



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROESFERAS DE
DICLOFENACO SÓDICO A BASE DE QUITOSANO MEDIANTE EL
MÉTODO DE EMULSIÓN**

Trabajo de Titulación

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

BIOQUÍMICA FARMACÉUTICA

AUTOR: JOSSELYN ELIZABETH CANO MENDOZA

DIRECTOR: BQF. JOHN MARCOS QUISPILLO MOYOTA MSc.

Riobamba – Ecuador

2022

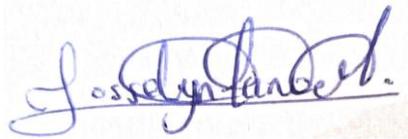
© 2022, Josselyn Elizabeth Cano Mendoza

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, JOSSELYN ELIZABETH CANO MENDOZA declaro que el presente trabajo de titulación es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de titulación; El patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 25 de marzo de 2022



Josselyn Elizabeth Cano Mendoza
C.I 1719078584

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal del Trabajo de Titulación certifican que: El Trabajo de Titulación: Tipo Trabajo Experimental. **ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE MICROESFERAS DE DICLOFENACO SÓDICO A BASE DE QUITOSANO MEDIANTE EL MÉTODO DE EMULSIÓN**, realizado por la señorita **JOSELYN ELIZABETH CANO MENDOZA** ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Titulación, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	FIRMA	FECHA
BQF. Mónica Jimena Concha Guaila MSc. PRESIDENTE DEL TRIBUNAL		2022-03-25
BQF. John Marcos Quispillo MSc. DIRECTOR DE TRABAJO DE TITULACIÓN		2022-03-25
BQF. Diego Renato Vinuesa Tapia MSc. MIEMBRO DEL TRIBUNAL		2022-03-25

DEDICATORIA

Esta tesis la dedico a Dios, por haberme permitido llegar a este momento tan importante de mi formación profesional, quien guía mi camino y me da fortaleza en momentos de dificultad y debilidad. A mi familia y amigos quienes con sus palabras de aliento hicieron posible la culminación de esta investigación.

Josselyn

AGRADECIMIENTO

Quisiera expresar mi gratitud a todas las personas que me apoyaron e hicieron posible la culminación exitosa de mi investigación. En especial a mi tutor BQF. John Quispillo y colaboradores docentes Dr. Irvin Tubón, BQF. Diego Vinueza y BQF. Benjamín Román por brindarme su asesoramiento académico. Agradezco a mis familiares y amigos por su paciencia y consejo cuando más los necesitaba. Y finalmente a mi querida Institución ESPOCH de la cual me siento orgullosa de pertenecer por haberme permitido adquirir una excelente formación académica y conocer a grandes profesionales.

Josselyn

TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE GRÁFICOS.....	xi
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xii
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....	4
1.1. Formas farmacéuticas de liberación modificada.....	4
1.1.1. <i>Sistemas de liberación prolongada.....</i>	4
1.1.2. <i>Sistemas de liberación retardada.....</i>	4
1.1.3. <i>Sistemas de liberación pulsátil.....</i>	5
1.1.4. <i>Microencapsulación.....</i>	5
1.1.4.1. <i>Microesferas.....</i>	6
1.1.5. <i>Sistemas matriciales.....</i>	8
1.1.5.1. <i>Matriz inerte.....</i>	8
1.1.5.2. <i>Matriz hidrofílica.....</i>	9
1.1.5.3. <i>Matriz lipídica.....</i>	10
1.1.6. <i>Métodos de microencapsulación.....</i>	10
1.1.6.1. <i>Gelificación ionotrópica.....</i>	10
1.1.6.2. <i>Emulsión.....</i>	10
1.1.6.3. <i>Coacervación y precipitación.....</i>	10
1.1.7. <i>Quitosano.....</i>	14
1.1.7.1. <i>Aplicaciones.....</i>	10
1.1.7.2. <i>Propiedades físico químicas.....</i>	10
1.1.8. <i>Caracterización de microesferas.....</i>	17
1.1.8.1. <i>Análisis del tamaño.....</i>	10
1.1.8.2. <i>Análisis morfológico.....</i>	10

1.1.8.3.	<i>Análisis químico</i>	10
1.1.9.	<i>Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)</i>	18
1.1.9.1.	<i>Efectos adversos</i>	10
1.1.10.	<i>Diclofenaco sódico</i>	19
1.1.10.1.	<i>Propiedades físico químicas</i>	10
1.1.10.2.	<i>Propiedades farmacocinéticas</i>	20
1.1.10.3.	<i>Propiedades farmacodinámicas</i>	210

CAPÍTULO II

2.	MARCO METODOLÓGICO	22
2.1.	Lugar de investigación	22
2.2.	Tipo de estudio y diseño de la investigación	22
2.2.1.	<i>Tipo de investigación</i>	22
2.2.2.	<i>Diseño de la investigación</i>	22
2.3.	Población de estudio	22
2.4.	Tamaño de la muestra	23
2.5.	Método de muestreo	233
2.6.	Variables	23
2.6.1.	<i>Variable dependiente</i>	23
2.6.2.	<i>Variable independiente</i>	23
2.7.	Materiales, equipos y reactivos	23
2.7.1.	<i>Materiales de laboratorio</i>	23
2.7.2.	<i>Equipos</i>	24
2.7.3.	<i>Reactivos</i>	24
2.8.	Métodos de recolección de datos	24
2.8.1.	Preparación de soluciones	24
2.8.1.1.	<i>Solución de quitosano al 2%</i>	24
2.8.1.2.	<i>Solución aceite mineral/éter de petróleo (60/40)</i>	24
2.8.1.3.	<i>Solución tampón fosfato pH 7,5</i>	24
2.8.1.4.	<i>Solución de bisulfito de sodio 5%</i>	24
2.8.2.	Preparación de microesferas	26
2.8.3.	Estandarización del método de elaboración de microesferas	26
2.8.4.	Incorporación del agente Emulsificante	26

2.8.5.	<i>Elaboración de microesferas de quitosano</i>	27
2.8.6.	<i>Elaboración de microesferas de quitosano cargadas con diclofenaco sódico.</i>	28
2.8.7.	<i>Mecanismo de secado</i>	29
2.8.8.	<i>Características físico químicas de las microesferas</i>	29
2.8.8.1.	<i>Tamaño y morfología</i>	29
2.8.8.2.	<i>Pérdida de humedad</i>	30
2.8.8.3.	<i>Cuantificación del principio activo</i>	31
2.8.8.4.	<i>Eficiencia de microencapsulación</i>	31
2.8.8.5.	<i>Cinética de disolución</i>	32

CAPÍTULO III

3.	MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	33
3.1.	Estandarización del método de elaboración de las microesferas	33
3.1.1.	<i>Incorporación del agente emulsificante Tween 80</i>	33
3.2.	Caracterización físico-química de microesferas	34
3.2.1.	<i>Tamaño y morfología</i>	34
3.2.1.1.	<i>Tamaño de microesferas de quitosano sin principio activo</i>	34
3.2.1.2.	<i>Tamaño de microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco sódico</i>	34
3.2.2.	<i>Pérdida de humedad en microesferas</i>	37
3.2.3.	<i>Rendimiento de las formulaciones de microesferas cargadas de diclofenaco sódico</i>	38
3.2.4.	<i>Curva de calibración para cuantificar el principio activo</i>	39
3.2.5.	<i>Eficiencia de microencapsulación</i>	40
3.2.6.	<i>Cinética de disolución</i>	42

CONCLUSIONES	45
--------------	-------	----

RECOMENDACIONES	46
-----------------	-------	----

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1-1:	Descripción de reactivos y función que desempeñan en la formación de microesferas .7
Tabla 1-2:	Formulaciones utilizadas para la incorporación del agente emulsificante27
Tabla 2-2:	Formulaciones utilizadas para la elaboración de microesferas sin principio activo.....27
Tabla 3-2:	Formulaciones para elaborar microesferas cargadas de diclofenaco sódico.29
Tabla 4-2:	Condiciones para la cinética de disolución de microesferas con principio activo32
Tabla 1-3:	Formulaciones utilizadas para la incorporación del agente emulsificante.33
Tabla 2-3:	Formulaciones utilizadas para la elaboración de microesferas sin principio activo.....34
Tabla 3-3:	Tamaño de microesferas de quitosano sin principio activo.35
Tabla 4-3:	Formulaciones utilizadas para elaborar microesferas cargadas con diclofenaco.36
Tabla 5-3.	Tamaño de microesferas de quitosano cargadas con diclofenaco sódico36
Tabla 6-3:	Porcentaje de pérdida de humedad en microesferas sin principio activo37
Tabla 7-3:	Porcentaje de pérdida de humedad en microesferas con diclofenaco sódico37
Tabla 8-3:	Cálculo del rendimiento de las formulaciones cargadas de principio activo.38
Tabla 9-3:	Concentración de principio activo vs absorbancia39
Tabla 10-3:	Cuantificación de principio activo en las formulaciones40
Tabla 11-3:	Eficiencia en la microencapsulación de diclofenaco sódico41
Tabla 12-3:	Tabla de Aceptación 2 para la Prueba de Disolución 2 de la USP42
Tabla 13-3:	Cinética de disolución de F2b42

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	Representación gráfica de microcápsulas y microesferas	5
Figura 2-1.	Representación gráfica de la zona lipófila e hidrófila del tensoactivo	7
Figura 3-1.	Proceso de liberación del principio activo en una matriz inerte	9
Figura 4-1.	Proceso de liberación del principio activo a partir de una matriz hidrofílica	9
Figura 5-1.	Proceso de liberación del activo a partir de una matriz lipídica	10
Figura 6-1.	Representación gráfica de emulsiones simples	12
Figura 7-1.	Representaciones gráficas de emulsiones múltiples W/O/W	13
Figura 8-1.	Estructura química del quitosano	15
Figura 9-1.	Estructura química de diclofenaco sódico	19
Figura 1-2.	Diámetro de Feret	30
Figura 2-2.	Cámara de Neubauer con sus dimensiones	30

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3.	Curva de calibración del diclofenaco de sodio.....	40
Gráfico 2-3.	Perfil de disolución de las microesferas con diclofenaco de sodio.....	43

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: REACTIVOS UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS

ANEXO B: EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS

ANEXO C: PROCESO DE INCORPORACIÓN DE REACTIVOS MEDIANTE AGITACIÓN

ANEXO D: REPOSO DE LAS MICROESFERAS ANTES DEL LAVADO

ANEXO E: MICROESFERAS ANTES Y DESPUÉS DEL LAVADO

ANEXO F: SECADO DE MICROESFERAS

ANEXO G: FENÓMENO DE CREMADO EN LAS PRIMERAS FORMULACIONES

ANEXO H: VISUALIZACIÓN DE MICROESFERAS EN EL MICROSCOPIO ÒPTICO

ANEXO I: DISOLUCIONES ESTÁNDAR PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

RESUMEN

La investigación tuvo como finalidad la obtención de microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco sódico con características físico-químicas adecuadas para liberar el principio activo de forma prolongada. Para la obtención de las microesferas de diclofenaco sódico se utilizó el método de emulsión, seguido de evaporación del disolvente; elaborándose dos formulaciones iniciales con el objetivo de estandarizar el proceso de elaboración. Una vez seleccionadas las mejores condiciones se procedió a elaborar tres formulaciones por triplicado variando la cantidad agente emulsificante, las microesferas posteriormente fueron cargadas con diferentes concentraciones de principio activo para proceder con su análisis físico-químico. La evaluación del tamaño y morfología de las microesferas mediante microscopía óptica permitió evidenciar que las formulaciones cumplieron con la especificación de ser menores a 1 milímetro, mientras que el ensayo de rendimiento fue de un máximo del 22% para la formulación F1a; por otro lado, el ensayo de eficiencia de microencapsulación permitió determinar que la fórmula con el máximo rendimiento fue F2b con 28,84%. Esta se sometió al ensayo de cinética de disolución cumpliendo con los criterios de aceptación descritos en la USP39-NF34 para diclofenaco sódico de liberación prolongada con una liberación del 84,4% a las 10 horas de transcurrido el proceso de disolución. Los resultados permiten concluir que la matriz polimérica F2b presenta condiciones adecuadas para ser cargada de principio activo y ser potencialmente una forma farmacéutica de liberación prolongada; y de esta forma disminuir los efectos adversos producidos por la farmacoterapia con antiinflamatorios no esteroideos de liberación inmediata. En investigaciones futuras se sugiere realizar modificaciones en el método de elaboración y variables con el objetivo de mejorar la eficiencia de encapsulación del principio activo.

Palabras clave: <FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA>, <QUITOSANO>, <MICROENCAPSULACIÓN>, <MICROESFERAS>, <DICLOFENACO SÓDICO>.

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por LEONARDO
FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN):
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE INFORMACION-
ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Fecha: 2022.04.11 12:48:48 -05'00'



0651-DBRA-UTP-2022

ABSTRACT

The purpose of this research study was to obtain chitosan microspheres loaded with diclofenac sodium with suitable physical-chemical characteristics to release the active ingredient in a prolonged way. To obtain the diclofenac sodium microspheres the emulsion method was used, followed by solvent evaporation making two formulations in order to standardize the production process. The best ones were selected under the best conditions. Three formulations were prepared and triplicated, varying on the amount of emulsifying agent. The microspheres were subsequently loaded with different concentrations of active ingredients to proceed with its physical-chemical analysis. The evaluation of the size and the morphology of the microspheres during optical microscopy, show that the formulations met the specification of being less than 1 millimeter in diameter. Therefore, the yield test was a maximum of 22% for formulation F1a. On the other hand, the microencapsulation efficiency test determine that the formula with the maximum yield was the F2b with a 28.84%. This one was subjected to the dissolution kinetics test complying with the acceptance criteria described in the USP39-NF34 for the release of diclofenac sodium prolonged with a release of 84.4% at 10 hours after being exposed to the dissolution process. The results allow us to conclude that the polymeric matrix F2b presents the adequate conditions to be loaded with the active ingredient and to be potentially a prolonged pharmaceutical release form, in this way reducing the adverse effects produced by pharmacotherapy with immediate-release for nonsteroidal anti-inflammatory drugs. It is suggested for further research to make changes on the production method and the variables in order to improve the capsulation efficiency of the active ingredient.

Keywords: <PROLONGED-RELEASE PHARMACEUTICAL FORMS>, <CHITOSAN>, <MICRO-CAPSULATION>, <MICROSPHERES>, <DICLOFENAC SODIUM>.



Firmado electrónicamente por:
**EVELYN
CAROLINA
MACIAS SILVA**

INTRODUCCIÓN

La mayor parte de los principios activos se encuentran siendo parte de formas farmacéuticas de liberación inmediata ya sean estas soluciones, emulsiones, comprimidos, suspensiones, entre los más representativos. Estos sistemas no logran mantener los niveles plasmáticos dentro del rango terapéutico y, por lo tanto, se necesita la administración de varias dosis puesto que presentan una acción de corta duración, Actualmente la industria farmacéutica busca el desarrollo de formas farmacéuticas (FF) innovadoras, enfocadas en maximizar la biodisponibilidad del principio activo en su zona de acción durante un período de tiempo prolongado (Sachin et al., 2019, p.20).

La administración de dosis repetidas trae consigo problemas relacionados con la adherencia terapéutica del paciente, uno de los principales es la falta de cumplimiento en el período exacto de toma de las dosis, y en consecuencia variaciones de las concentraciones del fármaco en sangre. Estas fluctuaciones pueden provocar efectos tóxicos o subterapéuticos para los pacientes. Es por ello que un perfil de liberación prolongada del medicamento es ideal para minimizar las fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas (Enriquez et al., 2014, p.1).

Los sistemas de liberación prolongada se caracterizan porque el principio activo es liberado inicialmente en proporción suficiente para producir su efecto, y después de manera lenta lo que permite que se mantenga la concentración eficaz durante más tiempo (USP 35- NF30, 2012, p.328). Es decir, están diseñados para lograr un efecto terapéutico prolongado durante un período prolongado de tiempo tras administrar una dosis única (Sachin et al., 2019, p.20).

La microencapsulación es el método que se utiliza en aproximadamente el 65% de los sistemas de liberación modificada de fármacos (Lozano, 2012, p.51). Las microesferas consisten en nanopartículas a base de lípidos o polímeros de disolución lenta que recubren a un principio activo. Uno de los grupos farmacológicos que se prescriben con mayor frecuencia y causan efectos adversos al necesitar dosis constantes del fármaco son los antiinflamatorios no esteroideos. Su utilización clínica efectiva está significativamente limitada por su potencial ulcerogénico y su escasa biodisponibilidad después de la administración oral (Can et al., 2014, pp.317-318).

Entre los biopolímeros más utilizados en la elaboración de microesferas se encuentra el quitosano ya que presentan favorables características físico-químicas como son su alta biodegradabilidad, disponibilidad y baja toxicidad (Yang et al., 2015, p.54). Además, el quitosano desacetilado de bajo peso molecular tiene mayor capacidad de hidrofilia, por lo que conduce a un mayor tiempo de retención y una mejor encapsulación del fármaco (Kumar et al., 2020, pp.797-798). Existen numerosos estudios que evidencian que el quitosano puede ser usado en sistemas de liberación de fármacos, y

principalmente presenta gran compatibilidad con fármacos de actividad antiinflamatoria (Enríquez et al., 2014, p.2).

El utilizar microesferas como la tecnología de elección para la elaboración de un sistema de liberación prolongada ofrece numerosas ventajas como prolongar la vida media *in vivo*, disminuir la toxicidad generalizada de los medicamentos, mejorar el cumplimiento terapéutico del paciente y una mayor estabilidad del medicamento (Enriquez et al., 2014, p.1).

En la actualidad las microesferas de quitosano tienen amplias aplicaciones farmacéuticas; sin embargo, en Ecuador son escasos los estudios en los que se desarrolla este tipo de formulación. Es por ello que este estudio aporta a la investigación académica ecuatoriana, puesto que mediante el análisis físico-químico de las microesferas se determinará si el quitosano presenta buena compatibilidad con el diclofenaco sódico, y si el método de emulsión proporciona las condiciones necesarias para que se formen las microesferas, lo que también promueve el uso de nuevos vehículos de fármacos para mejorar la terapia en la población.

OBJETIVOS

Objetivo General

Elaborar y caracterizar microesferas de liberación prolongada cargadas de diclofenaco sódico mediante el método de emulsión utilizando una matriz polimérica de quitosano.

Objetivos Específicos

- Desarrollar la matriz polimérica mediante la técnica de emulsión utilizando diferentes concentraciones de diclofenaco sódico y emulsionante.
- Determinar el tamaño y morfología de las microesferas a través de microscopía óptica.
- Cuantificar la eficiencia de microencapsulación y cinética de disolución de las microesferas mediante espectrofotometría UV-Vis

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

1.1. Formas farmacéuticas de liberación modificada

Constituyen sistemas de liberación que están diseñados para controlar el lugar de liberación, acción local en un punto determinado, y modificar la velocidad de liberación del fármaco; de esta forma se logra evitar la administración de dosis repetidas (Lozano et al, 2012, p.325). Estas preparaciones pretenden que el principio activo sea liberado de un sitio distinto al de forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía. Estas se clasifican en tres categorías de acuerdo a su mecanismo de liberación; es así que se incluyen las formas farmacéuticas de liberación prolongada, de liberación retardada y de liberación pulsátil (USP 35-NF30, 2012, p.328).

1.1.1. Sistemas de liberación prolongada

En este tipo de sistemas el principio activo es liberado inicialmente en la cantidad necesaria para proporcionar la acción terapéutica o incluso un mínimo exceso que no resulta tóxico, para después extender la liberación de forma lenta pero no constante. De esta forma se mantiene la concentración eficaz mucho más tiempo en comparación con las formas farmacéuticas convencionales (ASSE, 2019, p.4). Lograr obtener un sistema de liberación requiere de una formulación particular y un método de fabricación especial; también es conocida como forma farmacéutica de liberación ampliada (USP 35-NF30, 2012, p.328).

1.1.2. Sistemas de liberación retardada

Estas preparaciones se caracterizan por liberar al principio activo después de transcurrido un tiempo de latencia, de esta forma no se observan niveles plasmáticos del fármaco hasta que la forma farmacéutica llegue a la zona del tracto digestivo en donde se desea que este sistema se active (ASSE, 2019, p.5). Posterior a esto una vez que el principio activo se libera lo hace siguiendo una cinética normal. Dentro de este grupo se encuentran las preparaciones gastrorresistentes (Lozano et al., 2012, p.325).

1.1.3. *Sistemas de liberación pulsátil*

El objetivo de estas preparaciones es el de garantizar una liberación secuencial de la sustancia o sustancias activas, es decir permite la liberación de dosis repetidas ya sea por cambios fisiológicos, estímulos externos o a intervalos de tiempo definido (Lozano et al, 2012, p.332). Este sistema considera aspectos como ritmo en la fisiopatología de la enfermedad, la cronofarmacología de los medicamentos y la estructura del tiempo circadiano humano para definir el patrón de dosificación y el tiempo de administración con el fin de optimizar efectos adversos deseados o minimizarlos (Patil y Shahiwala, 2014, p.846).

1.1.4. *Microencapsulación*

La microencapsulación constituye un proceso en pequeñas partículas de una sustancia son envueltas en una matriz que la protege de condiciones desfavorables de su entorno como pH, temperatura, oxígeno, luz, humedad. Por lo tanto, la sustancia mantiene su estabilidad por un tiempo prolongado y de esta forma mantener su funcionalidad (Hoyos et al., 2016, p.527). Existen diferentes métodos de microencapsulación de compuestos, sin embargo, todos tiene como producto final la formación de micropartículas, que de acuerdo con su morfología y estructura interna se clasifican en microesferas o microcápsulas. Las microcápsulas presentan dos partes claramente diferenciadas que son un núcleo interno y una capa de revestimiento, a diferencia de las microesferas que poseen una estructura tipo matriz sin núcleo, es decir las sustancias se encuentran dispersas en su interior, ya sea de forma homogénea o heterogénea (Figura 1-1.)

Estas micropartículas pueden por sí solas ser una forma farmacéutica, o a su vez ser incorporadas en formas farmacéuticas como suspensiones o comprimidos. Alrededor del 65% de los sistemas de liberación modificada son obtenidos por microencapsulación (Lozano et al., 2012, pp.51-52).

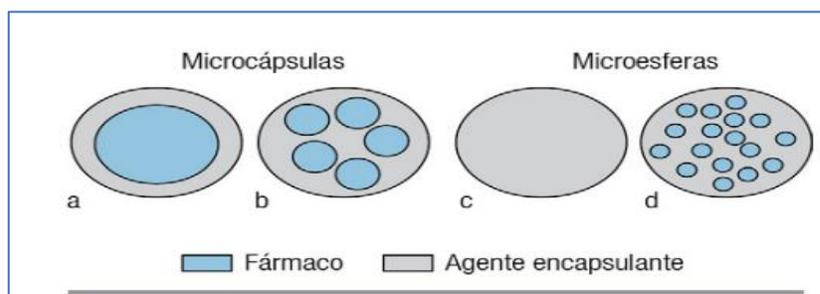


Figura 1-1. Representación gráfica de microcápsulas y microesferas

Fuente: Lozano et al., 2012, p.52.

1.1.4.1. *Microesferas*

Son sistemas obtenidos por microencapsulación los cuales se caracterizan por ser dispersos con una estructura tipo matricial, en los que la sustancia que se encapsula es adsorbida en la superficie de la partícula o encapsuladas en su interior. Estos sistemas pueden ser homogéneos o heterogéneos dependiendo de las características físico-químicas de la sustancia encapsulada (Lozano et al., 2012, p.51). Las microesferas poseen características idóneas para constituir sistemas de liberación modificada puesto que proporcionan una tasa de liberación controlada del principio activo (Akbar y Ahmed, 2017, p.277).

➤ **Agentes encapsulantes**

El agente encapsulante es una sustancia que tiene la capacidad de formar una red tipo película que protege al principio activo y es uno de los principales factores que podría afectar a la estabilidad del activo encapsulado. Una de las características más importantes a considerar en su elección es su compatibilidad con el principio activo o material que se desea encapsular (Lozano et al., 2012, p.53).

- a. Agentes hidrosolubles: Quitosano, celulosa modificada, alginato, goma xantana, polietilenglicol, goma arábiga, óxido de polietileno.
- b. Agentes no solubles en agua: Etilcelulosa, parafina, ceras naturales, ácido poliglicólico, ésteres de polimetacrilato, alcoholes grasos, ácidos grasos.

➤ **Agentes tensioactivos**

Son sustancias que presentan una parte lipófila y otra hidrófila (Figura 2-1). Es decir, cuando se colocan en un medio que contienen una fase acuosa y otra oleosa sus moléculas orientan su parte polar hacia el agua y su fracción apolar hacia la fase lipídica (Lozano et al., 2012, p.139). Debido a su propiedad anfifílica se sitúan en la interfaz, disminuyendo la tensión superficial y dando lugar a la formación de pequeñas gotas de la fase inmisible que se dispersan en la fase continua (Freire, M, 2018, p.32).

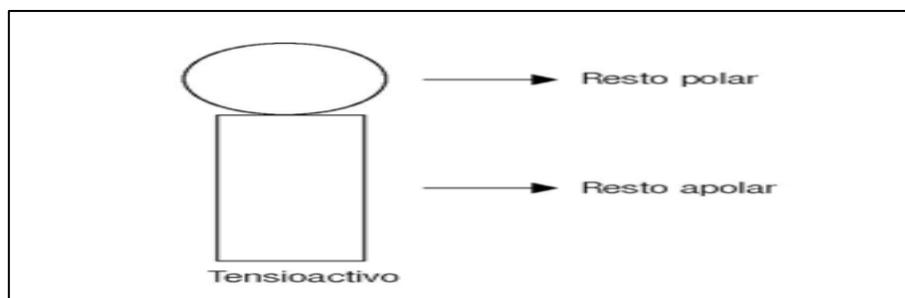


Figura 2-1. Representación de la parte lipófila e hidrófila de tensoactivo

Fuente: Lozano et al., 2012, p.139.

A continuación, se describen cada uno de los reactivos utilizados en la elaboración de microesferas según el método de Denkbas (2008, pp.742) y la función que estos desempeñan en la formación de las microesferas.

Tabla 1-1: Descripción de reactivos y función que desempeñan en la formación de microesferas

TWEEN 80	GLUTARALDEHÍDO 25%	SOLUCIÓN QUITOSANO 2%	SOLUCIÓN ÈTER DE PETRÓLEO/PARAFINA LÍQUIDA
Tensioactivo/emulsificante: De carácter no iónico hidrófilo. Estabiliza la emulsión en la formación microcápsulas, lo que resulta en un tamaño uniforme y forma esférica de además de una alta eficiencia de encapsulación (Budianto et al.,2020, p.524).	Reticulante: Los grupos reactivos del glutaraldehído reaccionan con los grupos amino libres, de esta manera se crean los enlaces reticulados intra e inter-moleculares (Elizabeth et al., 2007, p. 46). Actúa como un agente que un agente que bloquea los grupos amino del quitosano y hace que su estructura sea más inerte y resistentes al medio ácido y lisozimas (Beppu et al., 2007, p.126)	Fase acuosa: El quitosano presenta un carácter hidrófilo, insoluble en agua y soluble en soluciones ácidas acuosas diluidas como es el caso del ácido acético (Rajitha et al., 2016, p.1179). Constituye la fase externa de la emulsión, puesto que se presenta en mayor cantidad y proporciona un medio más soluble al emulgente tween 80 (Lozano et al., 2012, p.157)	Fase oleosa: Debido a que la parafina líquida es insoluble en agua es necesario utilizar un disolvente orgánico como el éter de petróleo. Esta solución constituye la fase interna la cuál se subdivide en pequeñas gotas en el seno de la fase acuosa y posteriormente formar las microesferas (Lozano et al., 2012, p.157).

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

➤ *Clasificación*

Los tensioactivos son moléculas que se clasifican de acuerdo con la naturaleza de su parte hidrofílica y se los puede agrupar en aniónicos, catiónicos y no iónicos (Li et al., 2008, p.30). Aquellas moléculas que presentan una carga negativa en su parte hidrofílica se los denomina tensioactivos aniónicos, a diferencia de los catiónicos presentan carga positiva, mientras que a los que no presentan carga se les denomina no iónicos (García, O, 2019, p. 14).

1.1.5. Sistemas matriciales

Estos constituyen el vehículo del principio activo y tienen la particularidad de contener al principio activo disperso dentro de un polímero el cual se opone a la disgregación y controlar la cesión del activo (Lozano et al., 2012, p.184). Vasvári et al. (2018, p.72) indica que el término matriz se puede asociar a un sistema que presenta homogeneidad aleatoria en donde el principio activo se encuentra disperso en partes iguales en toda la forma de dosificación; y por lo tanto da lugar a una liberación controlada del activo. El polímero que controla la velocidad de liberación del activo puede ser hidrosoluble o hinchable (matriz hidrofílica), o insoluble en agua (matriz lipídica o inerte).

1.1.5.1. Matriz inerte

Incluyen materiales insolubles como polímeros semisintéticos (acetato de celulosa, etil celulosa) y sintéticos (nylon, polímeros de éteres de acrilato, polisteramidas). Una de las características es permanecer intactas durante su circulación en el tracto gastrointestinal y, posteriormente, son eliminadas como portadores vacíos. Estos son demasiado complejos debido a que propiedades como la penetración de agua, la humectabilidad de la matriz, la porosidad y la carga inicial del fármaco podrían modificar la velocidad a la cuál es liberado el principio activo (Vasvári et al., 2018, p.72). Como se observa en la Figura 3-1. este tipo de matrices forma una red porosa no desintegrable en la que ingresan los líquidos mediante capilaridad y disuelven el fármaco que finalmente es liberado por difusión a través de los poros de la matriz (Costa et al., 2004, p.260).

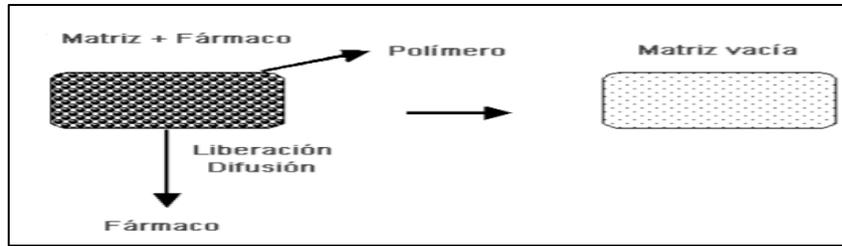


Figura 3-1. Proceso de liberación de principio activo de la matriz inerte.

Fuente: Costa et al., 2004, p.261.

1.1.5.2. Matriz hidrofílica

Se caracterizan por presentar sustancias que son hinchables y pueden llegar a formar hidrogeles como los polímeros solubles los cuales regulan la disolución del fármaco en el tracto gastrointestinal. Los polímeros que se utilizan generalmente incluyen metilcelulosa, carboximetilcelulosa de sodio, hidroxipropilmetilcelulosa, copolímeros de acrilato o alcohol polivinílico (Vasvári et al., 2018, p.73). En particular las matrices de hipromelosa u óxido de polietileno son las más utilizadas cuando se pretende alcanzar un perfil de liberación extendido (Sandoval et al., 2015, p.283). La liberación del activo se da de forma progresiva (Figura 4-1) como se describe a continuación (Costa et al., 2004, p.260):

- Penetración del medio de disolución al interior de la matriz con la disolución de una pequeña cantidad de fármaco presente en la superficie del sistema matricial.
- Hinchamiento del polímero hidrófilo formando así una barrera gelificada
- Disolución del fármaco y reducción de la capa gelificada.
- Difusión del activo a través de la barrera gelificada.
- Erosión y disolución completa del sistema matricial.

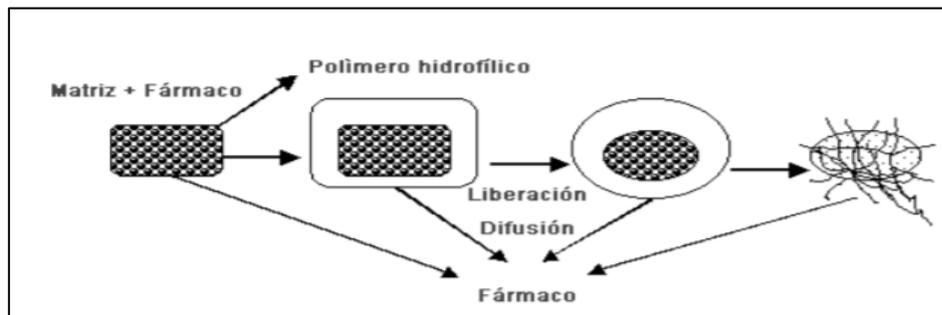


Figura 4-1. Proceso de liberación del activo a partir de una matriz hidrofílica.

Fuente: Costa et al., 2004, p.261.

1.1.5.3. Matriz lipídica

Son sistemas que se caracterizan por suspender los principios activos lipófilos en excipientes lipídicos que generalmente son de origen natural tales como alcoholes grasos, ácidos grasos, ésteres o derivados (Lozano et al., 2012, p.186). La liberación del activo está condicionada por las características del excipiente utilizado, si este se trata de un lípido no digerible la matriz no se destruirá a medida que avanza por el aparato gastrointestinal, en cambio si se utiliza un lípido digerible la matriz es erosionada durante su paso por el tracto gastrointestinal debido a hidrólisis de sus ácidos grasos.

El mecanismo por el cual el principio activo es liberado es a través de la erosión del sistema matricial (Figura 5-1), la cantidad de principio activo liberado es proporcional a la fracción de excipiente hidrolizado, y su velocidad de liberación depende en gran medida de la composición de los fluidos digestivos ya que su erosión se produce por hidrólisis lipídica (Costa et al., 2004, p.262).

Ofrecen numerosas ventajas como son carga mejorada, liberación controlada, focalización, mayor estabilidad de almacenamiento físico-químico y protección del activo frente a degradación biológica que a su vez pueden conducir a una mejora de la potencia del fármaco (Rawat et al., 2012, p.245). Al tratarse de matrices lipídicas estas son bien toleradas por el tracto gastrointestinal lo que lo hace ideal para la administración de fármacos que son irritantes para la mucosa gastrointestinal (Costa et al., 2004, p.262).

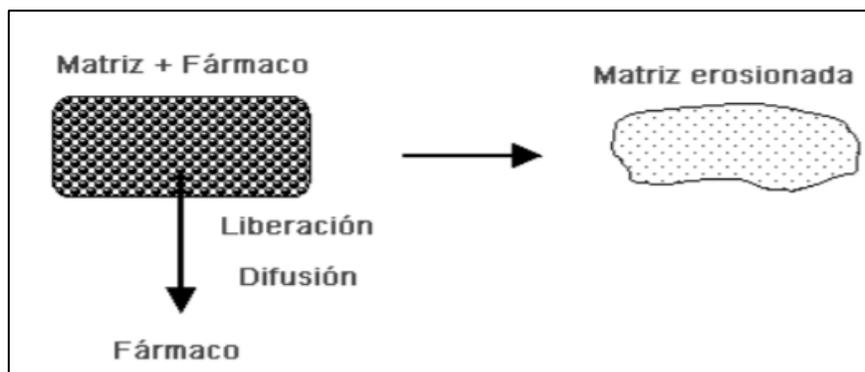


Figura 5-1. Proceso de liberación del activo de una matriz lipídica.

Fuente: Costa et al., 2004, p.261.

1.1.6. Métodos de microencapsulación

De forma general estos métodos se pueden clasificar en químicos, físicos o físico-químicos los cuáles aplican técnicas específicas de acuerdo a las características de las sustancias a utilizarse. La selección del método utilizado depende del tipo de aplicación que se les dará a las microesferas. Se

deben tomar en consideración aspectos como el tamaño de partícula deseado, el mecanismo de liberación del fármaco, y las características físico-químicas tanto del agente de recubrimiento como del principio activo (Lozano et al, 2012, p.53). Dentro de los métodos más utilizados se encuentran la reticulación, gelificación iónica, emulsión y precipitación / coacervación (Akbar y Ahmed, 2017, p.278).

1.1.6.1. *Gelificación ionotrópica*

El alto grado de protonación del quitosano le confiere la propiedad de formación de hidrogeles cuando se encuentra en presencia de polianiones específicos como fosfatos, citratos y sulfatos (Grenha, 2012, p.291). El método se basa en la interacción electrostática que existe entre los grupos amino catiónicos del quitosano y los grupos aniónicos de los polianiones, siendo uno de los más utilizados puesto que no requiere el uso de solventes orgánicos o proporcionar altas temperaturas al medio. Por lo tanto, el uso de este método es ideal para aquellas sustancias que tiene la particularidad de ser termosensible como péptidos, proteínas, hormonas y vacunas (Rajitha et al., 2016, p.1179).

1.1.6.2. *Emulsión*

En este método el fármaco es disuelto en una fase interna (solución orgánica que contiene al agente encapsulante), posteriormente se emulsiona al adicionar una fase externa la cual contiene un tensoactivo que evita que se produzca agregación y coalescencia. Posteriormente mediante agitación se van formando los glóbulos en los que se posteriormente se encapsulará el fármaco. Las partículas pasan por un proceso de separación, lavado y secado. El tamaño de las microesferas obtenidas estará influenciado por variables como la velocidad de agitación, viscosidad y tensoactivo (Lozano et al, 2012, p.52). Este método se considera riguroso, y es principalmente aplicado a fármacos hidrófobos puesto que proporciona una alta eficiencia de atrapamiento (Rajitha et al., 2016, p.1179).

Emulsificación seguido de evaporación del disolvente

En este sistema la fase interna que contiene el agente encapsulante es un solvente orgánico que presenta una solubilidad limitada respecto a la fase externa (Lozano et al., 2012, p.58). A continuación, se describe de forma detallada los pasos a seguir para su elaboración:

- El principio activo es disuelto en la fase interna (solución orgánica que contiene al agente encapsulante).
- La fase interna es emulsionada en la fase externa la cual contiene un agente estabilizante (tensoactivo) que evita fenómenos de agregación o coalescencia.

- La mezcla obtenida se somete a una agitación constante que da como resultado la evaporación del solvente y la formación de microesferas poliméricas en las que se encuentra encapsulado el principio activo.
- Las microesferas formadas son separadas y lavadas con solventes orgánicos para eliminar los restos de la fase oleosa.
- Finalmente, las microesferas son secadas.

Tipos de emulsiones

➤ Emulsiones simples

Emulsión aceite en agua (O/W): pequeñas gotas de carácter lipídico (fase oleosa) se encuentran dispersas en una fase continua acuosa (Figura 6-1).

Emulsión agua en aceite (W/O): pequeñas gotas de carácter acuoso se encuentran dispersas en una fase continua oleosa.

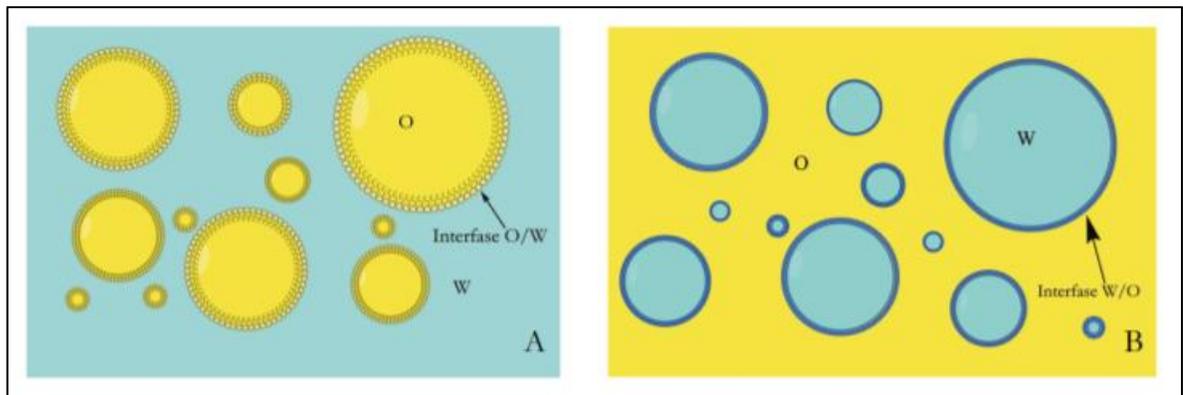


Figura 6-1. Representación gráfica de emulsiones simples.

Fuente: Freire, M, 2018, p.32.

➤ Emulsiones múltiples

Son sistemas multicompartimentalizados que se caracterizan por presentar simultáneamente emulsiones de aceite en agua (O/W) y de agua en aceite (W/O). Este tipo de emulsiones presenta tres fases, dos acuosas y una lipídica separadas por interfases estabilizadas por surfactantes hidrofílicos y lipofílicos. Las pequeñas gotas de agua se encuentran dispersas dentro de glóbulos de

grasa, los mismos que a su vez están dispersos en una fase continua acuosa formando así un sistema ($W_1/O/W_2$) (Figura 7-1).

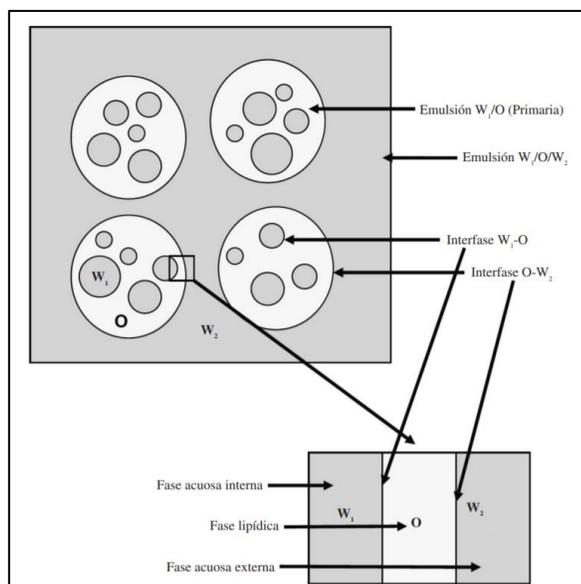


Figura 7-1. Representación gráfica de emulsiones múltiples W/O/W

Fuente: Jiménez, F, 2013, pp.1413.

Las gotas ya formadas tienen la capacidad de retener, proteger principios activos y producir una liberación controlada desde el interior de una fase a otra, por lo tanto, este tipo de emulsiones son ideales para microencapsulación de hormonas, esteroides, anticancerígenos (Jiménez, F, 2013, pp.1415).

➤ **Micro-emulsión seguida de evaporación del disolvente**

Sigue una serie de procedimientos en los que la fase interna contiene un agente encapsulante siendo este un disolvente orgánico, el cuál presenta una solubilidad limitada respecto a la fase externa. El fármaco es disuelto en la fase interna para posteriormente emulsionarse en la fase externa que contiene un tensioactivo que estabiliza la emulsión. Finalmente se elimina el disolvente con agitación constante formándose así glóbulos poliméricos que son separados, lavados y secados (Lozano et al., 2012, p.58).

1.1.6.3. *Coacervación/precipitación*

Este método consiste en primer lugar la formación de una emulsión estable la cual contiene una solución de quitosano con fármaco dispuestos en parafina líquida. Posteriormente se realiza una segunda emulsión con la solución acuosa de quitosano e hidróxido de sodio. Finalmente, las dos emulsiones son mezcladas mediante agitación a alta velocidad, produciéndose así una colisión aleatoria entre las gotitas que da como resultado la fusión y precipitación de las microesferas (Rajitha et al., 2016, p.1180). Este método no se aplica para encapsular compuestos solubles en agua, debido a que se disuelven en la solución polimérica y conduce a una liberación rápida del activo (Lozano et al., 2012, p.57).

➤ **Biopolímeros**

Los biopolímeros se definen como polímeros biodegradables cuya fuente de obtención es renovable e incluye plantas, animales o fuentes microbianas. Los biopolímeros son abundantes en la naturaleza y presentan propiedades como biodegradabilidad y biocompatibilidad lo cual lo hace ideal para aplicaciones médicas (Anubhut, 2019, p.1895). Los más conocidos son el quitosano, ácido poliláctico (PLA), ácido poliglicólico (PGA) y ácido láctico-co-glicólico (PLGA), los cuales tienen gran facilidad de procesamiento; siendo el quitosano uno de los más utilizados en aplicaciones farmacéuticas como matriz para liberación controlada de medicamentos (71guez, 2016, p.320).

1.1.7. *Quitosano*

El quitosano es un polímero natural derivado de la desacetilación de la quitina y su estructura se compone de unidades de N-acetil-D-glucosamina y D-glucosamina con un grupo amino (NH₂) y dos grupos hidroxilo (OH) en cada unidad glucosídica repetitiva (Figura 8-1) (Akbar y Ahmed, 2017, p.275). El quitosano deriva de fuentes renovables no tóxicas que incluyen estructuras esqueléticas de hongos, gusanos y específicamente de artrópodos como crustáceos e insectos (Rajitha et al., 2016, p.1177).

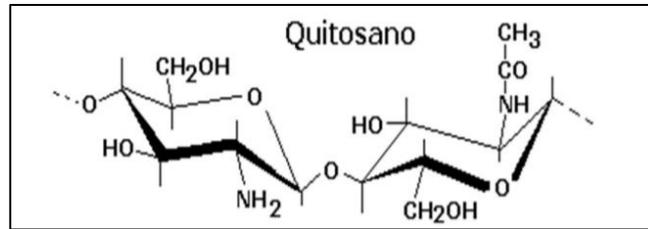


Figura 8-1. Estructura química del quitosano

Fuente: Larez, C, 2006, p.16.

Aunque la quitina es de naturaleza hidrófoba su derivado desacetilado presenta un carácter hidrófilo, pero insoluble en agua y soluble en soluciones ácidas acuosas diluidas que presenten un pKa inferior a 6.3. El quitosano en medio ácido pasa a ser un polielectrolito a causa de la protonación de $-NH_2$ y la posición C-2 de las unidades repetidas de D-glucosamina, esto produce una repulsión entre las unidades monoméricas, permitiendo que entren más moléculas de disolvente y, por lo tanto, conduce al hinchamiento del polímero (Rajitha et al., 2016, p. 1181).

1.1.7.1. Aplicaciones

Al ser un polímero obtenido de fuentes naturales presenta dos propiedades excepcionales como son su biocompatibilidad y biodegradabilidad; además de una acentuada actividad antimicrobiana y baja inmunogenicidad (Akbar y Ahmed, 2017, p.276). Estas características hacen que sea utilizado en numerosas áreas como alimentos, biotecnología, agricultura, cosmética e incluso productos farmacéuticos puesto que es considerado un buen material de alojamiento para fármacos (Rajitha et al., 2016, p.1178).

1.1.7.2. Propiedades físico-químicas

➤ pH y solubilidad

El quitosano presenta estabilidad cuando se encuentra formando una solución a un pH 7 y a temperatura ambiente. Su solubilidad está influenciada por el grado de desacetilación, el mismo que depende de la cantidad de copolímeros presentes, su peso molecular peso y fuente (Rajitha et al., 2016, p.1178). Cuando el pH es bajo el quitosano se mantiene como especie policationica puesto que existe una protonación del grupo amino lo cual aumenta la solubilidad. Además, la protonación puede ser revertida a través de un proceso de sulfonación que manifiesta su carácter aniónico confiriéndole

una mejor fluidez de la pasta, alta relación de reducción de agua y propiedad anticoagulante (Akbar y Ahmed, 2017, p.274).

➤ **Peso molecular y grado de desacetilación**

El grado de desacetilación del quitosano constituye la relación porcentual entre la cantidad de unidades de N-glucosamina y la cantidad total de monómeros en el polímero y puede ser definido como el grado de pureza.

El grado de desacetilación del quitosano debe ser mayor al 50% o a su vez presentar un contenido de nitrógeno mayor a un 7% (Barragán et al., 2016, p.771).

El peso molecular del quitosano depende del método por el cuál es extraído, por lo tanto, condiciones como temperatura y reactivos utilizados pueden producir un acortamiento de la cadena. Son varias las propiedades que se ven condicionadas por el peso molecular e incluyen solubilidad, viscosidad, y propiedades biológicas del quitosano (Giraldo, 2015, p.1).

➤ **Propiedades biológicas**

El grupo funcional de amina primaria del quitosano actúa como un sitio reactivo para una variedad de nuevos grupos de unión usando condiciones de reacción leves. Esta conformación estructural le atribuye propiedades biológicas como son la mucoadhesion, provisión controlada de fármacos, transfección, gelificación in situ, aumento de la permeación, focalización del colon e inhibición de la bomba de flujo. La propiedad de bioadhesión hacen que este se adhiera a los tejidos blandos y por lo tanto sea utilizada en ortopedia, odontología, oftalmología y en medidas quirúrgicas (Akbar y Ahmed, 2017, p.275).

➤ **Biodegradación**

El sistema biodegradable interactúa con el entorno circundante y se degrada simultáneamente con la liberación del fármaco. En este tipo de sistema, el fármaco se distribuye en el sistema biodegradable de manera similar al sistema matricial. Lograr la degradación controlada, incluyendo la escisión de la cadena principal, la escisión de la cadena lateral, la escisión por reticulación y la transferencia de la cadena.

Luego, la disolución impulsa la desintegración del sistema en pequeñas partículas capaces de inducir múltiples procesos celulares, incluida la fagocitosis (Giraldo, 2015, p.3).

1.1.8. Caracterización de microesferas

1.1.8.1. Análisis de tamaño

La difracción de láser es el método más eficaz para determinar la distribución de tamaños desde unos pocos nanómetros a unos pocos milímetros, incluyendo a las microesferas que miden aproximadamente entre 1 a 1000 nm (Lozano et al., 2012, p.59). Se recomienda hacer uso de múltiples técnicas como son la microscopía de fuerza atómica (AFM) o la microscopía electrónica de transmisión (TEM) combinada con la dispersión dinámica de luz (DLS). AFM o TEM permiten obtener información de tamaño con base en la naturaleza cualitativa, mientras que la de DLS arroja información de carácter cuantitativo además de una imagen más amplia de toda la muestra (Hembram et al., 2014, p.307).

1.1.8.2. Análisis morfológico

La microscopía electrónica de barrido (SEM) y microscopía electrónica de transmisión permiten obtener información de la morfología de las microesferas (Lozano et al., 2012, p.59). SEM se fundamenta en el empleo de un haz de electrones de alta energía que escanea la superficie de la muestra después de que esta ha pasado por el proceso de secado cubriéndose con una capa de oro o platino. Permite observar de forma directa la superficie de las microesferas, así como también proporciona información sobre el tamaño (Hembram et al., 2014, p.310).

1.1.8.3. Análisis químico

➤ Evaluación de la eficacia de la encapsulación y el análisis de capacidad de carga

La eficacia de encapsulación (EE) representa la relación que existe entre la cantidad de fármaco encapsulado y la cantidad total de fármaco usado en la formulación. Para ello la muestra es centrifugada para precipitarla y separarlas del medio líquido. Posterior a ello se procede a determinar la cantidad de fármaco presente por métodos de espectrofotometría (Lozano et al., 2012, p.59). La carga teórica del fármaco es determinada mediante un cálculo en el que se asume que todo el fármaco presente en la solución de quitosano queda atrapado en las microesferas y no ha existido ningún tipo de pérdida durante la elaboración (Mittra y Dey, 2011, p.357).

➤ **Análisis de la cinética de liberación**

La liberación del fármaco a partir de las microesferas depende de factores como morfología, tamaño, las propiedades fisicoquímicas del fármaco y la presencia de excipientes. Específicamente la liberación in vitro depende de factores intrínsecos como pH del medio, la polaridad y la presencia de enzimas en las soluciones (Mitra y Dey, 2011, p.358). En el estudio de liberación se calcula el porcentaje de fármaco que es liberado desde las microesferas cuando se encuentran en un medio de disolución en función del tiempo. El mecanismo por el cual se libera el fármaco de las micropartículas se determina calculando la cinética de liberación, un valor que si arroja resultados de 0,5 infiere que se rige al mecanismo de difusión de Fick; mientras que si se encuentra en un valor de entre 0,5 y 1 indica que su mecanismo de transporte es anómalo (Lozano et al., 2012, p.60).

1.1.9. Antiinflamatorios no esteroideos (AINES)

Constituyen un grupo de fármacos con estructura química heterogénea, pero comparten actividad antipirética, analgésica y antiinflamatorio al inhibir a la enzima ciclooxigenasa (COX) y por lo tanto la formación de prostaglandinas y tromboxanos. Su acción analgésica, antipirética y antiinflamatoria se produce al inhibir específicamente a la COX-2; sin embargo, algunos de los AINES pueden llegar a inhibir tanto a COX-2 como a COX-1 y llegar a causar trastornos gastrointestinales (Loza, 2011, p.89). Es por ello, que a pesar de presentar una eficacia similar cada fármaco tiene su propio perfil de seguridad (Marcén et al., 2015, p.74).

1.1.9.1. Efectos adversos

Cuando existen enfermedades agudas se aconseja hacer uso de los AINES por el menor tiempo posible y administrar una dosis que sea tolerada y a la misma vez proporcionar la eficacia deseada (Loza, 2011, p.90). Se indica que los AINES de forma general pueden causar trastornos gastrointestinales y cardiovasculares, que varían de acuerdo con el fármaco, dosis utilizada, frecuencia, y factores de riesgo del paciente. Los efectos adversos pueden ser petequias, seguido de úlceras, hemorragia, perforación de intestinos y llegar a la muerte (Marcén et al., 2015, p.75).

1.1.10. Diclofenaco sódico

Fármaco derivado del ácido fenilacético al cual se le atribuye propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias puesto que forma parte del grupo de AINES; sin embargo, su potencia es significativamente mayor a la producida por el resto de AINES. Está indicado principalmente en casos de artritis reumatoide debido a que actúa inhibiendo la migración leucocitaria y altera los procesos celulares e inmunológicos en tejidos mesenquimatoso y conectivo. Por lo tanto, en casos de artritis reumatoide disminuye el dolor, entumecimiento aumentando la capacidad funcional. Su vida media en plasma es de entre 1.8 a 2 h y sus efectos adversos son los pertenecientes a los AINES (Rodríguez, 2013, p.230).

1.1.10.1. Propiedades físico-químicas

La Farmacopea de los Estados Unidos Americanos define al diclofenaco sódico como “Polvo cristalino, blanco o ligeramente amarillento, ligeramente higroscópico, bastante soluble en agua, fácilmente soluble en metanol, soluble en alcohol y poco soluble en acetona. Funde a aproximadamente 280 °C, con descomposición.” (USP 35-NF30, 2012, p.1238). Su fórmula estructural se observa en la Figura 8-2.

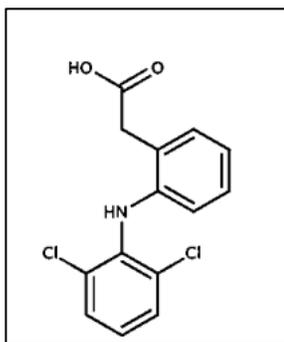


Figura 9-1. Estructura química de diclofenaco sódico

Fuente: CIMA ,2016, p.1.

1.1.10.2. Propiedades farmacocinéticas

➤ **Absorción**

Su absorción es rápida, sin embargo, su efecto se retrasa debido al recubrimiento entérico del comprimido. Tiene una concentración plasmática máxima media de 1,5 microgramos/ml que se alcanza dos horas después de la ingestión, su paso a través del estómago es más lento y la cantidad de sustancia activa absorbida permanece estable. Puesto que aproximadamente la mitad de la sustancia activa sufre un efecto de primer paso hepático, cuando es administrado por vía oral o rectal, su área bajo la curva (AUC) es aproximadamente la mitad en comparación con la obtenida por una administración vía parenteral. Siempre que se respeten los intervalos de dosificación no existirá una acumulación del fármaco.

➤ **Distribución**

Su unión a proteínas plasmáticas es de 99,7%, mayoritariamente a albúmina (99,4%). Su volumen aparente de distribución es de 0,12-0,17 l/kg. El fármaco se difunde al líquido sinovial, presentando concentraciones máximas después de 2-4 horas tras haberse alcanzado los valores plasmáticos máximos. Dos horas después de alcanzar las concentraciones plasmáticas máximas, las concentraciones de sustancia activa son ya más elevadas en el líquido sinovial que en plasma y se mantienen más altas durante 12 horas con una semivida de eliminación a partir del líquido sinovial.

➤ **Biotransformación**

Parte por glucuronidación de la molécula intacta, pero principalmente por hidroxilación simple y múltiple y metoxilación, dando lugar a varios metabolitos fenólicos (3'-hidroxi-, 4'-hidroxi-, 5-hidroxi-, 4'5-dihidroxi- y 3'-hidroxi-4'-metoxidiclofenaco), los que son transformados en conjugados glucurónidos. Dos de estos metabolitos fenólicos son biológicamente activos, pero en menor grado que la molécula de diclofenaco.

➤ **Eliminación**

Su aclaramiento total del plasma es de 263 + 56 ml/min. Mientras que su semivida terminal es de 1-2 horas las semividas plasmáticas que cuatro de sus metabolitos producidos en la biotransformación

tienen de 1-3 horas. El metabolito 3'-hidroxi-4'-metoxiclofenaco tiene una semivida plasmática más larga, pero es prácticamente inactivo. El 60% de la dosis administrada es excreta por la orina como conjugado glucurónico de la molécula intacta y como metabolitos. Aproximadamente menos del 1% se excreta como sustancia inalterada y el resto de la dosis es eliminada a través de las heces (CIMA ,2016, pp. 11-12).

1.1.10.3. Propiedades farmacodinámicas

➤ **Mecanismo de acción**

Es un compuesto no esteroideo con marcadas propiedades, antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. Estas propiedades se deben a la inhibición de la biosíntesis de prostaglandinas, puesto que desempeñan un papel esencial en la aparición de la inflamación, del dolor y de la fiebre.

➤ **Efectos farmacodinámicos**

Las propiedades antiinflamatorias y analgésicas proporcionan una mejoría de los signos y síntomas, tales como dolor en reposo, dolor en movimiento, rigidez matinal, tumefacción de las articulaciones, y una mejora de la capacidad funcional (CIMA ,2016, p. 10).

CAPÍTULO II

2. MARCO METODOLÓGICO

2.1. Lugar de investigación

La investigación se desarrolló en los laboratorios de Tecnología Farmacéutica y Toxicología pertenecientes a la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo “ESPOCH”.

2.2. Tipo de estudio y diseño de la investigación

2.2.1. *Tipo de investigación*

El tipo de investigación según el método utilizado es de tipo cuantitativo ya que se realizó la determinación de la cantidad de principio activo encapsulado, así como la eficiencia de microencapsulación de las microesferas de quitosano; según el objetivo se efectuó una investigación de tipo aplicada, ya que se toma como base la información teórica de las formas farmacéuticas de liberación modificada para generar formulaciones que solucionen los efectos secundarios de los medicamentos de liberación inmediata. Considerando la investigación según su periodo temporal fue transversal ya que se efectuó durante un período académico ordinario.

2.2.2. *Diseño de la investigación*

La investigación es experimental, puesto que se realizó la manipulación de variables medibles, la aplicación de técnicas y métodos científicos; los mismos que permitieron obtener los datos necesarios para deducir que parámetros específicos influyen directamente en la obtención de microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco sódico. El laboratorio donde se realizó permitió al investigador tener condiciones experimentales controladas, así como una manipulación deliberada de las variables.

2.3. Población de estudio

La población de estudio está constituida por las formulaciones de microesferas de quitosano

cargadas de diclofenaco sódico elaboradas mediante el método de emulsión.

2.4. Tamaño de la muestra

La muestra corresponde a la misma población de estudio.

2.5. Método de muestreo

Se aplicó un muestreo no probabilístico por conveniencia puesto que esta técnica permite escoger a las microesferas al azar de acuerdo a los criterios del investigador es decir aquellos casos más accesibles y con mayor proximidad (Otzen y Manterola, 2017, p. 230).

2.6. Variables

2.6.1. Variable dependiente

Características físico-químicas de las microesferas formuladas

2.6.2. Variable independiente

Materias primas usadas en la formulación de microesferas

2.7. Materiales, equipos y reactivos

2.7.1. Materiales de laboratorio

- Vasos de precipitación de 100, 250 y 500 ml
- Balón de aforo de 250, 500 y 100 ml
- Varilla de agitación
- Piseta
- Kitasato de 500 ml
- Embudo Büchner
- Manguera para bomba al vacío
- Cajas Petri

- Pipetas de 5 y 10 ml
- Jeringa de 1 y 10 ml
- Probeta de 100 ml
- Cámara de Neubauer

2.7.2. Equipos

- Balanza Analítica RADWAG AS 220.R2
- Agitador magnético DRAGON LAB MS-S
- Microscopio óptico OLYMPUS CX31
- Bomba de vacío
- Mezclador de alto Cizallamiento Silverson L5M-A
- pH metro BENCHTOPMETER
- Disolutor VanKel VK 6010

2.7.3. Reactivos

- Quitosano desacetilado >90% (CHEMSAVERS)
- Ácido acético 5%
- Aceite mineral
- Éter de petróleo
- Tween-80
- Glutaraldehído 25%
- Bisulfito de sodio 5%
- Hexano
- Agua destilada
- Fosfato monobásico de potasio
- Hidróxido de sodio

2.8. Métodos de recolección de datos

2.8.1. Preparación de soluciones

2.8.1.1. Solución de quitosano al 2%

Debido a que el quitosano se caracteriza por ser un polímero insoluble en agua, pero soluble en soluciones acuosas de ácidos orgánicos, el medio de disolución a elección es el ácido acético, para la cual se procede a:

- Colocar 2 gramos de quitosano en 100 ml de una solución de ácido acético 5% (v/v)
- Adaptar la malla de agujeros cuadrados al mezclador de alto cizallamiento y programar a una velocidad de 2500 rpm
- Homogenizar la mezcla durante 10 minutos hasta observar una solución viscosa (Denkbas et al., 2008, p. 742).

2.8.1.2. Solución aceite mineral/éter de petróleo (60/40)

- Colocar en un vaso de precipitación 60 ml de aceite mineral y 40 ml de éter de petróleo (Denkbas et al., 2008, p. 742).
- Homogenizar por 5 minutos con ayuda de un agitador magnético.

2.8.1.3. Solución tampón fosfato pH 7,5

Para la preparación de 1 litro del medio que pretende simular el pH intestinal:

- Disolver 6,805 g de fosfato monobásico de potasio en 250 ml de agua destilada
- Trasvasar a un balón de aforo de 1000 ml y adicionar 195,5 ml de Hidróxido de sodio 0,2M
- Aforar con agua destilada (USP 41-NF 36, 2018, p.5748).

2.8.1.4. Solución de bisulfito de sodio 5%

Solución utilizada para el lavado de las microesferas una vez reticuladas:

- Colocar 5 g de bisulfito de sodio en 50 ml de agua destilada en agitación constante hasta su completa disolución
- Trasvasar a un balón de 100 ml y aforar con agua destilada (Denkbas et al., 2008, p. 742).

2.8.2. Preparación de microesferas

Las microesferas se preparan mediante el método de micro-emulsión seguido de evaporación del disolvente, el cuál utiliza agentes tensioactivos y reticulantes en constante agitación (Rajitha et al., 2016, p.1179).

A continuación, se describe de forma secuencial el procedimiento de elaboración:

- Colocar 100 ml de la solución aceite mineral / éter de petróleo (60/40, v/v) en un vaso de precipitación de 250 ml.
- Incorporar con ayuda de una jeringa 10 ml de la solución de Quitosano 2% y la cantidad de TWEEN 80 que corresponde en cada formulación (0,5;1;2 ml) respectivamente.
- Colocar en un agitador magnético cada formulación y agitar según lo que se observa en la tabla 2-2 durante 10 minutos.
- Detener la agitación y se colocar 1 ml de glutaraldehído
- Reanudar la agitación y mantenerla durante 1 hora.
- Detener nuevamente la agitación y colocar 0,5 ml de glutaraldehído, se sigue el mismo procedimiento después de transcurrida otra hora más.
- Al final de 3 horas de haberse agitado la solución dejar reposar por aproximadamente 1 hora
- Filtrar al vacío con ayuda de un Kitasato y embudo Büchner con su respectivo papel filtro.
- Lavar las microesferas con 100 ml de agua destilada para quitar el exceso de la fase oleosa, después lavar con 30 ml de éter de petróleo y finalmente con 30 ml de bisulfito de sodio.
- En el caso de observa que presentan residuos de grasa lavar con la suficiente cantidad de agua destilada hasta observar que las esferas están totalmente desengrasadas.
- Secar las microesferas a temperatura ambiente durante 24 horas (Denkbas et al., 2008, p. 742).

2.8.3. Estandarización del método de elaboración de microesferas

Se identificaron dos parámetros que influyen directamente en la obtención de microesferas con las características óptimas, para ello se procede a realizar dos experimentos en los cuáles se modifica la incorporación del agente emulsificante y reticulante. (Denkbas et al., 2008, p. 742).

2.8.4. Incorporación del agente Emulsificante

Se realizan dos formulaciones Tabla 1-2:

- La primera F-A en la cual se incorpora el agente emulsificante antes de la agitación del medio de quitosano.
- La segunda F-B en la que el agente emulsificante se incorpora en forma de hilo mientras el medio de quitosano permanece en agitación constante (Denkbas et al., 2008, p. 742).

Tabla 1-2: Formulaciones utilizadas para la incorporación del agente emulsificante

Formulación	Solución de quitosano 2% (ml)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)	Glutaraldehído 25% (ml)
F-A	10	100	0,5 (antes de la agitación)	1,0:0,5:0,5
F-B	10	100	0,5 (después de la agitación)	1,0:0,5:0,5

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Para continuar con el siguiente paso en la elaboración las microesferas se debe evaluar mediante la visualización microscópica que las microesferas cumplen con una forma esférica y un tamaño de entre 1-1000 μm .

2.8.5. *Elaboración de microesferas de quitosano*

Una vez identificado el mejor método de incorporación de los activos se procede a preparar 3 formulaciones por triplicado utilizando diferentes cantidades de agente estabilizante (TWEEN 80) y manteniendo constante las cantidades de las demás sustancias como se muestra en la tabla 2-2.

Tabla 2-2: Formulaciones para la elaboración de microesferas de quitosano sin principio activo.

Formulación	Solución de quitosano 2% (ml)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)	Glutaraldehído 25% (ml)	Velocidad de agitación (rpm)
F1-1	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F1-2	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F1-3	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F2-1	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500
F2-2	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500
F2-3	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500

F3-1	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500
F3-2	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500
F3-3	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

2.8.6. Elaboración de microesferas de quitosano cargadas con diclofenaco sódico

Para la carga del principio activo seleccionar las formulaciones que dan como resultado microesferas con mejores características morfológicas.

Las cantidades de principio activo que se incorporan para las formulaciones es de 0,25 y 0,50 g como se detalla en la tabla 3-2.

A continuación, se describe de forma detalla cada uno de los pasos para incorporar el principio activo durante la formulación.

- Colocar 10 ml de la solución de quitosano 2% en un vaso de precipitación y adicionarla cantidad de principio activo de acuerdo con la tabla 3-2
- Homogenizar con ayuda de un mezclador de alto cizallamiento adaptando la malla de agujeros cuadrados, programar una velocidad de 2500 rpm durante 20 minutos hasta observar una solución viscosa (Solución A) (Denkbas et al., 2008, p. 742)
- Colocar 100 ml de la solución aceite mineral / éter de petróleo (60/40, v/v) en un vaso de precipitación de 250 ml (Solución B)
- Incorporar con ayuda de una jeringa 10 ml de la Solución A en Solución B
- Incorporar TWEEN 80 como corresponde en cada formulación (0,5;1;2 ml) respectivamente.
- Colocar en un agitador magnético a 1500 rpm durante 10 minutos.
- Detener la agitación y colocar 1 ml de glutaraldehído
- Reanudar la agitación y mantenerla durante 1 hora.
- Detener la agitación y colocar 0,5 ml de glutaraldehído reanudando la agitación durante 1 hora
- Detener la agitación y colocar 0,5 ml de glutaraldehído reanudando la agitación durante 1 hora más
- Dejar reposar la emulsión formada durante 1 hora
- Filtrar al vacío con ayuda de un Kitasato y embudo Büchner con su respectivo papel filtro.
- Lavar las microesferas con 100 ml de agua destilada para quitar el exceso de la fase oleosa, después lavar con 30 ml de éter de petróleo y finalmente con 30 ml de bisulfito de sodio.
- En el caso de observa que presentan residuos de grasa lavar con la suficiente cantidad de agua destilada hasta observar que las esferas están totalmente desengrasadas.

- Secar las microesferas a temperatura ambiente durante 24 horas (Denkbas et al., 2008, p. 742).

TABLA 3-2: Formulaciones para la elaboración de microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco sódico.

Formulación	Solución de quitosano 2% (ml)	Cantidad de principio activo (g)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)	Velocidad de agitación (rpm)
F1a	10	0,25	100	0,5	1500
F1b	10	0,50	100	0,5	1500
F2a	10	0,25	100	1	1500
F2b	10	0,50	100	1	1500

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

2.8.7. *Mecanismo de secado*

El secado de las microesferas se realiza a temperatura ambiente dejando reposar en una superficie que absorba la humedad y que a su vez no puede devolverla a las esferas.

Las microesferas se depositan en papel Kraft dejando reposar durante 24 horas en un lugar fresco y separados de otras zonas que puedan generar algún tipo de contaminación (Olivera et al., 2012, p.240).

2.8.8. *Caracterización físico-química de microesferas*

2.8.8.1. *Tamaño y morfología*

Para la evaluación física de las microesferas se usa un microscopio óptico OLYMPUS CX31 utilizando el objetivo de 40X y se procede a:

- Colocar una cámara de Neubauer en el objetivo del microscopio
- Seleccionar de forma aleatoria 4 esferas de cada formulación y con ayuda de una aguja colocarla en la cuadrícula de la cámara para posteriormente alinearla y determinar su tamaño.
- Medir el diámetro de Feret ya que las microesferas no presentan sus bordes completamente esféricos, sino que tienen irregularidades microscópicas como se observa en la figura 1-2. Se mide la distancia que existe entre las dos tangentes en lados opuesto de la micropartícula (Raposo, 2014, p.19).

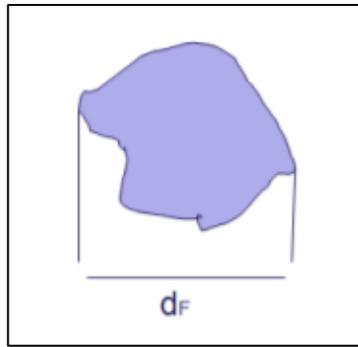


Figura 1-2: Diámetro de Feret.

Fuente: Raposo, 2014.

Como se puede observar en la imagen figura 2-2 las dimensiones de las cuadrículas permiten determinar el tamaño aproximado de las microesferas, tomando como valor mínimo un tamaño de 0,25 mm se procede a medir en el cuadrante medio izquierdo delineado de color azul (Garrait et al., 2014, p.363) (Budianto et al., 2020, p.525).

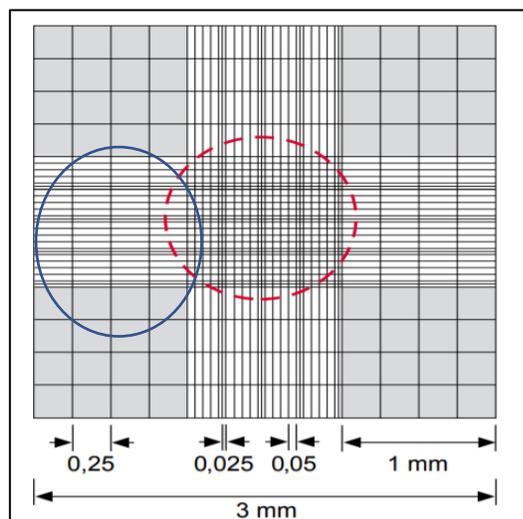


Figura 2-2: Cámara de Neubauer con sus dimensiones

Fuente: Marienfeld, 2021.

2.8.8.2. Pérdida de humedad

Método gravimétrico:

- Pesar las microesferas una vez lavadas
- Pesar las microesferas después de secarlas durante 24 horas a temperatura ambiente (Martines

et al., 2010, p.2). A continuación, se muestra la fórmula a usar:

$$\text{Pérdida de humedad (\%)} = \left(\frac{m-m1}{m} \right) \times 100$$

Siendo:

m: peso(gramos)de microesferas antes de la deshidratación

m1: peso (gramos) de microesferas después de la deshidratación.

2.8.8.3. Rendimiento de las formulaciones de microesferas

Esta determinación permite conocer cuál es la mejor formulación respecto a la cantidad final de microesferas obtenidas. De esta forma se procede a:

- Pesarse las sustancias sólidas utilizadas en la emulsión
- Pesarse las microesferas después de filtradas, así como se muestra en la siguiente fórmula (Zava et al., 2014, p.119).

$$\text{Rendimiento (\%)} = \left(\frac{ME}{MS} \right) \times 100$$

Donde:

ME: peso de las microesferas

MS: peso del material sólido utilizado

2.8.8.4. Cuantificación de principio activo

Para determinar la cantidad de fármaco encapsulado en las microesferas se procedió a elaborar una curva de calibración utilizando un estándar de diclofenaco sódico y midiendo la absorbancia por espectrofotometría UV a una longitud de onda de 276 nm, utilizando como blanco el medio tampón fosfato pH 7,5.

A continuación, se detalla el proceso de cuantificación de principio activo para las microesferas obtenidas de cada formulación:

- Pesarse 100 mg de microesferas y triturar con ayuda de un mortero hasta su pulverización.
- Colocar el pulverizado en un balón de aforo de 10 ml y aforar con solución tampón fosfato pH 7,5.
- Filtrar y medir por espectrofotometría UV a una longitud de onda de 276 nm.

2.8.8.5. Eficiencia de microencapsulación

Este parámetro es un indicativo de calidad del método utilizado, por lo tanto, mientras se encapsule una mayor fracción del fármaco indicaría que el método tiene una mayor eficiencia de microencapsulación (Saez, 2007, p.104).

Para el cálculo se expresa en términos de porcentaje haciendo uso de la siguiente fórmula:

$$\text{Eficiencia de microencapsulación (\%)} = \left(\frac{\text{Carga práctica del fármaco}}{\text{Carga teórica del fármaco}} \right) \times 100$$

Donde:

Carga práctica del fármaco: Cantidad de fármaco en las microesferas una vez lavadas y secadas.

Carga teórica del fármaco: Cantidad de fármaco colocado inicialmente en la solución de quitosano asumiendo que no existió ninguna pérdida durante la elaboración (Mitra y Dey, 2011, p.357).

2.8.8.6. Cinética de disolución

Se sigue el procedimiento de desempeño para tabletas de liberación prolongada de diclofenaco sódico descrito en la USP 41-NF 36 utilizando un disolutor modelo VanKel VK 6010 y en las condiciones que se detallan en la tabla 5-2.

Tabla 4-2: Condiciones para la cinética de disolución de microesferas con diclofenaco sódico.

MEDIO	900 ml de solución amortiguadora de fosfato pH 7,5
APARATO	2
ALÍCUOTA	5 ml
TIEMPOS DE TOMA DE ALÍCUOTA	1,2,4,6,10 horas
DETECTOR	Espectrofotómetro UV 276 nm

Fuente: USP 41-NF 36, 2018, p.5748.

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

CAPÍTULO III

3. MARCO DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se obtuvieron los resultados del proceso de elaboración de microesferas de liberación prolongada, realizando formulaciones experimentales en dos etapas: la primera se basó en la elaboración de microesferas sin contener el principio activo y en la segunda etapa se elaboraron microesferas cargadas de diclofenaco sódico, los cuales se detallan a continuación.

3.1. Estandarización del método de elaboración de las microesferas

3.1.1. Incorporación del agente emulsificante Tween 80

Se elaboraron dos formulaciones incorporando el agente tensoactivo en dos etapas distintas: antes de iniciar la agitación y después, como se observa en la tabla 1-3.

TABLA 1-3: Formulaciones utilizadas para la incorporación del agente emulsificante

Formulación	Solución de quitosano 2% (ml)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)
F-A	10	100	0,5 (antes de la agitación)
F-B	10	100	0,5 (después de la agitación)

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Una vez realizada la incorporación del agente emulsificante en las dos formulaciones, se observó en F-A la formación de pequeñas esferas traslúcidas distribuidas de forma homogénea en todo el medio, a medida que se incorporaba el glutaraldehído su coloración amarillenta-marrón aumentó gradualmente su intensidad debido a la formación de enlaces cruzados entre cadenas (Patil et al., 2010, p.325).

Como establece un estudio similar la utilización de una combinación de parafina líquida y éter de petróleo permite obtener microesferas en forma monodispersa, y que fluyen libremente junto con un tamaño uniforme y más pequeño respecto a las formulaciones en las que únicamente se utiliza parafina; el éter de petróleo permite una mayor difusión del agente reticulante agregado y, por lo tanto, una reticulación uniforme y eficiente de las gotas muy pequeñas (Piush et al., 2009, p. 1299).

Para F-B no existió la formación de esferas, sino que dio lugar a una masa naranja de aspecto gelatinoso provocando un fenómeno asociado a la inestabilidad física conocido como “cremado”. Este fenómeno se asume fue causado por una diferencia de densidad de las gotas y el medio, es decir la densidad de la fase dispersa fue menor que la del medio (Tadros, 2009, p.32). El fenómeno del cremado es un mecanismo de inestabilidad física que provoca la separación de las fases, y surge cuando las gotas tienen una densidad menor que la fase dispersa y terminan migrando a la superficie, sin embargo, puede evitarse si se reduce el tamaño de la gota, si se minimiza la diferencia de densidades o si incrementa la viscosidad de la fase continua (Alvarez, 2016, p. 15). La formación de esa crema o nata impidió continuar con la agitación del medio y, por lo tanto, se escogió a F-A para continuar con el método de elaboración de microesferas de quitosano.

3.2. Caracterización físico-química de microesferas

3.2.1. Tamaño y morfología

3.2.1.1. Tamaño de microesferas de quitosano sin principio activo

Para realizar las formulaciones de las microesferas se mantuvo constante condiciones detalladas en la tabla 2-3.

Tabla 2-3: Formulaciones para la elaboración de microesferas de quitosano sin principio activo.

Formulación	Solución de quitosano 2% (ml)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)	Glutaraldehído 25% (ml)	Velocidad de agitación (rpm)
F1-1	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F1-2	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F1-3	10	100	0,5	1,0:0,5:0,5	1500
F2-1	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500
F2-2	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500
F2-3	10	100	1,0	1,0:0,5:0,5	1500
F3-1	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500
F3-2	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500
F3-3	10	100	2,0	1,0:0,5:0,5	1500

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Tabla 3-3: Tamaño de microesferas de quitosano sin principio activo.

Formulación	Mediciones (μm)			Media (μm)
	1	2	3	
F1	650	700	675	675
F2	400	450	425	425
F3	250	300	275	275

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Dentro del método de emulsión los principales factores que condicionan el proceso son la interfase agua-aceite, la reacción de entrecruzamiento y la velocidad de agitación, para conseguir partículas con un tamaño de entre 0,5-1000 μm (Zárate et al, 2021, p. 24). Las medidas obtenidas en las formulaciones que no contienen principio activo oscilan entre un tamaño de 275-675 μm , lo cual se encuentra dentro del rango de 1-1000 μm (Lozano, et al., 2012, p.51) por lo que todas fueron aceptadas para el estudio. La variación en tamaño estuvo condicionada por la cantidad de agente tensioactivo (tween 80) colocado en las formulaciones, deduciendo que, a mayor cantidad de tensioactivo menor tamaño de partícula. Este fenómeno se debe a una disminución en la tensión interfacial que existe entre las gotitas acuosas y el medio de suspensión orgánico, dando como resultado un aumento en la concentración del emulsionante (Denkbas et al., 2008, p.744).

El tamaño de partícula y su forma están relacionados con la velocidad de disolución, puesto que ha menor tamaño de las microesferas existirá una mayor superficie de contacto (Vila, 2008, p.37). Un estudio sobre “influencia de los diferentes parámetros involucrados en la microencapsulación mediante coacervación complejas”, determinó que, se pueden alcanzar microesferas estables cuando se alcanzan concentraciones de tensioactivo mayor a su concentración micelar crítica y que además, el tamaño de las partículas depende de factores experimentales como el tipo de tensioactivo, su balance hidrófilo-lipofílico (HLB) y la velocidad de agitación (García, 2019, p. 103).

3.2.1.2. *Tamaño de microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco sódico*

Para la siguiente etapa se incorporó el diclofenaco sódico a las formulaciones, sin embargo, en la F3 al adicionar la solución de quitosano con 1,0 g de principio activo se observó el fenómeno de inestabilidad física conocido como cremado, caso similar fue reportado en una investigación donde se evidenció que 0,5 g es la mayor cantidad de compuesto farmacológico que pudo incorporar en las microesferas de quitosano cargadas de rutina, ya que se observó la formación de macroagregados cuando se añadió mayores cantidades del activo (Cosco et al., 2016, p. 12). Por lo tanto, para continuar

con el proceso se seleccionaron las formulaciones F1 y F2.

Tabla 4-3: Formulaciones para elaborar microesferas cargadas de diclofenaco sódico.

Formulación	Cantidad de principio activo (g)	Solución de quitosano 2% (ml)	Solución éter de petróleo/parafina líquida (60/40, v/v) (ml)	Tween 80 (ml)
F1a	0,25	10	100	0,50
F1b	0,50	10	100	0,50
F2a	0,25	10	100	1,0
F2b	0,50	10	100	1,0

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Para determinar el tamaño de las microesferas con principio activo se realizó la medición por triplicado y se obtuvo el tamaño promedio para las diferentes formulaciones como se muestra en la tabla 5.3.

Tabla 5-3. Tamaño de microesferas de quitosano cargadas con diclofenaco sódico.

Formulación	Mediciones (μm)			Media (μm)	Desviación estándar
	1	2	3		
F1a	700	750	750	735	28,875
F1b	700	800	750	750	50,000
F2a	450	400	400	415	28,875
F2b	600	650	650	635	28,875

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

El tamaño de las microesferas de quitosano cargadas de principio activo oscila entre 415-750 μm , en comparación con las microesferas sin carga se produjo un incremento significativo como se observa en la tabla 3-3 y 5-3, resultado que se atribuye al aumento de sustancia sólida (diclofenaco sódico) en la formulación. Según referencias bibliográficas el tamaño de partícula para microesferas están dentro del rango aceptable de 1- 1000 μm (Zárate et al, 2021, p. 24).

Un estudio en el que se elaboró microesferas por el método de emulsión bajo condiciones similares explica que este incremento de tamaño estaría producido por un aumento en la viscosidad de solución de quitosano al adicionar el diclofenaco sódico (Denkbas, 2009, p.746). Además, el área superficial específica se ve aumentada cuando disminuye el tamaño de las microesferas, resultando en un aumento de la energía de Gibbs y la agregación espontánea de las microesferas de quitosano

(Xiong et al, 2012, p.2338).

Un estudio sobre el “Comportamiento de la tensión superficial en la interfase agua-aceite W/O y su influencia en la estabilidad de las emulsiones”, determinó que, al aumentar la cantidad de emulsionante, se observó la disminución del tamaño de las microesferas, debido a que, conforme incrementa la cantidad o concentración del surfactante hay una disminución del tamaño o área por molécula, lo cual se relaciona con los resultados obtenidos en la investigación (Pilotzi, 2016, p. 29).

3.2.2. Pérdida de humedad en microesferas

Se realizó la determinación del porcentaje de agua eliminada por deshidratación o pérdida de humedad de las formulaciones tanto sin principio activo como con adición de diclofenaco de sodio.

Tabla 6-3: Porcentaje de pérdida de humedad en microesferas sin principio activo

Formulación	Pérdida de humedad (%)			Media (%)	Desviación estándar
	1	2	3		
F1	85,90	86,10	85,80	85,93	0,152
F2	93,60	93,80	93,80	93,73	0,115
F3	79,80	79,60	79,70	79,7	0,100

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Tabla 7-3: Porcentaje de pérdida de humedad en microesferas con diclofenaco sódico

Formulación	Pérdida de humedad (%)			Media (%)	Desviación estándar
	1	2	3		
F1a	88,80	89,00	88,90	88,90	0,100
F1b	84,15	84,17	85,00	84,44	0,485
F2a	84,00	84,10	84,10	84,06	0,057
F2b	85,95	85,97	85,95	85,95	0,011

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Al realizar el análisis de humedad en las formulaciones con diclofenaco de sodio se determinaron valores entre 84% y 88%, debido a que las microesferas son formas farmacéuticas que se caracterizan por perder gran cantidad de agua, aproximadamente un 90%, lo que concuerda con los resultados obtenidos en un estudio sobre “Elaboración de microesferas mucoadhesivas utilizando alginato sódico y quitosano”, en el que se obtuvo valores semejantes a este estudio, entre 89%-90% para las tres formulaciones planteadas (Villaruel 2016, p. 55).

Como se evidencia en la tabla 6-3 a pesar de que la formulación F3 tuvo una menor desviación

estándar no pudo ser considerada para la elaboración de las microesferas por el fenómeno de cremado que se explicó anteriormente en el apartado de estandarización del método de elaboración. Sin embargo, al comparar las desviaciones entre las formulaciones de la Tabla 6-3 y 7-3 se evidenció que las formulaciones F2, F2a y F2b presentan una menor desviación estándar; siendo F2b la que obtuvo la desviación más baja como se observa en la tabla 7-3, mantienen valores con menor dispersión y por lo tanto se consideró la formulación que presenta las mejores condiciones de elaboración.

El quitosano es capaz de retener gran cantidad de agua debido a la presencia de grupos hidrófilos – NH₂, lo que le confiere una alta afinidad hacia el agua, y por lo tanto porcentaje de humedad es un parámetro que mide de forma indirecta la capacidad de hinchamiento del quitosano en el proceso de hidratación (George y Abraham 2015, p. 7). Resulta importante realizar el proceso de deshidratación, debido a que, la humedad residual o presencia de agua en las microesferas puede provocar efectos indeseables en la matriz del polímero, sin embargo, esto depende de la técnica de obtención para la microencapsulación y del método de secado (Saez et al, 2012, p. 104). De igual forma como se indica en el estudio titulado “Síntesis de microesferas de polímeros biodegradables para la liberación controlada de medicamento” la gran pérdida de humedad indicaría que la evaporación del solvente en la síntesis de las microesferas es casi total (Pacheco, 2017, p.93).

3.2.3. Rendimiento de las formulaciones de microesferas cargadas de diclofenaco sódico

Los resultados obtenidos en el rendimiento de la producción de microesferas con diclofenaco de sodio varían entre el 15-22%, con un valor medio de 18,96% como se observa en la Tabla 8-3, siendo un valor aproximado a la investigación de Villaroel en el que se utilizan condiciones similares y obtuvo microesferas con un rendimiento del 23,56-26,46% (Villaroel, 2015, p.56).

Tabla 8-3: Cálculo del rendimiento de las formulaciones cargadas de principio activo.

Formulación	Cantidad de DS (g)	Cantidad de quitosano (g)	Cantidad de glutaraldehído (g)	ME (g)	Rendimiento (%)
F1a	0,25	2,0	2,0	0,9385	22,082
F1 b	0,50	2,0	2,0	0,7736	17,190
F2 a	0,25	2,0	2,0	0,9094	21,549
F2 b	0,50	2,0	2,0	0,6763	15,028
Media					18,963

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Investigaciones más recientes han alcanzado valores de 53,67-72,52% (Nagda et al., 2010, p.446), 54% (García et al., 2014), 71%-73% (Rodríguez, 2016, p. 19) e incluso 77%-88% (Pastor y Mormontoy 2015, p. 86). Como se evidencia las formulaciones con menor cantidad de principio activo son las que presentan un mayor porcentaje de rendimiento, situación similar a la que se presentó en una investigación en la que se elaboraron microesferas de quitosano cargadas de rutina (Cosco et al., 2016, pp. 12-13). No existe un rango específico de rendimiento aceptable, sin embargo, como evidencia varios autores existe mejor rendimiento cuando se elabora microesferas utilizando otra técnica de microencapsulación como el método de secado por aspersión (Nava et al. 2015, p. 64) (Rodríguez, 2016, p. 19).

3.2.4. *Curva de calibración para cuantificar el principio activo*

La cuantificación del diclofenaco de sodio encapsulado se realizó mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 276 nm, obteniendo los resultados que se muestran a continuación.

Tabla 9-3: Concentración de principio activo vs absorbancia.

Concentración (mg/ml)	Absorbancia (nm)
0	0
0,0025	0,085
0,0050	0,178
0,0075	0,251
0,010	0,331
0,0125	0,414

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

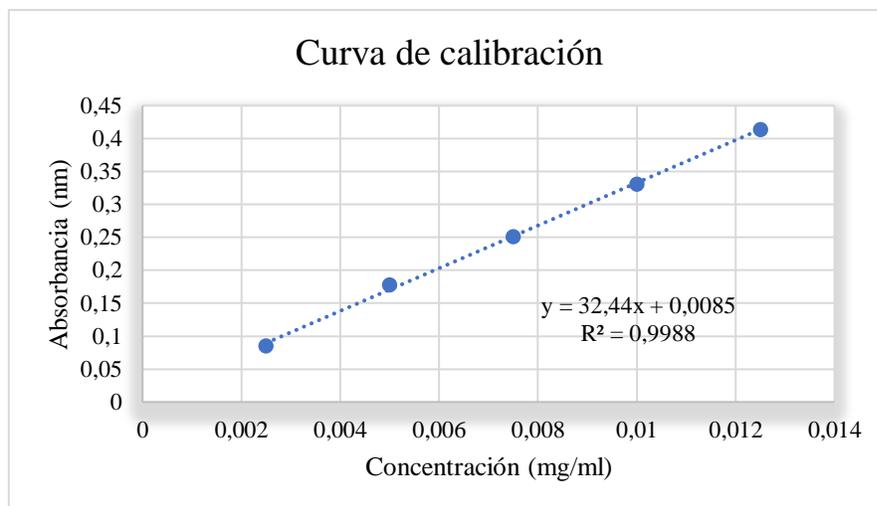


Gráfico 1-3. Curva de calibración del diclofenaco de sodio

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Se elaboró una curva de calibración con concentraciones entre 0-0,125 mg/ml obteniendo un modelo lineal con un coeficiente de correlación de $r^2=0,998$ indicando una proporcionalidad lineal adecuada y garantizando la confiabilidad de los resultados al cumplir con la ley de Beer.

3.2.5. Eficiencia de microencapsulación

Al evaluar la cantidad de diclofenaco sódico en las cuatro formulaciones, se obtuvieron los resultados presentados a continuación.

Tabla 10-3: Cuantificación de principio activo en las formulaciones

Formulación	Concentración (mg/ml)
F1a	0,6940
F1b	1,3905
F2a	0,6952
F2b	1,4420

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Tabla 11-3: Eficiencia en la microencapsulación de diclofenaco sódico

Formulación	Carga práctica (mg/ml)	Carga teórica (mg/ml)	Eficiencia de encapsulación (%)
F1a	0,6940	2,5	26,15
F1 b	1,3905	5,0	27,81
F2 a	0,6952	2,5	27,76
F2 b	1,442	5,0	28,84

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

La mejor eficiencia de microencapsulación la obtuvo la formulación F2b con 28,84% de diclofenaco sódico encapsulado. A pesar de no tener un límite mínimo de porcentaje de microencapsulación, se tomó como referencia estudios que presentaron condiciones de elaboración similares. La investigación que más se aproximó a los resultados obtenidos en esta investigación es la presentada por Garcés, en la que se obtuvo valores de entre 31,97-34,11% (Garcés 2018, p.46). Otras investigaciones muestran resultados de 23-29% (Kumbar et al., 2002, p. 178), 42,62-67,24% (Patil et al., 2010, p.), 65,3% (Park et al., 2012, p. 701), y 79% (Wanqing et al, 2018). Según bibliografía el método de secado por aspersión proporcionaría una mayor capacidad de microencapsulación con valores aproximadamente del 96% (Suárez y Brito 2020, p. 85).

Al comparar las eficiencias de microencapsulación entre formulaciones se determinó que F1b y F2b presentaron mayor eficiencia de microencapsulación que F1a y F2a, por lo que se pudo deducir que a mayor cantidad de principio activo existe una mayor eficiencia de microencapsulación. Caso similar ocurre en un estudio realizado por Cosco en el se encapsuló rutina en microesferas de quitosano, afirmando que “un aumento en la concentración de fármaco aumenta la eficiencia de encapsulación” (Cosco et al., 2016, p.11). Este fenómeno se explica ya que al existir un aumento en la carga de fármaco pudo causar un aumento de la viscosidad de la dispersión polimérica, que disminuye la probabilidad de difusión del fármaco en el fase externa durante la preparación, lo que resulta en una mayor eficiencia de microencapsulación (Patil et al., 2010, p.326).

La baja eficiencia de microencapsulación según bibliografía podría deberse a la interacción entre el quitosano, glutaraldehído y fármaco, ya que al mezclarse el quitosano con ácido acético el grupo amina del quitosano se protona, lo cual provoca interacciones con el grupo hidroxilo terminal del glutaraldehído, disminuyendo la interacción con el fármaco y como resultado una baja eficiencia de encapsulación (Cosco et al., 2016, p.11).

3.2.6. Cinética de disolución

El perfil de disolución se evaluó utilizando la formulación F2b, al haber presentado la mayor eficiencia de microencapsulación. La liberación del principio activo fue evaluada en un tiempo de 10 horas como se muestra a continuación.

Tabla 12-3: Tabla de Aceptación 2
para la Prueba de
Disolución 2 de la USP

Tiempo (HORA)	Cantidad disuelta (%)
1	No más de 28
2	20-40
4	35-60
6	50-80
10	No menos de 65

Fuente: USP 41-NF 36, 2018, p.5748.

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Tabla 13-3: Cinética de disolución de
F2b

Tiempo (HORA)	% p.a. liberado
1	22,3
2	27,6
3	32,1
4	37,4
5	66,7
6	71,5
7	74,0
8	79,2
9	81,1
10	84,4

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

Se determinó que, todos los resultados obtenidos del porcentaje de principio activo liberado se encontraron dentro del rango de aceptación especificado por la USP39-NF34 sobre la prueba de disolución de diclofenaco sódico de liberación prolongada. Se obtuvo a las 1, 2, 4 y 6 horas una liberación del principio activo de 22,3%, 27,65, 37,4% y 71,5% respectivamente, lo que indica un

cumplimiento de la prueba de disolución 2 (Tabla 12-3), donde se menciona que, hasta las 6 horas debe haber una cantidad disuelta del 50-80% del fármaco. Al término del ensayo a las 10 horas se obtuvo el 84,4% de principio activo liberado, cumpliendo con lo especificado en la USP de una cantidad disuelta no menor al 65% como se evidencia en la Tabla 13-3 (USP 2016, p. 3183).

Los datos concuerdan con los resultados obtenidos en otros estudios, donde se menciona que al realizar el ensayo de disolución por 10 horas se obtuvo el 86,4% de diclofenaco sódico liberado (Garcés 2018, p. 48). De igual forma un estudio de microesferas de quitosano cargadas de rutina evidenció una velocidad de liberación rápida en el intervalo de tiempo entre 0-8 h en el que se liberaba el 60-80 %, seguida de una velocidad de liberación más lenta hasta las 24 h (Cosco et al., 2016, p. 12).

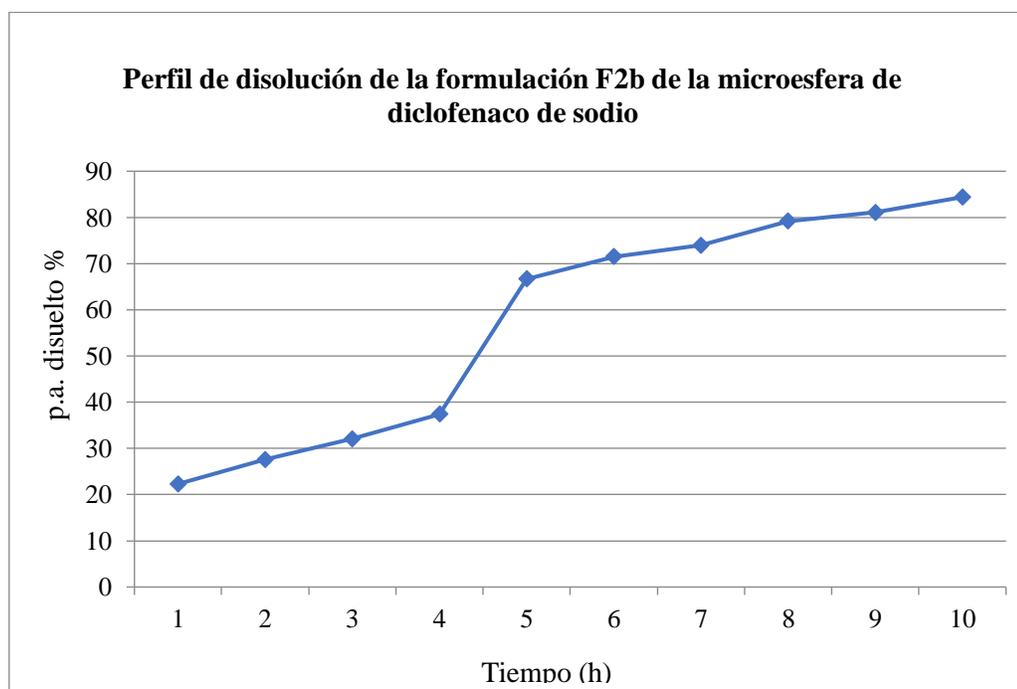


Gráfico 2-3. Perfil de disolución de las microesferas con diclofenaco de sodio

Realizado por: Cano, Josselyn, 2022.

En la gráfica 2-3 se puede visualizar la liberación del diclofenaco de sodio durante un período de 10 horas, apreciando que el porcentaje de disolución del principio activo aumenta de forma progresiva a medida que transcurre el tiempo, lo que indica que la formulación F2b es estable, ya que el medio no altera la liberación del fármaco. La liberación prolongada del fármaco se explica por la facilidad del quitosano a retener agua en su matriz, lo que provoca que el diámetro de los poros disminuya o incluso desaparezca, por consecuencia el canal de los poros se cierra y la posterior liberación del fármaco solo puede propagarse lentamente a través del esqueleto. Además, se forma una matriz más

densa, lo que dificulta que las partículas de diclofenaco sódico se difundan a través de la capa de gel viscoso de la matriz, lo que ralentiza su liberación (Wanking et al., 2018).

Entre la cuarta y quinta hora se observa una liberación rápida del diclofenaco sódico, este fenómeno se conoce como efecto “*burst*”, lo cual podría explicarse por una distribución no homogénea del principio activo en el interior de la matriz polimérica de quitosano. Esto se traduce en un estallido en la liberación ligada a una degradación del polímero, debido a la presencia de poros en la superficie de la microesfera, lo que facilita su liberación hacia el medio de disolución. En estos sistemas se buscaría que el efecto Burst sea nulo para garantizar que el principio activo se libera de forma prolongada y no exista una liberación en proporciones que causen efectos tóxicos. La cinética de la liberación aumenta con el contenido de fármaco como corresponde con la formulación F2b que es aquella que presenta la mayor cantidad de fármaco (0,5 g) (Abbasnezhad et al., 2021, p.9).

CONCLUSIONES

Se determinó que la etapa de incorporación del agente reticulante es crucial para la formación inicial de las microesferas, las formulaciones F-A y F-B generan una matriz polimérica que permiten obtener microesferas con características que cumplen con los criterios de aceptación, para poder ser cargadas con el principio activo y ser objeto de evaluación físico-química.

Las formulaciones F1 (a y b) y F2 (a y b) cumplieron con los criterios de presentar una forma relativamente esférica y cuyo tamaño de partícula no supera 1 mm, lo cual las hace óptimas para ser parte de una forma farmacéutica de liberación prolongada y de esta manera mitigar los efectos adversos que producen las formas farmacéuticas de liberación inmediata.

La técnica de microemulsión seguida de evaporación del disolvente permitió obtener microesferas con una eficiencia de microencapsulación cercana al 30%, y una liberación del principio activo que cumple con las especificaciones de la USP39-NF34 para diclofenaco sódico de liberación prolongada. Por lo tanto, la matriz polimérica de quitosano presenta condiciones adecuadas para ser cargada con principio activo, y son formas farmacéuticas óptimas para la liberación prolongada de diclofenaco sódico; siendo de utilidad para la disminución de los efectos adversos producidos por la farmacoterapia con antiinflamatorios no esteroideos de liberación inmediata.

RECOMENDACIONES

Realizar modificaciones en el método de elaboración y variables con el objetivo de mejorar la eficiencia de encapsulación del principio activo y evitar el efecto “*burst*”

Analizar las microesferas de quitosano por Microscopía Electrónica de Barrido con el fin de obtener una caracterización morfológica mucho más precisa y detallada.

Estudiar la estabilidad para determinar si las microesferas de quitosano cargadas de diclofenaco son aptas para continuar con la experimentación *in vitro*.

Evaluar si el fenómeno de cremado puede ser solucionado con la adición de otras sustancias que ayuden a estabilizar la emulsión.

Experimentar con otras sustancias que presenten compatibilidad con la matriz polimérica de quitosano.

BIBLIOGRAFÍA

ABBASNEZHAD, N; et al. “*Development of a Model Based on Physical Mechanisms for the Explanation of Drug Release: Application to Diclofenac Release from Polyurethane Films*”. *Polymers*. [En línea], 2021, Paris-Francia, 13 (1230), p.9. [Consulta: 28 febrero 2022]. DOI: 10.3390/polym13081230. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8069626/>

ANUBHUTI, J; et al. “*Biobased technologies for the efficient extraction of biopolymers from waste biomass*”. *Bioprocess and Biosystems Engineering*. [En línea], 2019, (Germany) 42(12), pp.1893-1901. [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31542821/>

AKBAR, A. y AHMED, S. “*A review on chitosan and its nanocomposites in drug delivery*”. *Int J Biol Macromol*. [En línea], 2017, 1 (109), pp.273-286. [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29248555/>

ASSE. *Boletín de ASSEsalud fármacos y farmacovigilancia*. [En línea].Vol 4. Montevideo-Uruguay, 2019. [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: <https://www.asse.com.uy/contenido/Farmacos-y-Farmacovigilancia--Boletin-N-1-9491>

BARRAGÁN, C; et al. “*Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman*”. *Journal CIM*. [En línea], 2016, 4(1), pp.769-776. [Consulta: 21 julio 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/309493340_Determinacion_del_grado_de_desacetilacion_de_quitosana_mediante_titulacion_potenciometrica_FTIR_y_Raman

BEPPU, M: et al. “*Crosslinking of chitosan membranes using glutaraldehyde: Effect on ion permeability and water absorption*”. *Elsevier*. [En línea], 2007, pp. 126-130. [Consulta: 15 marzo 2021]. DOI:10.1016/j.memsci.2007.06.015. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0376738807003912>

BUDIANTO, E: et al. “*Environmental friendly carrier material for nifedipine as hypertension drug*”. *Global Journal of Environmental Science and Management*. [En línea], 2020, pp.523-536. [Consulta: 28 febrero 2021]. Disponible en: https://www.gjesm.net/article_39691.html

BULUT, E. "Ibuprofen microencapsulation within acrylamide-grafted chitosan and methylcellulose interpenetrating polymer network microspheres: Synthesis, characterization, and release studies". *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. [En línea], 2015. [Consulta: 30 junio 2020]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full>

CAN, U et al. "Development of reconstitutable suspensions containing diclofenac sodium-loaded microspheres for pediatric delivery". *Journal of microencapsulation*. [En línea], 2015. [Consulta: 19 mayo 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.3109/02652048.2015.1017616>.

CHAMBERGO, J; et al. "Estudio del Comportamiento Fluido-Dinámico de un Agitador a Escala Reducida Mediante Simulación Numérica". *Información Tecnológica*. [En línea], 2017, 28(3), pp. 37-46. [Consulta: 1 agosto 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v28n3/art05.pdf>

CIMA. Diclofenaco STADA 50 mg comprimidos gastrorresistentes EFG [Ficha técnica]. Barcelona-España. Septiembre 2016, pp. 10-11. [Consulta: 2 diciembre 2021]. Disponible en: https://cima.aemps.es/cima/pdfs/es/ft/63750/63750_ft.pdf

COSCO, D et al. "Rutin-loaded Chitosan Microspheres: Characterization and Evaluation of the Anti-Inflammatory Activity". *Carbohydrate Polymers* [en línea], 2016, pp.10-15. [Consulta: 15 diciembre 2021]. DOI: 10.1016/j.carbpol.2016.06.039. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27516307/>

COSTA, E. et al., "Sistemas matriciales". *Acta Farmaceutica Bonaerense* [En línea], 2004, 23 (2), pp. 259-265. [Consulta: 1 de agosto 2020]. ISSN 03262383. Disponible en: http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/2/LAJOP_23_2_6_1_0PM30H5NDZ.pdf.

DENKBAS, E. et al., "5-Fluorouracil loaded chitosan microspheres for chemoembolization". *Journal of Microencapsulation*. [En línea], 2008, pp. 741-749. [Consulta: 28 de febrero 2021]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/026520499288681>

ENRÍQUEZ, G. et al. "Formulation Development and In vitro Evaluation of Oral Extended-release Capsules Containing Biodegradable Microspheres". *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. [En línea], 2014, 208(5). [Consulta: 28 mayo 2020]. Disponible en: <https://www.longdom.org/open-access/aformulation-development-and-in-vitro-evaluation-of-oral-extendedrelease-capsules-containing-biodegradable-microspheres-2157-7439-5-208.pdf>

FLORES, E; et al. “*El protocolo de investigación VI: cómo elegir la prueba estadística adecuada. Estadística inferencial*”. *Rev Alerg Mex.* [En línea], 2017, 64(3), pp.364-370. [Consulta: 1 agosto 2020]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/ram/v64n3/2448-9190-ram-64-03-0364.pdf>

GARCÍA, J; et al. “*Recubrimiento de microesferas de quitosana-ibuprofeno con un complejo interpolimérico pH dependiente*”. *Revista cubana de farmacia* [en línea], 2014, (Cuba) 48(4). [Consulta: 1 agosto 2020]. ISSN: 1561-2988. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152014000400013

GARCÍA, O. *Estudio de la influencia de los diferentes parámetros involucrados en la microencapsulación mediante coacervación compleja.* (Tesis doctoral). Universitat Politècnica de Catalunya. Barcelona. 2019.

GARCÉS, J. *Elaboración de microesferas de diclofenaco sódico por gelación ionotrópica para la obtención de formas farmacéuticas sólidas de liberación prolongada* (Trabajo de titulación). Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador. 2018.

GARRAIT, G et al., “*Development of a novel drug delivery system: chitosan nanoparticles entrapped in alginate microparticles*”. *Journal of microencapsulation.* [en línea], 2014, pp.363-372. [Consulta: 15 marzo 2021]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24697173/>

GARZÓN, A et al., “*Estado del arte en biocompatibilidad de recubrimientos*”. *Revista Visión Electrónica.*[En línea], 2012, 7(1), pp. 160 - 177.[Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: <https://revistas.udistrital.edu.co/index.php/visele/article/view/4398>

GIRALDO, J. “*Propiedades, obtención, caracterización y aplicaciones del quitosano*”. *Universidad de Talca* [En línea], 2015, (Chile). Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/277302110>

GRENHA, A. “*Chitosan nanoparticles: a survey of preparation methods*”. *J. Drug Target.* [En línea], 2012, 20(4), pp.291-300.[Consulta: 26 julio 2020]. Disponible: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22296336/>

HEMBRAM, K et al., “*Advances in preparation and characterization of chitosan nanoparticles for therapeutics*”. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology.* [En línea],

2014, 44(1), pp.305-314.[Consulta: 21 julio 2020]. Disponible en:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25137489/>

HOYOS, J et al., “Characterization of spray drying microencapsulation of almond oil into taro starch spherical aggregates”. *LWT Food Science and Thechnology*. [En línea], 2018, 101, pp.526-533. [Consulta: 21 julio 2020].DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.079>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643818310405>

HUESCO, A y CASCANT, J. *Metodología y Técnicas Cuantitativas de Investigación*. [En línea]. España-Valencia. Editorial Universitat Politècnica de València, 2012. [Consulta: 1 agosto 2020].Disponible en https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/17004/Metodolog%C3%ADa%20y%20t%C3%A9cnicas%20cuantitativas%20de%20investigaci%C3%B3n_6060.pdf?sequence

JIMÉNEZ, F. “Emulsiones múltiples; compuestos bioactivos y alimentos funcionales”. *Nutrición hospitalaria*. [En línea], 2013, (España), 28 (5), pp.1413-1421. [Consulta: 1 agosto 2020]. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112013000500007

KUMBAR, S et al. “Crosslinked chitosan microspheres for encapsulation of diclofenac sodium: effect of crosslinking agent”. *Journal of Microencapsulation*. [en línea], 2002, (India) 19(2), pp. 173-180. [Consulta: 22 julio 2021], DOI: 10.1080/02652040110065422. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11837972/>

KUMAR, A et al., “Mucoadhesive Formulations: Innovations, Merits, Drawbacks and Future Outlook”. *Pharmaceutical Development and Technology*. [En línea], 2020.[Consulta: 19 mayo 2020]. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10837450.2020.1753771>

LAREZ, C. “Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro”. *Avances en química*, 2006, (Venezuela), 1(2), pp.15-21. [Consulta: 22 julio 2020].Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/26498713_Quitina_y_quitosano_materiales_del_pasado_para_el_presente_y_el_futuro

LOZA, E. “AINEs en la práctica clínica: lo que hay que saber”. *IT del Sistema Nacional de Salud*. [En línea], 2011, (España), 35(3), pp.88-95. [Consulta: 22 julio 2020]. Disponible en: https://www.msbs.gob.es/biblioPublic/publicaciones/recursos_propios/infMedic/docs/vol35n3_AINEs.pdf

LOZANO, C et al., *Manual de tecnología farmacéutica*. Barcelona-España: Elsevier, 2012. ISBN: 978-84-8086-600-2, pp.1-441.

MARCÉN, B et al., “*AINE y riesgo digestivo*”. *Aten Primaria*. [En línea], 2016,48(2),pp.73-76.[Consulta: 22 julio 2020]. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2015.04.008>

MARTINES, E et al.,. *Análisis y aplicación de las expresiones del contenido de humedad en sólidos*. Trabajo presentado en Simposio de Metrología del Centro Nacional de Metrología, Querétaro, México. 2010.

MITRA, A y DEY, B.” *Chitosan Microspheres in Novel Drug Delivery Systems*”. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*. [En línea], 2011, (India) 73(4), pp. 355–366.[Consulta: 26 de Mayo 2020].Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22707817/>

MORENA, L. “*Conceptos de cronofarmacología*”*Revista Clínica Escuela de Medicina UCR-HSJD*. [En línea], 2015, 5(1). [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/276855794_Conceptos_de_CRONOFARMACOLOGIA

OLIVERA, A et al., “*Microesferas de quitosano como potenciales transportadores de ácidos nucleicos y otros bioactivos*”. *Revista iberoamericana de polímeros*

OTZEN, T y MANTEROLA, C. “*Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio*”. *Int. J. Morphol.* [En línea],35(1), 2017, pp.227-232. [Consulta: 31 julio 2020]. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/ijmorphol/v35n1/art37.pdf>

PACHECO CONTRERAS, Edith. Síntesis de microesferas de polímeros biodegradables para la liberación controlada de medicamento [En línea] (Trabajo de titulación), (Pregrado) Universidad Mexicana de San Nicolás de Hidalgo, Instituto de Investigación de metalurgia y materiales, México, 2017, pp.87-95. [Consulta: 31 julio 2020]. Disponible en: http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/5283/IIMM-M-2017-0335.pdf?sequence=1&isAllowed=y

PARK, J et al. “*Design and characterisation of doxorubicin-releasing chitosan microspheres*”. *Journal of Microencapsulation* [en línea], 2012, (Korea) 29(7), pp. 695-705. [Consulta: 18

diciembre 2021]. DOI: 10.3109/02652048.2012.686526. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22583128/>

PASTOR, E y MORMONTOY, C. Elaboración y caracterización de dicofenaco sódico microencapsulado en microesferas biodegradables de ácido poli para su uso parenteral y su efecto sobre edema plantar inducido por carragenina en ratas (Trabajo de titulación) (pregrado), [en línea] Universidad de San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias químicas, Cusco, Perú, 2013, p.71. [Consulta: 19 de diciembre 2021]. Disponible en: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12918/928/253T20130047.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

PATIL, S et al. “Mucoadhesive chitosan microspheres of carvedilol for nasal administration”. *Journal of Drug Targeting* [en línea], 2010, (India) 18(4), pp. 321–331. [Consulta:19 julio 2020]. DOI: <https://doi.org/10.3109/10611861003663523>. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.3109/10611861003663523>

PATIL, S y SHAHIWALA, A. “Patented pulsatile drug delivery technologies for chronotherapy”. *Expert Opin. Ther. Patent* [En línea], 2014, (Dubai) 24(8), pp. 845-856.[Consulta: 19 julio 2020].DOI:10.1517/13543776.2014.916281.Disponible en:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24810112/>

PINAZO, M et al., “Colirios hipotensores: la historia interminable. ¿Hay que considerar algo más que los principios activos?”.*Arch Soc Esp Oftalmol.* [En línea], 2017. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0365669117300199>

PIUSH, k et al. “Influence of Rheology of Dispersion Media in the Preparation of Polymeric Microspheres through Emulsification Method”. *AAPS PharmSciTech* [en línea], 2009, 10(4), pp.1295-1300. [Consulta: 21 julio 2020]. DOI: 10.1208/s12249-009-9315-1. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19882250/>

RAJITHA, P et al., “Chitosan nanoparticles in drug therapy of infectious and inflammatory diseases”.*Expert Opinion on Drug Delivery.*[En línea], 2016, pp. 1177-1194.[Consulta: 21 julio 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27087148/>

RAMESHWAR, K et al., “Optimization of spray dried diclofenac sodium loaded microspheres by screening design”.*Drying Technology.*[En línea],2016, 34. pp.1593-1603.[Consulta: 22 julio

2020].ISSN: 0737-3937.Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/07373937.2016.1138121>

RAWAT, M et al., “*Lipid Matrix Systems with Emphasis on Lipid Microspheres: Potent Carriers for Transcutaneous Delivery of Bioactives*”.*University Institute of Pharmacy, Pt. Ravishankar Shukla University*. [En línea], 2012 (India) 9 (3), pp. 243-254.[Consulta: 19 julio 2020].DOI:10.2174/156720112800389124.Disponible en :
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22283658/>

RODRÍGUEZ, L et al., “*Aplicaciones de mezclas de biopolímeros y polímeros sintéticos: revisión bibliográfica*”.*Revista Científica* .[En línea], 2016,(Colombia) 2(25), pp.252-264. [Consulta: 25 julio 2020].DOI:10.14483/udistrital.jour.RC.2016.25.a9.Disponible en:https://www.researchgate.net/publication/311978324_Aplicaciones_de_mezclas_de_biopolimeros_y_polimeros_sinteticos_Revision_bibliografica

RODRIGUEZ, R. *Vademecum Académico de medicamentos*. [en línea].6ª ed. México-México D.F: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A, 2013.[Consulta: 22 julio 2020]. Disponible:<https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=1552§ionid=90365886>

SACHIN, S et al., “*Formulation, Development and In vitro Characterization of Modified Release Tablets of Capecitabine*” .*Drug Development and Industrial Pharmacy*. [En línea], 2019.[Consulta: 28 mayo 2020]. DOI: 10.1080/03639045.2019.1698595.Disponible en :
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03639045.2019.1698595?journalCode=iddi20>

SAEZ, V et al., “*Las microesferas como sistema de liberación de fármacos como péptido y proteínas*”. Departamento de Desarrollo de Formulaciones, Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología. [en línea], 2007, (Cuba) 24, pp.98-107. [Consulta: 15 marzo 2021]. Disponible en: <https://elfoscientiaecigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2007/24/2/BA002402RV098-107.pdf>

SANDOVAL, P et al., “*Análisis comparativo de la cinética de liberación de diclofenaco sódico a partir de matrices hidrofílicas en medios de disolución convencionales y biorrelevantes*”.*Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm* [En línea], 2015, (Colombia) 44(3), pp.282-310.[Consulta: 19 julio 2020]. Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/56282/56222>

TADROS, T. *Emulsion Science and Technology*. [en línea]. United Kingdom: Weinheim Wiley-WCH, 2009. [Consulta: 10 diciembre 2021]. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/book/10.1002/9783527626564>

THAKKAR, H et al. “Celecoxib Incorporated Chitosan Microspheres: In Vitro and In Vivo Evaluation”, *Journal of Drug Targeting* [en línea], 2004,12(9), pp. 549-547. [Consulta: 2 diciembre 2021]. DOI: 10.1080/10611860400010630. Disponible en : <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15621680/>

TIANXI, He et al. “5-Fluorouracil monodispersed chitosan microspheres: microfluidic chip fabrication with crosslinking, characterization, drug release and anticancer activity”. *Carbohydrate Polymers* [En línea], 2020, (236).[Consulta: 2 junio 2020]. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S014486172030268X>

UNITED STATES PHARMACOPEIA. *USP 35 NF 30. 2012*

VASVÁRI, G et al., “*Matrix systems for oral drug delivery: Formulations and drug release*”. *Drug Discovery Today: Technologies* [En línea], 2018, pp.71-80, Hungría. [Consulta: 19 julio 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30103866/>

VILA JATO, J. *Tecnología Farmacéutica*. Madrid-España: Síntesis S.A, 2001.pp. 27-609

VILLAROEL, L. *Elaboración y evaluación de microesferas mucoadhesivas preparadas a través de la técnica de gelificación iónica utilizando alginato sódico y quitosano* (Trabajo de titulación.Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Riobamba, Ecuador.2015

WANQING, L et al. “Preparation and Properties of 5-Fluorouracil-Loaded Chitosan Microspheres for the Intranasal Administration”. *Drug research* [en línea], 2018, (China), [Consulta: 1 junio 2020]. DOI: 10.1055/a-0586-8406. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29966151/>

WINTER, C. et al., “*The potential of chronopharmacology for treatment of atherosclerosis*”. *Curr Opin Lipidol.* [En línea], 2018, 29 (5), pp.368-374. [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en:<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30063471/>

XION, L et al. “*Influences of Process Variables on Size of Chitosan Microspheres*”. *Journal of Macromolecular Science.* [en línea], 2012, 51(12), pp.2333–2340. [Consulta: 25 julio 2020].

DOI: 10.1080/00222348.2012.674817. Disponible en:
<https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00222348.2012.674817>

YANG, J et al., “*Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides*”. *Carbohydrate Polymers*. [En línea], 2015, pp 53-66. [Consulta: 1 junio 2020].
Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25843834/>

ZAVA, W et al., “*Encapsulación de ácido Δ -aminolevulínico en microesferas de alginato*”. *Revista iberoamericana de polímeros*. [en línea], 2014, pp.117-125. [Consulta: 15 de marzo 2021]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4640238>

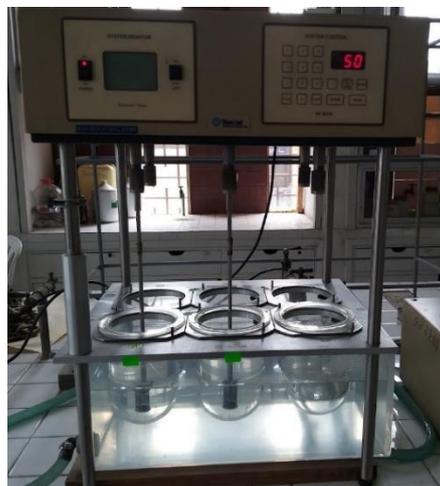
ZOR, F et al., “*Biocompatibility in regenerative nanomedicine*”. *Future Medicine Ltd*. [En línea], 2019, 14(20), pp. 2763-2775. [Consulta: 25 julio 2020]. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31612774/>

ANEXOS

ANEXO A: REACTIVOS UTILIZADOS EN LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS



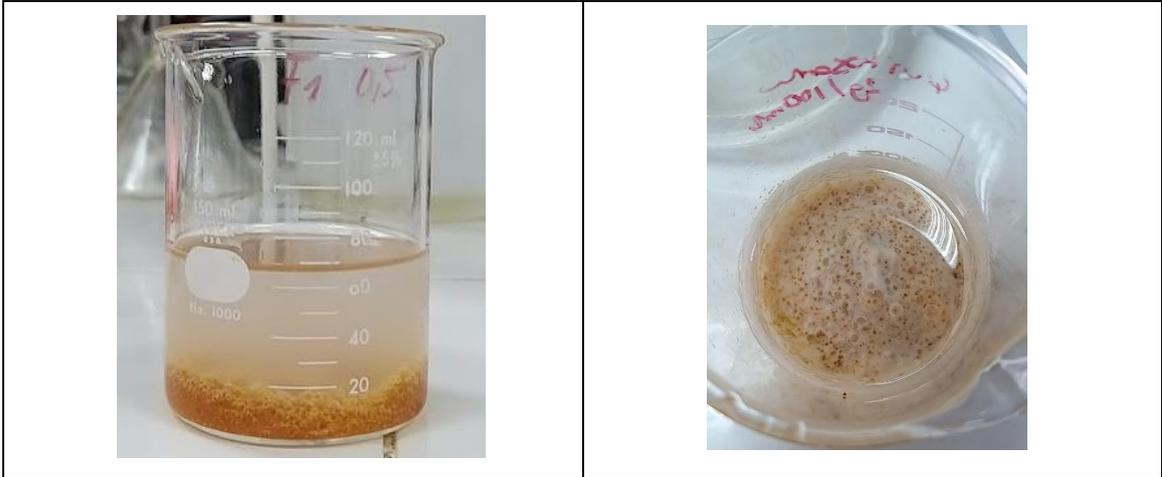
ANEXO B: EQUIPOS UTILIZADOS PARA LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS



ANEXO C: PROCESO DE INCORPORACIÓN DE REACTIVOS MEDIANTE AGITACIÓN

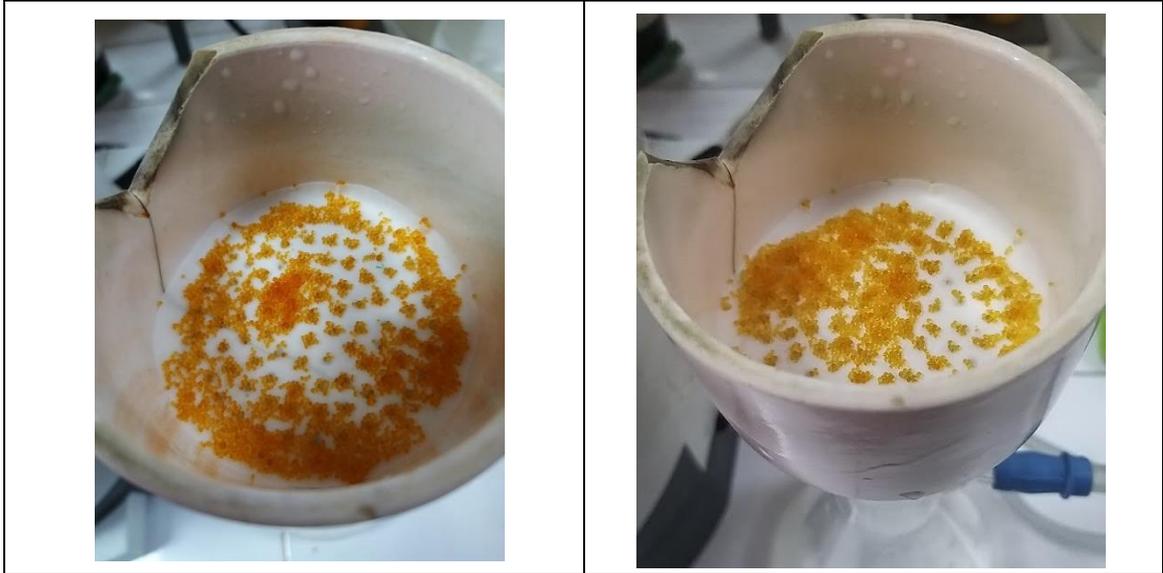


ANEXO D: REPOSO DE LAS MICROESFERAS ANTES DEL LAVADO



ANEXO E: MICROESFERAS ANTES Y DESPUÉS DEL LAVADO

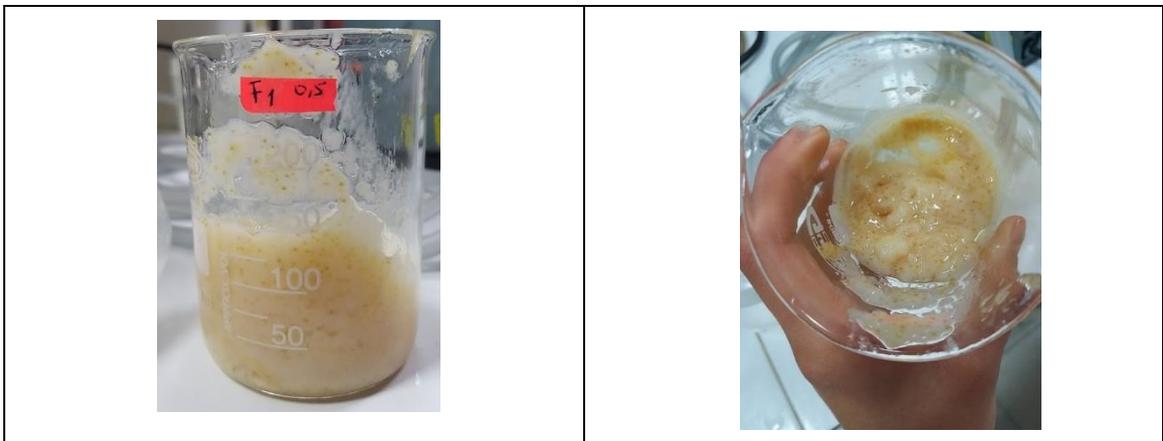




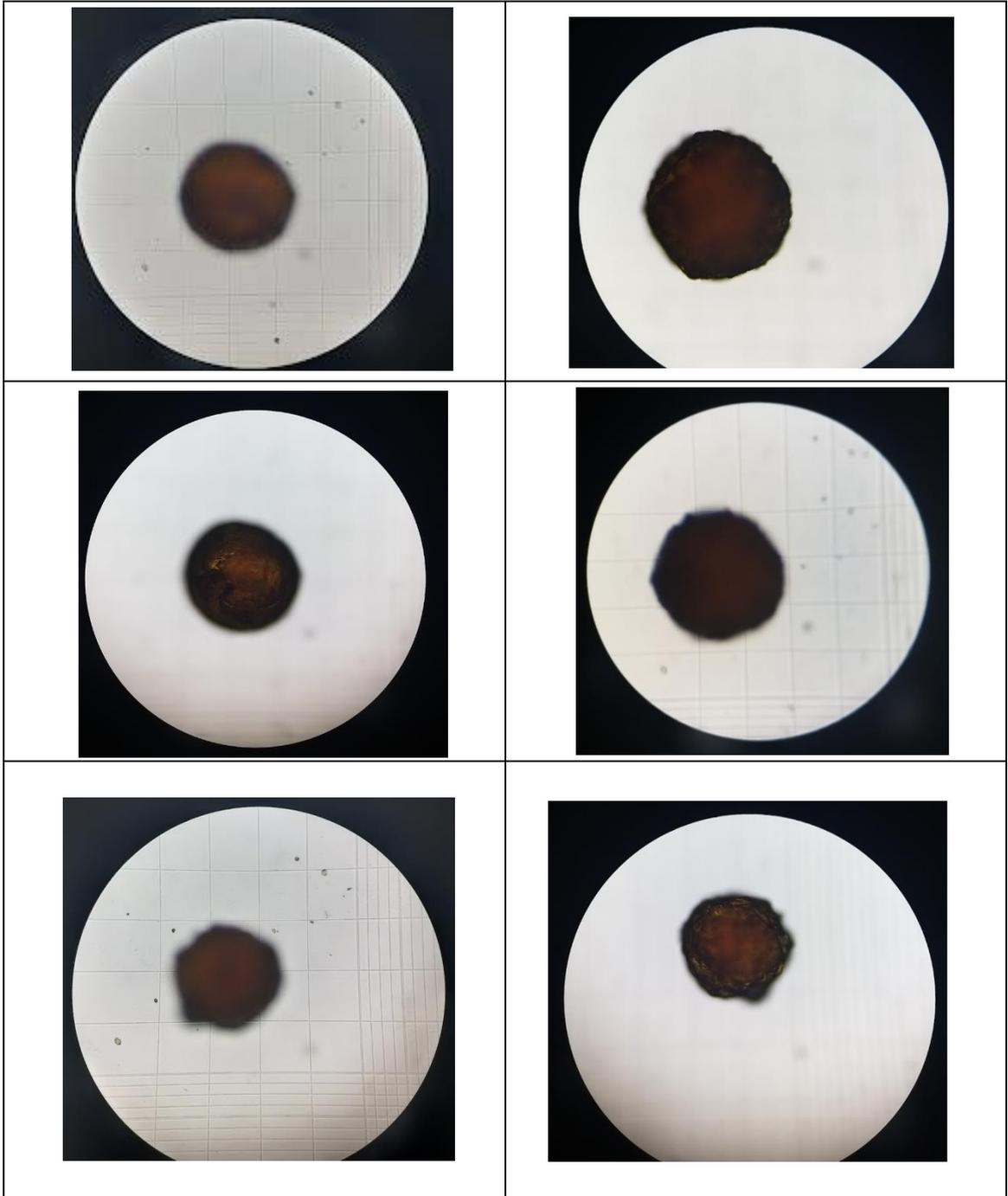
ANEXO F: SECADO DE MICROESFERAS



ANEXO G: FENÓMENO DE CREMADO EN LAS PRIMERAS FORMULACIONES



ANEXO H: VISUALIZACIÓN DE LAS MICROESFERAS EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO



ANEXO I: DISOLUCIONES ESTÁNDAR PARA ELABORACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN





epoch

Dirección de Bibliotecas y
Recursos del Aprendizaje

*UNIDAD DE PROCESOS TÉCNICOS Y ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO Y
DOCUMENTAL*

REVISIÓN DE NORMAS TÉCNICAS, RESUMEN Y BIBLIOGRAFÍA

Fecha de entrega: 14 / 04 / 2022

INFORMACIÓN DEL AUTOR/A (S)
Nombres – Apellidos: <i>Josselyn Elizabeth Cano Mendoza</i>
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: <i>Ciencias</i>
Carrera: <i>Bioquímica y Farmacia</i>
Título a optar: <i>Bioquímica Farmacéutica</i>
f. Analista de Biblioteca responsable: <i>Ing. Leonardo Medina Ñuste MSc.</i>

LEONARDO
FABIO
MEDINA
NUSTE

Firmado digitalmente por
LEONARDO FABIO MEDINA NUSTE
Nombre de reconocimiento (DN):
c=EC, o=BANCO CENTRAL DEL
ECUADOR, ou=ENTIDAD DE
CERTIFICACION DE INFORMACION-
ECIBCE, l=QUITO,
serialNumber=0000621485,
cn=LEONARDO FABIO MEDINA
NUSTE
Fecha: 2022.04.14 12:08:12 -05'00'



0651-DBRA-UTP-2022