



**Benemérita Universidad Autónoma de Puebla**

---

**Facultad de Ciencias Químicas**

**Departamento de Farmacia**

**“Obtención y caracterización de  
microcápsulas de Naproxeno empleando los  
métodos de evaporación de disolvente y  
fusión de filmógeno.”**

**Tesis presentada para obtener el título de:  
Licenciatura en Químico Farmacobiólogo**

**Presenta:**

**Mónica Lorena Bautista López**

**Asesor:**

**Dr. Saúl Alejandro Merino Contreras**

**Marzo 2015**

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría expresar en estas líneas mi más sincero y profundo agradecimiento a todas aquellas personas que me brindaron su ayuda y apoyo en la realización del presente trabajo, en especial al Dr. Saúl Alejandro Merino Contreras, director de éste trabajo de investigación, con el que me encuentro en deuda por la orientación y la supervisión continúa de mi trabajo, pero sobre todo por la confianza que depositó en mí y la paciencia que me tuvo.

También, quiero agradecer a mis supervisoras de tesis, por el interés mostrado en mi trabajo y las sugerencias recibidas de las profesoras María del Socorro Ramírez Gutiérrez, Irma Rosalía Contreras Mora y Lidia Aguilar Cruz y sobre todo por su ayuda, aprecio, tiempo por la sabiduría que me transmitieron tan importante para el desarrollo de mi formación profesional.

Quisiera además, expresar mi gratitud a cada uno de mis amigos, por todos esos consejos que recibí de ustedes, por animarme en todo momento a seguir adelante y sobre todo por brindar su constante e incondicional apoyo, por esas palabras sabias que recibí de ustedes en mis momentos de frustración y enojo, por animarme día a día a seguir adelante y hacer hasta lo imposible para que yo siguiera adelante en todo momento. En verdad, gracias a todos me siento muy feliz y orgullosa de tenerlos en mi vida.

A pastelito quien sin saberlo, con tu cariño y paciencia, fuiste mi compañía e inspiración para seguir adelante y vivir feliz día a día.

Un agradecimiento muy especial merece la química Briza Zorraquín de Globe Chemicals S.A. de C.V. por el favor de suministrarme el apoyo necesario para realizar la presente investigación.

A todos ustedes, ¡muchas gracias!

# ÍNDICE

|                                                                            |            |
|----------------------------------------------------------------------------|------------|
| <b>AGRADECIMIENTOS .....</b>                                               | <b>II</b>  |
| <b>ÍNDICE .....</b>                                                        | <b>III</b> |
| <b>LISTA DE FIGURAS .....</b>                                              | <b>IV</b>  |
| <b>LISTA DE TABLAS .....</b>                                               | <b>V</b>   |
| <b>LISTA DE GRÁFICAS .....</b>                                             | <b>VI</b>  |
| <b>LISTA DE ECUACIONES .....</b>                                           | <b>VI</b>  |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>                                         | <b>VII</b> |
| <b>RESUMEN .....</b>                                                       | <b>IX</b>  |
| <b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>                                               | <b>1</b>   |
| <b>2. ANTECEDENTES .....</b>                                               | <b>2</b>   |
| <b>3. MARCO TEÓRICO.....</b>                                               | <b>4</b>   |
| 3.1 MICROENCAPSULACIÓN .....                                               | 4          |
| 3.1.1 Aplicaciones de la microencapsulación en el campo farmacéutico ..... | 5          |
| 3.1.2 Tipos de microcápsulas .....                                         | 7          |
| 3.1.3 Materiales utilizados en la microencapsulación .....                 | 8          |
| 3.1.4 Métodos de microencapsulación.....                                   | 16         |
| 3.1.5 Evaluación fisicoquímica .....                                       | 21         |
| 3.2 NAPROXENO .....                                                        | 22         |
| 3.2.1 Aplicaciones del Naproxeno .....                                     | 24         |
| 3.2.2 Propiedades fisicoquímicas .....                                     | 24         |
| 3.2.2 Farmacodinamia.....                                                  | 28         |
| 3.2.3 Farmacocinética .....                                                | 32         |
| <b>4. JUSTIFICACIÓN .....</b>                                              | <b>34</b>  |
| <b>5. OBJETIVOS.....</b>                                                   | <b>36</b>  |
| 5.1 GENERAL.....                                                           | 36         |

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.2 PARTICULARES.....                                              | 36        |
| <b>6 DIAGRAMAS DE TRABAJO .....</b>                                | <b>37</b> |
| 6.1 DIAGRAMA GENERAL DE TRABAJO.....                               | 37        |
| 6.2 DIAGRAMA DEL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE .....         | 39        |
| 6.3 DIAGRAMA DE FLUJO DEL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO .....      | 40        |
| <b>7 MATERIALES .....</b>                                          | <b>41</b> |
| 7.1 MATERIALES Y EQUIPO .....                                      | 41        |
| 6.1 REACTIVOS.....                                                 | 41        |
| <b>8 METODOLOGÍA .....</b>                                         | <b>42</b> |
| 8.1 RECTA DE CALIBRADO .....                                       | 42        |
| 8.2 ELABORACIÓN DE MICROCÁPSULAS .....                             | 43        |
| <i>8.2.1 Método de evaporación de disolvente.....</i>              | <i>43</i> |
| <i>8.2.2 Método de fusión de filmógeno .....</i>                   | <i>45</i> |
| 8.3 RENDIMIENTO DE LAS MICROCÁPSULAS.....                          | 45        |
| 8.4 CUANTIFICACIÓN DEL NAPROXENO EN LAS MICROCÁPSULAS .....        | 46        |
| <i>8.4.1 Método de Evaporación de disolvente.....</i>              | <i>46</i> |
| <i>8.4.2 Método de fusión de filmógeno .....</i>                   | <i>47</i> |
| 8.5 CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO .....                      | 48        |
| 8.6 PERFIL DE DISOLUCIÓN.....                                      | 49        |
| 8.7 MICROSCOPÍA ÓPTICA .....                                       | 51        |
| <b>9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>                               | <b>52</b> |
| <i>9.1 Recta de calibrado .....</i>                                | <i>52</i> |
| <i>9.2 Microcápsulas.....</i>                                      | <i>54</i> |
| <i>9.3 Rendimiento de las microcápsulas .....</i>                  | <i>55</i> |
| <i>9.4 Cuantificación del Naproxeno en las microcápsulas .....</i> | <i>57</i> |
| <i>9.5 Calorimetría diferencial de barrido .....</i>               | <i>60</i> |
| <i>9.6 Perfil de disolución.....</i>                               | <i>63</i> |

|                               |           |
|-------------------------------|-----------|
| 9.7 Microscopía óptica .....  | 72        |
| <b>10. CONCLUSIONES .....</b> | <b>74</b> |
| <b>11. PERSPECTIVAS .....</b> | <b>75</b> |
| <b>12. BIBLIOGRAFÍA.....</b>  | <b>75</b> |

## LISTA DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                                                        |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| FIGURA 1 TIPOS DE MICROCÁPSULAS. A. MICROCÁPSULAS CON EL NÚCLEO BIEN DEFINIDO; B. MICROESFERAS DONDE SE OBSERVA SU ESTRUCTURA MATRICIAL Y C. MICROPARTÍCULAS, CON ESTRUCTURA POLINUCLEAR.              | 7  |
| FIGURA 2. ESTRUCTURA DE LAS MICROCÁPSULAS: A. DOBLE CUBIERTA, B. SIMPLE, C. VARIOS NÚCLEOS DIFERENTES, D. IRREGULAR, E. CUBIERTA PARTICIONADA, F. MATRICIAL (16)                                       | 8  |
| FIGURA 3. GROSOR TEÓRICO DE LA CUBIERTA DEPENDIENDO LA CANTIDAD EMPLEADA DE CUBIERTA Y PRINCIPIO ACTIVO. (18)                                                                                          | 12 |
| FIGURA 4. ESQUEMA DE LAS DIFERENTES FASES DE PULSINCAP® (56)                                                                                                                                           | 13 |
| FIGURA 5. EJEMPLO DE UN SISTEMA DE LIBERACIÓN PROLONGADA                                                                                                                                               | 14 |
| FIGURA 6. USO DE CÉLULAS MADRE MICROENCAPSULADAS PARA UNA CARDIOMIOPATÍA EN EL SISTEMA DE LIBERACIÓN LOCAL (54)                                                                                        | 15 |
| FIGURA 7.ESQUEMA DEL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO                                                                                                                                                     | 21 |
| FIGURA 8. SÍNTESIS RACÉMICA DEL NAPROXENO. (30)                                                                                                                                                        | 23 |
| FIGURA 9. OBTENCIÓN DE NAPROXENO A TRAVÉS DE LA HIDROGENACIÓN CATALÍTICA ENANTIOSELECTIVA DE NOYORI. (32)                                                                                              | 23 |
| FIGURA 10 ESTRUCTURA MOLECULAR DE NAPROXENO.                                                                                                                                                           | 25 |
| FIGURA 11. MICROSCOPÍA ÓPTICA DEL NAPROXENO (55)                                                                                                                                                       | 25 |
| FIGURA 12.MICROGRAFÍAS ELECTRÓNICAS DEL NAPROXENO CON SEM. A APARIENCIA, B. SUPERFICIE. (5)                                                                                                            | 26 |
| FIGURA 13. FTIR DEL NAPROXENO PURO. (5)                                                                                                                                                                | 27 |
| FIGURA 14.XRDP DEL NAPROXENO PURO (5)                                                                                                                                                                  | 27 |
| FIGURA 15. NAPROXENO (VERDE) UNIDO AL SITIO ACTIVO DE LA COX-2 (53)                                                                                                                                    | 28 |
| FIGURA 16. OBTENIDA DE DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O.; SKJÅK-BRÆK, G. EN "POLYSACCHARIDES AND POLYAMIDES IN THE FOOD INDUSTRY. PROPERTIES, PRODUCTION, AND PATENTS", STEINBÜCHEL Y RHEE (ED.), WILEY 2005 | 43 |
| FIGURA 17.OBTENIDA DE DRAGET, K. I.; SMIDSRØD, O.; SKJÅK-BRÆK, G. EN "POLYSACCHARIDES AND POLYAMIDES IN THE FOOD INDUSTRY. PROPERTIES, PRODUCTION, AND PATENTS", STEINBÜCHEL Y RHEE (ED.), WILEY 2005  | 44 |
| FIGURA 18. OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA DE LAS MICROCÁPSULAS DE NAPROXENO POR EL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE                                                                                       | 54 |
| FIGURA 19. OBSERVACIÓN MACROSCÓPICA DE LAS MICROCÁPSULAS DE NAPROXENO POR EL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO                                                                                             | 55 |
| FIGURA 20. CRISTALES DE NAPROXENO VISTO A 40X                                                                                                                                                          | 72 |
| FIGURA 21. MICROCÁPSULAS OBTENIDAS CON EL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE, OBSERVADAS BAJO MICROSCOPIO ÓPTICO A 40X                                                                                | 73 |
| FIGURA 22. MICROCÁPSULAS OBTENIDAS CON EL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO OBSERVADAS BAJO MICROSCOPIO ÓPTICO A 40X                                                                                       | 73 |

## LISTA DE TABLAS

|                                                                                                                                     |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| TABLA 1 EJEMPLOS DE MICROENCAPSULACIÓN (10).....                                                                                    | 6  |
| TABLA 2. MATERIALES DE CUBIERTA MÁS REPRESENTATIVOS APLICABLES A<br>MÉTODOS DE MICROENCAPSULACIÓN (18) .....                        | 11 |
| TABLA 3. RESUMEN Y EJEMPLOS DE LOS TIPOS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS. (19)...                                                         | 16 |
| TABLA 4 SELECCIÓN DE MÉTODOS DE MICROENCAPSULACIÓN PARA FÁRMACOS<br>CON DIFERENTES PROPIEDADES FÍSICAS (8).....                     | 17 |
| TABLA 5. PICOS DE RESONANCIA DEL NAPROXENO POR FTIR (4).....                                                                        | 26 |
| TABLA 6. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES PARA LA RECTA DE CALIBRADO .....                                                                 | 42 |
| TABLA 7. CANTIDAD DE MICROCÁPSULAS Y POLÍMEROS UTILIZADOS EN LA PRUEBA<br>DE DISOLUCIÓN .....                                       | 50 |
| TABLA 8. DATOS DE LA ECUACIÓN DE RECTA DEL NAPROXENO .....                                                                          | 53 |
| TABLA 9. RENDIMIENTO (%) DE LAS MICROCÁPSULAS .....                                                                                 | 56 |
| TABLA 10. EFICIENCIA DE MICROENCAPSULACIÓN DE NAPROXENO .....                                                                       | 60 |
| TABLA 11. RESULTADOS DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE ABSORBANCIA Y<br>CONCENTRACIÓN PARA EL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE.....    | 63 |
| TABLA 12. PORCENTAJE DE NAPROXENO LIBERADO POR EL MÉTODO DE<br>EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE.....                                       | 64 |
| TABLA 13. DATOS DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS OBTENIDAS<br>CON EL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE.....          | 66 |
| TABLA 14. RESULTADOS DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE ABSORBANCIA Y<br>CONCENTRACIÓN PARA EL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMOGENO .....         | 68 |
| TABLA 15. PORCENTAJE DE LIBERACIÓN DEL NAPROXENO PARA EL MÉTODO DE<br>FUSIÓN DE FILMÓGENO.....                                      | 68 |
| TABLA 16. DATOS DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS OBTENIDAS<br>CON EL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO .....               | 69 |
| TABLA 17. DATOS DEL PERFIL DE DISOLUCIÓN DE LAS MICROCÁPSULAS DE<br>NAPROXENO ELABORADAS POR EL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO ..... | 71 |

## LISTA DE GRÁFICAS

|                                                                                                                                                                                                                                         |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| GRÁFICA 1. LONGITUD DE ONDA MÁXIMA DEL NAPROXENO                                                                                                                                                                                        | 52 |
| GRÁFICA 2. CURVA DE CALIBRACIÓN DEL NAPROXENO                                                                                                                                                                                           | 53 |
| GRÁFICA 3. TERMOGRAMA DEL NAPROXENO PURO                                                                                                                                                                                                | 60 |
| GRÁFICA 4. TERMOGRAMA DEL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE.1<br>MICROCÁPSULAS SIN FÁRMACO. 2 MICROCAPSULAS CON FÁRMACO. 3<br>ALGINATO. 4 MEZCLA FÍSICA ALGINATO-NAPROXENO. 5 NAPROXENO                                               | 61 |
| GRÁFICA 5. TERMOGRAMA DEL MÉTODO DE FUSIÓN DE FILMÓGENO.1<br>MICROCÁPSULAS SIN FÁRMACO. 2 MICROCAPSULAS CON FÁRMACO. 3 CERA<br>DE CARNAUBA. 4 MEZCLA FÍSICA CERA DE CARNAUBA-NAPROXENO. 5<br>NAPROXENO                                  | 62 |
| GRÁFICA 6. PERFILES DE DISOLUCIÓN DEL MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE<br>DISOLVENTE. SERIE1 MICROCAPSULAS CON NAPROXENO. SERIE2<br>MICROCÁPSULAS SIN NAPROXENO. SERIE 3 ALGINATO. SERIE 4 MEZCLA DE<br>ALGINATO Y NAPROXENO. SERIE 5 NAPROXENO | 65 |
| GRÁFICA 7. PERFIL DE DISOLUCIÓN DE LAS MICROCAPSULAS ELABORADAS POR EL<br>MÉTODO DE EVAPORACIÓN DE DISOLVENTE.                                                                                                                          | 67 |
| GRÁFICA 8. PERFIL DE DSOLUCIÓN DEL MÉTODO FUSIÓN DE FILMÓGENO                                                                                                                                                                           | 70 |
| GRÁFICA 9. PERFIL DE DISOLUCIÓN DEL NAPROXENO POR EL MÉTODO DE FUSIÓN<br>DE FILMÓGENO                                                                                                                                                   | 71 |

## LISTA DE ECUACIONES

|                                                                                        |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ECUACIÓN 1. RENDIMIENTO DE LAS MICROCAPSULAS                                           | 46 |
| ECUACIÓN 2. CUANTIFICACIÓN DEL NAPROXENO ENCAPSULADO                                   | 48 |
| ECUACIÓN 3. ECUACIÓN DE LA RECTA                                                       | 53 |
| ECUACIÓN 4. ECUACIÓN DESPEJADA DE LA RECTA PARA OBTENER LA<br>CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO | 57 |

## LISTA DE ABREVIATURAS

| Anotación          | Significado                                               |
|--------------------|-----------------------------------------------------------|
| $\mu\text{m}$      | Micrómetros                                               |
| ACPD               | Dispersión de polímero coloidal en fase acuosa            |
| Etc.               | Etcétera                                                  |
| pH                 | Potencial hidrógeno                                       |
| PLGA               | Ácido poli (láctico-co-glicólico)                         |
| PVP                | Polivinilpirrolidona                                      |
| $\text{CaCl}_2$    | Cloruro de calcio                                         |
| RESS               | Expansión rápida de soluciones supercríticas              |
| SAS                | Cristalización supercrítica anti solvente                 |
| $^{\circ}\text{C}$ | Grados centígrados                                        |
| Aines              | Anti-inflamatorios no esteroideos                         |
| FDA                | Agencia de Alimentos y Medicamentos                       |
| IUPAC              | Unión Internacional de Química Pura y Aplicada            |
| Pka                | Logaritmo negativo de la constante de disociación ácida   |
| Kow                | Coeficiente de reparto octanol-agua                       |
| C/D                | Dicroísmo circular                                        |
| mmHg               | Milímetros de mercurio                                    |
| SEM                | Microscopia electrónica de barrido                        |
| FTIR               | Espectrometría de infrarrojos por Transformada de Fourier |
| XRDP               | Difracción de rayos X de polvo                            |

|        |                                                  |
|--------|--------------------------------------------------|
| COX-1  | Ciclooxigenasa 1                                 |
| COX-2  | Ciclooxigenasa 2                                 |
| PGHS-1 | Prostaglandina G / H sintasa-1                   |
| PGHS-2 | Prostaglandina G / H sintasa-2                   |
| µg/ml  | Microgramos sobre mililitros                     |
| mg     | Miligramos                                       |
| L/kg   | Litros por kilogramos                            |
| λ      | Longitud de onda                                 |
| W/O    | Emulsión agua en aceite                          |
| PVA    | Alcohol polivinílico                             |
| USP    | Farmacopea de los Estados Unidos de Norteamérica |
| g      | Gramos                                           |
| ml     | Mililitros                                       |
| HLB    | Balance Hidrofílico-Lipofílico                   |
| rpm    | Revoluciones por minuto                          |
| NaOH   | Hidróxido de sodio                               |
| N      | Normal (normalidad química)                      |
| nm     | Nanómetros                                       |
| DSC    | Calorimetría diferencial de barrido              |
| FEUM   | Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos       |

## **RESUMEN**

Las microcápsulas son sistemas de entrega de fármacos ampliamente utilizados, que permiten mejorar la aplicabilidad terapéutica de fármacos tanto nuevos como convencionales.

En el presente trabajo se propone aprovechar las técnicas de microencapsulación para la obtención de microcápsulas de Naproxeno.

Para elaborar dichas microcápsulas se utilizaron las técnicas de evaporación de disolvente y fusión de filmógeno determinando experimentalmente las mejores condiciones para la elaboración de las microcápsulas.

Una vez obtenidas las microcápsulas, se evaluaron las propiedades fisicoquímicas en ambos métodos tales como tamaño de partícula, calorimetría diferencial de barrido, etc. Además de la evaluación de la forma farmacéutica con los perfiles de disolución.

## 1. INTRODUCCIÓN

En la actualidad; tanto la investigación como el desarrollo e incluso las ventas de los diferentes sistemas de liberación en fármacos se están incrementando rápidamente alrededor del mundo. Esta tendencia global se debe principalmente a que se busca una máxima eficacia de los fármacos con un costo reducido. Para atender esta demanda, muchos fármacos ya conocidos por su gran eficacia, están siendo reformulados en diferentes sistemas de liberación los cuales, pueden mejorar la actividad molecular de éste dentro del organismo, ésto se puede lograr de diferentes maneras, una de ellas, es mediante nuevas técnicas de recubrimiento con mejores y más eficaces cubiertas al menor costo posible.

Una de las técnicas más difundidas en cuanto a desarrollo y producción, es la de microencapsulación, la cual permite la protección del fármaco del medio ambiente, su estabilización, la eliminación de incompatibilidades entre los mismos fármacos o el enmascaramiento de algún sabor desagradable, etc.

Las microcápsulas son particularmente interesantes para el desarrollo de sistemas de liberación del fármaco con el objetivo de mejorar la biodisponibilidad y reducir al mínimo los efectos secundarios.

Se pueden obtener diferentes tipos de microcápsulas dependiendo del proceso y del material de recubrimiento utilizado, lo que hace que existan cada vez más y mejores formulaciones, las cuales además de mejorar la estabilidad del fármaco o de cualquier material recubierto, deben reducir sus efectos adversos o tóxicos así como tener una liberación controlada.

Hasta ahora, el uso de algunas sustancias terapéuticas interesantes y prometedoras clínicamente han tenido uso limitado debido a sus propiedades físico-químicas restrictivas y que requieren una administración frecuente. Es posible que estas sustancias puedan ser más ampliamente utilizadas en un entorno clínico si se desarrollaran técnicas de microencapsulación apropiadas para superar sus inconveniencias. En adición a todas las ventajas que presenta dentro de la rama farmacéutica, la microencapsulación simboliza una de las innovaciones más importantes en la industria no sólo por la microencapsulación de fármacos, sino también de otros materiales útiles en la industria cosmética, alimentaria, agrícola, etc.

## 2. ANTECEDENTES

La microencapsulación presenta importantes ventajas dentro de la rama farmacéutica, sobre todo desde el punto de vista de aceptabilidad del paciente, puesto que cada vez se intenta con diferentes técnicas y materiales de recubrimiento la microencapsulación de más fármacos y así ir encontrando el método más adecuado a cada uno de ellos, dependiendo del acondicionamiento o la capacidad de liberación que se requiera.

Debido a la importancia y utilidad que tiene el Naproxeno hoy en día, sobre todo al ser el preferido para la creciente población de pacientes con algún tipo de artritis, se han venido ideando diferentes técnicas con la esperanza de mejorar su aceptabilidad para con el paciente.

Entre las diversas investigaciones que se han realizado para la microencapsulación del Naproxeno destacan las siguientes:

El primer indicio que se tiene de la microencapsulación del Naproxeno es en el año 1998, en el cual F. M. Veronese et al., utilizando como polímeros a los poliorganofosfacenos y tres diferentes métodos: secado por atomización, evaporación y extracción de disolvente.

Con el primer método las microcápsulas tenían un tamaño que oscilaba entre 2–5  $\mu\text{m}$  y la liberación del fármaco era muy rápida mientras que con los otros dos métodos tenían un tamaño de 10 y 100  $\mu\text{m}$  además de que *in vivo* el método de evaporación de disolvente demostró que un nivel constante de Naproxeno en el plasma podría ser mantenido hasta 400 horas a una concentración adecuada para la actividad antiinflamatoria. (1)

En el 2006, Ahmad N. Abood y Yehia I. Khalil, intentó dos métodos, el primero fue mediante la coacervación compleja utilizando soluciones acuosas al 2% de gelatina y goma arábiga. El segundo fue un método de dispersión de polímero coloidal en fase acuosa (ACPD por sus siglas en inglés) donde se utilizaron los polímeros en solución acuosa de etil-celulosa al 30% y alginato de sodio al 2%. Concluyendo que ambos métodos son válidos para la preparación de microcápsulas de Naproxeno, siendo el método de coacervación el preferido al mostrar una liberación más rápida del fármaco, la cual es afectada por el pH y la proporción de fármaco empleada. (2)

P. K. Bohyar y otros (2011), utilizando la técnica de microencapsulación de fusión de filmógeno hace un estudio comparativo de dos cubiertas, cera de carnauba y aceite de

ricino hidrogenado, utilizando al Naproxeno como núcleo de las microcápsulas. En ésta investigación, además del material de recubrimiento, estudian diferentes aspectos en la preparación de las mismas como la velocidad y tiempo de agitación, concentración del dispersante, temperatura, etc. Concluyendo que el mejor material de recubrimiento era la cera de carnauba en una proporción 1:3 con el fármaco ya que permitía una liberación mayor del mismo de hasta un 65%. (3)

Al siguiente año, Shovan Paul y otros, caracterizan microcápsulas de Naproxeno con cubierta de Eudragit® RSPO mediante la evaporación de disolvente en un sistema aceite/aceite, en el que afirman que éste método es ideal para la microencapsulación de Naproxeno a gran escala al ser muy reproducible (4) También en ese mismo año, J. K. Saboji, R. B. Gadve y S. M. Patil nuevamente trabajan con microcápsulas de Naproxeno y Eudragit® RSPO igual con el mismo método de evaporación de disolvente pero ésta vez el sistema es aceite/agua enfocado a su liberación en el colon para tratar la colitis ulcerativa, enfermedad de Crohn, etc. Además Kulkarni Parthasarathi Keshavarao y otros (2012) con el método de suspensión en aire, utilizando los polímeros PEG-4000, PEG-6000 y urea, logran microencapsular Naproxeno para después evaluar el funcionamiento de cada uno de los polímeros como material de cubierta. (5)

Sukanya Raksin et al. (2013) elaboran microcápsulas de Naproxeno utilizando quitina como polímero preparándolo con aceite de soya y miristato de isopropilo para utilizarlo en un parche y de esta manera, se pueda liberar de manera transdérmica. (6)

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 3.1 Microencapsulación

La microencapsulación es un procedimiento para recubrir partículas sólidas pequeñas o glóbulos líquidos, para formar así microcápsulas. Puede diferenciarse con facilidad de otros métodos de cobertura por el tamaño de las partículas involucradas, éstas oscilan en tamaño desde 1µm hasta 1000 µm. (7) (8) El producto de este proceso tecnológico se denomina “microcápsula”, “micropartícula”, o “microesfera”, y son sistemas que se diferencian en su morfología y estructura interna. Cuando las partículas son menores a un 1 µm, el producto del proceso de encapsulación recibe el nombre de “nanoesfera”, “nanopartícula” o “nanocápsula”. (9)

La microencapsulación tiene su origen a finales de 1930, cuando se publicó un trabajo que describía la formación de microcápsulas de gelatina dirigida a encapsular colorantes, en una fina película de microcápsulas adherida a la hoja de papel como un claro sustituto al papel carbón. (7)

Sin embargo, la primera investigación encaminada al desarrollo de métodos de microencapsulación para la industria farmacéutica fue publicada por Bungen Burg de Jong y Kan en 1931 y trata sobre la preparación de microesferas de gelatina mediante el proceso al que llamaron “coacervación”. (10) Esta técnica fue objeto de múltiples variaciones durante los años 40, sin embargo, su aplicación más importante se dirigió a la encapsulación de colorantes para la elaboración del papel para calcar. (9)

Más adelante, en la década de los años 50, se empezaron a utilizar técnicas de microencapsulación para el diseño y desarrollo de medicamentos, cuando la compañía farmacéutica Smith Kline & French Co. introdujo esta tecnología con la finalidad de conseguir una liberación sostenida o prolongada de los fármacos y así fue microencapsulado el ácido acetilsalicílico, el cual aparece citado en la bibliografía como uno de los primeros medicamentos microencapsulados. A pesar de la aplicación tardía de este método en el campo de los medicamentos, su difusión fue muy rápida, y en un corto período llegó a ser una tecnología ampliamente extendida en la industria farmacéutica. (7)

### **3.1.1 Aplicaciones de la microencapsulación en el campo farmacéutico**

Existen muchas formas en las cuales pueden ser administradas las microcápsulas, puesto que pueden constituir por sí mismas una forma farmacéutica o bien ser acondicionadas en una forma farmacéutica secundaria. De este modo, las microcápsulas pueden administrarse bajo la forma de suspensión o incluidas en una cápsula o comprimido, entre otros. (7)

Algunas de las aplicaciones representativas que se tiene del uso de la microencapsulación incluye:

- Enmascaramiento del olor y del sabor para hacer imperceptibles algunas propiedades organolépticas de los fármacos como el sabor amargo de comprimidos como el Paracetamol o la Nitrofurantoína, entre otros.
- Muchos fármacos de carácter ácido han sido microencapsulados para reducir la irritación del tracto gastrointestinal como es el caso del ácido acetilsalicílico donde se ha reportado que el uso de éste microencapsulado, reduce significativamente el sangrado gastrointestinal frente a las preparaciones convencionales.
- Un líquido puede ser convertido a una forma sólida para facilitar su manipulación y almacenamiento como es el caso de la Eprazinona. (7) (11)
- Se pueden estabilizar moléculas inestables por ejemplo aquellas con propiedades higroscópicas como es el caso del cloruro de sodio, o las volátiles como los tetracloruros de carbono, o para proveer protección contra los efectos atmosféricos como es el caso del palmitato de retinol que sufre oxidación en presencia de luz. (11)
- Inclusión de principios activos incompatibles en la misma forma farmacéutica. Se sabe que la aspirina se hidroliza cuando se comprime conjuntamente con el maleato de clorfeniramina; sin embargo, ambos son perfectamente estables cuando se microencapsulan de modo independiente, antes de la compresión. (7)
- Reducción del tamaño de partícula para mejorar la solubilidad de fármacos poco solubles (12)

- Son sistemas muy interesantes como transportadores de fármacos ya que aunque resulte paradójico, puede ser más fácil para una microcápsula introducirse en una célula que para el fármaco libre, puesto que si tiene el tamaño adecuado, ésta es incorporada fácilmente como vacuola por fagocitosis (13)

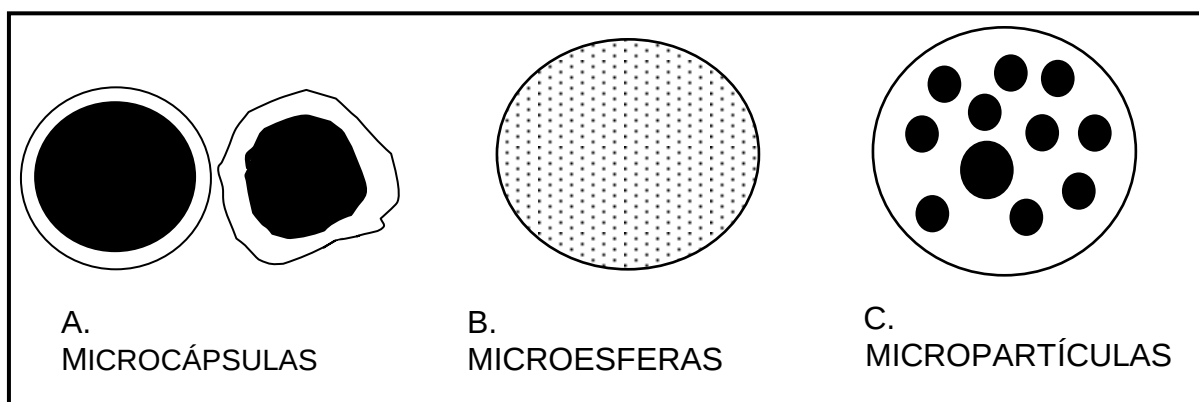
En la tabla 1, se muestran ejemplos concretos de algunos otros fármacos y demás compuestos que han sido microencapsulados.

| <b>Fármaco o material a microencapsular</b> | <b>Propiedad característica</b>    | <b>Propósito de su microencapsulación</b>                                                                          | <b>Producto Final</b> |
|---------------------------------------------|------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------|
| Acetaminofén                                | Sólido ligeramente soluble en agua | Enmascaramiento de sabor                                                                                           | Tableta               |
| Ácido acetilsalicílico                      | Sólido ligeramente soluble en agua | Enmascaramiento de sabor, liberación controlada, reducir irritación gástrica, separación de fármacos incompatibles | Cápsula o tableta     |
| Islote de Langerhans                        | Células viables                    | Normalización de la condición diabética                                                                            | Inyectable            |
| Dinitrato de Isosorbida                     | Sólido soluble en agua             | Liberación controlada                                                                                              | Cápsula               |
| Mentol                                      | Solución volátil                   | Reducción de volatilidad, liberación controlada                                                                    | Loción                |
| Progesterona                                | Sólido ligeramente soluble en agua | Liberación controlada                                                                                              | Variado               |
| Cloruro de Potasio                          | Sólido altamente soluble en agua   | Reducción de irritación gástrica                                                                                   | Cápsula               |
| Ureasa                                      | Enzima soluble en agua             | Permselectividad de la enzima, sustrato y productos de reacción enzimática                                         | Dispersión            |
| Palmitato de Retinol                        | Líquido no volátil                 | Estabilización de la oxidación                                                                                     | Polvo seco            |

*Tabla 1 Ejemplos de microencapsulación (10)*

### 3.1.2 Tipos de microcápsulas

El producto resultante de la microencapsulación depende en gran medida, del procedimiento que se haya empleado, así como de las propiedades del material de cubierta y de si el principio activo se encuentra disuelto, encapsulado y/o adsorbido en la cubierta misma (9) (14) Tomando estas consideraciones en cuenta, es posible obtener tres tipos de productos como se mencionaba al principio de éste capítulo (Figura 1):



*Figura 1 Tipos de microcápsulas. A. Microcápsulas con el núcleo bien definido; B. Microesferas donde se observa su estructura matricial y C. Micropartículas, con estructura polinuclear.*

**Microcápsulas:** son partículas las cuales pueden ser esféricas o no, constituidas por un recubrimiento sólido que contiene en su interior un núcleo sólido, líquido o gaseoso. Cada microcápsula constituye un sistema reservorio con un núcleo y una cubierta bien definidos.

**Microesferas:** partículas esféricas constituidas por una red continua de material soporte o polimérico en el cual el principio activo o núcleo se encuentra altamente disperso, a diferencia de las microcápsulas, las microesferas no tienen un núcleo y una cubierta definidos. Por lo que incluso parte del núcleo puede encontrarse fuera en la cubierta.

**Micropartículas:** en ésta estructura el principio activo se encuentra bajo la forma de diminutas partículas o de moléculas rodeadas por el material de recubrimiento. (14)

Aunque dependiendo el autor, ésta terminología puede cambiar, ya que algunos autores utilizan los términos de micropartículas para englobar a las microcápsulas y

microesferas o utilizan los términos microesferas y micropartículas indiscriminadamente, (8) lo que se puede prestar a confusiones, sin embargo, las definiciones más utilizadas son las previamente explicadas en este capítulo.

### 3.1.3 Materiales utilizados en la microencapsulación

Para la elección de los materiales a utilizar en la elaboración de las microcápsulas se han de tener presentes una serie de consideraciones farmacéuticas como lo son: propiedades del material de la cubierta, método de preparación, tamaño de las partículas, cantidad de fármaco incorporado, fármaco liberado, estabilidad del fármaco, estabilidad del sistema de liberación, efecto del almacenamiento, presentación y las características de liberación de la cubierta. (15) (13)

#### a) Núcleo

El núcleo, definido como el material específico que va a ser recubierto, el cual puede ser un líquido o un sólido. La composición del núcleo puede ser muy variada, por ejemplo, en el caso del núcleo de composición líquida, puede tener partículas dispersas y/o disueltas. El núcleo sólido puede ser una mezcla de principios activos, estabilizadores, diluyentes, excipientes y retardantes o aceleradores de la velocidad de liberación.

La capacidad para variar los materiales del núcleo proporciona flexibilidad definida y la utilización de esta característica, a menudo permite el diseño eficaz y el desarrollo de propiedades deseadas de las microcápsulas. (10)

Dependiendo de los materiales utilizados, la estructura de las microcápsulas puede variar como se muestra en la figura 2:

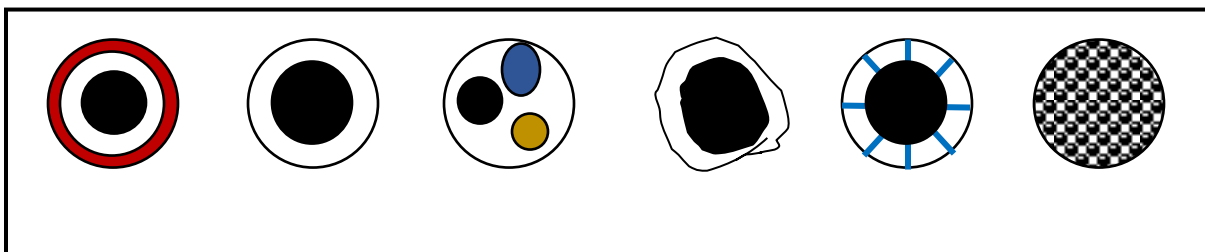


Figura 2. Estructura de las microcápsulas: A. doble cubierta, B. simple, C. varios núcleos diferentes, D. irregular, E. cubierta particionada, F. matricial (16)

## **b) Cubierta**

La selección del material apropiado para el recubrimiento del núcleo, decide las propiedades físicas y químicas de las microcápsulas resultantes. Para la selección del polímero se requiere que propiedades como la estabilización del principio activo, la reducción de la volatilidad, liberación controlada, etc., sean tomadas en consideración.

Además, el polímero debe ser capaz de formar una fina película que sea cohesiva con el material del núcleo. Añadiendo que también deberá ser químicamente compatible al no reaccionar con el material del núcleo y proveer las características deseadas tales como fuerza, flexibilidad, impermeabilidad, propiedades ópticas y estabilidad. (11)

La variedad de materiales que pueden emplearse para la microencapsulación se ha ampliado gradualmente en la medida en que surgen nuevos biomateriales y se perfilan nuevas aplicaciones de esta técnica. (9) De modo general, los materiales utilizados para el recubrimiento se clasifican en tres categorías:

### *a) Grasas*

La cera de carnauba, el alcohol estearílico, el ácido esteárico son grasas que funden a una determinada temperatura y son erosionables por acción de las lipasas que existen a nivel gástrico.

### *b) Proteínas*

La gelatina, como se mencionó en los orígenes de la microencapsulación, fue el primer material utilizado y sigue siendo en la actualidad un material con un importante potencial.

### *c) Polímeros*

Ésta es la familia más utilizada debido a su gran versatilidad y dentro de ella se encuentran los polímeros naturales, semi-sintéticos y sintéticos.

*Naturales:* principalmente de naturaleza polisacárida, de origen animal y vegetal como los alginatos, la goma arábica entre otras gomas y el quitosano. (7) Los alginatos son uno de los polímeros más utilizados en la microencapsulación, los cuales son extraídos primariamente de tres especies de algas marrones. Los alginatos son una familia de polisacáridos lineales no ramificados, conteniendo cantidades variables de ácido (1,4')  $\beta$ -D-manurónico y de ácido  $\alpha$ -L-glucorónico. (17)

*Semi-sintéticos:* engloban a los derivados celulósicos con diferentes características de solubilidad. Por ejemplo, la etilcelulosa y el acetobutirato de celulosa son polímeros insolubles, mientras que el acetoftalato de celulosa presenta una solubilidad dependiente del pH. (7)

*Sintéticos:* destacan los derivados acrílicos y los poliésteres. Entre los derivados acrílicos están los polímeros insolubles con diferente grado de permeabilidad o solubilidad dependiente del pH y gracias a estas características, ofrecen amplias posibilidades para controlar la liberación del material encapsulado. Los poliésteres son polímeros biodegradables, lo que permite su administración por la vía parenteral, los más utilizados son la poli-e-caprolactona, el ácido poliláctico, y los copolímeros del ácido láctico y del ácido glicólico (PLGA, siglas en inglés). (7) (9)

Enseguida se enumera una lista parcial de las sustancias más utilizadas como material de cubierta dependiendo de los diferentes tipos de métodos de microencapsulación.

| Material de recubrimiento         | Métodos de microencapsulación     |              |                                |                        |                    |                           |
|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------|--------------------------------|------------------------|--------------------|---------------------------|
|                                   | Centrífuga de orificios múltiples | Coacervación | Recubrimiento por lecho fluido | Secado por atomización | Suspensión en aire | Evaporación de disolvente |
| <b>Resinas solubles en agua</b>   |                                   |              |                                |                        |                    |                           |
| Gelatina                          | X                                 | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| Goma Arábica                      |                                   | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| Almidón                           |                                   | X            | X                              | X                      | X                  |                           |
| Polivinilpirrolidona (PVP)        | X                                 | X            | X                              | X                      | X                  |                           |
| Carboximetilcelulosa              |                                   | X            | X                              | X                      | X                  |                           |
| Hidroximetilcelulosa              |                                   | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| Metilcelulosa                     |                                   | X            | X                              | X                      | X                  |                           |
| Arabinogalactán                   |                                   | X            | X                              | X                      | X                  |                           |
| Alcohol polivinílico              | X                                 | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| Ácido poliacrílico                |                                   | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| <b>Resinas insolubles en agua</b> |                                   |              |                                |                        |                    |                           |
| Etilcelulosa                      |                                   | X            | X                              | X                      | X                  | X                         |
| Polietileno                       | X                                 |              |                                |                        | X                  | X                         |

|                             |   |   |   |   |   |   |
|-----------------------------|---|---|---|---|---|---|
| Polimetacrilato             |   | X | X | X | X | X |
| Poliamida (Nylon)           |   |   |   |   | X | X |
| Poli [Etilen-Vinil acetato] | X | X | X | X |   | X |
| Nitrato de celulosa         | X | X | X | X |   | X |
| Silicones                   |   |   | X | X |   |   |
| Poli (láctido-co-glicólico) |   | X | X |   |   | X |
| <b>Ceras y lípidos</b>      |   |   |   |   |   |   |
| Parafina                    | X | X | X | X | X |   |
| Carnaúba                    |   |   | X | X | X |   |
| Esperma de ballena          |   | X | X | X | X |   |
| Cera de abeja               |   |   | X | X | X |   |
| Ácido esteárico             |   |   | X | X |   |   |
| Alcohol estearílico         |   |   | X | X | X |   |
| Estearatos de glicerilo     |   |   | X | X | X |   |
| <b>Resinas entéricas</b>    |   |   |   |   |   |   |
| Goma laca                   |   | X | X | X | X |   |
| Acetato ftalato de celulosa |   | X | X | X | X | X |
| Zeína                       |   | X |   |   | X |   |

*Tabla 2. Materiales de cubierta más representativos aplicables a métodos de microencapsulación (18)*

Además de los métodos de microencapsulación, otro aspecto a tomar en consideración es la relación núcleo-cubierta de las microcápsulas, es decir, el contenido del principio activo puede ir variando de ser sólo un pequeño porcentaje o hasta abarcar casi en su totalidad la microcápsula y esto dependerá del grueso de la cubierta. (18)

La figura 3 que se muestra en la siguiente página, ilustra el grosor que teóricamente tendría la cubierta dependiendo de la cantidad utilizada con respecto al principio activo de la microcápsula ya que aunque no es necesariamente una limitante, debería al menos tomarse en consideración.

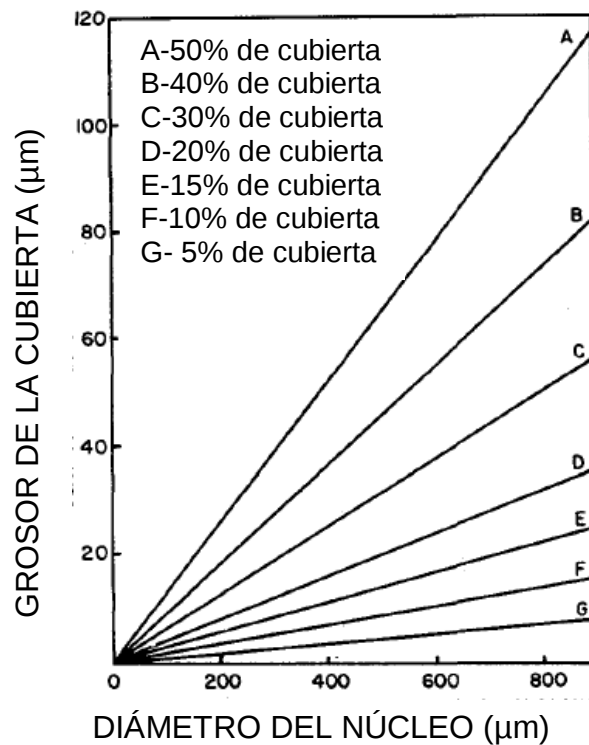


Figura 3. Grosor teórico de la cubierta dependiendo la cantidad empleada de cubierta y principio activo. (18)

Dependiendo el tipo del material de recubrimiento, se pueden proveer distintas formas de liberación del principio activo.

*Sistemas de liberación acelerada:* se trata de formas sólidas que se disuelven instantáneamente en la cavidad bucal sin necesidad de administración de líquidos. En este grupo se pueden encontrar diferentes sistemas en función del mecanismo de liberación, como los comprimidos de disgregación rápida en contacto con la saliva o los comprimidos liofilizados bucodispersables.

*Sistemas de liberación diferida o retardada:* en este grupo se incluyen los sistemas diseñados para liberar el fármaco de forma retardada, los cuales, sin prolongar el efecto terapéutico, permiten modificar el tiempo o el lugar donde se va a producir la liberación. Aquí se encuentran los sistemas de cubierta entérica que tienen la finalidad de evitar el contacto del principio activo con los jugos gástricos ya sea para eludir su inactivación o para evitar la irritación del tracto gastrointestinal. (19)

*Sistemas de liberación pulsátil:* donde el principio activo se libera en varias fases, normalmente dos, una de forma inmediata y otra al cabo de un tiempo determinado.

(20) Éste sistema es útil para la liberación de antibióticos y vacunas. La liberación pulsátil de los antibióticos puede mitigar la evolución de la resistencia bacteriana. En el caso de las vacunas, la dosis inicial es seguida de la liberación de pulsos retardados la cual puede simular a la inyección inicial y la de refuerzo respectivamente. (21) Ejemplos de estos sistemas pulsátiles comercializados son Pulsincap®, Ritalin®, Pulsys®. (19)

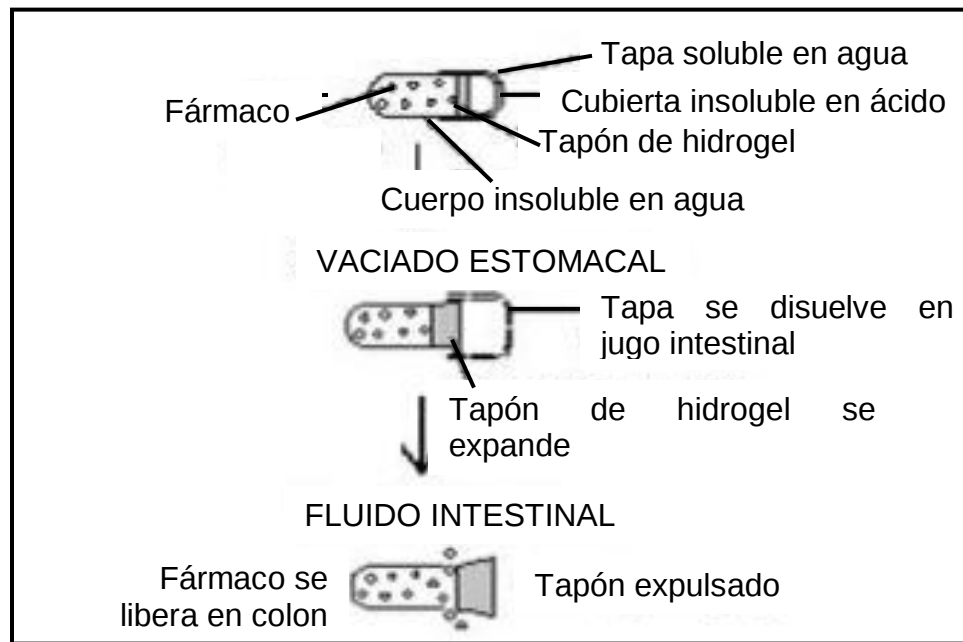


Figura 4. Esquema de las diferentes fases de Pulsincap® (56)

*Sistemas de liberación prolongada:* algunos autores hablan también de liberación controlada o sostenida. Se trata de sistemas diseñados principalmente para prolongar

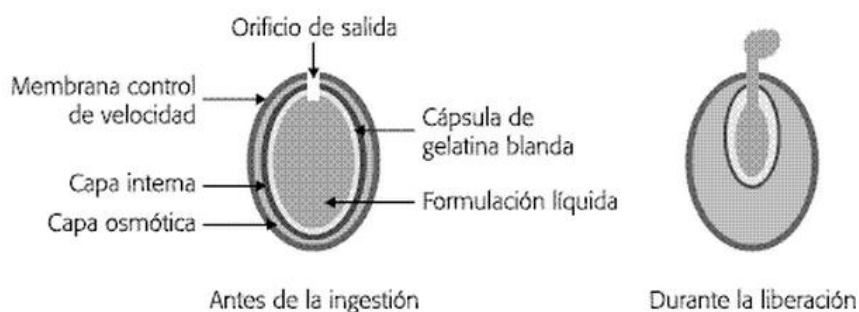


Figura 5. Ejemplo de un sistema de liberación prolongada

el efecto terapéutico, (19) esto se logra encapsulando un fármaco en una matriz polimérica, la cual limita la entrada de líquido biológico manteniendo la salida continua del principio activo y por lo tanto el nivel terapéutico en sangre reduciendo la frecuencia de la administración. (8) En la siguiente figura se muestra un esquema de liberación del sistema L-OROS™ (ALZA Corp.) donde la formulación líquida del principio activo está contenida dentro de una cápsula blanda de gelatina, rodeada por una película, una cámara osmótica y una membrana semipermeable que controla la velocidad de liberación. El orificio de liberación es formado a través de las tres capas. Cuando el sistema está en contacto con el ambiente acuoso, el agua permea a través de la membrana externa y activa la película osmótica produciendo su expansión y la compresión de la cápsula de gelatina blanda, generando una presión hidrostática dentro del sistema, que induce a la formulación líquida a salir a través del orificio. (22)

*Sistemas de liberación local (in situ):* ya sea vía subcutánea o intramuscular las micropartículas pueden mantener una concentración terapéutica efectiva en el sitio de acción con una duración deseable.

Los sistemas de liberación local evitan la administración sistémica del fármaco para fines terapéuticos locales por lo que puede reducir los efectos secundarios sistémicos. Se ha comprobado un beneficio en el uso de éste sistema para administración de anestésicos locales. (23) En la figura 6 se muestra un ejemplo innovador de éste sistema de liberación aplicando células madre.

*Sistemas flotantes y bioadhesivos:* en este caso se trata de sistemas diseñados para retrasar el tránsito gastrointestinal del medicamento o aumentar el período de residencia gástrico del mismo. Se utilizan en principios activos resistentes a los jugos

gástricos y con procesos de liberación-absorción para los que este sistema pueda suponer una ventaja en la biodisponibilidad del medicamento (ejemplo: amoxicilina, riboflavina). También se benefician de estos sistemas los principios activos cuya absorción es mayoritaria en las primeras porciones del intestino delgado (ejemplo: calcio).

Los sistemas tienen una menor densidad a la de los jugos gástricos, de esta manera pueden mantenerse flotando en la superficie de dicho fluido sin ser afectados por el vaciamiento gástrico. Esto se logra introduciendo hidrocoloides en la gelatina de encapsulación o bien mediante cámaras de flotación.

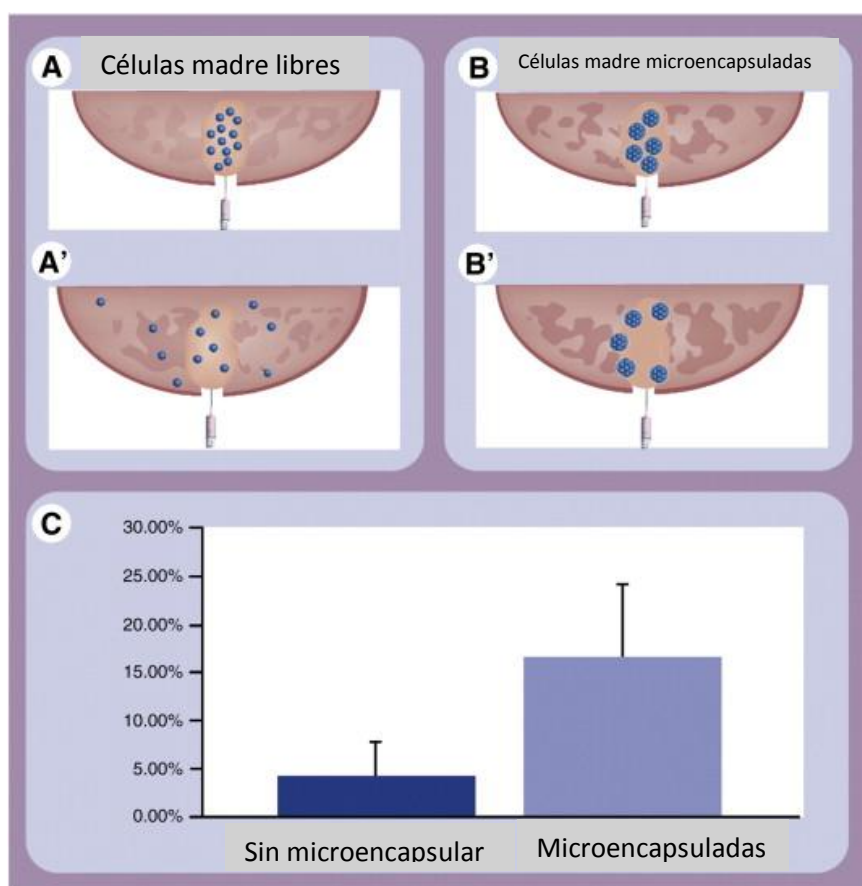


Figura 6. Uso de células madre microencapsuladas para una cardiopatía en el sistema de liberación local (54)

En la siguiente tabla se muestra un resumen de los sistemas de liberación de fármacos con algunos ejemplos.

| Sistema de liberación | Características | Ejemplo de medicamento |
|-----------------------|-----------------|------------------------|
|-----------------------|-----------------|------------------------|

|                                        |                                                                              | <b>comercializado</b>                                                                                 |
|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sistemas de liberación acelerada       | Disolución rápida del fármaco<br>No se prolonga el efecto terapéutico.       | Efferalgan Odis® (comprimidos de paracetamol).<br>Zofran Zydis® (ondansetron).                        |
| Sistemas de liberación diferida        | Evitan lesiones gástricas del fármaco<br>No prolongan el efecto terapéutico. | Omeprazol Belmac EFG (cápsulas duras Gastrorresistentes).                                             |
| Sistemas de liberación pulsátil        | Liberación secuencial del fármaco.                                           | Moxatag® (amoxicilina)<br>PULSYS®                                                                     |
| Sistemas de liberación prolongada      | Prolongan la concentración plasmática del fármaco                            | Adalat Oros®, Adalat retard® (nifedipino).<br>MST Continus® (morfina).<br>Omnice OCAS® (tamsulosina). |
| Sistemas de liberación local (in situ) | Liberación del fármaco únicamente en el sitio de acción                      | Risperidona-ISM® (24)                                                                                 |
| Sistemas flotantes y bioadhesivos      | Aumentan el período de residencia gástrico                                   | Madopar® Retard (levodopa + benserazida).                                                             |

*Tabla 3. Resumen y ejemplos de los tipos de liberación de fármacos. (19)*

Con el avance reciente de la biotecnología y la química de los polímeros, el uso de sistemas con microcápsulas continúa creciendo con una amplia variedad de aplicaciones.

### **3.1.4 Métodos de microencapsulación**

El método de microencapsulación viene principalmente determinado por la naturaleza del material de recubrimiento y por las características fisicoquímicas del principio activo que se va a encapsular. (7)

Además se debe tomar en cuenta factores como que la estabilidad y la actividad biológica del fármaco no deben ser afectadas durante el proceso de microencapsulación, la eficiencia de ser alta, la calidad de las microcápsulas y el perfil de liberación deben ser reproducibles con los límites especificados, las microcápsulas no deben mostrar algún tipo de agregación o adherencia, el proceso debe ser usable a

una escala industrial y el nivel de residuos orgánicos debe ser menor del límite impuesto por la respectiva farmacopea.(25)

Un solo tipo de método de microencapsulación no puede ser universalmente aplicado a todos los fármacos, sino que es importante entender primero las propiedades fisicoquímicas del fármaco y encontrar un método y materiales de recubrimiento que sean más compatibles con sus propiedades. (8)Entre los criterios más comunes que debemos de tomar en cuenta para la preparación de microcápsulas están los siguientes:

- La capacidad de incorporar concentraciones razonablemente altas del fármaco.
- Estabilidad de las microcápsulas después de la preparación con un tiempo de vida clínicamente aceptable.
- Tamaño de partícula controlado y solubilidad en vehículos acuosos para inyectables.
- Liberación del principio activo con un buen control en una escala amplia de tiempo.
- Biocompatibilidad con una biodegradabilidad controlable. (10)

El estado físico del fármaco puede también limitar la selección del método a emplear, también su solubilidad y puesto que el agua es el solvente más utilizado, la solubilidad en agua es un buen punto para tomar en consideración. (8)En la siguiente tabla se muestra un resumen de los métodos de microencapsulación más ampliamente utilizados de acuerdo a las propiedades del fármaco.

|                            | Fármacos solubles en agua     | Fármacos insolubles en agua   |
|----------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| Fármacos<br>líquidos       | Emulsión agua/aceite/agua     | Emulsión aceite/agua          |
|                            | Emulsión agua/aceite/aceite   | Emulsión aceite/aceite        |
|                            | Emulsión agua/aceite          | Coacervación                  |
|                            | Gelación iónica               | Secado por atomización        |
|                            | Secado por atomización        |                               |
| Fármacos<br><u>sólidos</u> | Emulsión aceite/agua          | Coacervación                  |
|                            | Emulsión aceite/aceite        | Recubrimiento en lecho fluido |
|                            | Recubrimiento en lecho fluido |                               |
|                            | Fluidos supercríticos         |                               |

*Tabla 4 Selección de métodos de microencapsulación para fármacos con diferentes propiedades físicas (8)*

Entre los diferentes métodos se han desarrollado a lo largo del tiempo para lograr la microencapsulación satisfactoria de compuestos de naturaleza muy diversa, tenemos

los siguientes divididos principalmente en tres grandes grupos: fisicoquímicos, químicos y mecánicos.

**1. Métodos fisicoquímicos:** han sido muy estudiados a escala de laboratorio como es la coacervación.

**2. Métodos físico-mecánicos:** son los más usados industrialmente, por lo factible de su ejecución, por ejemplo la evaporación/extracción de disolvente, secado por atomización y el recubrimiento en lecho fluido.

**3. Métodos químicos:** son los más recientes y han sido más empleados a escala de laboratorio que a escala industrial (polimerización interfacial). (9)

A continuación se describen algunos de los métodos más comúnmente utilizados para la microencapsulación.

#### **a) Coacervación**

En éste método se induce la desolvatación de un polímero que se deposita en forma de gotículas de coacervado alrededor del fármaco a encapsular. Esto se logra realizando una solución de polímeros hidrofílicos en dos fases, en una de las cuales se tiene una solución rica en polímero hidrofílico, que es la que forma las gotículas de coacervado y otra fase, que forma el sobrenadante y es la que contiene al núcleo. La coacervación es el intermedio entre la disolución y el precipitado y se puede inducir la coacervación mediante la adición de un “no-solvente” (acetona, etanol), una sal (sulfato sódico), un cambio de temperatura o un cambio de pH. (9) El método de coacervación puede ser dividido en simple o complejo dependiendo del número de polímeros involucrados en la formación de las micropartículas. (8)

#### **b) Emulsión**

Se pueden formar micropartículas a partir de una emulsión de dos o más líquidos inmiscibles. Dependiendo del método de solidificación de las gotículas en la emulsión pueden clasificarse en:

- Evaporación de disolvente:

En este método están incluidos todos los procesos en los que tiene lugar la eliminación del solvente. (25) Las partículas a recubrir pueden estar tanto en medio acuoso u oleoso y se forma una emulsión la cual, se mezcla con solventes orgánicos

hasta su evaporación y las gotas emulsificadas que contienen el polímero y el principio activo son endurecidas. (8) (25)

- Extracción de disolvente:

Sigue la misma técnica del método de evaporación de disolvente pero en este caso, los solventes relativamente no volátiles pueden ser removidos por extracción usando un solvente que incremente la diferencia de concentraciones entre la fase oleosa y la acuosa o añadiendo un tercer disolvente para facilitar la extracción del disolvente. (8)

- Entrecruzamiento (cross-linking)

Una emulsión agua en aceite es preparada con una solución de polímeros hidrofílicos de origen natural tales como gelatina, albúmina, ácido hialurónico y quitosano, la cual es emulsificada en una fase oleosa (típicamente formada de aceites vegetales o mezclas aceitosas de solventes orgánicos), con algún agente emulsificante como el Span 80. La mayoría de las proteínas se entrecruzan usando glutaraldehído, también se utilizan métodos alternativos para el entrecruzamiento de proteínas tales como el calentamiento, agregando agentes especiales para propiciar el entrecruzamiento o algún contrarrestador de polímeros (8)

### **c) Secado por Atomización**

El principio activo se disuelve o dispersa en una solución del material de recubrimiento derretido manteniendo la temperatura aproximadamente 5°C arriba del punto de fusión del polímero y con agitación constante. Esta mezcla se pulveriza en una cámara, en cuyo interior circula aire caliente. De esta manera el disolvente se evapora y se obtienen las microesferas. (9)

### **d) Recubrimiento en lecho fluido o suspensión en aire**

Las partículas de la sustancia que se recubrirá se suspenden en aparatos denominados “aparatos de recubrimiento de lecho fluido”, en este sistema se colocan las partículas a recubrir en una malla metálica, estas partículas se mantienen en suspensión gracias a la circulación de aire en forma ascendente a través de ésta malla y una solución del material de cubierta se atomiza sobre las partículas. De esta forma se deposita la cubierta sobre las partículas, que luego se solidifica por la acción del aire en el propio lecho. (7) (9)

### **e) Polimerización interfacial**

Esta técnica se lleva a cabo en la interfase de dos sustancias inmiscibles para formar una membrana. En una de las sustancias se encuentra el monómero y en otra el iniciador o puede ser un sistema de dos monómeros uno disuelto en cada fase. (8) (9) Un ejemplo es una membrana de nylon resultante de la polimerización de dos monómeros. Una fase acuosa contiene el fármaco y una diamina. La otra fase contiene surfactantes, entonces son mezcladas ambas fases para formar una emulsión. Después una fase adicional conteniendo ácido clorhídrico es añadida a la emulsión para permitir la polimerización interfacial. La polimerización puede ser terminada agregando exceso de la fase no acuosa. (26)

### **f) Gelificación iónica o complejo polielectrolito**

En esta técnica la formación de la cubierta de las microcápsulas tiene lugar por una reacción de gelificación iónica entre un polisacárido y un ion de carga opuesta.

Generalmente, se recurre a la gelificación de alginato de sodio (polianión) con cloruro de calcio (catión). El método consiste en suspender el compuesto que se va a encapsular en una solución acuosa de alginato de sodio, adicionando la mezcla, mediante goteo, sobre una solución acuosa de  $\text{CaCl}_2$  que se encuentra sometida a una velocidad de agitación adecuada. Al entrar la gota de alginato de sodio en contacto con  $\text{Ca}^{2+}$ , se produce la gelificación instantánea de la misma, obteniéndose una membrana o cubierta de alginato cálcico que es insoluble en agua pero permeable. (7) Otros sistemas de polímeros que pueden ser utilizados para el método de gelificación iónica pueden ser quitosano/trifosfato, carboximetilcelulosa/aluminio o quitosano,  $\kappa$ -carragenina/potasio o quitosano, pectina/calcio o poli-lisina. (8) Éste método fue desarrollado por Lim y Sum (27) para encapsulación de células aunque ahora también es usado para la encapsulación de fármacos.

### **g) Fluidos supercríticos**

Éste es un método relativamente nuevo, el cual puede minimizar el uso de solventes orgánicos tomando ventaja de dos propiedades distintivas de los fluidos supercríticos, por ejemplo, alta compresibilidad y densidad parecida a la de los líquidos. Este método se puede dividir en dos partes: expansión rápida de soluciones supercríticas (RESS), la cual utiliza los fluido supercríticos (P/e: dióxido de carbono) como el solvente del polímero, y cristalización supercrítica anti solvente (SAS), provocando la precipitación del polímero. (8)

#### h) Fusión de filmógeno

En éste método el material a encapsular se mezcla con el polímero derretido manteniendo la temperatura aproximadamente 5°C arriba del punto de fusión del polímero y con agitación constante, la temperatura es reducida rápidamente solidificando las gotículas. (28)

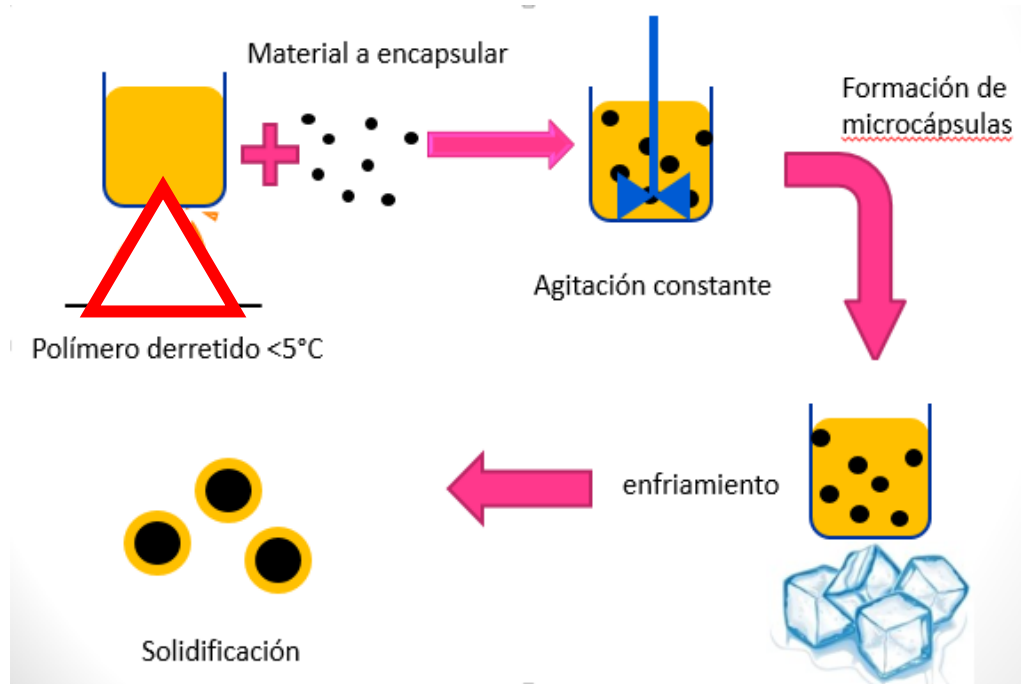


Figura 7. Esquema del método de fusión de filmógeno

#### 3.1.5 Evaluación fisicoquímica

La caracterización de las microcápsulas es un importante fenómeno que ayuda a diseñar un vehículo adecuado para los fármacos, proteínas o cualquier tipo de núcleo. Puesto que las microcápsulas tienen diferentes microestructuras y éstas son las que determinan ciertas propiedades como la liberación y la estabilidad.

Las propiedades fisicoquímicas requeridas para las microcápsulas se rigen por el tipo de fármaco y la aplicación *in vivo* para la que se van a emplear.

*Tamaño de partícula.* Es un factor importante, ya que la ruta de administración determinará el tamaño requerido para las microcápsulas.

*Área superficial/porosidad.* Las microcápsulas porosas son esenciales para la liberación de sustancias de elevado peso molecular que no pueden ser difundidas desde una cubierta no-porosa; también son útiles para liberar sustancias que presentan elevada afinidad hacia el polímero y que no se liberan a menos que la cubierta se degrade.

*Contenido de fármaco/liberación del fármaco.* Estas dos variables dependen de la dosis que se trate de alcanzar y la velocidad de dosificación del fármaco en cada tratamiento en particular. El contenido de fármaco también depende de la cantidad que el mismo es capaz de aceptar en la ruta de administración para la cual ha sido diseñado.

*Tiempos de biodegradación.* El tiempo requerido para degradar las microcápsulas depende de la ruta de administración y la frecuencia de las dosis. Por ejemplo, en las rutas por inhalación generalmente empleadas para terapias crónicas se requiere una rápida biodegradación para evitar acumulaciones en el sistema, mientras que la liberación subcutánea o intramuscular puede tolerar cierta acumulación de partículas con degradaciones más lentas. (13)

### **3.2 Naproxeno**

El Naproxeno es un fármaco de la familia de anti-inflamatorios no esteroideos (Aines), esto quiere decir que muestra actividad antiinflamatoria, analgésica y antipirética, la cual se explica más adelante. El término no-esteroideo se refiere a que los efectos clínicos son similares a los de los corticoides pero no los acompañan las consecuencias secundarias que caracterizan a los esteroides.

Fue sintetizado por primera vez en 1962 por la compañía farmacéutica mexicana Syntex con la finalidad de obtener un fármaco para el tratamiento de la artritis reumatoide y la osteoartritis, pero fue hasta la década de los 70's que se aprobó para su comercialización bajo el nombre de Naprosyn, su eficacia fue tan exitosa que para el año de 1983 era uno de los Aines más vendidos en todo el mundo.

La FDA. (Food and Drug Administration ó Agencia de Alimentos y Medicamentos) de Estados Unidos aprobó su venta sin prescripción médica en 1994, sin embargo, aún existen algunos países como Canadá donde todavía no es de venta libre. (29) (30)

En un principio, la manera de obtener Naproxeno consistía en la formación de una mezcla racémica de Naproxeno, seguida de su resolución óptica, la figura 7 muestra

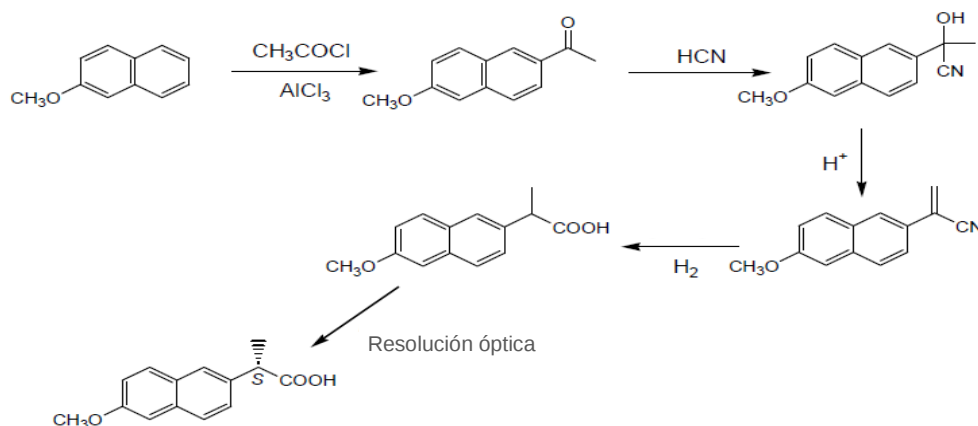


Figura 8. Síntesis racémica del Naproxeno. (30)

una de las formas en las que se obtenía el fármaco. (30)

Sin embargo, en 1988 la compañía farmacéutica Zambon dio a conocer una técnica de síntesis del Naproxeno en la que se obtenía el (S)-enantiómero sin ninguna resolución óptica. (31) Cabe destacar que el Naproxeno fue el primer fármaco de la familia Aines comercializado en forma de enantiómero (forma R y S), pero se descubrió que el (S)-enantiómero es 28 veces más biológicamente activo que el (R)-enantiómero. (30)

En esa misma década de los 80's, el químico japonés Ryouji Noyori descubrió que a través de la hidrogenación asimétrica de alquenos podría sintetizarse el (S)-enantiómero del Naproxeno con un 97% de pureza (Figura 8). Ésta forma de obtención, además de hacerlo acreedor del Premio Nobel de Química, es actualmente la que utilizan las industrias farmacéuticas para la obtención del Naproxeno. (32)

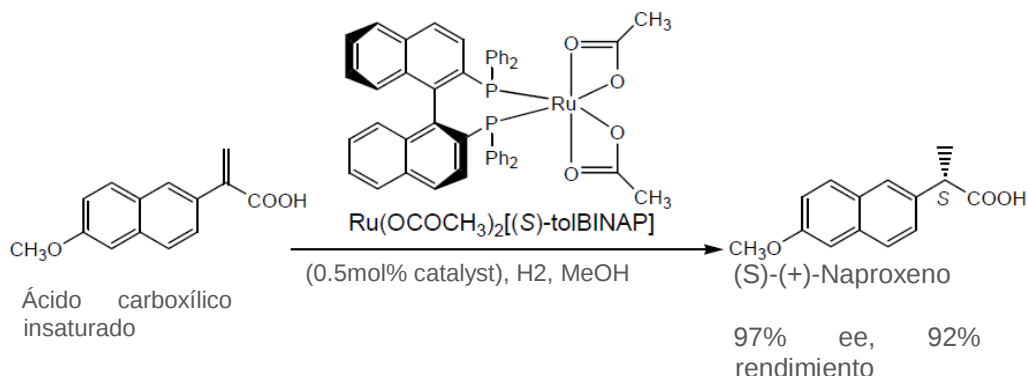


Figura 9. Obtención de Naproxeno a través de la hidrogenación catalítica enantioselectiva de Noyori. (32)

### **3.2.1 Aplicaciones del Naproxeno**

El Naproxeno al ser un derivado del ácido propiónico posee propiedades analgésicas, anti-inflamatorias y antipiréticas. (33) Es comúnmente utilizado para aliviar el dolor correspondiente a estructuras somáticas especialmente al dolor debido a trastornos reumáticos (34) como la artritis reumatoide, la artritis juvenil, la osteoartritis, la espondilitis anquilosante, etc. También está indicado para el tratamiento de tendinitis, bursitis, esguinces y como un analgésico en general. (35)

Tanto el Naproxeno como su sal (Naproxeno sódico) son utilizados para el manejo del dolor postoperatorio (incluyendo el de cirugías dentales), dolor postparto, dolor en la dismenorrea o el causado por la inserción del dispositivo intrauterino, dolor ortopédico y de cabeza (incluyendo migraña), dolores musculares o aquellos causados por el resfriado común.

El Naproxeno también ha sido utilizado para tratar enfermedades específicas como la osteítis deformante (Enfermedad de Paget en hueso) o el síndrome de Bartter. Además de ser utilizado efectivamente para aliviar fiebre, enrojecimiento, hinchazón y dolor en los pacientes con artritis gotosa aguda.

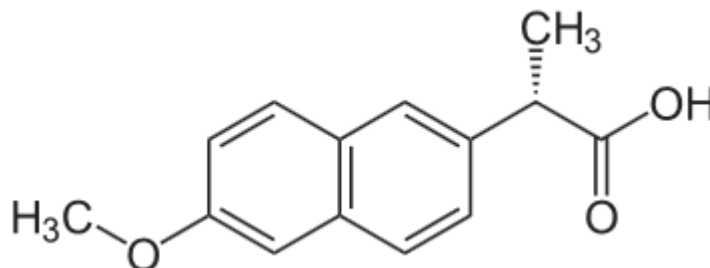
Cuando es utilizado en el tratamiento de la artritis reumatoide o artritis juvenil, el Naproxeno ha sido capaz de aliviar el dolor y la rigidez, reducir la hinchazón y mejorar la movilidad y la fuerza de agarre. En el tratamiento de la osteoartritis, el Naproxeno también ha aliviado el dolor, la rigidez y ha mejorado la función en las articulaciones de las rodillas. Sin embargo, el Naproxeno parece ser sólo paliativo en estas condiciones, puesto que no se ha demostrado que detenga o revierta de forma permanente el proceso de la enfermedad subyacente. (36)

### **3.2.2 Propiedades fisicoquímicas**

A continuación se enlistan algunas de las principales características fisicoquímicas del Naproxeno puro.

- Su fórmula condensada es  $C_{14}H_{14}O_3$ , y su nomenclatura correspondiente según la IUPAC es:

*Ácido (S)-2-(6-metoxi-2-naftil) propanóico (30) (Figura 9)*



*Figura 10 Estructura molecular de Naproxeno.*

- Tiene un peso molecular de 230.2628 g/mol (37)
- Es un polvo cristalino blanco.



*Figura 11. Microscopía óptica del Naproxeno (55)*

- Inodoro. (37)
- Sabor amargo. (35)
- pKa de 4.15 (33)
- Tiene un punto de fusión entre 154.9 °C y 158 °C.
- La solubilidad en cloroformo, metanol y etanol es de 1:10, mientras que en éter es de 1:30. (38) Soluble en agua a pH 8 o mayor. (35)
- Su coeficiente de reparto octanol-agua ( $K_{OW}$ ) es de 3.18 (39)
- Rotación óptica específica: +66° a 25°C C/D (en cloroformo) (37)
- Presión de vapor:  $1.89 \times 10^{-6}$  mmHg a 25°C

- Existe en una forma cristalina única y su estructura cristalográfica ha sido descrita como monoclinica. (40)

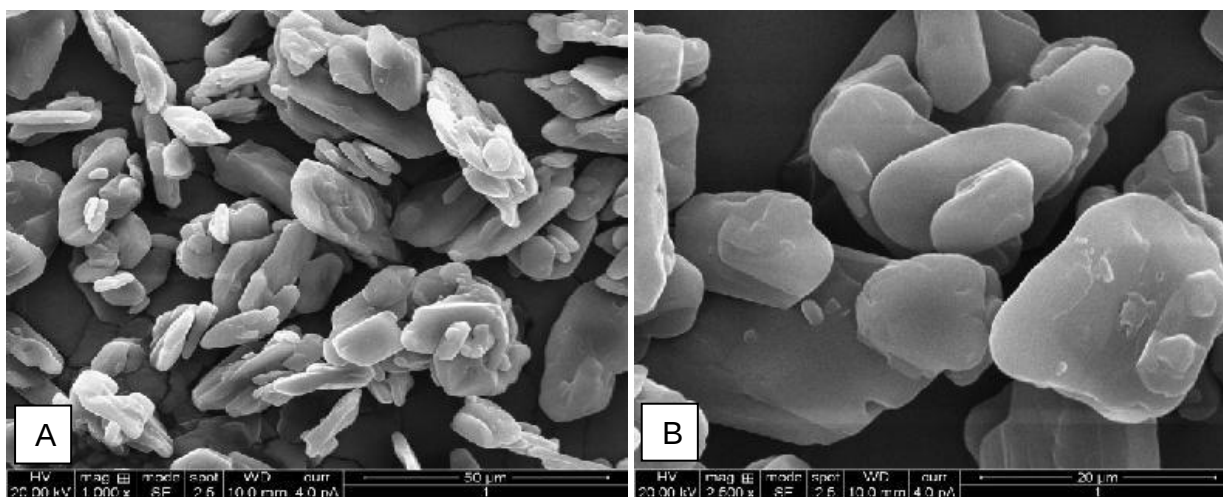


Figura 12. Micrografías electrónicas del Naproxeno con SEM. A Apariencia, B. Superficie. (5)

De acuerdo a la estructura química del Naproxeno mostrada en la figura 9, contiene anillos aromáticos, un grupo carboxílico, un alcano y un grupo metoxilo. El análisis de espectrometría de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR), muestra los siguientes resultados: (4)

| Grupo funcional            |         | Región estándar del pico de resonancia                         |
|----------------------------|---------|----------------------------------------------------------------|
| Grupo carboxilo<br>(-COOH) | O-H     | 3500 – 2400 $\text{cm}^{-1}$                                   |
|                            | C=O     | 1730 – 1700 $\text{cm}^{-1}$                                   |
|                            | C-O     | 1320 – 1210 $\text{cm}^{-1}$                                   |
| Anillos aromáticos         | C=C-C   | 1615 – 1580 $\text{cm}^{-1}$ y<br>1510 – 1450 $\text{cm}^{-1}$ |
| Éter                       | Arilo-O | 1270 – 1230 $\text{cm}^{-1}$                                   |
|                            | Alquilo | 1150 – 1050 $\text{cm}^{-1}$                                   |
|                            | C-O     |                                                                |

Tabla 5. Picos de resonancia del Naproxeno por FTIR (4)

Un ejemplo de una gráfica del espectro infrarrojo del Naproxeno puro se muestra en la figura 12. Los picos de absorción característicos del Naproxeno que se tienen en 3188  $\text{cm}^{-1}$  debido al enlace aromático C-H, 2906  $\text{cm}^{-1}$  y 2975  $\text{cm}^{-1}$  por el enlace alifático C-H, 1728  $\text{cm}^{-1}$  por el carboxilo C=O y 1604  $\text{cm}^{-1}$  por el doble enlace C=C.

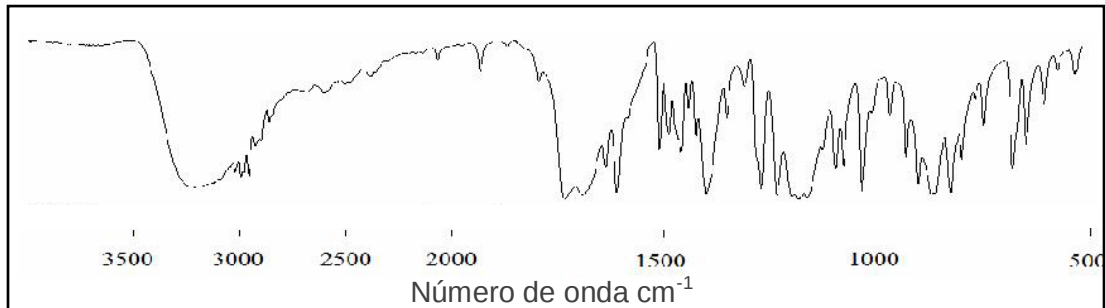


Figura 13. FTIR del Naproxeno puro. (5)

La difracción de rayos X de polvo (XRDP) es una excelente técnica para la identificación del Naproxeno a través de sus diferentes fases cristalinas presentes; puestas que cada fase cristalina tiene su patrón único de XRDP. A continuación se muestra el patrón de la difracción de rayos X de polvo en el rango 10–60°, 2θ que muestra los típicos picos de difracción del Naproxeno. (5)

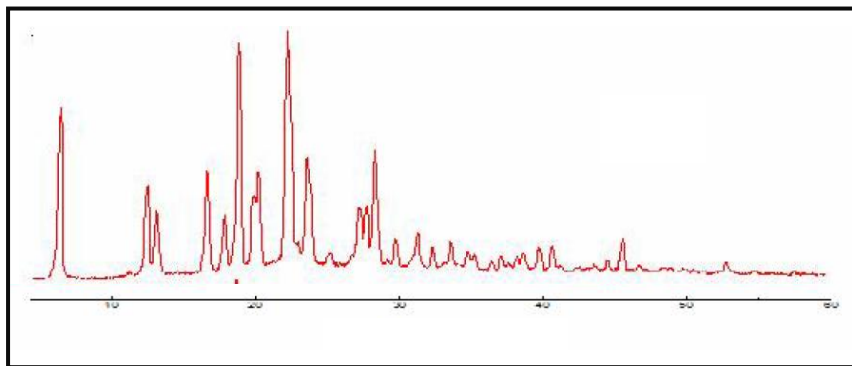
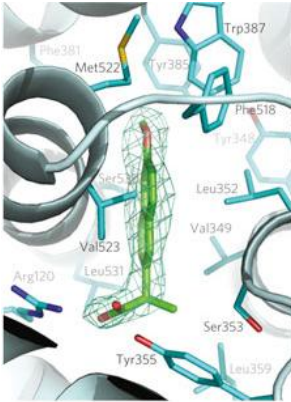


Figura 14. XRDP del Naproxeno puro (5)

### 3.2.2 Farmacodinamia

#### 3.2.2.1 Mecanismo de acción

El Naproxeno detiene la síntesis de prostaglandinas en los tejidos del cuerpo inhibiendo a la ciclooxigenasa, en al menos dos de sus isoenzimas, la ciclooxigenasa-1 (COX-1) y la ciclooxigenasa-2 (COX-2) (también conocidas como prostaglandina G / H sintasa-1 (PGHS-1) y sintasa-2 (PGHS-2), respectivamente)



*Figura 15. Naproxeno (verde) unido al sitio activo de la COX-2 (53)*

La COX-1 se encuentra repartida por todo el cuerpo, además de formar parte de muchas células. Su presencia es de máxima importancia en órganos como el estómago y el riñón. La COX-1 del estómago fabrica una serie de sustancias que lo protegen e impiden que aparezcan úlceras, hemorragias o perforación. Esta COX-1 también es muy importante en los riñones ya que elabora sustancias que hacen que el riñón reciba suficiente sangre y funcione normalmente. La COX-2 en condiciones normales no actúa, pero cuando algún órgano de nuestro cuerpo sufre una lesión, aparece y fabrica sustancias que provocan inflamación y dolor. (41)

Al igual que otros anti-inflamatorios no esteroideos, el Naproxeno muestra actividad anti-inflamatoria, analgésica y antipirética que se debe principalmente a la inhibición de la isoenzima COX-2. Sin embargo la COX-1 es presuntamente responsable de efectos tales como la irritación de la mucosa gastrointestinal y agregación plaquetaria. (36)

#### 3.2.2.2 Efectos Terapéuticos

El Naproxeno tiene efectos farmacológicos similares a otros agentes anti-inflamatorios no esteroideos, esto quiere decir que como se mencionaba anteriormente, tiene propiedades para aliviar la inflamación, la fiebre y el dolor, asociadas principalmente con la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

### Acción analgésica

Está indicado para aliviar el dolor especialmente el debido a procesos reumáticos como la artritis reumatoide, osteoartritis, espondilitis, etc. También para el manejo del dolor postquirúrgico.

### Acción Antipirética

Disminuye la temperatura en los casos de fiebre, en tanto que la temperatura corporal sea sólo levemente afectada. Aunque no está claro el mecanismo de acción antipirética del Naproxeno, se sugiere que la reducción de temperatura se relaciona con el aumento en la disipación del calor producido por los vasos sanguíneos superficiales (42) y que la supresión de la síntesis de prostaglandinas en el Sistema Nervioso Central (probablemente en el hipotálamo) podría estar involucrada. (36)

### Acción anti-inflamatoria

Su eficacia se debe principalmente a que el Naproxeno es uno de los inhibidores de prostaglandinas más potentes entre los derivados de los ácidos arilpropiónicos; es de 10 a 20 veces más potente que la aspirina. (43) Éste proceso lo realiza por bloqueo irreversible de la enzima ciclooxygenasa, (42) impidiendo la extracción del hidrógeno H-13 del ácido araquidónico reduciendo la formación de prostaglandinas. (44)

### Otras acciones farmacológicas

Aparte de las acciones analgésica y antipirética, los derivados del ácido propiónico también poseen una discreta acción depresora central evidenciada por mareos, astenia y somnolencia, los cuales se sabe que aparecen sólo algunas veces.

Es capaz de suprimir los efectos de la gota mediante agentes que aumentan la excreción de ácido úrico por el riñón (agentes uricosúricos), también disminuye la producción de ácido úrico (anti-hiperuricémico), y alivia el dolor y la inflamación causado por ataques agudos de gota. (45)

La inhibición de la síntesis de prostaglandinas inducida por el Naproxeno, puede producir disminución de la frecuencia y de la intensidad de la contractilidad del útero, puesto que las prostaglandinas E2 y F2 alfa son las que aumentan la amplitud y la frecuencia de las contracciones uterinas en las mujeres embarazadas. También se cree que son las que regulan la dismenorrea primaria ya que las concentraciones en

sangre de la prostaglandina F2 alfa se reducen en mujeres con dismenorrea cuando se les administra Naproxeno.

El tratamiento con Naproxeno ha sido eficaz en el alivio del dolor menstrual y ha reducido la pérdida de sangre en mujeres con menorragia, probablemente mediante la inhibición de la formación de estas prostaglandinas. (36)

### **3.2.2.3 Efectos adversos**

Según algunos estudios clínicos e informes de vigilancia epidemiológica llevados a cabo en diferentes países, se han determinado una serie de reacciones adversas diferentes. De entre ellas, las que se presentan con una incidencia mayor son las siguientes:

*Generales:* Disnea, alteraciones en la función renal, anemia, elevación de enzimas hepáticas, aumento del tiempo de sangrado, reacciones anafilácticas, erupciones, edema angioneurótico, desordenes menstruales, pirexia (escalofríos y fiebre).

*Gastrointestinales:* Los Aines incluyendo al Naproxeno pueden causar severos efectos secundarios gastrointestinales como inflamación, sangrado, ulceración y perforación del estómago, intestino delgado o intestino grueso, que puede ser fatal. Pirosis, dolor abdominal, náuseas, constipación, diarrea, dispepsia, estomatitis, flatulencia, sangrado macroscópico, úlcera péptica de localización gástrica o duodenal, vómito, colitis, pancreatitis, estomatitis ulcerativa, esofagitis, ictericia, pruebas funcionales hepáticas anormales y hepatitis. Estos eventos pueden ocurrir en cualquier momento de la terapia con o sin síntomas previos.

*Sistema nervioso central:* Dolor de cabeza, vértigo, somnolencia, mareo, incapacidad para concentrarse, depresión, insomnio, otras anomalías del sueño, malestar, mialgias, debilidad muscular, meningitis aséptica, disfunción cognitiva, convulsiones.

*Sentidos especiales:* disturbios visuales, papilitis, opacidad corneana, neuritis óptica retrobulbar, papiledema y disminución de la audición. Dermatológicos: Prurito, erupción cutánea, equimosis, diaforesis, púrpura, alopecia, urticaria, necrólisis epidérmica tóxica, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, fotodermatitis, reacciones de fotosensibilidad incluyendo casos raros que semejan pseudo-porfiria cutánea tardía o epidermólisis bullosa.

*Cardiovascular:* Ensayos clínicos con diversos antiinflamatorios no esteroideos, tanto COX-2 selectivos, como no selectivos, mostraron que su administración se asocia a un incremento de eventos trombóticos cardiovasculares severos, tales como infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, edema, palpitaciones, insuficiencia cardíaca congestiva, vasculitis, hipertensión y edema pulmonar.

*Urogenital:* La toxicidad renal se ve en pacientes en quienes las prostaglandinas renales juegan un papel importante en el mantenimiento de la perfusión renal. En estos pacientes la administración de antiinflamatorios no esteroideos puede causar una reducción en la formación de prostaglandinas lo cual puede ocasionar una falla renal, nefritis glomerular, hematuria, hipercalcemia, nefritis intersticial, síndrome nefrótico, necrosis papilar renal.

*Hematológicos:* Eosinofilia, leucopenia, trombocitopenia, agranulocitosis, anemia hemolítica, anemia aplásica.

*Metabolismo:* Hiperglucemia, hipoglucemia.

*Respiratorio:* Al igual que con otros antiinflamatorios no esteroideos, pueden ocurrir reacciones anafilácticas de neumonitis o asma. (46)

#### **3.2.2.4 Interacciones**

*Antiácidos:* Su administración junto con Naproxeno puede disminuir la absorción del Naproxeno.

*Ácido acetilsalicílico:* cuando se administra el Naproxeno concomitantemente con ácido acetilsalicílico, la unión del Naproxeno a las proteínas disminuye. Se desconoce la razón de esta interacción, pero en general no se recomienda la asociación de ácido acetilsalicílico y el Naproxeno por la potenciación de los efectos adversos.

*Diuréticos:* El Naproxeno puede disminuir los efectos diuréticos de la furosemida y de las tiazidas, lo cual se atribuye a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas.

*Metotrexato:* Se ha reportado que el Naproxeno, y otros antiinflamatorios no esteroideos reducen la secreción tubular de metotrexato en modelos animales, lo que sugiere que pueden aumentar los efectos tóxicos de la sustancia. (46)

*Warfarina:* Las interacciones del Naproxeno con la warfarina se dan a varios niveles. Primero, los efectos de la warfarina y los antiinflamatorios no esteroideos, sobre el sangrado gastrointestinal son sinérgicos, es decir que el riesgo de sangrado cuando se administran ambos fármacos, es mucho más alto que cuando se administra uno solo. Segundo, como el Naproxeno se une fuertemente a las proteínas del plasma, hay una teórica interferencia con otros medicamentos que también se unen en alta proporción a dichas proteínas, como la warfarina haciendo que se eleve su concentración en el suero y que se prolonguen los tiempos de coagulación. (36) (46)

Otros: Puesto que como ya se mencionó, el Naproxeno tiene una alta unión a proteínas por lo que puede interferir en la unión de otros fármacos como las sulfonamidas, sulfonilureas e hidantoinas. (36)

### **3.2.3 Farmacocinética**

#### **3.2.3.1 Absorción**

El Naproxeno puede ser administrado por vía oral o rectal, sin embargo, por ésta última alcanza la dosis máxima con mayor lentitud. (47) Después de ingerido se absorbe en su totalidad en el tracto gastrointestinal y las concentraciones plasmáticas máximas (55 µg/ml) se alcanzan desde 2 a 4 horas después de una dosis de 500 mg y los niveles del estado estacionario se logran después de 4 a 5 dosis cada 12 horas. (33) (43) La rapidez de la absorción del Naproxeno, mas no su magnitud, puede verse acelerada si se administra de manera concomitante bicarbonato de sodio, o reducirse por el consumo de óxido de magnesio o hidróxido de aluminio. (47)

#### **3.2.3.2 Distribución**

El volumen de distribución del Naproxeno es 0.16 L/kg. (45) Se une en un 99% a las proteínas plasmáticas y tiene una vida media plasmática de 14 horas aproximadamente. (43) Cuando los sitios de unión del Naproxeno se saturan (dosis mayores a 500 mg de Naproxeno más de dos veces al día), las concentraciones plasmáticas se incrementan y podría resultar en concentraciones mayores en la orina.

El Naproxeno es capaz de atravesar placenta y también se puede encontrar en la leche materna alcanzando concentraciones equivalentes al 1% de la máxima concentración plasmática (36) (46)

### **3.2.3.3 Metabolismo**

Después de unirse a las proteínas el Naproxeno llega al hígado donde el sistema metabolizador microsómico lo transforma a 6-orto-desmetil Naproxeno, un metabolito sin actividad antiinflamatoria de importancia. Esta O-desmetilación es llevada a cabo por 3 isoenzimas del complejo del citocromo P-450 (1A2, 2C8, 2C9). Tanto el Naproxeno como el 6-orto-desmetil Naproxeno son posteriormente transformados en sus respectivos derivados acil-glucurónidos y finalmente excretados por orina y heces. (46) (48)

### **3.2.3.4. Excreción**

La cinética de eliminación del Naproxeno corresponde al modelo de dos compartimentos y es excretado el 95% aproximadamente, a través de la orina en forma de Naproxeno y 6-desmetilNaproxeno y el resto por las heces vía excreción biliar. En promedio, 30 % del fármaco muestra 6-desmetilación y gran parte de este metabolito inactivo (6-desmetilNaproxeno) así como el propio Naproxeno, se excreta en forma de glucurónido u otros conjugados (66-92%). La velocidad de aclaramiento renal es 2-3 veces mayor, indicando que la secreción tubular activa está implicada. (33) (47)

Sin embargo, algunos datos sugieren que la excreción del Naproxeno puro puede ser insignificante o ausente; concentraciones reportadas anteriormente del fármaco puro secretado, podrían sugerir una hidrólisis rápida de los conjugados durante la recolección y almacenamiento de las muestras de orina. La eliminación del Naproxeno es menor en pacientes con insuficiencia renal. (36)

#### 4. JUSTIFICACIÓN

El Naproxeno, es un fármaco empleado generalmente para el tratamiento del dolor, fiebre y principalmente utilizado para tratar la rigidez en las articulaciones provocadas por afecciones como la artritis reumatoide.

La artritis reumatoide es una enfermedad inflamatoria, crónica, autoinmune y sistémica de etiología desconocida; su principal órgano blanco es la membrana sinovial y se caracteriza por haber inflamación tanto de pequeñas como de grandes articulaciones.

La artritis reumatoide afecta del 0.2 al 2% de la población mundial, (49) y desde que el Naproxeno fue introducido al mercado aproximadamente en el año de 1973 diversos estudios se realizaron a lo largo de los años sobre su efectividad en el tratamiento de la artritis en general como la reumatoide o la osteoartritis, en comparación con otros fármacos del grupo de antiinflamatorios no esteroideos (Aines), en este caso el ácido acetilsalicílico, ambos con buenos resultados, sin embargo el Naproxeno siempre ha sido el preferido al ser mejor tolerado por los pacientes y causar menos efectos secundarios. (50)

En otro estudio relativamente pequeño donde se compararon varios fármacos semejantes al Naproxeno, es decir, derivados del ácido arilpropiónico, los pacientes prefirieron el Naproxeno por la analgesia y el alivio de la “rigidez matutina” de las articulaciones, nuevamente demostrando que el mejor tolerado fue el Naproxeno.

Debido a que los efectos antiinflamatorios del Naproxeno (y en general de cualquier Aines), se debe a la inhibición de la síntesis de prostaglandinas lo que ocasiona efectos secundarios indeseados tales como úlceras gástricas, náuseas, vómito, etc. además de tener un rápido aclaramiento en el organismo. (34)

Además, éste fármaco es rápida y eficientemente absorbido después de su administración oral pero tiene una duración en el organismo relativamente corta y requiere múltiples dosis para mantener su efecto terapéutico durante el día. (4)

Con el fin de mejorar la utilidad terapéutica del Naproxeno, la presente tesis propone la elaboración de microcápsulas de Naproxeno ya que las técnicas de microencapsulación son un buen método para proteger a éste fármaco de la rápida biodegradación, para poder ser utilizado por ejemplo, para el tratamiento de las diferentes afecciones artríticas y al mismo tiempo ser capaz de mantenerse más

tiempo en las articulaciones aumentando su concentración en el lugar deseado y así evitando efectos tóxicos sistémicos. (13) También al poseer material de recubrimiento, el Naproxeno sería capaz de actuar más amigablemente con el sistema digestivo.

Adicionalmente, podrían disminuirse las dosis múltiples al incorporar un sistema de liberación controlada y así evitar errores en la ingesta. En definitiva, la microencapsulación del Naproxeno ofrece una alternativa para la creciente población de pacientes con artritis que se ven obligados a tomar diversos fármacos, entre ellos el Naproxeno de por vida y así poder mejorar su calidad de vida.

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 General**

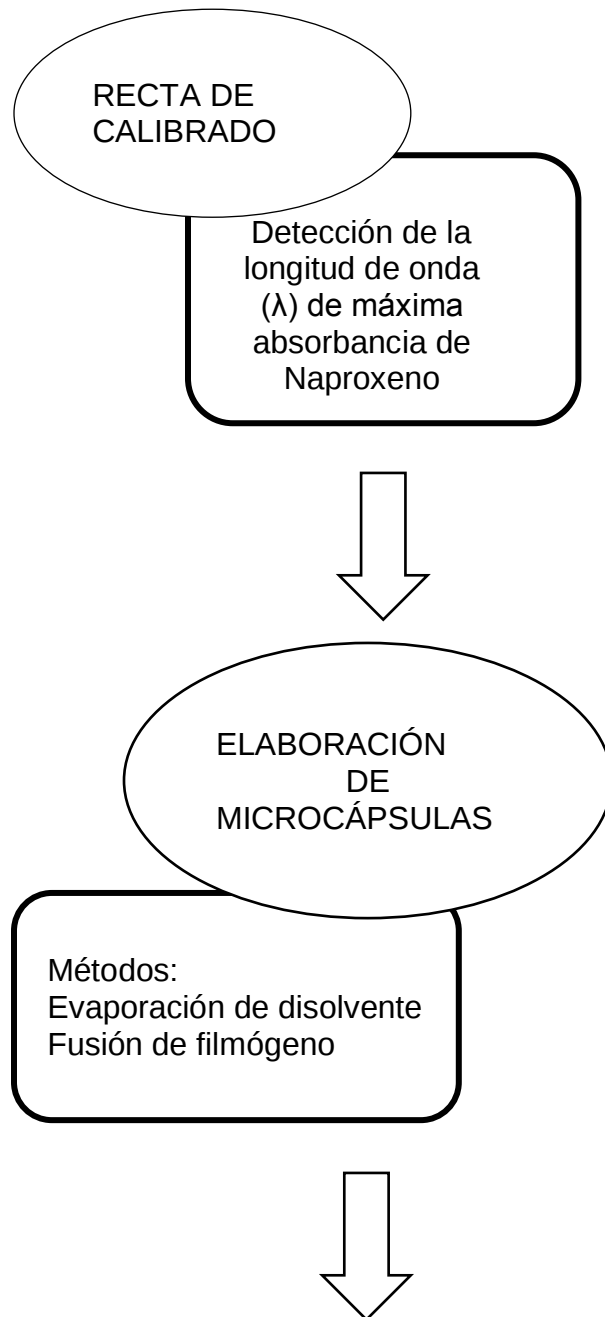
Obtener y caracterizar de microcápsulas de Naproxeno empleando los métodos de evaporación de disolvente y fusión de filmógeno.

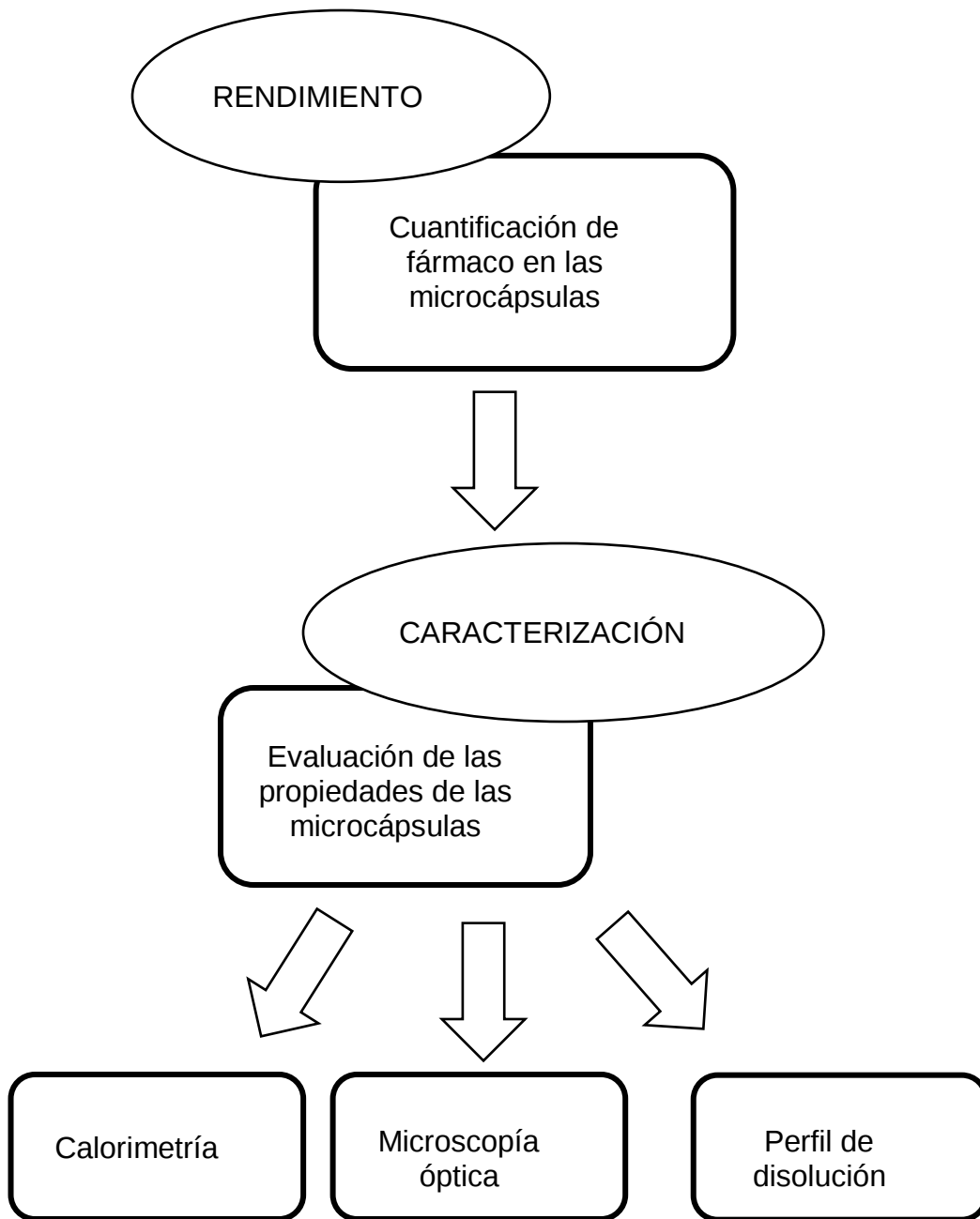
### **5.2 Particulares**

- Obtener mediante el método de evaporación de disolvente microcápsulas de Naproxeno.
- Obtener mediante el método de y fusión de filmógeno microcápsulas de Naproxeno.
- Evaluar las propiedades físicas de las microcápsulas mediante microscopia óptica, calorimetría diferencial de barrido.
- Hacer el análisis comparativo de las propiedades físicas de las microcápsulas en los dos métodos utilizados.
- Realizar el perfil de disolución para las microcápsulas de Naproxeno en ambos métodos.

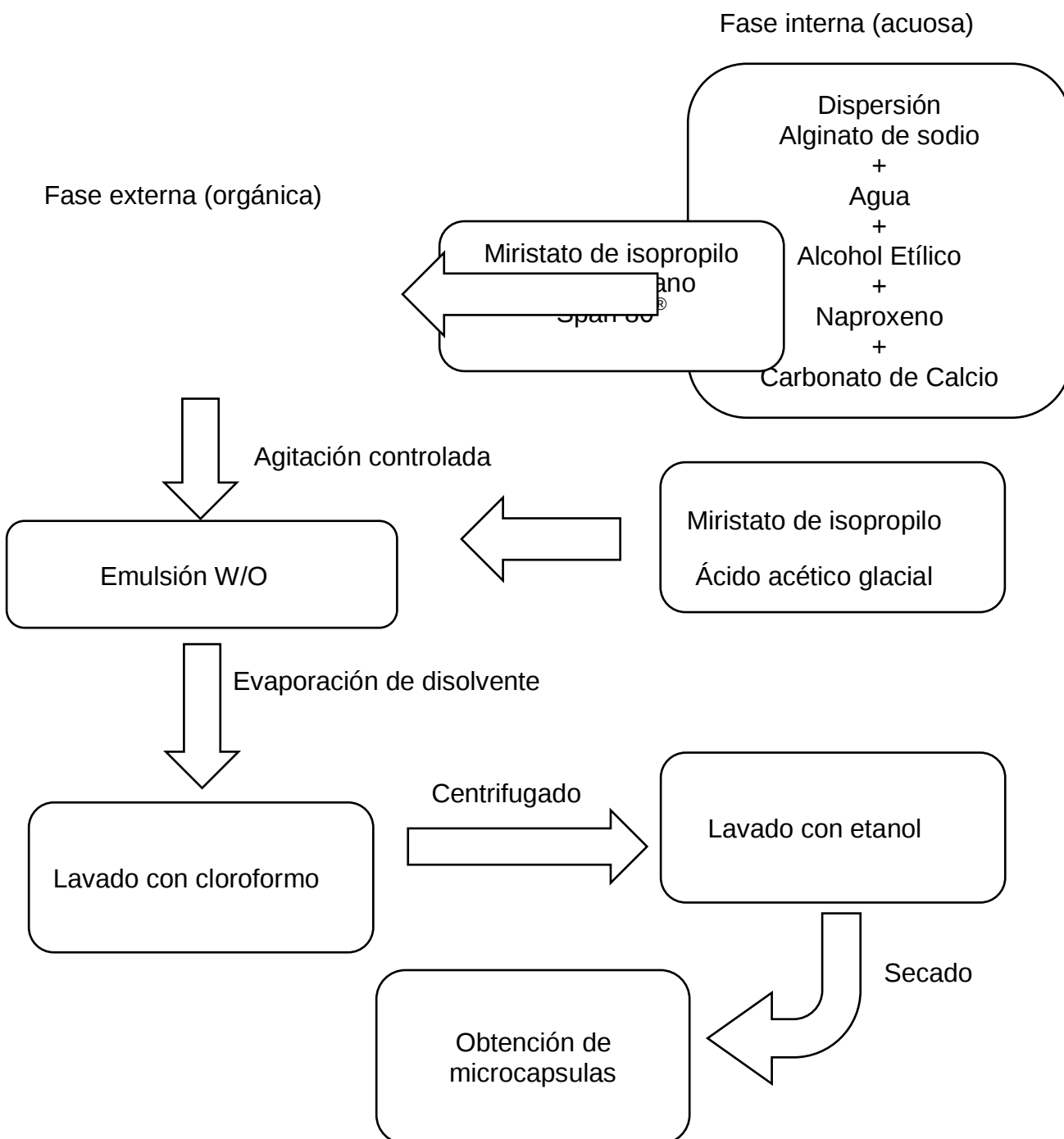
## 6 DIAGRAMAS DE TRABAJO

### 6.1 Diagrama general de trabajo

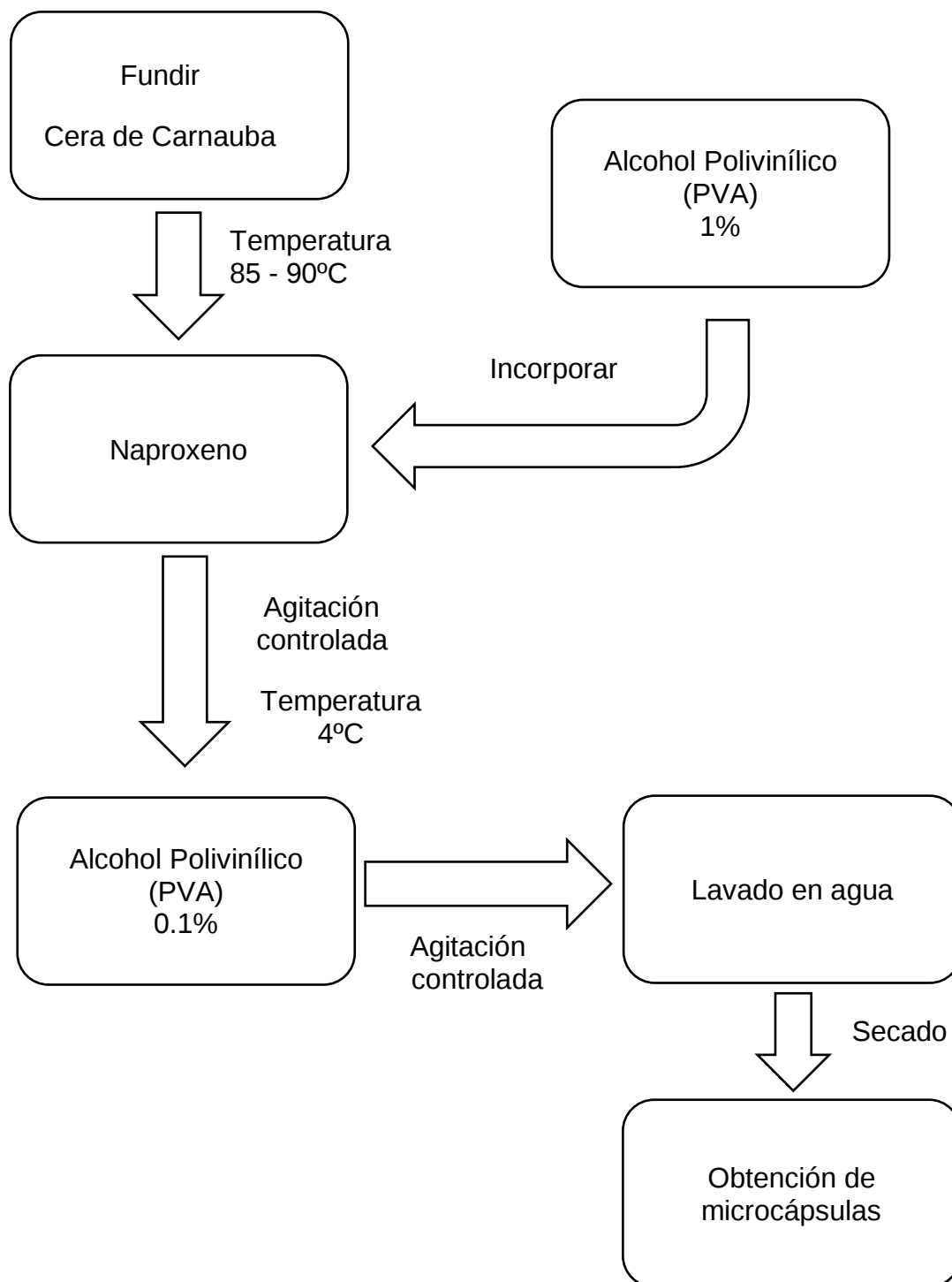




## 6. 2 Diagrama del método de evaporación de disolvente



### 6.3 Diagrama de flujo del método de fusión de filmógeno



## **7 MATERIALES**

El ensayo se realizó en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (B.U.A.P.)

### **7.1 Materiales y equipo**

- Material de vidrio.
- Balanza analítica EXPLORER OHAUS
- Balanza granataria OHAUS, Triple beam Balance 700 series
- Centrífuga Hermle Z 200 A.
- Disolutor VARIAN Vanker VK 7000
- Calorímetro Diferencial de Barrido PERKIN ELMER Diamond DSC
- Espectrofotómetro Lambda Bio 40 UV/VIS, PERKIN ELMER INSTRUMENTS
- Mezclador de propela TALBOYS LABORATORY STIRRER modelo 103<sup>a</sup> serie 03010104
- Mezclador de vórtice
- Microscopio óptico REICHERT-JUNG Serie 150
- Microscopio de platina caliente LEICA DME
- Platina caliente INSTEC HCS601
- Parrilla

### **6.1 Reactivos**

- Alcohol etílico 96° G. L. (Química Mercurio)
- Span® 80 o mono oleato de Sorbitán (Droguería Cosmopolita)
- Miristato de Isopropilo (Droguería Cosmopolita)
- Carbonato de calcio (Droguería Cosmopolita)
- Alginato de Sodio (Droguería Cosmopolita)
- Alcohol polivinílico (Golden Bell Reactivos)
- Hidróxido de Sodio (Química MEYER)
- Naproxeno (Globe Chemicals)
- Cera de Carnauba
- Agua destilada
- Cloroformo
- Cloruro de Calcio
- Ácido acético glacial
- Fosfato monobásico de sodio
- Fosfato dibásico de sodio

\*Reactivos grado USP

## 8 METODOLOGÍA

### 8.1 Recta de calibrado

Se procedió a la preparación de una solución para la detección de la longitud de onda ( $\lambda$ ) de máxima absorbancia de la siguiente forma:

1. Se pesaron exactamente 5 miligramos de Naproxeno y se aforaron a 10 mililitros en etanol.
2. Se tomó un mililitro de ésta solución y se volvió a aforar a 10 mililitros para obtener una solución con una concentración de 50  $\mu\text{g/ml}$
3. Se procedió a determinar la longitud de onda de máxima absorbancia con el espectrofotómetro en la región ultravioleta haciendo un barrido de 200 a 400 nanómetros.

Una vez obtenida la longitud de onda de máxima absorbancia del Naproxeno se procedió a lo siguiente:

1. Se pesaron exactamente 5 miligramos de Naproxeno y se aforaron a 10 mililitros en etanol.
2. De ésta solución se tomó un mililitro y se aforó en 25 mililitros para obtener la solución madre con concentración de 20  $\mu\text{g/ml}$
3. A continuación, se toman diferentes volúmenes de la solución madre y se aforan a 10 mililitros para formar 5 disoluciones con las siguientes concentraciones:

| Volumen de solución madre tomado | Concentración        |
|----------------------------------|----------------------|
| 0.6 ml                           | 1.2 $\mu\text{g/ml}$ |
| 0.8 ml                           | 1.6 $\mu\text{g/ml}$ |
| 1 ml                             | 2 $\mu\text{g/ml}$   |
| 1.2 ml                           | 2.4 $\mu\text{g/ml}$ |
| 1.4 ml                           | 2.8 $\mu\text{g/ml}$ |

Tabla 6. Preparación de soluciones para la recta de calibrado

4. Se mide la absorbancia en el espectrofotómetro de cada una de las disoluciones a la longitud de onda máxima obtenida previamente.

## 8.2 Elaboración de microcápsulas

### 8.2.1 Método de evaporación de disolvente

Para el método de evaporación de disolvente, las características del producto final dependen principalmente de la formulación y las variables del proceso. Para poder obtener microcápsulas con un tamaño y distribución del fármaco/alginato reproducibles es importante mantener controlados factores como la velocidad de agitación y un control del volumen de la fase orgánica. (51)

Para la fase acuosa se pesaron 1.7512 g de alginato de sodio, en seguida se procedió a disolver dicho polímero en 20 ml de agua destilada, se agitó alrededor de 15 minutos hasta que la mezcla quedara completamente uniforme y sin grumos.

Se añadieron 0.5 g de Naproxeno exactamente pesado, a una solución que contenía 12 ml de etanol y 8 ml de agua, esta solución se incorporó a la del alginato de sodio y se mezclaron perfectamente bien por aproximadamente 10 minutos.

Una vez que la mezcla de alginato de sodio y Naproxeno estuviera uniforme, se agregaron 2.5 ml de una solución de Carbonato de Calcio al 10 % y se agita con la propela durante 25 minutos, en este punto, las moléculas de Calcio interactúan con los iones hidroxilo del alginato, lo cual forma molecularmente una cadena flexible (ver figura 15).

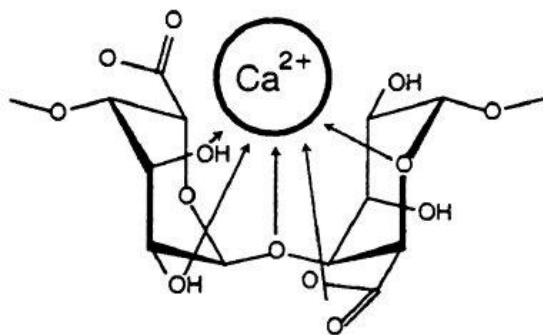
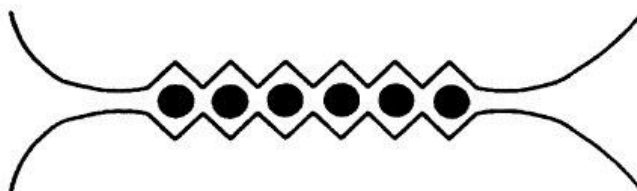


Figura 16. Obtenida de Draget, K. I.; Smidsrød, O.; Skjåk-Bræk, G. en "Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry. Properties, Production, and Patents", Steinbüchel y Rhee (Ed.), Wiley 2005

Sin embargo, cuando el sodio es remplazado con el calcio, cada ion de calcio forma un enlace coordinado con dos cadenas de alginato uniéndolas, las cadenas a su vez

se hacen menos flexibles formando un gel y a su vez favoreciendo la formación de las microcápsulas (figura 16)



*Figura 17. Obtenida de Draget, K. I.; Smidsrød, O.; Skjåk-Bræk, G. en "Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry. Properties, Production, and Patents", Steinbüchel y Rhee (Ed.), Wiley 2005*

Para la fase orgánica de la técnica, se utilizaron 35 ml de miristato de isopropilo, 15 ml de diclorometano y 1.5 ml de Span 80<sup>®</sup>.

Después se agregaron 1.5 ml de Span 80<sup>®</sup>, siendo un buen emulgente, fue utilizado para estabilizar la emulsión. Al tener un valor de balance Hidrofílico-Lipofílico (HLB) de 4.3 se espera que haya una buena dispersión de la presente emulsión, al reducir la tensión superficial de la interface. (51)

Se incorporó la fase acuosa en la fase orgánica para así formar una emulsión agua en aceite (w/o).

Se mantuvo dicha emulsión en agitación constante durante 20 minutos con la propela a una velocidad de aproximadamente 5000 rpm para interponer ambas fases y así formar gotículas en el seno de la emulsión

Cabe mencionar, que al mantener una velocidad alta de agitación mecánica, se observó que las gotículas tendían a dividirse lo que resulta en obtener partículas pequeñas de no más de 1000  $\mu\text{m}$ .

A continuación, se preparó una solución de 10 ml de miristato de isopropilo y 200 ml de ácido acético glacial la cual, se fue agregando gota a gota a la emulsión mientras se siguió manteniendo la agitación constante durante otros 40 minutos, esto con la finalidad de para favorecer la evaporación del disolvente.

Se añadió cloroformo a la mezcla y posteriormente se centrifugó a 3500 rpm durante 15 minutos para que de esta forma se separe la fase acuosa de la orgánica.

En seguida se procedió a decantar el sobrenadante el cual contiene la fase orgánica. Después, a la fase acuosa se le realizó un lavado con 100 ml de Etanol para retirar el exceso de fase oleosa impregnado en las microcápsulas y lavar el fármaco que no se hubiera encapsulado.

Se dejó secar a temperatura ambiente durante aproximadamente 24 horas.

### **8.2.2 Método de fusión de filmógeno**

Se calentaron 3 g de cera de carnauba aproximadamente a 90°C que es una temperatura ligeramente arriba de su punto de fusión.

Una vez que la cera de carnauba se derritió completamente, se procedió a incorporarle 1 g de Naproxeno, puesto que una relación 1:3 asegura la óptima encapsulación del principio activo (3) procurando que la temperatura no varíe más de 10°C, es decir mantener la temperatura entre 90 °C y 100 °C como máximo y al mismo tiempo agitación moderada con la propela (aproximadamente 2000 rpm).

Se calentaron 12 ml de alcohol polivinílico (PVA) al 1% a una temperatura de 80 °C y se incorporó a la cera de carnauba sin detener la agitación, el PVA funciona como emulgente además de favorecer la forma esférica en la formación de las microcápsulas así como ser un excelente estabilizador coloidal especialmente en el caso del Naproxeno que fue agregado en su estado de polvo cristalino. Se agitó vigorosamente con la propela durante 15 minutos (aproximadamente 5000 rpm).

Manteniendo la agitación constante se procedió a rápidamente enfriar la cera de carnauba en una tina con hielo y se añadió una solución fría (a 4 °C) de 20 ml de PVA al 0.1 % para favorecer la solidificación de las microcápsulas y lavar el fármaco que no se haya encapsulado.

Se continuó la agitación intensa durante otros 15 minutos. A continuación se procedió a lavar con agua destilada y se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas.

### **8.3 Rendimiento de las microcápsulas**

Las microcápsulas obtenidas se pesaron y se determinó el rendimiento de ambos procesos mediante la siguiente ecuación:

$$\text{Rendimiento } \% = \frac{W_{\text{Microcap}}}{W_{\text{polimero}} + W_{\text{naproxeno}}} \times 100$$

*Ecuación 1. Rendimiento de las microcápsulas*

Donde:

$W_{\text{Microcap}}$  es la masa de las microcápsulas obtenidas

$W_{\text{polimero}}$  es la masa del polímero utilizado

$W_{\text{Naproxeno}}$  es la masa de fármaco adicionado

#### **8.4 Cuantificación del Naproxeno en las microcápsulas**

Primeramente se obtuvo la cantidad de Naproxeno experimental siguiendo los siguientes pasos para cada uno de los métodos de microencapsulación empleados.

##### **8.4.1 Método de Evaporación de disolvente**

Se pesaron 10 mg de microcápsulas con fármaco y se agregaron a 10 ml de una solución de NaOH 1 N.

Posteriormente se procedió a agitar dicha solución en el mezclador de vórtice durante 20 minutos para que de esta manera se pudieran romper las microcápsulas y así liberar el fármaco.

Lo siguiente fue centrifugar a 3500 rpm por 15 minutos para poder separar los restos de la cubierta de la microcápsula.

Se decanta el sobrenadante y se agrega al decantado 2.5 ml de  $\text{CaCl}_2$  al 2.5 %, esto es para asegurar la completa separación del alginato de sodio que se unirá a las moléculas de calcio y precipitará.

Nuevamente se agita en el mezclador de vórtice pero ésta vez sólo por 10 minutos y se vuelve a centrifugar a 3500 rpm por 15 minutos.

Se procede a leer la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 231 nm determinada anteriormente en la recta de calibración y utilizando NaOH 1 N como blanco.

Se hace una comparativa de las absorbancias entre las microcápsulas con fármaco y las que fueron elaboradas sin fármaco, obteniendo una absorbancia nula en el caso de las microcápsulas sin fármaco. Esto para comprobar la eficacia del método y que se está leyendo exclusivamente el fármaco.

#### **8.4.2 Método de fusión de filmógeno**

Se pesaron 10 mg de microcápsulas con fármaco y se agregaron a 10 ml de un buffer de fosfatos a pH de 7.4 (la preparación de éste buffer se especifica más adelante en la metodología de la prueba de disolución)

Se procede a agitar dicha solución en el mezclador de vórtice durante 20 minutos para romper la microcápsula y liberar el fármaco.

Ésta solución se calienta para que de esta forma se derrita el lípido de las microcápsulas y así extraer el fármaco.

Posteriormente se espera a que se enfríe a temperatura ambiente y se centrifuga a 3500 rpm por 15 minutos para precipitar los restos de la cubierta de la microcápsula y se decanta el sobrenadante.

Se procede a leer la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 231 nm utilizando buffer de fosfatos a pH de 7.4 como blanco.

Al hacer la comparativa de las absorbancias entre las microcápsulas con fármaco y las que fueron elaboradas sin fármaco, se tiene que en el caso de las últimas la absorbancia es nula.

Para calcular la concentración de Naproxeno experimental simplemente se hace una extrapolación con la fórmula de la recta de calibrado obtenida anteriormente.

#### ***Nota:***

Puesto que el espectrofotómetro presenta un mínimo de incertidumbre relativa a valores intermedios de absorbancia entre 0.3 y 0.7 se ajusta la concentración de la

muestra de modo que la absorbancia caiga en el intervalo medio, esto se consigue haciendo diluciones de la muestra.

#### *Cálculo del fármaco*

Para la cuantificación del Naproxeno encapsulado (%) se calculó a partir de la relación entre el fármaco encontrado y la cantidad de fármaco inicial en el proceso de microencapsulación, mediante la siguiente ecuación:

$$Eficiencia \% = \frac{C_{NPXexp}}{C_{NPXte}} \times 100$$

*Ecuación 2. Cuantificación del Naproxeno encapsulado*

En donde:

$C_{NPXexp}$  es la cantidad de fármaco encontrada experimentalmente.

$C_{NPXte}$  la cantidad total de fármaco adicionada.

### **8.5 Calorimetría diferencial de barrido**

La calorimetría es la medida de los cambios de energía dentro de un material, los cuales, pueden manifestarse en una liberación de calor (exotérmica) o consumo de calor (endotérmico). Éstos cambios de energía pueden ser determinados si el peso exacto de la muestra es conocido.

La aplicación más común de la calorimetría en el campo farmacéutico es con el uso de calorimetría diferencial de barrido (DSC), la cual se basa en calentar y/o enfriar la muestra de una manera controlada y la microcalorimetría que consiste en mantener una temperatura constante en la muestra.

Un calorímetro consiste en un contenedor aislado del medio exterior, en el cual el intercambio de calor que ocurre entre el sistema y el entorno puede ser medido. El “entorno” puede ser definido como el calorímetro y su contenido y el “sistema” puede

ser una reacción química o un cambio físico de estado. El sistema puede absorber (endotérmica) o perder (exotérmica) energía del entorno (8)

La calorimetría diferencial de barrido nos puede ayudar a conocer la pureza de un compuesto o sustancia además de cuantificar los procesos que sufre una muestra durante su calentamiento, indicando si el proceso es endotérmico (fusión, vaporización, sublimación, etc.) o exotérmico (cristalización, precipitación, etc.) (7) (8)

Para las microcápsulas de Naproxeno mediante el uso de la DSC se busca perder el punto de fusión del fármaco, lo que nos indicará que éste se ha microencapsulado.

1. Se pesaron exactamente tanto las microcápsulas de ambas preparaciones, como los polímeros, así como el fármaco en una báscula analítica manteniendo los pesos en un rango de 3 a 5 mg.
2. En seguida se preparan los crisoles procurando que el material cubra completamente su superficie para asegurar un buen contacto térmico. (8)
3. A continuación se coloca el crisol de referencia junto con el de muestra y se programa el calorímetro utilizando el software *Pyris™*
4. Se hizo un barrido con un rango de temperatura desde 50 °C hasta 300 °C utilizando nitrógeno como gas de purga.
5. Se esperó a que se estabilizara la temperatura y se corrieron las muestras para obtener las gráficas del flujo calórico (entalpía vs temperatura).

### **8.6 Perfil de disolución**

Las pruebas de disolución son unas de las más comúnmente utilizadas en la caracterización de fármacos y en el control de calidad de ciertas formas de dosificación. Son especialmente importantes si la disolución es un paso limitante en la absorción del fármaco, por ejemplo en tabletas o cápsulas. Desde una perspectiva de control de calidad, el perfil de disolución es mayormente usado para confirmar la calidad del producto e identificar buenas y malas formulaciones y no sólo para el control de calidad sino también durante pruebas de progreso y estabilidad del producto. (8)

La prueba de disolución se basa en la determinación cuantitativa del principio activo, que se encuentra en solución, después de un determinado tiempo de agitación de la forma farmacéutica en un medio de disolución adecuado. (52)

Para el caso de las microcápsulas de Naproxeno se procedió a realizar el perfil de disolución de acuerdo a las especificaciones de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) para tabletas de Naproxeno el cual es el siguiente:

*Preparación de 5 litros de una solución reguladora:*

13.1 g de fosfato monobásico de sodio

57.5 g de fosfato dibásico de sodio

Ajustar a pH de 7.4 con solución de hidróxido de sodio 1 N

Se llenaron los vasos del disolutor con 500 ml de la solución reguladora como medio de disolución y se agregaron las muestras de acuerdo a la siguiente tabla:

|                           | Fusión de filmógeno (mg) | Evaporación de disolvente (mg) |
|---------------------------|--------------------------|--------------------------------|
| Microcápsulas sin fármaco | 10                       | 11.25                          |
| Microcápsulas con fármaco | 10                       | 11.25                          |
| Mezcla física             | 10                       | 11.25                          |
| Polímero                  | 7.5                      | 8.75                           |
| Fármaco                   | 2.5                      | 2.5                            |

*Tabla 7. Cantidad de microcápsulas y polímeros utilizados en la prueba de disolución*

1. Se mantuvo una temperatura constante en el disolutor de 37°C y una velocidad de agitación de 50 rpm.
2. Se fue midiendo la absorbancia de cada muestra en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 231 nm, una toma cada 7 minutos, hasta completar 10 lecturas.
3. Después las muestras se fueron tomando cada 15 minutos, siendo en total 5 lecturas de absorbancia en el espectrofotómetro.

### 8.7 Microscopía óptica

Los estudios morfológicos de las muestras de microcápsulas por medio de microscopía óptica revelan sus características importantes, tales como la forma, regularidad de la superficie, su tamaño o incluso agregación. Estos estudios aunque permiten tener una idea del tamaño de las microcápsulas, aunque no son los más exactos para determinar este parámetro. Estas características tienen repercusión en las propiedades y aplicaciones de las microcápsulas obtenidas. Por ejemplo, la presencia de agregación resulta indeseable, ya que afecta la homogeneidad del producto elaborado.

El tamaño de las microcápsulas es un parámetro importante ya que deben tener un diámetro que no sobrepase los 1000  $\mu\text{m}$ . Además, debe lograrse que sea reproducible ya que podría llegar a influir en el perfil de liberación y en otros parámetros, tales como la eficiencia de encapsulación. Varias condiciones experimentales afectan el tamaño de las microcápsulas elaboradas mediante cualquiera de los métodos empleados antes como puede ser la velocidad de agitación, la concentración del polímero, la proporción del polímero y fármaco, etc. Por todo lo anterior, el tamaño de las microcápsulas debe ser determinado cuidadosamente.

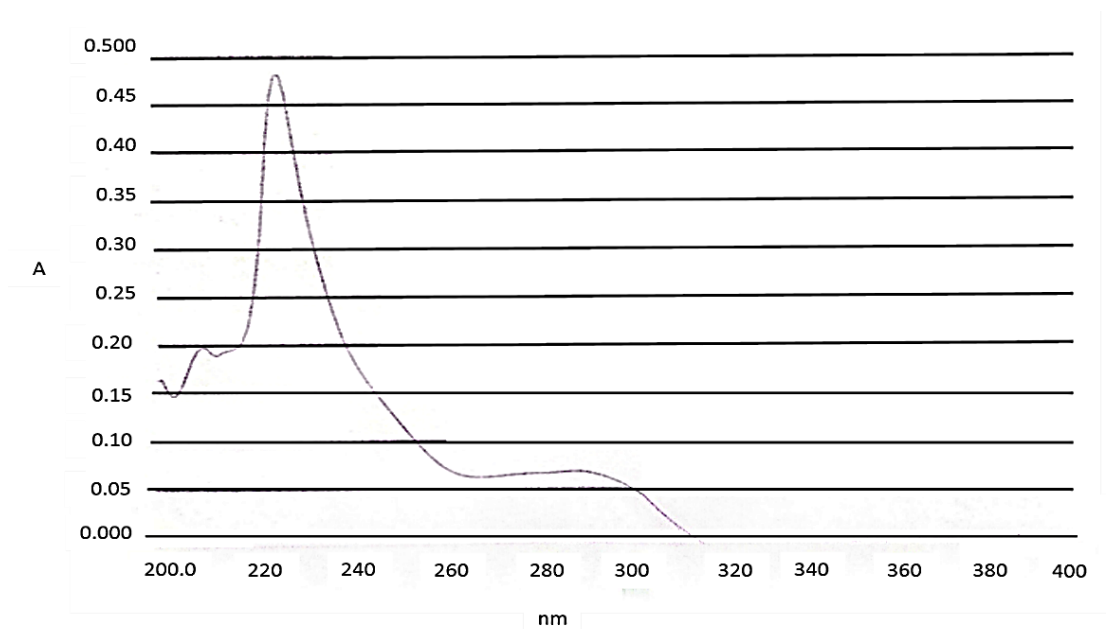
Se procedió de la siguiente forma:

1. se coloca en un portaobjetos una muestra de las microcápsulas obtenidas por ambos métodos y encima un cubreobjetos.
2. Se enfocan las microcápsulas en el microscopio
3. Se toman las fotografías correspondientes a través del ocular

## 9 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 9.1 Recta de calibrado

La longitud de onda máxima del Naproxeno obtenida fue de 231 nm como se muestra en la gráfica 1 en la que se midió la absorbancia en función de la longitud de onda



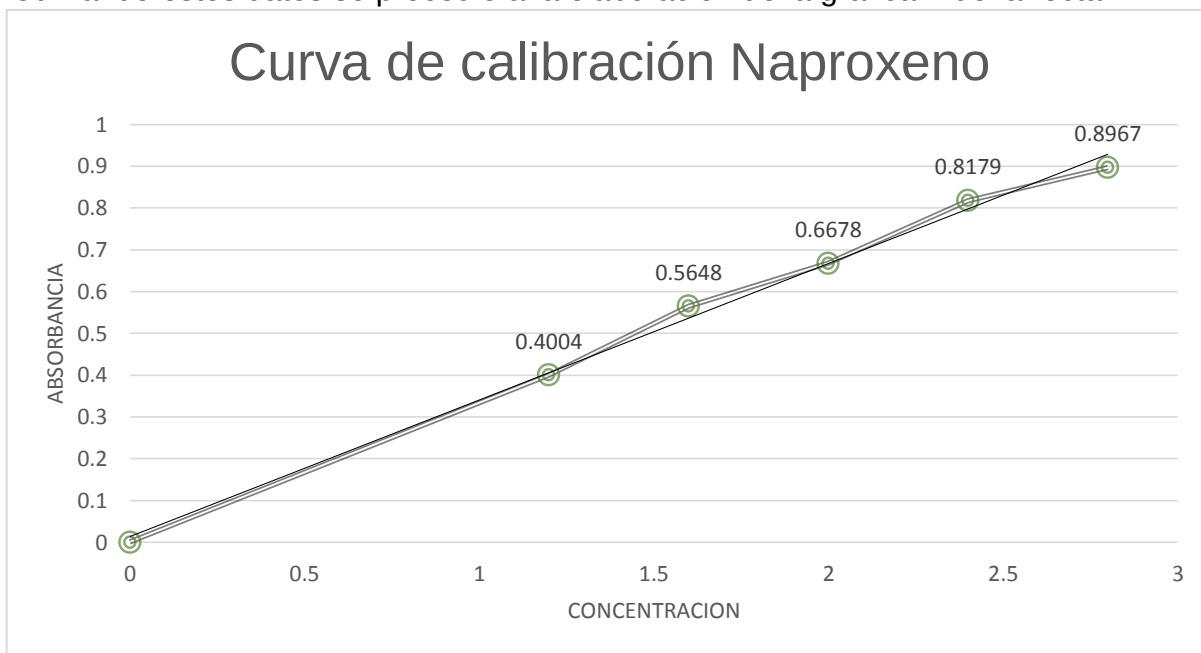
Gráfica 1. Longitud de onda máxima del Naproxeno

Utilizando la longitud de onda obtenida de 231 nm se elaboró la recta de calibración del Naproxeno con la cual se determinan posteriormente las concentraciones del fármaco.

| CONCENTRACIÓN<br>µg/ml | ABSORBANCIA |
|------------------------|-------------|
| 1.2                    | 0.4004      |
| 1.6                    | 0.5648      |
| 2                      | 0.6678      |
| 2.4                    | 0.8179      |
| 2.8                    | 0.8967      |

Tabla 8. Datos de la ecuación de recta del Naproxeno

Utilizando estos datos se procedió a la elaboración de la gráfica 2 de la recta.



Gráfica 2. Curva de Calibración del Naproxeno

Empleando el método de mínimos cuadrados basándose en la suposición de que existe una relación lineal entre la variable Y (absorbancia) con la concentración conocida X se obtiene la ecuación de la recta

$$Y = mx + b$$

Ecuación 3. Ecuación de la Recta

Donde:

b es la intersección en y (cuando x es igual a 0)

m es la pendiente de la recta

De acuerdo a la ley de *Beer-Lambert*

x es la concentración del fármaco

y es la absorbancia obtenida

La ecuación con los datos es la siguiente:

$$Y = 0.311425x + 0.04667$$

Y el coeficiente de correlación lineal obtenido a partir de la gráfica es de 0.988247909 lo que nos indica una asociación elevada entre las variables por lo tanto un mínimo error en la medición.

## 9.2 Microcápsulas

Las microcápsulas obtenidas mediante el método de evaporación de disolvente se muestran a continuación:



*Figura 18. Observación macroscópica de las microcápsulas de Naproxeno por el método de evaporación de disolvente*

Y a continuación se muestran las microcápsulas obtenidas mediante el método de fusión de filmógeno:



Figura 19. Observación macroscópica de las microcápsulas de Naproxeno por el método de fusión de filmógeno

### 9.3 Rendimiento de las microcápsulas

Comparativa del rendimiento obtenido de las microcápsulas en ambos métodos.

- *Método de evaporación de disolvente*

Cantidad teórica de microcápsulas:

Microcápsulas sin fármaco 1.7512 gramos

Microcápsulas con fármaco 2.2512 gramos

Cantidad de microcápsulas obtenidas:

Microcápsulas sin fármaco 1.1034 gramos

Microcápsulas con fármaco 1.5043 gramos

Sustituyendo la ecuación 2 tenemos que en las microcápsulas sin fármaco es:

$$\text{Rendimiento} = \frac{1.1034}{1.7512} \times 100 = 63.0082 \%$$

Y para las microcápsulas con 0.5 gramos de naproxeno se tiene lo siguiente:

$$Rendimiento = \frac{1.5043}{1.7512 + 0.5} \times 100 = 66.8221 \%$$

Por lo tanto:

Rendimiento de las microcápsulas sin fármaco: 63 %

Rendimiento de las microcápsulas con fármaco: 67 %

- *Método de fusión de filmógeno*

Cantidad teórica de microcápsulas:

Microcápsulas sin fármaco 3 gramos

Microcápsulas con fármaco 4 gramos

Cantidad de microcápsulas obtenidas:

Microcápsulas sin fármaco 2.7652 gramos

Microcápsulas con fármaco 3.6918 gramos

Sustituyendo la ecuación 2 con los datos de las microcápsulas sin fármaco:

$$Rendimiento = \frac{2.7652}{3} \times 100 = 92.17 \%$$

Y para las microcápsulas con 1 gramo de fármaco:

$$Rendimiento = \frac{3.6918}{3 + 1} \times 100 = 92.30 \%$$

Por lo tanto:

Rendimiento de las microcápsulas sin fármaco: 92 %

Rendimiento de las microcápsulas con fármaco: 92 %

| Métodos                   | Sin Naproxeno | Con Naproxeno |
|---------------------------|---------------|---------------|
| Evaporación de disolvente | 63%           | 67%           |
| Fusión de filmógeno       | 92%           | 92%           |

Tabla 9. Rendimiento (%) de las microcápsulas

El rendimiento en las microcápsulas no fue tan alto como se esperaba, ya que en las elaboraciones preliminares de las microcápsulas se había obtenido un rendimiento del mayor al 90% en el método de evaporación de disolvente y en el método de fusión de filmógeno era mayor al 95%, probablemente sea que al hacer el escalamiento de los métodos en el caso del método de evaporación de disolvente, para centrifugar se tuvieron que usar más tubos y era bastante difícil sacar las microcápsulas húmedas pegadas en las paredes de los tubos y lógicamente entre más tubos más pérdida.

En el método de fusión de filmógeno la cera al enfriarse también se quedó una parte impregnada al recipiente.

En general, el rendimiento que se obtuvo tuvo más que ver con el uso del material disponible que del proceso en sí, puesto que de tener una forma automatizada de extraer las microcápsulas húmedas por ejemplo u otro tipo de centrifuga se pudo haber obtenido un mejor rendimiento.

#### **9.4 Cuantificación del Naproxeno en las microcápsulas**

Para cuantificar el fármaco, se extrapolan los datos en la recta de calibrado que se elaboró anteriormente. Ya que como se estableció, de acuerdo a la ley de *Beer-Lambert* X es la concentración del fármaco y Y es la absorbancia obtenida

Sustituyendo la ecuación 3 para obtener la concentración tenemos:

$$x = \frac{y - b}{m}$$

*Ecuación 4. Ecuación despejada de la recta para obtener la concentración de fármaco*

#### **Método de evaporación de disolvente**

El resultado obtenido de absorbancia en el espectrofotómetro fue de 0.1449. En seguida sustituimos la absorbancia del naproxeno en la fórmula despejada de la recta:

$$x = \frac{0.1449 - 0.04667}{0.311425} = 0.315421 \mu g/ml$$

Esta es la absorbancia obtenida a partir de una dilución 1:1000, entonces la concentración no diluida es la siguiente:

$$\begin{aligned}0.315421 \times 1000 &= 315.421 \mu g/ml \\ 315.421 \mu g/ml &= 0.315421 mg/ml\end{aligned}$$

Enseguida multiplicamos la concentración por el volumen de muestra y obtenemos:

$$0.315421 \frac{mg}{ml} \times 10 ml = 3.15421 mg$$

Al final tenemos que en 10 mg de microcápsulas hay 3.15421 mg Naproxeno.

El total de microcápsulas obtenidas por el método de evaporación de disolvente es de 1.5043 gramos haciendo una regla de tres obtenemos la cantidad total de fármaco:

$$\begin{array}{rcl}10 mg \text{ de microcápsulas} & - & 3.15421 mg \text{ de Naproxeno} \\ 1504.3 mg \text{ de microcápsulas} & - & X\end{array}$$

$X = 474.4878 \text{ mg}$  o  $0.4744 \text{ g}$  de Naproxeno encapsulado

#### *Eficiencia de microencapsulación*

Sustituyendo la ecuación 2 tenemos que:

$$Eficiencia \% = \frac{0.4744}{0.5} \times 100$$

Tenemos una eficiencia de encapsulación del 94.89 % para el método de evaporación de disolvente.

#### ***Método de fusión de filmógeno***

El resultado obtenido de absorbancia en el espectrofotómetro es de 0.4107

La absorbancia del naproxeno se sustituye en la fórmula despejada de la recta:

$$x = \frac{0.4107 - 0.04667}{0.311425} = 2.1322 \mu g/ml$$

Puesto que la absorbancia obtenida es a partir de una dilución 1:100, la concentración no diluida es la siguiente:

$$\begin{aligned} 2.1322 \times 100 &= 213.2230 \mu g/ml \\ 213.2230 \mu g/ml &= 0.2132230 mg/ml \end{aligned}$$

Puesto que esta es la concentración que había en 10 ml de muestra obtenemos el siguiente peso:

$$0.213223 \frac{mg}{ml} \times 10 ml = 2.1322 mg$$

Entonces tenemos que en 10 mg de microcápsulas hay 1.1689 mg Naproxeno, el total de microcápsulas obtenidas por fusión de filmógeno fue de 3.6918 g haciendo una regla de tres obtenemos la cantidad total de fármaco:

$$\begin{array}{rcl} 10 \text{ mg de microcápsulas} & - & 2.1322 \text{ mg de Naproxeno} \\ 3691.8 \text{ mg de microcápsulas} & - & X \end{array}$$

$X = 787.1769 \text{ mg}$  o  $0.7871 \text{ g}$  de Naproxeno encapsulado

*Eficiencia de microencapsulación*

Sustituyendo la ecuación 2 tenemos que:

$$Eficiencia \% = \frac{0.7871}{1} \times 100$$

Entonces obtenemos una eficiencia de encapsulación del 78.71 % para el método de fusión de filmógeno.

Tenemos que:

| Métodos                   | Eficiencia de microencapsulación |
|---------------------------|----------------------------------|
| Evaporación de disolvente | 94.89 %                          |
| Fusión de filmógeno       | 78.71 %                          |

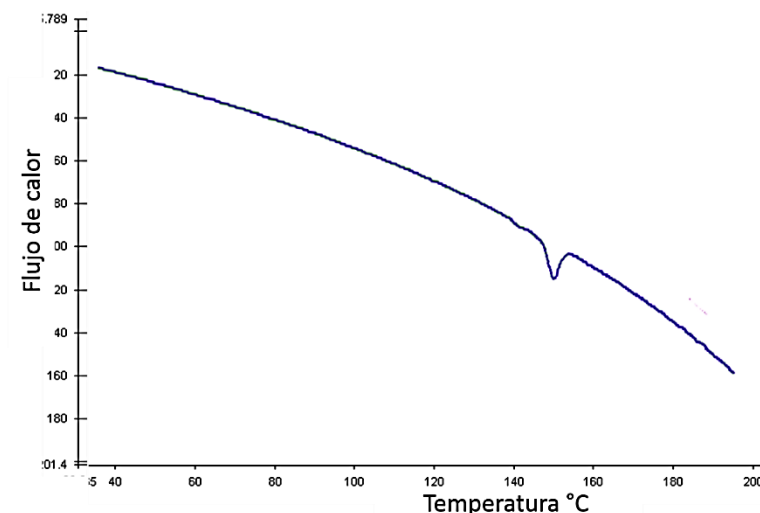
Tabla 10. Eficiencia de microencapsulación de Naproxeno

En el método de evaporación de disolvente se tuvo una eficacia de atrapamiento del fármaco elevada, tal y como se esperaba, lo que nos indica que el proceso estuvo bien controlado.

En cuanto a la técnica de fusión de filmógeno, no fue posible una mayor eficiencia de microencapsulación ya que se esperaba al menos un 83.59 % (3) y esto sea que probablemente al incrementar la velocidad de agitación de la cera de carnauba para la formación de pequeñas partículas, ésta también facilitó la difusión del fármaco fuera de las microcápsulas antes de que se endurecieran y asegurado una menor eficiencia de captura del Naproxeno. (51)

### 9.5 Calorimetría diferencial de barrido

La calorimetría diferencial de barrido (DSC) fue utilizada con el fin de evaluar el comportamiento térmico del fármaco puro y del mismo fármaco microencapsulado.

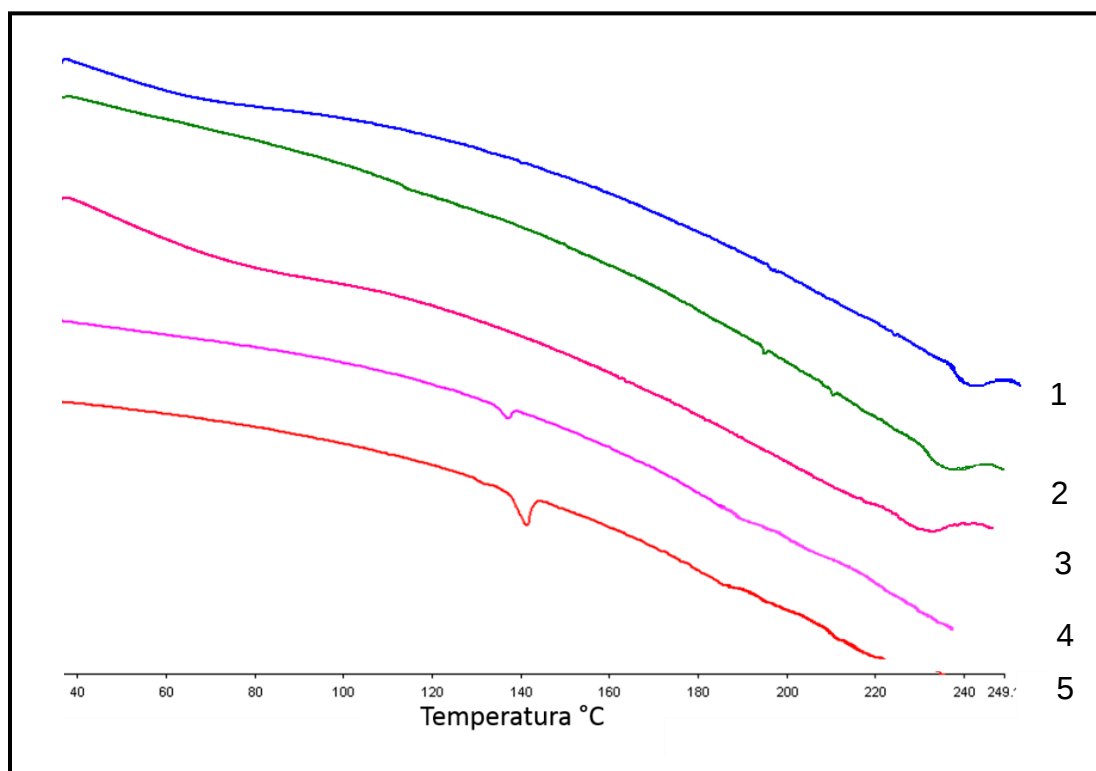


Gráfica 3. Termograma del Naproxeno puro

Se observa en la gráfica 3 el termograma del Naproxeno que muestra un sólo pico característico de su reacción endotérmica.

La temperatura es de alrededor de 155 °C lo que corresponde a su punto de fusión, indicando por consiguiente, su naturaleza cristalina y al sólo tener un pico nos dice que la muestra del fármaco está libre de impurezas.

En la siguiente gráfica se muestran juntos los termogramas del método de evaporación de disolvente.

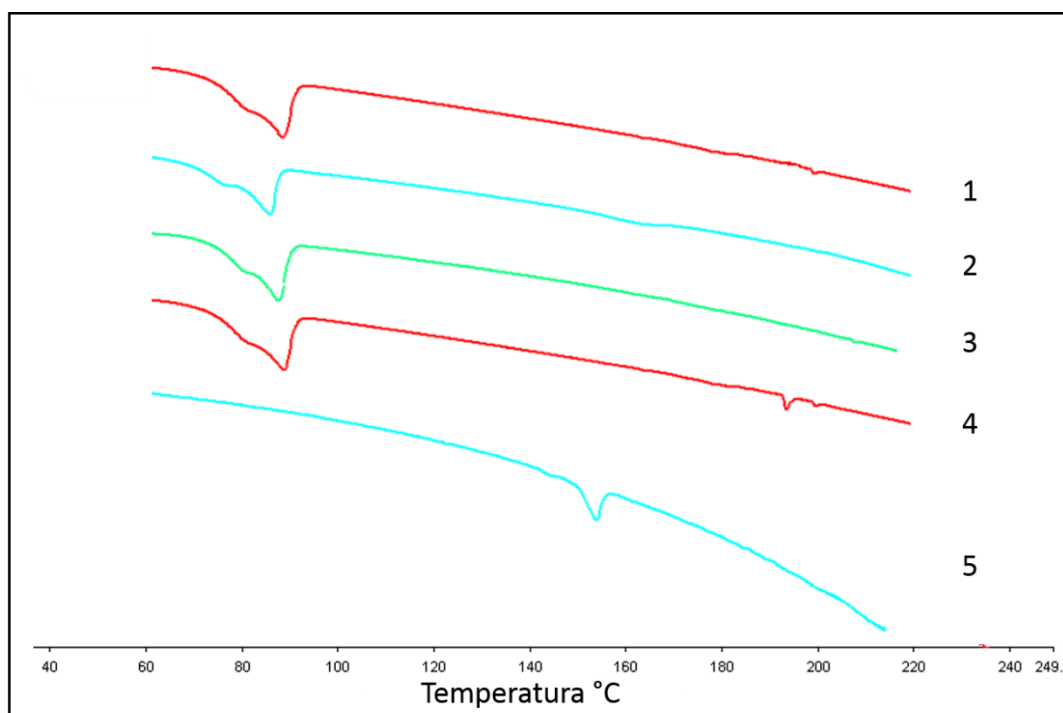


Como podemos apreciar, alrededor de los 240 °C tanto en las microcápsulas sin fármaco, las microcápsulas con fármaco y el alginato se observa una señal endotérmica que podría ser debida al alginato.

La gráfica de las microcápsulas con fármaco no muestra ningún punto de fusión correspondiente al Naproxeno lo que podría indicar que está perfectamente encapsulado el fármaco.

Sin embargo, en el termograma de la mezcla física de alginato y Naproxeno muestra una disminución del pico endotérmico del Naproxeno y una desaparición del pico del alginato por lo que se podría sugerir que está sucediendo algún comportamiento eutéctico entre los dos compuestos.

A continuación se muestra el termograma del método de fusión de filmógeno



Gráfica 5. Termograma del método de fusión de filmógeno. 1 microcápsulas sin fármaco. 2 microcápsulas con fármaco. 3 Cera de carnauba. 4 mezcla física cera de carnauba-Naproxeno. 5 Naproxeno

En la gráfica 5, se observa claramente el punto de fusión de la cera de carnauba (85 °C) tanto en las microcápsulas sin fármaco, las microcápsulas con fármaco y la mezcla física cera de carnauba-Naproxeno, pero en las microcápsulas con fármaco no se aprecia ningún otro comportamiento térmico, eso podría decir que el Naproxeno quedó bien encapsulado, a diferencia de la mezcla física donde sí se alcanza a observar un pequeño pico endotérmico que tendría que pertenecer a dicho fármaco, sin embargo si lo comparas propiamente con el del Naproxeno puro, que coincide con su punto de fusión de alrededor de 155 °C, se observa que quizá sufrió un desplazamiento eutéctico.

En general el análisis calorimétrico fue satisfactorio puesto que demostró que en ambos métodos hubo una correcta microencapsulación del Naproxeno.

## 9.6 Perfil de disolución

### *Método de evaporación de disolvente*

En el perfil de disolución del método de evaporación de disolvente se obtuvieron los siguientes datos:

| Tiempo (min) | Microcápsulas con Naproxeno |                                | Microcápsulas sin Naproxeno |                                | Polímero Alginato |                                | Mezcla de alginato y Naproxeno |                                | Naproxeno   |                                |
|--------------|-----------------------------|--------------------------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|-------------|--------------------------------|
|              | absorbancia                 | Concentración $\mu\text{g/ml}$ | absorbancia                 | Concentración $\mu\text{g/ml}$ | absorbancia       | Concentración $\mu\text{g/ml}$ | absorbancia                    | Concentración $\mu\text{g/ml}$ | absorbancia | Concentración $\mu\text{g/ml}$ |
| 7            | 0.0723                      | 0.082299109                    | 0.0199                      | 0.09                           | 0.0105            | 0.08                           | 0.1067                         | 0.19275909                     | 0.2396      | 3.64550052                     |
| 14           | 0.0784                      | 0.10188649                     | 0.0107                      | 0.12                           | 0.0095            | 0.12                           | 0.1374                         | 0.2913382                      | 0.2621      | 4.00192663                     |
| 21           | 0.1014                      | 0.175740547                    | 0.0167                      | 0.10                           | 0.0227            | 0.05                           | 0.1597                         | 0.36294453                     | 0.2652      | 4.03082604                     |
| 28           | 0.1316                      | 0.272714137                    | 0.0117                      | 0.11                           | 0.0105            | 0.07                           | 0.1608                         | 0.36647668                     | 0.2683      | 4.22027776                     |
| 35           | 0.1659                      | 0.382853014                    | 0.0119                      | 0.11                           | 0.0311            | 0.03                           | 0.1616                         | 0.36904552                     | 0.268       | 4.54780445                     |
| 42           | 0.2013                      | 0.496524043                    | 0.017                       | 0.10                           | 0.0244            | 0.04                           | 0.1634                         | 0.3748254                      | 0.2167      | 4.59275909                     |
| 49           | 0.2156                      | 0.542442                       | 0.0164                      | 0.10                           | 0.038             | 0.04                           | 0.1707                         | 0.39826604                     | 0.2305      | 4.69872361                     |
| 56           | 0.2259                      | 0.575515774                    | 0.0393                      | 0.02                           | 0.0335            | 0.00                           | 0.1722                         | 0.4030826                      | 0.2133      | 4.93312997                     |
| 63           | 0.2365                      | 0.609552862                    | 0.036                       | 0.03                           | 0.0348            | 0.10                           | 0.1726                         | 0.40436702                     | 0.193       | 5.35056595                     |
| 70           | 0.2445                      | 0.63524123                     | 0.0253                      | 0.07                           | 0.0473            | 0.00                           | 0.1832                         | 0.43840411                     | 0.2671      | 5.45974151                     |
| 85           | 0.2524                      | 0.660608493                    | 0.0281                      | 0.06                           | 0.015             | 0.08                           | 0.1854                         | 0.44546841                     | 0.2206      | 5.5849723                      |
| 100          | 0.261                       | 0.688223489                    | 0.0387                      | 0.03                           | 0.0467            | 0.01                           | 0.1916                         | 0.4653769                      | 0.2003      | 5.90286586                     |
| 115          | 0.2676                      | 0.709416392                    | 0.0347                      | 0.04                           | 0.0219            | 0.06                           | 0.1932                         | 0.47051457                     | 0.1883      | 6.19507104                     |
| 130          | 0.268                       | 0.710700811                    | 0.0273                      | 0.06                           | 0.0429            | 0.08                           | 0.2124                         | 0.53216665                     | 0.1897      | 6.91755639                     |
| 160          | 0.2685                      | 0.712306334                    | 0.0135                      | 0.06                           | 0.0294            | 0.05                           | 0.2126                         | 0.53280886                     | 0.1881      | 7.01709882                     |
| 190          | 0.2682                      | 0.71134302                     | 0.0122                      | 0.06                           | 0.0722            | 0.05                           | 0.221                          | 0.55978165                     | 0.1713      | 7.07810869                     |
| 220          | 0.2679                      | 0.710379706                    | 0.0123                      | 0.11                           | 0.0326            | 0.00                           | 0.228                          | 0.58225897                     | 0.1702      | 7.10700811                     |
| 250          | 0.2678                      | 0.710058602                    | 0.0116                      | 0.11                           | 0.0312            | 0.05                           | 0.2383                         | 0.61533274                     | 0.1722      | 7.11664125                     |

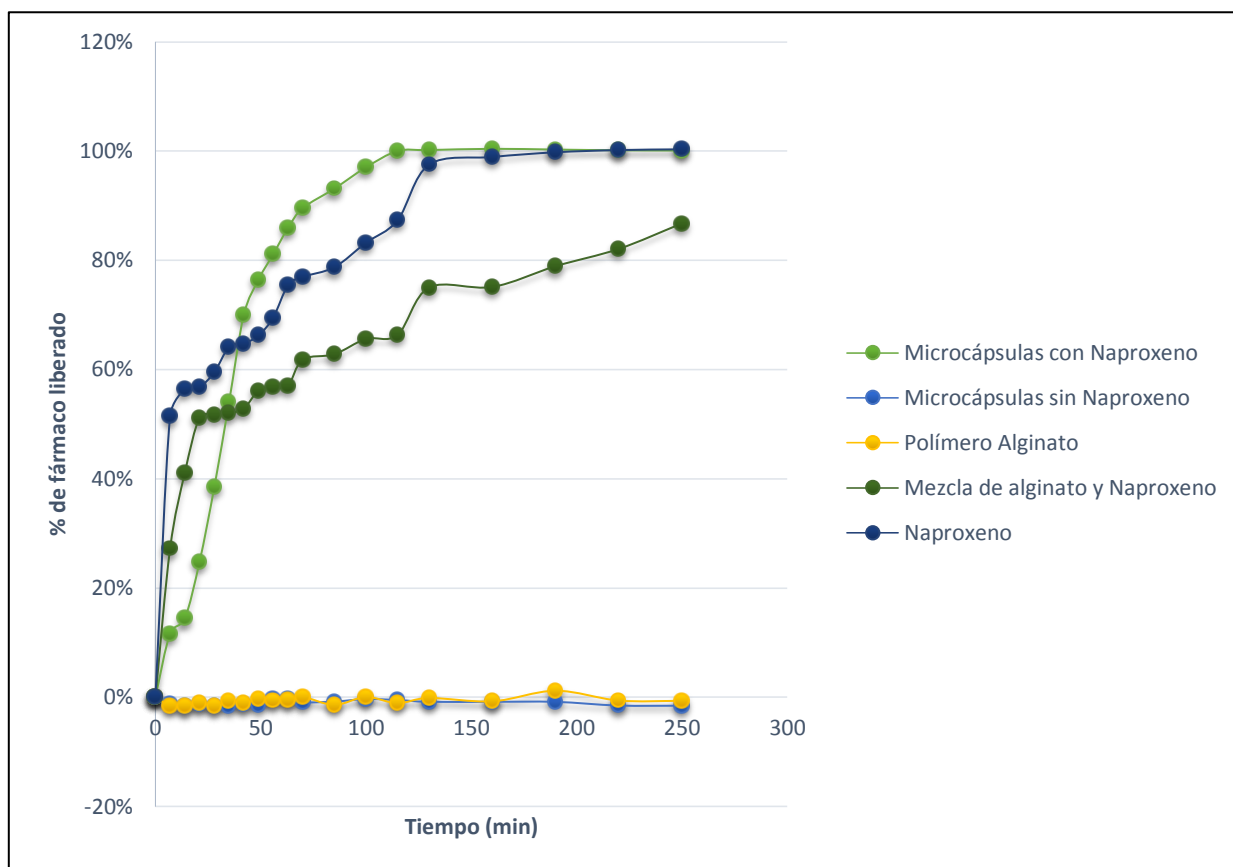
Tabla 11. Resultados del perfil de disolución de absorbancia y concentración para el método de evaporación de disolvente

A partir de estos datos se obtuvo el porcentaje de liberación del Naproxeno como se muestra en la siguiente tabla:

| <b>Tiempo (min)</b> | <b>Microcápsulas con Naproxeno</b> | <b>Microcápsulas sin Naproxeno</b> | <b>Polímero Alginate</b> | <b>Mezcla de alginato y Naproxeno</b> | <b>Naproxeno</b> |
|---------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|------------------|
| <b>0</b>            | 0%                                 | 0%                                 | 0%                       | 0%                                    | 0%               |
| <b>7</b>            | 12%                                | -1%                                | -2%                      | 27%                                   | 51%              |
| <b>14</b>           | 14%                                | -2%                                | -2%                      | 41%                                   | 56%              |
| <b>21</b>           | 25%                                | -1%                                | -1%                      | 51%                                   | 57%              |
| <b>28</b>           | 38%                                | -2%                                | -2%                      | 52%                                   | 59%              |
| <b>35</b>           | 54%                                | -2%                                | -1%                      | 52%                                   | 64%              |
| <b>42</b>           | 70%                                | -1%                                | -1%                      | 53%                                   | 65%              |
| <b>49</b>           | 76%                                | -1%                                | 0%                       | 56%                                   | 66%              |
| <b>56</b>           | 81%                                | 0%                                 | -1%                      | 57%                                   | 70%              |
| <b>63</b>           | 86%                                | 0%                                 | -1%                      | 57%                                   | 75%              |
| <b>70</b>           | 90%                                | -1%                                | 0%                       | 62%                                   | 77%              |
| <b>85</b>           | 93%                                | -1%                                | -1%                      | 63%                                   | 79%              |
| <b>100</b>          | 97%                                | 0%                                 | 0%                       | 66%                                   | 83%              |
| <b>115</b>          | 100%                               | -1%                                | -1%                      | 66%                                   | 87%              |
| <b>130</b>          | 100%                               | -1%                                | 0%                       | 75%                                   | 97%              |
| <b>160</b>          | 100%                               | -1%                                | -1%                      | 75%                                   | 99%              |
| <b>190</b>          | 100%                               | -1%                                | 1%                       | 79%                                   | 100%             |
| <b>220</b>          | 100%                               | -2%                                | -1%                      | 82%                                   | 100%             |
| <b>250</b>          | 100%                               | -2%                                | -1%                      | 87%                                   | 100%             |

*Tabla 12. Porcentaje de Naproxeno liberado por el método de evaporación de disolvente.*

La gráfica siguiente muestra los porcentajes obtenidos del perfil de disolución.



Gráfica 6. Perfiles de disolución del método de evaporación de disolvente. Serie1 microcápsulas con Naproxeno. Serie2 microcápsulas sin Naproxeno. Serie 3 Alginato. Serie 4 Mezcla de alginato y Naproxeno. Serie 5 Naproxeno

En la gráfica 6 observamos que tanto para el alginato y las microcápsulas sin fármaco el porcentaje de liberación de Naproxeno es 0% puesto que no contenían a dicho fármaco por lo que las lecturas de absorbancia y concentraciones fueron de 0.

En el caso del Naproxeno y la mezcla física de alginato-fármaco se observan comportamientos de disolución muy similares por lo que el polímero por sí solo no influyó en el comportamiento de la liberación del Naproxeno.

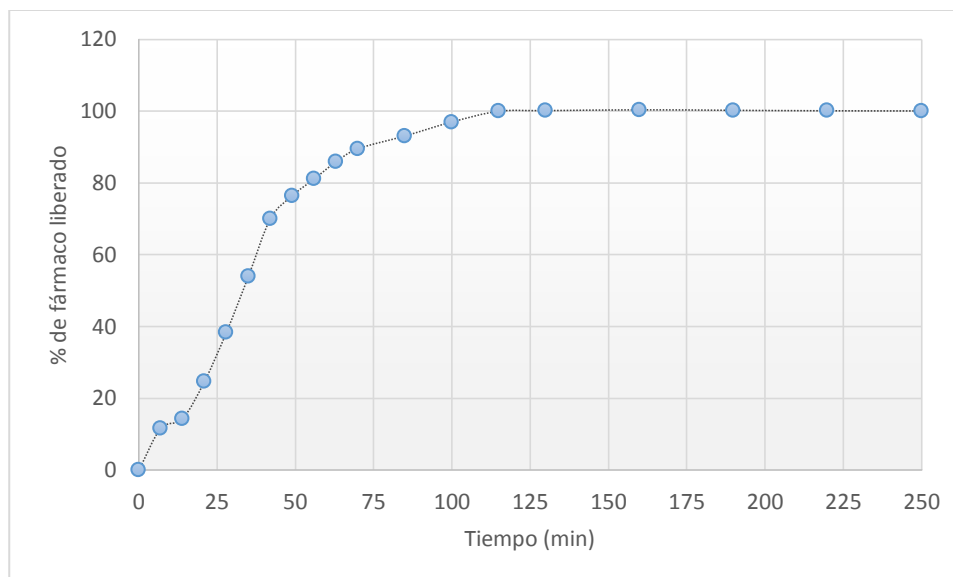
Para poder analizar mejor el perfil de disolución de las microcápsulas de Naproxeno elaboradas con el método de evaporación de disolvente tenemos la tabla 13 con sus datos nuevamente y a continuación su respectivo gráfico.

| <b>Tiempo<br/>(min)</b> | <b>Absorbancia</b> | <b>Concentración<br/>(µg/ml)</b> | <b>% de liberación del<br/>Naproxeno</b> |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------------------|
| 7                       | 0.0723             | 0.082299109                      | 12%                                      |
| 14                      | 0.0784             | 0.10188649                       | 14%                                      |
| 21                      | 0.1014             | 0.175740547                      | 25%                                      |
| 28                      | 0.1316             | 0.272714137                      | 38%                                      |
| 35                      | 0.1659             | 0.382853014                      | 54%                                      |
| 42                      | 0.2013             | 0.496524043                      | 70%                                      |
| 49                      | 0.2156             | 0.542442                         | 76%                                      |
| 56                      | 0.2259             | 0.575515774                      | 81%                                      |
| 63                      | 0.2365             | 0.609552862                      | 86%                                      |
| 70                      | 0.2445             | 0.63524123                       | 90%                                      |
| 85                      | 0.2524             | 0.660608493                      | 93%                                      |
| 100                     | 0.261              | 0.688223489                      | 97%                                      |
| 115                     | 0.2676             | 0.709416392                      | 100%                                     |
| 130                     | 0.268              | 0.710700811                      | 100%                                     |
| 160                     | 0.2685             | 0.712306334                      | 100%                                     |
| 190                     | 0.2682             | 0.71134302                       | 100%                                     |
| 220                     | 0.2679             | 0.710379706                      | 100%                                     |
| 250                     | 0.2678             | 0.710058602                      | 100%                                     |

*Tabla 13. Datos del perfil de disolución de las microcápsulas obtenidas con el método de evaporación de disolvente*

Y a partir de los datos de la tabla 11 se obtuvo la correspondiente gráfica para las microcápsulas.

Con los datos ajustados en la gráfica 7, se observa la cinética de primer orden en donde la velocidad de disolución es función de la concentración del fármaco disuelto.



Gráfica 7. Perfil de disolución de las microcápsulas elaboradas por el método de evaporación de disolvente.

Al principio se observa un ligero desajuste, esto se podría deber a la incertidumbre del espectrofotómetro ya que las concentraciones de fármaco al ser muy pequeñas arrojaban datos aun poco alejados del rango de valores intermedio de absorbancias.

### Fusión de filmógeno

En el perfil de disolución del método de fusión de filmógeno se obtuvieron los siguientes datos:

| Tiemp | Microcápsulas con | Microcápsulas sin | Polímero cera de | Mezcla de alginato y | Naproxeno |
|-------|-------------------|-------------------|------------------|----------------------|-----------|
|-------|-------------------|-------------------|------------------|----------------------|-----------|

| t<br>(min) | Naproxeno   |                     | Naproxeno   |                     | carnauba    |                     | Naproxeno   |                     | Naproxeno   |                     |
|------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|-------------|---------------------|
|            | absorbancia | Concentración µg/ml | absorbancia | Concentración µg/ml | absorbancia | Concentración µg/ml | absorbancia | Concentración µg/ml | absorbancia | Concentración µg/ml |
| 7          | 0.8398      | 2.546776913         | 0.0307      | - 0.05              | 0.051       | 0.01                | 0.5235      | 1.53112306          | 0.2396      | 6.19507104          |
| 14         | 0.87        | 2.643750502         | 0.0484      | 0.01                | 0.0615      | 0.05                | 0.1726      | 4.04367023          | 0.2621      | 6.91755639          |
| 21         | 0.1538      | 3.439993578         | -0.038      | - 0.27              | 0.019       | - 0.09              | 0.1585      | 3.59091274          | 0.2652      | 7.01709882          |
| 28         | 0.1563      | 3.520269728         | -0.097      | - 0.46              | -0.01       | - 0.18              | 0.1544      | 3.45925985          | 0.2683      | 7.11664125          |
| 35         | 0.1595      | 3.6230232           | -0.093      | - 0.45              | -0.067      | - 0.36              | 0.1722      | 4.03082604          | 0.268       | 7.10700811          |
| 42         | 0.1595      | 3.6230232           | -0.067      | - 0.36              | 0.0706      | 0.08                | 0.1622      | 3.70972144          | 0.2167      | 5.45974151          |
| 49         | 0.1646      | 3.786786546         | -0.088      | - 0.43              | -0.083      | - 0.42              | 0.1453      | 3.16705467          | 0.2305      | 5.90286586          |
| 56         | 0.1713      | 4.001926628         | -0.076      | -0.39               | -0.045      | - 0.29              | 0.1323      | 2.74961869          | 0.2133      | 5.35056595          |
| 63         | 0.1734      | 4.069358594         | -0.083      | - 0.42              | -0.061      | - 0.35              | 0.1559      | 3.50742554          | 0.193       | 4.69872361          |
| 70         | 0.1839      | 4.406518423         | -0.067      | - 0.36              | -0.087      | - 0.43              | 0.1396      | 2.98402505          | 0.2671      | 7.07810869          |
| 85         | 0.1805      | 4.297342859         | -0.062      | - 0.35              | -0.037      | - 0.27              | 0.1565      | 3.52669182          | 0.2206      | 5.5849723           |
| 100        | 0.1728      | 4.050092318         | -0.075      | - 0.39              | -0.072      | - 0.38              | 0.1428      | 3.08677852          | 0.2003      | 4.93312997          |
| 115        | 0.1838      | 4.403307377         | -0.078      | - 0.40              | -0.067      | - 0.36              | 0.1555      | 3.49458136          | 0.1883      | 4.54780445          |
| 130        | 0.1792      | 4.255599261         | -0.07       | - 0.37              | -0.056      | - 0.33              | 0.1712      | 3.99871558          | 0.1897      | 4.59275909          |
| 160        | 0.1713      | 4.001926628         | -0.053      | - 0.32              | -0.063      | - 0.35              | 0.1707      | 3.98266035          | 0.1881      | 4.54138236          |

Tabla 14. Resultados del perfil de disolución de absorbancia y concentración para el método de fusión de filmogeno

Con los datos obtenidos se calculó el porcentaje de liberación del Naproxeno que se muestra a continuación:

| Microcápsulas con Naproxeno | Microcápsulas sin Naproxeno | Polímero cera de carnauba | Mezcla de cera de carnauba y Naproxeno | Naproxeno |
|-----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------------------|-----------|
| 51%                         | -1%                         | 0%                        | 0%                                     | 0%        |
| 60%                         | 0%                          | 1%                        | 38%                                    | 51%       |
| 71%                         | -6%                         | -2%                       | 68%                                    | 56%       |
| 80%                         | -11%                        | -4%                       | 74%                                    | 57%       |
| 83%                         | -10%                        | -8%                       | 76%                                    | 59%       |
| 86%                         | -8%                         | 2%                        | 78%                                    | 64%       |
| 90%                         | -10%                        | -9%                       | 81%                                    | 65%       |
| 91%                         | -9%                         | -7%                       | 84%                                    | 66%       |
| 93%                         | -9%                         | -8%                       | 87%                                    | 70%       |
| 94%                         | -8%                         | -10%                      | 88%                                    | 75%       |
| 98%                         | -8%                         | -6%                       | 89%                                    | 77%       |
| 100%                        | -9%                         | -9%                       | 92%                                    | 79%       |
| 100%                        | -9%                         | -8%                       | 94%                                    | 83%       |
| 100%                        | -9%                         | -8%                       | 99%                                    | 87%       |
| 100%                        | -7%                         | -8%                       | 99%                                    | 97%       |

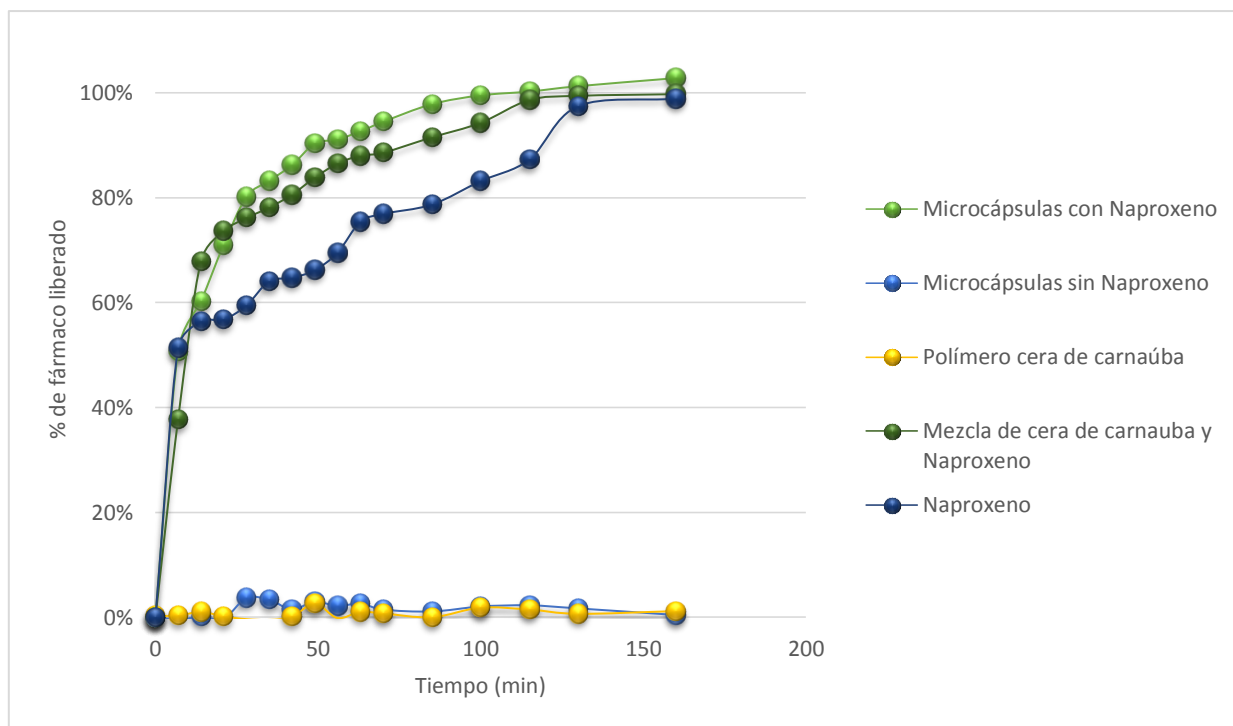
Tabla 15. Porcentaje de liberación del Naproxeno para el método de fusión de filmógeno

Y a continuación los datos específicamente para las microcápsulas de cera de carnaúba.

| <b>Tiempo<br/>(min)</b> | <b>Absorbancia</b> | <b>Concentración<br/>(µg/ml)</b> | <b>% de liberación del<br/>Naproxeno</b> |
|-------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------------------|
| 7                       | 0.7398             | 2.225672313                      | 51%                                      |
| 14                      | 0.8701             | 2.644071606                      | 60%                                      |
| 21                      | 0.1438             | 3.118888978                      | 71%                                      |
| 28                      | 0.1563             | 3.520269728                      | 80%                                      |
| 35                      | 0.1605             | 3.65513366                       | 83%                                      |
| 42                      | 0.1646             | 3.786786546                      | 86%                                      |
| 49                      | 0.1702             | 3.966605122                      | 90%                                      |
| 56                      | 0.1713             | 4.001926628                      | 91%                                      |
| 63                      | 0.1734             | 4.069358594                      | 93%                                      |
| 70                      | 0.1759             | 4.149634744                      | 94%                                      |
| 85                      | 0.1805             | 4.297342859                      | 98%                                      |
| 100                     | 0.1828             | 4.371196917                      | 100%                                     |
| 115                     | 0.1838             | 4.403307377                      | 100%                                     |
| 130                     | 0.1841             | 4.412940515                      | 100%                                     |
| 160                     | 0.1839             | 4.406518423                      | 100%                                     |

*Tabla 16. Datos del perfil de disolución de las microcápsulas obtenidas con el método de fusión de filmógeno*

A partir de la tabla 16 se obtuvo el siguiente gráfico:



Gráfica 8. Perfil de dsolución del método fusión de filmógeno

En la gráfica 8 podemos observar que en las lecturas de la cera de carnauba y de las microcápsulas que no tienen Naproxeno no hay lecturas puesto que dicho fármaco está ausente, lo que también corrobora que no hay errores de lectura en el espectrofotómetro y lo que realmente se está leyendo es el fármaco.

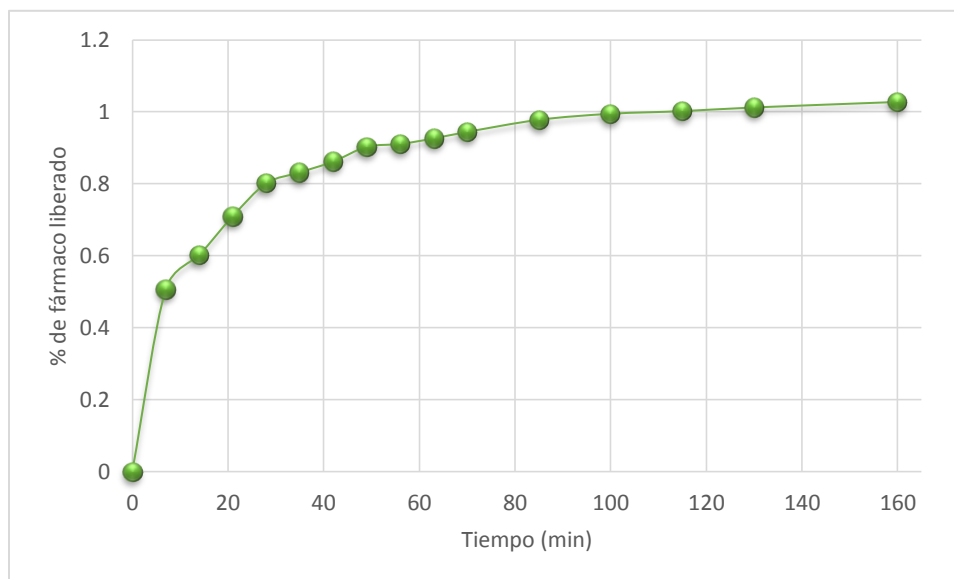
En la mezcla física de cera de carnauba y en el Naproxeno se observa que no hay un tipo de liberación específica del fármaco.

Para las microcápsulas con Naproxeno elaboradas con el método de fusión de filmógeno tenemos la siguiente tabla:

| Tiempo (min) | Absorbancia | Concentración (µg/ml) | % de liberación del Naproxeno |
|--------------|-------------|-----------------------|-------------------------------|
| 7            | 0.8398      | 2.546776913           | 58%                           |
| 14           | 0.8701      | 2.644071606           | 60%                           |
| 21           | 0.1538      | 3.439993578           | 78%                           |
| 28           | 0.1563      | 3.520269728           | 80%                           |
| 35           | 0.1595      | 3.6230232             | 82%                           |
| 42           | 0.1595      | 3.6230232             | 82%                           |
| 49           | 0.1646      | 3.786786546           | 86%                           |
| 56           | 0.1713      | 4.001926628           | 91%                           |
| 63           | 0.1734      | 4.069358594           | 93%                           |
| 70           | 0.1839      | 4.406518423           | 100%                          |
| 85           | 0.1805      | 4.297342859           | 98%                           |
| 100          | 0.1728      | 4.050092318           | 92%                           |
| 115          | 0.1838      | 4.403307377           | 100%                          |
| 130          | 0.1792      | 4.255599261           | 97%                           |
| 160          | 0.1713      | 4.001926628           | 91%                           |

Tabla 17. Datos del perfil de disolución de las microcápsulas de Naproxeno elaboradas por el método de fusión de filmógeno

A partir de la tabla anterior tenemos la gráfica 9:



Gráfica 9. Perfil de disolución del naproxeno por el método de fusión de filmógeno

En la gráfica 9, se muestra el porcentaje de fármaco que se va liberando contra el tiempo, donde la concentración del fármaco es proporcional al tiempo, y por tanto, la reacción es de primer orden.

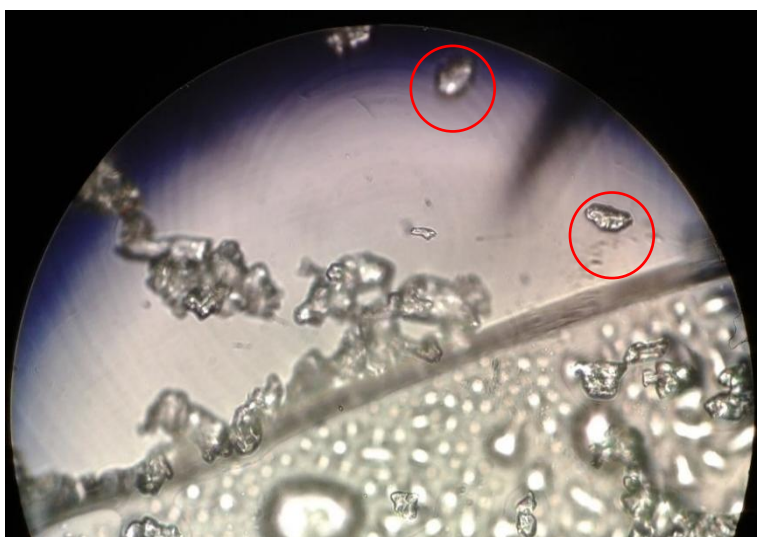
El valor de Q es el tiempo en el cual un mínimo porcentaje del fármaco debe ser liberado. (8) La monografía del Naproxeno de la FEUM (Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos) nos dice que no menos del 80 % del Naproxeno se disuelve en 45 minutos para formas farmacéuticas sólidas definidas. (52) Sin embargo, no existe como tal un valor de Q establecido para microcápsulas.

Para las microcápsulas elaboradas mediante el método de evaporación de disolvente tenemos que el 80 % del Naproxeno se disolvió a los 49 minutos mientras que para las microcápsulas elaboradas mediante el método de fusión de filmógeno en 28 minutos ya se había liberado el 80 % del fármaco.

Esto nos conduce a pensar que el polímero de cera de carnauba es ideal para una liberación rápida del fármaco.

### 9.7 Microscopía óptica

Primeramente se observan los cristales del fármaco en el microscopio óptico, esto con la finalidad de familiarizarse con ellos y al observar las microcápsulas poder ver si hay o no fármaco que no haya quedado microencapsulado. En un círculo rojo se encerraron los cristales que se distinguían más claramente.



*Figura 20. Cristales de Naproxeno visto a 40x*

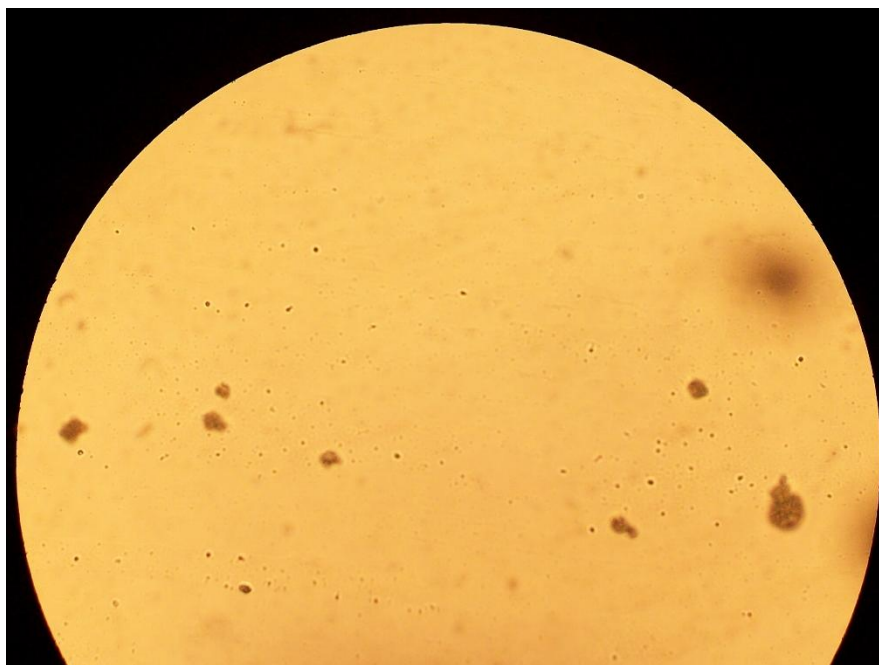
En seguida se observan las microcápsulas obtenidas con el método de evaporación de disolvente.



*Figura 21. Microcápsulas obtenidas con el método de evaporación de disolvente, observadas bajo microscopio óptico a 40x*

El círculo rojo que se observa en la figura 21 es una parte donde se aprecian claramente las microcápsulas, ya que en las orillas están un poco apelmazadas, también se observa que se obtuvieron diferentes tamaños de partículas.

En la siguiente figura se muestran las microcápsulas que se obtuvieron con la técnica



*Figura 22. Microcápsulas obtenidas con el método de fusión de filmógeno observadas bajo microscopio óptico a 40x*

de fusión de filmógeno.

En la figura 22, se observan las microcápsulas de Naproxeno cubiertas con cera de carnauba, tienen un tamaño de partícula más uniforme, una forma más esférica como se predijo con el uso del alcohol polivinílico.

## **10. CONCLUSIONES**

Para las microcápsulas elaboradas mediante el método de evaporación de disolvente se concluye que es un método que se recomienda para uso exclusivo de laboratorio ya que su escalamiento provoca cada vez menos rendimiento de las microcápsulas.

Para las microcápsulas elaboradas mediante el método de fusión de filmógeno se concluye que es un buen método para su elaboración a pequeña y gran escala puesto que demostró tener un buen rendimiento arriba del 90 %.

A pesar de tener un bajo rendimiento en general, el porcentaje de fármaco encapsulado es muy alto de casi 95% en el método de evaporación de disolvente. Sin embargo en el método fusión de filmógeno se obtuvo un bajo porcentaje de fármaco encapsulado menor al 80 %, probablemente porque se también se hayan formado microesferas y cuando se realizó el lavado parte del fármaco pudo haberse ido.

En las pruebas realizadas por calorimetría y microscopía óptica no hubo indicio de que el Naproxeno no quedara encapsulado en ambas técnicas de microencapsulación.

Las microcápsulas obtenidas por ambos métodos poseen una cinética de primer orden en su liberación del fármaco, es decir, conforme éste se va disolviendo su concentración en el medio va aumentando.

En conclusión el método de fusión de filmógeno fue el mejor, ya que es muy fácil de elaborar, se utilizan pocos reactivos y no son tóxicos, en general tiene una eficiencia de encapsulación relativamente buena, las microcápsulas tienen un tamaño de partícula uniforme y se observan esféricas. Cumpliendo así los estándares establecidos en la bibliografía para la elaboración de microcápsulas.

## 11. PERSPECTIVAS

Para investigaciones futuras se plantea que el método de obtención de microcápsulas por fusión del filmógeno sea estandarizado ya que podría ser una alternativa económica para su uso en industria, además de ser amigable con el medio ambiente.

## 12. BIBLIOGRAFÍA

1. Veronese FM, Marsilio F, Caliceti P, Filippis P, Giunchedi P, Lora S. "Polyorganophosphazene microspheres for drug release: polymer synthesis, microsphere preparation, in vitro and in vivo naproxen release". J. Control. Release. 1988; 52(3): p. 227-237.
2. Abood AN, Khalil YI. "Microencapsulation of Naproxen by Complex Coacervation and Aqueous Colloid Dispersion". Iraqi J.Pharm.Sci. 2006; 15(2): p. 17-22.
3. Bohyar PK. "Encapsulation of Naproxen in Lipid-based matrix Microspheres: Characterization and release kinetics". J. Young Pharm. 2011; 3(2): p. 105-111.
4. S. P, Akhter S, Hasan I, Haider SS, Reza S. "Encapsulation of Naproxen in Eudragit RSPO Microsphere system: In vitro Characterization and Compatibility Studies". Dhaka Univ. J. Pharm. Sci. 2012; 11(2).
5. Genikal B, Rajendra A. "Formulation of Crystallo-Co-Agglomerates of Naproxen: Study of effect of polymers on drug release". International Journal of PharmTech Research. 2013; 5(3): p. 852-864.
6. Raksin S, Sereemasapun A, Tachaboonyakiat W. "Transdermal delivery of naproxen using chitin emulsion via pig skin model". In Pure and Applied Chemistry International Conference 2013; 2013.
7. Vilá-Jato J. "Tecnología Farmacéutica. Aspectos fundamentales de los sistemas farmacéuticos y operaciones básicas" Madrid: Ed. Síntesis, SA.; 1997.
8. Swarbrick J. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology. Tercera ed. New York: Informa healthcare; 2007.
9. Saez V, Hernández JR, Peniche C. "Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas". Biotecnol. Apl. 2007; 24(2): p. 98-107.
10. Venkatesan P, Manavalan RyVK. "Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system". J. Pharm. Sci. & Res.. 2009; 1(4): p. 26-35.
11. Jain NK. "Controlled and Novel drug delivery" New Delhi: CBS Publishers and Distributors.; 2005.
12. Muller RH, Peters K. "Nanosuspensions for the formulation of poorly soluble drugs. I. Preparation by a size-reduction technique." Int. J. Pharm. 1998; 160(2): p. 229-237.
13. Sáez V, Hernáez E, Angulo LS, Katime I. "Liberación controlada de fármacos.

- Micropartículas". Rev. Iber. Polímeros. 2004; 5(2): p. 87-101.
14. Murillo M, Espuelas S, S. Prior S, Vitas AI, Renedo MJ, Goñi MM, et al. Liberación controlada de principios activos mediante el empleo de formulaciones galénicas. Rev. Med. Univ. Navarra. 2001; 45(4): p. 19-34.
  15. Lachman LA, Liberman HA, Kanig JL. "The Theory and Practice of Industrial Pharmacy". Tercera ed. Mumbai: Varghese Publishing House; 1986.
  16. Dodge RT. "Microencapsulation. The Art & Science of Controlled Release". [Online]. [cited 2013 Diciembre. Available from: <http://microencapsulation.net/>.
  17. Calero J, Sánchez YF, Tórrez R, Hernann E, López K. "Elaboración y Caracterización de microcápsulas gastrorresistentes de Diclofenac obtenidas por Gelificación Iónica". Universitas. 2008; 1(2): p. 27-30.
  18. Lachman L, Lieberman HA, Kanig JL. "The Theory and practice of industrial Pharmacy". Tercera ed. Bombay: Varghese Publishing House; 1987.
  19. Arroyo Pineda V, Fernández-Corada Sánchez A, Gómez Rebenaque R, Horta Hernández A, Martínez Cruz S, Pérez Rodríguez I, et al. "Nuevas Formas Farmacéuticas de liberación modificada: Revisión y relevancia". Castilla-La Mancha.
  20. Arora S, Ali J, Ahuja A, Baboota S, Qureshi J. "Pulsatile drug delivery systems: an approach for controlled drug delivery". Indian J. Pharm. Sci. 2006; 68: p. 295-300.
  21. Ying M, Thomasin C, Merkle HP, Gander B, Corradin G. "A single administration of tetanus toxoid in biodegradable microspheres elicits T cell and antibody responses similar or superior to those obtained with aluminium hydroxide". Vaccine. 1995; 13(7): p. 683-989.
  22. Yolima Baena MAPASJERLFP. Sistemas osmóticos de administración oral. Rev. Col. Cienc. Quím. Farm. 2006; 35(2).
  23. Kohane DS, Lipp M, Kinney RC, Lotan N, Langer R. "Scoliotic nerve blockblade with lipid-protein-sugar particles containing bupivacaine". Pharm. Res. 2000; 17(10): p. 1243-1249.
  24. Rovi LF. "Tecnologías de liberación de Medicamentos". [Online]. [cited 2013 Diciembre. Available from: <http://www.rovi.es/ID/id.php>.
  25. Ramos D, Gómez M, Fernández D. "Métodos de obtención de microesferas biodegradables". Rev. Cubana Farm. 2001; 35(2): p. 126-135.
  26. Benita S. Microencapsulation: Methods and Industrial Applications. Segunda ed. New York: Taylor & Francis Group; 2006.
  27. Lim F, Sun AM. "Microencapsulated islets as bioartificial endocrine". Science. 1980; 210: p. 493-546.
  28. Mahato RI, Narang AS. "Pharmaceutical Dosage Forms and Drug". Segunda ed.: Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group; 2012.
  29. Salud. OPdI. [Online]. [cited 2013 Noviembre. Available from: [http://www.trabajo.com.mx/syntex\\_un\\_ejemplo\\_a\\_seguir\\_segunda\\_parte.htm](http://www.trabajo.com.mx/syntex_un_ejemplo_a_seguir_segunda_parte.htm).
  30. Cork UC. "Naproxen". [Online]. [cited 2013 Noviembre. Available from:

- <http://chemweb.ucc.ie/courses/PF1001/PF2001%20Naproxen.pdf>.
31. Claudio Giordano M, Marco villa M, inventors; "Process for preparing Naproxen". Italia patent 5,053,533. 1991 Octubre 1.
  32. Noyori R, Ohta T, Takaya H, Kitamura M, Nagai K. "Asymmetric hydrogenation of unsaturated carboxylic acids catalyzed by BINAP-ruthenium(II) complexes". J. Org. Chem. 1987; 52(14): p. 3174–3176.
  33. Gennaro AR. "Remington: Farmacia" Buenos Aires: Panamericana; 2003.
  34. Bozdag S. "In vitro evaluation and intra-articular administration of biodegradable microspheres containing naproxen sodium". J. Microencapsul. 2001; 18(4): p. 443-456.
  35. UNAM FdMdl. "Diccionario de Especialidades Farmacéuticas de PLM Thomson". [Online].; 2007 [cited 2013 Octubre. Available from: [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/qi\\_2k8/prods/PRODS/Naproxeno.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/qi_2k8/prods/PRODS/Naproxeno.htm).
  36. Medicine USNLo. "TOXNET - Databases on toxicology, hazardous chemicals, environmental health, and toxic releases." [Online].: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+22204-53-1> [cited 2014 Enero. Available from: <http://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search/r?dbs+hsdb:@term+@rn+@rel+22204-53-1>.
  37. O'Neil MJ. "The Merck Index - An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals". In. New York: Whitehouse Station; 2006. p. 1109.
  38. Limited DL. "Certificado de Análisis para Naproxeno". 2008..
  39. Hansch C, Leo A, Hoekman D. "Exploring Qsar: Hydrophobic, Electronic, and Steric Constants" Washington D. C.: American Chemical Society; 1995.
  40. Song JS, Sohn YT. "Crystal Forms of Naproxen". Arch. Pharmacol. Res. 2011; 34(1): p. 87-90.
  41. Reumatología SEd. "¿Qué es? Los Anti-inflamatorios anti-COX-2 (COXIB)". Madrid.
  42. Katzung BG. "Farmacología básica y clínica". Tercera ed.: El manual moderno, S.A. de C.V.; 1987.
  43. Pierre Mitchel AC. "Manual de Farmacología". Tercera ed. México: Méndez Editores; 2006.
  44. Avendaño C. "Introducción a la Química Terapéutica". In. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana; 2001. p. 314-316.
  45. National Center for Biotechnology Information USNLoM. "PubChem". [Online]. [cited 2013 Diciembre. Available from: <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/summary/summary.cgi?cid=1302#x94>.
  46. Tqfarma. "Naproxeno MK®". [Online]. [cited 2013 Diciembre. Available from: <http://www.tqfarma.com/Vadem%C3%A9cumMK/SistemaM%C3%BAsculoEsquel%C3%A9tico/NaproxenoMK.aspx>.
  47. Goodman Gilman A. "Las bases farmacológicas de la terapéutica". Novena ed. México: McGraw Hill Interamericana; 1996.

48. Hitner H, Nagie B. "Introducción a la Farmacología". Quinta ed. México: McGraw Hill Interamericana; 2007.
49. Salud Sd. "Diagnóstico y Tratamiento de Artritis Reumatoide del Adulto". México;; 2010.
50. Mowat AG, Ansell BM, Gumpel JM, Hill HFH, Hill AGS, Stoppard M. "Naproxen in rheumatoid arthritis". *Ann. Rheum. Dis.* 1976; 35: p. 498-501.
51. Maiti S, Dey P, Kaity S, Ray S, Maji S, Sa B. "Investigation on Processing Variables for the Preparation of Fluconazole-Loaded Ethyl Cellulose Microspheres by Modified Multiple Emulsion Technique". *AAPS PharmSciTech.* 2009; 10(3): p. 703–715.
52. Salud Sd. "Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos" México; 1988.
53. Duggan KC, Hermanson DJ, Musee J, Prusakiewicz JJ, Scheib JL, Carter BD, et al. "(R)-Profens are substrate-selective inhibitors of endocannabinoid oxygenation by COX-2". *Nat. Chem. Biol.* 2011; 7: p. 803–809.
54. Hernández RM, Orive G, Murua A, Pedraz JL. "Microcapsules and microcarriers for in situ cell delivery". *Adv. Drug Delivery Rev.* 2010; 62(7-8): p. 711–730.
55. Kundu SP, Amjad FM, Sultana S, Sultan MZ, Hossain MA, Amran MS. "Study of Differential Scanning Calorimetry of complex of Magnesium Sulfate with Aspirin, Paracetamol and Naproxen". *Bangladesh Pharm. J.* 2012; 15(1): p. 7-12.
56. Patel GC. "Specialized chronotherapeutic drug delivery systems". [Online].; 2007 [cited 2013 Febrero 26. Available from: <http://www.pharmainfo.net/reviews/specialized-chronotherapeutic-drug-delivery-systems>.