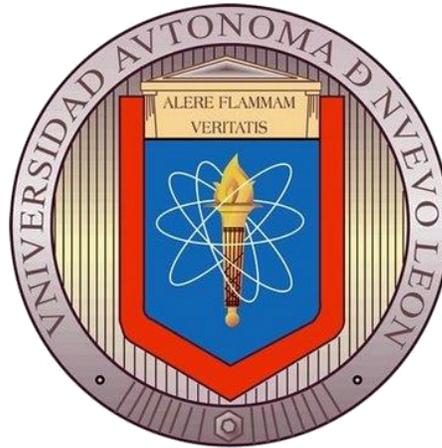


UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



**DISEÑO Y EVALUACIÓN DE MICROESFERAS DE INDOMETACINA SITIO
DIRIGIDAS A COLON**

Por

FELIPE NATARÉN RODRÍGUEZ

**Como requisito parcial para obtener el Grado de
DOCTOR EN CIENCIAS con Orientación en
Farmacia**

Septiembre, 2025

**“DISEÑO Y EVALUACIÓN DE MICROESFERAS DE INDOMETACINA SITIO
DIRIGIDAS A COLON”**

Aprobación de la tesis:

Presidente

Secretario

Vocal

Sub-Directora de Posgrado

**“DISEÑO Y EVALUACIÓN DE MICROESFERAS DE INDOMETACINA SITIO
DIRIGIDAS A COLON”**

Revisión de la tesis:

Comité tutorial

Dra. Ivonne A. Camacho Mora

Dra. Patricia C. Esquivel Ferriño

Dra. Elizabeth Orozco Beltrán

Dra. Patricia González Barranco

Asesora

Dra. Sandra L. Gracia Vásquez

Co-asesora

Dr. Jorge A. Pacheco Molina

Co-asesor externo

Dra. María Elena Cantú Cárdenas
Sub-Directora de Posgrado

RESUMEN

Felipe Natarén Rodríguez
Universidad Autónoma de Nuevo León
Facultad de Ciencias Químicas

Fecha de Graduación: Septiembre, 2025

Título del estudio: DISEÑO Y EVALUACIÓN DE MICROESFERAS DE INDOMETACINA SITIO DIRIGIDAS A COLON

Número de páginas: 113

Candidato para el grado de Doctor en
Ciencias con Orientación en Farmacia

Área de Estudio: Desarrollo de Tecnología Farmacéutica

Propósito y método del estudio: El objetivo de este trabajo fue la obtención de una formulación en microesferas con sistemas de liberación colon dirigido por medio de la técnica de secado por aspersión. Se prepararon microesferas de indometacina utilizando los siguientes excipientes: inulina, goma guar, hidroxipropilmetilcelulosa y Eudragit® S100 y, en algunos casos, se recurrió a combinaciones de excipientes; se llevó a cabo un análisis de compatibilidad por infrarrojo (FTIR) y calorimetría diferencial de barrido (DSC). Se realizó un diseño factorial 2^3 obteniendo ocho combinaciones para cada polímero, se evaluó el efecto de cada factor sobre las variables respuestas para optimizar el proceso; se obtuvieron microesferas con el proceso optimizado y se llevó a cabo un análisis comparativo entre las microesferas de los diferentes polímeros, se seleccionaron los mejores polímeros para crear una nueva formulación, a la cual se le aplicó un recubrimiento entérico. Se realizó un análisis por microscopía electrónica de barrido (SEM) para observar la morfología de las microesferas y se procedió a realizar el perfil de liberación de las microesferas seleccionadas en tres etapas con distintos pH.

Contribuciones y conclusiones: La indometacina se mantuvo estable sin presentar interacción con los polímeros. En las microesferas de inulina y goma guar se obtuvieron los mejores resultados en el porcentaje de rendimiento (75.41%) y la eficiencia de encapsulación (100%), respectivamente. Los factores como temperatura, flujo y porcentaje de polímero presentaron diferencia significativa ($p < 0.05$) en el porcentaje de rendimiento de las microesferas de goma guar y la temperatura y porcentaje de polímero ($p < 0.05$) en la eficiencia de encapsulación de las microesferas de inulina. Las microesferas de goma guar mostraron superficie lisa y forma esférica en comparación de los otros polímeros, y en el perfil de liberación, las microesferas de HPMC lograron prolongar la liberación por más tiempo. Se obtuvo una formulación a partir de una mezcla de inulina y HPMC con las mejores características de ambos, permitiendo ofrecer una alternativa para la formulación de nuevos medicamentos con la utilización de microesferas.

FIRMA DEL ASESOR DE TESIS: Dra. Patricia González Barranco

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y la oportunidad de haber empezado y concluido este proyecto.
A mi familia, por su apoyo incondicional.

A la Dra. Patricia González Barranco, a la Dra. Sandra L. Gracia Vásquez y al Dr. Jorge A. Pacheco Molina por su compromiso y apoyo para con este proyecto, así como por auxiliarme durante las horas de laboratorio, y orientarme con sus valiosas aportaciones durante el desarrollo de esta investigación.

A mí comité tutorial integrado por: la Dra. Ivonne A. Camacho Mora, la Dra. Patricia C. Esquivel Ferriño y la Dra. Elizabeth Orozco Beltrán, quienes me brindaron sus valiosas aportaciones y sugerencias dentro de los seminarios de investigación, las cuales contribuyeron a enriquecer este trabajo desde diferentes puntos de vista del área de farmacia. A todos mis maestros de posgrado que a lo largo de esta maestría me compartieron sus conocimientos sobre cada materia impartida, así como su instrucción en el área farmacéutica y de investigación.

A mis compañeros de la escuela de graduados, a los alumnos de servicio social de la farmacia y a los alumnos de licenciatura de la Facultad de Ciencias Químicas, UANL, por su valiosa ayuda durante el trabajo en el laboratorio.

A la Escuela de Graduados en Ciencias y a la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL, por haberme aceptado en el programa de Doctorado en Ciencias con Orientación en Farmacia, siendo éste un posgrado de calidad a lo largo de toda mi estancia en dicha institución, así como a sus administrativos, por las facilidades y apoyo otorgados durante los tramites y desarrollo de esta tesis.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnología (SECIHTI) por los recursos económicos otorgados como beca de manutención durante mi estancia en el estado de Nuevo León.

A la Universidad de Costa Rica y su Facultad de Farmacia por brindarnos el apoyo para la estancia y permitir el uso de sus instalaciones y equipos para llevar a cabo objetivos de esta investigación.

*Para todas las personas que alguna vez me apoyaron en mi camino para llegar hasta
aquí.
—F.N.R.*

NOMENCLATURA

AA	Ácido araquidónico
ACS	Grado reactivo analítico
AINEs	Antiinflamatorios no esteroideos
BMA	Butilmetacrilato
CAS	Número de registro
CAT	Número de catálogo
CD	Cedrosa
CM	Celulosa microcristalina
CNIN	Cinamato de inulina
COX	Ciclooxigenasa
Cp	Concentración plasmática
CT	Citrato de trietilo
CV	Coefficiente de variación
DEQ	Desarrollo de Especialidades Químicas S.A. de C.V.
DMAEMA	Dimetilaminoetilmetacrilato
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EC	Etilcelulosa
ej	Ejemplo
EM	Estearato de magnesio
<i>Et al.</i>	“y otros”
EU	Eudragit® S10
Eudragit® S100	Polímero de ácido metacrílico

F	Formulación
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
GG	Goma guar
TGI	Tracto gastrointestinal
GP	Grado de polimerización
h	Hora
HA	Hidróxido de amonio
HCl	Ácido clorhídrico
HEC	Hidroxietilcelulosa
HPMC	Hidroxipropilmetilcelulosa
HPC	Hidroxipropilcelulosa
IBP	Inhibidores de la bomba de protones
IND	Indometacina
INU	Inulina
IUPAC	Unión Internacional de Química Pura y Aplicada
Kollicoat® MAE100P	Copolímero de ácido metacrílico, acrilato de etilo
Kp	Kilopondios
L	Litro
LM	Liberación modificada
L/h	Litro por hora
MA	Metilacrilato
MAA	Ácido metacrílico
MGA	Método general de análisis
mg/L	Miligramos por litro

MG	Monoestearato de glicerol
MMA	Metilmetacrilato
mL	Mililitro
min	Minuto
Na-CMC	Carboximetilcelulosa de sodio
nm	Nanómetro
PA	Principio activo
PGG2	Prostaglandina G2
PGH2	Prostaglandina H2
p/v	Peso/volumen
P80	Polisorbato 80
RPM	Revoluciones por minuto
SA	Solución amortiguadora
SEM	Microscopía Electrónica de Barrido
SLCD	Sistema de liberación colon dirigido
SLM	Sistema de liberación modificada
SLR	Sistema de liberación retardada
SRef-FEUM	Solución de referencia FEUM
TC	Talco
TGI	Tracto gastrointestinal
UANL	Universidad Autónoma de Nuevo León
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
USP	Farmacopea de Estados Unidos de América
Vd	Volumen de distribución

vs	Versus
w/v	Peso/volumen
$\mu\text{g/mL}$	Microgramo por mililitro
μm	Micrómetro
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo	Página
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Sistemas de liberación de fármacos dirigidos a colon	1
1.2 Microesferas poliméricas.....	3
1.2.1 Métodos de obtención de microesferas.....	4
1.3 Polímeros y sus aplicaciones en el desarrollo de microesferas colon-dirigidas.....	9
1.3.1 Inulina	9
1.3.2 Hidroxipropilmetilcelulosa	11
1.3.3 Goma guar	12
1.3.4 Eudragit® S100	13
1.4 Características de los fármacos para liberación en el colon.....	14
1.4.1 Indometacina.....	15
1.4.1.1 Mecanismo de acción de la indometacina.....	17
1.4.1.2 Efectos adversos de los AINEs.....	19
1.5 Estudio del perfil de disolución <i>in vitro</i>	20
1.6 Justificación	21
1.7 Antecedentes	21
1.8 Aportación científica.....	24
1.9 Hipótesis.....	24
1.10 Objetivos.....	24
1.10.1 Objetivo general.....	24
1.10.2 Objetivos específicos	24
CAPÍTULO 2.....	26
2. MATERIALES Y MÉTODOS	26
2.1 Equipos e instrumentos.....	26
2.2 Materias primas.....	27
2.3 Reactivos.....	27
2.4 Metodología	28
2.4.1 Preparación de soluciones (FEUM 2018).....	28
2.4.2 Metodología experimental	30
2.4.2.1 Desarrollo galénico.....	30

2.4.2.2	Análisis y optimización de datos	34
2.4.2.3	Desarrollo de microesferas con los datos optimizados	35
2.4.2.4	Recubrimiento entérico de las microesferas.....	36
2.4.2.5	Evaluación de las microesferas.....	37
2.4.2.6	Perfil de disolución	39
2.4.3	Validación del método analítico	41
2.4.3.1	Parámetros de validación del sistema.....	41
2.4.3.1.1	Linealidad.....	41
2.4.3.1.2	Precisión.....	42
2.4.3.2	Parámetros de validación del método.....	43
2.4.3.2.1	Linealidad.....	43
2.4.3.2.2	Exactitud	43
2.4.3.2.3	Precisión	43
2.4.3.2.4	Estabilidad.....	45
2.4.3.2.5	Selectividad.....	45
2.4.3.2.6	Influencia del filtro.....	45
2.5	Ubicación de los equipos.....	46
2.6	Disposición de residuos.....	46
CAPÍTULO 3		47
3. RESULTADOS.....		47
3.1	Análisis de materia prima.....	47
3.1.1	Análisis por espectroscopía infrarroja (FTIR-ATR).....	47
3.1.2	Análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC).....	50
3.2	Desarrollo experimental.....	51
3.2.1	Obtención de microesferas aplicando el diseño factorial 2^3	51
3.2.1.1	Microesferas de inulina.....	51
3.2.1.2	Microesferas de HPMC.....	56
3.2.1.3	Microesferas de goma guar.....	57
3.2.1.4	Microesferas de Eudragit® S100	62
3.2.1.5	Análisis de los parámetros optimizados	63
3.2.2	Análisis comparativo entre microesferas de diferentes polímeros	65
3.2.3	Morfología por SEM.....	66
3.2.4	Validación del método analítico	68
3.2.4.1	Validación del método de la prueba de disolución.....	68
3.2.4.1.1	Validación del sistema.....	68
3.2.4.1.1.1	Linealidad.....	68
3.2.4.1.1.2	Precisión.....	70
3.2.4.2	Validación del método.....	72

3.2.4.2.1 Linealidad.....	72
3.2.4.2.2 Exactitud	75
3.2.4.2.3 Precisión	75
3.2.4.2.3.1 Repetibilidad.....	75
3.2.4.2.4 Reproducibilidad intralaboratorio.....	77
3.2.4.2.5 Estabilidad.....	78
3.2.4.2.6 Influencia del filtro.....	80
3.2.4.2.7 Selectividad.....	80
3.2.4.2.8 Resumen de la validación del método	81
3.2.5 Perfil de disolución <i>in vitro</i>	82
3.2.5.1 Microesferas de los polímeros con parámetros optimizados.....	82
3.2.5.2 Desarrollo de microesferas obtenidas por combinación de los polímeros con mejores resultados previos.....	83
3.2.5.3 Perfil de disolución de las microesferas recubiertas	84
CAPÍTULO 4	85
4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	85
4.1 Análisis de compatibilidad.	85
4.2 Diseño de experimentos para la obtención de microesferas	86
4.3 Optimización de los parámetros	90
4.4 Comparación de las microesferas	91
4.5 Morfología por SEM.....	94
4.6 Perfil de disolución <i>in vitro</i>	96
4.7 Microesferas recubiertas	97
CAPÍTULO 5	99
5. CONCLUSIONES.....	99
6. BIBLIOGRAFÍA.....	103

LISTA DE TABLAS

Tabla	Página
<u>1.</u> Estrategias para desarrollar SLCD.....	2
<u>2.</u> Métodos de obtención de microesferas.....	5
<u>3.</u> Estructura del Eudragit® S100	14
<u>4.</u> Característica de fármacos sugeridos para el desarrollo de SLCD	15
<u>5.</u> Parámetros farmacocinéticos de la indometacina	16
<u>6.</u> Equipos e instrumentos	26
<u>7.</u> Materia prima para la elaboración de las microesferas.....	27
<u>8.</u> Reactivos.....	28
<u>9.</u> Factores y niveles del diseño experimental.....	31
<u>10.</u> Corridas totales de la combinación de los tres factores del diseño factorial 2 ³ ...	31
<u>11.</u> Componentes de las formulaciones de inulina.....	32
<u>12.</u> Contenido de las formulaciones de HPMC.....	32
<u>13.</u> Contenido de las formulaciones de goma guar	33
<u>14.</u> Contenido de las formulaciones de Eudragit® S100	34
<u>15.</u> Contenido del recubrimiento entérico.....	36
<u>16.</u> Condiciones del equipo de recubrimiento.....	37
<u>17.</u> Porcentajes de rendimiento y atrapamiento de las microesferas de inulina.....	52
<u>18.</u> Datos del diseño factorial 2 ³ del porcentaje de rendimiento INU.....	52
<u>19.</u> Datos del diseño factorial 2 ³ del porcentaje de encapsulación INU	53
<u>20.</u> Porcentaje del rendimiento y encapsulación de las microesferas de HPMC	56
<u>21.</u> Datos del diseño factorial 2 ³ del porcentaje de rendimiento HPMC	56
<u>22.</u> Datos del diseño factorial 2 ³ del porcentaje de encapsulación HPMC	57

<u>23.</u> Porcentaje de rendimiento y encapsulación de las microesferas de goma guar..	57
<u>24.</u> Datos del diseño factorial 2^3 del porcentaje de rendimiento GG.....	58
<u>25.</u> Datos del diseño factorial 2^3 del porcentaje de encapsulación GG.....	58
<u>26.</u> Porcentaje de rendimiento y encapsulación de las microesferas de Eudragit® S100	62
<u>27.</u> Datos del diseño factorial 2^3 del porcentaje de rendimiento EU	62
<u>28.</u> Datos del diseño factorial 2^3 del porcentaje de encapsulación EU	63
<u>29.</u> Comparación de los resultados predictivos del software vs microesferas producidas con los parámetros optimizados	64
<u>30.</u> Análisis de linealidad del sistema	68
<u>31.</u> Resumen del análisis de linealidad del sistema.....	70
<u>32.</u> Análisis de precisión del sistema	71
<u>33.</u> Resumen del análisis de precisión del sistema.....	72
<u>34.</u> Análisis de linealidad del método	72
<u>35.</u> Resumen del análisis de linealidad del método.....	74
<u>36.</u> Análisis de exactitud del método	75
<u>37.</u> Resumen del análisis de exactitud y repetibilidad del método	76
<u>38.</u> Análisis de reproducibilidad	77
<u>39.</u> Análisis de estabilidad.....	78
<u>40.</u> Resumen del análisis de reproducibilidad.....	79
<u>41.</u> Análisis de la influencia del filtro	80
<u>42.</u> Resumen de los resultados de validación.....	81

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
<u>1.</u> Diagrama Mini Spray Dryer B-290 (Arpagaus, et al., 2010).....	7
<u>2.</u> Estructura de la inulina.....	10
<u>3.</u> Estructura del HPMC	12
<u>4.</u> Estructura de la goma guar.....	13
<u>5.</u> Estructura de la indometacina	16
<u>6.</u> Espectros IR de la indometacina (IDM-STD), de los polímeros individuales y su respectiva mezcla 1:1 con la IDM y de microesferas de inulina (M-INU), goma guar (M-GG1), hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC1) y Eudragit®49	
<u>7.</u> Termograma de la indometacina (IDM-STD), los polímeros individuales, inulina (INU), goma guar (GG), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), Eudragit® S100 (EU) y microesferas de IDM con cada uno de los polímeros correspondientes (M-polímero).....	50
<u>8.</u> Gráficas de porcentaje de encapsulación vs (a) polímero y (b) temperatura de las microesferas de inulina	53
<u>9.</u> Gráfica de interacción temperatura vs caudal de las microesferas de inulina	54
<u>10.</u> Gráfica de superficie 3D de porcentaje de encapsulación, polímero vs temperatura de las microesferas de inulina	55
<u>11.</u> Valores óptimos de cada factor propuesto por el software	55
<u>12.</u> Gráfica de porcentaje de rendimiento vs A) caudal, B) temperatura y C) porcentaje de polímero de las microesferas de goma guar.....	59

<u>13.</u> Gráfica de interacciones A) caudal vs polímero y B) caudal vs temperatura de las microesferas de goma guar	60
<u>14.</u> Gráfica de porcentaje de rendimiento, temperatura vs caudal en dos diferentes concentraciones de polímeros: A) 0.21% y B) 0.41% de las microesferas de goma guar.....	61
<u>15.</u> Predicción de los valores óptimos de cada factor para los mejores resultados en cada variable respuesta de las microesferas de goma guar.....	61
<u>16.</u> Comparación de los resultados obtenidos en el diseño experimental vs parámetros optimizados.....	65
<u>17.</u> Comparativa de los resultados de rendimiento y encapsulación de las microesferas obtenidas del proceso optimizado. Microesferas de inulina (M- INU), Eudragit® S100 (M-EU), goma guar (M-GG) e hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC) (n=3). Grupos A, B y C (p<0.05)....	66
<u>18.</u> Microscopía electrónica de barrido de las microesferas obtenidas. Microesferas de: Eudragit® S100 (A), goma guar (B), hidroxipropilmetilcelulosa (C), inulina (D)	67
<u>19.</u> Curva de regresión ajustada para la linealidad del sistema.....	70
<u>20.</u> Curva de regresión ajustada para la linealidad del método.....	74
<u>21.</u> Espectros de absorción de la solución problema y de referencia	80
<u>22.</u> Perfil de liberación de las microesferas finales: microesferas de inulina (M- INU), Eudragit® S100 (M-EU), goma guar (M-GG) e hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC).....	82

<u>23.</u> Comparativa de los resultados de rendimiento y encapsulación de las microesferas obtenidas de la mezcla de inulina y HPMC sin recubrir (M-IH) y recubiertas (MR-IH).....	83
<u>24.</u> Perfil de liberación de las microesferas de HPMC (M-HPMC), mezcla Inulina-HPMC (M-IH) y mezcla Inulina-HPMC recubiertas de Eudragit® S100 (M-IHR).....	84

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Sistemas de liberación de fármacos dirigidos a colon

La interacción de un principio activo (PA) con su sitio de acción y el mantenimiento de una concentración plasmática estable son de vital importancia para la respuesta terapéutica efectiva de un medicamento, por lo que lograr una forma farmacéutica con estos atributos es el objetivo deseable al diseñar una formulación. Actualmente, las formulaciones de liberación convencional presentan un pobre mantenimiento de la concentración terapéutica del fármaco, lo que provoca la utilización de varias dosis al día y la presencia de fluctuaciones en los niveles plasmáticos, ocasionando, en algunos casos, una nula respuesta terapéutica o, incluso, una respuesta tóxica, lo que crea complicaciones en el paciente. Es por esto por lo que se realizan investigaciones para desarrollar formulaciones de liberación modificada, las cuales permiten alterar el tiempo y/o el lugar de la liberación de un PA, logrando acelerar, prolongar, retardar o dirigir la molécula de interés a su sitio de acción (Pinto, 2010; Hua, *et al.*, 2015 y Banerjee, *et al.*, 2016).

Los sistemas de liberación colon-dirigido (SLCD) presentan interés en el área de la tecnología farmacéutica debido a que son administrados por la vía oral, que es considerada como la vía de administración más accesible y de fácil uso por parte del paciente, teniendo

como objetivo liberar el PA en la región del tracto gastrointestinal (TGI) que corresponde al colon; este sistema podría ser usado para fármacos que se utilicen en el tratamiento de enfermedades del colon (síndrome de intestino irritable, colitis ulcerosas, enfermedad de Crohn, cáncer de colon, entre otras) o para aquellas donde se requiera un efecto terapéutico retardado, como las sujetas al ritmo circadiano (artritis reumatoide, asma, afecciones cardíacas, entre otras) para presentar su efecto terapéutico en el momento determinado. Otras de las ventajas que presentan estas formulaciones son: la protección de fármacos y compuestos bioactivos que puedan ser degradados por el ambiente agresivo del estómago ayudando a mantener su integridad química (Yusel, *et al.*, 2011; Keshavarao, *et al.*, 2011; Lopez, *et al.*, 2015).

Se han desarrollado tabletas, cápsulas, pellets, microcápsulas y microesferas en sistemas colon dirigido, utilizando diversas estrategias de liberación (Tabla 1) con diferentes polímeros (Yusel, *et al.*, 2011; Qureshi, *et al.*, 2013; Lopez, *et al.*, 20 15).

Tabla 1

Estrategias para desarrollar SLCD

Sistema	Descripción
Sistema pH dependiente	La formulación es cubierta por una capa de polímeros que, por lo general, son resistentes al medio ácido del estómago y en ciertos valores de pH en un rango de 4 a 8 el polímero se disuelve y permite la liberación del fármaco, algunos ejemplos son los Eudragit®.
Sistemas dependientes de presión	Este sistema se basa en la elaboración de una cápsula con un grosor suficiente para resistir las presiones del tracto gastrointestinal causadas por los movimientos peristálticos, dicha cápsula, al llegar a la zona del colon, se rompe y libera el PA

	gracias a que los movimientos peristálticos aumentan provocando una mayor presión sobre ella.
Control osmótico	Esta tecnología se basa en el recubrimiento del núcleo con una película entérica que tiene la característica de disolverse en el pH del colon, lo que provoca que el líquido penetre al núcleo a través de una segunda película semipermeable, esto ocasiona un aumento de la presión en el interior del sistema por agentes osmóticos lo que permite la liberación del PA a través de los poros que se crean durante el proceso.
Profármacos	Se forma un enlace covalente entre fármaco y excipiente, el profármaco se metaboliza por las enzimas de las bacterias presentes en el colon (azoreductasas, nitroreductasas, entre otras) dando origen al compuesto activo.
Control enzimático	El fármaco está protegido por diversos polímeros (entre ellos polisacáridos); al llegar a la zona del colon, las enzimas bacterianas degradan los polímeros permitiendo la liberación del PA.

1.2 Microesferas poliméricas

Las microesferas poliméricas se desarrollaron a mediados de 1970, son partículas sin una distinción entre cubierta y núcleo, con forma esférica, presentan un tamaño entre una y varias decenas de micrómetros (1-1000), su estructura es monolítica y el fármaco está incorporado en la matriz polimérica. A la fecha se han realizado estudios enfocados en la utilización de microesferas poliméricas para el desarrollo de formulaciones biodirigidas tanto para la vía oral como para la parenteral, tienen la ventaja de dispersarse de manera adecuada en el TGI, con un tiempo de tránsito predecible y presentan una liberación de fármaco reproducible, pueden proteger al fármaco del medio ácido del estómago, permitiendo su liberación en zonas determinadas de manera rápida o prolongada, ayudando a reducir algunos efectos no deseados causados por algunos fármacos como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Sharma, *et al.*, 2013; Sáez, *et al.*, 2018).

En el desarrollo de las microesferas es indispensable tomar en cuenta ciertas características, como por ejemplo: selectividad por el tejido diana, biocompatibilidad para evitar daño de tejido, no tóxica, tamaño adecuado, de fácil obtención y buen rendimiento, con eficiencia de encapsulación y carga del PA satisfactorios, además de presentar una liberación controlada y sostenida del fármaco; en el proceso de liberación del PA desde una microesfera intervienen algunos procesos que se tienen que tomar en cuenta durante su desarrollo, como por ejemplo: el estado físico del fármaco, el tipo de polímero, el grado de entrecruzamiento y su naturaleza, la proporción de fármaco: polímero, la interacción entre fármaco, matriz y medio, los cuales pueden provocar diferentes procesos de liberación del PA de la microesfera como: erosión de su superficie, difusión, desintegración, o una combinación de difusión y degradación o erosión.

En cuanto a la liberación de fármacos desde microesferas monolíticas de manera *in vitro*, esta ocurre en dos fases, una primera fase de liberación inicial grande y rápida (efecto “burst” o de estallamiento), seguida de una segunda fase más lenta. También se ha comprobado que en esta segunda fase las microesferas de menor tamaño presentan una liberación del fármaco mayor y más rápida en comparación con las microesferas de mayor tamaño. Probablemente, porque presentan una mayor área superficial lo que provoca un aumento de la zona de contacto con el líquido del medio provocando una mayor penetración de este al núcleo lo que desencadena una liberación más rápida del PA (Sáez, *et al.*, 2018).

1.2.1 Métodos de obtención de microesferas

Para la elaboración de las microesferas existen distintos métodos (Tabla 2), para la selección de la técnica adecuada se toman en cuenta las características fisicoquímicas del

polímero y el principio activo a utilizar, así como el sistema de liberación del PA deseado (Ramos, *et al.*, 2001).

Tabla 2.

Métodos de obtención de microesferas

Método de obtención de microesferas	Descripción
Emulsión-evaporación del solvente	Metodología de elaboración de microesferas a partir de una emulsión que consta de dos fases, la fase continua donde se agrega la fase discontinua que contiene el polímero formador de la microesfera; ambas fases se mezclan, se mantienen en agitación constante y, con la ayuda de un emulsificante, se propicia una mejor distribución de los glóbulos formados por la fase discontinua, se aplica calor, lo que provoca la evaporación del solvente de la fase discontinua permitiendo el endurecimiento del polímero de los glóbulos dando lugar a la formación de las microesferas y llevando a cabo el atrapamiento del PA. Los factores a contemplar para un mejor resultado son: la velocidad de agitación, los solventes utilizados y el emulsificante. (Villicaña <i>et al.</i> , 2020).
Polimerización	La polimerización en emulsión es una técnica para producir microesferas donde se inicia con la formación de la emulsión que consta de dos fases, la oleosa, donde se encuentra el PA y los monómeros que formarán el polímero, y la fase acuosa, en la cual se adicionarán los radicales libres que darán inicio al proceso de polimerización para dar paso a la formación de las microesferas en las micelas formadas por la fase oleosa; para mantener la estabilidad de la emulsión se utilizan tensoactivos. En este proceso intervienen diversos factores para alcanzar un rendimiento y proceso adecuado, como la temperatura y agitación, por mencionar algunos. (Wang y Meng., 2019).
Electropulverización	Esta técnica se realiza mediante el empleo de un equipo especializado que contiene la solución del polímero a utilizar donde se encuentra el PA, una

	<p>bomba que regula la velocidad de alimentación a través de un inyector, un colector y una fuente de alto voltaje que se encarga de pulverizar la solución; durante este proceso se forma un cono de Taylor que se estabiliza mediante la tensión superficial del líquido, la fuerza electrostática y la gravedad. La combinación de estos factores les da forma esférica a las partículas obteniendo así las microesferas. Para un proceso adecuado se tienen que cuidar ciertos factores como el voltaje utilizado, la velocidad de alimentación y la densidad del líquido, entre otros (Wang M. y Zhao., 2019).</p>
Gelación iónica	<p>Esta técnica se enfoca en la capacidad de los polielectrolitos para llevar a cabo una unión cruzada en presencia de contraiones multivalente tales como Ca^{2+}, Ba^{2+} y Al^{3+}, para formar hidrogeles. La gelación iónica se produce a través de enlaces cruzados de cadenas de hidrocoloides con iones, esto permite una unión entre polímeros atrapando agua en su interior, junto con el PA para formar las microesferas, la fuerza iónica de los polímeros utilizados, así como la de los cationes son factores importantes para un mejor resultado (Traffano-Schiffo, <i>et al.</i>, 2018).</p>
Extrusión	<p>Es una técnica comúnmente usada para la formación de partículas en gel. Implica el uso de una aguja y una jeringa la cual es cargada con una solución hidroalcohólica y luego es extruida a través de la aguja para formar gotas que se gelifican según las condiciones en las que se extruye la solución hidroalcohólica; el tamaño de las gotas y las partículas dependen del tamaño de la aguja, el flujo y la viscosidad de solución, dando lugar a la formación de las microesferas (Đorđević, <i>et al.</i>, 2015).</p>

El método de secado por aspersión, también conocido como spray drying, es uno de los más usados para producir microesferas y/o microcápsulas. Se basa en la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una solución, emulsión o suspensión que forman gotas de un cierto tamaño en una corriente de aire caliente en el interior de una cámara de secado. El agua presente en la gota atomizada se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en el líquido quede atrapado dentro de una

película de material encapsulante, lo que puede dar lugar a microesferas o microcápsulas (Figura 1. Arpagaus, *et al.*, 2010).

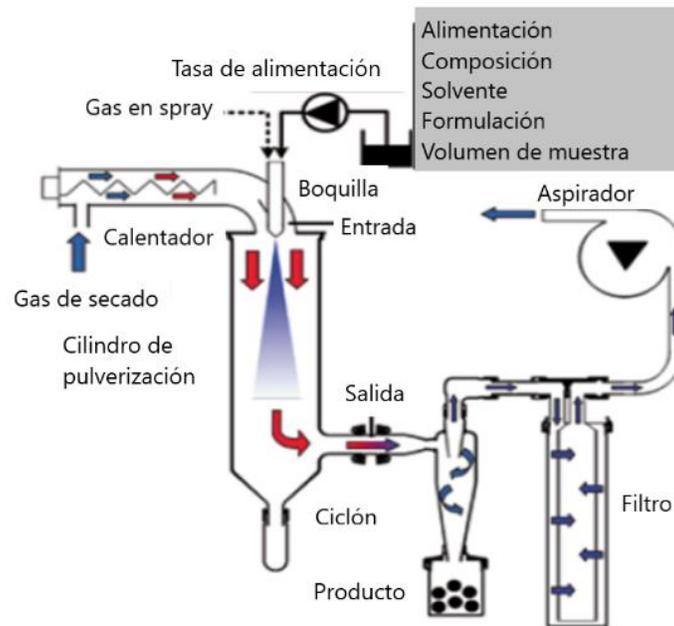


Figura 1. Diagrama Mini Spray Dryer B-290 (Arpagaus, *et al.*, 2010)

Esta técnica presenta ciertas ventajas, en comparación con otros métodos, es un proceso simple, apropiado para materiales volátiles y sensibles al calor, ya que el material está expuesto a la temperatura en tiempos cortos, lo suficiente para proteger los componentes sensibles de la formulación. Existen factores importantes del proceso que influyen en la eficiencia de encapsulación y la calidad de las microesferas obtenidas por este método, por ejemplo: la naturaleza del material encapsulante, la viscosidad de la emulsión y/o la suspensión, los parámetros del equipo (flujo de gas, radio de flujo del líquido, entrada de aire y temperatura de salida) (Ramos, *et al.*, 2001; Dima, *et al.*, 2016).

Para la producción de microesferas se utilizan diversos polímeros como son: goma arábica, gelatina, carragenanos, alginatos, quitosano, etc., estos aditivos deben tener la propiedad de proporcionar una emulsión o suspensión estable al momento de la atomización en el equipo de spray drying durante la elaboración de las microesferas; además, tener buenas propiedades de formación de una matriz para atrapar el principio activo durante la formación de la microesfera (Ramos, *et al.*, 2001; Dima, *et al.*, 2016).

Los requisitos para el desarrollo de las microesferas son: (Ramos, *et al.*, 2001; Sáez, *et al.*, 2018):

- El rendimiento del proceso de obtención de microesferas debe ser mayor al 50%.
- La obtención de un tamaño regulable y reproducible.
- La carga y la eficiencia de encapsulación y/o atrapamiento del PA debe ser alto y reproducible.
- El principio activo debe mantenerse estable durante el proceso de obtención.
- Las microesferas obtenidas de distintos lotes, utilizando el mismo procedimiento, con los parámetros establecidos, debe conservar el mismo perfil de liberación que cumplan con los criterios de aceptación.
- Que las microesferas presenten un perfil de liberación ajustable, es decir que permitan disminuir o aumentar el tiempo de liberación de un PA cuando se modifica algún componente en su formulación o alguna variable del equipo.
- Que las microesferas presenten un buen comportamiento reológico que permita una manipulación de estas para su implementación en distintas formas farmacéuticas.
- Que permitan mantenerse estables en largos periodos de tiempo.

1.3 Polímeros y sus aplicaciones en el desarrollo de microesferas colon-dirigidas

Existe una amplia variedad de polímeros con diversos pesos moleculares, estabilidad y composición química, los diferentes grupos funcionales que los constituyen le proporcionan ciertas características particulares que pueden ser aprovechadas para ser utilizadas en diversas formulaciones para desarrollar sistemas de liberación inteligente de fármacos. Algunos ejemplos son: pectina, goma guar (GG), dextrano, quitosano, Eudragit®, entre otros. (Hartzell, *et al.*, 2013; Bosio, *et al.*, 2014).

Para desarrollar sistemas de liberación sitio dirigidos se han utilizado algunos polímeros que tienen la propiedad de formar geles estables para prolongar la liberación del PA (hidroxipropilmetilcelulosa [HPMC], goma guar), otros, tienen la capacidad de responder a valores definidos de pH (Eudragit®), algunos otros, de ser metabolizados por la microbiota colónica humana, permitiendo la degradación del polisacárido que forma el sistema (inulina, goma guar); la utilización individual o en combinación de estos polímeros ha permitido la liberación del fármaco en un sitio específico (Kumar y Tiwari, 2012).

1.3.1 Inulina

Es un polisacárido constituido químicamente por moléculas D-fructosa unidas mediante enlaces β (2-1) fructosil-fructosa con una unidad de glucosa en el extremo reductor (Figura 2), existe de manera natural o puede producirse a partir de microorganismos. Se obtiene de diversas plantas como la cebolla, chicoria, ajo, alcachofa y agave, entre otras, la inulina obtenida de la dahlia es la más común. Este polisacárido

tiene la capacidad de formación de gel en ciertas condiciones y no es hidrolizado por las secreciones del tracto digestivo de ciertos organismos como los humanos (Poulain, *et al.*, 2003; Handbook, 2006; Greg, 2008; Conceicao, *et al.*, 2014; Jain, *et al.*, 2014).

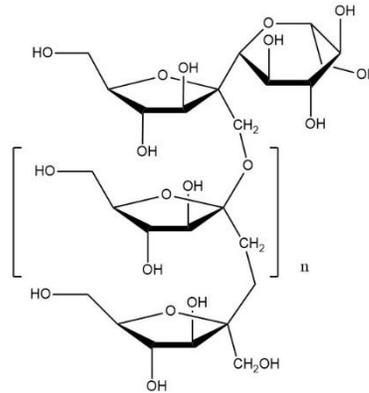


Figura 2. Estructura de la inulina

Existen diferentes tipos de inulinas: con estructuras ramificadas o lineales y grado de polimerización (GP) distinto, estas diferencias dependen de su origen. En el caso de la achicoria, produce inulina con una n (el número de unidades de fructosa unidas con una glucosa terminal) de 2 a 70, constituida por oligómeros y polímeros. La alcachofa globo (*Cynara scolymus*) presenta el GP más alto de origen vegetal que ha sido encontrado a la fecha, y corresponde a un valor por encima de 200. Por otro lado, la oligofructosa es uno de los más utilizados, siendo el fructano más destacado derivado de la inulina, este se puede obtener por medio de la hidrólisis enzimática de la inulina, y presenta un GP menor a 10 unidades. Hasta hace poco las moléculas extraídas de distintas plantas se consideraba que presentaban una estructura lineal, pero mediante el uso de tecnologías actuales optimizadas, fue posible mostrar que algunas inulinas de achicoria nativa (GP 12) están constituidas por un muy pequeño grado de ramificación (1-2%), y se presentó el mismo

caso en la inulina obtenida de la raíz de dahlia. Por otro lado, la inulina de agave presenta un grado de polimerización menor o igual a 30, existiendo inulina lineal y ramificada (Sosa-Herrera y Delgado-Reyes, 2016).

Se ha reportado que la inulina produce un efecto benéfico a la salud, durante su consumo por los humanos puede favorecer el crecimiento y/o actividad de bacterias benéficas en el colon a ciertas dosis de 1 a 4 g por día en adultos) (Van de W, *et al.*, 2004; Chirido, *et al.*, 2011); su metabolismo produce un ambiente ácido en el colon que previene su colonización por agentes patógenos; además se producen metabolitos como el butirato y el propionato, siendo este último estimulador de apoptosis de células cancerígenas, reportado en un estudio *in vitro* (Van de W, *et al.*, 2004; Pool-Zobel y Sael, 2007); por lo tanto, esta actividad puede potenciar los efectos de ciertos medicamentos que se utilizan para tratar enfermedades como el cáncer de colon. (Van de W, *et al.*, 2004 y Hartzell, *et al.*, 2013).

1.3.2 Hidroxipropilmetilcelulosa

La HPMC (Figura 3) es un éter de celulosa unidos a grupos metilo e hidroxipropilo obtenido de manera semisintética, se presenta como polvo o gránulos. Existen diferentes tipos, esto depende de los grupos funcionales que la constituyen tanto en su distribución y relación en la molécula, proporcionándole distintas propiedades y comportamiento. Es ampliamente utilizada en el área farmacéutica ya sea para formar matrices gelificadas que logran prolongar la liberación de un principio activo; como aglutinante de gránulos; agente de recubrimiento y como viscosante de suspensiones y emulsiones (Handbook, 2006; Siepmann y Peppas, 2012).

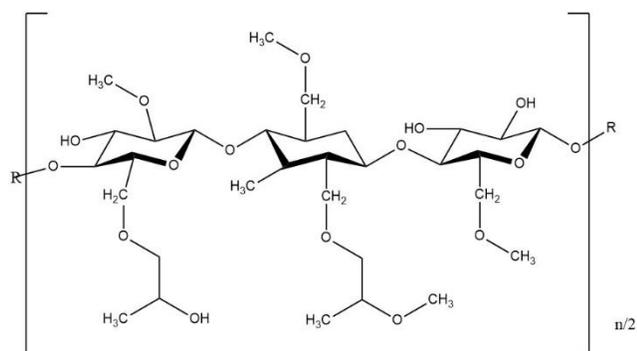


Figura 3. Estructura del HPMC

1.3.3 Goma guar

La goma guar (Figura 4) es un polímero constituido aproximadamente de 80% de galactomanano, 15% de proteína y 12% de agua. Es de origen natural, presenta una característica no iónica y se obtiene de las semillas de *Cyamopsis tetragonoloba*. En su estructura lineal se encuentran cadenas de manosa unidas por enlaces β -D-(1-4) y existen ramificaciones de α -D-galactopiranosas (Kumar y Tiwari, 2012). En los últimos años, se considera como material potencial para aplicaciones biofarmacéuticas debido a su biocompatibilidad, biodegradabilidad y su naturaleza no tóxica. Tiene la propiedad de ser hidrofílica y presenta estabilidad a diferentes rangos de pH, además, puede formar una barrera de gel que permite prolongar la liberación de fármacos, su característica de resistir el medio ácido del estómago y su capacidad de ser degradada por las enzimas bacterianas presentes en el colon lo convierte en un polímero candidato para sistemas de liberación colon dirigido (Sathya y Prabakaran, 2017).

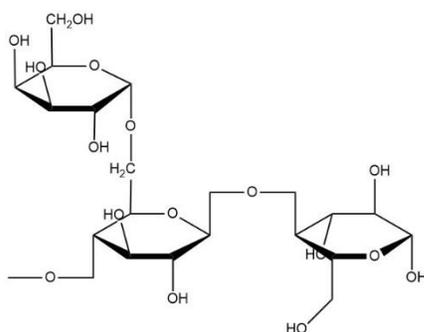


Figura 4. Estructura de la goma guar

1.3.4 Eudragit® S100

El Eudragit® es un polímero comúnmente utilizado en la industria farmacéutica, su obtención es a partir de la polimerización de ésteres de ácidos metacrílicos o acrílicos, los grupos funcionales individuales que presenta en su estructura le proporcionan las propiedades fisicoquímicas que determinan su naturaleza aniónica, como el tipo E que se disuelve en medios ácidos, o catiónica, como los tipos S y L que se disuelven en medios alcalinos (Skalsky y Petereit, 2008).

El Eudragit®S100 (Tabla 3) está constituido por una combinación de metilmetacrilatos con ácido metacrílico en una proporción 70:30, esto le da la característica de ser utilizado en formulaciones pH dependientes, como recubrimiento entérico para sistemas de liberación retardada, específicamente permite liberar fármacos en condiciones donde el pH del medio es superior a 7.0 provocando su solubilidad por formación de sales de sus grupos carboxilos que forman interacciones ión-dipolo con el agua en medios alcalinos. (Skalsky y Petereit, 2008).

Tabla 3

Estructura del Eudragit®S100

Monómeros	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}=\text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{O}-\text{CH}_3 \end{array}$ *MMA	$\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \\ \text{C}=\text{CH}_2 \\ \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{OH} \end{array}$ *MAA		
Nombre científico (IUPAC)	Estructura	Solubilidad	Tipo de Eudragit®	Forma comercial
Poli(ácido metacrílico-co-metil metacrilato) 1:2, 135,000	MMA-MAA (70:30)	>pH 7.0	S 100	Polvo
* (MMA): Metilmetacrilato, (MAA): Ácido metacrílico				

1.4 Fármacos para sistemas colon dirigido

El tracto gastrointestinal permite administrar diferentes tipos de fármacos, los cuales son absorbidos en diferentes regiones; en la zona en particular del colon el medio presenta ciertas características como: pH, bacterias, cantidad de líquido, etc. Por lo que para elegir los fármacos para sistemas colon dirigidos se deben de tomar en cuenta ciertas características, como: que sean estables a pH del colon, evitar la degradación por las enzimas bacterianas, que presenten un efecto terapéutico local o que se requiera un efecto sistémico de manera retardada. (Tabla 4) (Qureshi, *et al.*, 2013).

Tabla 4

Características de fármacos sugeridos para el desarrollo de SLCD

Tipo de efecto	Características
Sistémico	Pobre absorción en la parte superior del TGI Susceptibles a la degradación por las condiciones del estómago y/o el intestino delgado Tratamiento de enfermedades sujetas al ritmo circadiano Que provoquen irritación en el estómago
A nivel del colon para enfermedades locales	Enfermedades a nivel del colon: <ul style="list-style-type: none"> • Cáncer de colon • Síndrome de Crohn • Colitis ulcerativa • Síndrome de intestino irritable • Diverticulitis • Enfermedad de Hirschsprung

1.4.1 Indometacina

La indometacina (Figura 5) es un AINE (antiinflamatorio no esteroideo) que se utiliza para el tratamiento de inflamaciones como la osteoartritis reumatoide entre otras acciones farmacológicas. Su biodisponibilidad por la vía oral es del 98% (Tabla 5), su mecanismo de acción inicia con la inhibición de la enzima ciclooxigenasa, esto provoca la disminución de la producción de prostaglandinas y tromboxanos, estas moléculas participan en la regulación de la fiebre, el dolor, la coagulación, entre otros efectos.

Se ha reportado que la indometacina presenta ciertas propiedades anticancerígenas, inhibiendo el crecimiento de la línea celular de cáncer de colon HT-29 en modelos *in vitro* e *in vivo* por medio de la inducción de apoptosis (Laila, et al., 2009). Por otro lado, se tiene conocimiento de los distintos efectos adversos que presenta tanto a nivel sistémico como local, específicamente en el estómago, donde provoca irritación y sangrado, son dependientes de la dosis y se presentan en un 35 % a 50 % de los pacientes.

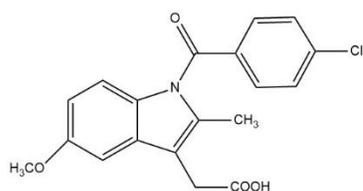


Figura 5. Estructura de la indometacina

Tabla 5

Parámetros farmacocinéticos de la indometacina

Parámetro	Valores
Biodisponibilidad vía oral (%)	98
Unión a proteínas plasmática (%)	90
Volumen de distribución (L)	18
Semivida (h)	4.5
Concentración terapéutica (mg/L)	1
Concentración tóxica (mg/L)	>5
Excreción urinaria (%)	60
Eliminación (L/h)	8.4

Por lo tanto, realizar una formulación de indometacina que no se libere en el estómago, lograría una disminución de los efectos adversos que provoca en esa zona, por otro lado, un sistema de liberación biodirigida al colon permitiría programar un efecto retardado para tratar la artritis reumatoide en ciertas horas del día, donde se incrementen sus efectos patológicos, ya que es una enfermedad sujeta al ciclo circadiano (Nicholas, *et al.*, 2012; Badri, *et al.*, 2016)

1.4.1.1 Mecanismo de acción de la indometacina

El ácido araquidónico es un componente de los fosfolípidos de las membranas celulares, a partir de él se sintetizan diversos compuestos, un ejemplo son las prostaglandinas. Estas son moléculas mediadoras de la inflamación y tienen efecto sobre la protección gastrointestinal, homeostasis vascular, hemodinamia renal, función plaquetaria, entre otros (Smith, *et al.*, 2000; Fitzpatrick, 2004; Limongelli, *et al.*, 2010).

El proceso de síntesis de las prostaglandinas ocurre en tres etapas: a) la obtención del ácido araquidónico (AA) desde los fosfolípidos de membrana a través de la acción de la fosfolipasa A2; b) la biotransformación del AA por la COX (ciclooxigenasa) en una acción que lleva a la generación de una prostaglandina G2 (PGG2) inestable por la reacción de la COX y que es inmediatamente transformada en prostaglandina H2 (PGH2) por algunas enzimas peroxidadas c) la conversión de PGH2 a un prostanoides específico a través de la acción de sintasas e isomerasas específicas. Se conocen tres formas de ciclooxigenasa: COX-1, 2 y 3.

La isoforma COX-1 aparece en casi todas las células y tejidos normales de manera constitutiva, participa en las células del epitelio gástrico para la formación de prostaglandinas citoprotectoras y además controla la agregación plaquetaria. La isoforma COX-2 necesita de las citocinas y mediadores de la inflamación para ser inducida y activarse, presenta un papel importante en la síntesis de prostaglandinas que participan en la regulación del dolor. A partir de la COX-1 se deriva la isoforma COX-3, dentro de sus funciones está la producción de prostaglandinas en el cerebro que participan en la regulación de la fiebre y el dolor central (Burke, *et al.*, 2007; Smyth y FitzGerald, 2009).

Las isoenzimas COX se encuentran unidas a la membrana en el retículo endoplásmico, presentan una estructura similar en un 60%, cuentan con tres dominios estructurales, un dominio similar al factor de crecimiento epidérmico N-terminal (EGF), un dominio de unión a la membrana (MBD) de aproximadamente 48 aminoácidos de longitud que ancla la proteína a una bicapa lipídica y un dominio catalítico C-terminal donde se aloja el sustrato o los inhibidores, estos sitios son distintos pero están interconectados funcional y estructuralmente. El sitio activo de la ciclooxigenasa es creado por un canal hidrofóbico que se extiende desde el dominio de unión a membrana hasta el núcleo del dominio catalítico, el sitio de unión del araquidonato se ubica en la mitad superior del canal desde los aminoácidos Arg-120 hasta cerca de Tyr-385. Las modificaciones de tres aminoácidos (valina-523 por isoleucina, isoleucina-434 por valina, histidina-513 por arginina) permiten incrementar el tamaño de canal y cambiar el entorno químico, siendo esta característica lo que permite diferenciar a las COX 1 y 2, situación que se aprovecha para crear fármacos selectivos para COX 2 (AINEs) que se unen al canal impidiendo el paso del sustrato al sitio catalítico. El mecanismo de acción de la indometacina consiste en la inhibición de manera reversible de las enzimas COX, esta inhibición la efectúa mediante la unión al sitio catalítico de la COX que se encuentra en el canal hidrofóbico de la enzima, específicamente se une a su grupo carboxilo, provocando un efecto antagónico. Sus efectos farmacológicos son, precisamente, debidos a la inhibición de COX-2 y COX-3, lo que causa una disminución de la síntesis de prostaglandinas que participan en la regulación de la inflamación y el dolor. Por otro lado, la inhibición de la COX-1 disminuye la síntesis de prostaglandinas que participan en la protección gastrointestinal, esto provoca efectos secundarios como las gastropatías, razón que complica la administración (Smith, *et al.*, 2000; Fitzpatrick, 2004; Limongelli, *et al.*, 2010; Zarghi and Arfaei, 2011).

1.4.1.2 Efectos adversos de los AINEs

Los AINEs producen diversos efectos adversos, los más comunes son los efectos del tracto gastrointestinal, con síntomas como: ardor en el estómago, dolor abdominal, vómitos, náuseas, dispepsia, entre otros. En ocasiones se pueden presentar lesiones del TGI como hemorragias subepiteliales, erosiones y ulceraciones. Esto puede ocurrir en un 40% de los pacientes, y alrededor de un 10% deciden suspender su tratamiento. (Sostres, *et al.*, 2010). En algunos casos estas lesiones pueden ser asintomáticas e insignificantes, y llegar a desaparecer con el tiempo debido a la adaptación de la mucosa por el uso continuo del medicamento. (Sostres, *et al.*, 2010).

La parte superior del tracto gastrointestinal es la más afectada frecuentemente, esto es debido a la inhibición de la cicloxigenasa 1 causada por los AINEs, siendo esta enzima responsable de la producción de la prostaglandina E2, la cual se encarga de la estimulación de los receptores de prostaglandinas (EP) localizados en las células epiteliales entéricas que ocasionan un aumento del flujo sanguíneo en la mucosa gástrica, disminución de la motilidad, aumento en la secreción de bicarbonato (EP1), disminución de AMPc y por tanto una inhibición de la secreción de ácido gástrico (EP3) y aumentando la secreción de moco (EP4) (Sostres, *et al.*, 2010), lo que se traduce en la protección de la mucosa gástrica; al verse disminuida la producción de prostaglandinas, se rompe el equilibrio entre factores protectores y agresivos en la mucosa gástrica y se precipitan las molestias gastrointestinales.

Durante el tratamiento con AINEs se ha reportado el riesgo relativo de presentar complicaciones gastrointestinales en un 4.5 % de las veces, esto puede suceder en los primeros dos meses de su consumo, por lo que el riesgo relativo promedio de padecer

estas complicaciones es de tres a cinco veces mayor por el consumo de AINEs en comparación con otros medicamentos. Además, el paciente puede presentar otras complicaciones como la hepatotoxicidad, nefrotoxicidad y toxicidad cardiovascular (hipertensión, insuficiencia cardíaca) (Nakajima, *et al.*, 2010; Sostres, *et al.*, 2010; Curtis, *et al.*, 2011).

1.5 Estudio del perfil de disolución *in vitro*

La prueba de disolución es un método para medir la liberación de un principio activo a partir de su forma de dosificación y la disolución de este en el medio de prueba. Para lograrlo se debe tomar en cuenta diversos factores, como las características del fármaco y del medio, ya que esto puede afectar el flujo dinámico en la interfaz sólido-líquido y determinar la velocidad de liberación y disolución del PA para la obtención de resultados reproducibles (FEUM, 2018).

Esta metodología es ideal para la evaluación de formas farmacéuticas orales, en especial las de liberación modificada, debido a que se ajustan las condiciones del medio simulando el TGI, el cual debe permitir evaluar la cinética de liberación del PA y debe ser capaz de detectar los cambios en los fenómenos de liberación acorde a los ajustes en la formulación del medicamento o el medio de prueba. Comúnmente se utiliza para el control de calidad de los medicamentos y nos ayuda a predecir el comportamiento *in vivo* de la formulación evaluada. Para su desarrollo es necesario que sea simple, confiable, reproducible y capaz de simular las condiciones fisiológicas relevantes. (Yang, *et al.*, 2002 y Kotla, *et al.*, 2014).

En muchas ocasiones para medicamentos de liberación modificada, en especial los que son de liberación prolongada o retardada, las condiciones del medio de estudio convencionales no son suficiente y en estos casos es indispensable ajustarlas de acuerdo con las condiciones del TGI por donde el medicamento transitará, como por ejemplo, ajustar el pH, contemplar los movimientos peristálticos, la viscosidad, las enzimas y las bacterias que pudieran estar presente en las diferentes zonas del TGI y con ello simular el estudio *in vitro* para obtener resultados acorde a una situación *in vivo*. (Yang, *et al.*, 2002 y Kotla, *et al.*, 2014).

1.6 Justificación

El desarrollo de microesferas como sistemas de liberación colon específico es de gran interés, debido a que ofrece una alternativa para las formulaciones de diversos fármacos.

El colon presenta diversas ventajas que lo convierten en un sitio ideal para dirigir fármacos, de preferencia para el tratamiento directo de enfermedades locales o para aquellas que requieren tratamientos sistémicos con efecto retardado. La implementación de este sistema tiene como objetivo ayudar en el tratamiento de la artritis reumatoide con menor riesgo de efectos adversos causados por la indometacina.

1.7 Antecedentes

Chandran y cols., en el año 2009, desarrollaron microesferas de indometacina utilizando etil celulosa y Eudragit® (L100 y S100) en diferentes proporciones, por el método emulsión y evaporación de solvente. Presentaron forma esférica discreta con un rendimiento del 82-97 %, una eficiencia de encapsulación del 70-85 % y un porcentaje de liberación del 10 % en las primeras cuatro horas (2 horas en medio 0.1 N HCl, 2 horas en

medio pH 4.5 y el resto del tiempo hasta las 16 horas en medio pH 7.4) y logró alcanzar la liberación del 100 % a las 14 horas *in vitro* (Chandran, *et al.*,2009).

Keshavarao y cols., en el año 2011, prepararon microesferas de indometacina por el método emulsión-evaporación del solvente, utilizando Eudragit® L-100 y S-100 en diferentes proporciones. La formulación F1 con relación Eudragit® L-100/S-100 (1:2) presentó un tamaño de partícula entre 164-249 μm , un rendimiento del 90 %, una eficiencia de encapsulación del 96 % y un porcentaje de liberación de 96 % *in vitro* por un periodo de 12 horas en un medio buffer de fosfatos pH 6.8 (Keshavarao, *et al.*, 2011).

Deore y cols., en el 2013, prepararon microesferas de tinidazol utilizando Eudragit L100 y S100 en una proporción 1:2, por el método emulsión y evaporación de solvente, obteniendo microesferas de un tamaño aproximado de 731.3 μm , un rendimiento del 78 % y una eficiencia de encapsulación del 59 %. En el perfil de disolución a las dos horas, en un pH de 1.2, no presentaron liberación y en medio con un pH de 7.4, se liberó el 93 % hasta las ocho horas. (Deore, *et al.* 2013)

Jain y cols., en el año 2014, prepararon microesferas de indometacina utilizando inulina modificada (acetato de inulina) por el método electrospray y obtuvieron microesferas con un rendimiento del 100 %, una eficiencia de encapsulación del 35.39 %, y una liberación del 0 % en las primeras dos horas (medio pH 1.2 y pepsina 0.32 % p/v), alcanzando una liberación del 60 % a las 18 horas (4 horas en medio pH 6.8 y pancreatina 1 % p/v y el resto del tiempo en medio pH 7.4 e inulinasas) (Jain, *et al.*, 2014).

López y cols., en el año 2015, desarrollaron microesferas de cinamato de inulina (CNIN) por el método precipitación con solvente, utilizando metotrexato; la liberación del

fármaco fue evaluada en un medio con pH de 7 y que contenía células cancerígenas de colon humano (Caco-2), realizaron el estudio con presencia y ausencia de enzimas (inulinasas). La liberación del PA fue nula en el medio sin enzimas obteniendo una viabilidad de las células del 100 %; por otro lado, en el medio con enzimas la viabilidad celular disminuyó hasta el 50 % debido al efecto del fármaco que fue liberado debido a las enzimas que degradaron al polímero de las microesferas (López, *et al.*, 2015).

Vaidya y cols., en el 2015, prepararon microesferas de metronidazol utilizando pectina (metronidazol: pectina en una relación 15:85) por la técnica emulsión-deshidratación. Se obtuvieron microesferas con un tamaño de 14.02 μm , una eficiencia de encapsulación del 70 %, y el perfil de disolución alcanzó en las primeras dos horas una liberación de aproximadamente 39 % (medio pH 1.2), a las cinco horas de 58 % (una hora en medio pH 4.5 y dos horas en medio pH 6.8) y a las ocho horas del 93 % (una hora en medio con pH 7.5 y el resto del tiempo en medio pH 7.0) (Vaidya, *et al.* 2015).

Kaur y cols., en el 2017, realizaron microesferas de mesalamina utilizando goma guar y goma xantana (1:0.5), por la técnica emulsión - polimerización obteniendo microesferas con un tamaño promedio de 291.02 μm , un rendimiento del 84.60 % y una eficiencia de encapsulación del 69.25 %; en la prueba de disolución en las primeras dos horas se liberó el 5 % (medio con pH 1.2 por dos horas), en la hora cinco se liberó el 11 % (medio con pH 6.8 por tres horas) y a las 24 horas, el 92.56 % (medio con pH 6.8 y contenido cecal de ratas al 4 % p/v el resto del tiempo) (Kaur, *et al.* 2017).

1.8 Aportación científica

Desarrollar microesferas por la técnica secado por aspersión con diferentes polímeros, demostrar el impacto de los parámetros del proceso y aportar información con respecto a los diferentes polímeros usados para elaboración de un sistema de liberación de fármacos sitio dirigido a colon que contenga indometacina como fármaco modelo.

1.9 Hipótesis

Las microesferas poliméricas de indometacina presentarán una liberación de más del 80% dentro de la tercera etapa de prueba en un perfil de liberación *in vitro*, lo que corresponde a la simulación de la región del colon a partir de la quinta hora de prueba.

1.10 Objetivos

1.10.1 Objetivo general

Formular y evaluar *in vitro* un sistema de liberación colon específico de indometacina en microesferas gastrorresistentes y biodegradables.

1.10.2 Objetivos específicos

- I. Desarrollar formulaciones teóricas de microesferas de indometacina para seleccionar los polímeros adecuados.
- II. Estudiar la compatibilidad de los polímeros seleccionados con el principio activo utilizado.
- III. Preparar las microesferas poliméricas de indometacina a partir de las formulaciones propuestas en un diseño experimental.
- IV. Evaluar los resultados del diseño experimental y optimizar el proceso.
- V. Preparar las microesferas poliméricas de indometacina a partir de las

formulaciones optimizadas.

- VI. Evaluar las propiedades farmacotécnicas de los lotes obtenidos.
- VII. Validar el método analítico para la cuantificación de indometacina en los perfiles de disolución.
- VIII. Realizar estudios de liberación *in vitro* para la(s) formulación(es) seleccionada(s).
- IX. Realizar una comparación de los resultados de las microesferas de los distintos polímeros utilizados y seleccionar los polímeros que presentaron mejores resultados.
- X. Realizar una nueva formulación con la combinación de los polímeros con mejores resultados y recubrirlas.
- XI. Evaluar las propiedades farmacotécnicas y realizar un perfil de disolución de la formulación obtenida a partir de las combinaciones de polímeros.

CAPÍTULO 2

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Instrumentos y equipos

En este apartado se detallan los instrumentos y equipos que se utilizaron durante el trabajo de investigación (Tabla 6).

Tabla 6

Instrumentos y equipos

Equipos	Ubicación
Balanza analítica (Modelo: AND HT 200)	Facultad de Ciencias Químicas, UANL
Disolutor (Modelo: Vankel VK 7000)	
Espectrofotómetro UV-Vis (Varian Inc. Carry 50)	
Potenciómetro (Modelo: Corning 340)	
Micrómetro digital	
Equipo para espectrometría infrarroja (FTIR)	
Equipo para calorimetría diferencial de barrido (Shimadzu, DSC50)	
Microscopio electrónico de barrido (Hitachi 3700N a 15 Kv)	
Equipo spray dryer (Modelo: Mini Spray Dryer B-290)	Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica
Equipo de recubrimiento (Modelo: Huttlin Solidlab-1)	

2.2 Materias primas

Material utilizado para la elaboración de las microesferas de indometacina (Tabla 7).

Tabla 7

Materia prima para la elaboración de las microesferas

Nombre	Descripción general	Aplicación farmacéutica
Indometacina (IND)	Polvo cristalino blanco	Principio activo
Inulina de agave (INU) Alit powder	Polvo fino color blanco	Polímero
Hidroxipropilmetilcelulosa K15 (HPMC)	Polvo granuloso sólido blanco	Polímero
Goma guar (GG)	Polvo fino de color beige	Polímero
Eudragit® S100, grado USP (EU)	Polvo blanco	Cubierta entérica
Trietil Citrato (CT)	Líquido oleoso	Plastificante
Hidróxido de amonio (HA)	Líquido incoloro acuoso	Neutralizante
Monoestearato de glicerol (MG)	Lentejas cerosas blancas o ligeramente amarillentas. Prácticamente insolubles en agua y solubles en etanol caliente y en éter. Punto de fusión: 54-64 °C.	Deslizante de la cubierta entérica
Polisorbato 80 (P80)	Líquido oleoso, amarillo, límpido. Soluble en agua, etanol anhidro, metanol y acetato de etilo.	Tensoactivo
Material de vidrio de laboratorio		Material para experimentación

(Las materias primas cumplen con la calidad requerida para su empleo según FEUM 12^a edición, 2018).

2.3 Reactivos

Reactivos utilizados en el proceso de las evaluaciones farmacotécnicas de las microesferas (Tabla 8).

Tabla 8

Reactivos

Reactivo	Datos generales	Descripción	Aplicación farmacéutica
Fosfato monobásico de potasio	Fórmula molecular: KH_2PO_4 99.8% ACS Número de registro (CAS): 7778-77-0 Proveedor: Desarrollo de especialidades químicas (DEQ)	Sólido blanco inodoro	Buffer de fosfatos pH 7.0
Hidróxido de sodio	Fórmula molecular: NaOH Número CAS: 1310-73-2 99% ACS Proveedor: DEQ	Sólido blanco	Buffer de fosfatos pH 6.8, 7.0 y 7.4,
Ácido clorhídrico	Fórmula molecular: HCl 37.4% ACS Número CAS: 7647-01-0 Proveedor: DEQ	Líquido incoloro	Medio ácido pH 1.2
Fosfato tribásico de sodio	Fórmula: Na_3PO_4 100.9% ACS Número CAS: 10101-83-0 Proveedor: DEQ	Sólido blanco	Buffer de fosfato pH 6.8
Indometacina	Fórmula molecular: $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{NClO}_4$ 98-101% Número CAS: I8280 Proveedor: SIGMA	Sólido blanco	Curva de calibración
Cloruro de metileno	Fórmula molecular: CH_2Cl_2 99.8% Número CAS: 15-00-1 Proveedor: DEQ	Líquido incoloro	Método de cuantificación de indometacina
Metanol	Fórmula molecular: CH_3OH 99.9% Número CAS: 57-86-1 Proveedor: DEQ	Líquido incoloro	

2.4 Metodología

2.4.1 Preparación de soluciones (FEUM 2018).

- HCl (ácido clorhídrico) 2 N

Se agregó ácido clorhídrico (82.8 mL) en suficiente agua en un matraz de 500 mL y se aforó utilizando agua.

- NaOH (hidróxido de sodio) 2 N

Se pesó hidróxido de sodio (40 g), se disolvieron en suficiente agua en un matraz volumétrico de 500 mL y se aforó utilizando agua.

- NaOH (hidróxido de sodio) 0.2 M.

Se pesó hidróxido de sodio (4 g), se disolvieron en suficiente agua en un matraz volumétrico de 500 mL y se aforó utilizando agua.

- K_2HPO_4 (fosfato monobásico de potasio) 0.2 M

Se pesó fosfato monobásico de potasio (13.6 g), se disolvieron en suficiente agua en un matraz de 500 mL y se aforó utilizando agua.

- Na_3PO_4 (fosfato tribásico de sodio) 0.2 M

Se pesó fosfato tribásico de sodio (38 g), se disolvieron en suficiente agua en un matraz volumétrico de 500 mL y se aforó utilizando agua.

- Solución amortiguadora (SA) de fosfatos (pH 7.4)

Se mezclaron 250 mL de fosfato monobásico de potasio 0.2 M con hidróxido de sodio 0.2 M (197.5 mL) en un matraz volumétrico de 1 L, y se aforó con suficiente agua.

- SA de fosfato (pH 7.0)

Se mezclaron 29.5 mL de hidróxido de sodio 0.2 M y 50 ml de SA de fosfato en un matraz volumétrico de 200 mL y se aforó con suficiente agua.

- SA de fosfato (pH 7.2)

Se mezclaron 175 mL de hidróxido de sodio 0.2 M con 250 mL de fosfato monobásico de potasio 0.2 M en un matraz de 1 L y se aforó con suficiente agua.

- HCl 0.1 N.

Se tomó una alícuota de 16.4 mL de HCl (37.4%), se adicionó en un matraz de 2 L y se aforó con agua.

- Preparación de MGS (monoestearato de glicerol) al 5%.

En un vaso de precipitado se adicionaron 279 g de agua, se agregaron 15 g de MGS y se mantuvo en agitación constante a 70 °C, posteriormente se añadieron 6 g de polisorbato 80 hasta disolver completamente y se dejó enfriar.

- Preparación de NH₄OH (hidróxido de amonio) 1N.

En un matraz volumétrico de 500 mL con suficiente agua se agregaron 60.83 mL de NH₄OH se mantuvo en agitación constante y posteriormente se aforó con agua.

2.4.2 Metodología experimental

La metodología experimental se divide en dos etapas: desarrollo galénico y evaluación.

2.4.2.1 Desarrollo galénico

La metodología empleada para el desarrollo galénico se realizó en dos etapas: a) desarrollo de las microesferas y b) análisis farmacotécnico de las microesferas.

2.4.2.1.1 Desarrollo de las microesferas

El método utilizado para la obtención de las microesferas fue secado por atomización, el cual se realizó en un equipo Mini Spray Dryer B-290.

Se realizó un diseño de experimentos que contempló variables del equipo y los polímeros. Por lo que se propuso un diseño factorial 2³; se utilizaron dos niveles por cada factor, alto y bajo, de un total de tres factores (tabla 9), obteniéndose ocho corridas en total (tabla 10). Este diseño se realizó para cada polímero de forma individual utilizando indometacina como fármaco modelo e inulina, goma guar (GG), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) y Eudragit®S100 como polímeros seleccionados formadores de microesferas.

Tabla 9

Factores y niveles del diseño experimental

Polímero		
Factores	Dominio Experimental	
	Niveles	
Caudal de alimentación (X1)	-1	+1
Temperatura de entrada (X2)	-1	+1
% polímero (X3)	-1	+1
+: valor alto y -: valor bajo		

Tabla 10

Corridas totales de la combinación de los tres factores del diseño factorial 2³

Número	X1	X2	X3
1	-	-	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	-
5	-	-	+
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	+	+
+: valor alto y -: valor bajo			

Inulina

Se pesaron los excipientes y PA (Tabla 11) en un vaso de precipitado, se adicionó la inulina al agua y se llevó a agitación constante hasta disolver, posteriormente se adicionó dióxido de silicio coloidal y se agitó por 10 minutos, inmediatamente se incorporó la indometacina, lentamente, hasta obtener una suspensión y se agitó a 1000 rpm por un minuto para lograr su homogenización. La suspensión obtenida se introdujo en el equipo de spray dryer Buchi B290.

Tabla 11

Componentes de las formulaciones de inulina

Componente	Cantidad (g)	%
Inulina	10/20	10/20
Indometacina	5	5
Agua	84.8/74.8	84.8/74.8
Dióxido de silicio coloidal	0.2	0.2
Total	100	100

Hidroxipropilmetilcelulosa

Se pesaron los componentes (Tabla 12), se adicionó el HPMC al agua en un vaso de precipitado y se llevó a agitación constante hasta disolver, inmediatamente se agregó la indometacina lentamente hasta obtener una suspensión y se homogenizó a 1500 rpm por un minuto. La suspensión obtenida se introdujo en el equipo de spray dryer Buchi B290.

Tabla 12

Contenido de las formulaciones de HPMC

Componente	Cantidad (g)	%
HPMC	1.25/2.5	0.31/0.63
Indometacina	1.25	0.31
Agua	397.5/396.25	99.38/99.06
Total	400	100

Goma guar

Se pesaron los excipientes y PA (Tabla 13), se adicionó la goma guar al agua en un vaso de precipitado y se llevó a agitación constante hasta disolver, inmediatamente se incorporó la indometacina lentamente en agitación constante hasta obtener una suspensión y se homogenizó a 1500 rpm por un minuto. La suspensión obtenida se introdujo en el equipo de spray dryer Buchi B290.

Tabla 13

Contenido de las formulaciones de goma guar

Componente	Cantidad (g)	%
Goma guar	1.25/2.5	0.21/0.42
Indometacina	1.25	0.21
Agua	597.5/596.25	99.58/99.37
Total	600	100

Eudragit® S100

Se pesaron cuidadosamente y lo más exacto posible los componentes (Tabla 14), se adicionó el Eudragit® S100 al agua en un vaso de precipitado y se llevó a agitación constante hasta disolver, posteriormente se adicionó el hidróxido de amonio 1N gota a gota y se agitó por una hora, inmediatamente se adicionó la indometacina lentamente en agitación constante hasta obtener una suspensión y se homogenizó a 1000 rpm por un minuto. La suspensión obtenida se introdujo en el equipo de spray dryer Buchi B290.

Tabla 14

Contenido de las formulaciones de Eudragit® S100

Componente	Cantidad (g)	%
Eudragit® S100	2.5/5	2.5/5
Indometacina	2.5	2.5
Hidróxido de amonio 1N	1.25/2.5	1.25/2.5
Agua	93.75/90	93.75/90
Total	100	100

Las variables respuestas que se evaluaron en el diseño de experimentos fueron:

- Porcentaje de rendimiento
- Eficiencia de encapsulación

2.4.2.2 Análisis y optimización de datos

Se utilizó ANOVA para establecer la validación estadística de las ecuaciones polinómicas generadas por el software Desing Expert (DE) (versión 11.0.0 Stat-ease inc., Minneapolis, MN, EE. UU.). La adaptación de un modelo de regresión lineal múltiple al diseño factorial 2^3 proporcionó una ecuación de predicción que incorpora un término polinómico e interactivo para evaluar las respuestas:

- $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 + b_{12}X_1X_2 + b_{13}X_1X_3 + b_{23}X_2X_3 + b_{123}X_1X_2X_3$

Donde, Y es la respuesta asociada con la combinación de los niveles de cada factor; b_0 es una intersección que representa el promedio aritmético de todos los resultados cuantitativos de las ocho corridas; b_1 a b_{123} son coeficientes de regresión calculados a partir de los valores experimentales observados de Y y X_1 , X_2 y X_3 son los niveles

codificados de las variables independientes. Los términos X_1X_2 , X_2X_3 y X_1X_3 representan los términos de interacción. Los efectos principales (X_1 , X_2 y X_3) representan el resultado promedio de cambiar un factor a la vez de su valor bajo a alto. Los términos de interacción muestran cómo cambia la respuesta cuando se cambian dos factores simultáneamente. La ecuación polinomial se utilizó para sacar conclusiones después de considerar la magnitud de los coeficientes y el signo matemático que lleva, positivo o negativo. Un signo positivo significa un efecto sinérgico, mientras que un signo negativo representa un efecto antagónico.

En el análisis del modelo, las respuestas (porcentaje de rendimiento y eficiencia de encapsulación) de todas las formulaciones fueron tratadas por el software DE. El mejor modelo matemático de ajuste fue seleccionado con base en las comparaciones de varios parámetros estadísticos. El nivel de confianza se consideró en $p < 0.05$, se obtuvieron gráficos de efectos de cada factor de las ecuaciones, posteriormente se utilizó el enfoque de deseabilidad para generar los ajustes óptimos para las formulaciones. Una vez obtenidos los parámetros óptimos se realizaron las microesferas finales para cada polímero y se analizaron los resultados para posibles combinaciones y mejorar los resultados del perfil de liberación.

2.4.2.3 Desarrollo de microesferas con los datos optimizados

Con los resultados del análisis del diseño experimental se procedió a realizar las microesferas con cada polímero, utilizando los valores recomendados por el software para cada parámetro evaluado en el diseño experimental y se compararon los resultados obtenidos con los resultados predictivos del software para validar el diseño, solamente en las variables respuesta que presentaron diferencias significativas en sus resultados.

Posteriormente se realizó una comparación entre los resultados obtenidos de las microesferas desarrolladas con los parámetros optimizados de los cuatro polímeros utilizados.

2.4.2.4 Recubrimiento entérico de las microesferas

Las microesferas obtenidas previamente y que presentaron los mejores resultados de rendimiento, eficiencia de encapsulación y en el perfil de liberación, se seleccionaron para llevar a cabo una nueva formulación con la combinación de los dos polímeros que presentaron los mejores resultados, posteriormente se llevó a cabo el recubrimiento entérico de las mismas, el cual consistió en la utilización de microesferas con un tamaño aproximadamente mayor a 250 micrómetros, para ello fue necesario realizar un proceso de granulación por lecho fluido para el incremento de tamaño por aglomeración. Una vez obtenidas las microesferas con el tamaño deseado se procedió a llevar a cabo el recubrimiento con las siguientes condiciones:

- a) Preparación del medio de dispersión acuoso de Eudragit® S100.

Se preparó la dispersión acuosa de Eudragit® S100 al 13 % con base en la Tabla 15.

Tabla 15

Contenido del recubrimiento entérico

Componentes	Proporción (%)
Eudragit® S100	13.00
Trietil citrato	6.50
NH ₄ OH	6.50
Monoestearato de glicerol	0.65
Agua	73.35
Total:	100

b) Condiciones del equipo de recubrimiento.

Se utilizó un equipo marca Bosch, modelo Hüttlin solidlab-1, con el equipamiento de lecho fluido con los parámetros de la Tabla 16.

Tabla 16

Condiciones del equipo de recubrimiento

Parámetro	Condiciones
Tamaño del lote	100 gramos
Velocidad de rociado	2 g/min
Diámetro de la tobera	1.99 mm
Presión de atomización	1.01 Bar
Temperatura de entrada de aire	64.5 °C

2.4.2.5 Evaluación de las microesferas

2.4.2.5.1 Análisis farmacotécnico de las microesferas.

Se analizó el rendimiento, eficiencia de encapsulación, morfología, análisis de compatibilidad. Se seleccionaron las formulaciones cuyas microesferas presentaron las mejores propiedades farmacotécnicas y se realizó un perfil de disolución *in vitro*.

a) Rendimiento

Se pesaron los polímeros y PA antes de obtener la microesfera y posteriormente se pesaron las microesferas obtenidas y se calculó el rendimiento porcentual mediante la siguiente fórmula:

$$P_c = \frac{P_m}{(P_t \times 100)}$$

Donde, P_c es el rendimiento, P_m es el peso de las microesferas cargadas y P_t es el peso total del polímero y el fármaco.

b) Eficiencia de encapsulación

Se disolvió una muestra de microesferas equivalente a 10 mg de fármaco en 10 mL de metanol en un matraz volumétrico de 100 mL y se ajustó a volumen con buffer de fosfatos de pH 7.4, la solución se filtró y, en caso necesario, se realizaron diluciones y se cuantificó la indometacina espectrofotométricamente a 320 nm. La eficiencia de encapsulación se calculó por la siguiente fórmula:

$$EE = \frac{P_c}{T_c}$$

Donde, EE es la eficiencia de encapsulación, P_c es el fármaco contenido en la prueba, T_c es el fármaco contenido en teoría.

2.4.2.5.2 Morfología

Se realizó un análisis por microscopía electrónica de barrido para observar la morfología superficial de las microesferas, cada una de las muestras fueron tamizadas haciendo pasar el material por rejillas de número 200 mesh para microscopía electrónica de transmisión y se adhirieron a cinta de carbón sobre bases metálicas de aluminio para microscopía electrónica de barrido. Posteriormente, cada muestra fue recubierta con una capa de oro de 30 nm de grosor empleando un cobertor iónico marca Eiko IB-5. Las fotografías de microscopía electrónica de barrido fueron obtenidas empleando un microscopio electrónico marca Hitachi 3700N a 15 Kv en un sistema de alto vacío.

2.4.2.5.3 Análisis de compatibilidad

El fármaco puro, los polímeros y las microesferas finales fueron sujetos a determinación de compatibilidad por un análisis de espectroscopía infrarroja por reflexión total atenuada (Perkin Elmer Universal ATR Sample accessory Spectrum One FTIR Spectrometer). Además, de forma complementaria, se propuso realizar una calorimetría diferencial de barrido (DSC): de forma breve, dos mg de cada muestra fueron pesados, colocados en cápsulas de aluminio que fueron selladas y llevadas a un calorímetro diferencial de barrido Shimadzu, DSC50. Las condiciones de trabajo fueron: velocidad de calentamiento de 10 °C/min en un rango de temperatura de 50-300 °C con un flujo constante de nitrógeno (radio de flujo de 30 mL/min).

2.4.2.6 Perfil de disolución

Para el análisis de liberación del PA se utilizó la prueba de liberación controlada que indica la FEUM para formas farmacéuticas de liberación retardada siguiendo el procedimiento del método A con modificaciones, adaptando el proceso para un sistema de liberación colon dirigido, simulando tres zonas del TGI.

Se emplearon tres medios de disolución utilizando el aparato II.

Procedimiento:

- Primera etapa

En la primera etapa de la prueba se utilizó un medio ácido constituido por HCl 1 N, que se añadieron en 6 vasos del disolutor en una cantidad de 750 mL en cada uno a una temperatura de 37 ± 0.5 °C, posteriormente se añadieron las microesferas que contenían 150 mg del PA en cada vaso, en seguida se colocaron las tapas de los vasos y se operó el

equipo a 100 rpm durante dos horas, manteniendo constante la temperatura ajustada en un inicio.

En cada hora se tomaron alícuotas de 3 mL del medio en la zona central del vaso y se procedió a cuantificar la cantidad de PA disuelto durante dos horas.

- Segunda etapa

La segunda etapa de prueba correspondió a un medio con solución amortiguadora pH 6.8, por lo que al terminar las dos primeras horas de la primera etapa y mientras el equipo se mantenía en funcionamiento se ajustó el medio adicionando 250 mL de una solución de fosfato tribásico de sodio 0.2 M para convertirlo a una SA de fosfatos pH de 6.8, en el cual las microesferas se mantuvieron durante 3 horas más de prueba. Tomando las alícuotas correspondiente durante cada hora.

- Tercera etapa de prueba

En la tercera etapa de prueba el medio debe ser una SA pH 7.4, por lo que, al término de la segunda etapa, y con el equipo en funcionamiento se ajustó el pH con hidróxido de sodio 2 N hasta obtener un pH de 7.4, posteriormente se mantuvo en operación durante el tiempo necesario hasta alcanzar la liberación completa del PA y se tomaron alícuotas durante cada hora para la cuantificación del PA.

- Nota: se completaron las operaciones agregando solución amortiguadora y ajustando el pH, en no más de 5 min, y se mantuvieron las condiciones de operación de temperatura y velocidad configuradas desde el inicio durante toda la prueba.

Los medios utilizados se desgasificaron previamente calentando a 45 °C aproximadamente con agitación suave y posteriormente se introdujeron al equipo de ultrasonido por 15 minutos, para eliminar los gases que pudieran ocasionar interferencias durante el proceso.

Las alícuotas se recolectaron desde una zona central de los vasos para obtener una muestra homogénea, posteriormente se pasaron por un filtro Millex Durapore con un poro de 0.45 µm y se adicionó cada una en un matraz volumétrico de 10 mL, el cual se aforó con una disolución preparada con una SA de fosfato 7.2: agua (5:1) y se procedió a la obtención de su absorbancia con un espectrofotómetro UV a 318 nm para cuantificar con una curva de calibración previamente validada la cantidad de PA.

2.4.3 Validación del método UV

Se utilizó la Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013 (que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable) para la validación del método analítico de cuantificación de indometacina. Para ello se evaluaron distintos parámetros.

2.4.3.1 Validación del sistema

2.4.3.1.1 Linealidad del sistema

Se realizaron curvas de calibración por duplicado, con intervalos de concentración de 6.4 hasta 32 µg/mL de PA distribuidos en cinco niveles de concentración a partir del estándar de referencia.

Se preparo una solución con una concentración de 32 µg/mL de indometacina, para ello se pesaron 10 mg del PA de referencia (SRef-FEUM), se depositó en un matraz

volumétrico de 25 mL, se disolvió con 1.5 mL de metanol y se aforó con una solución que contenía SA de fosfatos pH 7.2: agua en una relación 1:5 y se mezcló. De esta solución se tomó una alícuota de 4 mL, se colocó en un matraz volumétrico de 50 mL y se ajustó el volumen con la solución antes mencionada.

Se preparó una solución con las microesferas a evaluar utilizando el equivalente de 10 mg de PA, siguiendo los pasos empleados para la solución de referencia.

En un matraz volumétrico de 10 mL se adicionaron 1, 2, 3, 4 y 5 mL de solución de referencia y de la muestra para sumar entre las dos alícuotas: 2, 4, 6, 8 y 10 mL en cada matraz respectivamente, posteriormente se aforó con la solución de buffer de fosfatos con pH de 7.2:agua (1:5) donde fue requerido, con esto se obtuvieron los cinco puntos que se utilizaron en la curva de calibración conteniendo una concentración del PA de 6.4, 12.8, 19.2, 24.6 y 32 $\mu\text{g/mL}$, Se obtuvieron las absorbancia de dichos puntos en un espectrofotómetro UV a una longitud de onda de 318 nm y se analizaron para verificar la linealidad del sistema.

Criterios de aceptación:

- La linealidad del sistema debe presentar al menos cinco puntos por duplicado (excepto el cero).
- Un coeficiente de regresión ≥ 0.99 .
- El error relativo debido a la regresión $< 2\%$.

2.4.3.1.2 Precisión del sistema

Se utilizaron los datos de la linealidad y se calculó el factor de respuesta en cada nivel de concentración.

Criterio de aceptación:

- El coeficiente de variación del factor de respuesta debe ser $<2\%$.

2.4.3.2 Validación del método

2.4.3.2.1 Linealidad del método

Se determinó realizando el mismo procedimiento que en la linealidad del sistema, pero preparando tres curvas de calibración. Las tres repeticiones de las absorbancias de cada punto fueron analizadas.

Criterios de aceptación:

- La linealidad del sistema debe presentar al menos cinco puntos por triplicado (excepto el cero).
- Un coeficiente de regresión ≥ 0.99 .
- El error relativo debido a la regresión $<3\%$.

2.4.3.2.2 Exactitud del método

Para la determinación de la exactitud, se utilizaron los datos obtenidos en la linealidad del método, se utilizó el promedio de los porcentajes de recuperación previamente calculada y la variación con respecto a la cantidad del PA teórico para cada nivel de concentración.

Criterio de aceptación:

- El promedio del porcentaje de recuperación no debe variar con respecto a la cantidad de PA teórico en más de 3% en cada punto de la linealidad del método.

2.4.3.2.3 Precisión del método

Para el análisis de la precisión se calcularon la repetibilidad y reproducibilidad.

La precisión de un método analítico es aquella que expresa la variación obtenida entre determinaciones independientes realizadas en el mismo laboratorio, pero en diferentes condiciones de análisis, tales como días, equipos, columnas o analistas.

- a) Repetibilidad. De los datos obtenidos en la determinación de la exactitud del método, se obtuvo el coeficiente de variación (CV) global a partir de los porcentajes de recuperación.

Criterio de aceptación:

- El CV del porcentaje de recuperación de los datos de la exactitud debe ser $<3\%$.

- b) Reproducibilidad intralaboratorio.

Para esta prueba se prepararon por triplicado una solución con una concentración de $16\ \mu\text{g/mL}$, para ello se tomó 5 mL de la solución de referencia y se colocó en un matraz volumétrico de 10 mL, posteriormente se aforó con la solución de buffer de fosfatos con pH de 7.2:agua (1:5), y se analizó espectrofotométricamente a 318 nm. El mismo procedimiento se realizó al siguiente día para comparar los resultados interdía y calcular el porcentaje de recuperación, el promedio, la desviación estándar y el CV global.

Criterio de aceptación:

- El CV global debe ser $<3\%$.

2.4.3.2.4 Estabilidad del método

Para el análisis de la estabilidad se prepararon tres soluciones con una concentración de 16 $\mu\text{g/mL}$, se obtuvieron las absorbancias con un espectrofotómetro UV a 318 nm y se determinaron las concentraciones, considerando el primer análisis como el tiempo cero, posteriormente las soluciones preparadas se almacenaron a temperatura ambiente durante 24 horas y se procedió nuevamente a realizar el análisis. Se calcularon los coeficientes de variación de los porcentajes de recuperación obtenidos en la etapa final e inicial.

Criterio de aceptación:

- El CV del porcentaje de recuperación de las muestras en el tiempo inicial y final debe ser $<3\%$.

2.4.3.2.5 Selectividad del método

Para la selectividad del método la solución de referencia y la solución problema deben presentar el mismo valor de longitud de onda de máxima absorción, para ello se prepararon las dos soluciones en una concentración de 15 $\mu\text{g/mL}$ y se procedió a realizar un barrido espectral por separado.

Criterio de aceptación:

- Las dos soluciones deben presentar una longitud de onda de máxima absorbancia en un rango de 318-320 nm.

2.4.3.2.6 Influencia del filtro

Se prepararon seis soluciones con una concentración de 9.6 $\mu\text{g/mL}$, dichas soluciones se midieron espectrofotométricamente a 318 nm, estas soluciones se filtraron y se midió

nuevamente su absorbancia con el espectrofotómetro. Se calculó su concentración. Los resultados se analizaron.

Criterio de aceptación:

- La diferencia absoluta entre el promedio de las dos mediciones de por lo menos 3 datos de cada solución debe ser ≤ 2 %.

2.5 Ubicación de los equipos

Los equipos utilizados se localizaron en el Laboratorio de Farmacia Industrial de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica y en el Laboratorio de Biofarmacia y en la Farmacia Universitaria “Emilia E. Vásquez Farías” de la Facultad de Ciencias Químicas de la UANL, ubicados en San José, Costa Rica y Ciudad Universitaria en San Nicolás de los Garza, Nuevo León, México, respectivamente.

2.6 Disposición de residuos

Los residuos generados en los laboratorios se recolectaron siguiendo los lineamientos con base en el Procedimiento General de Disposición de Residuos del Departamento de Seguridad y Medio Ambiente de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Costa Rica y la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León.

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS

3.1 Análisis de materia prima

3.1.1 Análisis por espectroscopía infrarroja (FTIR-ATR).

Con el objetivo de buscar posibles interacciones fármaco-excipientes dentro de las formulaciones, se llevó a cabo un análisis de espectroscopía infrarroja por reflexión total atenuada (FTIR-ATR) de la materia prima individual y mezclas de la formulación. Se presentaron picos característicos correspondientes a los grupos funcionales de la estructura química de cada compuesto particular.

En los resultados del análisis FTIR (Figura 6), la indometacina (IDM) presenta dos picos que corresponden al estiramiento del grupo C=O, de los cuales el pico presente a 1712.97 cm^{-1} es debido al carbonilo ácido presente en su estructura y el pico a 1690.39 cm^{-1} corresponde al carbonilo amida debido a la interacción con los pares de electrones del nitrógeno, es importante mencionar que estas señales son características principales que identifican a la indometacina, resultados similares fueron reportados por Taylor y Zografí, *et al.*, 1997, Chen, *et al.*, 2005 y Afifi, *et al.*, 2015.

Se puede observar el espectro de la inulina (INU) con bandas características a 3300 cm^{-1} correspondientes al estiramiento de los enlaces de los grupos hidroxilo y bandas características de estiramiento de los enlaces C-O en 1014 cm^{-1} como lo menciona Higuera en el 2010 y Velázquez en el 2011. Así mismo, en la imagen se encuentra el espectro de la HPMC que presenta una banda de absorción a 3433 cm^{-1} debida al estiramiento del grupo O-H y una banda a 1051 cm^{-1} debida al estiramiento C-O. La goma guar (GG) presenta los picos característicos de su estructura, a 3300 cm^{-1} una señal de estiramiento de los enlaces O-H, y a 1016 cm^{-1} se observa el pico característico del estiramiento del enlace C-O. El Eudragit® S100 (EU) presenta un pico a 1722.37 cm^{-1} que corresponde al estiramiento del grupo C=O, así mismo a 2951.80 cm^{-1} presenta un pico característico correspondiente al estiramiento del C-H y a 1149.90 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del enlace C-O.

Además, se puede observar el espectro de las mezclas 1:1 del fármaco y cada polímero correspondiente, el pico característico de la indometacina sin ninguna modificación, el resultado muestra que no existe interacción fármaco-polímero, resultados similares reportados por Elkhodairy, *et al.* en el 2013 con la goma guar. Al analizar las microesferas obtenidas en la formulación con el polímero correspondiente se puede observar el pico característico de los polímeros y la ausencia de los picos característicos de la IDM.

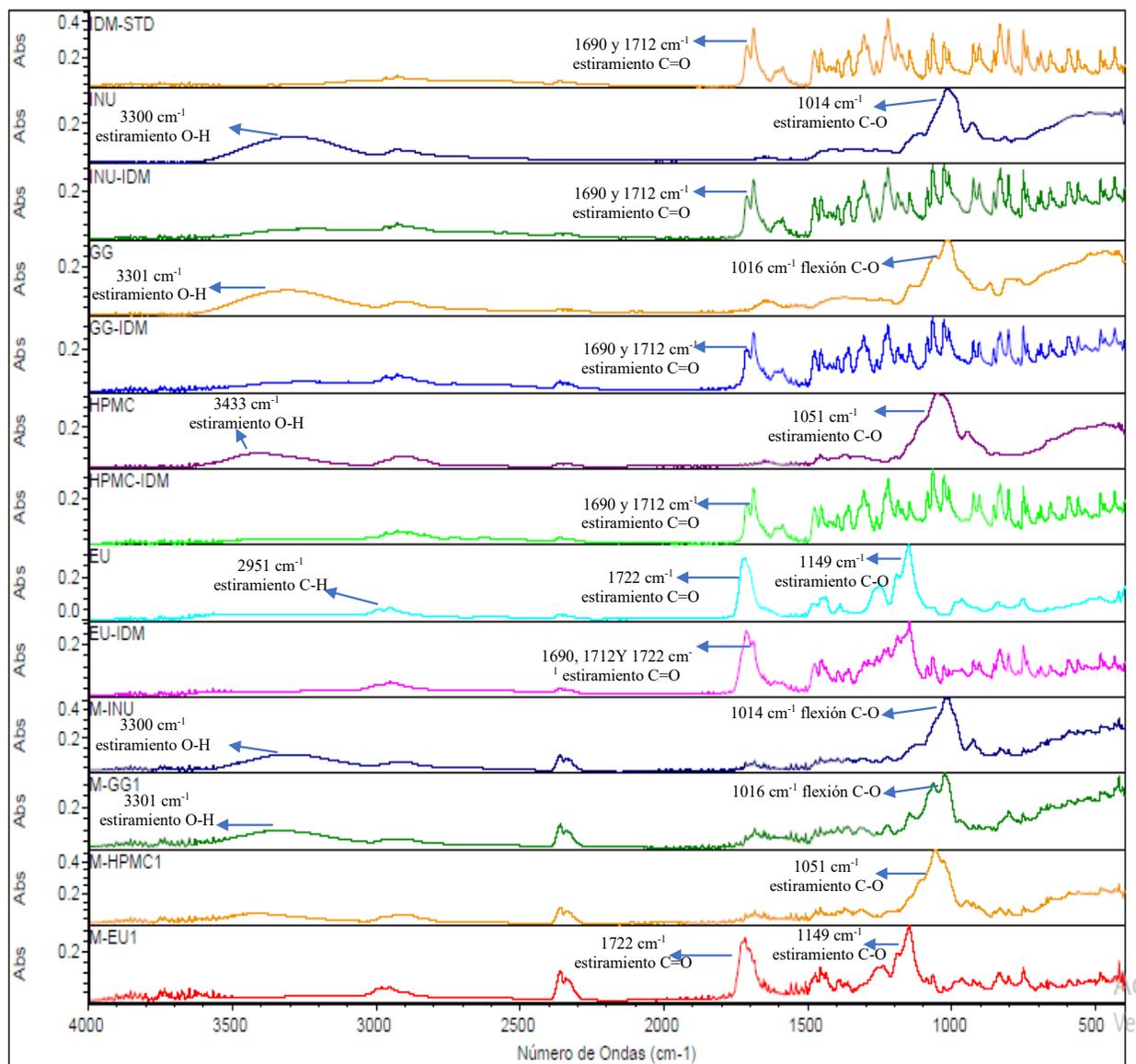


Figura 6. Espectros IR de la indometacina (IDM-STD), de los polímeros individuales y su respectiva mezcla 1:1 con la IDM y de microesferas de inulina (M-INU), goma guar (M-GG1), hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC1) y Eudragit®

3.1.2 Análisis por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Los termogramas de DSC se muestran en la figura 7, la IDM presenta un pico endotérmico agudo a 163 °C correspondiente a su punto de fusión, tales picos significan que la IDM usada estaba en estado cristalino puro (Elkhodaity *et al.*, 2013). En la misma imagen se pueden observar los termogramas de los polímeros individuales que se utilizaron en las formulaciones, así mismo los códigos con la letra M indican el termograma de las microesferas con IDM obtenidas, en los cuales podemos observar que se mantiene el pico endotérmico que corresponde al punto de fusión de la IDM por lo que se determina que no presentó ninguna modificación estructural, y que no existe interacción con ninguno de los polímeros y mantiene su estabilidad durante el proceso de obtención de las microesferas.

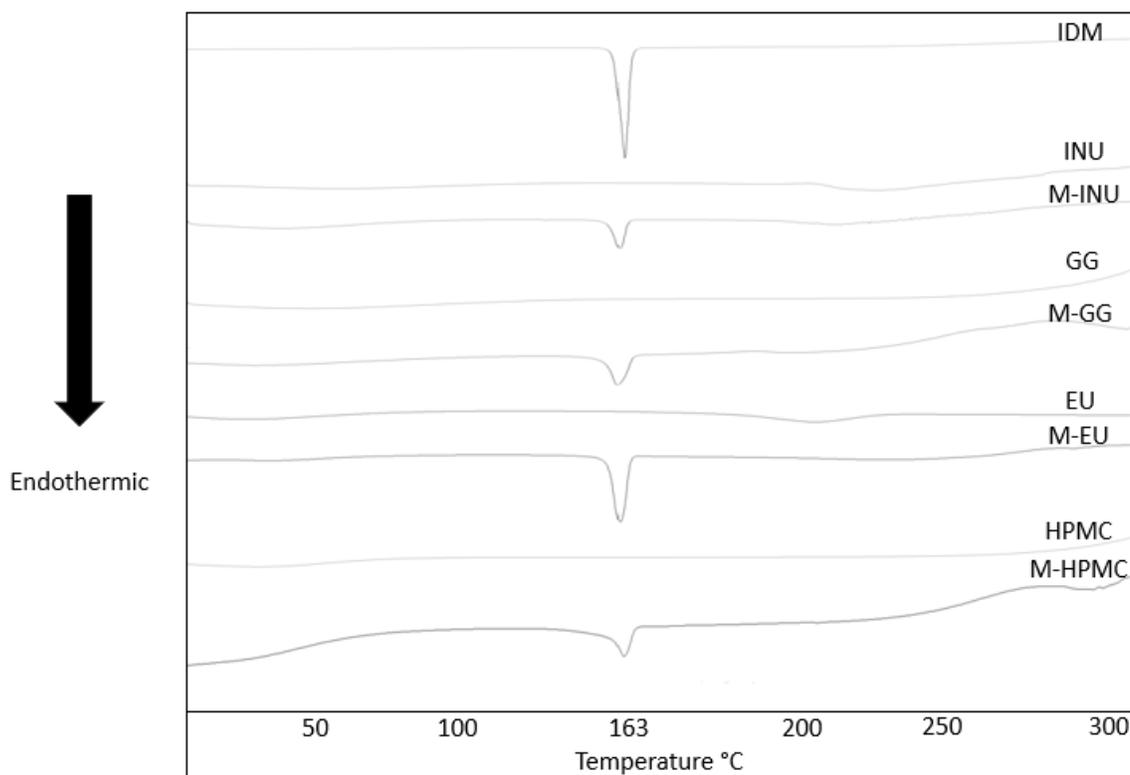


Figura 7. Termograma de la indometacina (IDM-STD), los polímeros individuales, inulina (INU), goma guar (GG), hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), Eudragit® S100 (EU) y microesferas de IDM con cada uno de los polímeros correspondientes (M-polímero)

3.2 Desarrollo experimental

3.2.1 Obtención de microesferas aplicando el diseño factorial 2³

Se realizó un diseño de experimentos, se utilizaron tres factores con dos niveles cada uno, los factores fueron: temperatura, caudal de alimentación y porcentaje de polímero en la formulación. Se realizó el diseño para cada polímero de manera individual con la intención de conocer cuáles presentaron mejores resultados en las variables respuestas: porcentaje de rendimiento y eficiencia de encapsulación, y, con ello, elegir los polímeros que se utilizarían de manera individual o la realización de mezclas entre polímeros para las formulaciones finales. El análisis fue realizado con el software Design Expert 11. A continuación, se presentan los resultados obtenidos de cada polímero, únicamente se analizaron los parámetros que fueron significativos.

3.2.1.1 Microesferas de inulina

Las microesferas obtenidas que utilizaron inulina como polímero formador de matriz presentaron un porcentaje de rendimiento en un rango de 45.24 a 60.83 % y un porcentaje de encapsulación en un rango de 49.34 a 83.5 % en el diseño de experimentos realizado (Tabla 17). Al analizar los datos, los resultados indican que no presentaron diferencias significativas en el porcentaje de carga de fármacos (Tabla 18).

Tabla 17

Porcentajes de rendimiento y encapsulación de las microesferas de inulina

Inulina		
N°	% Rendimiento	% Encapsulación
1	60.83	63.69
2	60.4	73.37
3	52.76	83.5
4	61.97	72.42
5	62.38	49.34
6	45.24	62.37
7	63.57	75.8
8	61.11	72.22

Tabla 18

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de rendimiento de las microesferas de inulina

Respuesta rendimiento, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultado
Mode		8.11	0.2625	No significativo
A-Caudal	-2.705	2.88	0.3388	
B-Temperatura	2.64	2.79	0.3437	
C-Polímero	-0.915	0.6918	0.5583	
AB	6.08	13.12	0.1715	
AC	-7.095	16.85	0.1521	
BC	5.89	12.36	0.1764	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

Por otro lado, en la variable respuesta porcentaje de encapsulación se obtuvieron resultados significativos, principalmente en los factores temperatura y porcentaje de polímero (Tabla 19) ($p < 0.05$).

Tabla 19

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de encapsulación de las microesferas de inulina

Respuesta encapsulación, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultado
Mode		259.29	0.0475	Significativo
A-Caudal	2.0125	48.72	0.0906	No significativo
B-Temperatura	13.7925	719.94	0.0237	Significativo
C-Polímero	-8.3125	286.45	0.0376	Significativo
AB	-9.3425	335.25	0.0347	Significativo
AC	2.7125	41.94	0.0975	No significativo
BC	4.3625	123.45	0.0571	No significativo
p-valor <0.05 considerado como significativo				

En la gráfica (a) de la Figura 8 se puede observar que cuando aumenta la temperatura se presenta un efecto positivo en el resultado, obteniendo mejor porcentaje de encapsulación. Por otro lado, al evaluar el porcentaje de polímero en la formulación, este presenta un efecto negativo ya que, al aumentar su concentración, los resultados se ven afectados disminuyendo el porcentaje de encapsulación (Gráfica b, Figura 8).

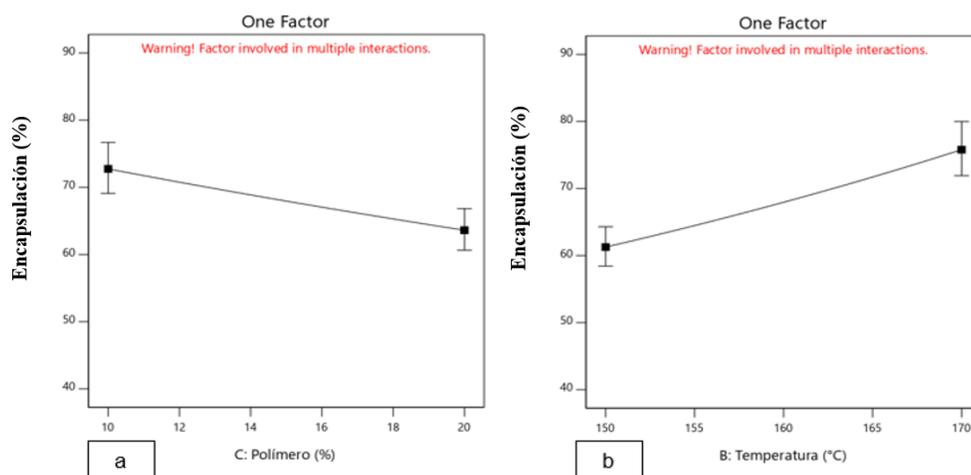


Figura 8. Gráficas de porcentaje de encapsulación vs (a) polímero y (b) temperatura de las microesferas de inulina

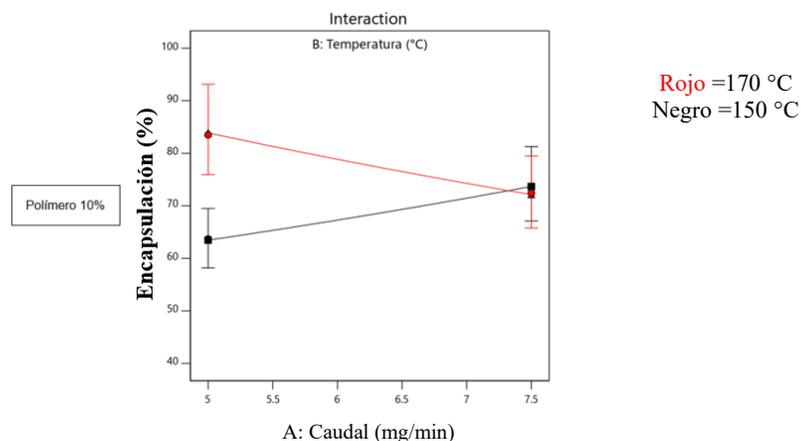


Figura 9. Gráfica de interacción temperatura vs caudal de las microesferas de inulina

La tabla 19 nos indica que existe una interacción entre los parámetros temperatura y caudal ($AB=p>0.05$). En el análisis anterior se mencionó que la temperatura presenta un efecto positivo al aumentarla, pero al momento de realizar un aumento en el caudal de alimentación del equipo, existe un punto de interacción con la temperatura, disminuye el porcentaje de encapsulación cuando la temperatura está en el nivel alto y aumenta cuando está en su nivel bajo, llegando en el punto de interacción (Figura 9).

Los mejores resultados se obtienen al aumentar la temperatura a 170 °C y disminuir la concentración de polímero al 10 % con un caudal de 5 mg/min, obteniendo una eficiencia de encapsulación mayor al 80 % (Figura 10). Debido a que los resultados de la variable respuesta porcentaje de rendimiento no fueron significativos, no se realizó el análisis, pero sí se tomaron en cuenta para la obtención de los parámetros predictores del software.

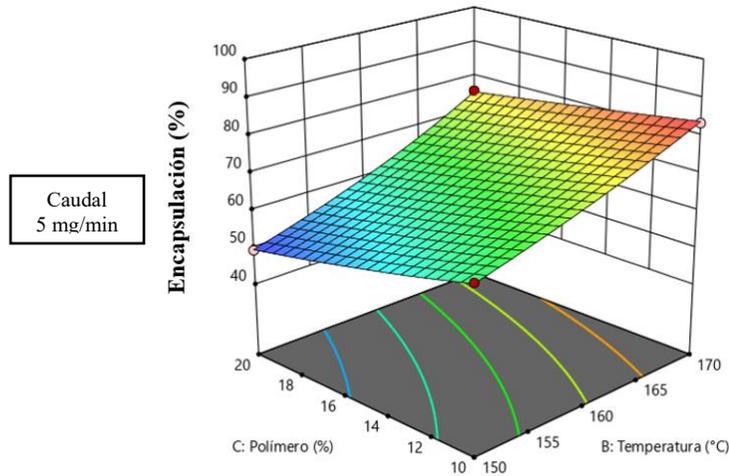


Figura 10. Gráfica de superficie 3D de porcentaje de encapsulación, polímero vs temperatura de las microesferas de inulina

Al analizar la predicción propuesta por el software (Figura 11), se puede observar que la concentración de polímero sugerida es del 20 % cuando la prioridad radica en el porcentaje de rendimiento, contrario al 10 % de polímero cuando la prioridad es el porcentaje de encapsulación, por otro lado, la temperatura sugerida es muy similar, cercano a los 170 °C y el caudal sugerido es de 5 mg/min para las dos respuestas.

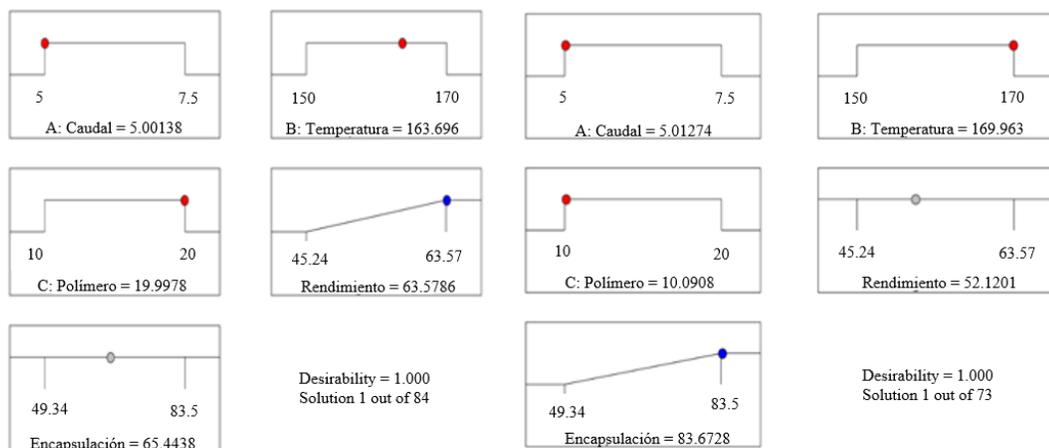


Figura 11. Valores óptimos de cada factor propuesto por el software

3.2.1.2 Microesferas de HPMC

Las microesferas obtenidas utilizando HPMC como polímero formador de matriz presentaron un porcentaje de rendimiento en un rango de 20.53 a 28.00 % y un porcentaje de encapsulación en un rango de 32.43 a 68.38 % en los resultados del diseño de experimentos realizado (Tabla 20), al analizar los datos podemos observar que no existen diferencias significativas en los resultados de ninguna de las dos variables respuesta (Tabla 21 y 22).

Tabla 20

Porcentaje de rendimiento y encapsulación de las microesferas de HPMC

HPMC		
N°	% Rendimiento	% Encapsulación
1	24.4	55.29
2	24	64.41
3	24	67.43
4	28	68.38
5	22.93	57.87
6	22.93	58.37
7	20.53	57.65
8	21.06	32.43

Tabla 21

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de rendimiento HPMC

Respuesta rendimiento, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultado
Mode		4.41	0.3492	No significativo
A-Caudal	1.0325	1.34	0.4532	
B-Temperatura	-0.1675	0.2845	0.6881	
C-Polímero	-3.2375	16.28	0.1547	
AB	1.2325	1.96	0.3952	
AC	-0.7675	0.5783	0.5861	
BC	-1.9675	6.02	0.2465	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

Tabla 22

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de encapsulación HPMC

Respuesta encapsulación, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultado
Mode		2.13	0.4813	No significativo
A-Caudal	-3.6625	0.8468	0.5264	
B-Temperatura	-2.5125	0.6511	0.5678	
C-Polímero	-12.2975	3.67	0.3063	
AB	-8.4725	2.28	0.3724	
AC	-8.6975	2.33	0.3693	
BC	-10.5675	3	0.3334	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

3.2.1.3 Microesferas de goma guar

Las microesferas obtenidas utilizando goma guar como polímero formador de matriz, presentaron un porcentaje de rendimiento en un rango de 11.20 a 33.2 % y un porcentaje de encapsulación en un rango de 83.92 a 100 % en el diseño de experimentos realizado (Tabla 23). Al analizar los datos, los resultados indican que no se presentaron diferencias significativas en el porcentaje de encapsulación (Tabla 24), por otro lado, sí se presentaron diferencias significativas en la variable respuesta porcentaje de rendimiento (Tabla 25, $p < 0.05$).

Tabla 23

Porcentaje de rendimiento y encapsulación de las microesferas de goma guar

Goma guar		
N°	% Rendimiento	% Encapsulación
1	28	100
2	21.2	100
3	32	100
4	33.2	92.30
5	28	99.63
6	11.20	100
7	32.53	83.92
8	15.73	86.93

Tabla 24

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de rendimiento de las microesferas de goma guar

Respuesta rendimiento, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efecto	F-valor	p-valor	Resultado
Mode		7490.58	0.0088	Significativo
A-Caudal	-9.8	17687.63	0.0048	Significativo
B-Temperatura	6.265	5329.90	0.0087	Significativo
C-Polímero	-6.735	9955.71	0.0064	Significativo
AB	2	1640.60	0.0157	Significativo
AC	-7	10321.72	0.0063	Significativo
BC	-1.735	7.94	0.2171	No significativo
p-valor <0.05 considerado como significativo				

Tabla 25

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de encapsulación de las microesferas de goma guar

Respuesta encapsulación de fármaco, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efecto	F-value	p-valor	Resultado
Mode		2.34	0.4623	No significativo
A-Caudal	3.7875	0.1727	0.7492	
B-Temperatura	-18.7825	7.69	0.2203	
C-Polímero	-15.0875	4.76	0.2737	
AB	-8.9475	1.33	0.4551	
AC	0.7475	0.0970	0.8077	
BC	1.5475	0.0074	0.9453	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

Todos los factores presentan un resultado estadísticamente significativo ($p < 0.05$) en la variable respuesta porcentaje de rendimiento (Tabla 24), de ellos, la temperatura tiene un efecto positivo: al aumentarla, el porcentaje de rendimiento se ve favorecido (Gráfica B, figura 12), por otro lado, los factores caudal y porcentaje de polímero tienen un efecto negativo ya que, al aumentarlos, el porcentaje de rendimiento disminuye (Gráfica A y C, de la figura 12, respectivamente).

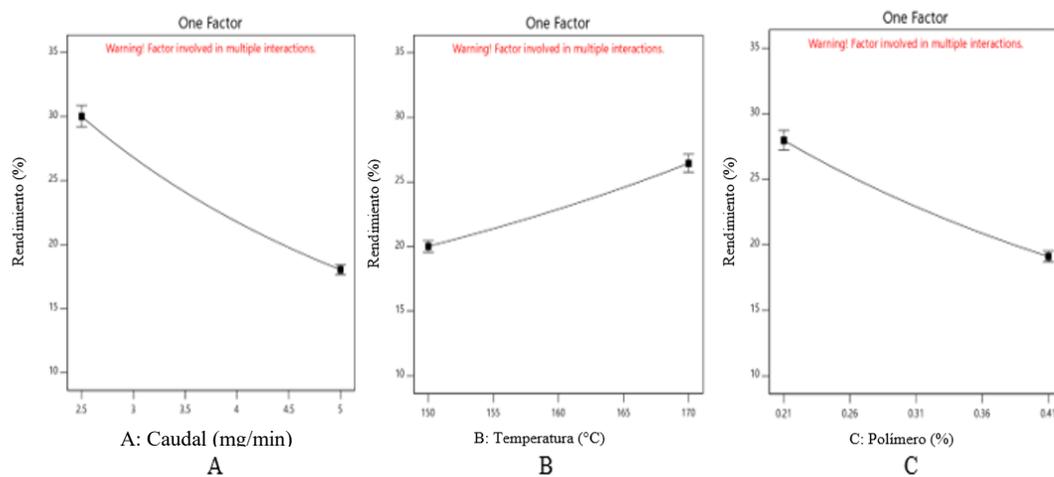


Figura 12. Gráfica de porcentaje de rendimiento vs A) caudal, B) temperatura y C) porcentaje de polímero de las microesferas de goma guar

La Tabla 24 indica que existe interacción entre diferentes factores, mientras en la figura 13 de la gráfica A se puede observar que, a temperaturas altas, al aumentar el caudal con una concentración de polímero alta, el porcentaje de rendimiento disminuye, situación contraria sucede al disminuir el porcentaje de polímero logrando un aumento del porcentaje de rendimiento si el caudal aumenta por lo que en este punto existe una interacción entre estos factores (AB: $p < 0.05$). Por otro lado, en condiciones de porcentaje de polímero bajo (0.21 %), al aumentar el caudal y aumentar la temperatura, el porcentaje de rendimiento aumenta, situación contraria se presenta cuando aumentamos el caudal y

la temperatura es baja, el porcentaje de rendimiento disminuye por lo que se presenta una interacción entre estos factores (BC: $p < 0.05$, gráfica B de la figura 13).

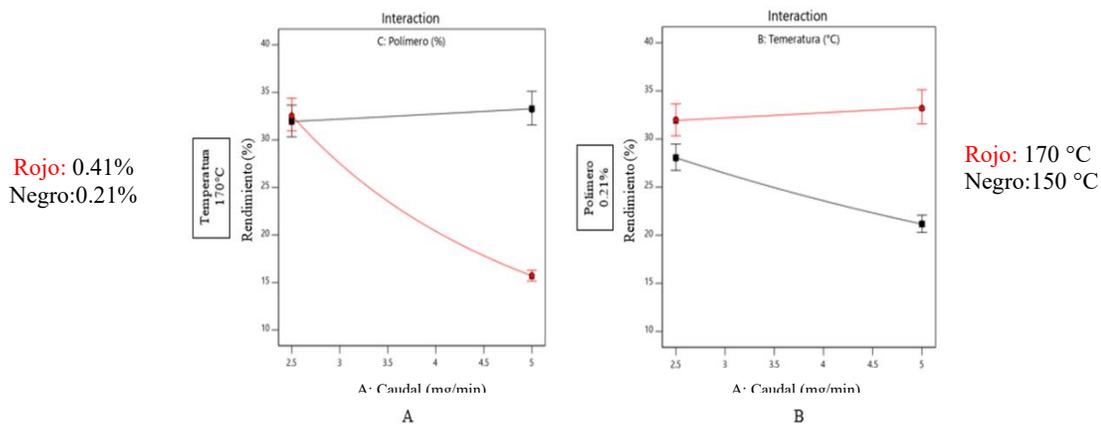


Figura 13. Gráfica de interacciones A) caudal vs polímero y B) caudal vs temperatura de las microesferas de goma guar

Los mejores resultados se obtienen al aumentar la temperatura a 170 °C sin importar la concentración de polímero utilizado, de otra manera, al utilizar una concentración de polímero del 0.21 %, el caudal no presenta gran ventaja ya que los resultados son muy similares en las diferentes condiciones de temperatura (Figura 14, gráfica A). Al aumentar la concentración del polímero se puede observar que el caudal es un factor importante ya que, al aumentarla, disminuye el porcentaje de rendimiento en su valor mínimo obtenido en el diseño (Figura 14, gráfica B). Debido a que la variable respuesta porcentaje de encapsulación no fue significativo, no se realizó el análisis, pero sí se tomaron en cuenta para la obtención de los parámetros predictores del software.

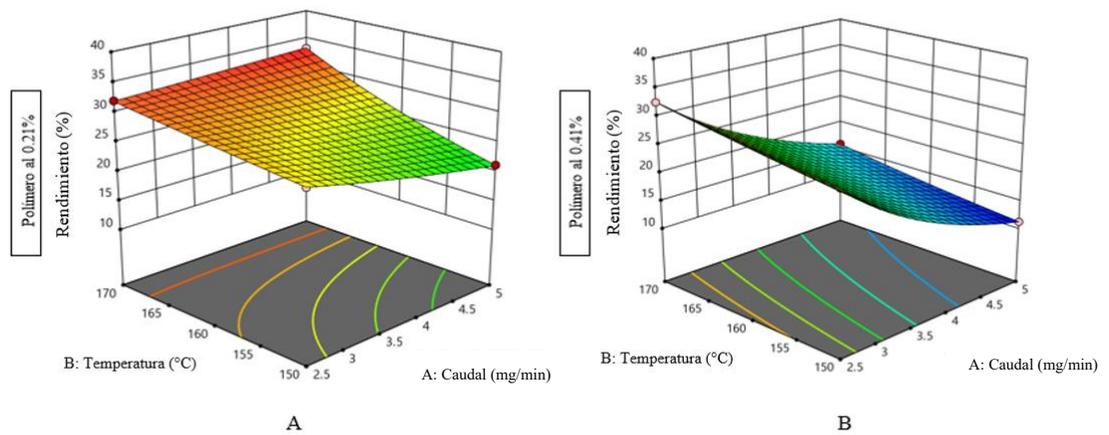


Figura 14. Gráfica de porcentaje de rendimiento, temperatura vs caudal en dos diferentes concentraciones de polímeros: A) 0.21% y B) 0.41% de las microesferas de goma guar

Analizando la predicción propuesta por el software (Figura 15), se pudo observar que la temperatura sugerida es de 170 °C, cuando la prioridad radica en el porcentaje de carga; mientras que, cuando la prioridad es el porcentaje de atrapamiento, la temperatura sugerida es de 150 °C, el caudal de alimentación del equipo sugerido es de 5 mg/min utilizando una concentración de polímero del 0.21 % para las dos variables respuesta.

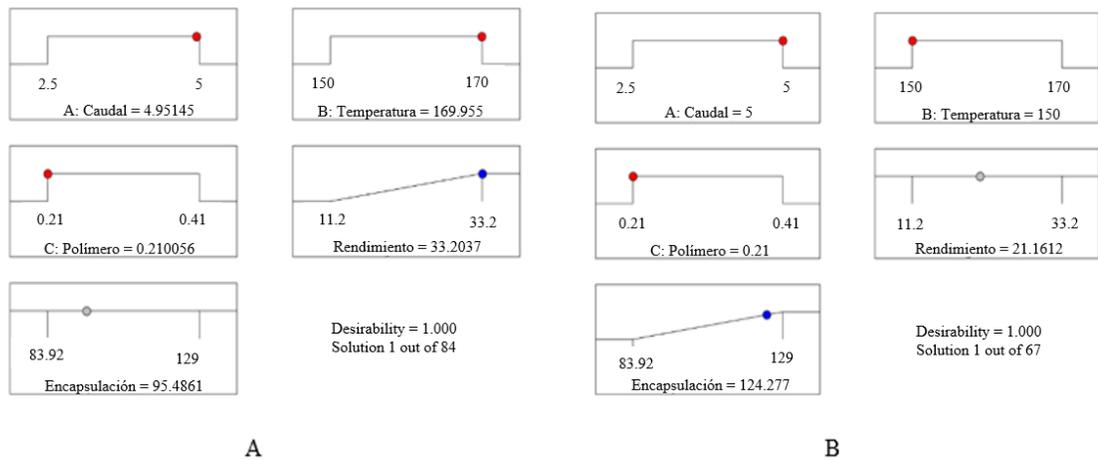


Figura 15. Predicción de los valores óptimos de cada factor para los mejores resultados en cada variable respuesta de las microesferas de goma guar

3.2.1.4 Microesferas de Eudragit® S100

Las microesferas obtenidas utilizando Eudragit® S100 como polímero formador presentan un porcentaje de rendimiento en un rango de 20 a 55.47 % y un porcentaje de encapsulación en un rango de 66.8 a 87.52 % en los resultados del diseño de experimentos realizado (Tabla 26), en el análisis de los datos podemos observar que no existen diferencias significativas en ninguna de las dos variables respuesta (Tabla 27 y 28).

Tabla 26

Porcentaje de rendimiento y encapsulación de las microesferas de Eudragit® S100

Eudragit® S100		
N°	% Rendimiento	% Encapsulación
1	37.60	69.38
2	20	87.52
3	43.20	82.31
4	34	78.06
5	46.66	71.09
6	41.33	66.80
7	55.47	70.67
8	33.33	81.17

Tabla 27

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de rendimiento de las microesferas de Eudragit® S100

Respuesta rendimiento, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultados
Mode		1.18	0.6069	No significativo
A-Caudal	-13.5675	3.25	0.3223	
B-Temperatura	5.1025	0.6567	0.5664	
C-Polímero	10.4975	2.02	0.3902	
AB	-2.1025	0.0257	0.8988	
AC	-0.1675	0.2005	0.7320	
BC	-4.6975	0.9340	0.5109	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

Tabla 28

Datos del diseño factorial 2³ del porcentaje de encapsulación las microesferas de Eudragit® S100

Respuesta encapsulación, Transformado a inverse sqrt				
Source	Efectos	F-valor	p-valor	Resultados
Mode		0.2042	0.9312	No significativo
A-Caudal	4.845	0.2328	0.7138	
B-Temperatura	4.535	0.2849	0.6879	
C-Polímero	-7.065	0.5541	0.5926	
AB	-1.72	0.0173	0.9167	
AC	-2.1	0.0546	0.8539	
BC	2.8	0.0819	0.8231	
p-valor <0.05 considerado como significativo				

3.2.1.5. Análisis de los parámetros optimizados

Al analizar los resultados del diseño experimental donde se presentaron resultados significativos, el software sugirió valores óptimos de los parámetros evaluados, proponiendo una temperatura de entrada de 170 °C, un flujo de alimentación del 14 % para todas las microesferas y el porcentaje de polímero en la formulación fue de 10, 2.5, 0.31 y 0.21 % para inulina, Eudragit S100, HPMC y goma guar, respectivamente. Estos valores se utilizaron para producir las microesferas finales para cada polímero. En la Tabla 29 se observan los resultados de rendimiento y encapsulación de las microesferas, las cuales se compararon con los resultados predictivos del software para las variables respuestas que presentaron diferencias significativas en sus resultados, obteniendo un porcentaje de error de 5.90 % para las microesferas de inulina en la respuesta de encapsulación y 4.52 % para las microesferas de goma guar en la respuesta rendimiento.

Tabla 29

Comparación de los resultados predictivos del software vs microesferas producidas con los parámetros optimizados.

Microesferas	% Rendimiento (n=3) X±DS	% Encapsulación (n=3) X±DS	Resultado predictivo (%)	% error
M-INU	75.41±5.3 (NA)	88.41±1.47	83.49 de encapsulación	5.90
M-GG	31.71±4.38	100±3.96 (NA)	33.21 de rendimiento	4.52
Microesferas de inulina (M-INU); Microesferas de goma guar (M-GG); X±DS= Media±desviación estándar, n= número de repetición NA: No aplica el análisis de la predicción				

El diseño de experimentos permitió al software sugerir valores para los parámetros que permitirían mejorar los resultados de las variables respuestas. Tomando en cuenta estos datos se procedió a realizar una corrida con los parámetros optimizados para todos los polímeros. Los resultados obtenidos se encuentran en la figura 16, donde se puede observar que los valores de los resultados de la corrida optimizada mejoraron considerablemente en comparación con las corridas individuales del diseño experimental en la mayoría de los polímeros como era de esperarse, destacando los resultados de los polímeros inulina y Eudragit S100.

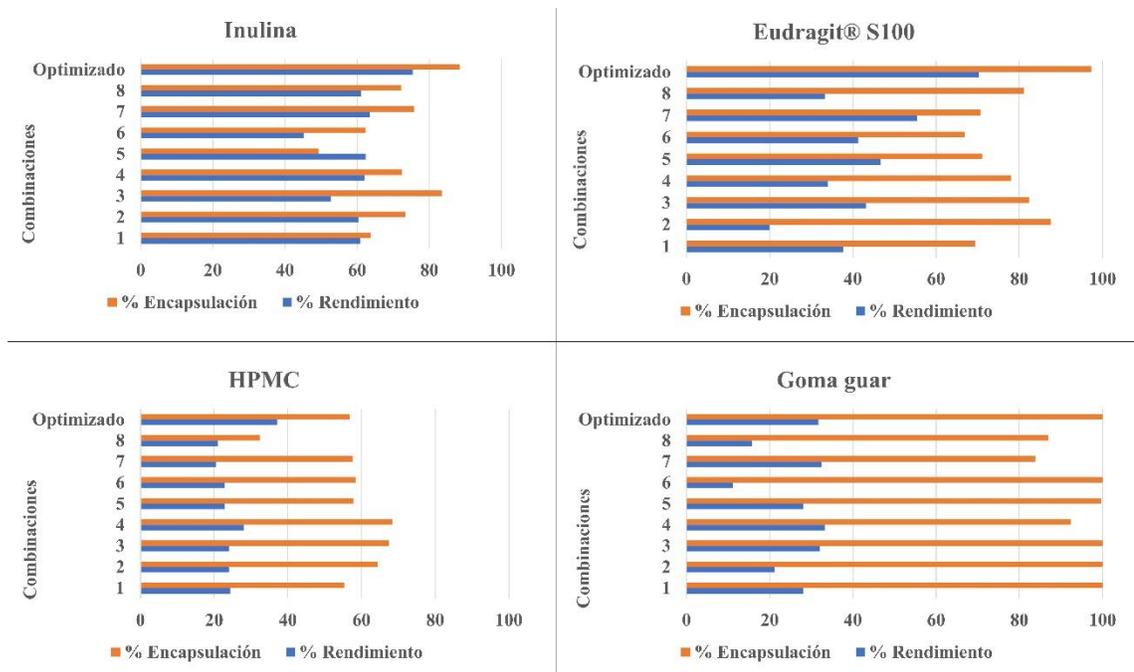


Figura 16. Comparación de los resultados obtenidos en el diseño experimental vs parámetros optimizados.

3.2.2 Análisis comparativo entre microesferas de diferentes polímeros

En la Figura 17 podemos observar los resultados de las microesferas obtenidas con los parámetros optimizados, las de inulina son las que presentaron mejores resultados de rendimiento con 75.41 % seguidos por las de Eudragit® S100 con 70.32 %; mientras que las microesferas de HPMC y GG presentaron resultados inferiores: 37.13 % y 31.71 %, respectivamente.

En el análisis de la eficiencia de encapsulación la goma guar presentó un resultado del 100%, seguido por las microesferas de Eudragit®S100 que presentaron 97.27%, las microesferas de inulina obtuvieron una eficiencia de encapsulación del 88.41 % y el resultado más bajo lo obtuvieron las microesferas de HPMC, con 56.74 %.

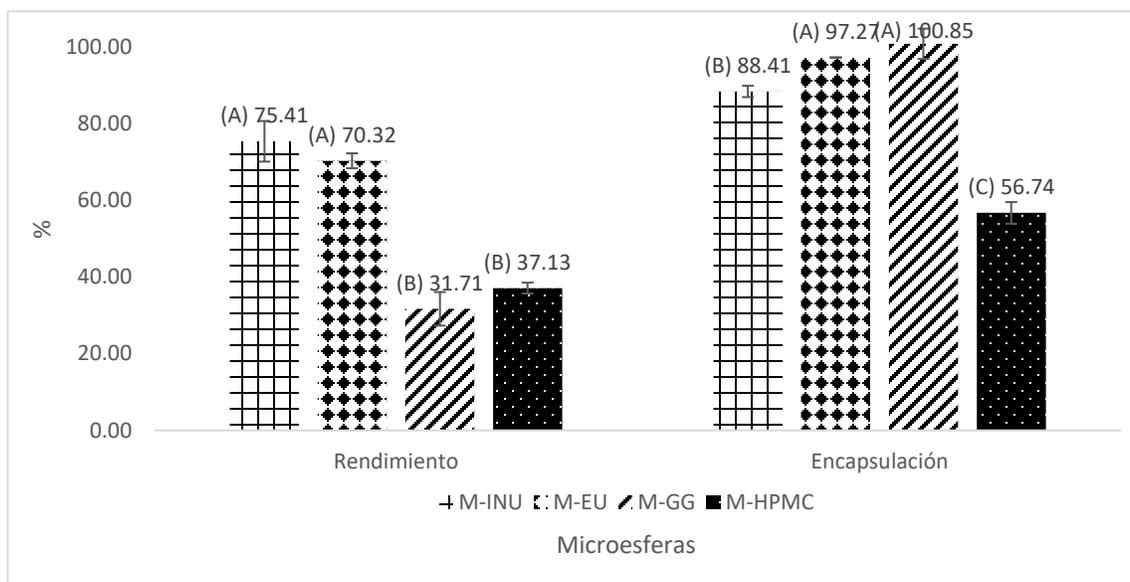


Figura 17. Comparativa de los resultados de rendimiento y encapsulación de las microesferas obtenidas del proceso optimizado. Microesferas de inulina (M-INU), Eudragit® S100 (M-EU), goma guar (M-GG) e hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC) (n=3). Grupos A, B y C (p<0.05)

3.2.3 Morfología por SEM

En el análisis por microscopía electrónica de barrido se observan en la Figura 18.A las características y forma de las microesferas de Eudragit® S100, las cuales presentaron una forma irregular no esférica con superficie granulada. Las microesferas de goma guar (Figura 18.B) presentaron un tamaño de 14 micrómetros siendo estas la de mayor tamaño, con una forma esférica y superficie lisa con pequeños residuos de polímero o PA. Las microesferas de menor tamaño son las de HPMC (Figura 18.C) con un diámetro de 2 a 3

micrómetros con forma irregular y superficie lisa con pequeños residuos de polímero o PA. Por otro lado, en el caso de las microesferas de inulina (Figura 18.D) se observaron partículas mucho más grandes: 989 micrómetros promedio, con forma esférica y superficie irregular.

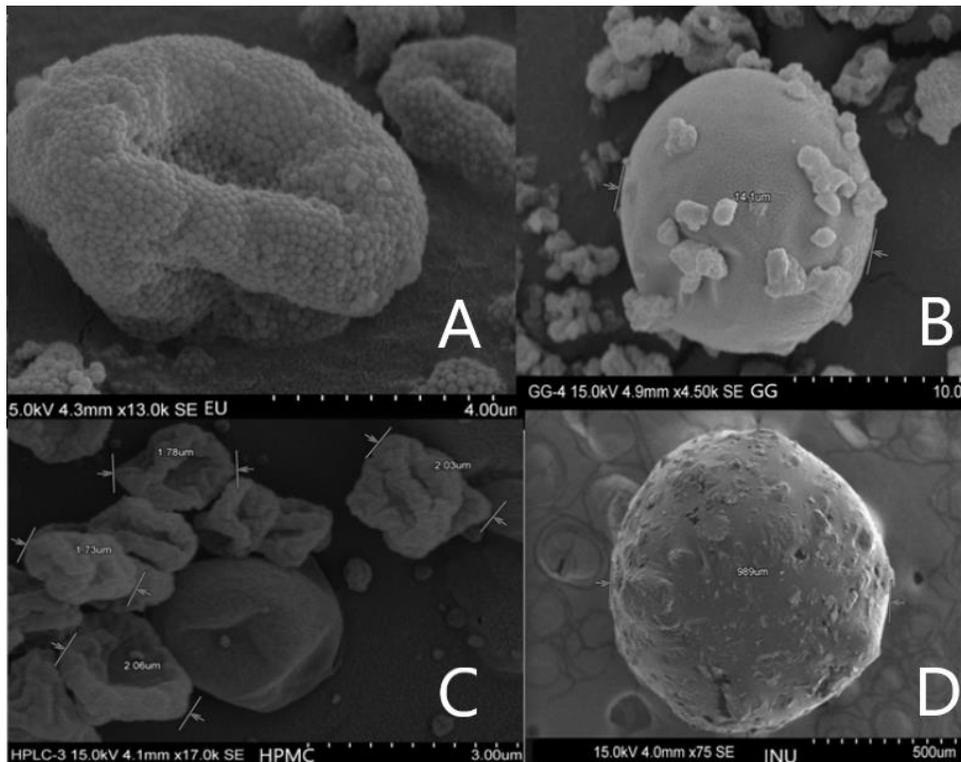


Figura 18. Microscopía electrónica de barrido de las microesferas obtenidas. Microesferas de: Eudragit® S100 (A), goma guar (B), hidroxipropilmetilcelulosa (C), inulina (D)

3.2.4 Validación del método analítico

3.2.4.1 Validación del método de la prueba de disolución.

La validación del método analítico, tanto para el sistema como para el método, se llevó a cabo en un rango de concentración entre 6.4-32 $\mu\text{g/mL}$ y de 3.1-16 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente.

3.2.4.1.1 Validación del sistema

3.2.4.1.1.1 Linealidad

La Tabla 30 muestra las concentraciones utilizadas para la curva de calibración realizada por duplicado y las absorbancias obtenidas como respuesta en el análisis por espectrofotometría UV-Vis a 318 nm. También se muestra el valor de absorbancia calculada a partir de la ecuación obtenida de la recta de la curva de calibración.

Tabla 30

Análisis de linealidad del sistema

Concentración $\mu\text{g/mL}$ (x)	Absorbancia (y)	Producto de la concentración por la absorbancia (xy)	Absorbancia calculada (yc)	Residuos de la absorbancia ($y-yc$)
6.4	0.1149	0.7354	0.1134	0.0015
6.4	0.1149	0.7354	0.1134	0.0015
12.8	0.2280	2.9184	0.2261	0.0019
12.8	0.2254	2.8851	0.2261	-0.0007
19.2	0.3379	6.4877	0.3387	-0.0008
19.2	0.3380	6.4896	0.3387	-0.0007
25.6	0.4452	11.3971	0.4514	-0.0062
25.6	0.4450	11.3920	0.4514	-0.0064
32.0	0.5688	18.2016	0.5640	0.0048
32.0	0.5691	18.2112	0.5640	0.0051

Se calcularon los siguientes datos estadísticos a partir de los valores anteriores:

$$n=10$$

$$\sum y = 0.1149 + \dots + 0.5691 = 3.3872$$

$$\sum x = 6.4 + \dots + 32 = 192$$

$$\sum x^2 = (6.4)^2 + \dots + (32)^2 = 4505.6$$

$$\sum y^2 = (0.0132)^2 + \dots + (0.3239)^2 = 1.4012$$

$$\sum (xy) = (6.4 \times 0.73536) + \dots + (32 \times 0.5691) = 79.4534$$

$$r^2 = \frac{[(n\sum xy) - (\sum x \sum y)]^2}{[(n\sum x^2) - (\sum x)^2][n\sum y^2 - (\sum y)^2]} = \frac{[(10(79.4534)) - (192(3.3872))]^2}{[(10 \cdot 4505.6) - 192^2][10(1.4012) - 3.3872^2]} = 0.9995$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} = \frac{3.3872}{10} = 0.3387$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y - y_c)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{\sum (0.73536 - 0.11344)^2 + \dots + (0.5691 - 0.3239)^2}{10 - 2}} = 0.0041$$

$$CV = \frac{S_{y/x}}{\bar{y}} \times 100 = \frac{0.0041}{0.3387} \times 100 = 1.22$$

Donde:

n = Número de diluciones

r^2 = Coeficiente de regresión

\bar{y} = Media de los datos en y (absorbancia)

$S_{y/x}$ = Error relativo debido a la regresión

CV = Coeficiente de variación (%)

La Figura 19 muestra el gráfico correspondiente a la curva de regresión ajustada para la linealidad del sistema, así como la ecuación de la recta y el coeficiente de regresión arrojado por el software. La Tabla 31 muestra el resumen de los datos obtenidos para la linealidad del sistema y los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

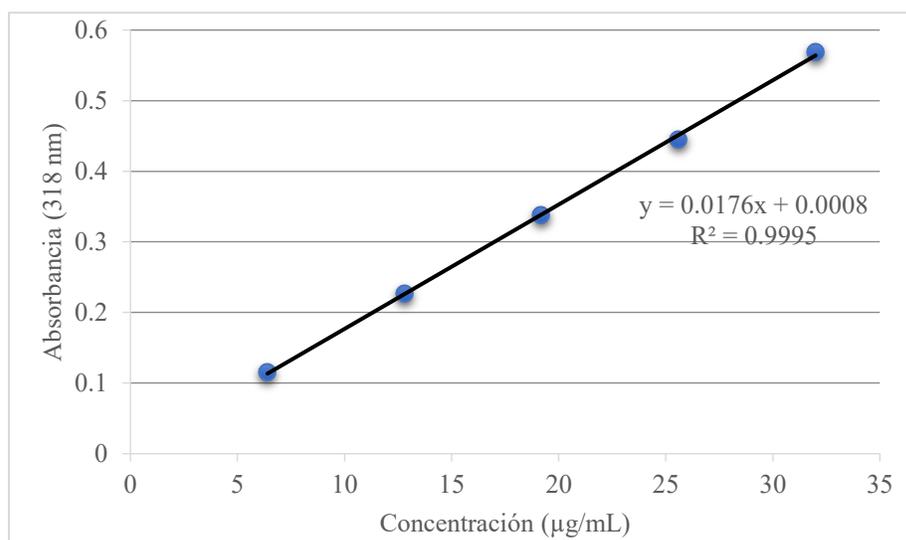


Figura 19. Curva de regresión ajustada para la linealidad del sistema

Tabla 31.

Resumen del análisis de linealidad del sistema.

Parámetro	Resultado	Criterios de aceptación	Criterio
Coefficiente de regresión (r^2)	0.9995	≥ 0.99	Cumple
Error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$)	0.4%	$\leq 2\%$	Cumple
Coefficiente de variación (%)	1.22%	$\leq 2\%$	Cumple

3.2.4.1.1.2 Precisión

La Tabla 32 muestra los datos de concentración utilizados junto con las absorbancias obtenidas y el factor de respuesta calculado en cada nivel de concentración a partir de los datos de linealidad del sistema.

Tabla 32

Análisis de precisión del sistema

Concentración µg/mL (x)	Absorbancia (y)	Factor de respuesta (f)
6.4	0.1149	0.0180
6.4	0.1149	0.0180
12.8	0.2280	0.0178
12.8	0.2254	0.0176
19.2	0.3379	0.0176
19.2	0.3380	0.0176
25.6	0.4452	0.0174
25.6	0.4450	0.0174
32	0.5688	0.0178
32	0.5691	0.0178

Se calcularon los siguientes datos estadísticos a partir de los valores anteriores:

$$n=10$$

$$f = \frac{\text{Absorbancia}(y_1)}{\text{Concentración}(x_1)}$$

$$\sum f^2 = 0.0180^2 + \dots + 0.0178^2 = 0.0031$$

$$DS = \sqrt{\frac{(\sum f^2) - (\sum f)^2 / n}{n-1}} = \sqrt{\frac{((0.0180^2 + \dots + 0.0178^2) - ((0.0180 + \dots + 0.0178)^2 / 10))}{10-1}} = 0.0002$$

$$CV = \frac{S}{\bar{f}} \times 100 = \frac{0.0002}{0.0177} \times 100 = 1.16$$

Donde:

n = Número de diluciones

f = Factor de respuesta

\bar{f} = Media de los datos de factor de respuesta

DS = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación (%)

La Tabla 33 muestra el resumen de los datos obtenidos para la linealidad del sistema y los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

Tabla 33

Resumen del análisis de precisión del sistema

Parámetro	Resultado	Criterio de aceptación	Criterio
Coefficiente de variación del factor de respuesta (%)	1.16%	$\leq 2\%$	Cumple

3.2.4.2 Validación del método

3.2.4.2.1 Linealidad

La Tabla 34 muestra las concentraciones utilizadas para la curva de calibración realizada por triplicado, así como las absorbancias obtenidas de las concentraciones recuperadas como respuesta en el análisis por espectrofotometría UV-Vis a 318 nm. También se muestra el valor de absorbancia calculado a partir de la ecuación obtenida de la recta de la curva de calibración.

Tabla 34

Análisis de linealidad del método

Concentración $\mu\text{g/mL}$ (x)	Absorbancia (y)	Producto de la concentración por la absorbancia (xy)	Absorbancia calculada (yc)	Residuos de la absorbancia ($y-yc$)
3.2	0.06	0.21	0.06	0.005
3.2	0.06	0.21	0.06	0.005
3.2	0.06	0.21	0.06	0.005
6.4	0.13	0.84	0.12	0.007

6.4	0.13	0.83	0.12	0.006
6.4	0.13	0.83	0.12	0.006
9.6	0.19	1.85	0.19	0.005
9.6	0.19	1.85	0.19	0.005
9.6	0.19	1.85	0.19	0.005
12.8	0.26	3.28	0.25	0.005
12.8	0.26	3.28	0.25	0.005
12.8	0.26	3.28	0.25	0.005
16	0.32	5.13	0.31	0.008
16	0.32	5.13	0.31	0.007
16	0.32	5.13	0.31	0.007

Se calcularon los siguientes datos estadísticos a partir de los valores anteriores:

$$n=15$$

$$\sum y = 0.066 + \dots + 0.3208 = 2.8981$$

$$\sum x = 3.2 + \dots + 16 = 144$$

$$\sum y^2 = (0.066)^2 + \dots + (0.3208)^2 = 0.6809$$

$$\bar{y} = \frac{\sum y}{n} = \frac{5.025}{15} = 0.2898$$

$$\sum x^2 = (3.2)^2 + \dots + (16)^2 = 1689.6$$

$$\sum (xy) = (3.2 \times 0.066) + \dots + (16 \times 0.3208) = 33.9184$$

$$r^2 = \frac{[(n\sum xy) - (\sum x \sum y)]^2}{[(n\sum x^2) - (\sum x)^2] [(n\sum y^2) - (\sum y)^2]} = \frac{[(15(33.9184)) - (144(2.8981))]^2}{[(15(1689.6)) - 144^2] [(15(0.6809)) - 2.8981^2]} = 0.9999$$

$$S_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum (y - yc)^2}{n - 2}} = \sqrt{\frac{\sum (0.066 - 0.0606)^2 + \dots + (0.3208 - 0.3141)^2}{15 - 2}} = 0.0063$$

r^2 = Coeficiente de regresión

\bar{y} = Media de los datos en y (absorbancia)

$S_{y/x}$ = Error relativo debido a la regresión

La Figura 20 muestra el gráfico correspondiente a la curva de regresión ajustada para la linealidad del método, así como la ecuación de la recta y el coeficiente de regresión arrojado por el software.

La Tabla 35 muestra el resumen de los datos obtenidos para la linealidad del método y los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

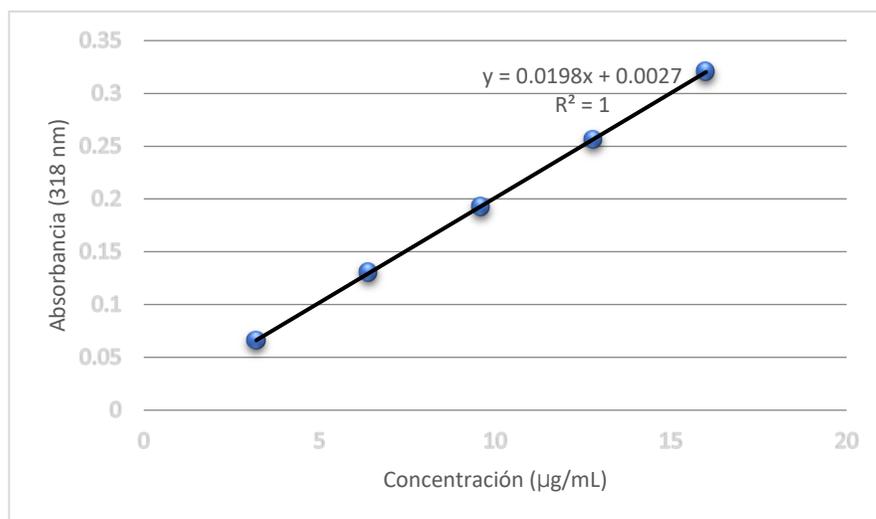


Figura 20. Curva de regresión ajustada para la linealidad del método

Tabla 35.

Resumen del análisis de linealidad del método.

Parámetro	Resultado	Criterios de aceptación	Criterio
Coefficiente de regresión (r^2)	0.9999	≥ 0.99	Cumple
Error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$)	0.0063 %	≤ 3 %	Cumple

3.2.4.2.2 Exactitud

La Tabla 36 muestra las concentraciones y porcentajes de recuperación, así como el promedio y la variación respecto a la cantidad nominal para cada nivel de concentración empleando los datos obtenidos a partir del análisis de linealidad del método.

Tabla 36

Análisis de exactitud del método

Concentración µg/mL (x)	Concentración recuperada µg/mL	% de recuperación (r)	Promedio de % de recuperación	% de variación	Promedio de % de variación
3.2	3.19	99.91	99.96	0.09	0.04
3.2	3.19	99.91		0.09	
3.2	3.20	100.06		0.06	
6.4	6.49	101.48	100.90	1.48	0.90
6.4	6.43	100.54		0.54	
6.4	6.44	100.69		0.69	
9.6	9.59	99.91	99.85	0.09	0.15
9.6	9.58	99.75		0.25	
9.6	9.59	99.91		0.09	
12.8	12.79	99.95	100.01	0.06	0.01
12.8	12.79	99.94		0.06	
12.8	12.82	100.14		0.14	
16	16.07	100.41	100.40	0.41	0.40
16	16.06	100.38		0.38	
16	16.07	100.41		0.41	

3.2.4.2.3 Precisión

3.2.4.2.3.1 Repetibilidad

Se calculó el coeficiente de variación global a partir del promedio y desviación estándar de los porcentajes de recuperación de los datos de linealidad:

$$n=15$$

$$\sum r = 99.905303 + \dots + 100.410354 = 1503.37753$$

$$\sum r^2 = (99.905303)^2 + \dots + (100.410354)^2 = 150679.0865$$

$$\bar{r} = \frac{\sum r}{n} = \frac{1503.37753}{15} = 100.225168$$

$$DS = \sqrt{\frac{(n\sum r^2) - (\sum r)^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{(15(150679.0865)) - (1503.37753)^2}{15(15-1)}} = 0.4488$$

$$CV = \frac{DS}{\bar{r}} \times 100 = \frac{0.4488}{100.225168} \times 100 = 0.45$$

Donde:

n = Número de diluciones

r = Porcentaje de recuperación

\bar{r} = Media de los datos en r (% de recuperación)

DS = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación

La Tabla 37 muestra el resumen de los resultados obtenidos para la exactitud y repetibilidad del método y los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

Tabla 37

Resumen del análisis de exactitud y repetibilidad del método

Parámetro	Resultado	Criterios de aceptación	Criterio
Promedio del % de variación en cada punto	0.30 %	≤ 3 %	Cumple
CV global del % de recobro	0.44 %	≤ 3 %	Cumple

3.2.4.2.4 Reproducibilidad intralaboratorio

La Tabla 38 muestra los resultados de las concentraciones recuperadas y los porcentajes de recuperación para los días uno y dos de análisis.

Tabla 38

Análisis de reproducibilidad

Día uno		
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración recuperada ($\mu\text{g/mL}$)	% de recuperación (r)
16	15.85	99.07
16	15.84	99.00
16	15.89	99.32
Día dos		
16	15.82	98.89
16	15.97	99.79
16	15.95	99.71

Se calcularon los siguientes datos estadísticos a partir de los valores anteriores

$$n=6$$

$$\sum r = 99.0714286 + \dots + 99.7142857 = 595.785714$$

$$\sum r^2 = (99.0714286)^2 + \dots + (99.7142857)^2 = 59160.8189$$

$$\bar{r} = \frac{\sum r}{n} = \frac{595.785714}{6} = 99.2976$$

$$DS = \sqrt{\frac{(n \sum r^2) - (\sum r)^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{(6(59160.8189)) - (595.785714)^2}{6(6-1)}} = 0.3784$$

$$CV = \frac{DS}{\bar{r}} \times 100 = \frac{0.3784}{99.2976} \times 100 = 0.38$$

Donde:

n = Número de diluciones

r = Porcentaje de recuperación

\bar{r} = Media de los datos en r (% de recuperación)

DS = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación global

3.2.4.2.5 Estabilidad

La Tabla 39 muestra los resultados de las concentraciones recuperadas y los porcentajes de recuperación a las cero y 24 horas.

Tabla 39

Análisis de estabilidad

Cero horas		
Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Concentración recuperada ($\mu\text{g/mL}$)	% de recuperación (r)
16	17.58	109.89
16	17.55	109.71
16	16.95	105.96
24 horas		
16	16.97	106.07
16	16.91	105.68
16	16.82	105.14

Se calcularon los siguientes datos estadísticos a partir de los valores anteriores:

$$n=6$$

$$\sum r = 109.892857 + \dots + 105.142857 = 642.464286$$

$$\sum r^2 = (109.892857)^2 + \dots + (105.142857)^2 = 68816.2232$$

$$\bar{r} = \frac{\sum r}{n} = \frac{642.464286}{6} = 107.077381$$

$$DS = \sqrt{\frac{(n \sum r^2) - (\sum r)^2}{n(n-1)}} = \sqrt{\frac{(68816.2232) - (642.464286)^2}{6(6-1)}} = 2.13$$

$$CV = \frac{DS}{\bar{r}} \times 100 = \frac{2.13}{107.077381} \times 100 = 1.99$$

Donde:

n = Número de diluciones

r = porcentaje de recobro

\bar{r} = Media de los datos en r (% de recobro)

DS = Desviación estándar

CV = Coeficiente de variación global

La Tabla 40 muestra el resumen de los resultados obtenidos para la reproducibilidad y estabilidad del método y los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

Tabla 40

Resumen del análisis de reproducibilidad y estabilidad

Parámetro	Resultado	Criterios de aceptación	Criterio
CV global del % de recuperación (reproducibilidad)	0.38 %	≤ 3 %	Cumple
CV global del % de recuperación (estabilidad)	1.99 %	≤ 3 %	Cumple

3.2.4.2.6 Influencia del filtro

La Tabla 41 muestra los resultados de la influencia del filtro en seis soluciones de concentración conocida y filtradas, así como los porcentajes de recuperación en cada punto.

Tabla 41

Análisis de la influencia del filtro

Concentración ($\mu\text{g/mL}$)	Recuperado ($\mu\text{g/mL}$)	% recuperado	\bar{x} del % recuperado	Diferencia con el 100%	\bar{x} de las diferencias
	Solución filtrada				
9.6	9.43	98.27	99.08	1.73	1.02
9.6	9.46	98.57			
9.6	9.51	99.05			
9.6	9.43	98.27			
9.6	9.61	100.12			
9.6	9.62	100.18			
$\bar{x} = \text{Promedio}$					

3.2.4.2.7 Selectividad

La Figura 21 muestra los espectros de absorción UV-Vis a 318 nm de la solución de referencia y la solución de la muestra problema.

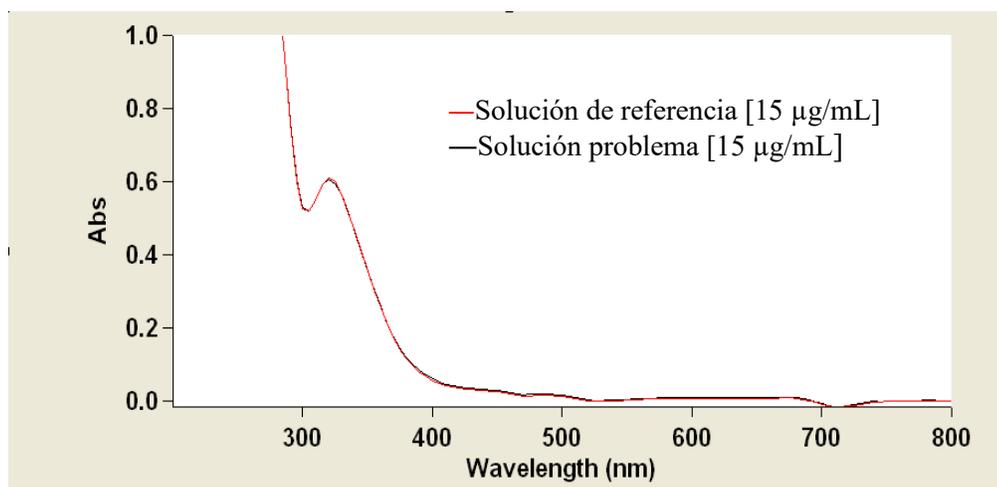


Figura 21. Espectros de absorción de la solución problema y de referencia

3.2.4.2.8 Resumen de la validación del método

La Tabla 42 muestra el resumen de los resultados obtenidos en todos los parámetros de validación del sistema y método analítico, así como los correspondientes criterios de aceptación para cada punto.

Tabla 42

Resumen de los resultados de validación

Parámetro	Parámetro	Resultado	Criterios de aceptación	Criterio
Validación del sistema				
Linealidad	Coefficiente de regresión (r^2)	0.9995	≥ 0.99	Cumple
	Error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$)	0.40 %	≤ 2 %	Cumple
	CV (%)	1.22 %	≤ 2 %	Cumple
Precisión	CV del factor de respuesta (%)	1.16 %	≤ 2 %	Cumple
Validación del método				
Linealidad	Coefficiente de regresión (r^2)	0.9999	≥ 0.99	Cumple
	Error relativo debido a la regresión ($S_{y/x}$)	0.0063 %	≤ 3 %	Cumple
Exactitud	Promedio del % de variación en cada punto	0.30 %	≤ 3 %	Cumple
Repetibilidad	CV global del % de recobro	0.44 %	≤ 3 %	Cumple
Reproducibilidad	CV global del % de recobro	0.38 %	≤ 3 %	Cumple
Estabilidad	CV global del % de recobro	1.99 %	≤ 3 %	Cumple
Selectividad	No se presentan interferencias		Cualquier interferencia no debe producir un error mayor al aceptado en precisión y exactitud.	Cumple
Influencia del filtro	Promedio del % de variación en cada punto	1.02 %	≤ 2 %	Cumple

La validación fue realizada con éxito por lo que se procedió a utilizar dichos métodos para la cuantificación de IDM.

3.2.5 Perfil de disolución *in vitro*

3.2.5.1 Microesferas de los polímeros con parámetros optimizados

En la Figura 22 se puede observar la comparación del perfil de liberación realizado a las microesferas, de las cuales, ninguna presentó una liberación de más del 2 % en la primera hora de prueba, por otro lado, las de inulina liberaron el 100 % del PA en la segunda hora de prueba, al entrar en contacto con medio de pH 6.8, el Eudragit® S100 permitió retardar el tiempo de liberación hasta la tercera hora de prueba debido a la capacidad gastroresistente del polímero, por otro lado, la goma guar permitió prolongar la liberación por una hora más alcanzado la cuarta hora de prueba; finalmente, el polímero HPMC prolongó la liberación del PA hasta la tercera etapa alcanzado seis horas de prueba, siendo la formulación que alargó la liberación por más tiempo.

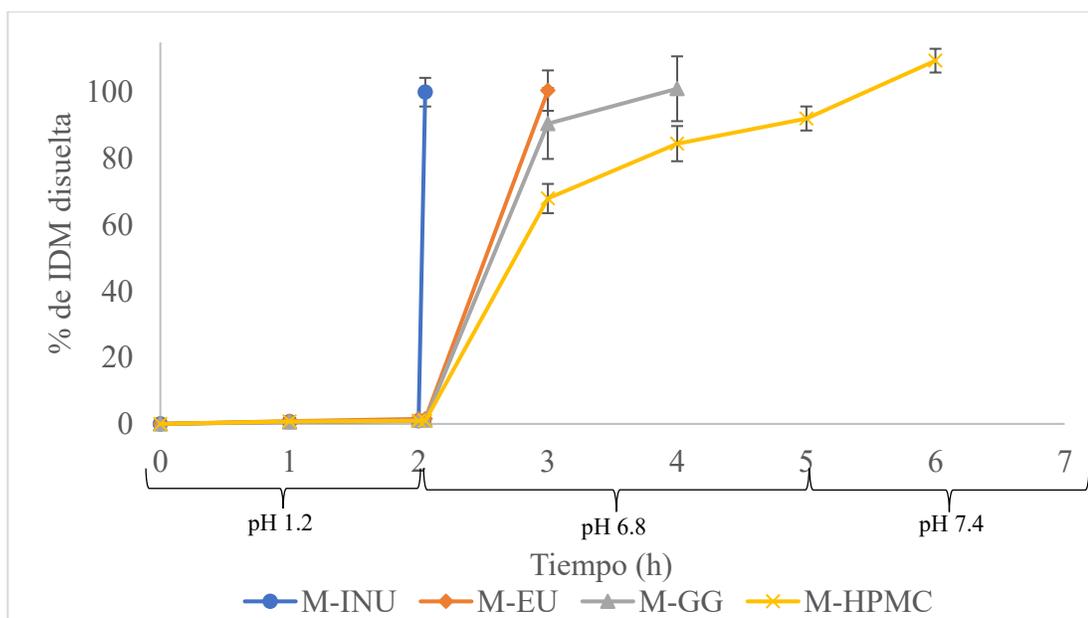


Figura 22. Perfil de liberación de las microesferas finales: microesferas de inulina (M-INU), Eudragit® S100 (M-EU), goma guar (M-GG) e hidroxipropilmetilcelulosa (M-HPMC).

3.2.5.2 Desarrollo de microesferas obtenidas por combinación de los polímeros con mejores resultados previos.

Una vez analizados los resultados obtenidos previamente, se procedió a desarrollar microesferas utilizando los polímeros que presentaron los mejores resultados en el aspecto de rendimiento y en el perfil de disolución, creando una nueva formulación utilizando 10 % de inulina, 0.2 % de HPMC y 5 % de IDM. En la Figura 23 se observan los resultados de las microesferas obtenidas, las cuales presentaron un rendimiento de 66 % y una eficiencia de encapsulación de 75.8 %. Después del proceso de recubrimiento al que se sometió la microesfera, el rendimiento final de las microesferas disminuyó a 43.48 % y su eficiencia de encapsulación a 57.5 %, consecuencia del proceso, cabe mencionar que no fue posible calcular la ganancia de peso del recubrimiento debido a que el peso final del total de microesferas utilizadas al inicio disminuyó en vez de aumentar.

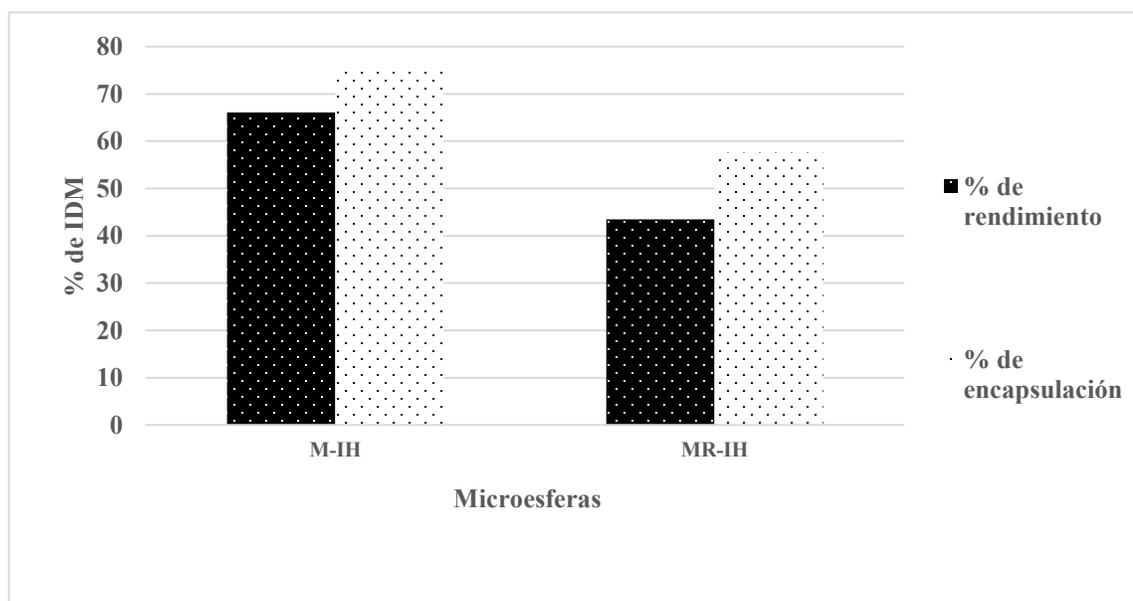


Figura 23. Comparativa de los resultados de rendimiento y encapsulación de las microesferas obtenidas de la mezcla de inulina y HPMC sin recubrir (M-IH) y recubiertas (MR-IH)

3.2.5.3 Perfil de disolución de las microesferas recubiertas

En la Figura 24 se puede observar la comparación del perfil de liberación realizado a las microesferas obtenidas de la mezcla de HPMC e inulina comparadas con las recubiertas con Eudragit S100 y las que contienen únicamente HPMC, observando un comportamiento similar ya que las tres logran prolongar el tiempo de liberación hasta la sexta hora de prueba, alcanzando a liberar un promedio del 11 % del PA en la tercera etapa de la prueba.

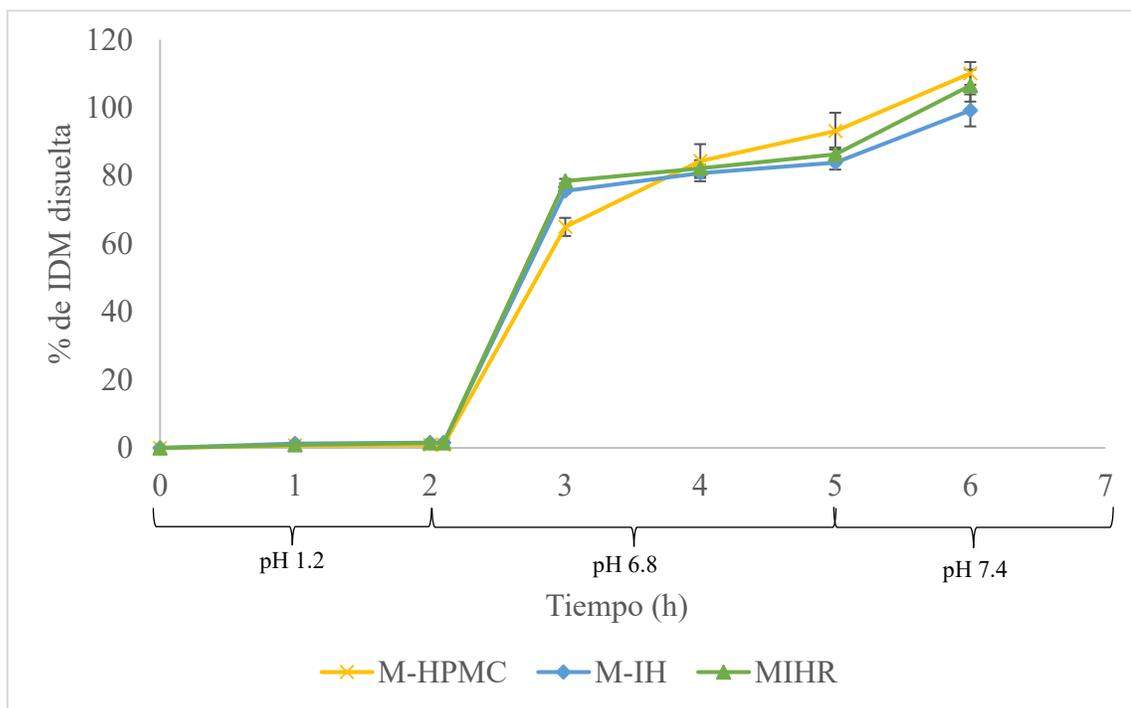


Figura 24. Perfil de liberación de las microesferas de HPMC (M-HPMC), mezcla Inulina-HPMC (M-IH) y mezcla Inulina-HPMC recubiertas de Eudragit® S100 (M-IHR)

CAPÍTULO 4

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1 Análisis de compatibilidad

Para el desarrollo de las microesferas, los polímeros juegan un papel importante: sirven como vehículo para proteger el PA del medio fisiológico, darle mayor estabilidad, crear una barrera para controlar la difusión del fármaco, entre otras funciones, por lo tanto, la selección de un polímero que cumpla con las características anteriores es de vital importancia (Moshiur, *et al.*, 2017).

En el análisis de interacción por IR de las microesferas, no fue posible identificar los picos característicos de la IDM debido a que esta se encontraba en el interior de las mismas, resultados similares son reportados por Duperyrón *et al.*, 2013; para poder detectar la IDM en las microesferas se realizó la DSC que permitió identificar el punto de fusión de cada polímero y del PA, este valor ya se encuentra reportado en la literatura, lo que permite que sea utilizado para determinar el estado cristalino o amorfo de la sustancia, además de detectar alguna interacción existente; el punto de fusión encontrado indicó que la IDM utilizada para este trabajo se encuentra en su estado cristalino con el polimorfismo γ , al mezclarlo con los polímeros y analizarlo junto con las microesferas, se determinó que

se mantuvo estable durante la temperatura de trabajo (Elkhodaity *et al.*, 2013; Tawfeek, *et al.* 2017).

4.2 Diseño de experimentos para la obtención de microesferas

En el método de secado por atomización existen diversos factores que pueden impactar en las variables respuestas por lo que es necesario analizar cada factor de manera individual y entender los fenómenos que participan en el proceso de formación de las microesferas para optimizar el método. En la eficiencia de encapsulación del PA en las microesferas de inulina, el caudal de alimentación presenta un efecto positivo sin llegar a ser estadísticamente significativo, una explicación para este fenómeno es que al aumentar el flujo, la presencia de agua aumenta al momento de la atomización, por lo tanto, provoca un aumento de la fuerza de unión hidrofóbica entre las partículas de indometacina suspendidas y con las zonas no polares de los polímeros, contemplando interacciones entre grupos aromáticos y metilos presentes en las moléculas forzado por la repulsión de la fase acuosa externa, lo que provoca el incremento de la eficiencia de encapsulación, características similares fueron obtenidas y reportadas por Duperyón y cols en el 2013 donde mencionaron que la indometacina es un fármaco hidrófobo que muestra mayor afinidad por el polímero que por el medio acuoso externo, en ese caso utilizaron Eudragit® L100 (Duperyón, *et al.* 2013; Santos, *et al.* 2017).

La temperatura es otro factor importante, debido a que tiene la propiedad de evaporar el solvente utilizado o degradar los componentes de la formulación: altas temperaturas provocan una evaporación acelerada del solvente y una rápida formación de microesferas, esto conlleva una mejor eficiencia de encapsulación (Santos, *et al.* 2017).

El factor porcentaje de polímero presente en la formulación juega un papel importante en la eficiencia de encapsulación presentando un efecto negativo: las propiedades del polímero utilizado, así como la proporción utilizada con respecto al PA afectan el resultado en esta variable respuesta (Dupeyrón *et al.*, 2013). Un ejemplo de esto se puede observar en el caso de la inulina: siendo esta un polímero hidrofílico, al aumentar su presencia, sus cadenas tienden a tener afinidad entre sí y con la fase acuosa externa rompiendo el equilibrio polímero-PA, lo que provoca una disminución de la eficiencia de encapsulación de 83 a 49 % al incrementar la inulina del 10 al 20 % en la formulación, por otro lado, si el polímero presentara un carácter más lipofílico en sus grupos funcionales permitiría una mejor interacción con la indometacina mejorando así la eficiencia de encapsulación como los resultados obtenidos por Sarisözen y cols en el 2010 donde realizaron microesferas de acetato de prednisolona por spray drying utilizando quitosano, en ese trabajo se reportó un aumento de la eficiencia de encapsulación de 4.6 a 44 % cuando el porcentaje de quitosano se incrementa en la formulación de 0.5 a 1 %, así mismo, si el peso molecular del quitosano es mayor, mejor es la interacción con el fármaco, al incrementar los grupos acetilados que permiten una mejor afinidad con el PA en comparación con la fase externa acuosa. La inulina fue el polímero más soluble y menos viscoso, en comparación con el resto, es muy probable que estas características permitieran obtener resultados con diferencias significativas en comparación con los demás polímeros, que, debido a sus propiedades, sería necesario ampliar el rango de trabajo para mejorar los resultados del diseño experimental en los polímeros que no presentaron diferencias significativas.

En los resultados del diseño experimental de la variable respuesta porcentaje de rendimiento solamente los resultados de las microesferas de goma guar presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) siendo el polímero con menor porcentaje utilizado y el más viscoso, en comparación con el resto. El flujo de alimentación tiene un efecto importante ya que, al aumentar, disminuye el rendimiento del proceso (Santos, *et al.* 2017), esto es provocado por el aumento del volumen atomizado lo que incrementa la presencia de agua y retrasa la evaporación del solvente, principalmente en soluciones viscosas (Al-asheh, *et al.* 2003), lo que ocasiona que la mezcla se impregne en las paredes de la cámara de secado coincidiendo con lo reportado por Conte y cols. en 1994, donde realizaron microesferas de diazepam utilizando ácido poliláctico por spray drying. Al analizar sus resultados presentaron un rendimiento promedio de 44 % donde se utilizó un caudal de 2 mg/min y de 20 % con un caudal de 7 mg/min a 44 °C. Se observa una disminución del rendimiento cuando el caudal aumenta, discutiendo que el causante del bajo rendimiento es provocado por la pérdida de la solución atomizada que se impregna en la cámara de secado. Tomando en cuenta dicha información y al observar el efecto del caudal en el rendimiento, comparándolo con nuestros resultados se encuentra el mismo patrón: al incrementar el caudal de 2.5 a 5 mg/min, el rendimiento disminuye de 33.2 a 11.2 %.

La temperatura, sin embargo, tiene un efecto positivo, debido a que, al incrementarse, mejora el resultado de rendimiento, esto se debe en parte a lo discutido por Santos y cols, en el 2017, en su revisión realizada sobre la técnica spray drying donde argumenta que, al aumentar la temperatura, ocurre una evaporación más rápida del solvente, lo cual disminuye el hecho de que la suspensión se impregne en la cámara de secado. Este

fenómeno se aprecia en el trabajo sobre esta técnica en 1994, realizada por Conte y cols., donde prepararon microesferas de diazepam utilizando ácido poliláctico, en el que reportaron que el mejor rendimiento (53 %) se obtuvo a una temperatura de 62 °C y el peor resultado (20 %), con una temperatura de 44 °C, coincidiendo con los resultados de este trabajo donde se observa, igualmente, que al incrementar la temperatura (por ejemplo: de 150 a 175°C) se mejora el rendimiento del proceso (de 21.2 a 33.2 %).

Otro factor importante es el porcentaje de polímero presente en la formulación: al aumentar, se incrementa la presencia de sólidos aumentando la viscosidad, lo cual provoca que al momento de atomizar no se alcance a evaporar el solvente en su totalidad lo que ocasiona que la mezcla se impregne en la cámara de secado, coincidiendo con lo reportado por Shah y cols, en el 2015, ellos encontraron que la disminución del rendimiento es debido a que el líquido se impregna en la cámara de secado y en sus resultados se observa una leve disminución del rendimiento de 38.25 a 38.11 % sin ser significativo cuando el porcentaje de polímero aumenta; por otro lado, Katsarov y cols. en el 2017, realizaron microesferas de quitosano por spray drying, donde reportaron que al incrementar el porcentaje de polímero de 1 al 2 % mejora el rendimiento de 54 a 64 % cuando se utiliza una tasa del 10 % de caudal, al compararlos con los resultados obtenidos en este trabajo el incremento de rendimiento es de 32 a 33 % con un caudal de 2.5 mg/min si se aumenta el porcentaje de polímero de 0.21 a 0.41 %. Por otro lado, Katsarov y cols. en el 2017 reportan que al aumentar el caudal de 10 a 18 % y aumentar el porcentaje de polímero de 1 a 2 % se presenta una disminución del rendimiento hasta del 26.81 %, pasando de 64.33 a 37.52 %, resultados similares a los encontrados en este trabajo, donde se observa que al aumentar el caudal de 2.5 a 5 mg/min y, además, incrementar el porcentaje de polímero

de 0.21 a 0.41 % se presenta una pérdida del rendimiento del 18 % pasando de 33 a 15 % de rendimiento, el resultado de la pérdida es menor a la obtenida en este trabajo, esta diferencia es debido al tipo de polímero y cantidades utilizadas en cada diseño, por lo que se concluye que el porcentaje de polímero presenta un efecto negativo en el resultado rendimiento y además presenta una interacción con el caudal, cuando los dos se incrementan, el porcentaje de rendimiento se ve afectado presentando un efecto sinérgico negativo.

4.3 Optimización de los parámetros

Con el análisis de los resultados del diseño experimental, el software sugirió los valores para los parámetros evaluados, recomendando el valor más alto utilizado para la temperatura y el valor más bajo para el caudal de alimentación en los cuatro polímeros, siendo esto adecuado de acuerdo con el análisis previo donde se determinó que la temperatura provoca un efecto positivo si aumenta y el caudal un efecto negativo; así mismo en el caso del porcentaje de polímero se adecuó para cada formulación utilizar el valor más bajo ya que este parámetro presenta un efecto negativo en su valor más alto (Shah, *et al.*, 2015, Santos, *et al.* 2017). A pesar de que no todos los polímeros presentaron diferencias significativas en sus resultados dentro del diseño experimental, los valores obtenidos al realizar las microesferas con los parámetros optimizados sí concordaron con lo estimado por el software mejorando los resultados para la mayoría de las microesferas obtenidas, lo que permite confirmar la importancia de realizar un diseño experimental en procedimientos de elaboración de microesferas donde intervienen diferentes parámetros, coincidiendo con Narayan y cols. en 2001 y Shah y cols. en 2015, donde ambos realizaron

un diseño experimental para la obtención de microesferas por spray drying concluyendo que esto permite optimizar el proceso y mejorar los resultados.

4.4 Comparación de las microesferas

El equipo de secado por aspersión utilizado, Büchi Mini-B290, para la obtención de microesferas puede alcanzar un rendimiento máximo promedio de 70 %, dato reportado como alto por el fabricante (BÜCHI), este valor es considerado como bueno según el análisis realizado por Santos y cols en el 2017 en una revisión con respecto a la utilización de la técnica spray drying para la obtención de microesferas y calificando como excelente los resultados cercanos al 100 % de rendimiento. Esta variación en el rendimiento es debido a las diferentes complicaciones que presenta la técnica. El rendimiento obtenido en cada caso dependerá de las características del polímero utilizado y del PA, además de otros factores que participan en el proceso. Al realizar una comparación entre las microesferas obtenidas (figura 17), las de inulina son las que presentan mejores resultados de rendimiento obteniendo un 75.41 %, si se compara con los resultados conseguidos por Dima y cols. en 2016 (63.56%), donde utilizaron inulina y quitosano (1:1) para producir microesferas de aceite esencial del cilantro con el mismo método de producción, se puede observar un ligero incremento del rendimiento en este trabajo, esto podría ser debido a que se utilizó inulina de manera individual lo que pudo provocar que la suspensión preparada presentara menor viscosidad en comparación con la emulsión de inulina con quitosano.

El Eudragit® S100, polímero poco viscoso, tuvo resultados de 70.32 % de rendimiento, ligeramente menor a los obtenidos por Deore y colaboradores en el 2013 por

el método emulsión evaporación del solvente (76.93%) donde utilizaron Eudragit® L100 y S100 (1:1) para producir microesferas de tinidazol. El método emulsión evaporación del solvente suele ofrecer mejores resultados, pero con una consecuencia importante ya que los solventes orgánicos utilizados producen contaminantes que perjudican al medio ambiente en comparación con el método utilizado en este trabajo que promueve el cuidado del medio ambiente al no utilizar solventes orgánicos.

Por otro lado, las microesferas de goma guar obtuvieron un rendimiento de 31.71 %, siendo resultados bajos pero aceptables si se comparan con los obtenidos por Kaur y cols. en el 2017, donde utilizaron goma guar y goma xantana (1:0.5) para producir microesferas de mesalamina por el método polimerización en emulsión con un resultado del 11.83 % de rendimiento, esta diferencia puede estar dada por la viscosidad que provoca la goma guar y la goma xantana afectando el proceso de polimerización e interfiriendo con el movimiento de los radicales libres y el desplazamiento de la fase oleosa que contiene el fármaco de una manera más crítica en comparación con el proceso de atomización llevado a cabo en este trabajo donde solo se utilizó goma guar.

Los resultados de rendimiento de las microesferas de HPMC (37.13%) y goma guar (31.71%) fueron los más bajos debido a la alta viscosidad del polímero, lo cual ocasiona que, al momento de atomizar la suspensión en la cámara de secado, esta no sea secada en su totalidad lo que provoca que se impregne en las paredes, ocasionando pérdida de la suspensión.

Por otro lado, en el análisis de la eficiencia de encapsulación, las microesferas de goma guar presentaron un resultado de 100 %, mayor en comparación a las obtenidas por Kaur

y cols en el 2017 (69 %), las diferencias observadas en los resultado pueden estar dadas por el método utilizado siendo el método de secado por aspersion el que asegura una encapsulación más eficiente cuando la viscosidad aumenta, asegurando el encapsulamiento de las partículas suspendidas del fármaco ya que, al evaporarse el solvente, el polímero atrapa al PA, por el contrario en el proceso de polimerización en una emulsión las dos fases presentan una fuerza de repulsión que interfiere en el proceso de polimerización de los radicales libres afectando el resultado de encapsulación cuando no se utiliza un surfactante adecuado.

Las microesferas de Eudragit®S100 presentaron un 97.27 % de eficiencia de encapsulación, resultados superiores a los obtenidos por Deore y cols. en el 2013 (66.51 %) donde utilizaron solventes orgánicos durante el proceso de obtención por el método emulsión evaporación del solvente, la utilización de diversos solventes para cada fase de la emulsión y el proceso de agitación son factores que impactan en el resultado de encapsulación del PA, pero mejoran los resultados en el perfil de liberación. Los componentes de cada fase presentan una resistencia al momento de mezclarse provocando una disminución de la encapsulación, aunado a eso la falta de un diseño experimental para determinar los mejores parámetros podría ser la razón por la que no hayan obtenido un mejor resultado.

Las microesferas de inulina obtuvieron una eficiencia de encapsulación de 88.41 %, resultados superiores a los obtenidos por Jain y cols. en el 2014 (35 %) por el método de electrospray utilizando acetato de inulina para producir microesferas de indometacina, siendo este polímero más viscoso que la inulina de agave utilizada en este trabajo, factor importante al momento de la pulverización y formación del cono de Taylor que da pie a

la forma geométrica esférica de las microesferas causada por la tensión superficial de los líquidos involucrados permitiendo una mejor encapsulación del PA, por lo que este proceso pudo verse afectado por la viscosidad y el voltaje utilizado, entre otros factores (Wang y Zhao, 2019). Cabe mencionar que el electrospray presentó un mejor rendimiento en comparación con este trabajo ya que toda la emulsión es pulverizada y formada en microesferas en comparación con el spray drying en donde se impregnan las paredes del equipo si no se llega a evaporar a tiempo el solvente.

Por otro lado, la HPMC presenta un porcentaje de encapsulación de 56.74 %, siendo este el menor resultado obtenido por lo que si consideramos el bajo rendimiento mostrado es necesario utilizarlo en mezclas con otros polímeros que presenten mejores resultados y aprovechar la característica que presenta la HPMC de prolongar el tiempo de liberación del PA en las formulaciones. Esto aplicaría de igual manera para la goma guar, que presenta el mejor resultado de encapsulación, pero el más bajo resultado de rendimiento: mezclarlos con polímeros como la inulina y el Eudragit® S100 podría dar lugar a microesferas con mejores características.

4.5 Morfología por SEM

Las microesferas obtenidas con los parámetros optimizados presentan diferentes características morfológicas dependiendo del polímero utilizado, en el proceso de formación de las microesferas, el solvente presente en la gota atomizada es eliminado por la temperatura permitiendo la unión de los sólidos presentes en ellas (Dupeyrón, *et al.* 2013; Santos, *et al.* 2017). Esta unión de las partículas se puede observar en las microesferas de Eudragit formando una superficie granulada y arrugada debido a la solubilidad parcial del polímero; así mismo, la forma de las microesferas depende, en gran

parte, de la velocidad de evaporación del solvente. En este trabajo no se evaluó el efecto de la temperatura en la morfología de las microesferas, pero utilizar una temperatura elevada es muy probable que sea la causa de que se obtuvieran microesferas de forma irregular como las de Eudragit y HPMC debido al solvente atrapado en las zonas cercanas a la superficie de las microesferas que al evaporarse forma cavidades que pudieran estallar o formar bordes y crear diferentes morfologías, no esféricas, fenómenos que se presentan durante la atomización y formación de la microesfera, descritos y analizados por Santos y cols. en su revisión sobre la morfología de las microesferas obtenidas por spray drying en 2017. Por otro lado, la goma guar presentó características esféricas y lisas con pequeñas partículas del PA sobre la superficie, siendo las microesferas de este polímero las que presentaron mejores resultados morfológicos, coincidiendo con los resultados reportados por Siede y cols. en el 2016, donde utilizaron goma guar parcialmente hidrolizada para la formulación de microesferas de extracto de uva; así mismo, las microesferas de inulina fueron las de mayor tamaño, más de 900 micrómetros, y en la que se puede observar una aglomeración siendo esta la responsable del incremento del tamaño, esto es debido principalmente a la característica del polímero ya que presenta una alta higroscopicidad coincidiendo con lo obtenido por Poulain y cols. en el 2003, donde formularon microesferas utilizando inulina por el método de coacervación, en ese estudio los autores confirman que la aglomeración se hace presente pero esta disminuye al modificar la estructura de la inulina por medio de la metilación de la misma, lo que permite evitar este fenómeno y obtener microesferas con características lisas y esféricas con menos aglomeraciones y de menor tamaño (4 μm), en comparación con las obtenidas en este trabajo.

4.6 Perfil de disolución *in vitro*

La inulina es un polímero resistente al medio ácido por lo que no permite la liberación del PA en la primera etapa de prueba, pero libera el 100% del PA al momento del cambio al segundo medio (pH 6.8); al comparar este resultado con los obtenidos por Poulain y cols. en el 2003, al elaborar microesferas de inulina proveniente de tubérculos de dahlia se observa en el perfil de liberación en medio con pH de 7.4, una cesión rápida del 65 % del PA en los primeros 5 minutos y el resto se prolongó hasta por más de 3 días, obteniendo mejores resultados que en este trabajo, posiblemente se deba al tipo de inulina utilizada siendo la de tubérculos de dahlia menos ramificada y más lineal que la de agave, lo cual permite una mejor formación de la barrera gelificada, similar a la formada en las microesferas de goma guar e HPMC, que forman una capa de gel que crea una barrera con poros que permiten ceder lentamente el PA alcanzando una liberación prolongada (Siepmann y Peppas, 2012; Sathya y Prabakaran, 2017).

El tiempo de liberación del PA está determinado por el porcentaje del polímero presente en la formulación, siendo la HPMC, la que se encuentra en mayor porcentaje en comparación con la goma guar; este tiempo puede aumentarse si en la formulación se aumenta la cantidad del polímero, pero las consecuencias de esta opción repercuten en una disminución en el rendimiento del proceso de obtención de las microesferas por el aumento de la viscosidad.

Así mismo, el Eudragit es un polímero gastrorresistente que se solubiliza en condiciones de pH mayor a 7 de manera teórica (Skalsky y Petereit, 2008), sin embargo, en este estudio, las microesferas formuladas con dicho polímero al entrar en contacto con el segundo medio (con pH de 6.8), liberan el 100 % del PA en la segunda hora de la

segunda etapa ya que el polímero comienza a solubilizarse, esto puede deberse a las características morfológicas de las microesferas obtenidas por el método de elaboración acuoso, donde el Eudragit no se solubilizó completamente, lo que facilitó la formación de poros entre las uniones de los sólidos que se observaron en el SEM, lo que permitió la penetración del líquido al interior de la microesfera ocasionando la difusión del PA al exterior, para evitar esta situación es necesario lograr una solubilización del Eudragit® S100 para formar microesferas sin la presencia de poros para lograr retardar el tiempo de liberación de manera más efectiva, como las reportadas por Deore y cols. en el 2013 obtenidas por el método emulsión evaporación del solvente donde utilizaron acetona y alcohol como solventes y Eudragit S100/ L100 1:1 como polímeros, obteniendo formas esféricas con superficie lisa sin observarse las aberturas entre las partículas que dan forma a la microesfera.

4.7 Microesferas recubiertas

Las microesferas de inulina presentaron el mejor resultado en el porcentaje de rendimiento y encapsulación y las de HPMC fueron las que prolongaron por más tiempo la liberación del PA, por esta razón se eligieron los dos polímeros para desarrollar una nueva formulación con la combinación de ambos, las respuestas de rendimiento y encapsulación de las microesferas obtenidas presentaron resultados intermedios con respecto a los individuales de cada polímero. En el perfil de liberación, los resultados fueron similares a los de HPMC ya que contenían el mismo porcentaje que la formulación individual de este polímero. Al realizar el método de recubrimiento con Eudragit® S100 en lecho fluido, el rendimiento final disminuyó debido a las pérdidas que se generaron en el proceso. Al momento de realizar el perfil de liberación se observó que presentaron el

mismo comportamiento que las microesferas sin recubrir, por lo que el recubrimiento no permitió retardar la liberación como se tenía contemplado teóricamente. Esto es debido a que, para realizar el recubrimiento, se requirió realizar un proceso de granulación de las microesferas permitiendo así obtener un mayor tamaño para disminuir las pérdidas a través de los poros de los filtros utilizados, debido a lo cual, es muy probable que se generaran aglomeraciones con formas diversas y superficies irregulares al momento del recubrimiento, por ello, la película no se depositó de manera uniforme lo que permitió crear poros o un recubrimiento con un grosor de película no suficiente en diversas zonas de las microesferas por donde el líquido del medio penetró fácilmente y disolvió el principio activo, provocando la liberación en el mismo tiempo que las microesferas sin recubrir, perdiendo la funcionalidad del Eudragit® S100 de retardar el tiempo de liberación. Al comparar este trabajo con el desarrollado por Chawla y cols. en el 2012, en el que prepararon microesferas de naproxeno sódico con alginato de sodio recubiertas con Eudragit® S100, ellos reportaron microesferas redondeadas con superficie lisa, que una vez recubiertas, lograron evitar la liberación del PA en la primera (pH 1.2) y segunda etapa (pH 6.8), liberando más del 90 % del PA en la tercera etapa del perfil de disolución con un medio con pH de 7.4, así, su forma farmacéutica permitió retardar la liberación y prolongarla hasta por 4 horas después de la tercera etapa, cabe mencionar que el método para recubrir las microesferas utilizado por Chawla y cols. fue emulsión evaporación del solvente, el cual utiliza solventes orgánicos como la acetona y el alcohol que promueven la contaminación del medio ambiente.

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES

Los polímeros como inulina, goma guar, Eudragit S100® y HPMC se pueden utilizar en formulaciones en combinación con la indometacina ya que no presentaron interacción de acuerdo con los resultados de la espectrometría infrarroja y la calorimetría diferencial de barrido, esto permitió producir las microesferas de manera adecuada, confirmando, al final de su obtención, que la metodología utilizada mantuvo estable al PA durante el proceso conservando sus propiedades.

Se validó de manera correcta la metodología espectrofotométrica para la cuantificación de IDM en el perfil de disolución de las distintas microesferas de acuerdo con la normatividad vigente cumpliendo con los criterios de aceptación para los parámetros exactitud y reproducibilidad, garantizando resultados confiables y seguros.

El diseño de experimentos realizado permitió analizar el impacto de los factores que intervienen en el proceso de formación de microesferas mediante el método de secado por aspersión, logrando distinguir que la temperatura presenta un efecto positivo en las variables respuesta rendimiento y encapsulación, por otro lado el caudal presentó un efecto positivo en la eficiencia de encapsulación pero negativo en el rendimiento, y el porcentaje de polímero presentó un efecto negativo en las dos variables respuesta, cabe

mencionar que un efecto positivo indica que conforme el valor del parámetro aumenta, el resultado de la variable respuesta también lo hace y un efecto negativo indica que al aumentar el valor del parámetro, la respuesta disminuye; a pesar de que sólo los polímeros inulina y goma guar presentaron diferencias estadísticamente significativas en los resultados, se observó una tendencia en los demás polímeros de manera similar, esto permitió optimizar el valor de los parámetros de acuerdo con lo sugerido por el software ayudando a mejorar los resultados de la mayoría de las microesferas.

La inulina de agave puede ser utilizada para la obtención de microesferas de indometacina, ya que presenta buenos resultados de rendimiento y encapsulación al utilizar temperatura de 170 °C, una concentración de polímero del 10 % en una relación 2:1 con la indometacina y un caudal de alimentación de 5 mg/min. Las microesferas obtenidas liberan el PA de forma retardada hasta la segunda etapa de prueba y presentan características higroscópicas por lo que tienden aglomerarse y formar partículas de mayor tamaño (990 µm) en comparación del resto.

El Eudragit® S100, a pesar de no ser soluble en agua, puede adecuarse con hidróxido de amonio para su utilización como formador de microesferas en una concentración de 5 % en la suspensión y una relación 2:1 con la indometacina, una temperatura de 170 °C y un caudal de 5 mg/min, las microesferas obtenidas presentaron un buen resultado de encapsulación y rendimiento, así mismo, permitieron retardar el tiempo de liberación hasta la tercera hora de prueba; el método de producción de las microesferas obtuvo formas granuladas que permitían observar la unión de las partículas de Eudragit® S100 provocando la penetración del líquido del medio a través de estas uniones en su interior lo que ocasionó la liberación del PA en un pH de 6.8

La goma guar presentó buenos resultados de encapsulación, por lo que puede utilizarse para formar microesferas de indometacina, con perspectivas de adecuar la formulación para mejorar el rendimiento, ya que se necesitan cantidades grandes de la formulación para obtener suficientes microesferas. Por otro lado, la característica de producir una barrera gelificada al momento de entrar en contacto con el medio de disolución permite prolongar la liberación del PA hasta la cuarta hora de prueba, por lo cual es una buena opción para mezclarlo con otros polímeros para mejorar su rendimiento sin perder sus propiedades de liberación prolongada del PA.

La HPMC puede formar microesferas con la indometacina, ya que permite prolongar la liberación del PA por más tiempo en comparación de los otros polímeros, debido a su propiedad de formación de una barrera gelificada que mantiene el PA en su interior y por medio de la difusión y erosión va cediendo el PA al medio, lentamente. Al utilizarla de manera individual presenta los resultados más bajos en comparación del resto de polímeros en las dos variables respuestas por lo que implica un reto mejorar estos resultados debido a su cualidad deseada de prolongar la liberación del PA.

La combinación entre inulina y HPMC permitió obtener una nueva formulación que logró mantener las propiedades de la inulina en conjunto con las de la HPMC para lograr obtener microesferas con rendimiento y encapsulación similares a las de la inulina sola y sin perder la propiedad de prolongar la liberación del PA de la HPMC, esto abre la posibilidad de realizar más combinaciones en el futuro para mejorar las propiedades de las microesferas obtenidas, se debe de tomar en cuenta que si se requiere prolongar por más tiempo la liberación del PA se tendría que aumentar el porcentaje de HPMC en la formulación lo que impactaría en el rendimiento de manera negativa.

Por otro lado, se realizó un método de recubrimiento entérico acuoso por medio de un lecho fluido, esto representó un reto ya que manipular microesferas en este equipo es complejo por lo que se requirió aumentar el tamaño de las microesferas por medio de la granulación para un mejor proceso, esto abre un nuevo panorama en el que se requiere de un diseño experimental donde se analicen los parámetros que intervienen en el proceso de recubrimiento de micropartículas, ya que el proceso del recubrimiento entérico impacta directamente en el rendimiento del proceso general, disminuyendo la cantidad total de microesferas recubiertas obtenidas.

Así mismo, se generó información con respecto al comportamiento de las microesferas granuladas al ser recubiertas con Eudragit® S100 por un método acuoso: a pesar de su forma y superficie irregular se logró aplicar una película de recubrimiento, dichas microesferas liberaron un 11 % del PA en la tercera etapa de prueba del perfil de liberación. Para lograr una liberación en mayor proporción en el colon es necesario utilizar un método diferente de recubrimiento para lograr la efectividad teórica del Eudragit® S100 de liberar el PA en un medio con un pH mayor a 7.0 y así lograr retardar el tiempo de liberación de la mayor parte del PA durante la tercera etapa de prueba del perfil de disolución.

Las microesferas representan el futuro en las formulaciones para elaboración de medicamentos, identificar el aporte de cada polímero en las características de las microesferas es de vital importancia, así como el conocer la influencia de los parámetros del método secado por aspersión en el resultado final; mediante la aplicación de un diseño experimental se logra optimizar los procesos enfocándose en el resultado deseado, esto permitirá brindar información suficiente y ser el punto de partida para futuras investigaciones en esta área.

6. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Pinto, J. F. Site-specific drug delivery systems within the gastro-intestinal tract: from the mouth to the colon. *International Journal of Pharmaceutics*. 395: 44-52. (2010).
- 2 Hua, S., Marks, E., Schneider, J. J., Keely, S. Advances in oral nano-delivery systems for colon targeted drug delivery in inflammatory bowel disease: selective targeting to diseased versus healthy tissue. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*. 11(5): 117-1132. (2015).
- 3 Banerjee, A., Qi, J., Gogoi, R., Wong, J. y Mitragotri, S. Role of nanoparticle size, shape and surface chemistry in oral drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 238(28): 176-185. (2016).
- 4 Yusel, N., Baykara, M., Shirinzade, H., Suzen, S. Investigation of triacetin effect on indomethacin release from poly-(methyl methacrylate) microspheres: Evaluation of interactions using FT-IR and NMR spectroscopies. *International Journal of Pharmaceutics*. 404: 102-109. (2011).
- 5 Keshavarao, K. P., Mudit, D., Selvam, P. y Rudra, S. D. Formulation and evaluation of indomethacin microspheres for colonic drug delivery system. *International Research Journal of Pharmacy*. 2(8):181-184. (2011).
- 6 Lopez, M, D. Chazarra, S. Wun, H, C. Pruidze, N. Navarro, P, E. García, C, F. García, R, P, A. Rojas, M, F. Rodríguez, L. J. N. Cinnamate of inulin as a vehicle for delivery of colonic drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 479(1): 96-102. (2015).

- 7 Qureshi, A. M., Momin, M., Rthod, S., Dev, A. y Kute, C. Colon targeted drug delivery system: A review on current approaches. *Indian Journal of Pharmaceutical and Biological Research*. 1(4): 130-147. (2013).
- 8 Sharma, S., Kaur, J., Sharma, G., Kishor, T. K., Chauhan, G. S. y Chauhan, K. Preparation and characterization of pH-responsive guar gum microspheres. *International Journal of Biological Macromolecules*. 62:636-641. (2013).
- 9 Sáez, V., Hernández, E., Sanz, A. L., Katime, I. Liberación controlada de fármacos. Microparticulas. *Revista Iberoamericana de Polímeros*. 5(2):87-101 (2018).
- 10 Ramos, P. D., Gómez, C. M., Fernández, M. D. Métodos de obtención de microesferas biodegradables. *Rev. Cubana Farm*. 35(2):126-135. (2001).
- 11 Villicaña, M. E., Pacheco, C. E., Aguilar, R. EA., León, P. CA. 2020. Pectin and chitosan microsphere preparation via a water/oil emulsión and solvent evaporation method for drug delivery. *International Journal of of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. 69(7):467-475. DOI: <https://doi.org/10.1080/00914037.2019.1581199>
- 12 Wang P. and Meng Z. 2019. Progress in polystyrene microspheres. *IOP Conf. Ser: Mater. Sci. Eng*. 563:022001. DOI:10.1088/1757-899X/563/2/022001.
- 13 Wang M. and Zhao Q. 2019. Electrospinning and Electrospray for Biomedical Applications. Narayan R. *Encyclopedia of Biomedical Engineering*. 330-344. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801238-3.11028-1>.
- 14 Traffano-Schiffo, M. V., Castro-Giraldez, M., Fito, P. J., Pérullini, M., Santagapita, P. R. 2018. Gums induced microstructure stability in Ca(II)-alginate beads containing lactase analyzed by SAXS. *Carbohydrate Polymers*, 179. 402-407. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.09.096>

- 15 Dorđević, V., Balanč, B., Belščak-Cvitanović, A., Lević, S., Trifković, K., Kalušević, A., Nedović, V. (2015). Trends in encapsulation technologies for delivery of food bioactive compounds. *Food Engineering Reviews*, 7(4), 452–490
- 16 Arpagaus, C., Schafroth, N., y Meuri M. Laboratory scale spray drying of inhalable drugs: A review. Consultado en www.buchi.com. Information Bulletin, Number 59. (2010). <<https://static1.buchi.com/sites/default/files/downloads/B-290_BB_59_Laboratory_Scale_Spray_Drying_of_inhalable_drugs_en_01.pdf?794135a9076abc2f92759132baeff30470884a1e>> ultima consulta: 06 de septiembre del 2018.
- 17 Dima, C., Patrascu, L., Cantaragiu, A., Alexe, P., Dima, S. The kinetics of the swelling process and the release mechanisms of *Coriandrum sativum* L. essential oil from chitosan/alginate/inulin microcapsules. *Food chemistry*. 195:39.48. (2016).
- 18 Hartzell, A, L. Maldonado, G. M. X. Yang, J., Hutkins, R. W. y Rose, D. J. In vitro digestion and fermentation of 5-formyl-aminosalicylate-inulin: a potential prodrug of 5-aminosalicylic acid. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 2(1): 8-14. (2013).
- 19 Bosio, V. E., Basu, S., Abdulla, F., Chacon, V. M. E., Guida, J. A., Mukherjee, A. y Castro, G. R. Encapsulation of congo red in carboxymethyl guar gum-alginate gel microspheres. *Reactive & Functional Polymers*. 82:103-110. (2014).
- 20 Kumar, S. R. y Tiwari, A. Carbohydrate polymers: Applications and recent advances in delivering drugs to the colon. *Carbohydrate Polymers*. 88:399-416. (2012).

- 21 Poulain, N., Dez, I., Perrio, C., Claire, L M., Prud-homme M. P., Nakache, E. Microspheres based on inulin for the controlled release of serine protease inhibitors: preparation, characterization and in vitro release. *Journal of Controlled Release* 92:27-38. (2003).
- 22 Handbook of pharmaceutical excipients, 5th ed./ edited by Raymond C. R., Pool J. S., Sian C. O. (2006)
- 23 Greg, K. N. D. Inulin-Type Prebiotics-A Review Part 1. *Alternative Medicine Review*. 13 (4). (2008)
- 24 Conceicao, A. A, Goulart de Lima, D. B. P, Esberard M. B. N, Pessoa, A, Converti, A, y Da Silva, J. A. Inulin-type fructans: a review on different aspects of biochemical and pharmaceutical technology. *Carbohydrate Polymer (Carbohydr. Polym.)*. 101:30, 368-378. (2014).
- 25 Jain, A. K., Sood, V., Bora, M., Vasita, R. y Katti, S. D. Electrosprayed inulin microparticles for microbiota triggered targeting of colon. *Carbohydrate Polymers*. 112:225-234. (2014).
- 26 Sosa-Herrera, M. G. y Delgado-Reyes, V. A. Propiedades funcionales y aplicaciones tecnológicas de fructanos. En M. E. Ramirez Oriz (Ed). *Alimentos Funcionales de Hoy*. Barcelona, España: OmniaScience. 97-116. (2016)
- 27 Chirido, F. G, Menéndez, A. M, Martín de Porela, M. L. P, Sosa, P, Toca, M. C, Trifone, L y Vecchiarelli, C. Prebióticos en salud infantil. *Archivos Argentinos de Pediatría (Arch. Argent. Pediatr)*. 109:1, 49-55. (2011).
- 28 Van de W. T. y Boon, N. Possemiers, S. Jacobs, H. Verstraete, W. Prebiotic effects of chicory inulin in the simulator of the human intestinal microbial ecosystem. *FEMS Microbiol. Ecology*. 51:1, 143-153. (2004).

- 29 Pool-Zobel, B. L. y Sauer, J. Overview of experimental data on reduction of colorectal cancer risk by inulin-type fructans. *Journal Nutrition (JN)*. 137: 2580S-2584S. (2007).
- 30 Siepmann, J. y Peppas, N. A. Modeling of drug release from delivery systems hydroxypropyl methycellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews* 64: 163-174. (2012).
- 31 Sathya, S. D. y Prabaharan, M. Guar gum oleate-graft-poly (methacrylic acid) hidrogel as a colon-specific controlled drug delivery carrier. *Carbohydrate polymers* 158(20): 51-57. (2017).
- 32 Skalsky, B. y Petereit, H. U. Chemistry and application properties of polymethacrylate systems. In: McGinity JW, Felton LA. *Aqueous polymeric coatings for pharmaceutical dosage forms*. Informa Healthcare Usa, Inc: New York, pp. 237-240. (2008).
- 33 Laila, F. A., Chetan, B. C. y Sajeev, C. Colon specific delivery of indomethacin: effect of incorporating pH sensitive polymers in xanthan gum matrix bases. *AAPS Pharm SciTech*, 10(2): 418-429, (2009).
- 34 Nicholas, H. G. y Holgford, M. B. *Farmacocinética y farmacodinámica: dosificación racional y curso temporal de la acción farmacológica en Katzung*, B. G., Masters, S. B. y Trevor, A. J. *Farmacología básica y clínica*. Mc Graw Hill, 12ª edición. Pág. 40 (2012).
- 35 Badri, W., Miladi, K., Agha, N. Q., Greige, G. H., Fessi, H. y Elaissari, A. Encapsulation of NSAIDs for inflammation management: Overview, progress, challenges and proespects. *International Journal of Pharmaceutics*. 515:757-773. (2016).

- 36 Smith, W. L., DeWitt, D. L. y Garaito, R. M. Cyclooxygenases: Structural, cellular, and molecular biolog. *Annu. Rev. Biochem.* 69:145-82. (2000).
- 37 Fitzpatrick, F. A. Cyclooxygenase enzymes: Regulation and function. *Current Pharmaceutical Design.* 10: 577-588. (2004).
- 38 Limongelli, V., Bonomi, M., Marinellia, L., Gervasio, F. L., Cavalli, A., Novellino, E., Parrinello, M. Molecular basis of cyclooxygenase enzymes (COXs) selective inhibition. *Proc Natl Acad Sci USA.* 107(12): 5411-5416. (2010).
- 39 Burke, A., Smyth, E. y FitzGerald, G. A. Agentes analgésicos-antipiréticos; farmacoterapia de la gota. En: Brunton, L.L., editor. *Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica.* 11ªed. McGraw Hill Interamericana. Colombia. (2007).
- 40 Smyth, E. M. y FitzGerald, G. A. The eicosanoids: prostaglandins, thromboxanes, leukotrienes, y related compounds. In: Katzung BG, editor. *Basic and clinical pharmacology.* 11ªed. McGraw Hill. (2009).
- 41 Zargui A. and Arfaei S. Selective COX-2 inhibitors: A review of their structure-activity relationships. *Iranian journal of pharmaceutical research.* 10(4):655-683. (2011).
- 42 Sostres, C., Gargallo, C. J., Arroyo, M. T., Lanás, A. Adverse effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs, aspirin and coxibs) on upper gastrointestinal tract. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology.* 24(2): 121-132. (2010).
- 43 Nakajima, A., Inoue, E., Singh, E., Sato, E., Hoshi, D., Shidara, K., Hara, M., Momohara, S., Taniguchi, A., Kamatani, N., Yamanaka, H. Mortality and cause

- of death in japanese patients with rheumatoid arthritis based on a large observational cohort, IORRA. *Scand J Rheumatol*, 39: 360-367. (2010).
- 44 Curtis, J. R., Xie, F., Chen, L., Spettell, C., McMahan, R. M., Fernández, J., Delzell, E. The incidence of gastrointestinal perforations among rheumatoid arthritis patients. *Arthritis and Rheum.* 62(3): 346-351. (2011).
- 45 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 12^a edición. Secretaría de Salud, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. México, D.F. (2018).
- 46 Yang, L., Chu, J. S., Fix, J. A. Colon-specific drug delivery: new approaches and *in vitro/in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmaceutics.* 235(1-2): 1-15. (2002).
- 47 Kotla, N. G., Gulati, M., Singh, S. K., Shivapooja, A. Facts, fallacies and future of dissolution testing of polysaccharide based colon-specific drug delivery. *Journal of Controlled Release.* 178(1): 55-62. (2014).
- 48 Cerciello, A., Auriemma, G., Morello, S., Pinto, A., Del Gaudio, P., Russo, P., P. Aquino, R. Desing and *in vivo* anti-inflammatory effect of ketoprofen delayed delivery systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences* 104:3451-3458. (2015).
- 49 Chandran, S., Surbhi, S. K. y Ali, A. J. F. Microspheres with pH modulated release: design and characterization of formulation variables for colonic delivery. *Journal of Microencapsulation.* 26(59):420-431. (2009).
- 50 Deore, K. L., Thombre, N. A., Gide, P. S. Formulation and development of tinidazole microspheres for colon targeted drug delivery system. *Journal of Pharmacy Research* 6:158-165. (2013).

- 51 Vaidya, A., Jain, S., Agrawal, R. K., Jain, S. K. Pectin-metronidazole prodrug bearing microspheres for colon targeting. *Journal of Saudi Chemical Society*. 19:257-264. (2015).
- 52 Kaur, R., Gulati, M., Kumar, S. S. Role of synbiotics in polysaccharide assisted colon targeted microspheres of mesalamine for the treatment of ulcerative colitis. *International Journal of Biological Macromolecules*. 95:438-450. (2017).
- 53 Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013. Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad. Secretaría de Salud. México (2013).
- 54 Taylor, L. S., y Zografi, G. Spectroscopic Characterization of interactions between PVP and indomethacin in amorphous molecular dispersions. *Pharm Res*. 14(12): 1691-1698. (1997).
- 55 Chen, X., Grieser, U. J., Te, R. L., Pfeiffer, R. R., Morris, K. R., Sowell, J. G., Byrn, S. R. J. Analysis of the acid-base reaction between solid indomethacin and sodium bicarbonate using infrared spectroscopy, X-ray power diffraction, and solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Pharmaceut. Biomed*. 38: 670-677. (2005).
- 56 Afifi, S. A., Walaa, M. M. y Kadria, A. E. Optimization of a novel oral colon delivery system of indomethacin using full factorial desing. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 14(5): 761-768. (2015).

- 57 Higuera, A. R. Evaluación del efecto prebiótico del aguamiel de maguey (*Agave salmiana*) en *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional. México D.F. (2010).
- 58 Velásquez, V. J. A. Obtención y caracterización de inulina entrecruzada como agente encapsulante de α -tocoferol. Tesis de licenciatura. Universidad de Chile. Santiago, Chile. (2011).
- 59 Elkhodairy, K. A., Afifi, S. A. y El-Badry, M. Controlled release colon targeted drug delivery systems of non-steroidal anti-inflammatory drug, indomethacin. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 7(26): 1766-1780. (2013).
- 60 Moshiur, R. S. M., Tushar, S., Zia U. M., Jakir, A. C. Evaluation of physical properties of selected excipients for direct compressible tablet. *Bangladesh Pharmaceutical Journal*. 20(1): 34-38. (2017).
- 61 Dupeyrón, D., Kawakami, M., Ferreira, A. M., Cáceres, V. P. R., Rieumont, J., Bentes, A. R., Carvalho, J. C. T. Design of indomethacin-loaded nanoparticles: effect of polymer matrix and surfactant. *International Journal of Nanomedicine*. 8:3467-3477. (2013).
- 62 Tawfeek, H. M., Abdellatif, A. A. H., Dennison, T. J., Mohammed, A. R., Sadiq, Y., Saleem, I., Y. Colonic delivery of indomethacin loaded PGA-co-PDL microparticles coated with Eudragit L100-55 from fast disintegrating tablets. *International Journal of Pharmaceutics*. 531(1)80-89. (2017).
- 63 Santos, D., Maurício, A. C., Sencadas, V., Domingos, S. J., Fernandes, M. H., y Gomes, P. S. (December 20th 2017). Spray Drying: An Overview, *Biomaterials - Physics and Chemistry - New Edition*, Rosario Pignatello and Teresa Musumeci, IntechOpen. (2017) DOI: 10.5772/intechopen.72247.

- 64 Sarisözen, C., Arica, B., Orman, M. N., Hincal A. & Çalış S. Optimization of prednisolone acetate-loaded chitosan microspheres using a 2³ factorial design for preventing restenosis. *Drug delivery*. 17(3): 178-186. (2010).
- 65 Shah, S. S., Gohil, Y., Pandya, D. N., Meshram, D. B. Preparation and evaluation of spray-dried mucoadhesive microspheres for intranasal delivery of prochlorperazine using factorial design. *Asian Journal of Pharmaceutical*. 9(3):178-189. (2015).
- 66 Al-asheh, S., Jumah, R., Banat, F., Hammad, S. The use of experimental factorial design for analysing the effect of spray dryer operating variables on the production of tomato powder. *Food and Bioproducts Processing*. 81(2):81-88. (2003).
- 67 Conte, U., Conti, B., Giunchedi, P., Maggi, L. Spray dried polylactide microspheres preparation: influence of the technological parameters. *Drug Dev Ind Pharm*. 20(3). 235-258. (1994).
- 68 Narayan, P., Marchant, D., Wheatley, M. A. Optimization of spray drying by factorial design for production of hollow microspheres for ultrasound imaging. *J Biomed Mater Res*. 56(3):333-341. (2001).
- 69 Katsarov, P. D., Pilicheva, B. A., Manev, H. M., Lukova, P. K., Kassarova, M. I. Optimization of chitosan microspheres spray drying via 32 full factorial design. *Folia Med*. 59(3):310-317. (2017).
- 70 Büchi. Minisecado por aspersion B290. << <https://www.buchi.com/es-es/products/spray-drying-and-encapsulation/mini-spray-dryer-b-290>>> consultado por última vez en agosto del 2021.

- 71 Siede, K. L. y Pelayo, Z. N. C. Microencapsulation of grape (*Vitis labrusca* var. Bordo) skin phenolic extract using gum Arabic, polydextrose, and partially hydrolyzed guar gum as encapsulating agents. *Food Chemistry*. 194: 569-576. (2016).
- 72 Chawla, A., Sharma, P. y Pawar, P. Eudragit S100 coated sodium alginate microspheres of naproxen sodium: Formulation, optimization and *in vitro* evaluation. *Acta Pharm*. 62:529-545. (2012).