidad de fármaco en las nanopartículas y aquel que fue añadido durante su elaboración (Gómez Gaete, 2014; y Suárez H. y Brito D., 2020).

Para calcular el porcentaje de eficiencia se ocupa la siguiente ecuación (Modificada de González Hurtado y Rieumont Briones et al., 2014; y de Singh y Pai, 2014):

$$EE (\%) = \frac{\text{cantidad del RVT cuantificado}}{\text{cantidad del RVT adicionado}} \times 100$$

#### 1.7.6.1. Espectroscopia o Espectrofotometría ultravioleta-visible.

La espectroscopia ultravioleta-visible (UV/VIS) es una técnica para el análisis de la composición basada en la absorción. El hidrógeno o el deuterio<sup>25</sup> es normalmente la fuente de luz para la medición de la longitud de onda ultravioleta. Cuando la luz ultravioleta o visible golpea átomos o moléculas puede rebotar o hacer que los electrones en los átomos o moléculas absorban energía y salten de un nivel de energía más bajo a un nivel de energía más alto. Diferentes especies absorben la radiación en diferentes números de onda.

Los tipos de átomos o moléculas existentes en la muestra se pueden identificar; según la Ley de Lambert-Beer, donde la absorbancia (A) es directamente proporcional a la concentración de especies absorbentes:  $A = \epsilon bc_a$

Donde “ $\epsilon$ ”= absorptividad<sup>26</sup>, “b”= longitud que recorre la radiación a través del medio absorbente y “ $c_a$ ”= es la concentración de especies absorbentes (Lu, 2013).

<sup>25</sup> Deuterio: Isótopo (Átomo que pertenece al mismo elemento químico que otro, tiene su mismo número atómico, pero distinta masa atómica) estable del hidrógeno.

<sup>26</sup> Absorptividad: Cantidad de luz absorbida por una disolución, definida como la unidad de absorbancia por unidad de concentración y por unidad de longitud de la trayectoria de luz.



### 1.7.6.2. Métodos de calibración.

La calibración es el proceso que permite establecer la relación entre una señal analítica (altura o área de pico, absorbancia, voltaje, etc.) en función de la concentración conocida de analito. Al representar gráficamente los datos y ajustarlos a una ecuación matemática se obtiene la curva de calibración o curva de calibrado (Cazar Ramírez, 2020).

La curva de calibración es un método muy utilizado en química analítica para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, sobre todo en disoluciones. Para su obtención se deben tomar en cuenta ciertos puntos para elegir el método adecuado; el principal es que tan compleja es la muestra por cuantificar, se debe establecer la longitud de onda de máxima absorción ( $\lambda_{\text{máx}}$ ) del analito con la obtención del espectro de absorción en la región UV/VIS del analito, verificar el cumplimiento de la Ley Lamber-Beer y seleccionar el rango de concentraciones para la medición que cuenten con el menor error.

La elaboración de una curva de calibración se puede dividir en dos pasos: preparación de las disoluciones estándar o patrón y la obtención de la función señal–concentración (construcción de la curva propiamente dicha). Una vez obtenida la curva de calibración se podrá utilizar para conocer la concentración de analito en una muestra desconocida.

Para la construcción de la curva se mide la señal analítica en cada uno de los patrones previamente elaborados, en el eje de las ordenadas “Y” se asigna el valor de la señal medida y en el eje de abscisas “X” la concentración del patrón; de esta forma se pueden ubicar la señal obtenida con respecto a la concentración dentro de la gráfica.

A esos puntos generalmente se aplica la regresión lineal mediante el ajuste por mínimos cuadrados para obtener la recta de calibración que los relaciona y su función (Cazar Ramírez, 2020).



🌸 Método de calibración con estándares externos.

Este método de calibración se usa para calibrar instrumentos y procedimientos cuando no hay efecto de interferencia de los componentes de la matriz en la disolución del analito.

Se preparan tres tipos de disoluciones, los estándares externos o patrones (disoluciones que contienen concentraciones conocidas del analito), un blanco (con la misma composición que el estándar, excepto el analito) y la disolución muestra (disolución de la sustancia problema con el analito a cuantificar).

Para los estándares externos se prepara una serie de mínimo cinco o seis disoluciones con concentraciones crecientes conocidas a partir de una disolución madre que contiene el analito (Figura I.46).

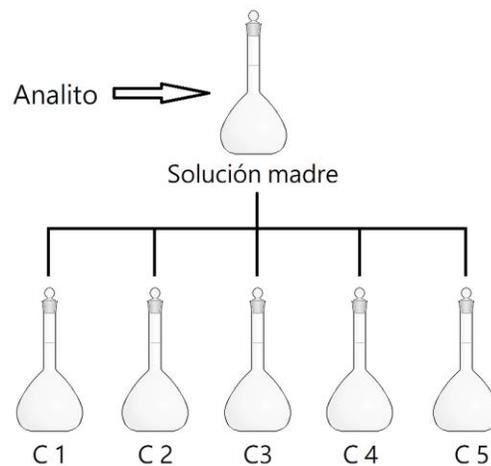


Figura I.46. Preparación de curva de calibración con estándares externos

Una vez preparadas las disoluciones se obtiene la lectura de la señal analítica de los estándares, la gráfica (Figura I.47) y la ecuación de la recta de calibración ( $y = mx + b$ ).

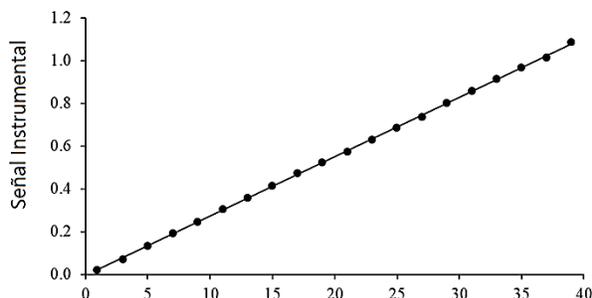


Figura I.47. Representación gráfica por el método de calibración con estándares externos



☼ Método de calibración con estándar interno.

Este método puede compensar cierto tipo de errores si estos influyen en el analito y la especie de referencia en la misma proporción.

Se agrega a las muestras, estándares y blancos una cantidad conocida de una especie de referencia, que será seleccionada de forma que tenga propiedades físicas y químicas semejantes a las del analito. La señal de respuesta es la relación entre la señal del analito y de la especie de referencia (representada en el eje de ordenadas). En el eje de abscisas se representa la concentración del analito en las disoluciones estándar.

☼ Método de calibración con adición de estándares a las muestras.

Este método sirve para cuantificar el analito en una muestra compleja, subsanando el “efecto matriz”<sup>27</sup> permitiendo obtener resultados confiables sin retirar las interferencias de la matriz de la muestra.

Se preparan cinco o más muestras volumétricas a las cuales se les añade el mismo volumen de la muestra donde se encuentra el analito a cuantificar (Figura I.48  $V_m$ ); a cada muestra volumétrica se añaden volúmenes crecientes de una disolución de concentración conocida del analito a cuantificar (estándar) (Figura I.48  $C_s$ ).

Cada muestra volumétrica se lleva al volumen final y se mide la absorbancia a la longitud de onda correspondiente al máximo de absorción del analito (Figura I.48).



Figura I.48. Preparación de curva de calibración con adición de estándares a las muestras

<sup>27</sup> Efecto matriz: Efecto que ocurre cuando una muestra es muy compleja (alimentos, plantas), tienen muchas impurezas (aguas residuales) o se tiene poca información sobre la muestra.



Se obtiene la gráfica relacionando la absorbancia con el volumen de estándar adicionado, (Figura I.49) y la ecuación  $y = mx + b$ , donde “X” es el volumen de estándar adicionado, “Y” es la absorbancia.

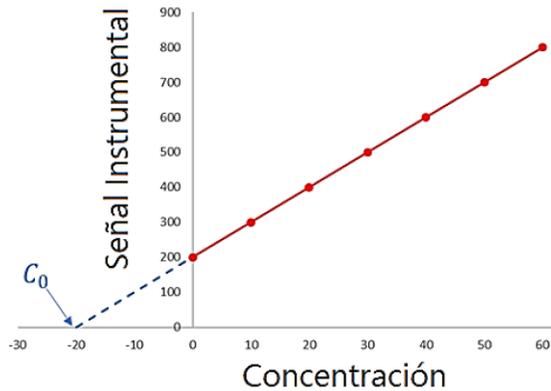


Figura I.49. Representación gráfica por el método de adición de estándares a las muestras

Para este método la ecuación se despeja y la concentración del analito se calcula con la siguiente ecuación:

$$C_x = \frac{b C_s}{m V_m}$$

### 1.8. Validación del método analítico

La validación del método es el proceso por el cual se demuestra que los procedimientos analíticos son aptos para el uso<sup>28</sup> indicado (CNQFBM, 2002).

El objetivo de la validación es obtener resultados precisos, reproducibles y confiables.

En espectroscopia, la identificación de compuestos desconocidos puede realizarse comparando la señal de absorbancia (es decir “picos”) en el espectro del analito con espectros de referencia. Una vez que se considere que la identificación se realizó correctamente, se debería realizar el espectro de un material de referencia del analito con

<sup>28</sup> Implica que este debe ser lo suficientemente fiable para que cualquier decisión basada en él, pueda ser tomada con confianza. Debe validarse el desempeño de un método y estimar la incertidumbre del resultado, para un determinado nivel de confianza (Eurachem, 2016).



exactamente las mismas condiciones que la muestra de estudio. Cuanta mayor cantidad de picos coincidan entre el analito y el material de referencia, existe una mayor confianza en la identificación del analito (Espejo Cuadrado, 2016).

➤ Solución madre o stock

Es una disolución de concentración conocida que sirve para preparar otras disoluciones por medio de la dilución.

➤ Blancos.

El uso de diversos tipos de blancos permite evaluar cuánta señal de medida es atribuible al analito (Eurachem, 2016).

- ⊗ Blancos de reactivos<sup>29</sup>: Los reactivos utilizados durante el proceso analítico (incluyendo disolventes utilizados para extracción o disolución) se analizan para determinar si contribuyen a la señal de la medida.

➤ Patrones analíticos.

Los estándares o patrones analíticos son la base para realizar medidas de cualquier parámetro, ya sea físico, químico o biológico. Este concepto de estándar hace referencia a una sustancia químicamente pura, empleada como referencia para calibrar equipos de medición y contrastar la trazabilidad de las medidas (Espejo Cuadrado, 2016).

---

<sup>29</sup> Blanco de reactivo: Es el blanco aplicado a todo el procedimiento analítico se llama a veces 'blanco de ensayo' (Eurachem, 2016).



### 1.8.1. Características analíticas en la validación.

#### Linealidad.

Se define como la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro del intervalo de trabajo (Espejo Cuadrado, 2016).

-Linealidad del sistema: Se preparan disoluciones estándar al menos a cinco niveles de concentración.

-Linealidad del método: Se preparan disoluciones de muestra o placebo enriquecidos.

#### Precisión.

Expresa la cercanía de coincidencia (grado de dispersión) entre una serie de mediciones obtenidas de múltiples muestreos de una misma muestra homogénea bajo condiciones establecidas (Torralvo Martínez, 2017).

Puede considerarse a tres niveles: repetibilidad, precisión intermedia y reproducibilidad.

#### -Repetibilidad

Es la precisión obtenida al analizar una misma muestra varias veces, en un periodo de tiempo corto bajo las mismas condiciones, sin cambiar de procedimiento, objeto, analista, equipo de medición, reactivos o lugar (Torralvo Martínez, 2017).

#### -Precisión intermedia

Es la precisión obtenida al analizar varias veces la muestra en el mismo laboratorio en días distintos, pudiendo variar condiciones tales como el equipo, reactivos o analistas (Torralvo Martínez, 2017).

#### -Reproducibilidad

Expresa la precisión entre laboratorios como resultado de estudios interlaboratoriales diseñados para estandarizar la metodología.



### Exactitud.

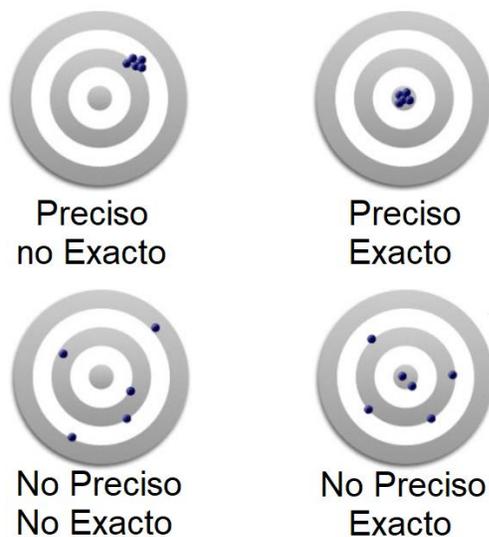
La exactitud da cuenta de la proximidad o concordancia<sup>30</sup> entre el resultado o datos obtenidos por un método y el valor “real” considerado como verdadero o de referencia (100%).

El error es un parámetro que permite medir la exactitud cuantitativamente, se divide en dos componentes, la veracidad y la precisión.

La veracidad es un parámetro que expresa la proximidad de la media de una serie de resultados obtenidos con el método al valor real. Generalmente, se expresa en términos de error, definido como la diferencia entre el resultado de medida y el valor real.

La precisión da cuenta de la proximidad entre sí de esta serie de resultados. Comúnmente se analiza la recuperación de concentraciones de mg/mL conocidas a tres niveles de la concentración de interés a validar para un principio activo (Torralvo Martínez, 2017).

Un sistema de medición puede tener cualquier combinación de exactitud y precisión (Minitab, 2022).



**Figura I.50. Combinaciones entre preciso y exacto.**

Preciso, pero no Exacto: Las mediciones están cerca unas de otras, pero no del valor verdadero.

Preciso y Exacto: Las mediciones están cerca del valor verdadero y cerca unas de otras.

Ni Preciso ni Exacto: Las mediciones no están cerca del valor verdadero ni cerca unas de otras.

Exacto, pero no Preciso: Las mediciones están cerca del valor verdadero, pero no están cerca unas de otras

<sup>30</sup> Concordancia: Relación entre dos variables.



---

---

## II. OBJETIVOS

### Objetivo general

Preparar y caracterizar nanopartículas poliméricas (nanoesferas y nanocápsulas) cargadas con resveratrol y comparar ambos sistemas con la finalidad de determinar cuál de las dos tiene mejores propiedades que permitan eficientar la actividad biológica del resveratrol.

### Objetivos particulares

- ✓ Preparar nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol mediante el método de emulsificación-difusión, para la obtención de nanoesferas y nanocápsulas.
- ✓ Identificar el tipo nanopartículas obtenidas, al realizar la prueba de densidad, empleando la centrifugación isopícnica a fin de reconocer cualitativamente las nanoesferas y nanocápsulas.
- ✓ Implementar un método analítico para la cuantificación de resveratrol en las nanopartículas mediante espectrofotometría UV/VIS.
- ✓ Caracterizar ambos sistemas de nanopartículas en cuanto al tamaño de partícula, índice de polidispersión y porcentaje de entrapamiento o encapsulación para determinar cuál posee mejores propiedades.



---

---

### III. HIPÓTESIS

Si se obtienen nanoesferas y nanocápsulas cargadas con resveratrol por el método de emulsificación-difusión, entonces se podrá definir cuál de estos sistemas posee mejores propiedades que logren proteger y transportar al resveratrol con el fin de ser administrado a un organismo.



## IV. MATERIALES Y EQUIPOS

### 4.1 Reactivos

- ❖ Resveratrol (*trans*) 99% (P.A.) (JIAHERB).
- ❖ Aceite de girasol (Sigma-Aldrich).
- ❖ Aceite de tuna (Sigma-Aldrich).
- ❖ Acetato de Etilo ACS (Meyer®).
- ❖ Acetonitrilo ACS (Fermont).
- ❖ Agua destilada.
- ❖ (PVA) Mowiol® 4-88 (Sigma-Aldrich).
- ❖ Captex® 200 (Watson Phillips y Cia).
- ❖ Cloruro de Sodio (Sigma-Aldrich).
- ❖ Labrafac™ Lipophile WL1349 (Gattefossé).
- ❖ Maisine™ 35-1 (Gattefossé).
- ❖ Marcadores de densidad (Pharmacia Biotech).
- ❖ Metanol ACS (Fermont).
- ❖ Peceol™ (Gattefossé).
- ❖ Percoll® (Sigma-Aldrich).
- ❖ Policaprolactona (Sigma-Aldrich).

### 4.2. Materiales

- ❖ Barras magnéticas.
- ❖ Embudo de filtración.
- ❖ Embudo de separación.
- ❖ Espátula.
- ❖ Frascos ámbar.
- ❖ Matraz de bola de 500mL.
- ❖ Matraz volumétrico (5, 10, 25, 50, 100mL).
- ❖ Micropipeta de 100μL.
- ❖ Papel aluminio.
- ❖ Papel filtro grado 40 (Whatman®).
- ❖ Picnómetro de vidrio.
- ❖ Pinzas de tres dedos.
- ❖ Pipeta volumétrica (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10mL).
- ❖ Piseta.
- ❖ Probeta graduada (100mL).
- ❖ Soporte universal.
- ❖ Tubos eppendorf.
- ❖ Vaso de precipitados de vidrio (30, 50, 100, 250, 600mL).



### 4.3. Equipos

- ❖ Agitador magnético Super-Nuova™ (Barnstead Thermolyne).
- ❖ Balanza analítica BBC32 (Boeco BBC).
- ❖ BUCHI Rotavapor™ R11 (Fisher Scientific).
- ❖ Calibrador vernier (Fumetax).
- ❖ Calorímetro Diferencial de Barrido DSC Q10 (TA Instruments Analysis).
- ❖ Espectrofotómetro UV/VIS Cary 50Conc (Varian).
- ❖ Liofilizador Labconco Freezone 6 (Labconco).
- ❖ Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical).
- ❖ Purificador de agua Milli-Q (Merck Millipore).
- ❖ Ultracentrífuga (Beckman óptima LE-80K).
- ❖ Ultra-Turrax T25 basic (IKA).



## V. METODOLOGÍA

En la Figura V.1 se muestra de manera general los procedimientos experimentales realizados en esta investigación.

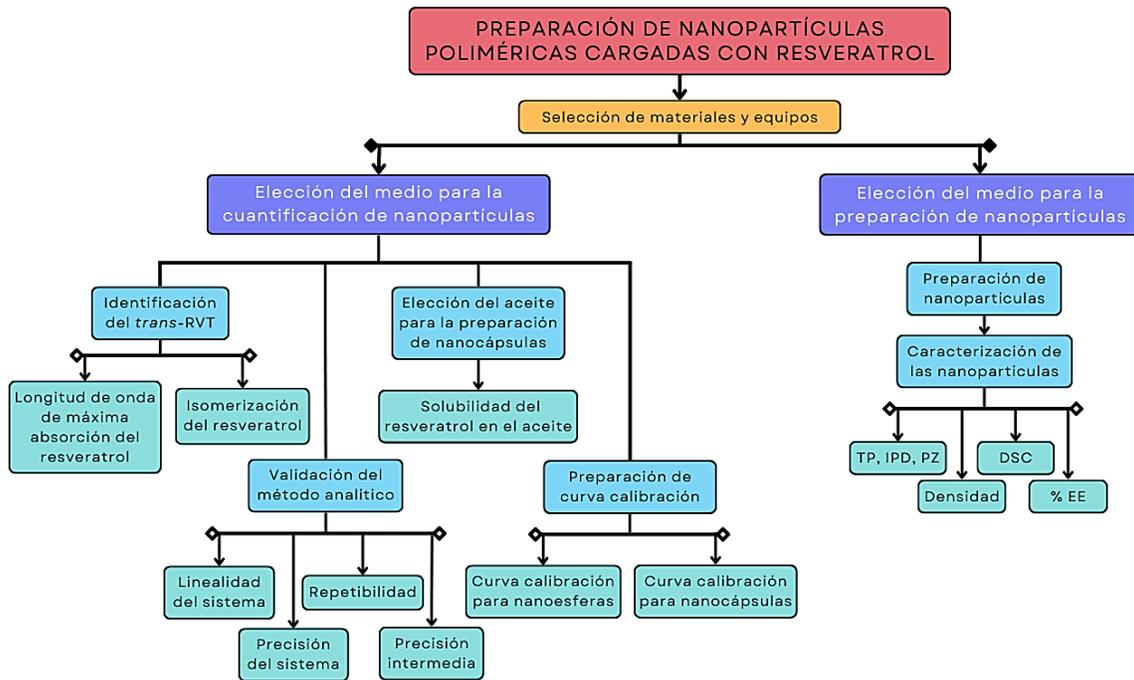


Figura V.1. Desarrollo experimental completo para la preparación de nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol

Para una mejor lectura del desarrollo experimental se desglosa el diagrama de la Figura V.1 en tres secciones mostradas en la Figura V.2.



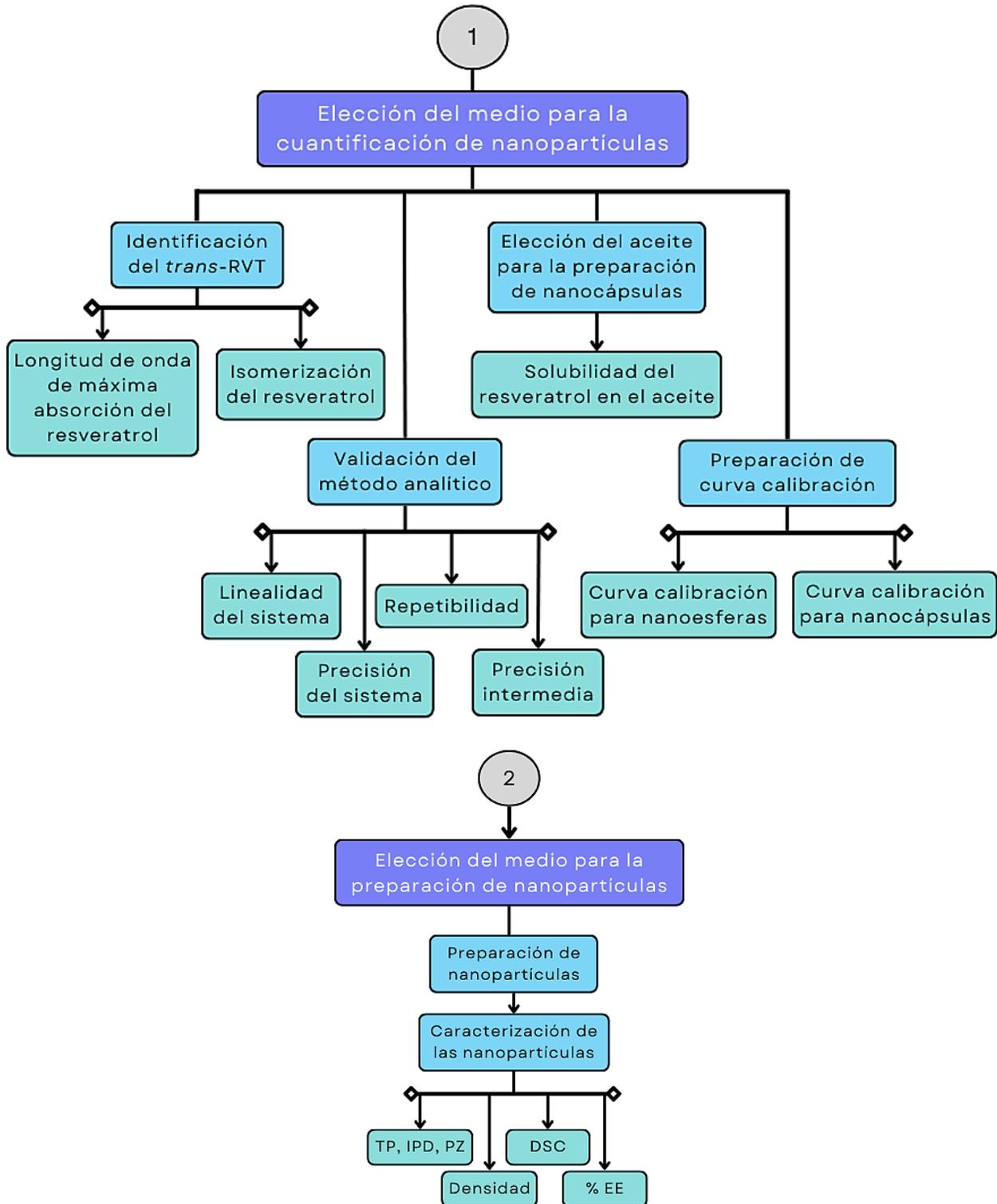


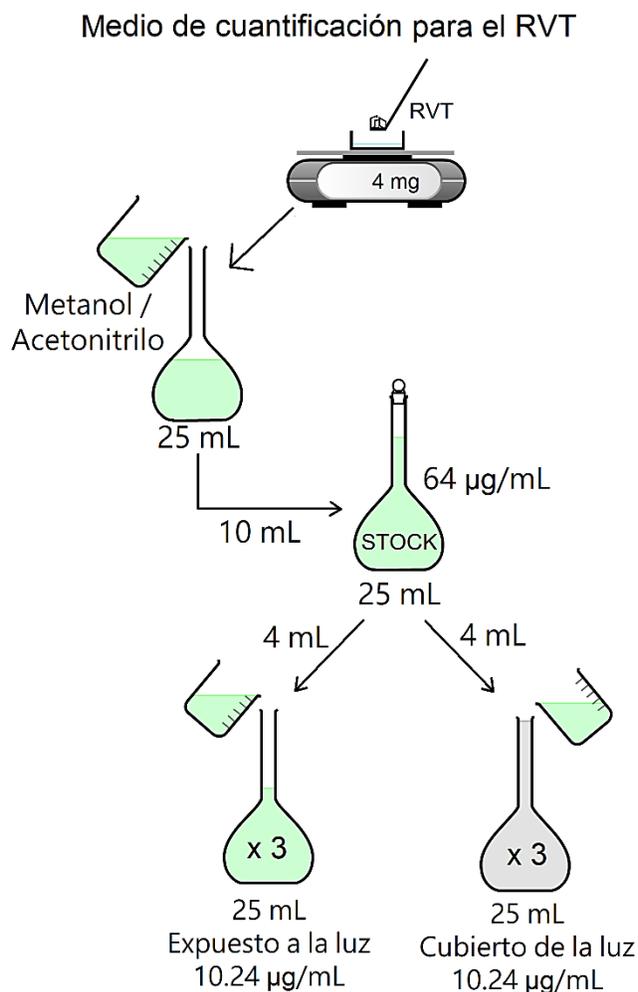
Figura V.2. Desarrollo experimental para la preparación de nanopartículas poliméricas cargadas con resveratrol



Para proteger al resveratrol de la exposición a la luz, se utilizó frascos ámbar y papel aluminio para cubrir las muestras.

### 5.1. Elección del medio para la cuantificación de nanopartículas

Se prepararon seis disoluciones con una concentración de  $10.24\mu\text{g/mL}$ .



Para la preparación de la solución STOCK con una concentración de  $64\mu\text{g/mL}$  se midió una masa de 4mg de resveratrol y se llevó a volumen en un matraz volumétrico de 25mL con metanol, posteriormente se tomó una alícuota con una pipeta volumétrica de 10mL la cual se enrasó en un matraz volumétrico de 25mL con metanol.

De la solución STOCK se prepararon seis disoluciones muestra (tres se expusieron a la luz ambiente, y tres se cubrieron de la luz ambiente) tomando una alícuota de 4mL para transferirlos a un matraz volumétrico de 25mL y finalmente llevar a volumen con metanol, obteniendo así una concentración de  $10.24\mu\text{g/mL}$  para cada una (Figura V.3).

**Figura V.3. RVT disuelto en metanol o en acetonitrilo.**

A cada disolución se le realizó un espectro de absorción en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 240 a 370nm a determinados tiempos [0min, 20min, 40min, 60min, 1h 30min, 2h, 2h 30min, 3h, 4h, 4h 30min, 5h, 5h 30min, 24h, y 27h], contando como tiempo 0 a partir de la primera lectura que se realizó.



Se realizaron seis nuevas disoluciones muestra, siguiendo el mismo procedimiento de preparación, sustituyendo el metanol con acetonitrilo, a cada disolución se le realizó un espectro de absorción en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 240 a 370nm a los mismos tiempos.

En cada lectura se realizó el espectro de absorción a un estándar de 10.24µg/mL de RVT. Se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación.

## **5.2. Determinación de la longitud de onda de máxima absorción del resveratrol**

Utilizando metanol como disolvente, se obtuvo el espectro de absorción en la región UV/VIS del resveratrol para determinar la longitud de onda de máxima absorción, para lo cual se preparó una disolución de 8µg/mL de resveratrol en un rango de 240 a 370nm.

## **5.3. Isomerización del resveratrol**

Se prepararon seis disoluciones de 10µg/mL con metanol, de las cuales tres fueron expuestas a la luz ambiente, y las otras tres se cubrieron de la luz. Posteriormente, se tomó muestra de la disolución expuesta a la luz ambiente a 0min, 20min, 40min, 60min, 1h 30min, 2h, 2h 30min, 3h, 3h 30min, 4h, 4h 30min, 5h, 5h 30min, 24h y a 40 días; para la muestra cubierta de la luz ambiente se tomó muestra a los 0min, 20min, 40min, 60min, 1h 30min, 2h, 2h 30min, 3h, 4h, 5h, 24h y a 40 días; obteniendo un espectro de absorción en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 240 a 370nm.



#### 5.4. Validación del método analítico

Los parámetros de validación se realizaron siguiendo la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México, A.C. (CNQFBM, 2002).

Las muestras se analizaron en un equipo espectrofotométrico UV/VIS Cary 50 Conc; Varian.

Se realizó la validación parcial del método analítico, para lo cual se determinaron los siguientes parámetros.

##### 5.4.1. Linealidad del sistema.

Se preparó una curva de calibración de la disolución de referencia por triplicado de siete puntos, considerando la concentración teórica del resveratrol procesado para su medición (del 100% de atrapamiento) como la concentración media de la curva. Las concentraciones son 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14 µg/mL.

Se calculó el coeficiente de determinación de cada curva ( $R^2$ ).

##### 5.4.2. Precisión del sistema.

Se prepararon tres disoluciones por sextuplicado a la concentración media de la curva de calibración de 8 µg/mL.

Se calculó su desviación estándar ( $S$ ) y el coeficiente de variación ( $CV$ ) de las concentraciones calculadas para las muestras. Donde el coeficiente de variación debe ser menor o igual a 3%.

##### 5.4.3. Repetibilidad.

Por triplicado se prepararon disoluciones correspondientes al 50%, 100% y 150% de la concentración del analito de 8 µg/mL.

Se determinó el coeficiente de variación de cada serie y el porcentaje de recobro. El criterio de aceptación indica que los datos deben tener un coeficiente de variación menor o igual al 3% para ser aceptados, para el porcentaje de recobro es de 97 al 103%.



#### 5.4.4. Precisión intermedia.

Se prepararon muestras por triplicado a una concentración del analito de  $8\mu\text{g/mL}$  por dos distintos analistas en días diferentes.

Se calculó la desviación estándar y el coeficiente de variación de las seis muestras preparadas, este debe ser menor o igual al 3%.

### **5.5. Elección del aceite para la preparación de nanocápsulas**

#### 5.5.1. Determinación de la solubilidad del resveratrol en diferentes aceites.

La determinación se realizó individualmente para cada uno de los aceites mencionados en los reactivos (aceite de girasol, aceite de tuna, Captex<sup>®</sup> 200, Labrafac<sup>™</sup> Lipophile, Maisine<sup>™</sup> 35-1, y Peceol<sup>™</sup>).

En un vaso de precipitado de 30mL se colocó aproximadamente 10mg de resveratrol, se le añadieron 10mL de aceite y posteriormente se dejó agitando por 24h a temperatura ambiente con una barra magnética. Al terminar el tiempo se determinó cualitativamente si el resveratrol se encontraba disuelto o disperso.

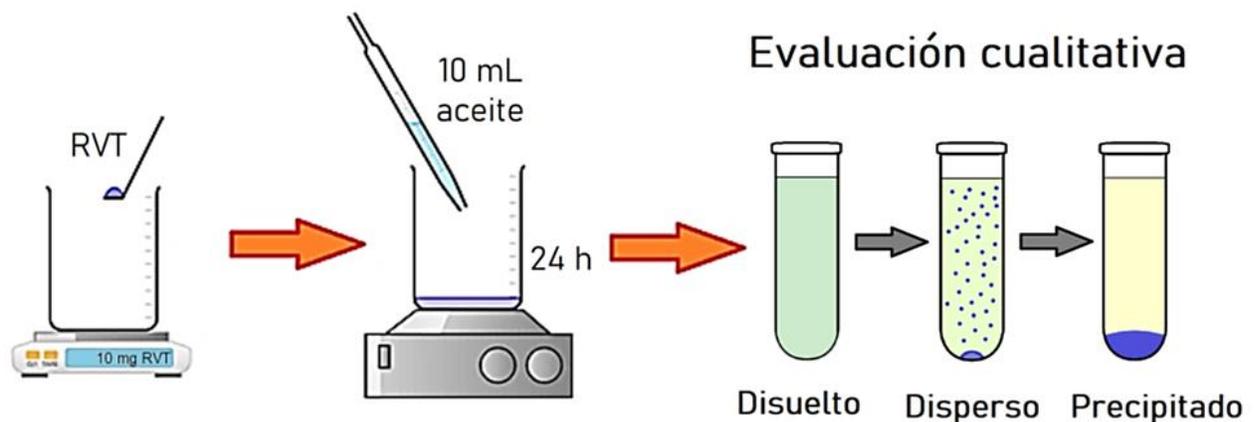


Figura V.4. Método para la determinación de la solubilidad del RVT en aceite.



### 5.5.2. Determinación de la densidad del aceite seleccionado.

Para la determinación de la densidad del aceite, se utilizó un picnómetro de vidrio y una balanza analítica; se midió la masa del picnómetro vacío, la masa del picnómetro con agua y finalmente la masa del picnómetro con el aceite (por triplicado).

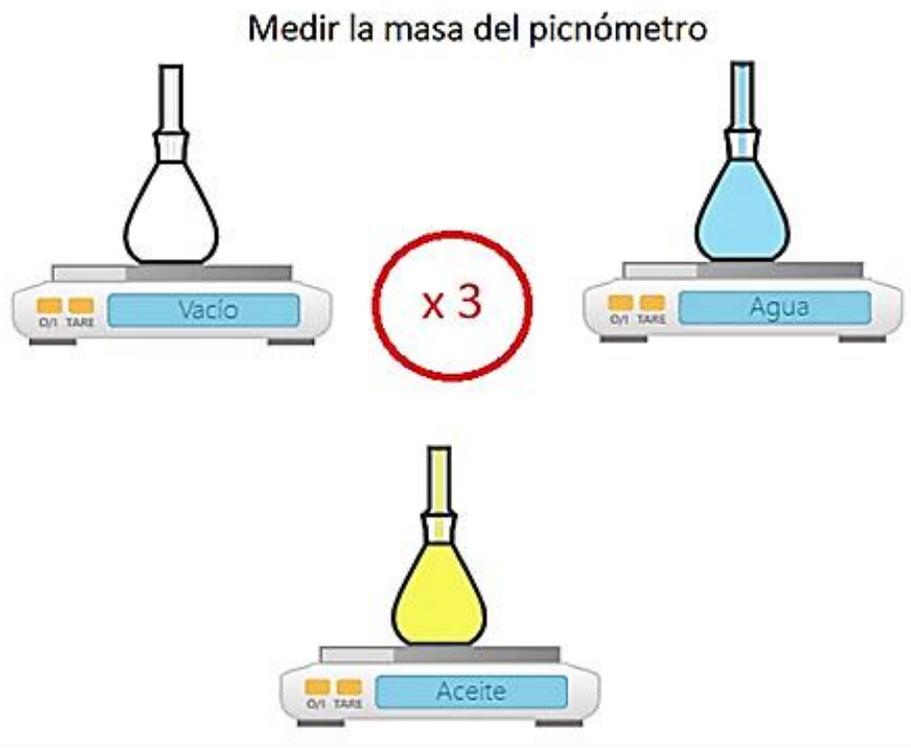


Figura V.5. Método para la obtención de la densidad del aceite.

La gravedad específica (G.E.) se calculó con la siguiente fórmula:

$$G.E. = \frac{\text{masa del picnómetro con aceite [g]} - \text{masa del picnómetro vacío [g]}}{\text{masa del picnómetro con agua [g]} - \text{masa del picnómetro vacío [g]}}$$

Para obtener la densidad del aceite, la gravedad específica se multiplicó por la densidad del agua a la temperatura que se trabajó de 25°C.



### 5.5.3. Determinación de la solubilidad máxima de resveratrol en el aceite seleccionado.

Se preparó una disolución sobresaturada de resveratrol en una muestra de volumen conocida de aceite, la muestra se mantuvo en agitación magnética constante durante 24h a temperatura ambiente (25°C). Posteriormente, la disolución fue centrifugada en tubos Eppendorf a 15,000rpm por 10min. Del sobrenadante se realizó la cuantificación de resveratrol mediante su adecuada dilución en metanol, se realizó su medición en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 305nm junto con un estándar de resveratrol en metanol de 8µg/mL. La determinación se realizó por triplicado.

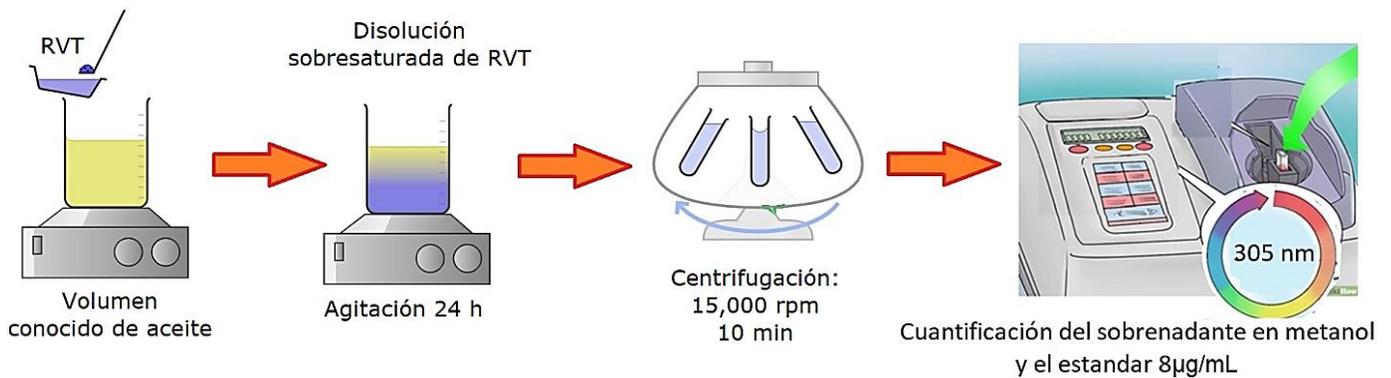


Figura V.6. Solubilidad máxima del RVT en aceite.

## 5.6. Preparación de la curva de calibración

Se preparó un sistema de siete puntos de concentración conocida para cada curva y se determinó su absorbancia a 305nm. Cada curva se realizó por triplicado.



### 5.6.1. Curva calibración para nanoesferas.

Se pesaron 5mg de resveratrol llevando a concentraciones de 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Figura V.7).

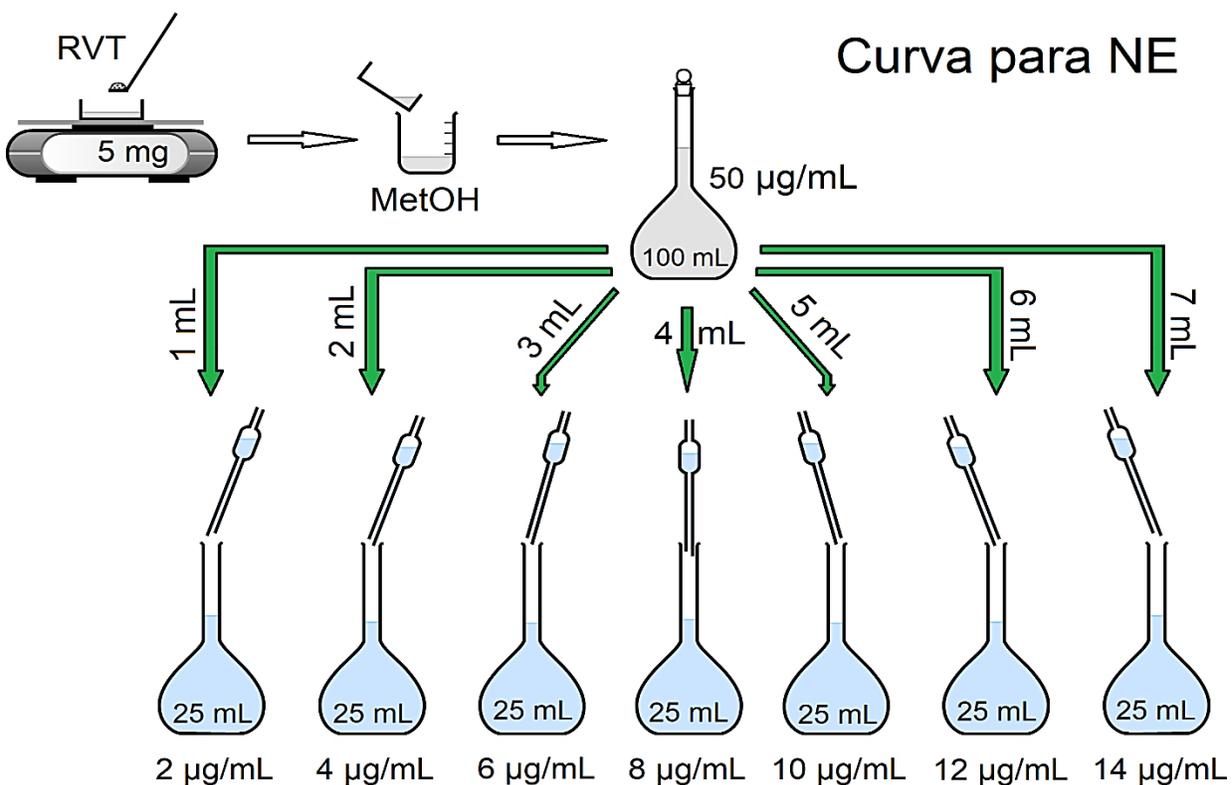


Figura V.7. Método de preparación para la curva de calibración de Nanoesferas.



### 5.6.2. Curva calibración para nanocápsulas.

Se pesaron 2.5mg de resveratrol, la curva se preparó a 0.1, 1, 2, 3, 4, 5 y 6  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de concentración (Figura V.8).

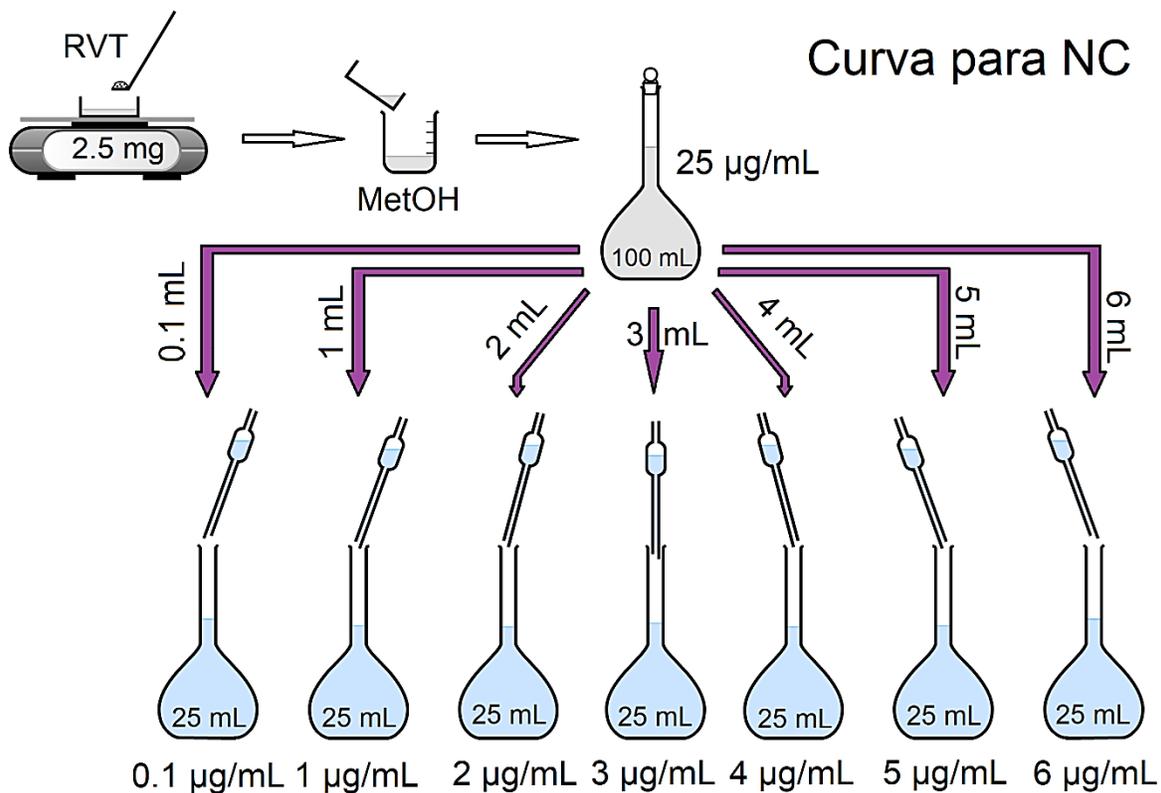


Figura V.8. Método de preparación para la curva de calibración de Nanocápsulas.



### 5.7. Elección del medio para preparación de nanopartículas

El acetato de etilo se saturó con agua en un embudo de separación agregando 50mL de acetato de etilo, y 50mL de agua destilada, una vez separadas las fases se recuperó la fase orgánica (acetato de etilo saturado), y la fase acuosa (agua destilada saturada) se desechó (Figura V.9).

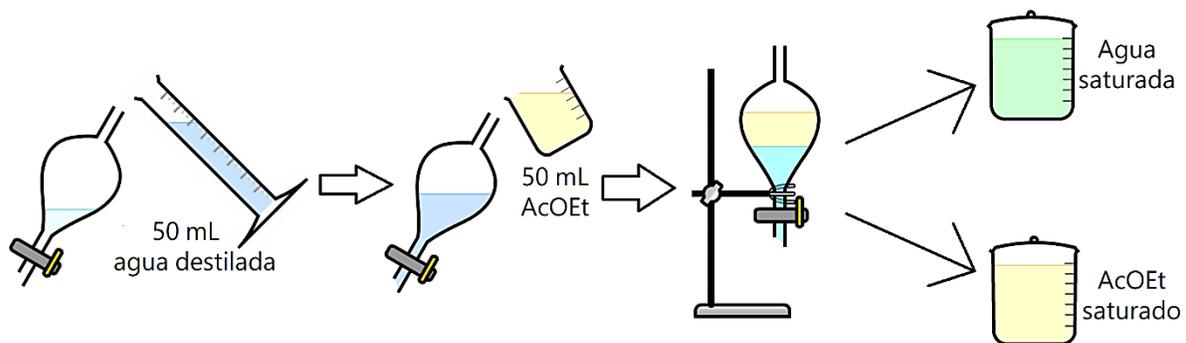


Figura V.9. Saturación del agua y acetato de etilo.

La solución STOCK de  $64\mu\text{g/mL}$  se preparó midiendo una masa de 4mg de resveratrol y llevando a volumen en un matraz aforado de 25mL con acetato de etilo saturado, posteriormente se tomó una alícuota con una pipeta volumétrica de 10mL y se enrasó en un matraz volumétrico de 25mL con el acetato de etilo saturado.

De la solución STOCK se prepararon dos disoluciones saturadas (una cubierta de la luz, y otra sin cubrir), tomando 4mL y llevando a volumen en un matraz volumétrico de 25mL con el acetato de etilo saturado (Figura V.10).

Se realizó un espectro de absorción a un rango de 240 a 370nm a la muestra cubierta de la luz a tiempo 0min. Las dos muestras preparadas y un estándar de  $10.24\mu\text{g/mL}$  se leyeron en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 240 a 370nm, realizando espectros de absorción a tiempo 0, 20, 40, 60, 105, 120, 150, 180, 240, 300, 330 y 360min.



## AcOEt como medio para preparación de NP's

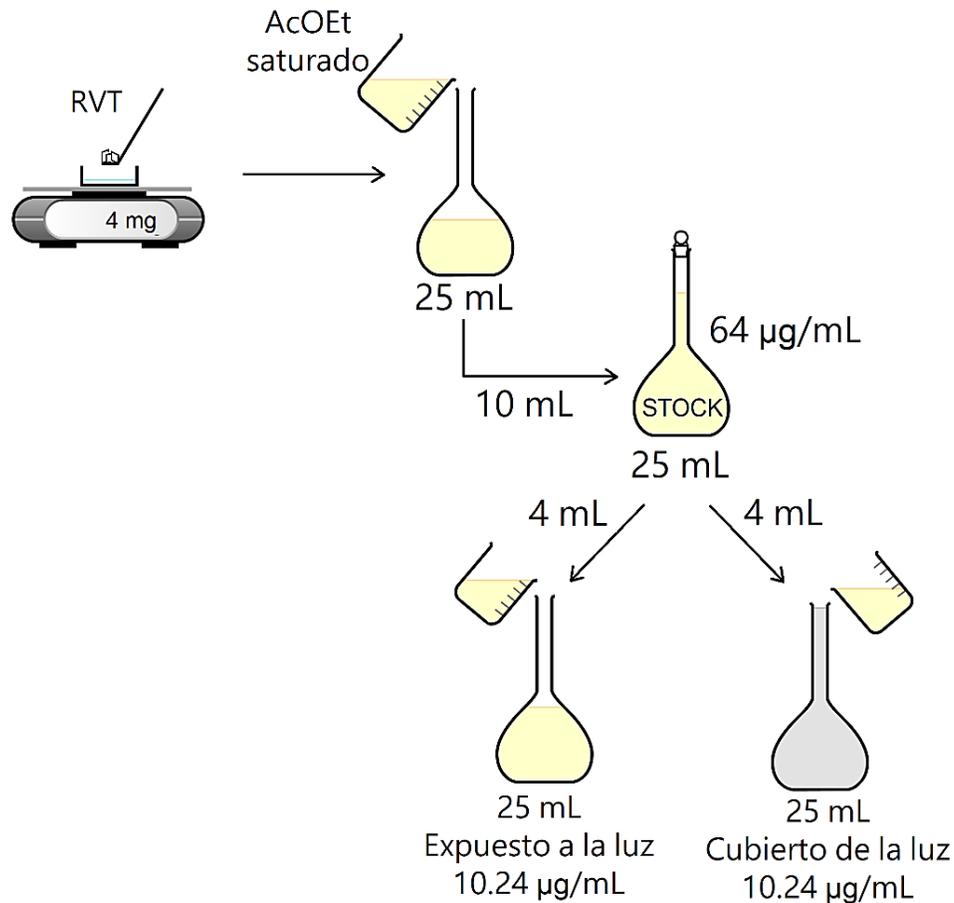


Figura V.10. RVT disuelto en AcOEt saturado.

### 5.8. Preparación de nanopartículas

-Saturación del medio de disolución para la preparación nanoesferas y nanocápsulas.

Los disolventes de la fase interna y externa, acetato de etilo y agua destilada se saturaron por 20 minutos (Figura V.9). Se obtuvo y etiqueto la fase orgánica (acetato de etilo saturado con agua) y la fase acuosa (agua destilada saturada con acetato de etilo).



### 5.8.1. Preparación de nanocápsulas.

Se procedió a disolver 200mg de policaprolactona, 0.5mL de labrafac™ y 0.4mg de resveratrol en 20mL de acetato de etilo saturado con agua destilada. Esta disolución orgánica fue emulsionada con 1.2g de alcohol polivinílico disuelto en 40mL de una disolución acuosa saturada con acetato de etilo usando un agitador de alta velocidad tipo rotor-estator (Ultra-Turrax T25 Basic, IKA) a 11,000rpm durante 10min. Posteriormente, se añadieron a la emulsión 160mL de agua destilada bajo agitación moderada (Figura V.11).

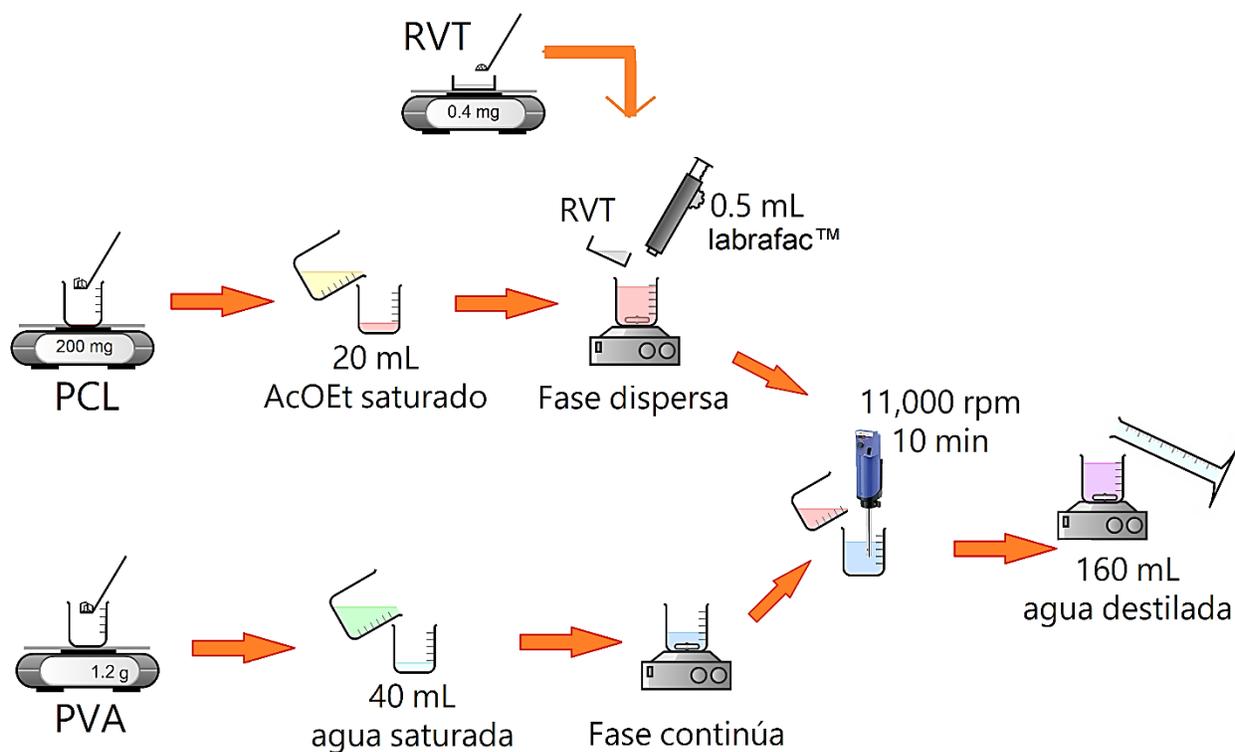


Figura V.11. Preparación de NC's de RVT.



### 5.8.2. Preparación de las nanoesferas.

Se realizó el mismo proceso de preparación que las nanocápsulas, con la diferencia de no adicionar labrafac™ a la disolución orgánica (Figura V.12).

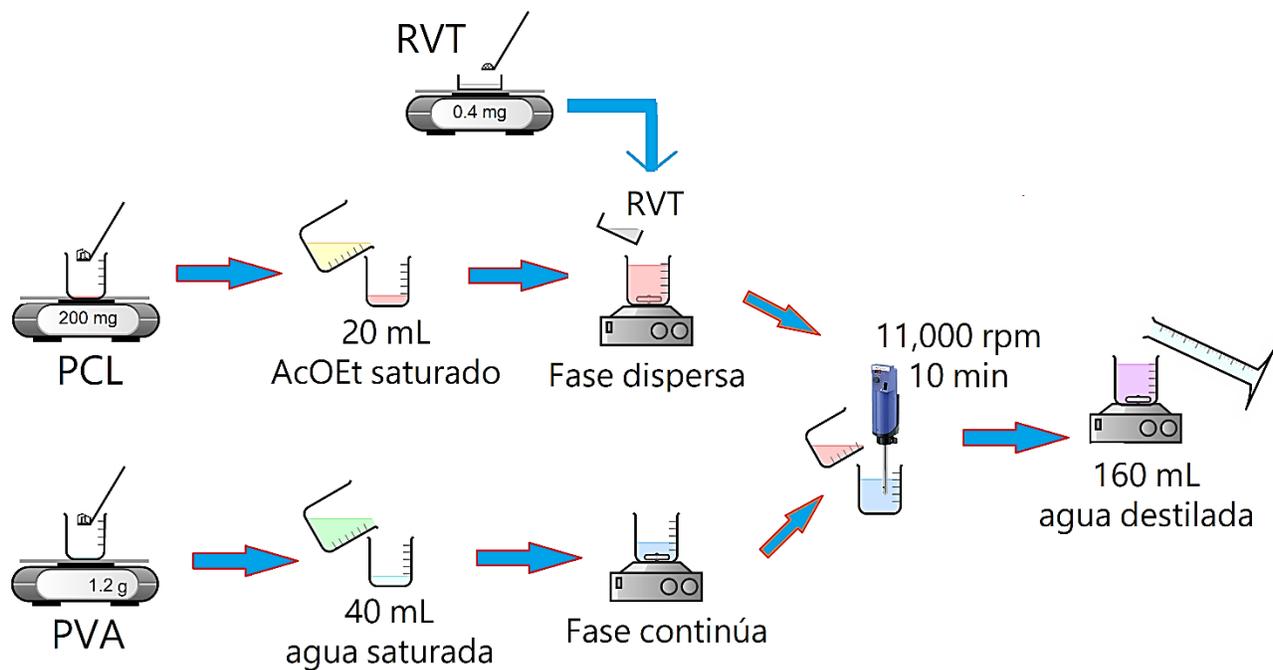
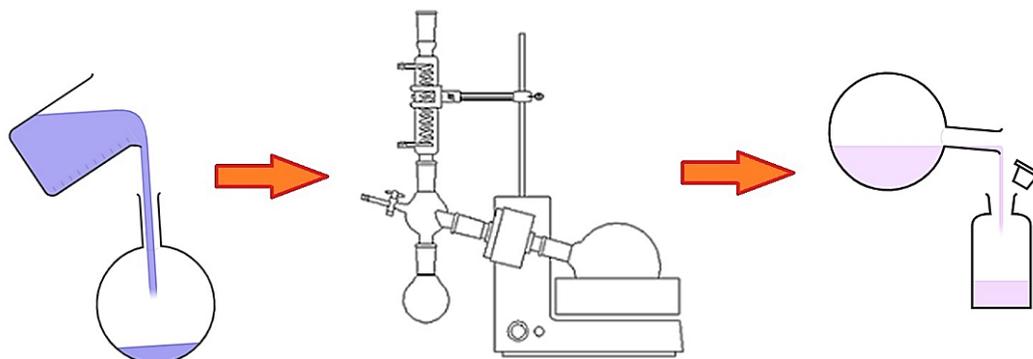


Figura V.12. Preparación de NE's de RVT.

El exceso de acetato de etilo saturado se retiró colocando la emulsión de nanoesferas o nanocápsulas en el rotavapor™ RII (Fisher Scientific) por 1h 30 min a 40°C y 60 rpm. Una vez transcurrido el tiempo, se colocó el contenido en un recipiente para su almacenamiento.



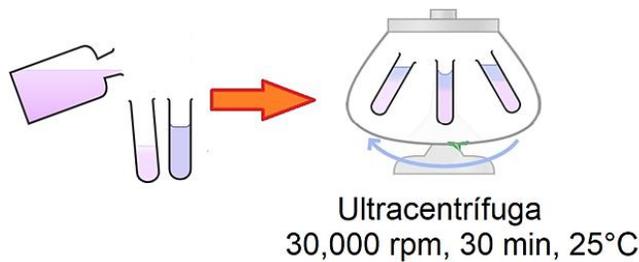
Rotavapor por 1h 30min  
40 °C a 60 rpm

Figura V.13. Retiro de exceso de acetato de etilo.

### 5.8.3. Purificación y recuperación de nanopartículas.

-Nanoesferas.

La formulación de nanoesferas se colocó en la ultracentrífuga (Beckman óptima LE-80K) a 30,000rpm durante 30min a 25°C.

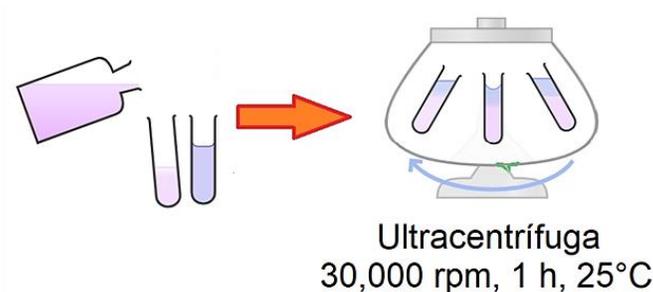


Ultracentrífuga  
30,000 rpm, 30 min, 25°C

Figura V.14. Ultracentrifugación de nanoesferas

-Nanocápsulas.

Las nanocápsulas se centrifugaron a 30,000rpm durante 1 h a 25°C.



Ultracentrífuga  
30,000 rpm, 1 h, 25°C

Figura V.15. Ultracentrifugación de nanocápsulas



Individualmente, se recuperó el pellet de cada sistema de nanopartículas y se resuspendieron por separado, llevando cada una a un volumen total de 25mL con agua destilada, con la finalidad de retirar el exceso de alcohol polivinílico de las suspensiones y evitar que interfiera en las evaluaciones posteriores (Figura V.16).

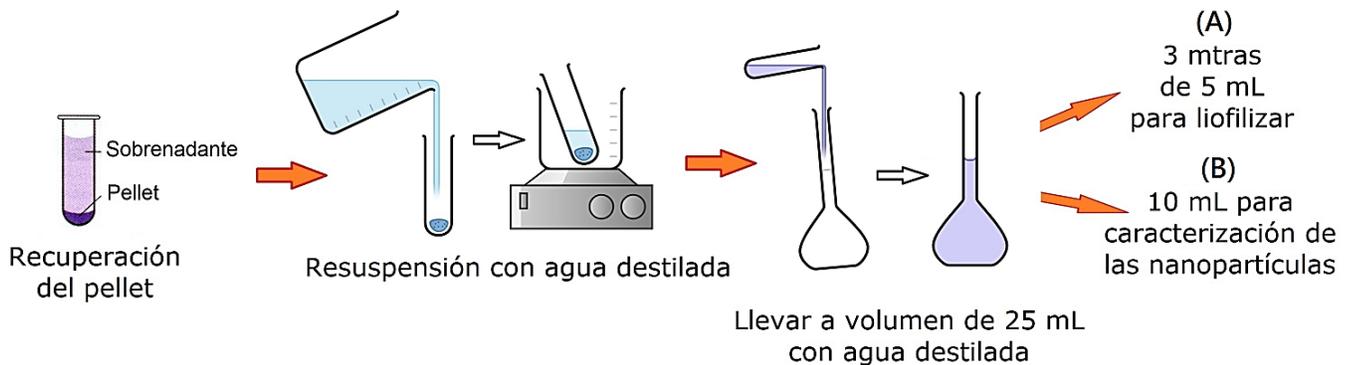


Figura V.16. Recuperación y resuspensión del pellet en agua destilada

De los 25mL de cada suspensión de nanopartículas se tomaron tres muestras de 5mL c/u en un matraz volumétrico (Figura V.16 A), los cuales se congelaron para posteriormente liofilizar durante 24h a una presión <100 microbar y  $-50^{\circ}\text{C}$  en el Liofilizador Freezone 6 (Labconco). Estas muestras liofilizadas se ocuparon para realizar la calorimetría diferencial de barrido (Figura V.17).

Los 10mL restantes de suspensión de cada muestra de nanopartículas (NC's y NE's) se guardaron en refrigeración para la determinación del tamaño de partícula y potencial zeta (Figura V.16 B).

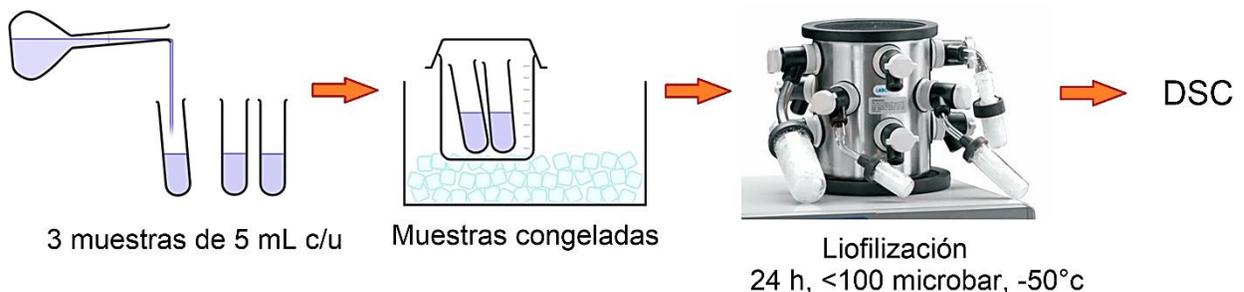


Figura V.17. Liofilización para obtención de muestras para calorimetría diferencial de barrido



## 5.9. Caracterización de las nanopartículas

Las pruebas se realizaron individualmente tanto para las nanocápsulas como para las nanoesferas.

### 5.9.1. Determinación del tamaño de partícula y del índice de polidispersión.

El tamaño de partícula promedio y el índice de polidispersión se determinaron utilizando la técnica de dispersión de la luz dinámica. Se tomó una muestra de los 10mL de suspensión posterior a la purificación y recuperación de nanopartículas (Figura V.16 B) y se diluyó con agua destilada hasta obtener la intensidad adecuada. Las mediciones se realizaron por triplicado a una temperatura de 25°C y un ángulo de dispersión de 173°, usando el equipo Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical).

### 5.9.2. Determinación de potencial zeta.

El potencial zeta fue determinado mediante la técnica de dispersión de luz electroforética, utilizando el Malvern Zetasizer Nano ZS (Malvern Panalytical). La muestra se tomó de los 10mL de suspensión purificada y recuperada de nanopartículas (Figura V.16 B) y se diluyó en agua Milli-Q. Las mediciones se realizaron por triplicado a una temperatura de 25°C.

### 5.9.3. Densidad.

Para determinar la densidad de las nanopartículas se preparó el percoll® al 45% v/v en NaCl 0.15M. Para la disolución de NaCl 0.15M se adicionaron 220mg de NaCl en un matraz volumétrico de 25mL llevando a volumen con agua destilada. Posteriormente, en una probeta graduada de 50mL se adicionaron 27.5mL de la disolución de NaCl 0.15M y se adicionó percoll® para el volumen faltante de los 50mL.

Se concentró una suspensión de nanoesferas y una suspensión de nanocápsulas utilizando un rotavapor. Para la prueba de densidad se preparó una muestra de nanoesferas y una muestra de nanocápsulas tomando 50µL de cada suspensión concentrada y se adicionó 9mL de la suspensión preparada de percoll® al 45% v/v en NaCl 0.15M. Para una tercera



muestra (muestra de referencia) se agregó 9mL de la suspensión de percoll® al 45% v/v en NaCl 0.15M y 30µL de cada marcador de densidad (Figura V.18).

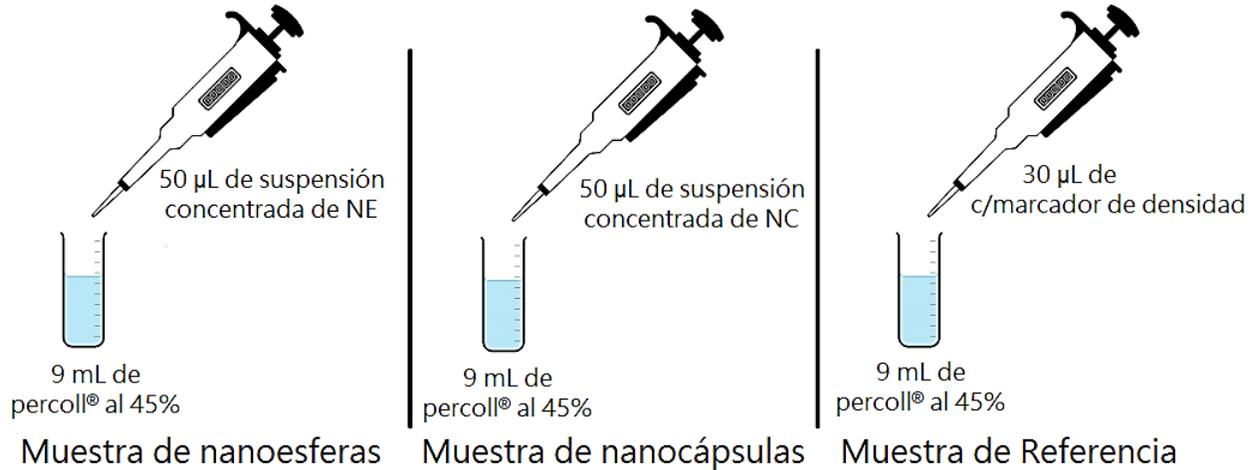


Figura V.18. Preparación de las muestras para la determinación de la densidad.

La centrifugación para la generación de los gradientes de densidad se realizó a 15,000rpm

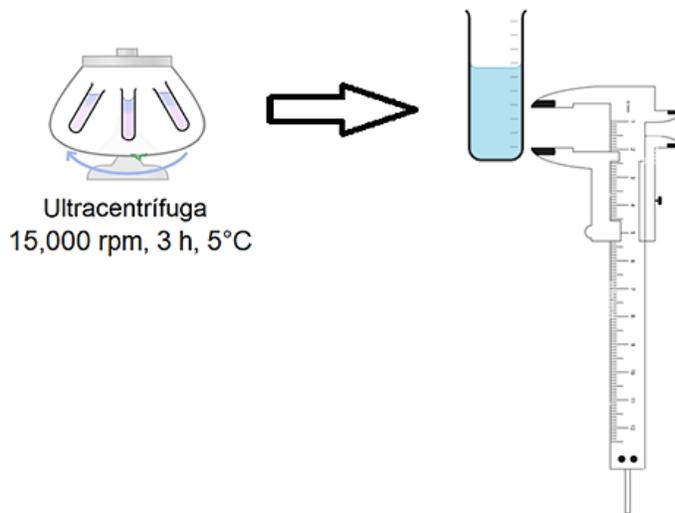


Figura V.19. Medición de las bandas marcadas después de la centrifugación.

por 3h a 5°C en la ultracentrifuga con un rotor tipo 90 Ti (ángulo 25°). La altura de cada banda fue medida con ayuda de un calibrador Vernier, del fondo del tubo hasta el centro de la banda.

Para la muestra de referencia se tomó en cuenta la relación de la medida del desplazamiento de la banda conforme a su color, respecto a los valores de

densidad proporcionados por el fabricante de las perlas marcadoras para su gradiente en percoll®.



La densidad de las muestras fue calculada a partir de la curva obtenida al graficar la altura medida contra la densidad de las perlas marcadoras.

#### 5.9.4. Calorimetría diferencial de barrido.

##### *5.9.4.1. Calibración del equipo calorimétrico diferencial de barrido.*

El calorímetro diferencial de barrido se ajustó y calibró bajo un flujo de nitrógeno de 50mL/min, a una temperatura de 40 a 400°C y una velocidad de calentamiento de 10°C/min. Se colocaron dos celdas de aluminio vacías selladas herméticamente y se obtuvo el termograma de la primera línea base, para la segunda línea base se retiró la celda vacía del portaceldas para muestra y se colocó una celda de aluminio con indio de alta pureza. Ambos termogramas que se obtuvieron se guardaron como líneas base para el análisis de las muestras.

##### *5.9.4.2. Determinación del punto de fusión y obtención de termogramas de los compuestos nanoparticulados.*

Se realizó la calorimetría diferencial de barrido del resveratrol, de cada uno de los sistemas (nanocápsulas liofilizadas y nanoesferas liofilizadas) y de los componentes (policaprolactona y alcohol polivinílico).

Se pesó individualmente por muestra una celda de aluminio vacía y se adicionaron aproximadamente de 2 a 4mg de muestra. Se colocó la celda de aluminio cerrada herméticamente con la muestra en el portaceldas para muestra del equipo, y en el portaceldas para referencia se colocó una celda de aluminio vacía y sellada herméticamente. Se cargaron los programas de línea base y se obtuvo el termograma de cada muestra con los mismos parámetros de la calibración del equipo.

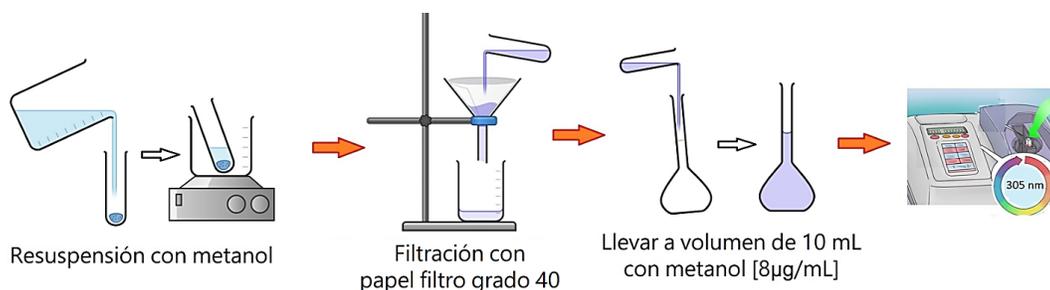


### 5.9.5. Cuantificación del resveratrol en las nanopartículas obtenidas

#### 5.9.5.1. Determinación de la eficiencia de atrapamiento y encapsulación.

##### 1) Porcentaje de atrapamiento en nanoesferas.

Después de la purificación y recuperación de las nanoesferas, se liofilizaron 5mL de la suspensión (por triplicado) durante 24h (Figura V.17). Cada liofilizado se resuspendió con metanol, se filtró con papel filtro grado 40 (Whatman®), y el filtrado se llevó a un volumen de 10mL con metanol (8 $\mu$ g/mL). Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 305nm (Figura V.20).



**Figura V.20. Preparación para la cuantificación de las nanoesferas**

##### 2) Porcentaje de encapsulación en nanocápsulas.

Se liofilizaron 5mL de la suspensión de nanocápsulas purificadas y recuperadas (por triplicado) durante 24h (Figura V.17). Cada liofilizado se resuspendió con metanol, y se filtró con papel filtro grado 40 (Whatman®), el filtrado se llevó a un volumen de 10mL con metanol del cual se tomó una alícuota de 2mL y finalmente se llevó a un volumen de 5mL con metanol (considerando una concentración teórica de 3.2 $\mu$ g/mL). Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 305nm (Figura V.21).



**Figura V.21. Preparación para la cuantificación de las nanocápsulas**

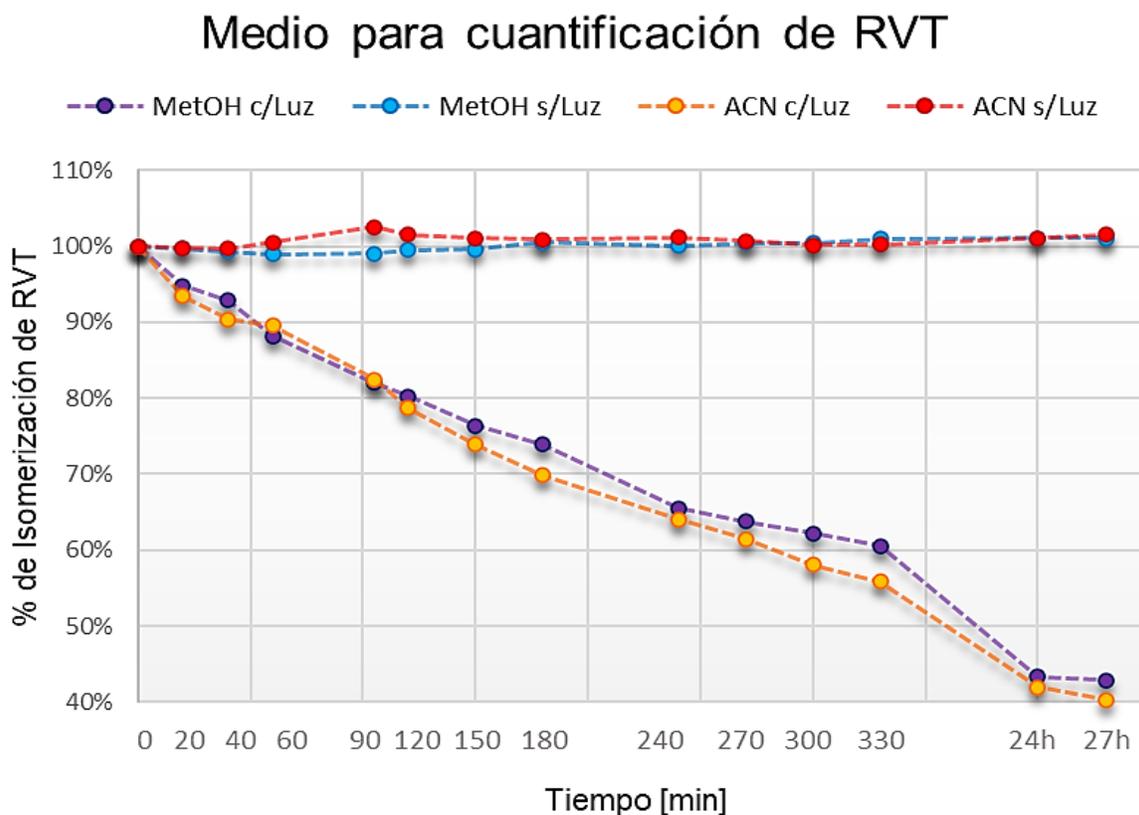


## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realizó una revisión bibliográfica de formulaciones de nanopartículas preparadas por el método de emulsificación-difusión. La selección de los reactivos y proporciones responde a las sugeridas en las formulaciones revisadas en la bibliografía, además de tomar en cuenta la disposición de los materiales en el laboratorio.

### 6.1. Medio para la cuantificación de nanopartículas

Tanto el metanol como el acetonitrilo son disolventes utilizados para la industria farmacéutica con este fin, por tanto, para seleccionar el disolvente ideal como medio de cuantificación se realizó una comparación de ambos, tanto protegidos de la luz como expuestos a esta.



Gráfica VI.1. Comparación entre el tiempo y el porcentaje de isomerización del RVT disuelto en metanol (MetOH) y acetonitrilo (ACN) expuesto a la luz (c/L) y protegido de la luz (s/L).



En la Gráfica VI.1 se observa una ligera diferencia entre ambos disolventes, sin embargo, en la Tabla VI.1 las medidas de variación como la desviación estándar en metanol es de 0.007, el cual es menor en comparación con el acetonitrilo con un valor de 0.008, esta desviación estándar indica qué tan dispersos están los datos con respecto a la media; mientras mayor sea la desviación estándar, mayor será la dispersión de los datos. Para concluir, la dispersión de datos obtenidos del metanol es menor que los datos del acetonitrilo donde se compara el porcentaje del coeficiente de variación de cada uno, en este caso el coeficiente de variación del metanol es 0.71% mientras que del acetonitrilo es 0.79%.

Conociendo y analizando el resultado, se determina el uso del metanol como medio para la cuantificación de las nanopartículas. El resultado obtenido puede atribuirse a una mayor solubilidad del resveratrol en el metanol.

Tabla VI.1. Medidas de variación respecto a la comparación de las disoluciones del RVT disueltas en metanol y acetonitrilo protegidas de la luz.

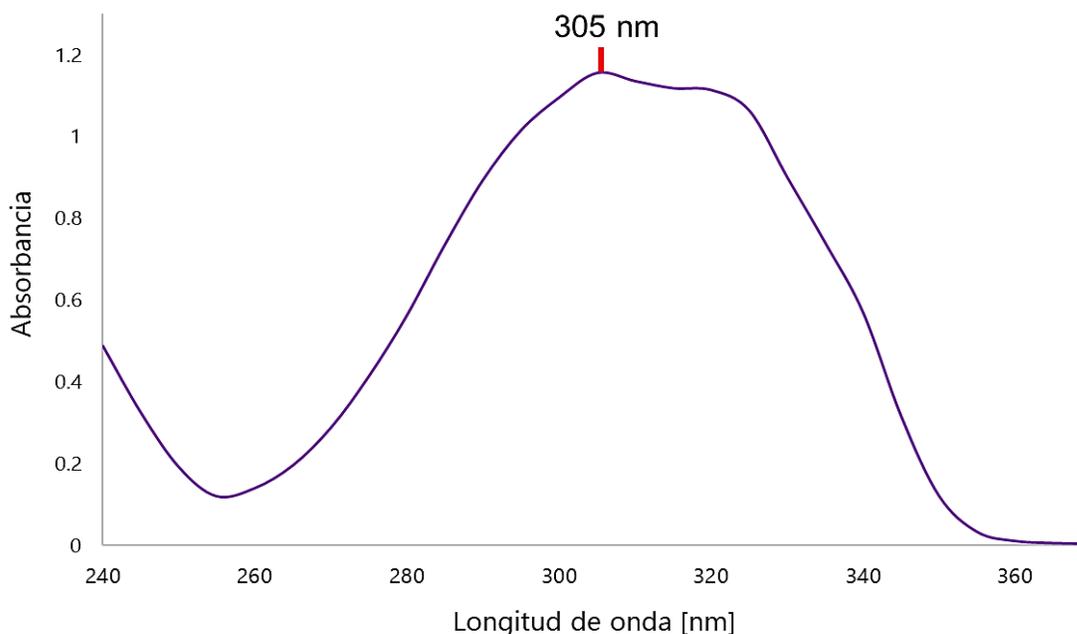
|           | Protegido de la luz |              |
|-----------|---------------------|--------------|
|           | Metanol             | Acetonitrilo |
| <i>S</i>  | 0.007               | 0.008        |
| <i>CV</i> | 0.71%               | 0.79%        |

## 6.2. Longitud de onda de máxima absorción del resveratrol

Se obtuvo un espectro de absorción en un rango de 240 a 370nm para determinar la longitud de onda de máxima absorción de resveratrol para su cuantificación (Gráfica VI.2). El pico de máxima absorción a la concentración del analito (8 $\mu$ g/mL) se observa en 305nm, similar al que se reporta en la literatura con un pico de máxima absorción de 306nm (Zupančič y Lavrič et al., 2015).



### Lambda maxima de absorción del RVT en Metanol



Gráfica VI.2. Representación gráfica del espectro de absorción del resveratrol obtenido en una disolución de metanol a una concentración de  $8\mu\text{g/mL}$  (absorbancia frente a longitud de onda).

### 6.3. Isomerización del resveratrol

La literatura indica que el resveratrol se isomeriza en presencia de la luz, donde el compuesto *trans*-RVT presenta el máximo de absorción a 306nm y el *cis*-RVT a 287nm. Cuando el *trans*-

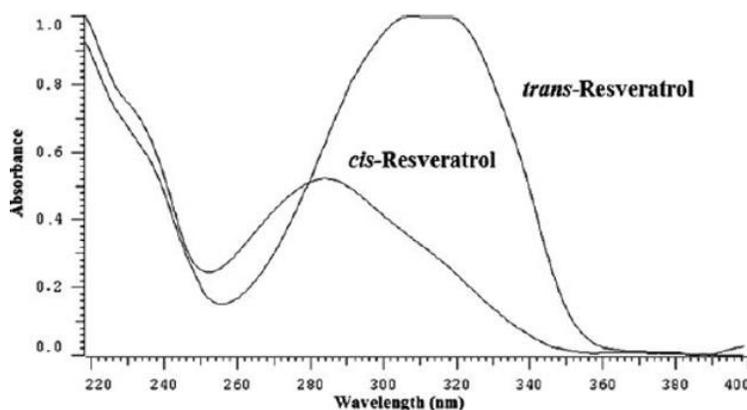


Figura VI.1. Esquema de espectro de absorción de la Isomerización de *trans*-RVT a *cis*-RVT

RVT (306nm) se isomeriza, el espectro de absorción cambia y su punto máximo de absorción disminuye al máximo de absorción del *cis*-RVT (287nm), como se observa en la Figura VI.1 y la Figura VI.2 (A) (Zupančič y Lavrič et al., 2015).



Cuando el *trans*-RVT se degrada por la modificación del pH y temperatura, su máximo de absorción se mantiene en 306nm, pero la absorbancia disminuye, mostrando compuestos de degradación a una longitud de onda de 265nm (Figura VI.2 (B)) los cuales de acuerdo con Zupančič y Lavrič et al., (2015) pertenecen a dos productos de degradación que se absorben en un rango de 268 a 274nm y 267 a 279nm generando el nuevo pico de aparición en el espectro obtenido por UV/VIS.

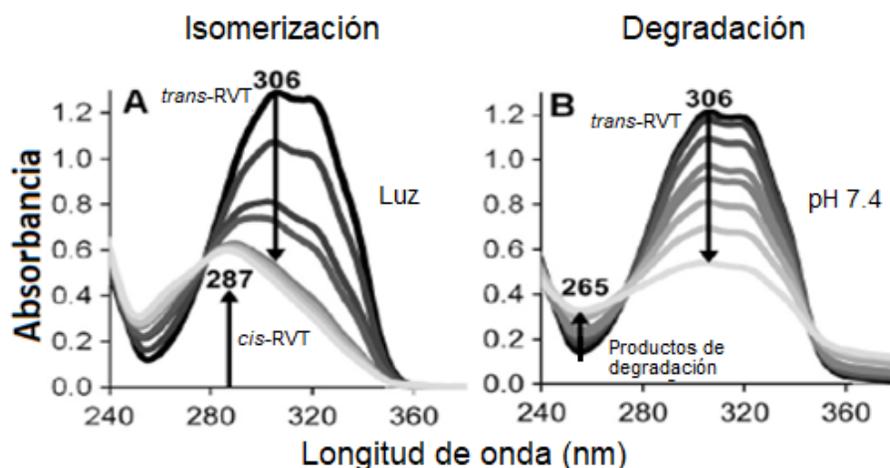
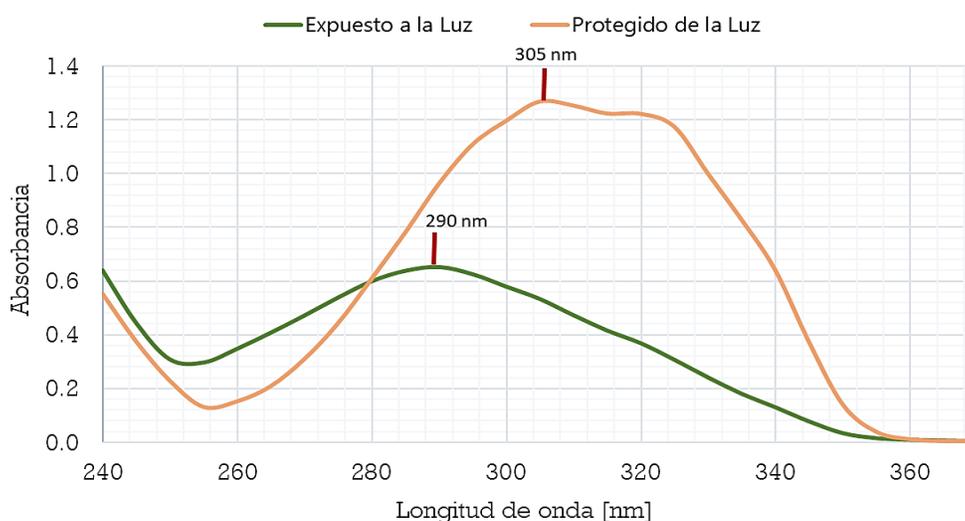


Figura VI.2. Gráficos de espectros de absorción UV/VIS. (A) Isomerización con luz UV a temperatura ambiente y (B) degradación en buffer con pH 7.4 a 37 °C (Modificado de (Zupančič y Lavrič et al., 2015)).

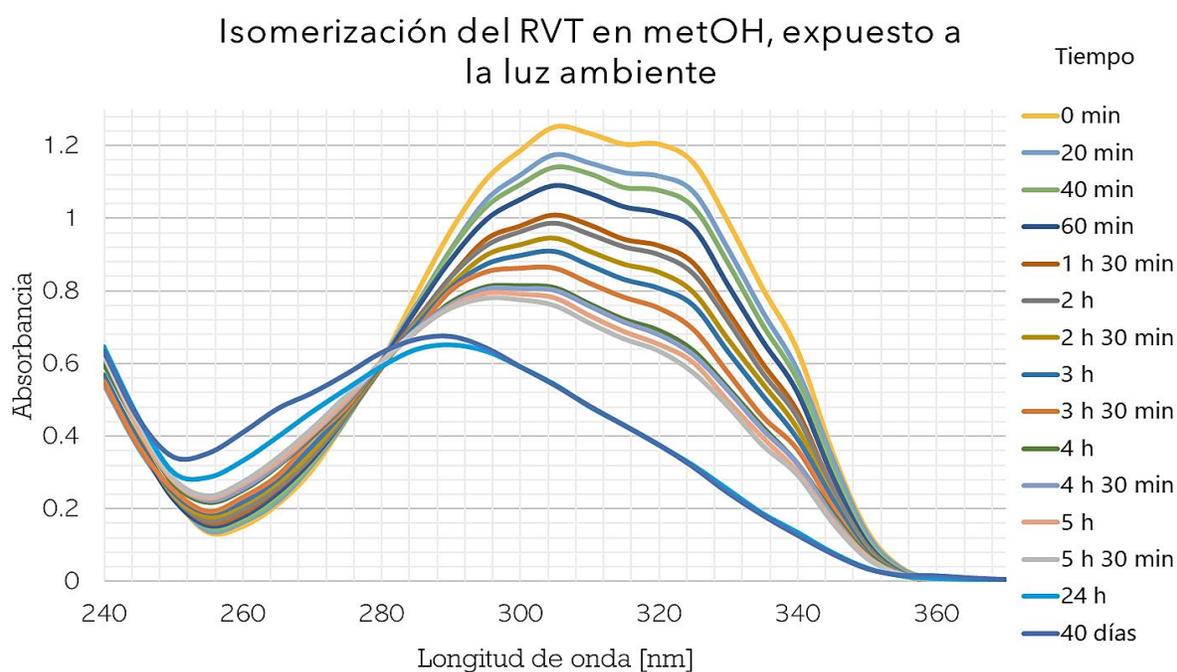
### Isomerización del RVT en MetOH



Gráfica VI.3. Representación gráfica del espectro de absorción del RVT de dos muestras a un tiempo de 24h, una expuesta a la luz y la otra protegida.

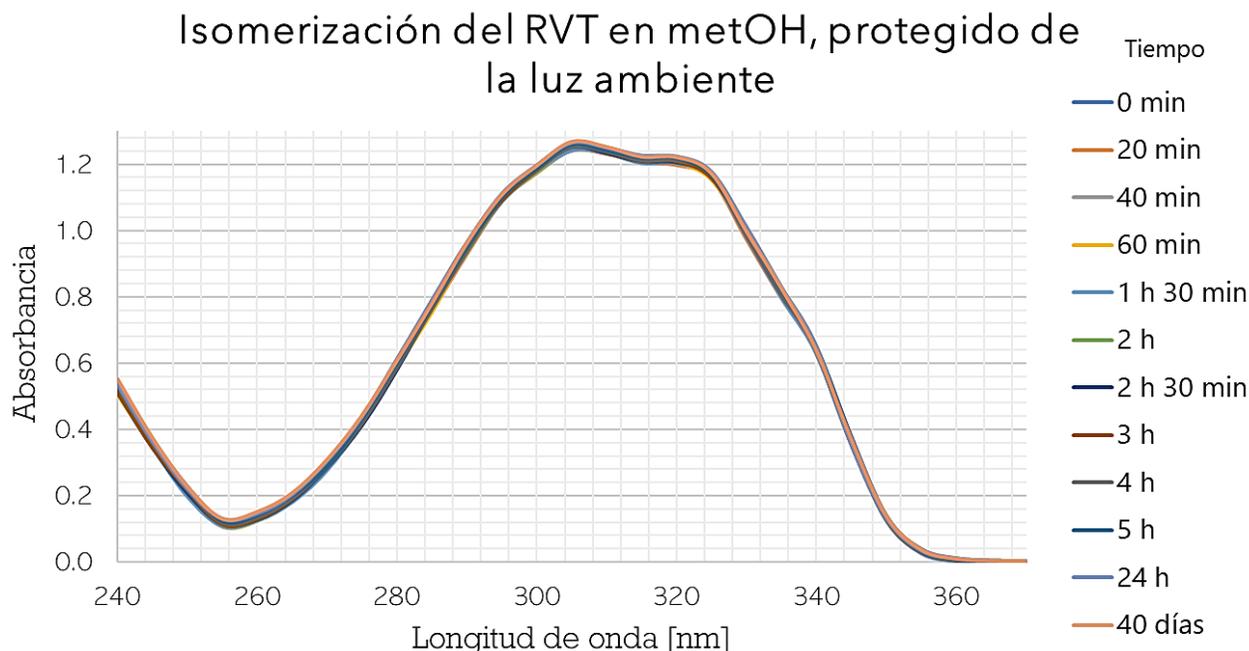


De acuerdo con la Gráfica VI.3 obtenida de dos muestras, una protegida de la luz y otra expuesta a la luz, se observa que a las 24 horas la muestra presenta un diferente espectro de absorción, protegida de la luz muestra una longitud de onda de máxima absorción de 305nm, y sin proteger una longitud de onda de máxima absorción de 290nm, al comparar la gráfica con la Figura VI.1 se deduce que efectivamente se presenta una isomerización del *trans*-RVT.



**Gráfica VI.4. Representación gráfica del espectro de absorción de la isomerización de una muestra de resveratrol en metanol expuesta a la luz desde el tiempo 0 min a 40 días.**

La Gráfica VI.4 de una muestra expuesta a la luz muestra gradualmente como se presenta la isomerización del *trans*-RVT a *cis*-RVT, al comparar con la gráfica encontrada en la literatura (Figura VI.2 (A)) se concluye que el espectro de absorción obtenido es similar, comprobando que se genera una isomerización del resveratrol en presencia de la luz.



**Gráfica VI.5** Representación gráfica del espectro de absorción de la isomerización de una muestra de resveratrol en metanol protegida de la luz desde el tiempo 0min a 40 días.

La obtención de los resultados de la Gráfica VI.5 se realizó para conocer si efectivamente el método que se utiliza para proteger al resveratrol de la exposición de la luz funciona, para lo cual se obtuvo el espectro de absorción donde se observa que el compuesto *trans*-RVT no se isomeriza con el transcurso del tiempo, indicando que se puede emplear el papel aluminio para cubrir las muestras de la luz ambiente.

## 6.4. Validación del método analítico

### 6.4.1. Linealidad del sistema.

Se realizó por triplicado una curva de calibración calculando la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada punto, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla VI.2 donde se observa que el coeficiente de variación está dentro del criterio de aceptación del 3%.



Tabla VI.2. Resultados de la determinación de linealidad del sistema en metanol.

| LINEALIDAD               |           |         |         |           |        |       |
|--------------------------|-----------|---------|---------|-----------|--------|-------|
| RVT [ $\mu\text{g/mL}$ ] | $A_{305}$ |         |         |           | S      | CV    |
|                          | Curva 1   | Curva 2 | Curva 3 | $\bar{x}$ |        |       |
| 2                        | 0.2965    | 0.2990  | 0.3000  | 0.2985    | 0.0018 | 0.60% |
| 4                        | 0.5764    | 0.5793  | 0.5694  | 0.5750    | 0.0051 | 0.89% |
| 6                        | 0.8661    | 0.8610  | 0.8670  | 0.8647    | 0.0032 | 0.37% |
| 8                        | 1.1447    | 1.1467  | 1.1547  | 1.1487    | 0.0053 | 0.46% |
| 10                       | 1.4111    | 1.4142  | 1.4050  | 1.4101    | 0.0047 | 0.33% |
| 12                       | 1.7035    | 1.7063  | 1.6923  | 1.7007    | 0.0074 | 0.44% |
| 14                       | 1.9889    | 1.9918  | 1.9916  | 1.9908    | 0.0016 | 0.08% |
| $R^2$                    | 0.9999    | 0.9999  | 0.9996  | 0.9999    |        |       |

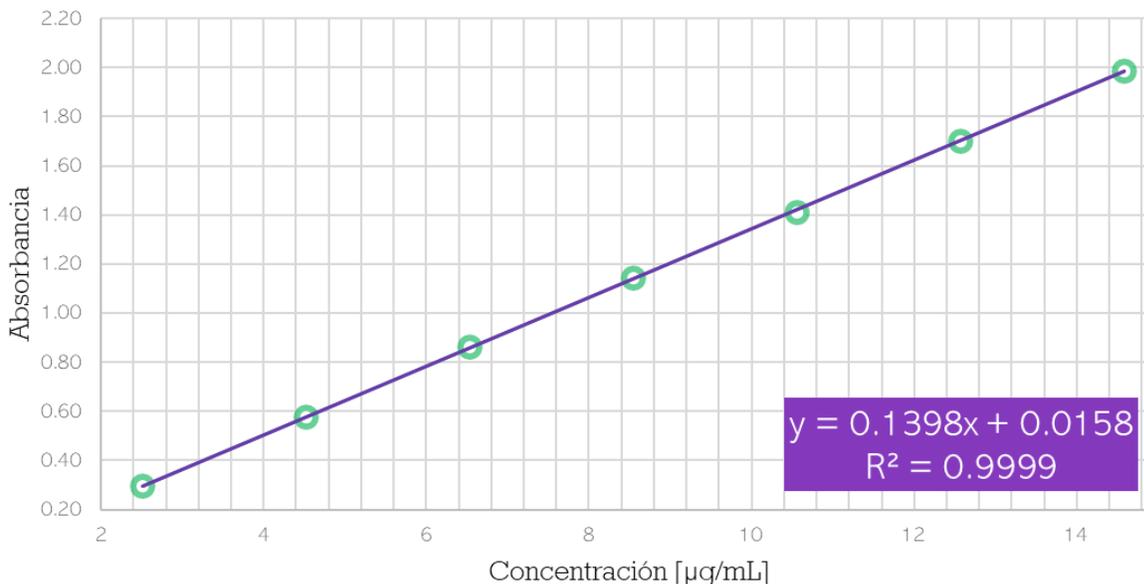
En la Tabla VI.2 se presentan los resultados que corresponde a los datos obtenidos de las tres curvas de calibración y el promedio de estas; donde el coeficiente de determinación ( $R^2$ ) obtenido en las tres curvas se encuentran dentro del criterio de aceptación  $R^2 \geq 0.98$ , indicando una fuerte relación entre las variables; el coeficiente de determinación indica en qué medida el comportamiento de una variable puede explicar el comportamiento de otra variable.

La ecuación de la recta ( $y = mx + b$ ) de la curva de calibración para el resveratrol, se utiliza para obtener valores de concentración [ $\mu\text{g/mL}$ ] y la absorbancia del resveratrol.

El eje de las abscisas "X" representa la concentración (Conc), mientras que el eje de las ordenadas "Y" es el valor de la Absorbancia (A) del resveratrol; la variable "m" es la pendiente de la recta, y "b" es la ordenada al origen siendo el intercepto de la recta con el eje de "Y".



## Curva de calibración del RVT en metOH



**Gráfica VI.6.** Representación gráfica de la curva 1 de calibración obtenida de la cantidad adicionada de resveratrol y el valor obtenido de su absorbancia.

De acuerdo con la ecuación obtenida de la Gráfica VI.6, “ $A = (0.1398) \text{ Conc} + 0.0158$ ”, la pendiente con un valor de 0.1398 es el cambio en la absorbancia por cada unidad de cambio en la concentración, mientras que la ordenada al origen es la absorbancia con un valor de 0.0158 cuando no hay resveratrol en la muestra.

### 6.4.2. Precisión del sistema.

De las tres disoluciones realizadas por sextuplicado (a la concentración media en la curva de calibración 8µg/mL) se obtuvieron los resultados presentados en la Tabla VI.3, con un coeficiente de variación de 0.37% menor a 3%.



Tabla VI.3. Resultados obtenidos del estudio de la precisión del sistema

| PRECISIÓN DEL SISTEMA          |                                |                                |                                |
|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Repetición                     | Muestra 1 [ $\mu\text{g/mL}$ ] | Muestra 2 [ $\mu\text{g/mL}$ ] | Muestra 3 [ $\mu\text{g/mL}$ ] |
| 1                              | 8.05                           | 8.09                           | 8.07                           |
| 2                              | 8.06                           | 8.11                           | 8.12                           |
| 3                              | 8.12                           | 8.10                           | 8.11                           |
| 4                              | 8.03                           | 8.11                           | 8.17                           |
| 5                              | 8.11                           | 8.09                           | 8.10                           |
| 6                              | 8.09                           | 8.10                           | 8.08                           |
| $\bar{x}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ] | 8.09                           |                                |                                |
| <b>S</b>                       | 0.03                           |                                |                                |
| <b>CV</b>                      | 0.37%                          |                                |                                |

Este resultado evalúa la cercanía entre los resultados en cada una de las concentraciones, lo cual nos indica que no se obtendrá variabilidad entre los resultados en cada concentración a determinar.

#### 6.4.3. *Repetibilidad.*

En la Tabla VI.4 se observa el coeficiente de variación y el porcentaje de recobro de cada serie, los cuales se encuentran dentro del criterio de aceptación menor al 3% para el coeficiente de variación y dentro del intervalo de 97 al 103% del porcentaje de recobro; para el 50% de concentración de resveratrol el CV es de 0.57% y el 99.0% de recobro; para el 100% de concentración de resveratrol el CV es de 0.20% y 99.8% de recobro y para el 150% de concentración de resveratrol el CV es de 0.80% y 99.3% de recobro.



El promedio del porcentaje de recobro obtenido es de 99.37% con un coeficiente de variación de 0.38%; de acuerdo con la guía de validación de métodos analíticos, al ser menor al 3% es confiable para la repetibilidad del método utilizado.

En cuanto a la exactitud, se evaluó el error obtenido de la media de los resultados obtenidos de la recuperación de concentraciones en  $\mu\text{g/mL}$  de los tres niveles con respecto a la concentración adicionada realmente, donde el error obtenido es del 0.63%.

Tabla VI.4. Resultados obtenidos de repetibilidad del método analítico.

| REPETIBILIDAD                  |                                       |                                    |                                       |                                    |                                       |                                    |
|--------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------------|------------------------------------|
| Repetición                     | Concentración [ $\mu\text{g/mL}$ ]    |                                    |                                       |                                    |                                       |                                    |
|                                | 50%                                   |                                    | 100%                                  |                                    | 150%                                  |                                    |
|                                | Conc. Teórica<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] | Conc. Exp.<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] | Conc. Teórica<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] | Conc. Exp.<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] | Conc. Teórica<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] | Conc. Exp.<br>[ $\mu\text{g/mL}$ ] |
| 1                              | 4.04                                  | 4.00                               | 8.09                                  | 8.06                               | 12.13                                 | 12.10                              |
| 2                              | 4.03                                  | 3.99                               | 8.11                                  | 8.09                               | 12.11                                 | 11.98                              |
| 3                              | 4.03                                  | 3.99                               | 8.10                                  | 8.09                               | 12.27                                 | 12.18                              |
| $\bar{x}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ] | 4.03                                  | 3.99                               | 8.10                                  | 8.08                               | 12.17                                 | 12.09                              |
| S                              | 0.02                                  |                                    | 0.02                                  |                                    | 0.10                                  |                                    |
| CV                             | 0.57%                                 |                                    | 0.20%                                 |                                    | 0.80%                                 |                                    |
| Recobro                        | 99.0%                                 |                                    | 99.8%                                 |                                    | 99.3%                                 |                                    |
| $\bar{x}$                      | 99.37%                                |                                    |                                       |                                    |                                       |                                    |
| S                              | 0.0038                                |                                    |                                       |                                    |                                       |                                    |
| CV                             | 0.38%                                 |                                    |                                       |                                    |                                       |                                    |



#### 6.4.4. *Precisión intermedia.*

Finalmente, se realizó la evaluación de la precisión intermedia con los datos conseguidos por dos analistas diferentes bajo las mismas condiciones de análisis. El coeficiente de variación de la prueba se observa en la Tabla VI.5 donde el resultado obtenido fue de 0.35%, el cual se encuentra por debajo del 3% máximo de aceptación. Indica que el proceso es confiable aun si diferente analista realiza el mismo procedimiento.

Tabla VI.5. Resultados del estudio de precisión intermedia

| PRECISIÓN INTERMEDIA           |                                    |            |
|--------------------------------|------------------------------------|------------|
| Repetición                     | Concentración [ $\mu\text{g/mL}$ ] |            |
|                                | Analista 1                         | Analista 2 |
| 1                              | 8.03                               | 8.07       |
| 2                              | 8.00                               | 8.06       |
| 3                              | 8.07                               | 8.02       |
| $\bar{x}$ [ $\mu\text{g/mL}$ ] | 8.04                               |            |
| <b>s</b>                       | 0.03                               |            |
| CV                             | 0.35%                              |            |

Los resultados de repetibilidad demuestran la precisión obtenida analizando una muestra varias veces siguiendo el mismo procedimiento, la precisión intermedia nos indica que variables como el tiempo o analista no afectan los resultados y la exactitud nos indica la proximidad entre los resultados obtenidos entre el valor real y el teórico; asegurando que el método es apropiado para el propósito de cuantificar el resveratrol en metanol.



## 6.5. Solubilidad del aceite para la preparación de nanocápsulas

### 6.5.1. Solubilidad del resveratrol en diferentes aceites.

Se realizó una prueba cualitativa donde en la Tabla VI.6 se observa que en labrafac™ el resveratrol se presenta disuelto y con muy poco precipitado, mientras que en el resto de los aceites el resveratrol se encuentra disperso o suspendido y al detener la agitación presentan un precipitado mayor.

Tabla VI.6. Solubilidad cualitativa del resveratrol en diversos aceites.

| Aceite                      | Observaciones                            |
|-----------------------------|--|
| Aceite de Girasol           | Disperso, amarillo, precipitado          |
| Aceite de Tuna              | Disperso, amarillo, precipitado          |
| Captex® 200                 | Disperso, blanco traslúcido              |
| Labrafac™ Lipophile WL 1349 | Disuelto, transparente, poco precipitado |
| Maisine™ 35-1               | Disperso, blanco, precipitado            |
| Peceol™                     | Disperso, amarillo traslúcido            |

Debido a esta diferencia entre los diferentes aceites se selecciona el labrafac™ como aceite para la preparación de nanocápsulas.



### 6.5.2. Densidad del labrafac™.

Se calculó la densidad del labrafac™ para la preparación de nanocápsulas, obteniendo una densidad de 0.94g de RVT/mL de labrafac™ (Tabla VI.7).

Tabla VI.7. Resultados obtenidos para la determinación de la densidad del labrafac™.

| Picnómetro 25°C             | Masa [g]            |
|-----------------------------|---------------------|
| Vacío                       | 31.66               |
| Con agua destilada          | 56.75               |
| Con Labrafac™               | 55.32               |
| Aceite                      | Densidad [g RVT/mL] |
| Labrafac™ Lipophile WL 1349 | 0.94                |

### 6.5.3. Solubilidad máxima del resveratrol en labrafac™.

Utilizando de referencia la absorbancia y concentración del estándar de resveratrol, se obtuvo la solubilidad máxima de la muestra, dando un resultado de 0.55mg de resveratrol por mL de labrafac™ (Tabla VI.8).

Tabla VI.8. Solubilidad máxima del resveratrol en labrafac™.

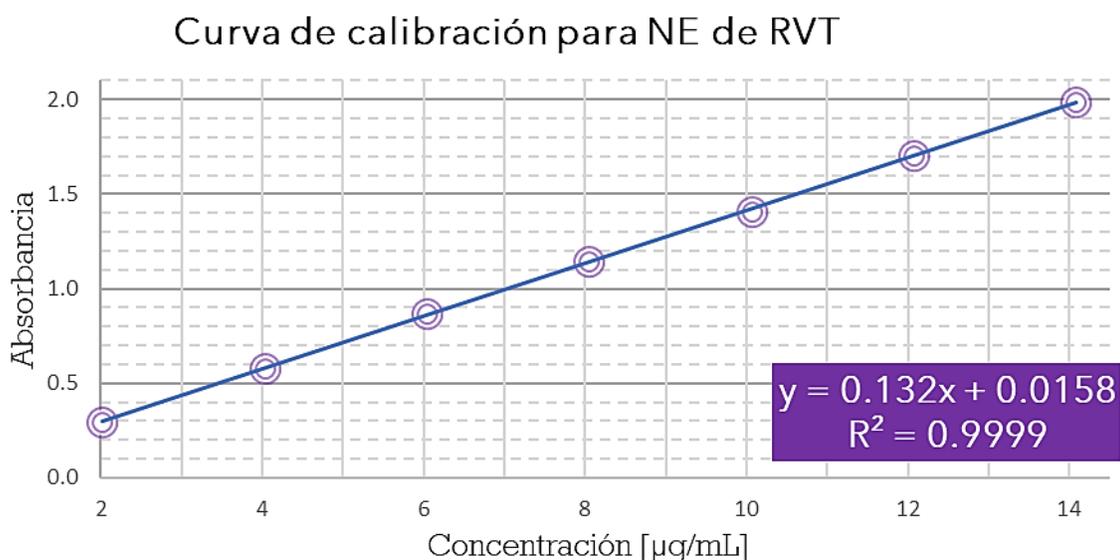
| Aceite                      | Solubilidad ± DE [mg RVT/mL] |
|-----------------------------|------------------------------|
| Labrafac™ Lipophile WL 1349 | 0.55 ± 1.2                   |



## 6.6. Curva de calibración

En la validación del método analítico se estableció que existe una linealidad en la curva para el resveratrol y conforme a la Ley de Lambert-Beer, es posible establecer la relación lineal entre la absorbancia y la concentración de una especie absorbente.

Debido a que se utilizaron concentraciones diferentes del resveratrol por el uso de labrafac™ en la preparación de las nanocápsulas, se dispuso a realizar una curva para cada tipo de nanopartículas y así asegurar que los datos obtenidos se encuentren dentro de la curva.

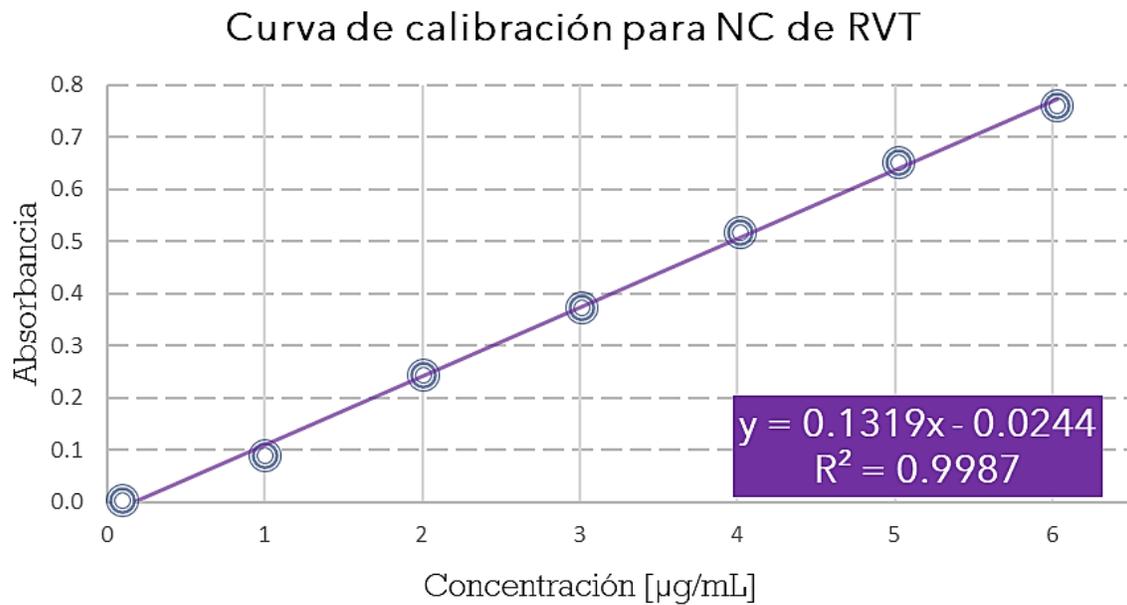


Gráfica VI.7. Curva de calibración por el método UV/VIS para nanoesferas de resveratrol en metanol.

Para la curva de calibración de nanoesferas de resveratrol se obtuvo la Gráfica VI.7 de la cual fue posible inferir la ecuación de la recta donde se relaciona los valores de absorbancia con la concentración de resveratrol en µg/mL.

La ecuación obtenida es:

$$\text{Absorbancia} = 0.132_{\text{Conc RVT}} + 0.0158$$



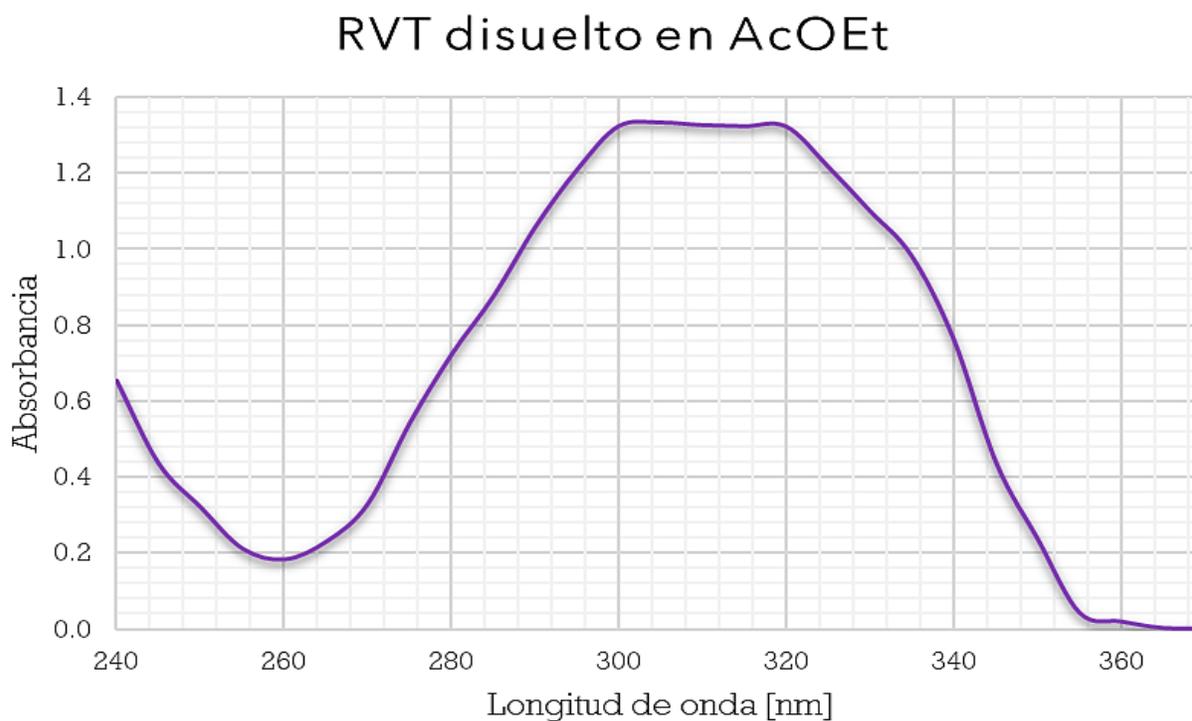
Gráfica VI.8. Curva de calibración por el método UV/VIS para nanocápsulas de resveratrol en metanol.

La ecuación de la curva de calibración obtenida de la Gráfica VI.8 para las nanocápsulas de resveratrol es:

$$\text{Absorbancia} = 0.1319_{\text{Conc RVT}} - 0.0244$$



## 6.7. Medio para preparación de nanopartículas

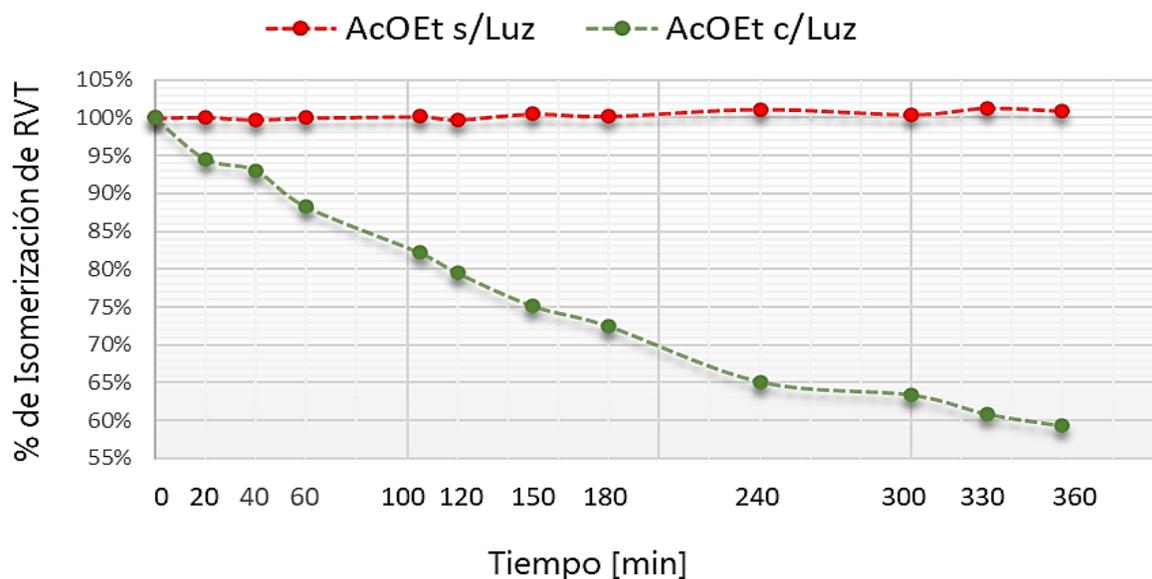


Gráfica VI.9. Representación gráfica del espectro de absorción del resveratrol disuelto en acetato de etilo (AcOEt).

Para la preparación de nanopartículas se utilizó acetato de etilo saturado, del cual se verificó que el resveratrol fuera soluble y presentara una lectura sin interferencias en el espectrofotómetro UV/VIS, como se muestra en la Gráfica VI.9 el resveratrol no presenta inconvenientes disuelto en acetato de etilo, dando una buena lectura, lo que indica que al realizar la caracterización de nanopartículas de resveratrol no presentara interferencia.



### Medio para preparación de NP's



Gráfica VI.10. Resveratrol disuelto en acetato de etilo saturado (AcOEt) sin exponer a la luz (s/Luz), y resveratrol en acetato de etilo saturado con exposición a la luz (c/Luz).

Para el caso de las dos disoluciones, una expuesta a la luz y otra protegida de la luz, se obtuvo la Gráfica VI.10 donde se calculó el porcentaje de isomerización obtenido entre la concentración de la muestra analizada y el estándar, al incrementar el tiempo de exposición de la muestra a la luz sin proteger se observa una disminución del resveratrol, para la muestra protegida de la luz no se observa cambio significativo en la isomerización de la muestra. Lo que indica que al proteger al principio activo con papel aluminio se logran obtener resultados del *trans*-RVT.



## 6.8. Preparación de nanopartículas

El uso del acetato de etilo es debido a su bajo punto de ebullición, con lo cual facilita su eliminación por destilación a presión reducida al finalizar la preparación de las nanopartículas, en cuanto a la adición de policaprolactona como polímero es por su propiedad de biodegradación lenta en comparación con el resto de los polímeros, siendo de utilidad para diversos tipos de administración de fármacos.

Para el caso de las nanocápsulas, la cantidad tanto del resveratrol como del labrafac™ se obtuvo a partir de la determinación de la solubilidad máxima del principio activo en el aceite.

Para comenzar con la preparación de nanopartículas por medio del método de emulsificación-difusión se realizó la saturación del acetato de etilo (fase orgánica) y del agua destilada (fase acuosa) antes de su uso para asegurar el equilibrio termodinámico de las fases.

El siguiente paso es la formación de la emulsión (o/w) en proporción 1:2, donde la fase dispersa conformada por el acetato de etilo saturado, la policaprolactona y el resveratrol (en caso de las nanocápsulas labrafac™) forman glóbulos que se dispersan en la fase continua conformada por el agua destilada saturada y el alcohol polivinílico.

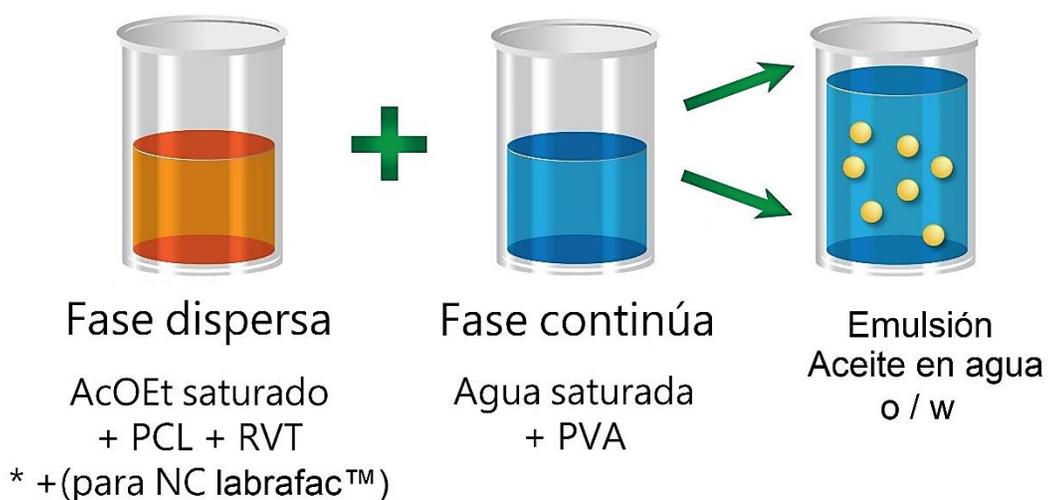


Figura VI.3 Formación de la emulsión, aceite en agua del resveratrol.



Una vez obtenida la emulsión, el siguiente paso es la difusión del acetato de etilo. La idea básica es la difusión del acetato de etilo desde el interior al exterior de los glóbulos de la emulsión o/w conformados por resveratrol y policaprolactona. Esta difusión inicia con la adición de agua destilada al sistema, la cual rompe el equilibrio termodinámico, provocando que la fase continua forme regiones locales de supersaturación (zonas de alta concentración de polímeros) en la interfase glóbulo/medio de disolución (agua saturada); debido a que la supersaturación no puede persistir, rápidamente se forman nuevos glóbulos que se transforman en diminutos agregados de polímero (no totalmente estables) llamadas “protonanopartículas” (Figura VI.4 y Figura VI.5).

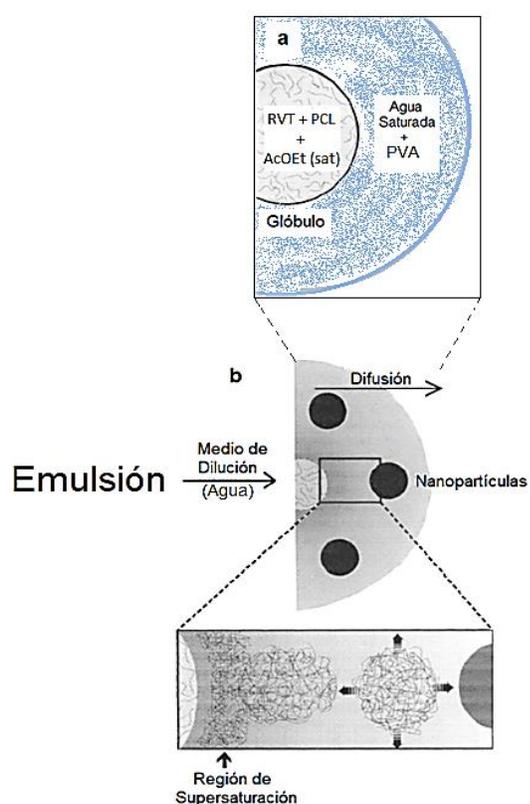


Figura VI.4. Mecanismo de formación de NP por el método de emulsificación-difusión. a) Antes del paso de difusión, b) Durante la difusión (Modificado de Quintanar Guerrero y Allémann et al., 1997).

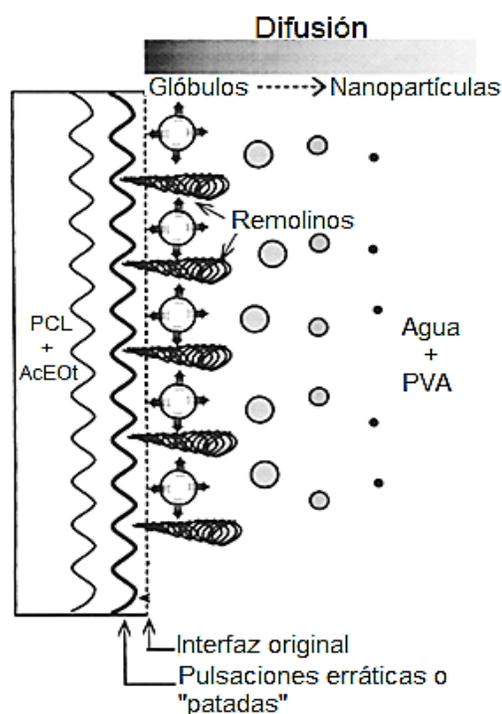
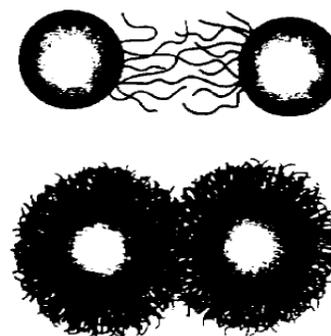


Figura VI.5. Representación esquemática de la formación de nanopartículas por el proceso de difusión del disolvente basado en el mecanismo de turbulencia interfacial (Modificado de Quintanar Guerrero y Allémann et al., 1997).

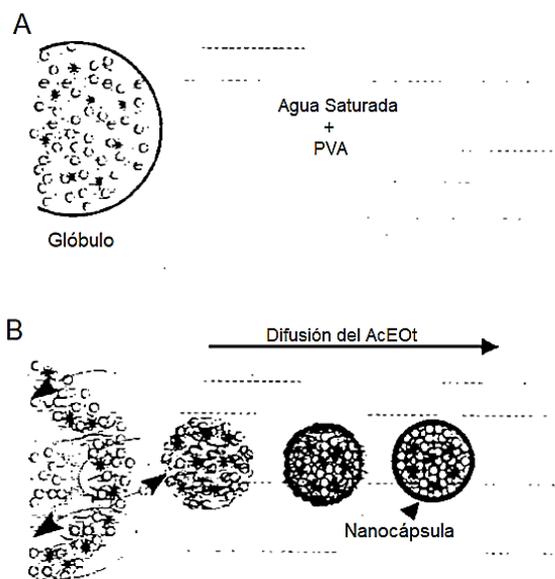


El alcohol polivinílico, como estabilizante estérico, actúa como un coloide protector, el cual se absorbe en la interfase entre la nanopartícula y la fase continua, quedando así libre su parte hidrofílica formando un efecto de rebote o impedimento estérico, lo que proporciona estabilidad a las protonanopartículas evitando la coalescencia y formación de agregados del polímero durante el proceso de formación de nanopartículas por la difusión del disolvente (Figura VI.6) (Modificado de Chávez y Olvera et al., 2002; Quintanar Guerrero y Tamayo Esquivel et al., 2005; y Gutiérrez Escamilla, 2005).



**Figura VI.6. Representación esquemática de la adsorción del agente estabilizante y su efecto protector por impedimento estérico (Gutiérrez Escamilla, 2005).**

Para la formación de nanocápsulas la diferencia es el uso del aceite, el cual queda dentro de las protonanopartículas.



**Figura VI.7. Mecanismo de formación para obtener nanocápsulas por el método de Emulsificación-difusión. A) Antes de la difusión, B) Durante la difusión.**

Finalmente, se purifican y recuperan las nanopartículas retirando las impurezas potencialmente tóxicas como el acetato de etilo y el sobrante de alcohol polivinílico por destilación a presión reducida.

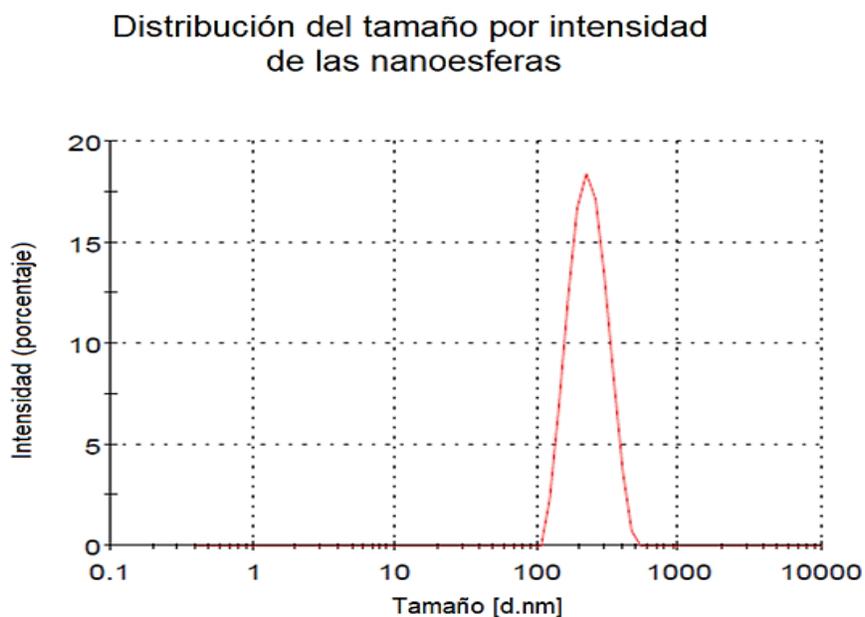


## 6.9. Caracterización de nanopartículas

### 6.9.1. *Tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial zeta.*

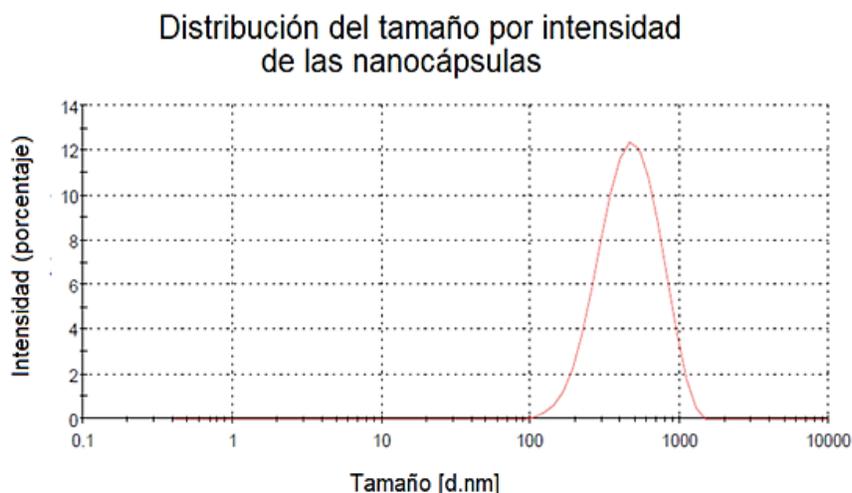
El tamaño de las nanopartículas poliméricas se encuentra entre los 10 y 500nm, mientras más pequeña sea la partícula tendrá mejores beneficios, un ejemplo de esto se observa en un estudio realizado por investigadores de la Universidad de Illinois, donde se evaluaron sistemáticamente los perfiles biológicos dependientes del tamaño de tres nanoconjugados de partículas de sílice monodispersas (de 50 y 200nm) donde aquellas con partículas de un tamaño de 50nm fueron los más eficientes en la penetración profunda en el tejido tumoral y en la internalización en células cancerígenas (donde se liberaron los medicamentos) (Tang y Yang et al., 2014).

La medición del tamaño de partícula se realizó en el equipo Zetasizer, por dispersión de luz dinámica. Esta técnica mide la difusión de partículas en movimiento Browniano, relacionando el desplazamiento aleatorio de las partículas con el diámetro de estas (Llinàs y Sánchez García, 2014).



Gráfica VI.11. Distribución del tamaño de las nanoesferas.





**Gráfica VI.12. Distribución del tamaño de las nanocápsulas.**

La obtención de una sola distribución estrecha corresponde a la obtención de una muestra homogénea, lo cual nos indica que las nanoesferas y las nanocápsulas no presentan variación en el tamaño de partícula. Visualmente en la Gráfica VI.11 de las nanoesferas se observa un pico que corresponde a un solo grupo de partículas con un diámetro promedio de 220.2nm, en la Gráfica VI.12 de nanocápsulas el pico corresponde al diámetro promedio de 430.6nm, pero esta última gráfica presenta un ángulo más amplio, lo cual se puede atribuir a más variación de tamaño cerca del promedio, por partículas aglomeradas.

Tabla VI.9. Resultados de la caracterización de las nanopartículas.

| Nanoesferas  |             |                                |                                |                          |                          |
|--------------|-------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| % PCL        | % PVA       | Diámetro $\bar{x} \pm DE$ (nm) | IPD $\pm DE$                   | PZ $\bar{x} \pm DE$ (mV) |                          |
| 1            | 3           | 220.2 $\pm$ 1.3                | 0.073 $\pm$ 0.02               | -20.04 $\pm$ 1.9         |                          |
| Nanocápsulas |             |                                |                                |                          |                          |
| % PCL        | % labrafac™ | % PVA                          | Diámetro $\bar{x} \pm DE$ (nm) | IPD $\pm DE$             | PZ $\bar{x} \pm DE$ (mV) |
| 1            | 2.5         | 3                              | 430.6 $\pm$ 3.9                | 0.122 $\pm$ 0.042        | -24.19 $\pm$ 1.8         |



Los tamaños obtenidos de ambas nanopartículas se encuentran dentro del promedio de nanopartículas poliméricas. Como se observa en la Tabla VI.9 el tamaño de partícula de las nanoesferas es de 220.2nm siendo menor que las nanocápsulas de 430.6nm, esto es debido a que al contener labrafac™ el tamaño de partícula incrementa, por tanto, las nanoesferas que no contienen aceite presentan un tamaño de partícula menor.

La diferencia de tamaño en presencia del aceite se observa en un estudio donde se evaluaron los resultados en función de distintas proporciones de los componentes, como el estabilizante o el aceite, se demostró que, al aumentar la concentración de aceite en la fase orgánica, el tamaño de partícula promedio aumenta (Hernández Salgado, 2015).

Un factor que afecta el tamaño de nanopartícula es la miscibilidad en agua del disolvente, cuanto más grande sea la miscibilidad del disolvente, menor será el tamaño de nanopartícula, este comportamiento es atribuido a la velocidad de la difusión, un disolvente con una baja

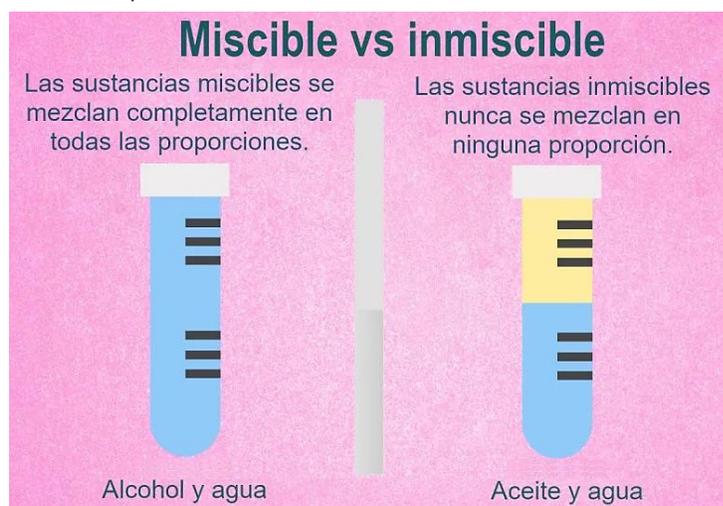


Figura VI.8. Representación de la miscibilidad.

miscibilidad en agua transportará las moléculas lentamente a la fase acuosa por una disminución en la turbulencia interfacial durante la etapa de difusión, lo que lleva a su agregación en forma de nanopartícula de gran tamaño (Quintanar Guerrero y Tamayo Esquivel et al., 2005). El acetato de etilo cuenta con una miscibilidad<sup>31</sup> en

agua de 8.7% $m/m$ <sup>32</sup> (ver anexo), trabajando con algún disolvente parcialmente miscible en agua con mayor porcentaje de miscibilidad, se podrían obtener nanopartículas de menor tamaño.

<sup>31</sup> Miscibilidad: Se refiere a la propiedad de algunos líquidos para mezclarse en cualquier proporción, formando una disolución homogénea.

<sup>32</sup> % $m/m$ : Es el porcentaje en masa, referido a 100 partes de agua.





Otro factor que puede influir en la disminución del tamaño de partícula es la velocidad de agitación por su estrecha relación con el tamaño del glóbulo formado durante la emulsificación, entre más pequeño sea el tamaño del glóbulo de la emulsión, más pequeño será el tamaño de la partícula resultante, esto siempre y cuando el estabilizante ejerza su efecto, por este motivo a velocidades altas de agitación se obtienen glóbulos de menor tamaño (Hernández Valdepeña, 2001). La emulsión obtenida experimentalmente presenta un tamaño de partícula dentro del promedio, indicando que la velocidad a la que se trabajó de 11,000rpm es apropiada para la obtención de estas nanopartículas.

La efectividad del estabilizante estérico radica en la capacidad de evitar la coalescencia de los glóbulos durante la difusión y evaporación del acetato de etilo saturado, así como durante su almacenamiento. Está comprobado que el alcohol polivinílico como estabilizante estérico es capaz de mantener las propiedades físicas y el tamaño de partícula de la dispersión por seis meses después de su preparación. Se sugiere que las cadenas de alcohol polivinílico están fuertemente unidas a la superficie de las nanopartículas por su afinidad a ellas y forman una capa estable con un excelente efecto de repulsión (Hernández Valdepeña, 2001).

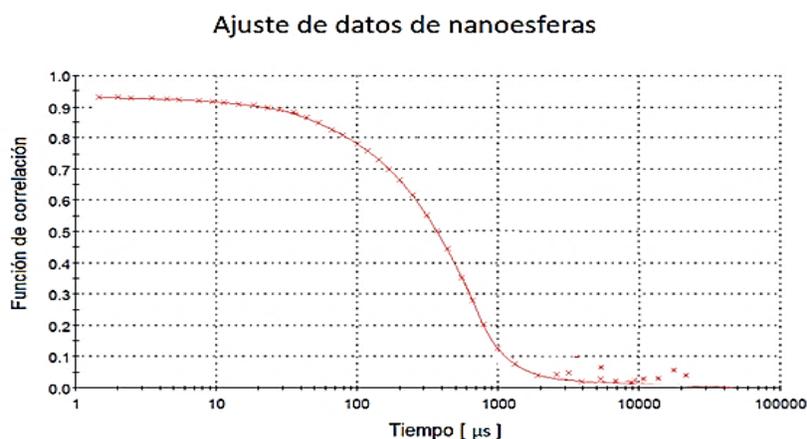
El índice de polidispersión es un parámetro importante que rige la estabilidad física de las nanosuspensiones, nos informa acerca de la homogeneidad de los tamaños de las nanopartículas, cuyo valor debe ser lo más bajo posible para una estabilidad a largo plazo. Con mayor frecuencia el tamaño de una población de partículas sigue una distribución multimodal<sup>33</sup>. Cuando el valor de índice de polidispersión es cercano a 1, el rango de tamaño tiene una mayor dispersión, mientras que un valor cercano a 0 es lo óptimo, ya que las partículas presentan un tamaño homogéneo (Escalona Rayo, 2017). En nanopartículas un valor de índice de polidispersión de 0.1 a 0.25 indica una distribución de tamaño estrecho, mientras que un valor de índice de polidispersión superior a 0.5 indica una distribución muy amplia (Hernández Salgado, 2015).

---

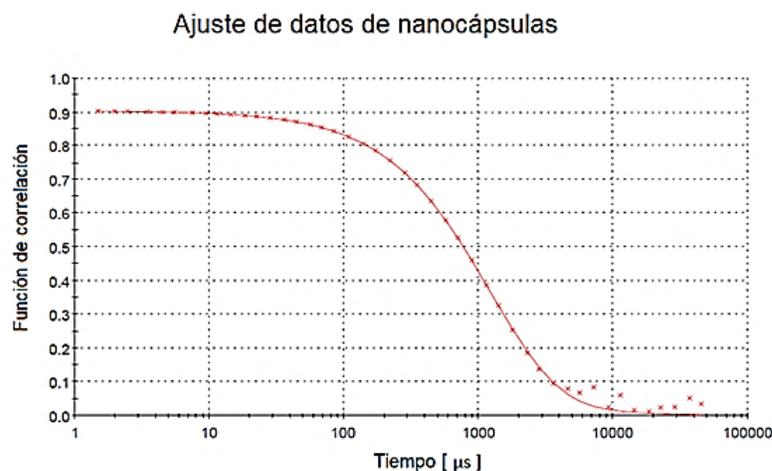
<sup>33</sup> Distribución multimodal: Es una distribución de probabilidad con dos o más modos El histograma tiene más de una cima.



Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla VI.9 tanto las nanoesferas como nanocápsulas tienen un índice de polidispersión menor a 0.25, siendo de 0.073 y 0.122 respectivamente, indicando como se mencionó anteriormente que el índice de polidispersión es ideal para ambas, sin embargo, las nanoesferas tienen una distribución más estrecha, ya que su valor es más cercano a 0, el valor demuestra que las nanopartículas formadas en la suspensión en su mayoría son del mismo tamaño, refiriéndose a un sistema monodisperso; para las nanocápsulas se manifiesta un sistema con una mayor distribución de distintos tamaños de partículas (lo cual resultara en varios fenómenos de desestabilización como floculación, coalescencia, etc.).



Gráfica VI.13. Curva de correlación proporcionada por el equipo Malvern Zetasizer Nano ZS para las nanoesferas.



Gráfica VI.14. Curva de correlación proporcionada por el equipo Malvern Zetasizer Nano ZS para las nanocápsulas.





La Gráfica VI.13 y la Gráfica VI.14 obtenidas del equipo Malvern Zetasizer representan gráficamente que el diámetro calculado y la dispersidad obtenida para las partículas medidas son fiables, debido a que la curva de correlación de las nanoesferas visualmente presenta el ángulo de caída menor, indicando la presencia de partículas de menor tamaño, y la curva de correlación de las nanocápsulas tiene un ángulo de caída mayor presentando un decaimiento más lento en presencia de partículas de mayor tamaño.

En cuanto el potencial zeta, Escalona Rayo (2017) señala que en nanopartículas sin estabilizante, el potencial zeta aumenta debido a la exposición de los grupos terminales del polímero, al utilizar un estabilizante como el alcohol polivinílico el potencial zeta disminuye debido a que forma una capa protectora alrededor de la nanopartícula, lo que oculta la carga superficial de la nanopartícula; en su trabajo demuestra que en formulaciones con mayor porcentaje de estabilizante el potencial zeta es menor, y en formulaciones con menor porcentaje de estabilizante el potencial zeta es mayor. De igual forma, Hernández Salgado (2015) menciona que las nanoesferas demuestran un menor potencial zeta que las nanocápsulas por una mayor interacción entre el estabilizante y el polímero en la superficie, lo que forma una capa firmemente unida que provoca la disminución en la movilidad electroforética, conduciendo a la disminución del potencial zeta.

El alcohol polivinílico es un estabilizante estérico el cual disminuye el potencial en ambas nanopartículas, sin embargo, se presenta una diferencia en el resultado obtenido en este trabajo, donde las nanoesferas presentan un potencial zeta menor que el de las nanocápsulas, en la Tabla VI.9 se observa un potencial zeta de  $-20.04\text{mV}$  para las nanoesferas y de  $-24.19\text{mV}$  para nanocápsulas.

Tomando en cuenta el trabajo realizado por Escalona Rayo (2017) y Hernández Salgado (2015), los resultados obtenidos para las nanoesferas se pueden atribuir a una mayor interacción del alcohol polivinílico con la policaprolactona en la superficie, en el caso de las nanocápsulas al contener un aceite como labrafac™ se necesita más policaprolactona para





encapsular la mayor parte posible, lo que dejaría una menor cantidad de policaprolactona que interactúa con el alcohol polivinílico aumentando su potencial zeta.

La carga negativa del potencial zeta está relacionada con el tipo de polímero utilizado. Los polímeros sintéticos como la policaprolactona, el ácido poli (láctico-co-glicólico) o el ácido poliglicólico se conocen como polímeros cargados negativamente, debido a la presencia de radicales carbonílicos en la estructura (Grillo y Sinohara Souza et al., 2012).

### 6.9.2. *Densidad de las nanopartículas.*

La Figura VI.9 muestra la posición de las bandas obtenidas tanto para la muestra de referencia como para los sistemas de nanopartículas evaluados en un gradiente de densidad.

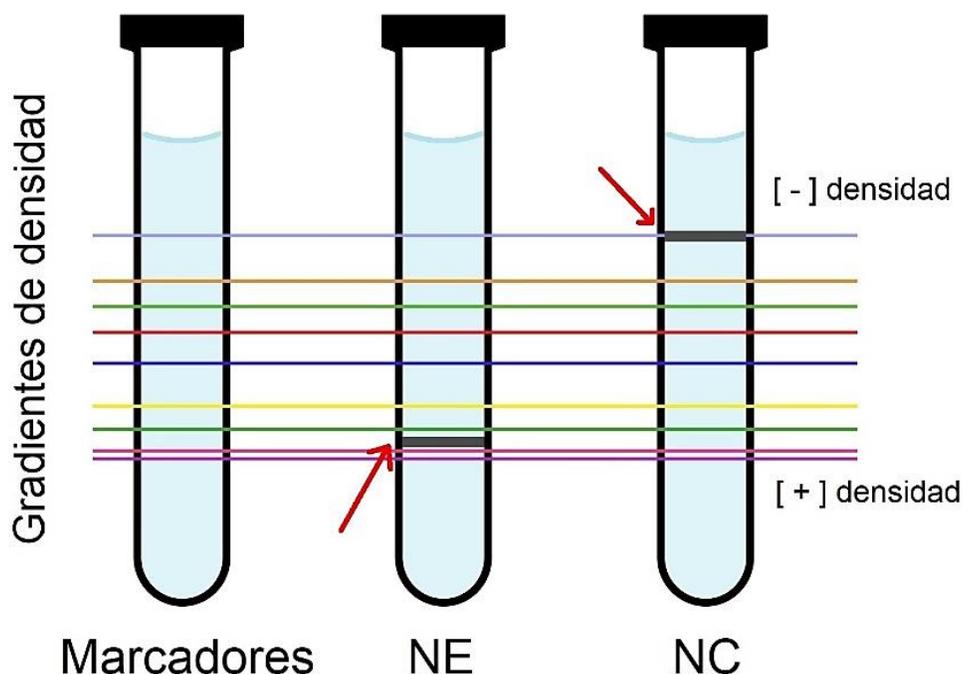


Figura VI.9. Representación esquemática de las muestras obtenidas de los sistemas nanoparticulados.

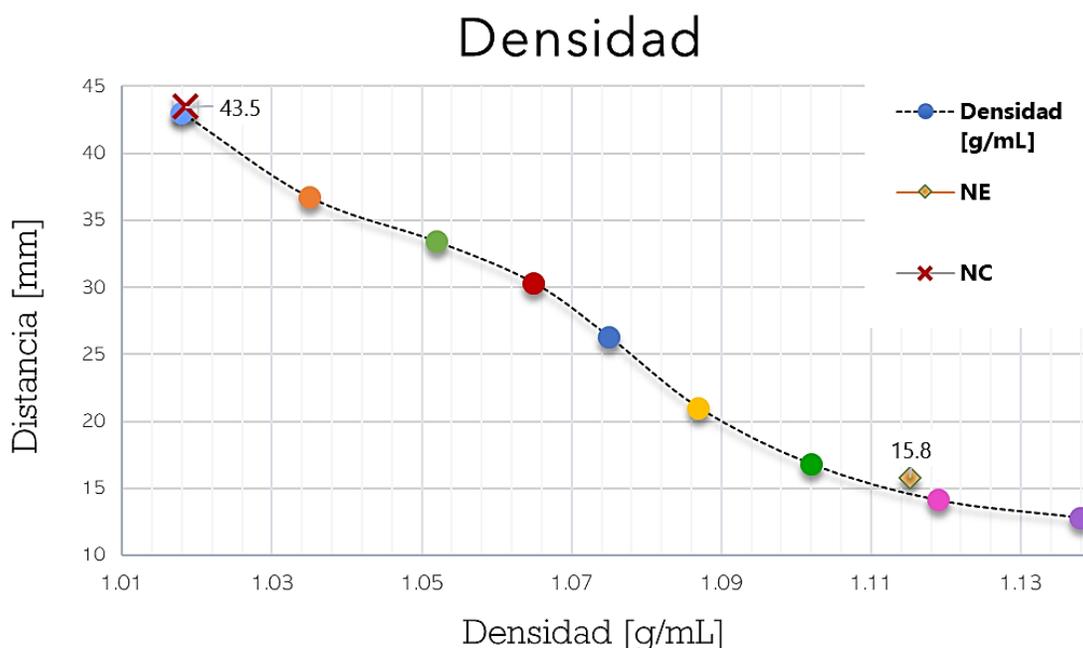




Los valores de densidad proporcionados por el fabricante de las perlas marcadoras se muestran en la Tabla VI.10, el orden de estos marcadores está relacionado con su densidad en un gradiente de percoll®. Aquellos marcadores más densos presentan una mayor distancia recorrida a partir del menisco (menor altura respecto al fondo).

Tabla VI.10. Valores de densidad del fabricante, respecto a la distancia obtenida en la experimentación (medida del fondo del tubo al centro de la banda de las perlas marcadoras).

| Densidad [g/mL] | Distancia [mm] |
|-----------------|----------------|
| 1.018           | 43.0           |
| 1.035           | 36.7           |
| 1.052           | 33.4           |
| 1.065           | 30.3           |
| 1.075           | 26.3           |
| 1.087           | 21.0           |
| 1.102           | 16.8           |
| 1.119           | 14.1           |
| 1.138           | 12.8           |



Gráfica VI.15. Relación de la altura de los marcadores en función de la densidad de las perlas marcadoras.





El tipo de gráfica que se obtuvo de la muestra de referencia evaluando las densidades proporcionadas por el fabricante con el recorrido de las bandas que se obtuvieron experimentalmente (Gráfica VI.15), está relacionado con el ángulo de inclinación del rotor de la ultracentrifugadora, experimentalmente se utilizó un rotor tipo 90Ti con un ángulo de 25°, si se examina la Figura VI.10 donde se representan las gráficas obtenidas con diferentes ángulos del rotor, se observa un parecido con la gráfica a un ángulo de 23.5°.

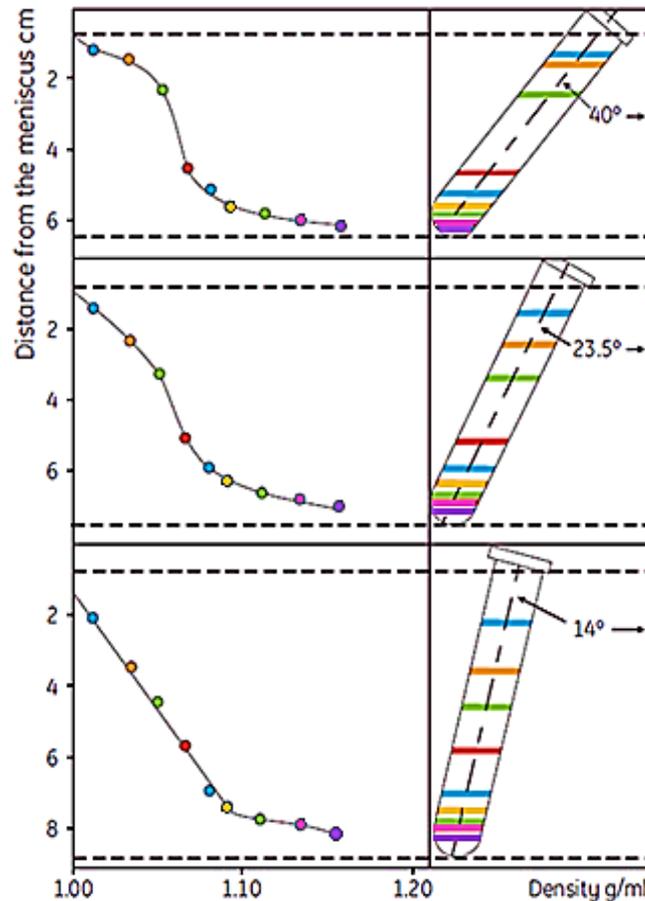
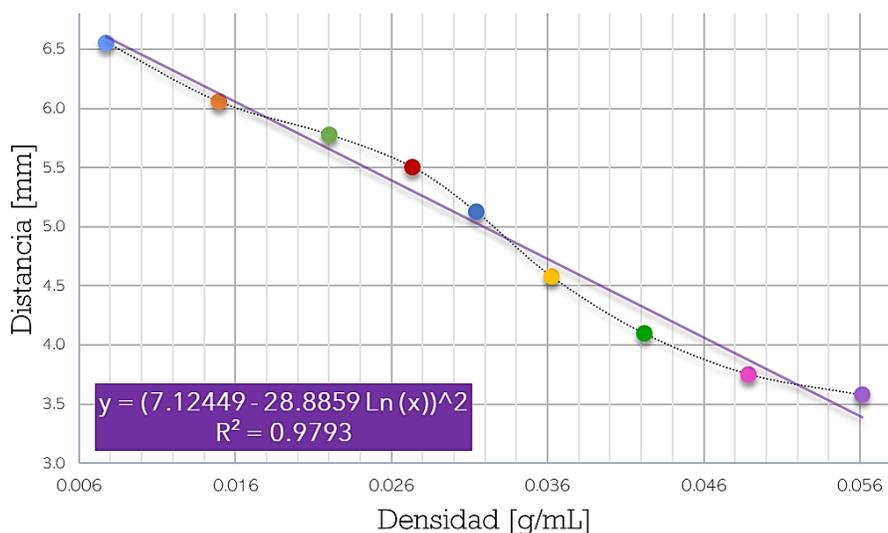


Figura VI.10. Representación esquemática de la densidad de NP's, centrifugada a diferentes ángulos (Healthcare, 2007).



## Regresión



**Gráfica VI.16. Regresión de raíz cuadrada de la distancia [mm] y log de la densidad [g/mL].**

De la Gráfica VI.15 se obtiene la Gráfica VI.16 por medio de una regresión del log de "X" y la raíz cuadrada de "Y", obtenida del software statgraphics para el análisis de datos de los marcadores en función a la densidad, esta ecuación se utilizó para obtener la densidad de las nanoesferas y las nanocápsulas de acuerdo con las medidas obtenidas en el recorrido de cada tubo de muestra después del proceso de centrifugación.

La ecuación obtenida de la gráfica es:

$$Y = (7.12449 - 28.8859 \ln x)^2$$

La ecuación se despejó para calcular la densidad de cada muestra:

$$x = e^{\frac{y^{1/2} - 7.12449}{-28.8859}}$$

Donde "X" es la densidad [g/mL] y "Y" es la distancia recorrida [mm].

$$densidad = e^{\frac{distancia^{1/2} - 7.12449}{-28.8859}}$$





Tabla VI.11. Resultados obtenidos de las NP's.

| Nanopartículas | Distancia recorrida [mm] | Densidad estimada [g/mL] |
|----------------|--------------------------|--------------------------|
| Nanoesferas    | 15.8                     | 1.115                    |
| Nanocápsulas   | 43.5                     | 1.018                    |

Las nanoesferas obtenidas en la experimentación presentaron una densidad de 1.115g/mL, estas son más densas que las nanocápsulas debido a su estructura compacta compuesta únicamente de policaprolactona y resveratrol, mientras que las nanocápsulas son menos densas, ya que cuentan con un núcleo oleoso de labrafac™ rodeado de una membrana de policaprolactona lo que permite que el sistema flote a la parte superior del tubo, la densidad obtenida de las nanocápsulas es de 1.018g/mL como se muestra en la Tabla VI.11, la densidad de las partículas también se relaciona a los componentes que las conforman, la policaprolactona posee una densidad de 1.145g/mL y el labrafac™ de 0.940g/mL.

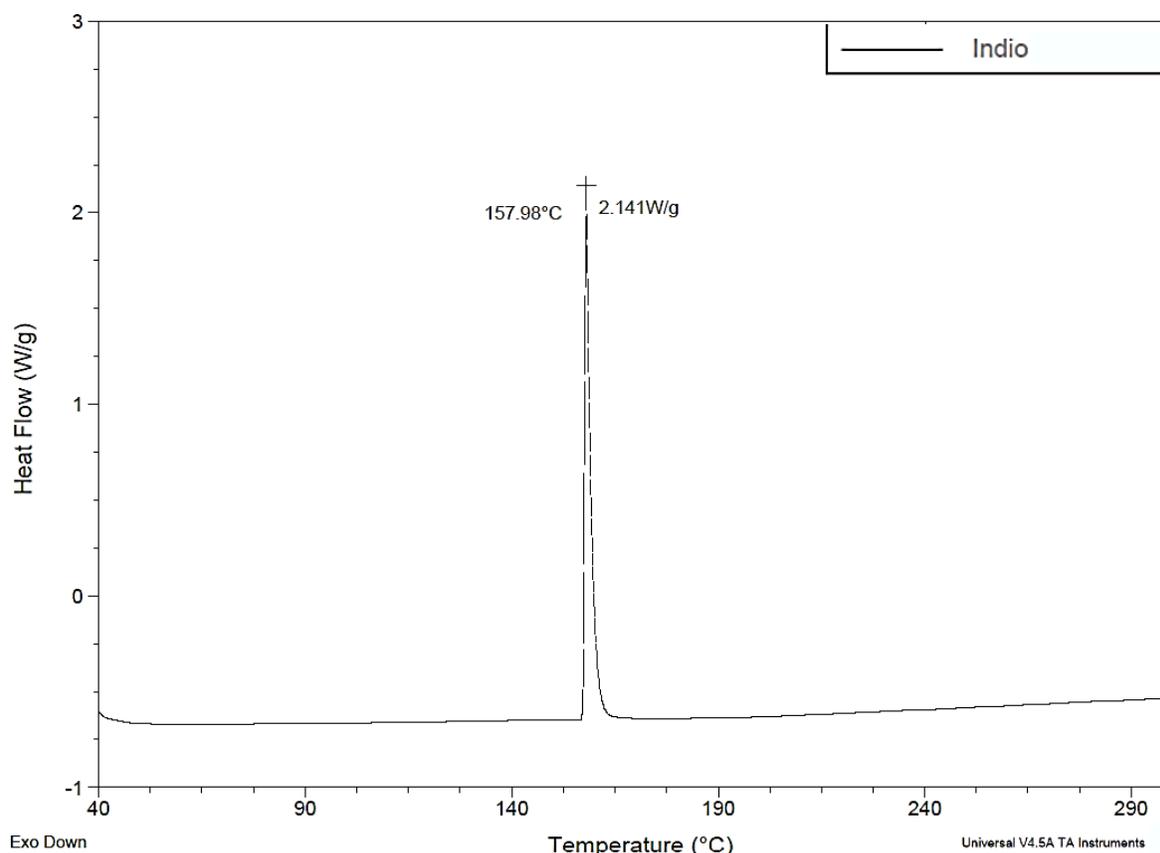
Los resultados de esta prueba permiten afirmar que las nanopartículas obtenidas poseen la estructura esperada; matricial para las nanoesferas y vesicular para las nanocápsulas.

### 6.9.3. Calorimetría diferencial de barrido.

#### 6.9.3.1. *Calibración del calorímetro diferencial de barrido*

El calorímetro diferencial de barrido debe ser calibrado con el fin de obtener valores experimentales confiables. Para realizar esta calibración se utiliza un material estándar, el cual cumple con las siguientes características: alta pureza, bastante estable (valores conocidos de temperatura y entalpía de fusión), no higroscópico, no volátil, con una presentación adecuada para la medición y fisiológicamente inofensivo (estabilidad química durante la transición y baja presión de vapor) (López Ortega, 2016), generalmente se utilizan metales de alta pureza como el indio con un punto de fusión de 150° a 160°C (Gráfica VI.17).





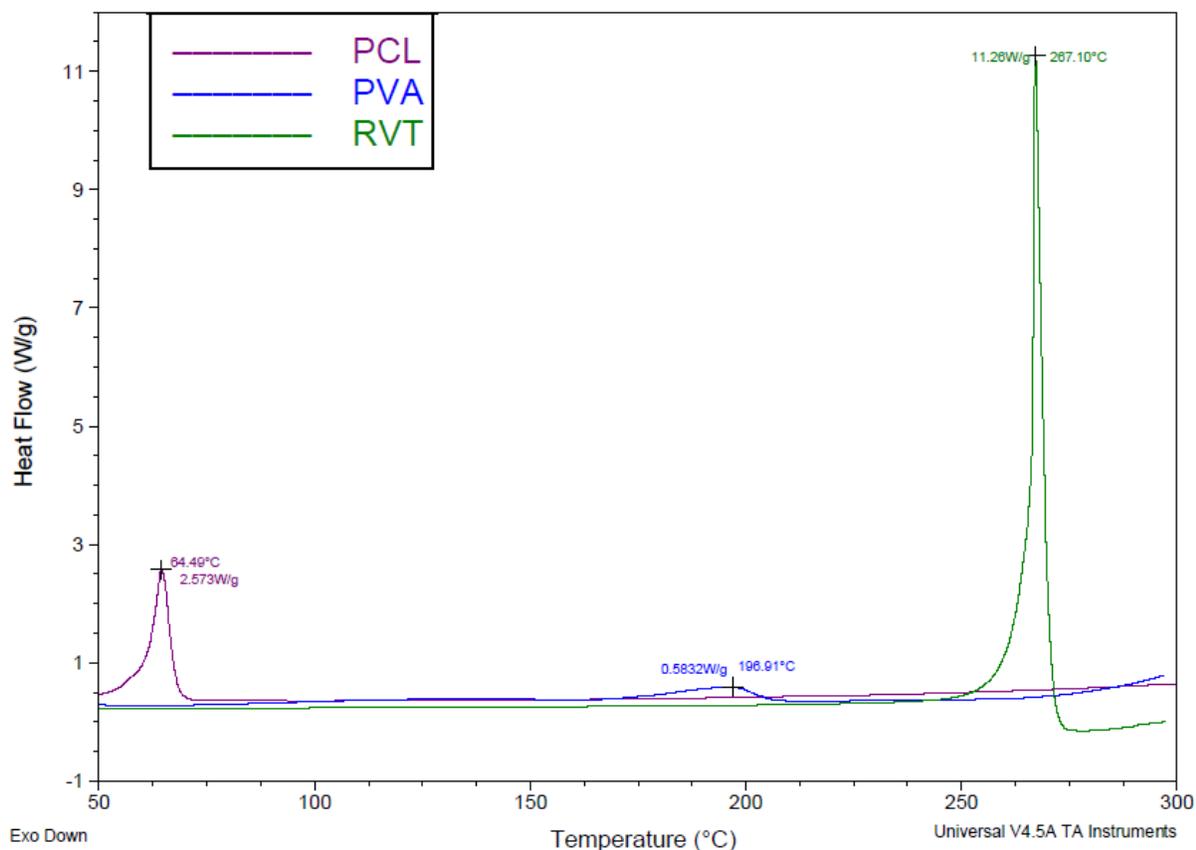
**Gráfica VI.17. Termograma obtenido experimentalmente de la muestra de indio de alta pureza como compuesto de referencia.**

Para impedir que la muestra se proyecte fuera de la celda debido a los cambios de temperatura o descomposición de la muestra, se hace uso de celdas de aluminio selladas herméticamente. Para eliminar el efecto que tiene la celda de aluminio en los termogramas se realiza la obtención de la línea base de dos celdas de aluminio vacías (Rodríguez Palomo, 2015).



### 6.9.3.2. Calorimetría diferencial de barrido de las muestras.

La temperatura o punto de fusión de una sustancia se define como la temperatura en la cual esta se encuentra completamente fundida. Es una propiedad intrínseca<sup>34</sup> de las sustancias, la cual es utilizada, junto a otros ensayos, para la confirmación de identidad de la muestra.



Gráfica VI.18. Termograma experimental del resveratrol (RVT), policaprolactona (PCL) y alcohol polivinílico (PVA).

Se realizó la calorimetría diferencial de barrido del resveratrol y de los materiales utilizados en la preparación de nanocápsulas y nanoesferas (policaprolactona y alcohol polivinílico), el termograma de estos compuestos se muestran en la Gráfica VI.18, si se observan los picos

<sup>34</sup> Propiedad intrínseca: Cualidad esencial al tipo y forma de la materia, dependen de la composición y estructura química de la sustancia. Permiten identificar y diferenciar unas sustancias de otras.



de temperatura en la Figura I.44 y la Figura I.45 y tomando en cuenta la orientación de la curva en este caso siendo “Exo Down”, nos aseguramos que los picos de temperatura mostrados en el termograma obtenido pertenecen al flujo de calor endotérmico, siendo estos la temperatura de fusión de la muestra.

Al comparar los datos del punto de fusión teórico con el punto de fusión obtenido experimentalmente en la Tabla VI.12 se observan valores muy similares debido a la posible diferencia de pureza entre los materiales utilizados en la experimentación con los reportados en la literatura por presencia de impurezas que disminuyen el punto de fusión y hacen que la muestra funda en un intervalo mayor de temperatura.

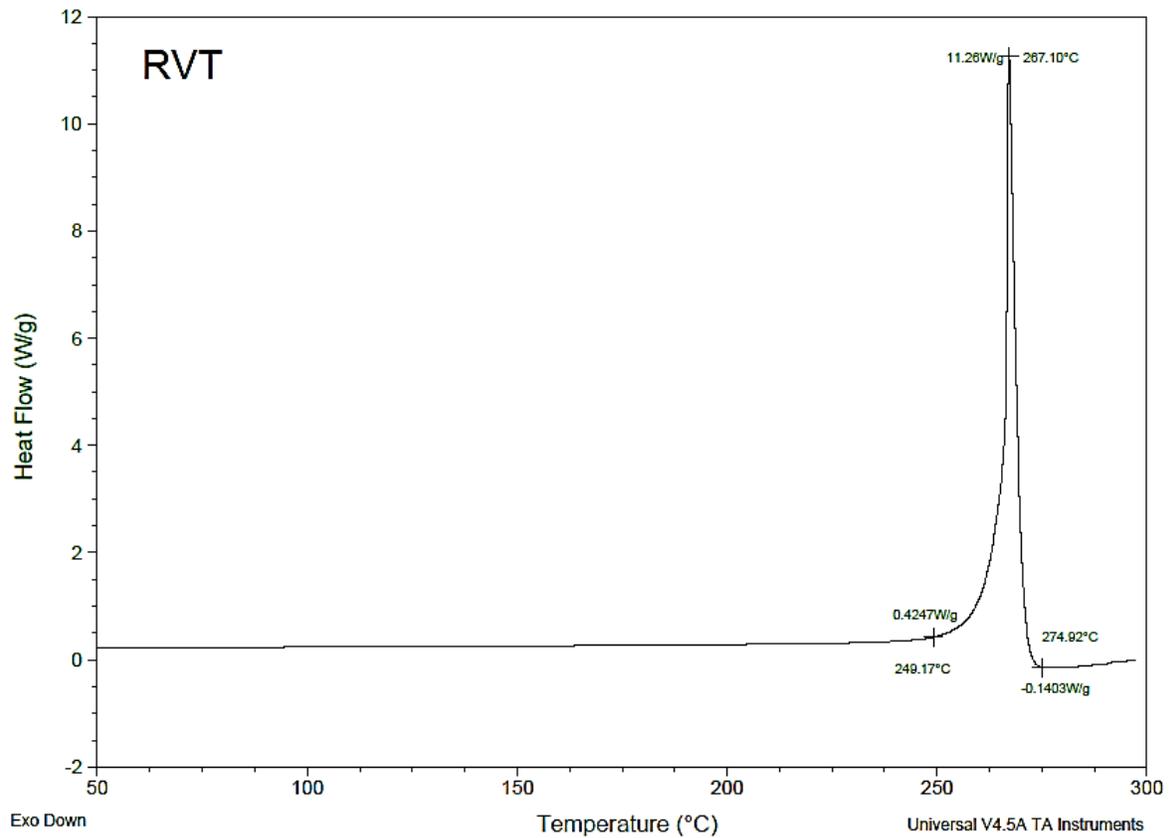
Tabla VI.12. Puntos de fusión del principio activo y excipientes.

| MUESTRA | P. FUSIÓN TEÓRICO [°C] | P. FUSIÓN EXPERIMENTAL [°C] |
|---------|------------------------|-----------------------------|
| RVT     | 254.00                 | 267.10                      |
| PCL     | 60.00                  | 64.49                       |
| PVA     | 200.00                 | 196.91                      |

Para comprobar el estado físico del resveratrol en las nanopartículas se realizó una prueba de calorimetría diferencial de barrido al resveratrol, a las nanopartículas cargadas con resveratrol y a las nanopartículas sin cargar.

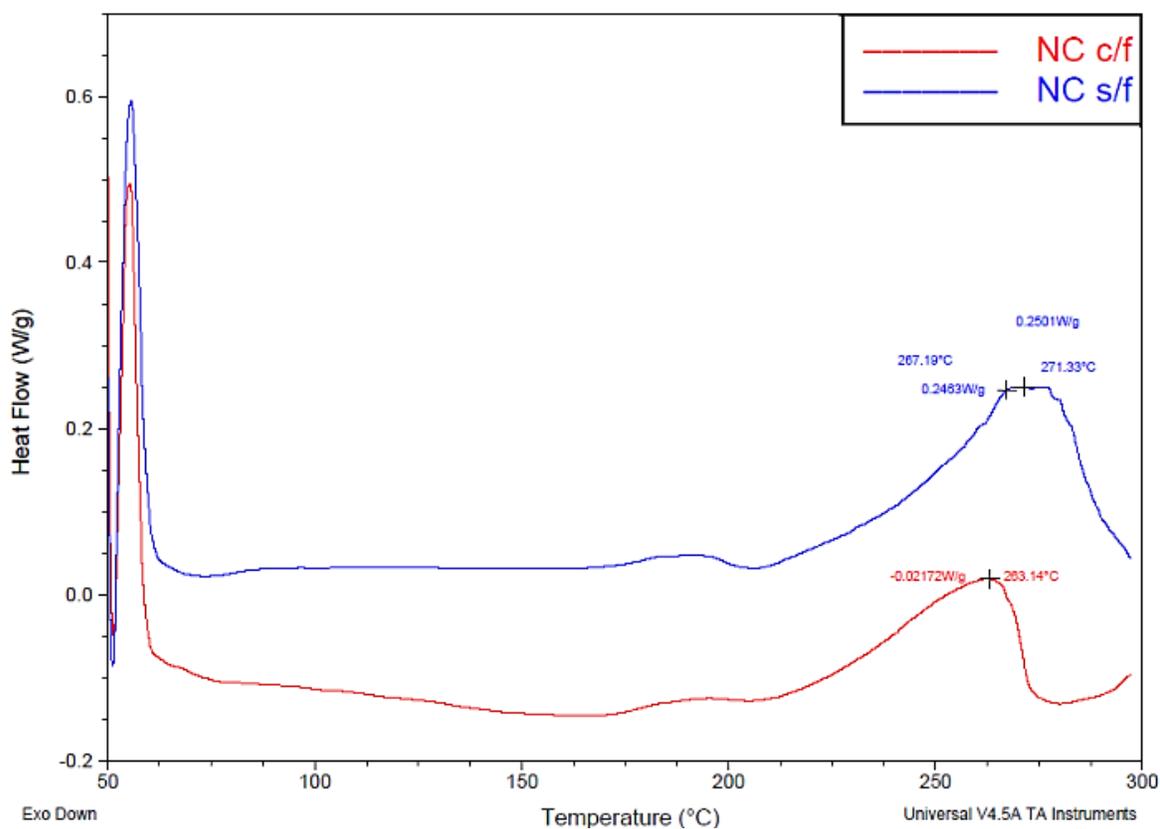
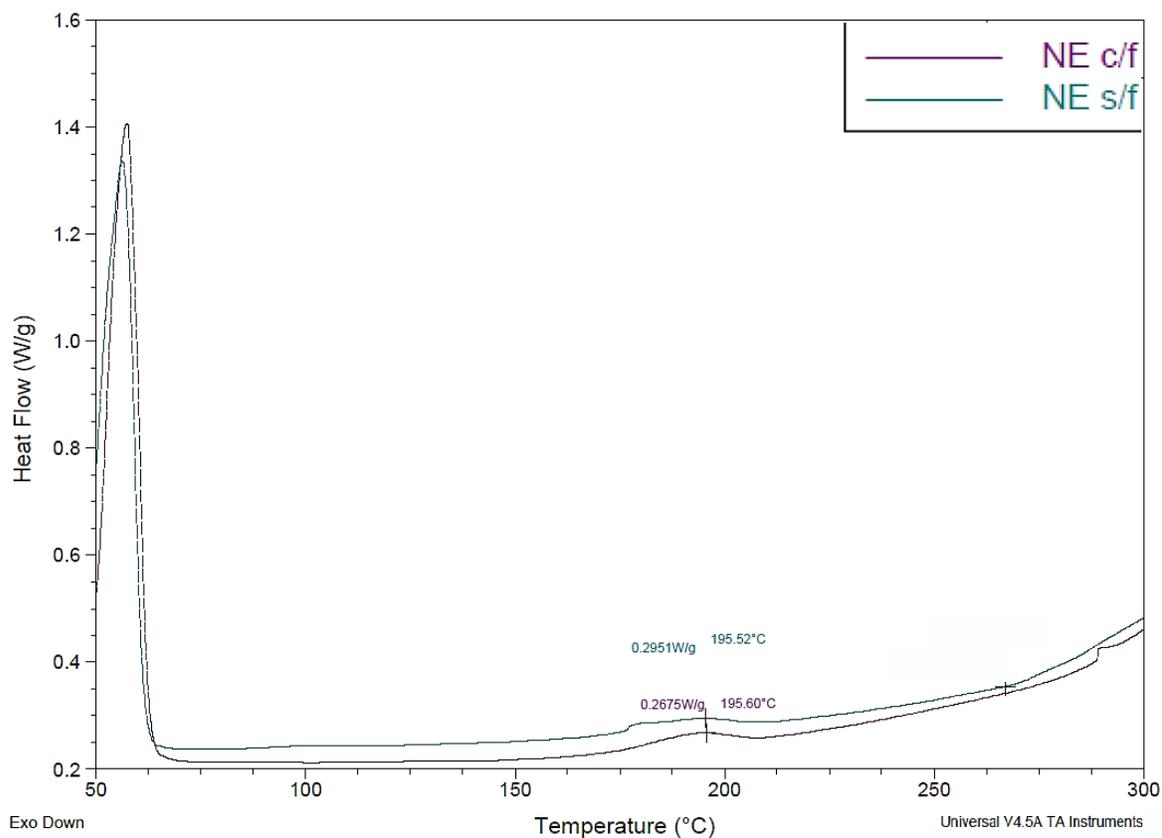
Gutiérrez Ramírez (2013) sugiere en su trabajo que al no evidenciarse el punto de fusión del fármaco en el termograma de la mezcla nanoparticulada, este se encuentra dispersado molecularmente dentro de la nanopartícula. Una explicación similar es mostrada en el trabajo de Piñón Segundo (2008) donde menciona que el pico del fármaco no es detectado en los lotes de NP's cargadas, indicando que la ausencia de la señal de compuestos cristalinos confirma que el fármaco se encuentra disperso a nivel molecular o se encuentra en un estado amorfo o como fase cristalina desordenada de una dispersión molecular o de una disolución en estado sólido dentro de la matriz molecular.





Gráfica VI.19. Termograma obtenido experimentalmente del resveratrol.

En la Gráfica VI.19 se observa el termograma del resveratrol donde presenta un pico endotérmico a una temperatura de 267.10 °C.



Gráfica VI.20. Termograma comparativo entre las NE's y NC's (c/f=con fármaco, s/f= sin fármaco).



En cuanto a los sistemas nanoparticulados, basándose en la información encontrada en la literatura, el pico del resveratrol desaparece en los termogramas observados en la Gráfica VI.20, señalando la ausencia de señales de compuestos cristalinos, lo que confirma el entrapamiento o la encapsulación del resveratrol en las formulaciones, sugiriendo que el resveratrol se encuentra disperso a nivel molecular o bien, que puede encontrarse dentro de la matriz molecular.

#### 6.9.4. Porcentaje de entrapamiento o encapsulación.

El porcentaje de entrapamiento o encapsulación se correlaciona con la cantidad del principio activo dentro de las nanopartículas, por esto que la naturaleza del fármaco juega un papel importante, en las nanoesferas este es entrapado en la fase dispersa u orgánica y en las nanocápsulas su encapsulación depende de la solubilidad del principio activo en el aceite seleccionado (Hernández Salgado, 2015).

Tabla VI.13. Porcentaje del resveratrol en NE's y NC's.

| SISTEMA      | % Entrapamiento/Encapsulación $\pm$ DE |
|--------------|--|
| Nanoesferas  | 50 $\pm$ 0.007                         |
| Nanocápsulas | 33 $\pm$ 0.006                         |

En la Tabla VI.13 se observa que el porcentaje de eficiencia de entrapamiento/encapsulación es mayor en las nanoesferas comparando con las nanocápsulas, dando un valor de 50% y 33% respectivamente.

Para las nanoesferas el resveratrol, al ser un compuesto lipofílico, su solubilidad es mayor en la fase dispersa, lo que ayuda a que presente un mejor porcentaje de entrapamiento; en el caso de las nanocápsulas depende de su solubilidad en labrafac™, si se toma en cuenta que su solubilidad máxima es de 0.55mg RVT/mL labrafac™, se deduce que al adicionar 0.4mg de RVT y 0.5mL de labrafac™ únicamente se solubilizaron aproximadamente 0.28mg de RVT, indicando la pérdida de una cantidad significativa del resveratrol al momento de la emulsificación o incluso en el proceso de difusión del disolvente.



## 6.10. Recopilación de los resultados

Tabla VI.14. Resultados de la caracterización de nanoesferas y nanocápsulas.

| PARÁMETRO       | RESULTADO   |              |
|-----------------|-------------|--------------|
|                 | Nanoesferas | Nanocápsulas |
| TP [nm]         | 220.2       | 430.6        |
| IPD             | 0.073       | 0.122        |
| $\zeta$ [mV]    | -20.04      | -24.19       |
| Densidad [g/mL] | 1.115       | 1.018        |
| EE [%]          | 50          | 33           |

Si se analiza los resultados representados en la Tabla VI.14 se logra cumplir con la hipótesis planteada donde al obtener nanoesferas y nanocápsulas cargadas con resveratrol por el método de emulsificación-difusión, se puede determinar que las nanoesferas son el sistema con mejores propiedades en comparación a las nanocápsulas.

El tamaño de partícula de las nanoesferas de 220.2nm respecto al tamaño de las nanocápsulas, beneficia su transporte por el organismo, así mismo la obtención de este tamaño de partícula es confiable debido a su índice de polidispersión de 0.073.

Finalmente, el porcentaje de entrapamiento de las nanoesferas es más alto que el porcentaje de encapsulación de las nanocápsulas, lo que proporciona una mayor ventaja para su uso, al proporcionar un mayor volumen de dosificación.



---

---

## VII. CONCLUSIONES

- ❖ El método de emulsificación-difusión permite la obtención tanto de nanoesferas como de nanocápsulas de resveratrol, además de ser un método con diversas ventajas como los altos rendimientos, reproducibilidad lote a lote, su fácil escalamiento y el uso de disolventes orgánicos aceptados para uso farmacéutico.
- ❖ El método de centrifugación isopícnica es ideal para la identificación cualitativa debido a la diferencia entre la densidad de las nanoesferas y las nanocápsulas por presencia del labrafac™ en su formulación, donde el fundamento de la técnica está basado principalmente en la diferencia de densidades.
- ❖ Se comprobó que la espectrofotometría UV/VIS es un método analítico práctico y confiable para la identificación y la cuantificación del resveratrol, dando resultados claros en poco tiempo, no se presentaron problemas con respecto a la formulación obtenida de las nanopartículas, por lo cual no se requirió de otro tipo de método o equipo para la cuantificación.
- ❖ En cuanto a las propiedades de las nanoesferas y las nanocápsulas, se obtienen resultados claramente comparativos, donde las nanoesferas presentan el mejor tamaño de partícula y porcentaje de entrapamiento para el resveratrol.
- ❖ Los resultados se pueden mejorar si se trabaja con variables importantes como el porcentaje de excipientes, velocidad de agitación, disolventes con mayor miscibilidad en agua o con el uso de un aceite con mejor solubilidad para el resveratrol en el caso de las nanocápsulas.





---

---

## VIII. PERSPECTIVAS

En un futuro este estudio puede contribuir con otras investigaciones como las siguientes:

- ❖ En estudios donde se pueda implementar un diseño de experimentos para encontrar la formulación ideal y posteriormente llevar a cabo estudios respecto a su dosis o forma de administración, además de estudios de estabilidad y biodisponibilidad.
- ❖ La metodología propuesta para su formulación y los resultados obtenidos se pueden mejorar a partir de este trabajo.
- ❖ Se pueden realizar estudios para comprobar la protección del resveratrol dentro de las nanopartículas, con respecto a sus limitantes como la biodisponibilidad, su isomerización o en dado caso su degradación.
- ❖ La preparación de nanoesferas y nanocápsulas, puede ser una excelente alternativa en tratamientos con resveratrol para ciertas condiciones requeridas.

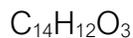




## IX. FICHAS TÉCNICAS

### Resveratrol

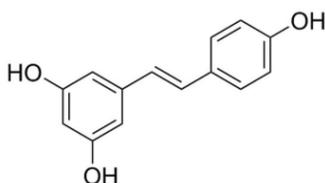
❄ Fórmula Molecular



❄ Masa Molar Molecular

228.24 g/mol

❄ Fórmula Estructural



❄ Propiedades Fisicoquímicas

- Punto de Fusión: 253-255°C
- Solubilidad: Etanol, Metanol, Dimetilsulfóxido

❄ Descripción:

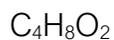
Polvo fino, blanco con olor característico.

### Acetato de Etilo

❄ Sinónimos

Etanoato de etilo. Éter acético.

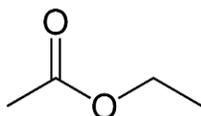
❄ Fórmula Molecular



❄ Masa Molar Molecular

88.10 g/mol

❄ Fórmula Estructural

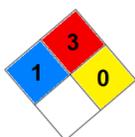




### ✧ Propiedades Fisicoquímicas

- Densidad: 0.9 g/cm<sup>3</sup>
- Punto de Fusión: -83°C
- Punto de Ebullición: 77°C
- Viscosidad: 0.45 cP a 20°C
- Solubilidad en agua: 8.7% a 20°C, miscible con acetona, con etanol al 96% y con cloruro de metileno.
- Momento dipolar: 1.88 a 25°C D
- Temperatura crítica: 250°C

### ✧ Descripción



Líquido límpido, incoloro y volátil. Se obtiene por destilación lenta de una mezcla de ácido acético, alcohol etílico y ácido sulfúrico.

### ✧ Usos

El acetato de etilo se utiliza como aromatizante y disolvente en preparaciones farmacéuticas. Se descompone lentamente en presencia de humedad, adquiriendo reacción ácida (hidrólisis a etanol y ácido acético).

## Acetonitrilo

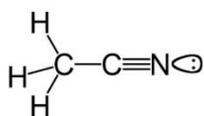
### ✧ Fórmula Molecular



### ✧ Masa Molar Molecular

41.05 g/mol

### ✧ Fórmula Estructural



### ✧ Propiedades Fisicoquímicas

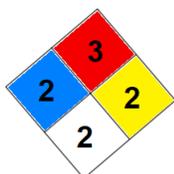
- Densidad: 0.786 g/cm<sup>3</sup>





- Punto de Fusión: -45 °C
- Punto de Ebullición: 178.9 °F a 760 mm Hg
- Solubilidad: Mayor o igual a 100 mg/mL a 72.5 °F
- Acidez: 25 pK<sub>a</sub>

#### ✧ Descripción



Líquido incoloro y cristalino de olor característico.

Químicamente, se trata de un compuesto formado por dos átomos de carbono, de los cuales uno corresponde a un metilo y el otro a un grupo ciano.

#### ✧ Usos

Su uso mayoritario es como disolvente para la industria farmacéutica. Usado también en el moldeo de productos plásticos, en el hilado de fibras y en la extracción de ácidos grasos de aceites minerales y vegetales. Otros usos incluyen la extracción de residuos químicos, por ejemplo, pesticidas, para su posterior análisis. Es utilizado en la producción de tinturas textiles y perfumes.

### Metanol

#### ✧ Sinónimos

Alcohol Metílico, Hidrato Metílico, Monohidroximetano, Carbinol, Hidróxido Metílico, Metinol, Alcohol o Espíritu de Madera.

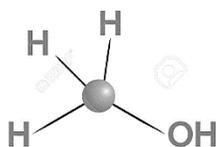
#### ✧ Fórmula Molecular

CH<sub>3</sub>OH

#### ✧ Masa Molar Molecular

32.04 g/mol

#### ✧ Fórmula Estructural





## ❄ Propiedades Fisicoquímicas

- Gravedad específica: 0.791 a 20°C
- Punto de Fusión: -97.8°C
- Punto de Ebullición: 64.5°C
- Viscosidad: 0.56cP a 20°C
- pH: Neutro
- Solubilidad: Soluble en agua, acetona, etanol, benceno, cloroformo y éter
- Momento dipolar: 1.69 D

## ❄ Descripción:



Líquido claro, incoloro de olor picante característico.

## ❄ Usos:

Es un disolvente industrial que se emplea como materia prima en la fabricación de formaldehído; se utiliza como anticongelante en vehículos, combustible de bombonas de camping-gas y disolvente de tintas. Asimismo, se usa como disolvente para la fabricación de ingredientes y productos farmacéuticos importantes, como medicamentos para el colesterol, estreptomina, vitaminas y hormonas.

**Cloruro de Sodio**❄ Sinónimos

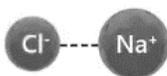
Sal de mesa, Halita, Sal de mar

❄ Fórmula Molecular

NaCl

❄ Masa Molar Molecular

58.44 g/mol

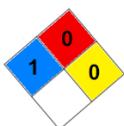
❄ Fórmula Estructural



❄ Propiedades Fisicoquímicas

- Densidad relativa: 2.165 g/cm<sup>3</sup>
- Punto de Fusión: 804°C
- Punto de Ebullición: 1,413°C
- pH: 7 neutro
- Solubilidad: en agua 360 g/L a 20°C, Soluble en glicerina y en amoniaco. Levemente soluble en alcohol etílico. Insoluble en ácido clorhídrico

❄ Descripción:



Sólido, cristales, blanco con olor leve y sabor salino

❄ Usos:

El cloruro de sodio es usado universalmente como aditivo alimentario. También se usa en la producción de papel y celulosa, en los productos de baño y en detergentes.

Antiséptico local y preservante de alimentos, se utiliza en la industria textil para fijar el color del teñido en tela. Es el antídoto natural del nitrato de plata, metabolizándolo en cloruro de plata, sustancia prácticamente atóxica que el cuerpo puede excretar con seguridad.

### Alcohol polivinílico

❄ Sinónimos

Ethenol, Homopolimero, PVA, PVAL, PVOH

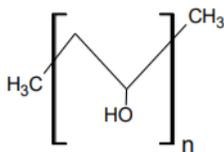
❄ Fórmula Molecular



❄ Masa Molar Molecular

44.05 g/mol

❄ Fórmula Estructural

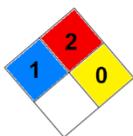




### ❄ Propiedades Fisicoquímicas

- Densidad: 1.269 g/cm<sup>3</sup>
- Punto de Fusión: 200°C

### ❄ Descripción



Sólido blanquecino con olor característico.

### ❄ Usos

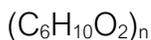
Fabricación de adhesivos, recubrimientos rehumectables (para papeles engomados que presentan la particularidad de no arquearse), industria química y farmacéutica (coloide protector, tensoactivo no iónico y agente emulsionante de polimerización, coloide protector y espesante en productos agroquímicos, espesante y auxiliar de brillo en detergentes y limpiadores), auxiliares textiles, fabricación de pinturas (espesante en pinturas y revestimientos plásticos), industria plástica (recubrimientos resistentes a los disolventes, esponjas de alta absorción, películas sopladas, desmoldante, prendas resistentes a los disolventes, por ejemplo: guantes, delantales, etc.).

## Policaprolactona

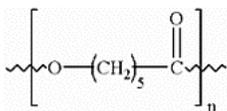
### ❄ Sinónimos

1,7-polioxepan-2-ona, homopolímero de 2-oxeapanona o polímero de 6-caprolactona.

### ❄ Fórmula Molecular



### ❄ Fórmula Estructural



### ❄ Propiedades Fisicoquímicas

A temperatura ambiente, la policaprolactona de cadena corta es amorfa y correspondientemente blanda y gomosa.





- Punto de Fusión: 58-60°C
- Solubilidad: altamente miscible y se combina bien con otros plásticos, así como con la lignina y almidón.

❄ Usos:

Encuentra aplicaciones en adhesivos, agentes compatibles y películas, así como en medicina. Los usos más comunes de policaprolactona como aditivo es en la fabricación de poliuretanos especiales. Las policaprolactonas imparten buena resistencia al agua, aceites, a los disolventes y al cloro en el poliuretano producido.

La policaprolactona a menudo es utilizada como aditivo para otros polímeros. Y al tener un bajo punto de fusión, es utilizado como un plástico capaz de ser moldeado a mano, útil para la fabricación de prototipos, reparación de piezas plásticas y confección de artesanías. También ha recibido una gran atención para su uso como un biomaterial para implantes en el cuerpo humano.

### **Aceite de Girasol**

❄ Propiedades fisicoquímicas

- Punto de fusión: 110°C
- Densidad: 0.9188 g/cm<sup>3</sup>
- Valor saponificación: 188 – 194
- Material insaponificable: 1.5 – 2%
- Viscosidad: 49.14 cP a 25°C

❄ Usos

Preparación de alimentos, suplementos, combustible.



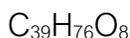


## Captex® 200

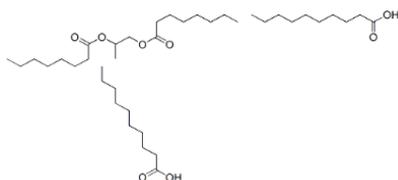
### ❄ Sinónimos

Propilenglicol, Dicaprilato / Dicaprato, ácidos grasos, C8-10, ésteres de propileno

### ❄ Fórmula Molecular



### ❄ Fórmula Estructural



### ❄ Propiedades Fisicoquímicas

- Gravedad específica: 0.92-0.96 g/cm<sup>3</sup>
- Valor ácido: 0.1 máx.
- Viscosidad: 8 a 25°C

### ❄ Descripción

Es un éster fabricado por la esterificación de ácidos grasos de coco fraccionados (principalmente caprílicos y cápricos) con propilenglicol. Está totalmente refinado y desodorizado. Es miscible con la mayoría de los disolventes orgánicos, incluido el 95% de etanol. La baja viscosidad, excelente lubricidad y el carácter relativamente no aceitoso de Captex® 200 lo hace ideal para una variedad de aplicaciones farmacéuticas, nutricionales, de cuidado personal y cosméticas.

### ❄ Usos

Potenciador de biodisponibilidad, portador, solubilizador, emoliente, lubricante, modificador de viscosidad, puede mejorar la solubilidad de los medicamentos y promover la absorción transdérmica.



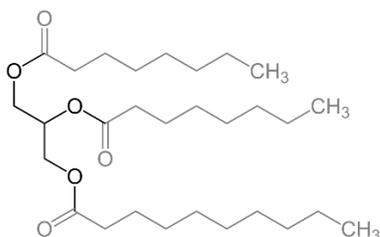


### Labrafac™ Lipophile WL 1349

✳ Sinónimos

Triglicéridos de cadena media

✳ Fórmula Estructural



✳ Propiedades Fisicoquímicas

- Viscosidad: 25 mPa.s
- Balance hidrofílico: 1

✳ Descripción

Vehículo o fase aceitosa para su uso en formulaciones de lípidos autoemulsionantes para obtener una dispersión gruesa, es decir, emulsión (SEDDS) o una dispersión fina, microemulsión (SMEDDS).

Cumple con las especificaciones pertinentes de la farmacopea para uso parenteral.

La seguridad de uso está respaldada por datos toxicológicos sustanciales y la precedencia del uso en productos farmacéuticos aprobados.

### Maisine™ 35-1

✳ Sinónimos

Glicerol/Monolinoleato de glicerilo

✳ Propiedades Fisicoquímicas

- Forma física: Líquida
- Balance hidrofílico: 1





### ✧ Descripción

Vehículo oleoso de uso en formulaciones lipídicas autoemulsionables para obtener una dispersión gruesa, es decir, una emulsión (SEDDS), o una dispersión fina, es decir, una microemulsión (SMEDDS).

El aumento de la biodisponibilidad oral se asocia posiblemente con los ácidos grasos de cadena larga presentes en su composición y la absorción selectiva de principios activos farmacéuticos muy lipofílicos por el sistema de transporte linfático.

Buen disolvente para API lipofílicos.

Su seguridad está avalada por amplias evaluaciones toxicológicas y por su utilización en productos farmacéuticos aprobados.

### **Peceol™**

#### ✧ Sinónimos

Monooleato de glicerilo (Tipo 40)

#### ✧ Fórmula Molecular

$C_{21}H_{40}O_4$

#### ✧ Propiedades Fisicoquímicas

- Densidad: 0.942 g/cm<sup>3</sup>
- Punto de Fusión: 385°C

#### ✧ Descripción:

Monooleato de glicerilo es un lípido polar que se hincha en agua para dar varias fases con distintas propiedades reológicas.

Solubilizador para APIs lipofílicos y potenciador de biodisponibilidad. Vehículo aceitoso que contiene ácidos grasos de cadena larga (C18:2) para LFCS Tipo I (aceitoso), Tipo II (SEDDS) y Tipo III (SMEDDS), asociados con la absorción linfática. Vehículo aceitoso para formulaciones tópicas. La seguridad de uso se deduce por el estado GRAS y la precedencia del uso en productos farmacéuticos aprobados.





# X. ANEXOS

## Anexo 1. Tabla de miscibilidades

**Cienytech**  
Ciencia y Tecnología

**Tabla de Miscibilidad de Disolventes**

| Disolvente              | Acido Acético | Acetato de Butilo | Acetato de Etilo | Acetona | Acetonitrilo | Agua | Benceno | n-Butanol | Ciclohexano | Cloroformo | 1,2-Dicloroetano1 | Diclorometano2 | Dimetilformamida (DMF) | Dimetilsulfóxido (DMS) | Dioxano | Etol | Eter Dietílico | Heptano | Hexano | Metanol | Metil-t-Butil Eter3 | Metil Etil Cetona4 | Pentano | n-Propanol | iso-Propanol5 | Di-Iso-Propil Eter | Tetracloruro de Carbono | Tetrahidrofurano (THF) | Tolueno | Tricloroetileno | Xileno |  |
|-------------------------|---------------|-------------------|------------------|---------|--------------|------|---------|-----------|-------------|------------|-------------------|----------------|------------------------|------------------------|---------|------|----------------|---------|--------|---------|---------------------|--------------------|---------|------------|---------------|--------------------|-------------------------|------------------------|---------|-----------------|--------|--|
| Acido Acético           | 100           | 1.372             | 230              | 118     | 1.26         | 6.2  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Acetato de Butilo       | 7.81          | 1.399             | 215              | 118     | 2.98         | 3.9  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Acetato de Etilo        | 8.7           | 1.372             | 260              | 77      | 0.45         | 4.4  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Acetona                 | 100           | 1.359             | 330              | 56      | 0.32         | 5.1  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Acetonitrilo            | 100           | 1.344             | 190              | 82      | 0.37         | 5.8  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Agua                    | 100           | 1.333             | 200              | 100     | 1.00         | 9.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Benceno                 | 0.18          | 1.501             | 280              | 80      | 0.65         | 2.7  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| n-Butanol               | 0.43          | 1.394             | 254              | 125     | 0.73         | 4.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Ciclohexano             | 0.01          | 1.426             | 200              | 81      | 1.00         | 0.2  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Cloroformo              | 0.815         | 1.446             | 245              | 61      | 0.57         | 4.1  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| 1,2-Dicloroetano1       | 0.81          | 1.444             | 225              | 84      | 0.79         | 3.5  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Diclorometano2          | 1.6           | 1.424             | 235              | 41      | 0.44         | 3.1  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Dimetilformamida (DMF)  | 100           | 1.431             | 268              | 155     | 0.92         | 6.4  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Dimetilsulfóxido (DMS)  | 100           | 1.478             | 268              | 189     | 2.00         | 7.2  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Dioxano                 | 100           | 1.422             | 215              | 101     | 1.54         | 4.8  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Etol                    | 100           | 1.360             | 210              | 78      | 1.20         | 5.2  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Eter Dietílico          | 6.89          | 1.353             | 220              | 35      | 0.32         | 2.8  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Heptano                 | 0.0003        | 1.387             | 200              | 98      | 0.39         | 0.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Hexano                  | 0.001         | 1.375             | 200              | 69      | 0.33         | 0.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Metanol                 | 100           | 1.329             | 205              | 65      | 0.60         | 5.1  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Metil-t-Butil Eter3     | 4.8           | 1.369             | 210              | 55      | 0.27         | 2.5  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Metil Etil Cetona4      | 24            | 1.379             | 329              | 80      | 0.45         | 4.7  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Pentano                 | 0.004         | 1.358             | 200              | 36      | 0.23         | 0.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| n-Propanol              | 100           | 1.384             | 210              | 97      | 2.27         | 4.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| iso-Propanol5           | 100           | 1.377             | 210              | 82      | 2.30         | 3.9  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Di-Iso-Propil Eter      | 0.08          | 1.466             | 263              | 77      | 0.97         | 1.6  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Tetracloruro de Carbono | 100           | 1.407             | 215              | 65      | 0.55         | 4.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Tetrahidrofurano (THF)  | 0.051         | 1.496             | 285              | 111     | 0.59         | 2.4  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Tolueno                 | 0.11          | 1.477             | 273              | 87      | 0.57         | 1.0  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |
| Tricloroetileno         | 0.018         | 1.500             | 290              | 139     | 0.61         | 2.5  |         |           |             |            |                   |                |                        |                        |         |      |                |         |        |         |                     |                    |         |            |               |                    |                         |                        |         |                 |        |  |

■ Inmiscible     Miscible

<sup>1</sup> Cloruro de Etileno  
<sup>2</sup> Cloruro de Metileno  
<sup>3</sup> Terc- Butil Metil Eter  
<sup>4</sup> 2-Butanona  
<sup>5</sup> 2-Propanol

35

## Anexo 2. Certificado de análisis para el resveratrol 99% (Jiaherb Phytochem, 2017).

<sup>35</sup> <http://www.cienytech.com/tablas/Tabla-miscibilidades-cruzada.pdf>

## CERTIFICATE OF ANALYSIS

### Resveratrol 99% Resveratrol(HPLC)

Batch No.: CMHZ-A-708450    Manufacture Date: 20170321    Expiry Date: 20200320

**General Information**

|                  |                             |                   |               |
|------------------|-----------------------------|-------------------|---------------|
| Part Used        | Root                        | Solvents Used     | Water&Ethanol |
| Botanical Source | <i>Polygonum cuspidatum</i> | Country Of Origin | China         |

| ITEMS | SPECIFICATION | METHOD | TEST RESULTS |
|-------|---------------|--------|--------------|
|-------|---------------|--------|--------------|

**Physical&Chemical Data**

|            |                |              |         |
|------------|----------------|--------------|---------|
| Color      | White          | Organoleptic | Conform |
| Odour      | characteristic | Organoleptic | Conform |
| Appearance | Fine Powder    | Organoleptic | Conform |

**Analytical Quality**

|                |                          |                          |           |
|----------------|--------------------------|--------------------------|-----------|
| Identification | Identical to R.S. sample | HPTLC                    | Identical |
| Resveratrol    | ≥99.0%                   | HPLC(on anhydrous basis) | 99.14%    |
| Sieve analysis | 100 % through 80 mesh    | USP <786>                | Conform   |
| Water(KF)      | ≤2.0 %                   | Eur.Ph.7.0 [2.5.12]      | 0.44 %    |
| Total Ash      | ≤1.0 %                   | Eur.Ph. <2.4.16>         | 0.12 %    |

**Contaminants**

|                    |                       |                        |              |
|--------------------|-----------------------|------------------------|--------------|
| Lead (Pb)          | ≤3.0 mg/kg            | Eur.Ph. <2.2.58>ICP-MS | 0.0139 mg/kg |
| Arsenic (As)       | ≤2.0 mg/kg            | Eur.Ph. <2.2.58>ICP-MS | 0.0241 mg/kg |
| Cadmium (Cd)       | ≤1.0 mg/kg            | Eur.Ph. <2.2.58>ICP-MS | <0.01 mg/kg  |
| Mercury (Hg)       | ≤0.1 mg/kg            | Eur.Ph. <2.2.58>ICP-MS | 0.0134 mg/kg |
| Solvents Residue   | Meet Eur.Ph.7.0 <5.4> | Eur.Ph. <2.4.24>       | Conform      |
| Pesticides Residue | Meet USP Requirements | USP36 <561>            | Conform      |

**Microbiological**

|                   |              |              |          |
|-------------------|--------------|--------------|----------|
| Total Plate Count | ≤10000 cfu/g | USP36 <2021> | 10 cfu/g |
| Yeast &Mold       | ≤1000 cfu/g  | USP36 <2021> | 10 cfu/g |
| E.Coli.           | Negative     | USP36 <2022> | Conform  |
| Salmonella        | Negative     | USP36 <2022> | Conform  |

**General Status**

|                 |      |                   |     |
|-----------------|------|-------------------|-----|
| Non-Irradiation | ≤700 | EN13751:2002<PSL> | 511 |
|-----------------|------|-------------------|-----|

**Packing&Storage**

Packed in paper-drums and two plastic-bags inside.

N.W:25kgs .I.D.35×H51cm;

Store in a well-closed container Away from moisture,light, oxygen.

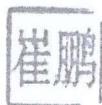
**Shelf life**

36 months under the conditions above and in its original packaging.

**Manufacturer**

Shaanxi Jiahe Phytochem Co., Ltd. Xi'an, P.R. China.

Quality Assurance Officer



Corrector



Analyst



No: STP-QCP-&lt;2&gt; (228)

**MATERIAL SAFETY DATA SHEET**

## Resveratrol

Page 1

Shaanxi Jiahe Phytochem Co.,Ltd.  
A-6th floor, No.66 Jinye 1st Road,  
Xi'an, China 710077Printed: 08/17/2005  
Revision: 08/17/2005  
Supersedes Revision: 07/02/1998  
Date Created: 02/09/1998**1. Product and Company Identification**

**Product Code:**  
**Product Name:** Resveratrol  
**Manufacturer Information**  
**Company Name:** Shaanxi Jiahe Phytochem Co.,Ltd.  
**Emergency Contact:** Shaanxi Jiahe Phytochem Co.,Ltd. 0086-29-88338760  
**Information:** Shaanxi Jiahe Phytochem Co.,Ltd.  
**Chemical Family:** No data.  
**CAS Number:** 501-36-0  
**Synonyms:** Resveratrol

**2. Composition/Information on Ingredients**

| Hazardous Components (Chemical Name) | CAS #    | Percentage | OSHA PEL | ACGIH TLV | Other Limits |
|--------------------------------------|----------|------------|----------|-----------|--------------|
| Resveratrol                          | 501-36-0 | 98%        | No data. | No data.  | No data.     |

**3. Hazards Identification**

**Emergency Overview:** No data available.  
**Route(s) of Entry:** Inhalation? Yes Skin? Yes Eyes? Yes Ingestion? Yes Other: Injection  
**Potential Health Effects (Acute and Chronic):** Material may be irritating to the mucous membranes and upper respiratory tract. May be harmful by inhalation, ingestion, or skin absorption. May cause eye, skin, or respiratory system irritation. The toxicological properties of this compound have not been fully evaluated.  
**Signs and Symptoms Of Exposure:** No data available.

**4. First Aid Measures**

**Emergency and First Aid Procedures:** If inhaled remove to fresh air. If not breathing, give artificial respiration or give oxygen by trained personnel. Get immediate medical attention. If swallowed, wash out mouth with water provided person is conscious. Never give anything by mouth to an unconscious person. Get medical attention. Do NOT induce vomiting unless directed to do so by medical personnel. In case of contact with eyes, hold eyelids apart and flush eyes with plenty of water. After initial flushings, remove any contact lenses and continue flushing for at least 20 minutes. Have eyes examined and tested by medical personnel. In case of skin contact, immediately wash skin with soap and plenty of water. Remove contaminated clothing. Get medical attention if symptoms occur. Wash clothing before reuse.

**5. Fire Fighting Measures**

**Flash Pt:** No data.  
**Explosive Limits:** LEL: No data. UEL: No data.  
**Autoignition Pt:** No data.  
**Fire Fighting Instructions:** As in any fire, wear self-contained breathing apparatus pressure-demand (MSHA/NIOSH approved or equivalent), and full protective gear to prevent contact with skin and eyes.  
**Flammable Properties and Hazards:** Emits toxic fumes under fire conditions.  
**Extinguishing Media:** Use alcohol foam, carbon dioxide, or water spray when fighting fires involving this material.  
**Unsuitable Extinguishing Media:** No data available.

**6. Accidental Release Measures**

**Steps To Be Taken In Case Material Is Released Or Spilled:** Wear a NIOSH/MSHA approved self-contained breathing apparatus and appropriate personal protection (rubber boots, safety goggles, and heavy rubber gloves). Vacuum or sweep up material and place in disposal container. Avoid raising dust. After removal, ventilate contaminated area and flush thoroughly with water.



## MATERIAL SAFETY DATA SHEET

Resveratrol

Page 2

Printed: 08/17/2005  
Revision: 08/17/2005  
Supercedes Revision: 07/02/1998

### 7. Handling and Storage

|   |   |
|---|---|
| <b>Hazard Label Information:</b>            | Avoid contact with skin and eyes. Do not reuse this container. Use with adequate ventilation. Wash thoroughly after handling.   |
| <b>Precautions To Be Taken in Handling:</b> | Avoid breathing (dust, vapor, mist, gas).<br>Avoid contact with eyes, skin, and clothing.<br>Avoid prolonged or repeated exposure.<br>Do not reuse this container.<br>Use with adequate ventilation.<br>Wash thoroughly after handling. |
| <b>Precautions To Be Taken in Storing:</b>  | Keep tightly closed.<br>Store at correct temperature.   |

### 8. Exposure Controls/Personal Protection

|   |  |
|---|--|
| <b>Protective Equipment Summary – Hazard Label Information:</b> | Eye wash station in work area    Lab coat    Latex disposable gloves    Safety glasses<br>Safety shower in work area    Vent Hood  |
| <b>Respiratory Equipment (Specify Type):</b>                    | No data available.   |
| <b>Eye Protection:</b>  | Safety glasses   |
| <b>Protective Gloves:</b>                                       | Latex disposable gloves  |
| <b>Other Protective Clothing:</b>                               | Lab coat   |
| <b>Engineering Controls (Ventilation etc.):</b>                 | Use process enclosures, local exhaust ventilation, or other engineering controls to control airborne levels below recommended exposure limits.                               |
| <b>Work/Hygienic/Maintenance Practices:</b>                     | Do not take internally.<br>Facilities storing or utilizing this material should be equipped with an eyewash facility and a safety shower.<br>Wash thoroughly after handling. |

### 9. Physical and Chemical Properties

|   |   |
|---|---|
| <b>Physical States:</b>                       | [ ] Gas    [ ] Liquid    [X] Solid          |
| <b>Melting Point:</b>                         | 253-255°C                                   |
| <b>Boiling Point:</b>                         | No data.                                    |
| <b>Autoignition Pt:</b>                       | No data.                                    |
| <b>Flash Pt:</b>                              | No data.                                    |
| <b>Explosive Limits:</b>                      | LEL: No data. UEL: No data.                 |
| <b>Specific Gravity (Water = 1):</b>          | No data.                                    |
| <b>Vapor Pressure (vs. Air or mm Hg):</b>     | No data.                                    |
| <b>Vapor Density (vs. Air = 1):</b>           | No data.                                    |
| <b>Evaporation Rate (vs Butyl Acetate=1):</b> | No data.                                    |
| <b>Solubility in Water:</b>                   | > 100 ug/ml at 25.0 C                       |
| <b>Other Solubility Notes:</b>                | EtOH, DMSO, MeOH                            |
| <b>Percent Volatile:</b>                      | N.A.  |
| <b>Corrosion Rate:</b>                        | No data.                                    |
| <b>Formula:</b>                               | C14H12O3                                    |
| <b>Molecular Weight:</b>                      | 228.24                                      |
| <b>pH:</b>                                    | No data.                                    |
| <b>Appearance and Odor:</b>                   | WHITE    Fine Powder    Characteristic Odor |

### 10. Stability and Reactivity

|  |                                   |
|--|-----------------------------------|
| <b>Stability:</b>                                      | Unstable [ ] Stable [X]           |
| <b>Conditions To Avoid - Instability:</b>              | protect from moisture             |
| <b>Incompatibility - Materials To Avoid:</b>           | strong oxidizing agents           |
| <b>Hazardous Decomposition Or Byproducts:</b>          | carbon dioxide    carbon monoxide |
| <b>Hazardous Polymerization:</b>                       | Will occur [ ] Will not occur [X] |
| <b>Conditions To Avoid - Hazardous Polymerization:</b> | No data available.                |



**MATERIAL SAFETY DATA SHEET**  
Resveratrol

Page 3

Printed: 08/17/2005  
Revision: 08/17/2005  
Supersedes Revision: 07/02/1998

**Toxicological Information:**  
**Carcinogenicity/Other Information:**  
**Carcinogenicity:**

**11. Toxicological Information**

The toxicological effects of this compound have not been thoroughly studied.  
No data available.  
NTP? No IARC Monographs? No OSHA Regulated? No

**Ecological Information:**

**12. Ecological Information**

Runoff from fire control or dilution water may cause pollution.

**Waste Disposal Method:**

**13. Disposal Considerations**

Dispose in accordance with local, state and federal regulations.

**LAND TRANSPORT (US DOT)**

**DOT Proper Shipping Name:**

**Additional Transport Information:**

**14. Transport Information**

No data available.  
Transport in accordance with local, state, and federal regulations.

**US EPA SARA Title III**

**Hazardous Components (Chemical Name)**

Resveratrol

**US EPA CAA, CWA, TSCA**

**Hazardous Components (Chemical Name)**

Resveratrol

**Salicin (Superfund Amendments and Reauthorization Act of 1986) Lists:**

**Sec.302:**

**Sec.304:**

**Sec.313:**

**Sec.110:**

**TSCA (Toxic Substances Control Act) Lists:**

**5A(2):**

**6A:**

**8A:**

**8A CAIR:**

**8A PAIR:**

**8C:**

**8D:**

**8D TERM:**

**Other Important Lists:**

**CWA NPDES:**

**CAA HAP:**

**CAA ODC:**

**CA PROP 65:**

| CAS #    | Sec.302 (EHS) | Sec.304 RQ | Sec.313 (TRI) | Sec.110 |
|----------|---------------|------------|---------------|---------|
| 501-36-0 | No            | No         | No            | No      |

| CAS #    | EPA CAA | EPA CWA NPDES | EPA TSCA | CA PROP 65 |
|----------|---------|---------------|----------|------------|
| 501-36-0 | No      | No            | No       | No         |

EPA SARA Title III Section 302 Extremely Hazardous Chemical with TPQ. \* indicates 10000 LB TPQ if not volatile.  
EPA SARA Title III Section 304: CERCLA Reportable + Sec.302 with Reportable Quantity. \*\* indicates statutory RQ.  
EPA SARA Title III Section 313 Toxic Release Inventory. Note: -Cat indicates a member of a chemical category.  
EPA SARA 110 Superfund Site Priority Contaminant List

Chemical Subject to Significant New Rules (SNURS)  
Commercial Chemical Control Rules  
Toxic Substances Subject To Information Rules on Production  
Comprehensive Assessment Information Rules - (CAIR)  
Preliminary Assessment Information Rules - (PAIR)  
Records of Allegations of Significant Adverse Reactions  
Health and Safety Data Reporting Rules  
Health and Safety Data Reporting Rule Terminations

EPA Clean Water Act NPDES Permit Chemical  
EPA Clean Air Act Hazardous Air Pollutant  
EPA Clean Air Act Ozone Depleting Chemical (1=CFC, 2=HCFC)  
California Proposition 65

**16. Other Information**

**Additional Information About This Product:**  
**Company Policy or Disclaimer**

For Function food, Pharmaceutical, Beverage, Cosmetic industry use.

For Function food, Pharmaceutical, Beverage, Cosmetic industry use.  
DISCLAIMER: This information is believed to be accurate and represents the best information currently available to us. However, we make no warranty of merchantability or any other warranty, express or implied, with respect to such information, and we assume no liability resulting from its use. Users should make their own investigations to determine the suitability of the information for their particular purposes.



## XI. REFERENCIAS

- Aguirre Pineda, K. L. (2005). *Formación de películas de uso farmacéutico a partir de nanocápsulas*. Tesis de licenciatura, UNAM, FES Cuautitlán, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000344924](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000344924)
- Alcalá Alcalá, S. (2014). *Infiltración de nanopartículas poliméricas biodegradables en vehículos biodegradables porosos para el control de la liberación de péptidos y proteínas*. Tesis de doctorado, UNAM, Programa de Posgrado en Ciencias Químicas, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000714427](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000714427)
- Amri, A., Chaumeil, J., Sfar, S., & Charrueau, C. (2012). Administration of resveratrol: What formulation solutions to bioavailability limitations? *J Controlled Release*, 158(2), 182–193. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.083>
- Andino, W. (2015). *Politetrafluoroetileno*. Slideplayer. Obtenido de <https://slideplayer.es/slide/1661278/>
- Billmeyer, F. W. (1975). *Ciencia de los polímeros*. New York: Reverté. Obtenido de <https://bit.ly/2OH1Jgr>
- Castillo Rodríguez, F. (2012). *Introducción a los nanomateriales*. Lecturas de Ingeniería 20, UNAM, Departamento de Ingeniería, México. Obtenido de <https://bit.ly/3q0GKT5>
- Cazar Ramírez, M. E. (2020). Análisis cuantitativo por espectroscopía UV-VIS. Ecuador. Obtenido de <https://bit.ly/3Q1VldM>
- Centrifugación*. (s.f.). Obtenido de <https://centrifugacion.org/tipos-de-centrifugacion/isopicnica/>
- CFATA-UNAM. (2019). *Laboratorios CFATA*. Obtenido de <http://www.fata.unam.mx/laboratorios/>
- Chandra K., S. (2015). Resveratrol and cancer: Challenges for clinical translation. *Biochim Biophys Acta, Mol Basis Dis*, 1852(6), 1178-1185. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.11.004>





- Chávez, F., Olvera, B. I., Ganem, A., & Quintanar, D. (2002). Liberación de sustancias lipofílicas a partir de nanocápsulas poliméricas. *Rev Soc Quim Mex*, 46(4), 349-356. Obtenido de <https://bit.ly/34abhUG>
- Checa Rojas, A. (2021). *Metabolismo de fármacos*. Obtenido de <https://bit.ly/3hSEPPw>
- Chemical Book;. (2022). *Resveratrol*. Obtenido de <https://bit.ly/3NsZgjA>
- Chen, Y., & Hong, C. (2018). A review of recent progress in drug and protein encapsulation: Approaches, applications and challenges. *Mater Sci Eng, C*, 83(1), 233-246. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.10.003>
- CNQFBM, A. (Ed.). (2002). *Guía de Validación de Métodos Analíticos*. 43.
- Contreras Ortiz , D. I. (2015). *Desarrollo y evaluación de nanocápsulas cargadas de ketoconazol con sistemas automicroemulsificables*. Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000738033](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000738033)
- Cornejo, L. (2015). *Nuevas Tecnologías y Materiales. Causas que motivan las diferentes propiedades de las nanopartículas*. Obtenido de <https://bit.ly/3xoKapx>
- Crucho, C. I. (2017). Polymeric nanoparticles: A study on the preparation variables and characterization methods. *Mater Sci Eng, C*, 80(1), 771-784. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.06.004>
- Cuéllar, J., & Ramírez, L. (2001). Producción de micropartículas poliméricas (I). Fundamentos de su fabricación por el método de suspensión. (Alción, Ed.) *Ingeniería química*(379), 193-199. doi:<https://www.researchgate.net/publication/262419529>
- Davidov Pardo, G., & McClements, D. J. (2014). Resveratrol encapsulation: Designing delivery systems to overcome solubility, stability and bioavailability issues. *Trends Food Sci Technol*, 38(2), 88-103. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.tifs.2014.05.003>
- De la Cruz Medina, M. (2010). *Preparación, caracterización y uso de nanopartículas farmacéuticas. (Investigación Bibliográfica)*. Tesis de licenciatura, UNAM, FES Cuautitlán, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000672172](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000672172)



- Díez Lorenzo, O. (2018). *Técnicas de Light Scattering para la caracterización de nanopartículas y moléculas (Zetasizer Nano Series)*. (Malvern, Editor) Obtenido de <https://bit.ly/3SzHRIg>
- DrugBank. (2021). *Resveratrol*. Obtenido de <https://www.drugbank.ca/drugs/DB02709>
- Echeverri Ulloa, J. D. (2017). *Caracterización fisicoquímica de nanosistemas poliméricos de quercetina*. Trabajo de licenciatura, Universidad ICESI Facultad de ciencias naturales, Departamento de ciencias farmacéuticas, Santiago de Cali. Obtenido de <https://bit.ly/3xikxWI>
- El Hadji Mamour Sakho, E. A. (2017). Dynamic Light Scattering (DLS). En *Thermal and Rheological Measurement Techniques for Nanomaterials Characterization. Micro and Nano Technologies* (págs. 37-49). Sudáfrica: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46139-9.00002-5>
- Escalona Rayo, O. (2017). *Desarrollo y caracterización de nanopartículas con superficie modificada como potenciales transportadores de fármacos a través de la barrera hematoencefálica*. Tesis de maestría, UNAM, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000760935](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000760935)
- Espejo Cuadrado, M. (2016). *Importancia de la calibración en los laboratorios de química analítica*. Trabajo fin de grado, Universidad de Sevilla, Facultad de farmacia, España. Obtenido de <https://bit.ly/3dTTXdO>
- Esquivel Chávez, A. (2013). *Desarrollo y caracterización de nanopartículas a base de zeína estabilizadas con pectina y B-lactoglobulina*. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Querétaro, Facultad de Química, Querétaro. doi:<http://ring.uaq.mx/handle/123456789/658>
- Eurachem. (2016). *Guía Eurachem: La adecuación al uso de los métodos analíticos. Una Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados (2° ed.)*. (E. España, Ed.) España. Obtenido de <https://bit.ly/2YDyhly>
- Flores Villaseñor, S. E. (2011). *Elaboración de nanopartículas de Poli (D,L-Láctico-co-glicólico) (PLGA) estabilizadas con la mezcla poli (alcohol vinílico)-dodecil sulfato de*



- sodio (PVA-SDS): Degradación de PLGA y liberación de fármaco durante almacenamiento. Tesis, Centro de investigación en Química Aplicada, Saltillo, Coahuila. Obtenido de <https://bit.ly/2kiRwIG>
- Fonseca, D. P., Khalil, N. M., & Mainardes, R. M. (2017). Bovine serum albumin-based nanoparticles containing resveratrol: Characterization and antioxidant activity. *J Drug Delivery Sci Technol*, 39, 147-155. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2017.03.017>
- Fulda, S. (2010). Resveratrol and derivatives for the prevention and treatment of cancer. *Drug Discovery Today*, 15(17-18), 757-765. doi:<https://doi.org/10.1016/j.drudis.2010.07.005>
- Galán Gutiérrez, V. (2013). *Encapsulación de Resveratrol en  $\beta$ -Glucanos. Aplicaciones a Productos Nutraceuticos*. Universidad de Palencia, Ingeniería Agrícola y Forestal, España. doi:<http://uvadoc.uva.es/handle/10324/3901>
- García Mateos, R., & Pérez Leal, R. (2003). Fitoalexinas: Mecanismo de defensa de las plantas. *RCHSCFA*, 9(1), 5-10. Obtenido de <https://bit.ly/3reOHab>
- García Rojas, J. (2016). *Desarrollo de Sistemas micro y nanoparticulares de liberación sostenida para la administración oral*. Trabajo fin de grado, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense. Obtenido de <https://bit.ly/2ZF6PtD>
- Garrido, M. (2015). *Estilbenos*. Obtenido de <http://estilbenos.blogspot.mx/>
- Gibaldi, M., & Perrier, D. (1982). *Pharmacokinetics* (2° ed.). (C. Press, Ed.) Michigan.
- Gómez Gaete, C. (2014). Nanopartículas Poliméricas: Tecnología y Aplicaciones Farmacéuticas. *SOFARCHI*, 7(2), 7-16. Obtenido de <https://bit.ly/3UPnXum>
- Gómez Villarraga, F. (s.f.). *Innovación y ciencia*. Obtenido de Nanopartículas metálicas y sus aplicaciones: <https://bit.ly/2Nfg8MI>
- González Hurtado, M., Rieumont Briones, J., López Goerne, T., & Castro González, L. (2014). Síntesis y caracterización de materiales nanoestructurados obtenidos por el método sol-gel, cargados con drogas antiepilépticas. *Rev Cub Quim*, 26(3), 202-214. Obtenido de <https://bit.ly/3cEyCHj>
- González, M. (2011). Coloides. Obtenido de <https://bit.ly/3aCTs8p>





- Grillo, R., Sinohara Souza, P. M., Rosa, A. H., & Fraceto, L. F. (2012). Nanopartículas poliméricas como sistemas de liberación para herbicidas. *Nanitecnologia Ciência e Engenharia*, 83-123. doi:<https://www.researchgate.net/publication/300006721>
- Gutiérrez Escamilla, C. (2005). *Potencial uso de la técnica de emulsión-difusión en la elaboración de nanocápsulas lipídicas*. Tesis de licenciatura, UNAM, FES Cuautitlán, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000609448](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000609448)
- Gutiérrez Ramírez, J. (2013). *Formación de una dispersión sólida nanoparticulada de principios activos de baja solubilidad para aumentar su velocidad de disolución*. Tesis de licenciatura, UNAM, FES Cuautitlán, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000696097](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000696097)
- Healthcare, G. (2007). Percoll Methodology and Applications. En A. Biosciences, & A. Biosciences (Ed.), *Handbook. Cell Separation Media. Methodology and applications*. (Vols. Handbook 18-1115-69, pág. 78). Obtenido de <https://bit.ly/3E2Gpd7>
- Hernández Salgado, M. (2015). *Estudio del perfil de liberación de Ibuprofeno a partir de nanocápsulas y nanoesferas obtenidas por el método de emulsión-difusión*. Tesis de licenciatura, UNAM, Facultad de Química, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000739297](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000739297)
- Hernández Valdepeña, I. (2001). *Preparación de Pseudolátices Farmacéuticos por el método de Emulsificación-Difusión*. Tesis de maestría, UNAM, FES Cuautitlán, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000303232](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000303232)
- Huang, X., Dai, Y., Cai, J., & Xiao, H. (2017). Resveratrol encapsulation in core-shell biopolymer nanoparticles: Impact on antioxidant and anticancer activities. *Food Hydrocolloids*, 64, 157-165. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.10.029>
- Huminiecki, L., & Horbańczuk, J. (2018). The functional genomic studies of resveratrol in respect to its anti-cancer effects. *Biotechnol Adv*, 36(6), 1699-1708. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.02.011>
- Infinitia Industrial Consulting. (2020). *Infinitia Industrial Consulting*. Obtenido de Potencial Zeta ¿Qué es y cuáles son sus aplicaciones?: <https://bit.ly/3T44c0P>





- Kumar, C. G., Poornachandra, Y., & Kumar Mamidyala, S. (2014). Green synthesis of bacterial gold nanoparticles conjugated to resveratrol as delivery vehicles. *Colloids Surf, B*, 123(1), 311–317. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.09.032>
- Kumar, R., Kaur, K., Uppal, S., & Mehta, S. (2017). Ultrasound processed nanoemulsion: A comparative approach between resveratrol and resveratrol cyclodextrin inclusion complex to study its binding interactions, antioxidant activity and UV light stability. *Ultrason Sonochem*, 37, 478–489. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.ultsonch.2017.02.004>
- Kumar, S., Sangwan, P., Lather, V., & Pandita, D. (2015). Biocompatible PLGA-oil hybrid nanoparticles for high loading and controlled delivery of resveratrol. *J Drug Delivery Sci Technol*, 30(Parte A), 54-62. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jddst.2015.09.016>
- Labeaga Viteri, A. (2018). *Polímeros biodegradables. Importancia y potenciales aplicaciones*. Trabajo de fin de máster, Universidad Nacional de Educación a distancia, Departamento de química inorgánica e ingeniería química. Obtenido de <https://bit.ly/3iCWObN>
- Lenntech B.V. (2022). *Potencial Zeta*. Obtenido de <https://bit.ly/2vgewtD>
- Lic. en Biotecnología. (s.f.). Práctica 1 Calorimetría diferencial de barrido. *Físico-Química de Biomoléculas*. Obtenido de <https://bit.ly/3aUDyq5>
- Livián López, A. (2018). *Nanociencia y nanotecnología en E.S.O. y bachillerato*. Trabajo de maestría, Universidad de Valladolid, España. Obtenido de <https://bit.ly/3yp8kAX>
- Llabot, J. M., Palma, S. D., & Allemandi, D. A. (2008). Nanopartículas poliméricas sólidas. *Nuestra Farmacia*(53), 40-47. doi:<https://www.researchgate.net/publication/236679562>
- Llera Rojas, V. G. (2018). *Obtención y caracterización de nanocápsulas de un fármaco modelo in situ a través de un sistema automicroemulsionable SMEDDS para la administración oral*. Tesis de doctorado, UNAM, Programa de Maestría y Doctorado en Ciencias Químicas, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000769656](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000769656)



- Llinàs, M. C., & Sánchez García, D. (2014). Nanopartículas de sílice: preparación y aplicaciones en biomedicina. *Catalanes amb Accés Obert. Afinidad: Revista de química teórica y aplicada*, 71(565), 20-31. Obtenido de <https://bit.ly/3xFvZN9>
- López Ortega, M. (2016). *Estudio termoquímico del anhídrido 3-hidroxi-ftálico*. Tesis de maestría, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de ingeniería química, Puebla. Obtenido de <https://hdl.handle.net/20.500.12371/2253>
- Lu, K. (2013). *Nanoparticulate materials: Synthesis, characterization, and processing* (1° ed.). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc. doi:<https://doi.org/10.1002/9781118408995>
- Lucas Abellán, C. (2009). *Estudio de la complejación del resveratrol por diferentes tipos de ciclodextrinas*. Tesis de doctorado, Universidad Católica San Antonio de Murcia, Departamento de Tecnología de la Alimentación y Nutrición, España. doi:<http://hdl.handle.net/10952/46>
- Malvern. (2018). *Malvern*. Obtenido de Zetasizer Nano ZS Desempeño, simplicidad, versatilidad: <https://bit.ly/3mjplA8>
- Malvern Panalytical Ltd. (2022). *Malvern Panalytical*. Obtenido de Dispersión de luz electroforética (ELS): <https://bit.ly/3roiTzY>
- Mikula Pietrasik, J., Kuczmarska, A., Rubis, B., Filas, V., Zielinski, P., & Piwocka, K. (2012). Resveratrol delays replicative senescence of human mesothelial cells via mobilization of antioxidative and DNA repair mechanisms. *Free Radical Biol Med*, 52(11-12), 2234–2245. doi:<https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.03.014>
- Minitab. (2022). *Exactitud y precisión de los sistemas de medición*. Obtenido de <https://bit.ly/3b3tV6l>
- Morilla, M. J. (s.f.). *Técnicas de determinación de tamaño y potencial Z*. Obtenido de <https://bit.ly/3Sv0wFb>
- Ochoa Sánchez, S. (2018). *Sistema de clasificación biofarmacéutica en la solicitud de una bioexención*. Trabajo fin de grado, Universidad Complutense, Facultad de Farmacia, Madrid. Obtenido de <https://bit.ly/3x0A1fb>



- Peredo Luna, H., & Jiménez Munguía, M. (2012). Mecanismos de inestabilidad y métodos de estabilización de emulsiones. *Rev Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 122-130. Obtenido de <https://bit.ly/3fFYuUs>
- Pérez Ciordia, S. (2015). *Mejora de la bioaccesibilidad y estabilidad del resveratrol mediante la utilización de nanopartículas y complejos biopoliméricos*. Tesis de maestría, UPNA. doi:<https://hdl.handle.net/2454/19843>
- Pezzuto, J. M. (2019). Resveratrol: Twenty Years of Growth, Development and Controversy. *PMC*, 27(1), 1-14. doi:<https://doi.org/10.4062/biomolther.2018.176>
- Piñón Segundo, E. (2008). *Diseño, elaboración y caracterización de vectores farmacéuticos a partir de nanopartículas poliméricas y sonogeles de SiO<sub>2</sub>*. Tesis de doctorado, UNAM, Facultad de Química, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000627943](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000627943)
- Piñón Segundo, E., Llera Rojas, V. G., Leyva Gómez, G., Urbán Morlán, Z., Mendoza Muñoz, N., & Quintar Guerrero, D. (2018). The emulsification-diffusion method to obtain polymeric nanoparticles: Two decades of research. En A. Mihai Grumezescu (Ed.), *Nanoscale Fabrication, Optimization, Scale-up and Biological Aspects of Pharmaceutical Nanotechnology* (1° ed., págs. 51-83). México: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813629-4.00002-4>
- QuimiNet. (2003). *QuimiNet*. Obtenido de Monómeros y polímeros: <https://www.quiminet.com/articulos/monomeros-y-polimeros-303.htm>
- QuimiNet. (2007). *QuimiNet*. Obtenido de ¿Cómo ayuda el Potencial Zeta en las formulaciones de suspensiones y emulsiones?: <https://bit.ly/2QDXJyl>
- Quintanar Guerrero, D., Allémann, E., & Fessi, H. (1997). A mechanistic study of the formation of polymer nanoparticles by the emulsification-diffusion technique. *Colloid Polym Sci*, 275(7), 640-647. doi:<https://doi.org/10.1007/s003960050130>
- Quintanar Guerrero, D., Allémann, E., Fessi, H., & Doelker, E. (1998). Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. *Drug Dev Ind Pharm*, 24(12), 1113-1128. doi:<http://dx.doi.org/10.3109/03639049809108571>





- Quintanar Guerrero, D., Tamayo Esquivel, D., Ganem Quintanar, A., Allémann, E., & Doelker, E. (2005). Adaptation and optimization of the emulsification-diffusion technique to prepare lipidic nanospheres. *Eur J Pharm Sci*, 26(2), 211-218. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejps.2005.06.001>
- Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.*, 27(1), 76-89. doi:10.3305/nh.2012.27.1.5418
- Quirino Barreda, C. T. (2014). Los retos de la nanotecnología farmacéutica. En C. T. Quirino Barreda (Ed.). México: Mundo Nano. doi:<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2014.12.49097>
- Rezende Schaffazick, S., & Stanisçuaski Guterres, S. (2003). Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. *Quím Nova*, 26(5). doi:<https://doi.org/10.1590/S0100-40422003000500017>
- Rivera Parra, C. A. (2017). *Estudio del proceso de nanoencapsulación de quercetina por medio de nanoprecipitación*. Tesis de licenciatura, Universidad ICESI, Departamento de Ciencias Farmacéuticas, Santiago de Cali. doi:[http://repository.icesi.edu.co/biblioteca\\_digital/handle/10906/82459](http://repository.icesi.edu.co/biblioteca_digital/handle/10906/82459)
- Rocha Formiga, F., Ansorena, E., Hermoso de Mendoza, A. E., Imbuluzqueta, E., & González, D. (2009). *Nanosistemas a base de poliésteres*. Universidad de Navarra, Facultad de Farmacia, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. doi:<https://hdl.handle.net/10171/35523>
- Rodríguez Palomo, R. (2015). *Determinación de interacciones moleculares entre el biopolímero de la chíá (Salvia Hispánica L.) y grenetina mediante calorimetría de barrido diferencial (DSC)*. Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma Agraria, Departamento de ciencias y tecnología de alimentos, México. Obtenido de <https://bit.ly/3MT2ZG7>



- Sáenz Chávez, P., Garza Ocañas, L., & Tadeo Badillo, C. (2014). Tolerabilidad del resveratrol y efectos sobre parámetros bioquímicos sanguíneos. *Rev Mex Cienc Farm*, 45(4). doi:<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57940028008>
- Salas Ambrosio, P. J. (2013). *Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas funcionalizadas con tetraetil ortosilicato y recubiertas con acrilatos para uso como vehículo de doxorubicina*. Tesis de licenciatura, UNAM, FES Aragón, México. doi:[https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB\\_UNAM/TES01000696403](https://ru.dgb.unam.mx/handle/DGB_UNAM/TES01000696403)
- SEMARNAT. (2007). *II Principios de estabilidad de los medicamentos*. Obtenido de <https://bit.ly/3zmmVdR>
- Serna C., L. (2003). Ácido Poliláctico (PLA): Propiedades y Aplicaciones. *Ingeniería y Competitividad*, 5(1), 16-26. doi:<https://doi.org/10.25100/iyc.v5i1.2301>
- Singh, G., & Pai, R. S. (2014). A Rapid Reversed-Phase HPLC Method for Analysis of Trans-Resveratrol in PLGA Nanoparticulate Formulation. *Hindawi*, 2014, 6. doi:<https://doi.org/10.1155/2014/248635>
- Soo, E., Thakur, S., Qu, Z., Jambhrunkar, S., Parekh, H. S., & Popat, A. (2016). Enhancing delivery and cytotoxicity of resveratrol through a dual nanoencapsulation approach. *J Colloid Interface Sci*, 462(15), 368–374. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jcis.2015.10.022>
- Suárez H., M., & Brito D., C. (2020). Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga de antocianinas de *Vaccinium floribundum* Kunt en nanopartículas de zeína. *infoANALÍTICA*, 8(1). doi:<https://doi.org/10.26807/ia.v8i1.98>
- Suktham, K., Koobkokkrud, T., Wutikhun, T., & Surassmo, S. (2018). Efficiency of resveratrol-loaded sericin nanoparticles: Promising bionanocarriers for drug delivery. *Int J Pharm*, 537(1-2), 48–56. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.12.015>
- Summerlin, N., Soo, E., & Thakur, S. (2015). Resveratrol nanoformulations: Challenges and opportunities. *Int J Pharm*, 479(2), 282–290. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2015.01.003>





- Tang, L., Yang, X., Yin, Q., Cai, K., & otros, y. (2014). Investigating the optimal size of anticancer nanomedicine. (D. Mark E., Ed.) *PNAS*, 111(43), 15344–15349. doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.1411499111>
- The University of Arizona. (2019). *The University of Arizona Superfund Research Center*. Obtenido de Biotransformación Fase II: <https://bit.ly/3mjri52>
- Torralvo Martínez, J. (2017). *Validación de un método químico analítico de HPLC en R*. Fundación universitaria los libertadores, Ciencias Básicas, Bogotá. doi:<http://hdl.handle.net/11371/1311>
- Universidad de Burgos. (2020). Historia de los nanomateriales. España. Obtenido de <https://bit.ly/3uGphTB>
- Urbaniak, A., Delgado, M., Kacprzak, K., & Chambers, T. C. (2017). Activity of resveratrol triesters against primary acute lymphoblastic leukemia cells. *Bioorg Med Chem Lett*, 27(12), 2766–2770. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.04.066>
- Valverde Iniesta, J. J., & Vanaclocha, B. (2017). Resveratrol y cáncer. *Rev Fitoterapia*(17), 5-25. Obtenido de <https://bit.ly/3lp7C>
- Viades Trejo, J. (2012). *Fisicoquímica Farmacéutica Unidad 1. Estabilidad química de fármacos*. Obtenido de <https://bit.ly/3y69T6i>
- Viades Trejo, J. (2013). *Fisicoquímica de alimentos Unidad 3. Fenómenos de superficie. Adsorción*. Obtenido de <https://bit.ly/3UTBXDt>
- Villafuerte R., L. (2009). Nanotecnología Farmacéutica. *Razón y Palabra*(68), 20. doi:<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=199520297009>
- Villafuerte R., L., & García F., B. (2008). Nanopartículas lipídicas sólidas. *Rev Mex Cienc Farm*, 39(1), 38-52. doi:<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57939107>
- Wcislo, G. (2014). Resveratrol Inhibitory Effects against a Malignant Tumor: A Molecular Introductory Review. En R. Ross Watson, V. Preedy, & S. Zibadi (Edits.), *Polyphenols in Human Health and Disease* (Vol. 2, págs. 1269-1281). Polonia: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-398456-2.00096-7>
- Zakharova, L., Pashirova, T., Kashapov, R., Gabdrakhmanov, D., & Sinyashin, O. (2017). Drug delivery mediated by confined nanosystems: structure-activity relations and



factors responsible for the efficacy of formulations. En E. Andronescu, & A. Grumezescu (Edits.), *Nanostructures for Drug Delivery. Micro and Nano Technologies* (págs. 749-806). Rusia: Elsevier. doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-323-46143-6.00024-5>

Zupančič, Š., Lavrič, Z., & Kristl, J. (2015). Stability and solubility of trans-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature. *Eur J Pharm Biopharm*, 93, 196-204. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2015.04.002>