



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

**“ELABORACIÓN DE MICROESFERAS A BASE DE UNA MATRIZ  
POLIMÉRICA DE QUITOSANO CARGADAS CON ÁCIDO  
ACETILSALICÍLICO UTILIZANDO EL METODO DE  
EMULSIFICACIÓN”**

**Trabajo de integración curricular**

Modalidad: Trabajo experimental

Presentado para optar al grado académico de:

**BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO**

**AUTOR: JEAN PIERRE PULISTAR MANOSALVAS**

**DIRECTOR: BQF. JOHN M. QUISPILLO MSc.**

Riobamba – Ecuador

2021

© 2021, Jean Pierre Pulistar Manosalvas

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

Yo, Jean Pierre Pulistar Manosalvas, declaro que el presente trabajo de integración curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este trabajo de integración curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 01 de abril del 2021.

**Jean Pierre Pulistar Manosalvas**

**040183056-9**

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO**

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El trabajo de integración curricular; tipo Trabajo experimental “ELABORACIÓN DE MICROESFERAS A BASE DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA DE QUITOSANO CARGADAS CON ÁCIDO ACETILSALICÍLICO UTILIZANDO EL METODO DE EMULSIFICACIÓN”, realizado por el señor: JEAN PIERRE PULISTAR MANOSALVAS, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Trabajo de integración curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

	<b>FIRMA</b>	<b>FECHA</b>
BQF. Aida Adriana Miranda Barros <b>PRESIDENTE DEL TRIBUNAL</b>	-----	2021-04-01
BQF. John Marcos Quispillo Moyota <b>DIRECTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR</b>	-----	2021-04-01
BQF. Diego Renato Vinueza Tapia <b>MIEMBRO DEL TRIBUNAL</b>	-----	2021-04-01

## **DEDICATORIA**

A mis queridos padres Alirio y Lilian, quienes me inspiraron, brindaron su apoyo, guiaron y acompañaron en este largo y arduo camino, sin ellos no habría sido posible cumplir esta meta, a mis hermanos por siempre motivarme a seguir adelante. A mi familia por todo el aliento y consejos que me permitieron nunca rendirme y continuar a pesar de las adversidades, a mis amigos por siempre estar en los buenos y malos momentos y por siempre haber contado con su ayuda y a todos los que en algún punto formaron parte de esta travesía.

Jean

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, a Dios por otorgarme la familia y amistades que tengo y también por permitirme finalizar una etapa tan determinante en mi vida.

A mis padres por su confianza, paciencia, apoyo incondicional, y además por ser la brújula que guía cada uno de mis pasos.

A mi tutor BQF. John Quispillo, por el tiempo y apoyo brindado que hicieron posible la realización del proyecto.

A mí querida Institución ESPOCH, por ser el lugar en el cual inicio esta bonita experiencia, por brindarme el espacio y el conocimiento para involucrarme en el maravilloso mundo de la ciencia e investigación y por ser el lugar donde ocurrieron muchas de mis derrotas, pero a la vez mis más grandes victorias.

Jean

## TABLA DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS .....	xii
RESUMEN.....	xiv
SUMMARY.....	xv
INTRODUCCIÓN .....	1

## CAPÍTULO I

<b>1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1. Antecedentes.....</b>	<b>6</b>
<b>1.2. Formas farmacéuticas de liberación modificada.....</b>	<b>8</b>
<i>1.2.1. Clasificación.....</i>	<i>8</i>
<i>1.2.2. Ventajas .....</i>	<i>9</i>
<i>1.2.3. Desventajas .....</i>	<i>10</i>
<b>1.3. Sistemas matriciales .....</b>	<b>11</b>
<i>1.3.1. Matrices hidrofílicas.....</i>	<i>11</i>
<i>1.3.2. Matrices lipofílicas .....</i>	<i>12</i>
<b>1.4. Biopolímeros.....</b>	<b>12</b>
<i>1.4.1. Clasificación.....</i>	<i>13</i>
<i>1.4.2. Polímeros biodegradables.....</i>	<i>13</i>
<i>1.4.3. Aplicaciones .....</i>	<i>13</i>
<b>1.5. Microesferas .....</b>	<b>14</b>
<b>1.6. Quitosano.....</b>	<b>15</b>
<i>1.6.1. Propiedades .....</i>	<i>15</i>
<b>1.7. Microencapsulación .....</b>	<b>16</b>
<i>1.7.1. Métodos de microencapsulación.....</i>	<i>17</i>
<i>1.7.2. Control de los parámetros físicos y químicos de las microesferas.....</i>	<i>19</i>
<i>1.7.3. Eficacia de encapsulación.....</i>	<i>20</i>
<b>1.8. Ácido acetilsalicílico .....</b>	<b>21</b>
<i>1.8.1. Descripción .....</i>	<i>21</i>

1.8.2.	<i>Mecanismo de Acción</i> .....	21
1.8.3.	<i>Farmacocinética</i> .....	21
1.8.4.	<i>Indicación terapéutica</i> .....	22
1.8.5.	<i>Efectos adversos</i> .....	22

## CAPÍTULO II

2.	<b>MARCO METODOLÓGICO</b> .....	23
2.1.	<b>Tipo de estudio y diseño de la investigación</b> .....	23
2.1.1.	<i>Tipo de Investigación</i> .....	23
2.1.2.	<i>Diseño de la Investigación</i> .....	23
2.2.	<b>Lugar de investigación</b> .....	23
2.3.	<b>Población de estudio</b> .....	23
2.4.	<b>Tamaño de la muestra</b> .....	24
2.5.	<b>Método de muestreo</b> .....	24
2.6.	<b>Elaboración de las microesferas</b> .....	24
2.6.1.	<i>Materiales, equipos y reactivos</i> .....	24
2.6.2.	<i>Técnicas y métodos</i> .....	25
2.6.3.	<i>Caracterización de las microesferas</i> .....	31

## CAPÍTULO III

3.	<b>MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS</b> .....	35
3.1.	<b>Estandarización del método de elaboración de microesferas de quitosano</b> .....	35
3.1.1.	<i>Velocidad de agitación</i> .....	35
3.1.2.	<i>Cantidad de emulsionante (Tween-80)</i> .....	36
3.1.3.	<i>Cantidad de agente reticulante (Glutaraldehído 25%)</i> .....	37
3.1.4.	<i>Tiempo y método de secado</i> .....	38
3.2.	<b>Formulación de las microesferas de quitosano</b> .....	39
3.2.1.	<i>Primera fase</i> .....	39
3.2.2.	<i>Segunda fase</i> .....	40
3.3.	<b>Caracterización de las microesfera</b> .....	43
3.3.1.	<i>Morfología y tamaño de partícula</i> .....	43
3.3.2.	<i>Identificación de principio activo en las microesferas</i> .....	45
3.3.3.	<i>Determinación del contenido de principio activo en las microesferas</i> .....	45



<i>3.3.4. Perfil de liberación del principio activo de las microesferas</i> .....	47
<i>3.3.5. Rendimiento de producción de microesferas de quitosano</i> .....	50
<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>53</b>
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	<b>54</b>
<b>GLOSARIO</b>	
<b>BIBLIOGRAFIA</b>	
<b>ANEXOS</b>	

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1-1.</b>	Clasificación de los biopolímeros .....	13
<b>Tabla 1-2.</b>	Cantidad de emulsionante y agente reticulante .....	26
<b>Tabla 2-2.</b>	Formulaciones de microesferas con diferentes cantidades de Tween-80 y glutaraldehído .....	27
<b>Tabla 3-2.</b>	Velocidad de agitación para la preparación de microesferas de quitosano .....	27
<b>Tabla 4-2.</b>	Tiempo y forma de secado de las microesferas .....	27
<b>Tabla 5-2.</b>	Concentración de principio activo utilizado en cada formulación .....	30
<b>Tabla 6-2.</b>	Curva de calibración de la solución estándar .....	33
<b>Tabla 7-2.</b>	Tabla de aceptación 2 para el ensayo de disolución .....	34
<b>Tabla 1-3.</b>	Determinación de la velocidad de agitación óptima para la elaboración de microesferas de quitosano .....	35
<b>Tabla 2-3.</b>	Determinación de la cantidad de emulsionante óptima para la elaboración de microesferas de quitosano .....	36
<b>Tabla 3-3.</b>	Determinación de la cantidad del agente reticulante óptima para la elaboración de microesferas de quitosano .....	37
<b>Tabla 4-3.</b>	Determinación del método y tiempo óptimo para el secado de microesferas de quitosano .....	38
<b>Tabla 5-3.</b>	Constantes para la formulación de microesferas .....	39
<b>Tabla 6-3.</b>	Variables que intervienen en la formulación de microesferas .....	39
<b>Tabla 7-3.</b>	Identificación del principio activo sintetizado .....	41
<b>Tabla 8-3.</b>	Resultados de la titulación .....	41
<b>Tabla 9-3.</b>	Adición del principio activo en la formulación .....	43
<b>Tabla 10-3.</b>	Tamaño de las microesferas en mm .....	44
<b>Tabla 11-3.</b>	ANOVA para el tamaño de las microesferas .....	44
<b>Tabla 12-3.</b>	Identificación de principio activo en las microesferas elaboradas .....	45
<b>Tabla 13-3.</b>	Porcentaje de encapsulación del principio activo .....	46
<b>Tabla 14-3.</b>	ANOVA para el porcentaje de encapsulación del principio activo .....	46
<b>Tabla 15-3.</b>	Cálculo del por ciento disuelto sin reposición del medio de disolución .....	47
<b>Tabla 16-3.</b>	Porcentaje de principio activo disuelto vs Tiempo de liberación .....	49
<b>Tabla 17-3.</b>	Resultados del rendimiento de producción de microesferas de quitosano .....	50

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1-1.</b>	Perfiles de concentración plasmática de fármaco en función del tiempo .....	9
<b>Figura 2-1.</b>	Liberación del principio activo de una matriz hidrofílica .....	12
<b>Figura 3-1.</b>	Liberación del principio activo de una matriz hidrofílica .....	12
<b>Figura 4-1.</b>	Ilustración de una microesfera.....	14
<b>Figura 5-1.</b>	Estructura química del Quitosano .....	15
<b>Figura 6-1.</b>	Métodos de microencapsulación.....	17
<b>Figura 7-1.</b>	Esquema general del método de Microencapsulación por emulsificación y evaporación del disolvente.....	18
<b>Figura 1-2.</b>	Esquema de la reacción .....	29
<b>Figura 2-2.</b>	Cuadrantes y dimensiones de la cámara de Neubauer .....	31
<b>Figura 3-2.</b>	Diámetro de Feret .....	32
<b>Figura 1-3.</b>	Porcentaje de principio activo liberado en función del tiempo <b>¡Error! Marcador no definido.</b>	

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

<b>Gráfica 1-3.</b> Porcentaje de principio activo liberado en función del tiempo .....	49
---	----

## ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A: EQUIPOS Y REACTIVOS USADOS EN LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS DE QUITOSANO
- ANEXO B: ELABORACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO – QUITOSANO – PRINCIPIO ACTIVO
- ANEXO C: PROCESO DE AGITACIÓN PARA LA FORMACIÓN DE LAS MICROESFERAS
- ANEXO D: MICROESFERAS FORMADAS AL FINALIZAR EL PROCESO DE AGITACIÓN
- ANEXO E: PROCESO DE FILTRACIÓN DE LAS MICROESFERAS
- ANEXO F: MÉTODOS DE SECADO
- ANEXO G: MICROESFERAS OBSERVADAS MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA
- ANEXO H: ENSAYO PARA DETERMINAR SI LAS MICROESFERAS CONTENÍAN PRINCIPIO ACTIVO
- ANEXO I: TITULACIÓN PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE PRINCIPIO ACTIVO EN LAS MICROESFERAS
- ANEXO J: DISOLUCIONES DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR PARA REALIZAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN
- ANEXO K: ENSAYO DE DISOLUCIÓN PARA DETERMINAR EL PERFIL DE LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO
- ANEXO L: MICROESFERAS OBTENIDAS CON LAS PRIMERAS FORMULACIONES EXPERIMENTALES
- ANEXO M: PRIMERAS MICROESFERAS OBTENIDAS OBSERVADAS EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO
- ANEXO N: MICROESFERAS OBTENIDAS CON LAS FORMULACIONES FINALES

## **INDICE DE ABREVIATURAS**

<b>AAS</b>	Ácido acetilsalicílico
<b>CS</b>	Qitosano
<b>F.F</b>	Formas farmacéuticas
<b>FFLM</b>	Formas farmacéuticas de liberación modificada
<b>GTA</b>	Glutaraldehido
<b>p.a.</b>	Principio activo
<b>rpm</b>	Revoluciones por minuto
<b>SEM</b>	Microscopía Electrónica de Barrido
<b>USP</b>	United States Pharmacopeia

## RESUMEN

El objetivo del estudio fue elaborar microesferas de quitosano cargadas con ácido acetilsalicílico, dicho estudio se realizó con el fin de obtener formas farmacéuticas de liberación prolongada que puedan mejorar las propiedades de los comprimidos como biodisponibilidad y liberación del principio activo (p.a.), disminuyendo los efectos adversos que estos ocasionan. La elaboración de microesferas se llevó a cabo utilizando el método de emulsificación, en primer lugar, se hicieron 9 formulaciones iniciales con soluciones a diferentes concentraciones de los reactivos. El estudio se dividió en dos fases, en la primera se llevó a cabo la formulación y elaboración de microesferas sin carga de p.a., para ello en primer lugar se estandarizaron los parámetros del método de elaboración y así determinar cuál sería la velocidad de agitación, tiempo y método de secado ideales, para obtener microesferas con las características deseadas, mientras que en la segunda fase se elaboraron microesferas cargadas con p.a. y posteriormente se procedió a determinar el contenido de p.a. y el perfil de disolución. La evaluación de morfología y tamaño de partícula se hizo mediante microscopía óptica, dando como resultado microesferas de tamaño inferior a 1 milímetro, el porcentaje de encapsulación y liberación del p.a. se evaluaron siguiendo los ensayos establecidos en la USP para este tipo de formas farmacéuticas, obteniéndose un porcentaje de encapsulación del 32,4% y un porcentaje de liberación del 83,65% cumpliendo así con todos los criterios de aceptación establecidos en la USP39-NF34. Se concluye que la Formulación F5 demostró ser la mejor en todos los parámetros evaluados, por lo cual, las microesferas elaboradas se consideran como formas farmacéuticas de liberación prolongada y con la realización de estudios posteriores, podrían utilizarse en un tratamiento farmacológico. Se recomienda en futuras investigaciones realizar ensayos de estabilidad, para determinar si las microesferas pueden ser aplicables a estudios in vitro.

**Palabras clave:** <QUITOSANO>, <MICROESFERAS>, <FORMAS FARMACEUTICAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA >, <ÁCIDO ACETILSALICÍLICO >, <ENCAPSULACIÓN>, <PRINCIPIO ACTIVO >, <FORMULACIÓN>.



16-04-2021

1026-DBRAI-UTP-2021

## SUMMARY

The objective of the study was to elaborate chitosan microspheres loaded with acetylsalicylic acid, this study was performed in order to obtain prolonged-release pharmaceutical forms that can improve the properties of the tablets such as bioavailability and release of the active principle (AP), reducing the adverse effects caused by them. The elaboration of microspheres was made using the emulsification method, first of all, 9 initial formulations with solutions at different concentrations of the reagents were made. The study was divided into two phases, in the first, the formulation and elaboration of microspheres without loading of pa was carried out, for this, in the first place the parameters of the elaboration method were standardized and thus determine what would be the stirring speed, time and ideal drying method, to obtain microspheres with the desired characteristics, while in the second phase microspheres loaded with AP and later the AP content was determined. and the dissolution profile. The evaluation of morphology and particle size was made by optical microscopy, resulting in microspheres of size less than 1 millimeter, the percentage of encapsulation and release of AP were evaluated following the tests established in the USP for this type of pharmaceutical forms, obtaining an encapsulation percentage of 32.4% and a release percentage of 83.65%, thus complying with all the acceptance criteria established in USP39-NF34. It is concluded that Formulation F5 proved to be the best in all the parameters evaluated, therefore, the microspheres prepared are considered as prolonged-release pharmaceutical forms and with subsequent studies, they could be used in pharmacological treatment. Stability tests are recommended in future research to determine if the microspheres can be applicable to in vitro studies.

**Keywords:** <CHITOSANE>, <MICROSPHERES>, <PROLONGED-RELEASE PHARMACEUTICAL FORMS>, <ACETYLSALICYLIC ACID>, <ENCAPSULATION>, <ACTIVE PRINCIPLE>, <FORMULATION>.



## **INTRODUCCIÓN**

El principal objetivo de la farmacoterapia para cualquier enfermedad es lograr la concentración deseada del fármaco en plasma o en el sitio de acción y mantenerla durante toda la duración del tratamiento, para lograr alcanzar la actividad terapéutica (Mitra y Dey, 2011, p. 357).

El uso de un fármaco en formas de dosificación convencionales conduce a fluctuaciones inevitables en la concentración del mismo, lo que llevan a una medicación insuficiente o excesiva y a una mayor frecuencia de dosificación, así como a un cumplimiento incorrecto del tratamiento por parte del paciente. Para minimizar la degradación y pérdida de medicamentos, es necesario prevenir los efectos secundarios nocivos y así aumentar la biodisponibilidad de los medicamentos, actualmente se desarrollan diversos sistemas de administración y orientación de fármacos, con el fin de minimizar y prevenir lo antes mencionado (Mitra y Dey, 2011, p. 361).

La liberación total del principio activo (p.a.) dentro de un tiempo no requerido puede aumentar la aparición de efectos secundarios, entre las alternativas que se manejan para evitar este fenómeno está fraccionar la matriz monolítica para dar lugar a la formación de microesferas. El proceso de microesferificación ha tomado un papel muy importante dentro de las aplicaciones farmacéuticas, esto debido a varias razones como por ejemplo, que la formulación de fármacos como microesferas permite reducir los efectos adversos ocasionados por los fármacos y a la vez, facilita la administración de los mismos, logrando así asegurar el cumplimiento farmacoterapéutico (Garcés, 2018, p. 14).

En la actualidad el uso de medicamentos en sus diferentes formas farmacéuticas (F.F) para llevar a cabo el tratamiento de los síntomas de una patología es una actividad que se realiza en cada una de las regiones del mundo, siendo los comprimidos la F.F usada con mayor frecuencia y al mismo tiempo la que mayores inconvenientes presenta como por ejemplo baja biodisponibilidad, menor velocidad de liberación del p.a., y que además requiere varias tomas al día, derivando todo esto en la aparición de efectos adversos causados por fármacos, razón por la cual siguiendo con la visión del hombre por lograr obtener un fármaco casi perfecto el cual carezca de estos inconvenientes, sea seguro y además cumpla su acción terapéutica se ha decidido realizar la formulación de una F.F alternativa a base de un biopolímero con el fin de lograr reducir todos los inconvenientes que conlleva el uso sólidos orales. (Garcés, 2018, p. 18).

El perfeccionamiento de productos farmacéuticos debe de estar orientado al desarrollo de estrategias que promuevan ventajas en la eficacia, seguridad y cumplimiento de la terapia farmacológica,

consecuentemente, el desarrollo de productos farmacéuticos de liberación modificada debe estar fundamentado en la relación existente entre la maximización de la eficacia terapéutica del fármaco, y la minimización de la manifestación de efectos adversos. No obstante, en el pasado el enfoque estaba dirigido a reducir la frecuencia en que se administraban las dosis o la oscilación en las concentraciones plasmáticas asociadas a formulaciones de liberación inmediata; en conclusión, para el desarrollo de formas farmacéuticas de liberación modificada se debe tomar como aspecto primordial mejorar el perfil del efecto farmacológico (Bornachera, 2019, p. 9).

Las formas farmacéuticas de liberación modificada (FFLM), son formulaciones que suministran una frecuencia de liberación de fármaco lenta, siendo éste el paso limitante de la llegada del fármaco a la circulación sistémica. Estas formulaciones posibilitan un descenso en la oscilación entre los niveles máximos y mínimos en el plasma, incrementando de esta manera el tiempo en el cual las concentraciones de fármaco en el plasma a niveles terapéuticos son constantes (Ruiz, 2016, p. 6).

## JUSTIFICACIÓN

Mejorar la terapia del paciente es el principal objetivo de la medicina en la actualidad, una de las necesidades es investigar y desarrollar nuevos vehículos de fármacos, utilizando compuestos que permitan una mayor velocidad de liberación del p.a. y que además logren la concentración terapéutica deseada en el plasma y en el sitio de acción farmacológico. El mayor inconveniente que tiene el paciente a la hora de cumplir con un tratamiento terapéutico es ingerir varias tomas por día de un fármaco, volviendo a la terapia incómoda. Los comprimidos de liberación prolongada se presentan como una alternativa para disminuir estos inconvenientes y los efectos secundarios que puedan provocar (Garcés, 2018, p. 11).

Las formas farmacéuticas de liberación modificada, en este caso las microesferas se han propuesto como una de las alternativas más utilizadas en la administración de fármacos, dentro de estas se encuentran las recubiertas por diferentes medios poliméricos que proporcionan múltiples ventajas físicas, químicas y farmacológicas. La industria farmacéutica ha empleado el proceso de microencapsulación con la finalidad de reducir efectos como la irritación gástrica o de controlar la liberación del fármaco (Quintanar y Alcalá, 2015, p. 42).

La microencapsulación de principios activos hidrosolubles y liposolubles, siendo en este caso el AAS un representante de este último grupo es posible mediante la utilización de diversas técnicas y tecnologías. La razón más común para microencapsular estas sustancias es facilitar la administración del p.a. y a la vez aumentar su velocidad de liberación, otras ventajas que proporciona la microencapsulación son: enmascarar características organolépticas desagradables y disminuir el efecto irritante (Tapia, 2017, p. 19).

Entre los biomateriales empleados para la microencapsulación de fármacos se incluyen los polímeros naturales o biopolímeros y los polímeros sintéticos. El quitosano ha sido de los polímeros naturales más estudiados por sus excelentes propiedades, tales como biocompatibilidad, biodegradabilidad y ausencia de toxicidad, por lo que ha sido aplicado ampliamente en la industria farmacéutica (Couce, 2014). Debido a su carácter iónico permite la estabilización de sistemas para liberación controlada de fármacos, por lo cual el quitosano se ha convertido en el polímero natural más prometedor para la elaboración de microesferas y microcápsulas (Villicaña, 2019, p. 13).

La elección de la técnica de micro-encapsulación se hace principalmente sobre la base de las características físico-químicas del polímero y del principio activo a encapsular, razón por la cual el presente estudio consiste en la elaboración de microesferas poliméricas cargadas con AAS como principio activo utilizando el método de emulsión. Este método es ampliamente usado en la encapsulación de p.a. liposolubles, debido a que se logra una eficiente incorporación de principios activos lipofílicos, además cuenta con la ventaja de ser una de las técnicas de microencapsulación de fácil aplicación y bajo costo económico (Couce, 2014).

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo general**

- Elaborar microesferas de liberación prolongada cargadas con Ácido Acetilsalicílico (AAS) a través del método de emulsificación utilizando una matriz polimérica de Quitosano.

### **Objetivos específicos**

- Preparar microesferas utilizando soluciones a diferentes concentraciones de Quitosano, Ácido Acetilsalicílico, emulsificante y agente reticulante.
- Determinar morfología y tamaño de las microesferas por medio de la microscopia óptica.
- Cuantificar por valoraciones ácido base en medio acuoso la eficiencia de encapsulación y el contenido de principio activo en las microesferas obtenidas.

## CAPÍTULO I

### 1. MARCO TEÓRICO REFERENCIAL

#### 1.1. Antecedentes

En la Universidad de Tsinghua en China se realizó recientemente un estudio sobre la elaboración de microesferas de quitosano monodispersadas de tamaño y morfología diferentes, que estuvieron cargadas con 5-fluorouracilo (5-Fu). Las reacciones microflúidicas y de reticulación permitieron su formación, de modo que, posteriormente se caracterizaron química y físicamente, cuyos resultados indicaron su excelente eficiencia de encapsulación y carga de principios activos (He et al., 2020, p. 7).

Por otro lado, en el mismo estudio se observó que las microesferas de CS reticuladas con tripolifosfato (TPP), se caracterizaban por tener sus superficies rugosas y liberan más rápidamente el fármaco, en tanto que, las reticuladas con GTA, mostraban una liberación más lenta. Finalmente se concluyó que las microesferas de CS resultarían idóneas para la inhibición de células cancerígenas (He et al., 2020, p. 9).

En México en el año 2015, se realizó otra investigación sobre la elaboración de microesferas en la Universidad Autónoma de Nuevo León, para estudiar la implementación de tecnología de doble emulsión para polimerización molecular iónica y microencapsulación. El propósito era desarrollar micropartículas a través de una tecnología mejorada de evaporación de solventes de doble emulsión. Inicialmente, se estudió la influencia de la concentración de polímero (2,5-10,0 mg / ml) y la relación de fase orgánica / fase acuosa externa (0,24-0,88) sobre el tamaño de partícula. Se concluyó que es posible desarrollar formulaciones de micropartículas como portadores potenciales para proteger los ingredientes activos de la degradación de los medicamentos en su entorno y reducir la toxicidad o los efectos secundarios que pueden causar en su forma libre (González et al., 2015, p. 120).

En el mismo año, en la Universidad Autónoma de Aguas Calientes, México, se publicó un artículo llamado "Microencapsulación de Ingredientes Bioactivos", que abarcaba varios aspectos sobre la elaboración de microesferas y microcápsulas. Además, se mencionaban los parámetros generales para la microencapsulación y posibles aplicaciones de diferentes tipos de microcápsulas y microesferas, los cuales son importantes dentro del campo farmacéutico, pues existen reportes de que estos procesos reducen la toxicidad de sustancias y permiten la liberación controlada de dosis adecuadas de

principios activos, de forma que, se podrían utilizar para la elaboración de capsulas de recubrimiento entérico y de este modo, reducir la irritabilidad gástrica de dicha medicación (Reyna et al., 2015, p. 13).

En 2015, en la Universidad Afyon Kocatepe en Turquía se elaboraron microesferas de poliacrilamida injertadas con quitosano (CS-g-PAAM) como matriz de administración de fármacos de paracetamol a través de tecnología de reticulación en emulsión. Los resultados mostraron que la eficiencia de encapsulación medida por espectroscopia UV es bastante buena, oscilando entre 31,89% y 72,61%. Además, la liberación del fármaco en soluciones tampón de ácido y fosfato se ve afectada por muchos factores, entre los que se encuentran la relación paracetamol/polímero (Bulut, 2015, p. 1484).

En El Salvador en el año 2009, se propuso un método de uso de alginato de sodio para refinar microesferas de matriz de ácido acetilsalicílico mediante tecnología de gel iónico. En la investigación, se realizaron una serie de determinaciones preliminares para la obtención de microesferas que cumplan con las especificaciones morfológicas, como el instrumento, las mejores condiciones de goteo y concentración de cloruro de calcio. Por otro lado, el contenido de AAS encapsulado se evaluó mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), lo que indicó que el método es efectivo al obtener un rendimiento del 72,79% de principios activos dispersos en las muestras analizadas (López y Villalta, 2009, p. 27).

En la Universidad Médica de Tabriz, Irán, se evaluaron microcápsulas de AAS elaboradas con etilato de acetilcelulosa utilizando tecnología de adición de emulsión no solvente. El perfil de liberación de AAS se evaluó en microcápsulas preparadas con diversas proporciones fármaco-polímero (10: 1 y 4: 1) y microcápsulas en comprimidos de pH 1,2 o 6. Los resultados mostraron que, en comparación con los polímeros, al reducir la proporción de fármaco, se puede aumentar y reducir la tasa de liberación (Nokhodchi et al., 2002, p. 139).

A nivel nacional, la última investigación relacionada con la elaboración de microesferas es un estudio realizado por la Universidad Central del Ecuador, denominado “Prepararon microesferas de diclofenaco sódico mediante el método de gel iónico para obtener una forma de fármaco sólido de liberación prolongada”, en donde se cambió el porcentaje y el tipo de polímero, por lo que se las caracterizó por tamaño, porcentaje de encapsulación y curva de disolución (Garcés, 2018, p. 17).

Por otro lado, en la Universidad Técnica de Ambato, se realizó la microencapsulación del ácido ascórbico a través del secado por aspersión con almidón y maltodextrina. Con este fin, primero se

realizó un análisis para determinar la mezcla de polímeros más eficaz en una proporción de 1: 1, con una carga del 20% del ingrediente activo. La elección de esta mezcla fue la mejor opción para el proceso de microencapsulación, ya que el valor de rendimiento obtenido fue de  $83,41 \pm 0,56\%$ . La morfología del producto se caracterizó mediante tecnología de microscopio electrónico de barrido (SEM), y se observaron partículas esféricas e irregulares, con un tamaño de partícula promedio de alrededor de  $8,12 \pm 3,92\mu\text{m}$  (Tapia, 2017, p. 21).

En 2015, la Escuela de Bioquímica y Farmacia ESPOCH desarrolló y evaluó microesferas mucoadhesivas mediante el uso de tecnología de gel iónico de alginato de sodio y quitosano. En este trabajo se prepararon tres formulaciones con diferentes concentraciones de polímero. Además, las propiedades físicas de las microesferas se evaluaron a través de técnicas de microscopía óptica, y las propiedades de adhesión a la mucosa se determinan mediante un método de prueba llamado "wash off". Se determinó que las microesferas preparadas con la primera formulación cumplían las especificaciones de tamaño para ser consideradas microesferas. En cuanto a las propiedades mucoadhesivas, se ha determinado que es directamente proporcional a la concentración del polímero (Villaruel, 2015, p. 22).

## **1.2. Formas farmacéuticas de liberación modificada**

Son F.F que aportan mejores pautas posológicas, mejor perfil farmacocinético e incluso disminución de efectos adversos, en ellas se realizan modificaciones en la formulación o en el proceso de elaboración con el propósito de alterar la velocidad, el tiempo o el lugar de liberación del p.a. respecto a las formas farmacéuticas de liberación inmediata del mismo principio activo. Su uso no se justifica salvo que ofrezcan ventajas sobre las formas de liberación convencional, dichas ventajas son: conseguir a través de la administración de este tipo de formas farmacéuticas niveles constantes de fármaco en el organismo, y a la vez disminuir los posibles efectos tóxicos del mismo (Pardo, 2019, p. 47) (Montaner, 2005, p. 5).

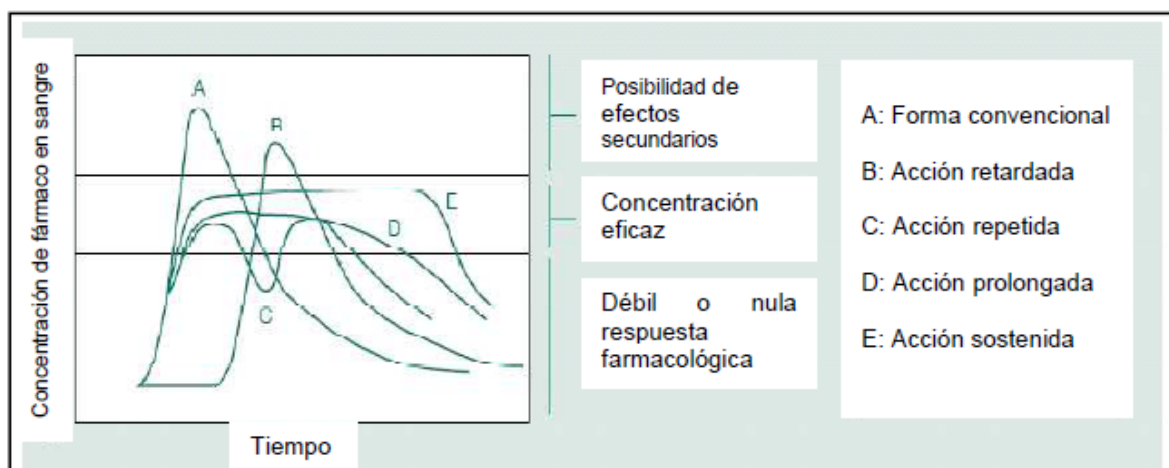
### **1.2.1. Clasificación**

Hay diferentes clasificaciones, una de ellas se realiza principalmente en base a la forma en que se libera el principio activo, o según los mecanismos que se ejercen para producir dicha liberación (Corona, 2016, p. 31). Otra forma de clasificar a las FFLM es según su objetivo, es decir, cuando se controlan la velocidad o el lugar de liberación (Peña Blanco, 2016).



La Farmacopea de los Estados Unidos (UPS), describe dos tipos: de liberación retardada y liberación prolongada, de modo que, la primera requiere un cierto período de tiempo después de la administración para que empiece la absorción del principio activo, mientras que la segunda es de liberación tan lenta, que se puede ampliar el intervalo de dosificación y prolongar el efecto terapéutico (Pardo, 2019, p. 63), debido a que, el principio activo se libera a una velocidad constante (Peña Blaque, 2016).

Para entender eficazmente lo que se ha descrito con anterioridad, la Figura 1-1 se aprecian los diferentes perfiles de concentración plasmática de fármaco en los dos tipos de FFLM:



**Figura 1-1.** Perfiles de concentración plasmática de fármaco en función del tiempo  
 Figura: (López y Villalta, 2009, p. 55).

### 1.2.2. Ventajas

- **Reducir la variación de la concentración plasmática de principio activo**

Las FFLM reducen la variación de la concentración del principio activo, de modo que, esta permanece constante durante tiempos extendidos. Al disminuir la tasa de absorción del fármaco, se busca evitar los altos picos plasmáticos producidos por los fármacos que han sido absorbidos rápidamente, y que podrían desatar diversos efectos adversos, tales como: fluctuaciones de presión arterial y taquicardia (Corona, 2016, p. 37).

- **Reducir la frecuencia de administración**

A pesar de tener una semivida de eliminación corta, pueden administrarse con una frecuencia menor, lo que significa que a medida que el número de dosificaciones disminuyen, el paciente puede tener un mejor cumplimiento del esquema farmacoterapéutico (Corona, 2016, p. 37).

- **Asegurar la administración del fármaco**

Las FFLM son óptimos en pacientes que tienen dificultad para deglutir, y también en aquellos que por algún motivo se niegan a tomar medicamentos (Corona, 2016, p. 37).

#### *1.2.2.1. Fármacos que presentan ventajas al ser formulados como FFLM*

- Litio o teofilina, al ser fármacos que poseen un reducido margen terapéutico en lo que se refiere a conservar las concentraciones plasmáticas dentro de los rangos permitidos de establecidos de efectividad y toxicidad (Montaner, 2005, p. 7).
- Nifedipino, al ser un fármaco de rápida absorción, si es formulado como una FFLM se podría generar una reducción en los picos plasmáticos elevados, los cuales están ligados a la aparición de efectos adversos como: taquicardia o fluctuaciones en la tensión arterial (Montaner, 2005, p. 7).
- Antagonistas del calcio como diltiazem y verapamilo, cuando son formulados como FFLM se reduce significativamente la aparición de efectos adversos, y a la vez se reduce el número de dosis diarias del fármaco (Montaner, 2005, p. 7).
- Morfina, debido a que requiere de varias dosis al día, por ser un fármaco de corta duración de acción (Montaner, 2005, p. 7).
- Fármacos que inhiben la bomba de protones y se degradan en medio ácido como: omeprazol, pantoprazol, lansoprazol, entre otros (Montaner, 2005, p. 7).

#### *1.2.3. Desventajas*

- **Importancia de la velocidad del tracto gastrointestinal**

Los cambios que se produzcan en el tránsito gastrointestinal son de gran importancia para la liberación de un fármaco formulado como una FFLM. En pacientes con tránsito rápido una fracción de la dosis se puede perder si la FFLM atraviesa el tracto gastrointestinal antes de completarse la liberación del fármaco. Ocurre lo contrario cuando el tránsito es lento, puesto que puede producirse una liberación en exceso del fármaco, que puede dar lugar a efectos tóxicos locales o sistémicos (Montaner, 2005, p. 6).

- **Problemas asociados a la incorrecta manipulación de las FFLM**

La manipulación indebida de las FFLM como fraccionarlas, masticarlas o abrirlas en varios casos puede conducir a la liberación de cantidades tóxicas del fármaco o en la inactivación del mismo (Montaner, 2005, p. 6).

- **Elevado costo de diseño y producción**

#### *1.2.3.1. Fármacos que presentan desventajas al ser formulados como FFLM*

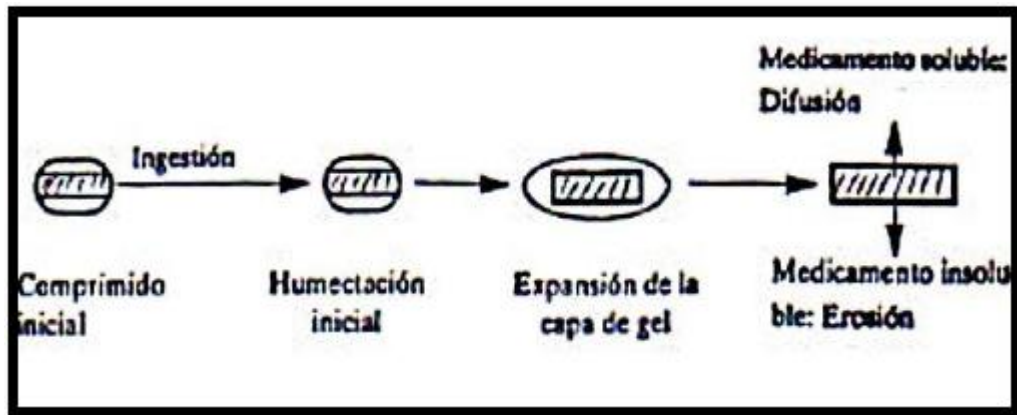
- Fármacos con efecto de acción prolongado. Este tipo de medicamentos no necesitan ser administrados de manera frecuente, por lo tanto, no es necesario que sean formulados como FFLM a menos que demuestren un perfil de seguridad propicio. Ejemplos de esto son: fluoxetina semanal, Indapamida (Montaner, 2005, p. 6).

### **1.3. Sistemas matriciales**

Los sistemas matriciales se caracterizan por tener el principio activo disperso de forma uniforme en el seno de un polímero, sea como una suspensión o solución. Según la naturaleza del polímero se clasifican en matrices hidrofílicas y lipofílicas (Garcés, 2018, p. 26).

#### *1.3.1. Matrices hidrofílicas*

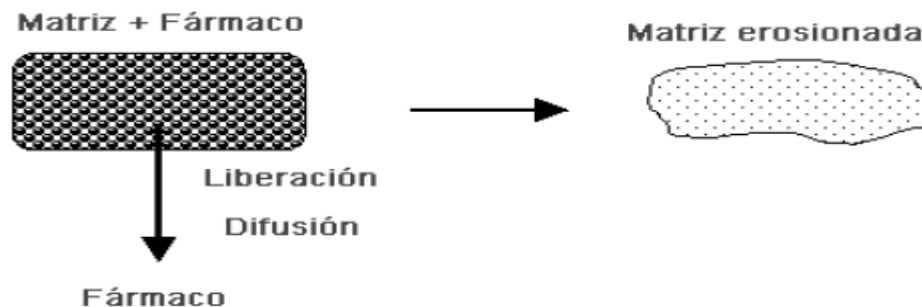
Las matrices hidrofílicas son aquellas en las que el principio activo se encuentra disperso en una matriz polimérica soluble, además, se generan a partir de su mezcla y los polímeros hidrofílicos. Las matrices al entrar en contacto con medios acuosos tienden a hincharse y generar una capa viscosa llamada hidrogel, misma que, controla la difusión del agua y del principio activo, para que luego, las capas más externas del hidrogel sufran un proceso de erosión, la velocidad de este proceso dependerá de la naturaleza del polímero. Tras haber finalizado este proceso, se producirá la gelificación del sistema, lo que conduce a la liberación del principio activo a través de procesos de difusión o erosión como se describe en la Figura 2-1 (Corona, 2016, p. 24).



**Figura 2-1.** Liberación del principio activo de una matriz hidrofílica  
Fuente: (Garcés, 2018, p. 25).

### 1.3.2. Matrices lipofílicas

Constan de un esqueleto poroso e insoluble, en el que se encuentra disperso el principio activo. Estas matrices se preparan a graves de técnicas de granulación, compresión directa y compactación. La liberación del principio activo se da mediante difusión por medio de una red de capilares que se forman entre las partículas del polímero (Figura 3-1), por tanto, la liberación dependerá de la disolución de un agente canalizador que formará porosidades en la matriz (Corona, 2016, p. 25) (Sáez, 2014, p. 88).



**Figura 3-1.** Liberación del principio activo de una matriz hidrofílica  
Fuente: (Costa, Arancibia y Añache, 2004, p. 263).

### 1.4. Biopolímeros

Los biopolímeros son macromoléculas de alto peso molecular, generados por la unión covalente de varias unidades repetitivas de menor peso, denominadas monómeros (Stampa, 2019). Por su amplia

aplicabilidad han sido estudiados varios polímeros que generan interés, entre los que se mencionan a los elaborados a partir del azúcar, que son variados y de tamaño diferente (Cobos de Rangel, 2017, p. 12).

#### **1.4.1. Clasificación**

Los biopolímeros pueden ser distinguidos en tres clases: biodegradables basados en recursos renovables, biodegradables basados en recursos petrolíferos y no biodegradables basados en recursos renovables, los cuales se detallan a continuación en la tabla 1-1: (Vásquez, 2020, p. 27).

**Tabla 1-1.** Clasificación de los biopolímeros

<b>Biopolímeros a partir de recursos renovables</b>	Los que son sintetizados naturalmente de plantas y animales, o totalmente sintetizados a partir de recursos renovables.
<b>Biopolímeros a base de petróleo</b>	Estos polímeros se sintetizan a partir de recursos del petróleo, pero son biodegradables al final de su funcionalidad.
<b>Biopolímeros a partir de fuentes mixtas</b>	Fabricados de combinaciones de materiales de base biológica y monómera derivados del petróleo

**Fuente:** (Vásquez, 2020, p. 27).

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

#### **1.4.2. Polímeros biodegradables**

Son polímeros capaces de degradarse gracias a los agentes externos y descomponerse en subproductos naturales, mismos que, no son tóxicos para el medioambiente y el organismo (Stampa, 2019).

Los polímeros naturales provienen de la naturaleza y, por tanto, no se han sintetizado en laboratorios, siendo compuestos difíciles de caracterizar, debido a que, contienen muchas moléculas complejas. Así también, existen polímeros que se crean en el laboratorio y estos conforman polímeros sintéticos. Tienen diversas aplicaciones, puesto que son moldeables y se pueden modificar para lograr las características deseadas (Stampa, 2019).

#### **1.4.3. Aplicaciones**

- **En Medicina**

Gracias a la mejora de las técnicas de fabricación de polímeros, ha aumentado su uso en el campo médico, fundamentalmente en el área de ingeniería de tejidos, como, por ejemplo: en la regeneración

de tejidos óseos, cartílagos, piel, córneas, tendones, entre otros. Existen varias propiedades que son necesarias para esta aplicación, tales como: biodegradabilidad, biocompatibilidad, bioadhesividad, hemocompatibilidad y no toxicidad (Stampa, 2019).

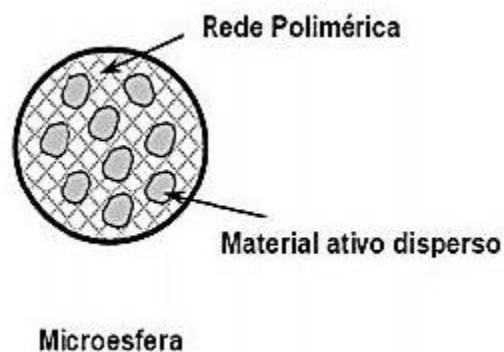
- **Liberación controlada de medicamentos**

Estos sistemas son materiales poliméricos que presentan diversas propiedades, mismas que, determinarán la biocompatibilidad con los tejidos y la sangre, evidenciándose la hidrofiliidad, lubricidad, suavidad y energía superficial. Debido a estas propiedades los sistemas tienen la capacidad de prevenir la degradación y pérdida del fármaco antes de cumplir con su acción farmacológica, aumentar la biocompatibilidad, controlar la fracción del principio activo acumulada en el área requerida, disminuir toxicidad y disminuir el número de dosis (Rodríguez y Orrego, 2016, p. 6) (Stampa, 2019).

Los biopolímeros derivados de polisacáridos y proteínas poseen varias características como: nula toxicidad, capacidad de interactuar con las células vivas y también son económicos. Dentro de los más utilizados están: colágeno, la quitina, el alginato, la fibrina, el ácido hialurónico, la albúmina, el almidón, la celulosa y la pectina (Rodríguez y Orrego, 2016, p. 7).

### **1.5. Microesferas**

Las microesferas son sistemas de pequeñas partículas que se fabrican a partir de polímeros u otros materiales biocompatibles, que permiten la erosión o difusión de un principio activo. Tienen una estructura tipo matriz, en la que las sustancias se incorporan al interior o pueden ser adsorbido en la superficie de la partícula (Figura 4-1) (Garcés, 2018, p. 27) (Villaruel, 2015, p. 34).



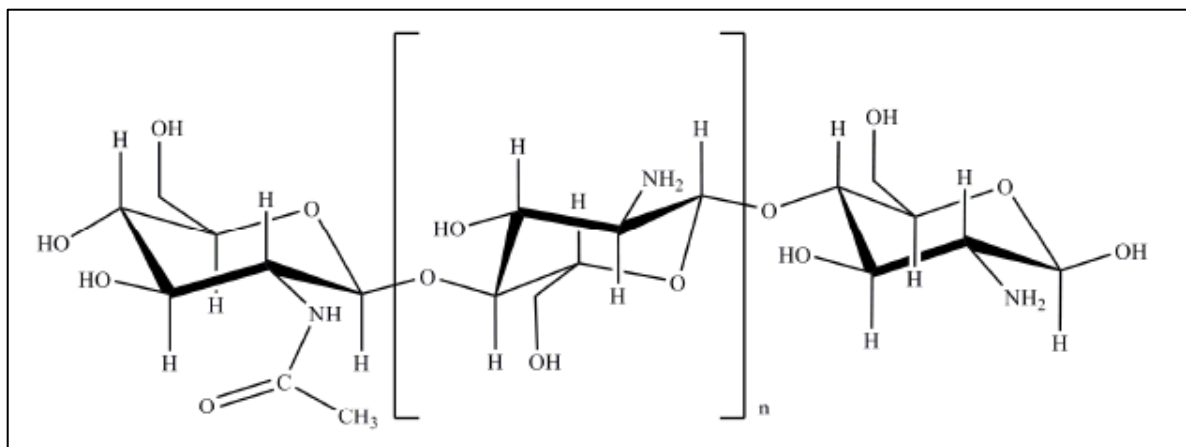
**Figura 4-1.** Ilustración de una microesfera

Fuente: (Lupo, González y Maestro, 2012).

Las microesferas al parecer pueden ser sistemas dispersos homogéneos o sistemas heterogéneos según la sustancia encapsulada y su estado molecular (Villarrol, 2015, p. 34). Dentro de las características de la microesfera ideales estarían: selectividad por el tejido diana, acoplamiento entre liberación controlada y sostenida, así como impedir daños al tejido huésped (Garcés, 2018, p. 28).

## 1.6. Quitosano

El quitosano es un polisacárido semicristalino natural que proviene de la quitina, su formación se basa en copolímeros de  $\beta$ - (1-4) glucosamina y N-acetilglucosamina (Figura 5-1). Se trata de un tipo de polímero natural, biocompatible, biodegradable, con capacidad para formar películas, y no ser tóxico, ante esto, se considera a este biopolímero muy útil en la medicina (regeneración y reparación de tejidos) e industria farmacéutica (fabricación de sistemas liberación de drogas o principios activos) (Osorio-Delgado et al., 2017, p. 247) (Villicaña, 2019, p. 44).



**Figura 5-1.** Estructura química del Quitosano

Fuente: (Harris, 2010, p. 36).

La fuente y el método de elaboración son esenciales para determinar la composición de las cadenas de quitosano, así como su tamaño. Por ello, el grado de desacetilación y peso molecular son parámetros primordiales para su caracterización (Harris, 2010, p. 37).

### 1.6.1. Propiedades

El grado de desacetilación y el peso molecular promedio, son las principales propiedades fisicoquímicas del quitosano, mismas que posibilitan su funcionalidad, además, la cristalinidad, contenido de agua y proteínas resultan ser características fisicoquímicas que deben considerarse al seleccionar un quitosano específico (Harris, 2010, p. 39).

El porcentaje de grupos amino que quedan libres en la molécula de quitosano se denomina grado de desacetilación, que se relaciona directamente con su solubilidad. Este es un polímero formado por unidades repetidas de D-glucosamina, por lo que la longitud de la cadena y peso molecular, con características fundamentales en su molécula (Harris, 2010, p. 39).

Dentro de las principales propiedades funcionales del quitosano se tiene a la biodegradabilidad, biocompatibilidad, capacidad filmógena, mucoadhesión, hemostática, promotora de la absorción, actividad antimicrobiana, y antioxidante. Ante su carácter catiónico y sus propiedades gelificantes y filmógenas, el quitosano es investigado constantemente en la industria farmacéutica para sistemas de administración de medicamentos (Harris, 2010, p. 40).

El quitosano se comercializa según su peso molecular y el grado de desacetilación, por lo que, en existen dos tipos diferentes: Quitosano de bajo peso molecular, con una masa molecular entre 20 a 190 kilogramos Dalton (KDa) y un grado de desacetilación  $\leq 75\%$ , en tanto que el quitosano de alto peso molecular está entre 190 y 375 KDa y tiene un grado de desacetilación  $\geq 75\%$  (Villicaña, 2019, p. 50).

### **1.7. Microencapsulación**

La microencapsulación es el proceso mediante el cual una sustancia activa es rodeada y protegida por una pared porosa o se introduce en una matriz homogénea o heterogénea que puede liberar su contenido a tasas controladas y en condiciones específicas (Tapia, 2017, p. 28) (Reyna et al., 2015, p. 14).

En el campo industrial y farmacéutico se ha estudiado este proceso ampliamente, por lo que tecnológicamente se lo denomina “micropartícula, microcápsula o microesfera”. Por otro lado, su tamaño varía de micrómetros a milímetros, a más de tener la capacidad de presentar una variedad de formas de acuerdo a los materiales y métodos que se utilicen para su elaboración (Pardo, 2019, p. 72) (Luna Guevara et al., 2016, p. 16).

Dentro de los componentes que se pueden microencapsular se tiene a los acidulantes, aromatizantes, antioxidantes, grasas poliinsaturadas, fármacos, microorganismos, vitaminas y minerales. Estos componentes biológicamente activos se encuentran encapsulados por diversos motivos, ya sea para brindar protección frente a la degradación durante almacenamiento, por protección de interacciones indeseables con otros componentes y para poder minimizar las reacciones de deterioro que se indican ante la luz, temperatura, o por el pH. (Tapia, 2017, p. 27) (Luna Guevara et al., 2016, p. 17).

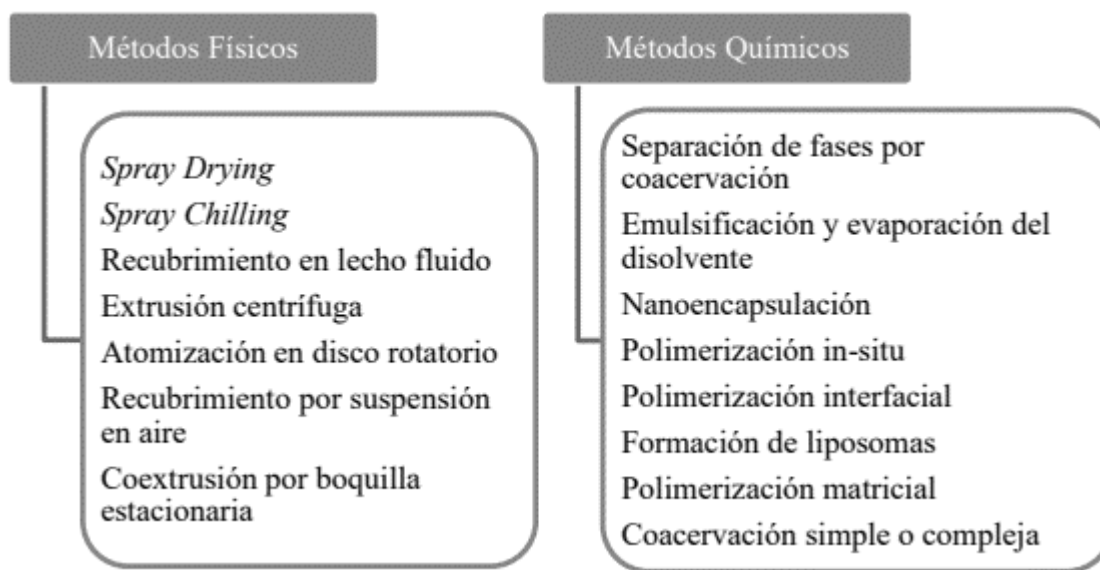


En el campo farmacéutico, la tecnología de microencapsulación puede proteger a los medicamentos del daño ambiental, estabilizar sustancias sensibles, eliminar incompatibilidades o enmascarar sabores desagradables, todo lo cual tiene como objetivo mejorar la biodisponibilidad de los medicamentos convencionales y reducir los efectos secundarios que producen (Pardo, 2019, p. 73).

### 1.7.1. Métodos de microencapsulación

Existen varios métodos de microencapsulación, que generalmente se pueden dividir en procesos químico y físicos. La selección de un método depende de la naturaleza de la sustancia a encapsular, pudiendo elegirse la combinación adecuada de materiales y métodos para elaborar productos microencapsulados con una variedad de características morfológicas y de composición (Tapia, 2017, p. 29).

En la figura 6-1 se muestra un diagrama de los principales métodos de microencapsulación, destacando las técnicas de emulsificación y evaporación de solventes por su sencilla implementación (Hernández, 2017).



**Figura 6-1.** Métodos de microencapsulación  
Fuente: (Hernández, 2017).

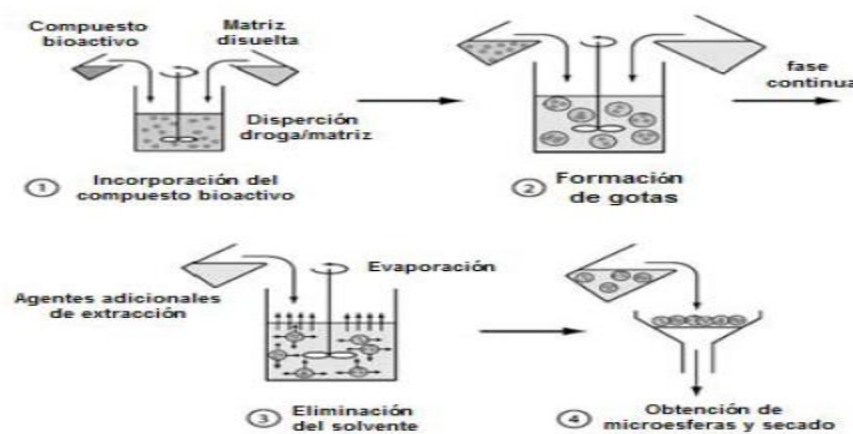
### 1.7.1.1. Microencapsulación por emulsificación y evaporación del disolvente

Esta es una técnica bastante simple que incluye cuatro pasos básicos, que se presentarán a continuación y se describen en la Figura 7-1.

- Disolver o dispersar el compuesto a encapsular en un solvente que contendrá el material que formará la matriz polimérica.
- A continuación, se realiza la emulsificación en una segunda fase que es inmisible con la primera fase para formar microgotas
- Posteriormente, se evapora el solvente, formando así microcápsulas.
- Finalmente, se deben extraer y proceder a secar las microcápsulas formadas (Hernández, 2017).

Según el tipo de disolvente utilizado, la emulsificación se puede dividir en cuatro etapas (Hernández, 2017):

- Emulsión doble O / A / O: La fase orgánica contiene al principio activo, que se emulsiona en la fase acuosa, y la emulsión resultante se emulsionará en la fase orgánica.
- Emulsificación O / A: Se dispersará el principio activo en la fase orgánica y se emulsionará en la fase acuosa.
- Emulsificación O / A con disolvente: Si el principio activo no es soluble en la fase orgánica, utilizar un codisolvente y luego emulsionar en la fase acuosa.
- Emulsificación O / O: El principio activo se dispersa en la fase orgánica y luego se emulsiona en la segunda fase orgánica inmisible (Hernández, 2017).



**Figura 7-1.** Esquema general del método de Microencapsulación por emulsificación y evaporación del disolvente

**Fuente:** (Freitas, Merkle y Gander, 2005, p. 319).

Durante el proceso de emulsificación, se pueden utilizar tensoactivos que ayudan a promover la formación de microgotas. La selección del solvente es el punto básico de este proceso, debido a que, el solvente adecuado ayudará a su evaporación, por lo que es muy común elegir la emulsificación O / O, puesto que el solvente utilizado en este tipo de emulsificación tiene el punto de ebullición bajo (Hernández, 2017).

### ***1.7.2. Control de los parámetros físicos y químicos de las microesferas***

Para asegurar su calidad, es necesario controlar y caracterizar las microesferas a través de pruebas que permitan determinar varios parámetros, tales como: tamaño de partícula, morfología y eficiencia de la encapsulación (Villarroel, 2015, p. 39).

#### ***1.7.2.1. Morfología***

Al estudiar las propiedades morfológicas de las microesferas, se pueden observar características que resultan importantes para demostrar la calidad de las microesferas obtenidas, como: forma, presencia de poros, regularidad superficial, continuidad de la membrana y la presencia de defectos. La presencia de agujeros puede afectar la liberación de principio activo encapsulado, afectando negativamente al producto final tras su efecto indeseable (Villarroel, 2015, p. 39).

Las propiedades morfológicas de las microesferas pueden verse afectadas por la tecnología de microencapsulación y por sus condiciones de trabajo. Las técnicas de microscopía se utilizan para determinar la morfología de las microesferas y la microscopía electrónica de barrido es la más utilizada. Otro tipo de microscopía utilizada es la de fluorescencia, que permite visualizar la estructura interna de las microesferas. Sin embargo, algunos estudios creen que la microscopía óptica es una técnica simple y muy útil para determinar la distribución de forma y tamaño de las microesferas (Villarroel, 2015, p. 40).

#### ***1.7.2.2. Tamaño de partícula***

El tamaño de la partícula es un parámetro importante, debiéndose considerar la vía de administración para determinar el tamaño ideal de las microesferas, el cual debe ser inferior a 2 mm (Garcés, 2018, p. 37). Así también, el tamaño estándar de las microesferas es de 0,1 a 2000  $\mu\text{m}$  (Lozano y Córdoba, 2012).

Existen varias condiciones experimentales que afectan el tamaño de las microesferas, como el tipo de polímero, su concentración y peso molecular, la relación de polímero a ingrediente activo o la velocidad de agitación, etc. (Villarroel, 2015, p. 41).

Las técnicas utilizadas para determinar el tamaño de las microesferas incluyen: sedimentación, centrifugación, ultra centrifugación, dispersión de luz, difracción láser, conductividad eléctrica, microscopía óptica y electrónica. A pesar de esto, no todas estas tecnologías están son específicas para realizar esta determinación, debido a que no pueden cubrir el rango de tamaño y proporcionar resultados confiables. Por lo tanto, los microscopios electrónicos y ópticos tienen ventajas sobre otras tecnologías porque cubren el rango de tamaño, siendo sus resultados más fiables (Villarroel, 2015, p. 41).

### *1.7.2.3. Rendimiento de producción*

Al calcular el rendimiento, es posible que se evidencie el porcentaje de microesferas obtenido en relación con la cantidad total de componentes utilizados en la formulación (López y Villalta, 2009, p. 77).

El cálculo se realiza utilizando la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento de producción} = \frac{M}{AAS + Q + GlA} \times 100$$

Donde:

- AAS: es la cantidad de ácido acetilsalicílico utilizada medida en gramos
- Q: es la cantidad de quitosano utilizada medida en gramos
- GlA: es la cantidad de Glutaraldehido utilizada
- M: cantidad de microesferas obtenidas al final del proceso medida en gramos

### *1.7.3. Eficacia de encapsulación*

La eficiencia de encapsulación se calcula utilizando la siguiente fórmula, basada en la relación entre la cantidad de ingrediente activo encapsulado en las microesferas y la cantidad teórica o cantidad total utilizado al inicio de la formulación (López y Villalta, 2009, p. 78).

$$EE (\%) = \frac{\text{Cantidad de p. a. encapsulado}}{\text{Cantidad teorica de p. a.}} \times 100$$

## **1.8. Ácido acetilsalicílico**

Es un fármaco perteneciente a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE), especialmente al grupo de los denominados salicilatos. Por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas, es un fármaco que se utiliza para tratar el dolor, la fiebre y la inflamación. Además de ser un AINE, también se puede utilizar como fármaco antiplaquetario (Benites, 2019).

### **1.8.1. Descripción**

Cristales blancos, generalmente copos o agujas, o polvo cristalino blanco. Inodoro o tiene un ligero olor. Es estable en aire seco y se hidroliza gradualmente en ácido salicílico y ácido acético en aire húmedo. Fácilmente soluble en etanol; soluble en cloroformo y éter; moderadamente soluble en éter anhidro y muy poco soluble en agua (ANMAT, 2014, p. 116).

### **1.8.2. Mecanismo de Acción**

Su mecanismo de acción incluye el inhibir irreversiblemente a la enzima ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), de modo que, para lograr su efecto terapéutico tiene que bloquear síntesis de prostaglandinas y tromboxanos (Benites, 2019).

### **1.8.3. Farmacocinética**

El AAS en dosis bajas (<100 mg/d) bloquea de forma irreversible la COX-1, evitando así la formación de tromboxano, inhibiendo la agregación plaquetaria y produce un efecto antitrombótico. A dosis más altas (<4 g/d), las dos enzimas COX-1 y COX-2 se bloquean y producen efectos analgésicos y antipiréticos. Las dosis muy altas (4-8 g/día) tienen efectos antiinflamatorios y estas dosis pueden producir niveles plasmáticos de ácido salicílico >300 µg/ml (Benites, 2019).

Después de ingerir AAS, la esterasa hidroliza una parte en el estómago y la mucosa intestinal. La forma no ionizada (y por lo tanto más soluble en grasa) se absorbe en el estómago debido a que, su pH ácido facilita este proceso. El intestino delgado es el sitio de absorción más amplia debido a su gran superficie, y pH alcalino que facilita la absorción de comprimidos con cubierta entérica (Sepúlveda et al., 2018, p. 1313).

#### ***1.8.4. Indicación terapéutica***

El AAS se utiliza como fármaco antipirético, antiinflamatorio y antiplaquetario, siendo recomendado en el tratamiento de enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoide, la osteoartritis y la fiebre reumática aguda. Además, debido a sus propiedades antitrombóticas, también se puede utilizar para reducir el riesgo de ataque cardíaco e infarto de miocardio (Benites, 2019).

#### ***1.8.5. Efectos adversos***

Los posibles efectos adversos del uso de AAS son: enfermedades gastrointestinales, ardor de estómago, náuseas y vómitos; enfermedades respiratorias, congestión nasal y rinitis (Benites, 2019).

## CAPÍTULO II

### 2. MARCO METODOLÓGICO

#### 2.1. Tipo de estudio y diseño de la investigación

##### 2.1.1. *Tipo de Investigación*

El tipo de investigación es cuantitativa debido a que se realizó la cuantificación del contenido del p.a. y la determinación del porcentaje de liberación del mismo en las microesferas de quitosano elaboradas; según el objetivo es aplicada, puesto que el conocimiento teórico adquirido en investigaciones sobre la elaboración de FFLM, indica que estas formulaciones solucionan algunos inconvenientes ocasionados por los comprimidos comunes. Es de corte transversal, ya que el desarrollo de la investigación puede realizarse en cualquier momento, es decir la variable tiempo no influye de manera directa en la formulación y elaboración de microesferas de quitosano.

##### 2.1.2. *Diseño de la Investigación*

###### **Diseño Experimental**

Es una investigación de tipo experimental, porque se efectuó la manipulación de diferentes variables y además se basó en el método científico. La experimentación se llevó a cabo en el laboratorio donde el investigador controló las variables de forma artificial.

#### 2.2. Lugar de investigación

La investigación se realizó en la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica y de Toxicología de la Facultad de Ciencias.

#### 2.3. Población de estudio

Formulaciones de microesferas de quitosano cargadas con ácido acetilsalicílico elaboradas mediante reticulación en suspensión.

## **2.4. Tamaño de la muestra**

La población de estudio corresponde a la muestra, es decir a las distintas formulaciones de microesferas que se elaboraron.

## **2.5. Método de muestreo**

El método de muestreo que se utilizó en la investigación es la técnica de muestreo no probabilístico por conveniencia, esta es una técnica que permite seleccionar la muestra basándose en la conveniente accesibilidad y proximidad hacia la misma por parte del investigador (Otzen y Manterola, 2017, p. 230).

## **2.6. Elaboración de las microesferas**

### **2.6.1. *Materiales, equipos y reactivos***

#### **2.6.1.1. *Materiales de laboratorio***

- Vasos de precipitación
- Balones de aforo
- Pipetas
- Varillas de agitación
- Probeta
- Bureta
- Soporte universal con pinzas
- Matraz Erlenmeyer
- Pizeta
- Jeringa
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Papel kraft
- Espátula
- Embudo buchner
- Kitasato
- Tubos de ensayo
- Gradilla para tubos de ensayo



### 2.6.1.2. Equipos

- Agitador magnético DragonLab MS-S
- Balanza Analítica RADWAG AS 220.R2
- Microscopio óptico Fisher Scientific (Fisherbrand™ Serie AX-500)
- Bomba de vacío Welch 2567B
- Espectrofotómetro UV Cole Palmer S2150
- Disolutor Vanderkamp VK6010
- Baño María Heidolph
- Termómetro digital GM320
- Agitador vortex mrc SI-100
- High shear laboratory mixer Silverson L5M-A
- pH metro Sper Scientific

### 2.6.1.3. Reactivos

- Quitosano
- Ácido acético
- Aceite de vaselina/aceite mineral
- Agua destilada
- Glutaraldehído 25%
- Polisorbato-80 (Tween-80)
- Éter de petróleo
- Hexano
- Bisulfito de sodio
- Ácido salicílico
- Ácido sulfúrico concentrado
- Anhídrido acético
- Ácido clorhídrico
- Cloruro férrico
- Etanol
- Fenolftaleína
- Hidróxido de sodio

### 2.6.2. Técnicas y métodos

Las microesferas de quitosano se elaboraron utilizando el método de emulsificación, específicamente la técnica de microencapsulación por reticulación en suspensión, siguiendo una metodología similar a la que utilizó Denkba (2008, p. 742) la cual se detalla a continuación:

- En una solución acuosa de ácido acético al 5%, disolver quitosano y luego agitar hasta lograr que la solución sea homogénea (solución A).
- Una vez que la solución A es completamente homogénea, dejar reposar para su aclaramiento.
- Preparar el medio de suspensión, el cual consiste en una mezcla de aceite mineral y éter de petróleo.
- Dispersar la solución A en el medio de suspensión, para obtener la solución B.

- Colocar Tween-80 como emulsionante.
- Agitar la solución B durante 10 minutos, transcurrido este tiempo añadir glutaraldehído y continuar agitando por 60 minutos.
- Pasados los 60 minutos de agitación añadir nuevamente glutaraldehído y agitar por 60 minutos, repetir esta misma operación una vez más.
- Después de las 3 horas de agitación, dejar reposar las microesferas de quitosano y eliminar el sobrenadante
- Colocar las microesferas en un embudo buchner con papel filtro
- Lavar con agua destilada, a continuación, con una solución de bisulfito de sodio al 5%, después con hexano y al final con agua destilada nuevamente.
- Al finalizar el lavado recoger las microesferas y dejar secar.

#### 2.6.2.1. Estandarización del método de elaboración de microesferas de quitosano

Para la preparación de las microesferas de quitosano se realizaron una serie de experimentos, que condujeron a la obtención de varias formulaciones, las cuales permitieron determinar los factores que inciden directamente en los parámetros de morfología y tamaño de partícula, esto con el fin de obtener microesferas que cumplan con dichos parámetros de manera idónea, para ello se establecieron las siguientes condiciones:

- Cantidad de Tween-80 y glutaraldehído utilizados (Tabla 1-2 y 2-2)
- Velocidad de agitación (rpm) (Tabla 3-2)
- Tiempo de secado (Tabla 4-2)

**Tabla 1-2.** Cantidad de emulsionante y agente reticulante

Twen-80 (mL)	Glutaraldehído (mL)
0,5	2,0
1,0	3,0
2,0	4,0

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

**Tabla 2-2.** Formulaciones de microesferas con diferentes concentraciones de Tween-80 y glutaraldehido

Formulación	Tween-80 (mL)	Glutaraldehido (mL)		
		1ra adición	2da adición	3ra adición
F1	0,5	1,0	0,5	0,5
F2	0,5	1,0	1,0	1,0
F3	0,5	2,0	1,0	1,0
F4	1,0	1,0	0,5	0,5
F5	1,0	1,0	1,0	1,0
F6	1,0	2,0	1,0	1,0
F7	2,0	1,0	0,5	0,5
F8	2,0	1,0	1,0	1,0
F9	2,0	2,0	1,0	1,0

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

**Tabla 3-2.** Velocidad de agitación para la preparación de microesferas de quitosano

Formulación	Velocidad de agitación (rpm)
F1 – F9	500 rpm
F1 – F9	1500 rpm
F1 – F9	2000 rpm

Realizado por: Pulistar Jean, 2021.

**Tabla 4-2.** Tiempo y método de secado de las microesferas

Formulación	Estufa (65 °C)	Desecador	Ambiente
F1 – F9	30 min	16 h	16 h
F1 – F9	60 min	24 h	24 h

Realizado por: Pulistar Jean, 2021.

Para establecer cuáles serían las mejores condiciones que permitan elaborar microesferas con características deseadas, se realiza una caracterización previa de las mismas, en las que se evalúa solamente el tamaño de partícula siguiendo el proceso detallado en el apartado 2.6.3.1, esto permite determinar la cantidad de emulsionante y agente reticulante, velocidad de agitación, método y tiempo de secado que se utilizaran en la elaboración de microesferas de quitosano, y a la vez ayuda a identificar cual sería la mejor formulación de todas, la técnica final que se llevara a cabo en este proceso se especifica en el siguiente apartado.

### *2.6.2.2. Preparación de microesferas de quitosano sin carga de principio activo*

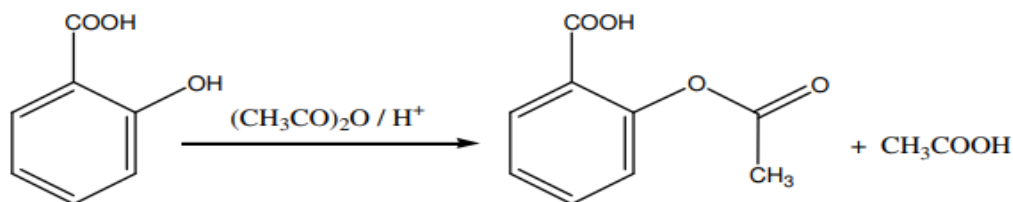
Una vez realizada la estandarización del método de elaboración de microesferas de quitosano y establecidas las condiciones ideales para la obtención de microesferas con mejores resultados en cuanto a los parámetros de morfología y tamaño de partícula, se detalla el método final que se utilizara para la elaboración de microesferas utilizando la técnica de microencapsulación por reticulación en suspensión.

- En 100 mL de una solución acuosa de ácido acético al 5%, disolver 2 g de quitosano y luego agitar hasta lograr que la solución sea homogénea (solución A).
- Una vez que la solución A es completamente homogénea, dejar reposar por 45 minutos para su aclaramiento.
- Preparar el medio de suspensión, el cual consiste en una mezcla de aceite mineral y éter de petróleo en una proporción 60:40 (v/v).
- Dispersar 10 mL de la solución A en 100 mL del medio de suspensión, para obtener la solución B.
- Colocar 1 mL de Tween-80 como emulsionante.
- Agitar la solución B a 1500 rpm durante 10 minutos, transcurrido este tiempo añadir 1 mL de glutaraldehído y continuar agitando por 60 minutos.
- Pasados los 60 minutos de agitación añadir 0,5 mL de glutaraldehído y agitar por 60 minutos más, repetir esta misma operación una vez más.
- Después de las 3 horas de agitación, dejar reposar las microesferas de quitosano por 1 hora y eliminar el sobrenadante
- Colocar las microesferas en un embudo Buchner con papel filtro
- Lavar con 400 mL de agua destilada por 5 veces, a continuación, con 25 mL de una solución de bisulfito de sodio al 5% por 2 veces, después con 30 mL de hexano por 2 veces y al final con 400 mL agua destilada por 5 veces.
- Al finalizar el lavado recoger las microesferas en papel kraft y dejar secar por 24h a temperatura ambiente (Denkba, Seyyal y Piskin, 2008, p. 742).

### *2.6.2.3. Síntesis del principio activo*

Debido a la emergencia sanitaria por la cual está atravesando el país y el mundo, no fue posible adquirir el principio activo de AAS de manera comercial, por lo cual se procedió a sintetizarlo en el laboratorio.

El ácido acetilsalicílico se prepara por acetilación del ácido salicílico mediante un proceso denominado esterificación, la que consiste en la reacción de un grupo carboxilo (-COOH) y un grupo hidroxilo (-OH) para formar un grupo éster (-COOR). En este caso la fuente del grupo -OH es el fenol del ácido salicílico, y el grupo acetilo (-COCH<sub>3</sub>) proviene del anhídrido acético (Figura 1-2) (Anta, 2004, p. 3).



**Figura 1-2.** Esquema de la reacción

Fuente: (Anta, 2004, p. 3).

- **Síntesis del AAS**

- Pesar 2,0 g de ácido salicílico cristalizado y transferirlos en un matraz Erlenmeyer de 100 ml.
- Añadir 5 mL de anhídrido acético.
- Colocar de 6 gotas de ácido sulfúrico concentrado
- Agitar por 10 minutos hasta que el ácido salicílico se disuelva.
- Enfriar la mezcla en baño de hielo hasta que se produzca la cristalización.
- Añadir lentamente y con precaución 1 mL de agua destilada fría.
- Adicionar 49 mL más de agua destilada fría y enfriar a 0°C en baño de hielo.
- Lavar y separar los cristales por filtración a vacío.
- Enjuagar el filtrado con pequeñas porciones de agua fría tantas veces como sea necesario para recoger los cristales.
- Finalmente dejar secar los cristales recogidos al aire sobre papel filtro (Anta, 2004, p. 4).

- **Purificación**

- Pasar los cristales recogidos a un vaso de precipitación de 100 mL y añadir 25 mL de una solución acuosa de bicarbonato de sodio.
- Agitar hasta que cese el burbujeo de CO<sub>2</sub>.
- Filtrar al vacío para eliminar los polímeros que se puedan haber formado.
- Colocar el filtrado en un vaso de precipitación y a continuación adicionar gota a gota HCl concentrado, sin dejar de agitar hasta que no se observe más precipitación.
- Enfriar en baño de hielo y recoger el sólido por filtración al vacío.
- Poner los cristales a secar sobre papel filtro (Anta, 2004, p. 4).

- **Identificación**

- En un tubo de ensayo colocar 5 mL de agua destilada y disolver algunos cristales de ácido acetilsalicílico (producto bruto y purificado) sintetizado.
- Calentar a ebullición durante 5 - 10 minutos, dejar enfriar y agregar 1 ó 2 gotas de cloruro férrico.
- La solución se debe tornar de un color rojo o violeta (ANMAT, 2014, p. 68).

- **Determinación de la pureza del ácido acetilsalicílico sintetizado**

Para determinar la pureza del ácido acetilsalicílico obtenido:

- Pesar 0,2 g de la muestra y colocar en un Erlenmeyer de 100 ml.
- Añadir 25 mL de etanol para disolver el sólido y posteriormente 4 gotas de fenoltaleína.
- Valorar inmediatamente hasta el punto de viraje del indicador
- La valoración se realiza colocando en una bureta NaOH 0,1N y adicionando poco a poco el NaOH hasta que se observe un cambio de coloración permanente de la disolución.
- Anotar los mililitros del valorante gastados y realizar los cálculos (Aravena, 2018).

$$\frac{[\ ] \text{ NaOH } x \text{ mL valorante}}{\text{g o mL de la sust a valorar}} = \text{concentracion real AAS sintetizado}$$

$$\frac{[\ ] \text{ teorica AAS}}{[\ ] \text{ real AAS sintetizado}} x 100$$

#### 2.6.2.4. Preparación de microesferas de quitosano con carga de principio activo

Se realiza el mismo proceso de elaboración de microesferas de quitosano sin carga de p.a., con la diferencia que en esta formulación se disuelve el p.a. en la solución A (ácido acético/quitosano). Se elaboraron cuatro formulaciones con diferentes concentraciones de p.a. (Tabla 5-2), con el fin de seleccionar la formulación que contenga la mayor cantidad de p.a. encapsulado.

**Tabla 4-2.** Concentración de principio activo utilizado en cada formulación

Formulación	Concentración de principio activo (g)	Tween-80 (mL)
FPA1	0,25	0,5

FPA2	0,5	0,5
FPA3	0,25	1,0
FPA4	0,5	1,0

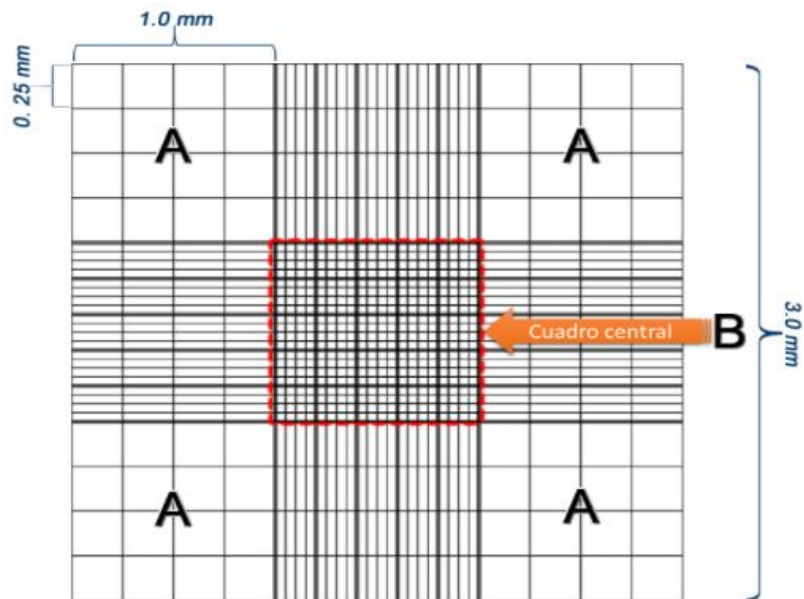
Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

### 2.6.3. Caracterización de las microesferas

#### 2.6.3.1. Morfología y tamaño de partícula

El tamaño y morfología de las microesferas de quitosano (con y sin carga de p.a.) se evaluó usando un microscopio óptico de la marca Fisher Scientific (Fisherbrand™ Microscopio compuesto para investigación Serie AX-500), con el lente objetivo 10X, para evaluar este parámetro también se utilizó una cámara de Neubauer (Figura 2-2), la cual tiene una cuadrícula de dimensiones conocidas.

Para evaluar este parámetro se procedió a colocar una sola microesfera seleccionada al azar en una zona específica de la cámara de Neubauer, en cualquiera de las zonas de recuento lateral (cuadrante A), para así determinar cuál es el tamaño aproximado de la microesfera.

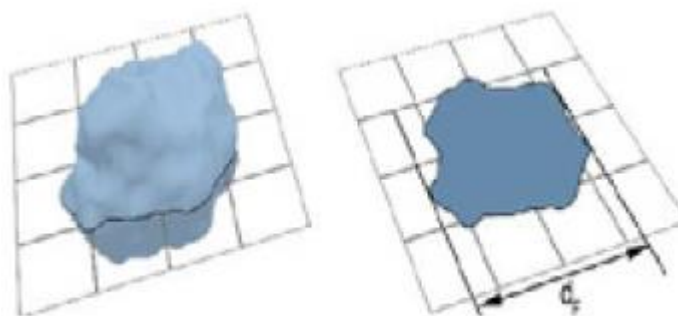


**Figura 2-2.** Cuadrantes y dimensiones de la cámara de Neubauer

Fuente: (CETA - FES Zaragoza - UNAM, 2018).

La determinación del tamaño de partícula se realiza basándose en la medición del diámetro de Feret, debido a que no todas las microesferas obtenidas son por completo esféricas. El diámetro de Feret representa la distancia entre dos líneas paralelas que son tangentes a la proyección de la partícula

(Figura 3-2) y se utiliza en la caracterización de partículas irregulares, que se observan a través de la microscopía. (Valera, Morales y Morfa, 2017, p. 38).



**Figura 3-2.** Diámetro de Feret

**Fuente:** (Valera, Morales y Morfa, 2017, p. 38)

Se coloca las microesferas sobre una cuadrícula del cuadrante A, cuyo tamaño de cuadrícula es de 0,25mm y se mide la distancia entre dos tangentes trazadas de forma perpendicular (Valera, Morales y Morfa, 2017, p. 38).

#### *2.6.3.2. Identificación de principio activo en las microesferas*

Reducir a polvo fino 0,25g de microesferas, disolver en etanol y agregar 1 ó 2 gotas de cloruro férrico, la solución se debe tornar de un color rojo o violeta (ANMAT, 2014, p. 68).

#### *2.6.3.3. Determinación del contenido de principio activo en las microesferas*

La determinación del contenido de p.a. en las microesferas se realizó mediante una valoración directa de tipo ácido-base, esta valoración se fundamenta en la neutralización del protón ácido del grupo ácido carboxílico (FCBQF - UNR, 2019).

Se pesan 0,25g de microesferas y se reducen a polvo fino, se transfiere el sólido a un matraz Erlenmeyer y se disuelve en etanol, se colocan de 2 a 4 gotas de fenolftaleína como indicador y se procede a adicionar NaOH 0,5 N a la solución. El punto final de la valoración se logra cuando la solución adquiere una ligera coloración rosada, se debe anotar la cantidad de valorante utilizado para realizar los cálculos (FCBQF - UNR, 2019).



- Cálculo del factor

1000 mL sol ———— 0,5 eq g NaOH

1 eq g NaOH ———— 180 g AAS

\* Cada mililitro de solución 0,5 N de NaOH equivale a 0,090 g de AAS

#### 2.6.3.4. Perfil de liberación del principio activo de las microesferas

- Preparación de la curva de calibración

Para cuantificar el porcentaje de p.a. que se libera en un tiempo específico en primer lugar se elaboró una curva de calibración de la solución estándar de AAS de concentración conocida (0,005M), haciendo 5 disoluciones de la misma (Tabla 6-2).

**Tabla 5-2.** Curva de calibración de la solución estándar

Curva de calibración		
Concentración	Absorbancia	r
$5 \times 10^{-4}$	3,010	0,998
$5 \times 10^{-5}$	0,550	<b>A</b>
$5 \times 10^{-6}$	0,097	0,0589
$5 \times 10^{-7}$	0,004	<b>B</b>
$5 \times 10^{-8}$	-0.007	5941,025

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

- Proceso de disolución

El ensayo de disolución se llevó a cabo según la USP39-NF34 prueba 1 para Aspirina, Tabletas de Liberación Prolongada, a continuación, se detalla el proceso:

- **Aparato 1 (canastilla):** 30 rpm.
- **Medio:** ácido clorhídrico 0,1 N; 500 ml.
- **Tiempo:** 1 y 4 horas.
- **Detector:** UV punto isobéptico de la aspirina y del ácido salicílico,  $265 \pm 2$  nm
- **Solución estándar:** Solución de ácido acetilsalicílico 0,005M
- **Análisis:** Cumplido el tiempo especificado, extraer una alícuota de cada vaso y determinar la cantidad de C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> disuelta a partir de las absorbancias en el UV, comparando con una solución estándar de concentración conocida de AAS.

- **Tolerancia:** Las cantidades disueltas de C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>O<sub>4</sub> como porcentajes de la cantidad declarada, en los tiempos especificados, se ajustan a la Tabla 7-2 (USP 39 NF 34 United States Pharmacopeial Convention, 2016, p. 1586).

**Tabla 6-2.** Tabla de aceptación 2 para el ensayo de disolución

Tiempo (horas)	Cantidad disuelta
1	entre 20% y 55%
4	no menos de 80%

**Fuente:** (USP 39 NF 34 United States Pharmacopeial Convention, 2016, p. 1586)

#### 2.6.3.5. Rendimiento de producción de microesferas de quitosano

Para calcular el porcentaje de rendimiento de producción de las microesferas, se realiza el siguiente proceso:

Para obtener el peso de las microesferas obtenidas:

- Pesar el vaso de precipitación:
  - Vacío en el que se realiza la formulación
  - Una vez se ha colocado todos los reactivos que se emplean en la formulación
  - Al finalizar las 3 horas de agitación
- Pesar las microesferas obtenidas luego:
  - Del proceso de filtrado y lavado
  - De las 24 horas de secado

Una vez conocido el peso de las microesferas obtenidas, se realiza el cálculo del rendimiento utilizando la siguiente formula:

$$\text{Rendimiento de producción} = \frac{M}{AAS + Q + GTA} \times 100$$

(López y Villalta, 2009, p. 22-188)

Donde:

- AAS: es el peso de ácido acetilsalicílico utilizado medida en gramos
- Q: es el peso de quitosano utilizado medida en gramos
- GTA: es la cantidad de glutaraldehído utilizado
- M: peso de microesferas cargada obtenidas al final del proceso medida en gramos (López y Villalta, 2009, p. 89).

## CAPÍTULO III

### 3. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS

En el presente capítulo se indican los resultados obtenidos de la elaboración de microesferas de quitosano. Se elaboraron microesferas de quitosano de liberación prolongada, para lo cual se realizaron formulaciones experimentales en dos fases, la fase uno consistió en la elaboración de microesferas sin carga de principio activo, mientras que en la fase dos se elaboraron microesferas cargadas con principio activo.

#### 3.1. Estandarización del método de elaboración de microesferas de quitosano

##### 3.1.1. Velocidad de agitación

Se sometieron cada una de las 9 formulaciones a diferentes velocidades de agitación (500, 1500 y 2000 rpm). En la tabla 1-3 se muestra los resultados obtenidos de esta determinación.

**Tabla 1-3.** Determinación de la velocidad de agitación óptima para la elaboración de microesferas de quitosano

Velocidad de agitación (rpm)	Tamaño de las microesferas (mm)
500	$0,9 \pm 0,1$
1500	$0,5 \pm 0,1$
2000	No se obtuvieron microesferas

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

El efecto de la velocidad de agitación interviene directamente en el tamaño medio de las microesferas, evidenciándose que el tamaño medio disminuye conforme aumenta la velocidad hasta cierto punto, de igual manera la distribución del tamaño se vuelve más estrecha al darse un incremento de la velocidad de agitación. Mientras mayor es dicha velocidad, provee la energía necesaria para que la solución de quitosano se disperse de mejor manera en la fase de suspensión, dando como resultado la formación de microesferas con tamaños más pequeños como establecen (Denkba, Seyyal y Piskin, 2008, p. 744) en un estudio relacionado.

Se observó que, a 500 rpm se obtenían microesferas con tamaño de partícula relativamente grande ( $0,9 \pm 0,1$  mm) en comparación a las que se obtenían al aumentar la velocidad a 1500 rpm ( $0,5 \pm 0,1$

mm), confirmando lo establecido por Denkba (2008, p744) en su estudio. No obstante, incrementar demasiado la velocidad de agitación no asegura que las microesferas resultantes tengan un menor tamaño, como ocurrió en este caso, al alcanzar 2000 rpm no fue posible completar el proceso de elaboración de microesferas, debido a que al momento de realizar la segunda adición de glutaraldehído la solución se volvía demasiado compacta, por lo cual no se podía continuar con la agitación y tampoco era posible evidenciar la formación de las microesferas en la solución.

### 3.1.2. Cantidad de emulsionante (Tween-80)

Una vez determinada la velocidad óptima de agitación, es necesario encontrar la cantidad adecuada de emulsionante. Para esta determinación se utilizaron diferentes volúmenes de Tween-80, 0.5mL, 1.0mL y 2.0mL.

Durante este proceso se partió de la solución A (2g quitosano/100mL ácido acético 5%), además se mantuvieron constantes la velocidad de agitación (1500 rpm) y la cantidad de agente reticulante (2,0mL). Se mantuvo constante la cantidad de agente reticulante utilizado debido a que la técnica utilizada en el proceso de elaboración de microesferas así lo establece (Denkba, Seyyal y Piskin, 2008, p. 742).

**Tabla 2-3.** Determinación de la cantidad de emulsionante óptima para la elaboración de microesferas de quitosano

Cantidad del emulsionante (mL)	Tamaño de las microesferas (mm)
0,5	0,8 ± 0,1
1,0	0,4 ± 0,1
2,0	0,3 ± 0,1

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

La tabla 2-3 muestra el efecto que tiene la variación de la cantidad de emulsionante en el tamaño de las microesferas de quitosano. Al aumentar la cantidad de Tween-80, se observó una disminución significativa del tamaño de las microesferas, el tamaño promedio de las microesferas obtenidas al utilizar 0,5 mL de emulsionante es de  $0,8 \pm 0,1$  mm, mientras que al incrementar la cantidad del mismo se obtienen microesferas de menor tamaño, tal como se evidencia en la tabla 2-3, que al utilizar 2,0 mL de emulsionante el tamaño promedio de las microesferas obtenidas era de  $0,3 \pm 0,1$  mm, concordando estos resultados con lo indicado en estudios similares (Denkba, Seyyal y Piskin, 2008, p. 743).

Esto se puede atribuir a la disminución de la tensión interfacial entre las gotículas acuosas y el medio de suspensión, producto del incremento en la cantidad del emulsionante (Pilotzi Xahuentitla, 2015, p. 25).

### 3.1.3. Cantidad de agente reticulante (Glutaraldehido 25%)

Luego de conocer la cantidad y la velocidad de agitación óptimas, se decidió determinar si la cantidad del agente reticulante establecida en la técnica de Denkba (2008, p742), el cual indica que con 2,0 mL es posible la elaboración de microesferas con las características deseadas en cuanto a tamaño y morfología.

Al igual que para encontrar la cantidad de emulsionante, en esta determinación se utilizaron diferentes cantidades de glutaraldehido al 25%.

**Tabla 3-3.** Determinación de la cantidad del agente reticulante óptima para la elaboración de microesferas de quitosano

Cantidad del agente reticulante (mL)	Tamaño de las microesferas (mm)
2,0	0,5 ± 0,2
3,0	0.75 ± 0,2
4,0	1,5 ± 0,3

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la tabla 3-3 se observa como incide la cantidad del agente reticulante en el tamaño de las microesferas, los resultados muestran una disminución del tamaño al disminuir la cantidad de agente reticulante añadido, se aprecia que al colocar 2 mL de glutaraldehido el tamaño de las microesferas era en promedio de  $0,5 \pm 0,2$  mm, siendo esto favorable para nuestro estudio, mientras que al incrementar la cantidad de reticulante (4 mL), el tamaño de las microesferas aumentaba de manera considerable, obteniéndose microesferas con tamaños incluso mayores a 1 milímetro ( $1,5 \pm 0,3$  mm).

Además en un estudio relacionado que se llevó a cabo por Mundargi et al. (2008, p. 230) indicaron que el agente reticulante también interfiere en el porcentaje de encapsulación del principio activo, debido a que al aumentar su concentración las microesferas formadas poseían una estructura más rígida, es decir, el volumen de espacio libre dentro de la microesfera era menor, producto del aumento de la densidad de reticulación y esto consecuentemente conduce a que el porcentaje de encapsulación se vea reducido.

### 3.1.4. Tiempo y método de secado

Para determinar el tiempo y método de secado adecuado, se procedió a someter las microesferas obtenidas a diferentes tiempos de secado, haciendo uso de la estufa, el desecador y secado a temperatura ambiente, los resultados se muestran a continuación en la tabla 4-3.

**Tabla 4-3.** Determinación del método y tiempo óptimo para el secado de microesferas de quitosano

Método de secado	Tiempo de secado	Microesferas
Estufa (65 °C)	30 min	Deshidratadas con pérdida de la morfología
	60 min	Parcialmente calcinadas
Desecador	16 h	No se evidencio cambio
	24 h	Secas parcialmente
Ambiente	16 h	Secas parcialmente
	24 h	Secas por completo

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

Se observó que secar las microesferas a temperatura ambiente ( 15 – 25 °C) por 24 horas es el método más adecuado para el secado, porque las microesferas se secaron en su totalidad sin observarse ningún rastro de humedad, a las 16 horas las microesferas aún no estaban secas por completo, observándose que alrededor de las microesferas aún existía presencia de agua producto del lavado, lo cual concuerda con lo citado en otras investigaciones (Mennini et al., 2012, p. 71).

No se eligió como el método adecuado para el secado la estufa como se establece en bibliografía (Denkba, Seyyal y Piskin, 2008, p. 742), puesto que al colocar las microesferas en la estufa a una temperatura de 65 °C por 30 min como se indica en el artículo citado, estas comenzaban a perder sus características iniciales, deshidratándose y perdiendo su morfología, y al pasar 60 min, las microesferas comenzaban a calcinarse.

Mientras que en el desecador los resultados no fueron favorables, al paso de 16 horas no se evidencio cambio alguno, es decir las microesferas seguían conteniendo la misma cantidad de agua a su alrededor y trascurridas 24 horas solo se evidencio que se secaron parcialmente y no en su totalidad, se descarta este método debido a que se asume que para que las microesferas se sequen por completo deberán pasar al menos 48 horas y por lo tanto no es factible ya que se requiere un periodo de tiempo relativamente largo.

### 3.2. Formulación de las microesferas de quitosano

#### 3.2.1. Primera fase

Esta fase consiste en la preparación de microesferas sin carga de principio activo, para lo cual fue necesario en primer lugar determinar varias condiciones que permitirían obtener microesferas con las características deseadas, dichas constantes se enumeran en la tabla 5-3.

**Tabla 5-3.** Condiciones para la formulación de microesferas

<b>Condiciones</b>	Reticulante (glutaraldehído)	2,0 mL
	Velocidad de agitación	1500 rpm
	Método de secado	Temperatura ambiente 15-25 °C
	Tiempo de secado	24 horas

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

Luego de determinar las constantes para las formulaciones, se debe analizar las variables (Tabla 6-3) que pueden mejorar o interferir en el proceso de elaboración de las microesferas de quitosano.

**Tabla 6-3.** Variables que intervienen en el proceso de elaboración de microesferas

<b>Formulación</b>	<b>Cantidad emulsionante (mL)</b>	<b>Cantidad del medio de suspensión (mL)</b>	<b>Volumen vaso precipitación (mL)</b>	<b>Tiempo de reposo al finalizar la agitación (min)</b>
FV1	0,5	60	100	30
FV2	1,0			
FV3	2,0			
FV4	0,5	60	100	60
FV5	1,0			
FV6	2,0			
FV7	0,5	100	250	60
FV8	1,0			
FV9	2,0			

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

En la Tabla 6-3 se observan las diferentes variables que pueden interferir en el proceso de elaboración de microesferas, luego de realizadas las respectivas formulaciones, se evaluó las características físicas, dando como resultado microesferas de apariencia esferoidal y uniformes en todas las formulaciones realizadas, sin embargo, esto no es suficiente para dictaminar que todas las formulaciones son ideales, puesto que en FV1, FV2 y FV3 el tiempo de reposo de 30 minutos no fue

suficiente para que las microesferas se volvieran rígidas, esto se evidencio al momento del filtrado y lavado, observándose la destrucción de las mismas, en cambio al dejar reposar por 60 minutos estas obtenían la rigidez necesaria para ser filtradas, lavadas y hasta manipuladas sin ser destruidas.

Otra de las variables que interfiere en la obtención de las microesferas es el volumen del vaso de precipitación, al utilizar uno de 100 mL y comenzar con la agitación a 1500 rpm, la solución contenida comenzaba a derramarse y conforme pasaba el tiempo de agitación parte de la misma quedaba adherida en las paredes, por lo cual en algunos casos no era posible terminar con el proceso de elaboración o la cantidad de microesferas obtenidas era escasa. Lo contrario ocurrió al utilizar el vaso de precipitación de 250 mL, donde fue posible terminar con el proceso de elaboración en todas las formulaciones (FV7-FV9), no se observó derrame de solución y todas las microesferas formadas estuvieron en constante agitación hasta el final sin quedar adheridas a las paredes.

De igual manera, la cantidad del medio de suspensión interviene directamente en la obtención de microesferas, al colocar 60 mL del medio de suspensión, el cual está compuesto por aceite mineral y éter de petróleo en una proporción 60:40 (v/v), con la agitación y el paso del tiempo, parte del éter comienza a volatilizarse haciendo que el volumen del medio de suspensión disminuya y por lo tanto al llegar a la parte final de agitación las microesferas formadas se asientan en el fondo del vaso de precipitación o a la vez queden adheridas en sus paredes, esto da como resultado que la cantidad de microesferas formadas sea considerablemente baja, en cambio al colocar 100 mL de medio, el volumen de este disminuye pero en el vaso queda el volumen suficiente de medio de suspensión para que las microesferas continúen en agitación constante hasta el final del proceso, sin adherirse a las paredes ni asentarse en el fondo del vaso, lo cual también ayuda a que se obtenga una mayor cantidad de microesferas.

### ***3.2.2. Segunda fase***

La segunda fase consiste en la preparación de microesferas cargadas con principio activo sintetizado.

#### ***3.2.2.1. Síntesis del principio activo***

Debido a la situación actual que atraviesa el país y el mundo, no fue posible adquirir el principio activo de AAS de manera comercial, por lo que se recurrió a la síntesis del mismo en el laboratorio. Una vez finalizados los procesos de síntesis y purificación, se procedió a realizar los ensayos de identificación y determinación de la pureza del producto obtenido.



- **Identificación del principio activo sintetizado**

El ensayo de identificación se lo llevó a cabo tal como indica la Farmacopea Argentina Séptima Edición, los resultados de este ensayo se muestran en la Tabla 7-3.

**Tabla 7-3.** Identificación del principio activo sintetizado

	Ácido acetilsalicílico sintetizado	
	Producto bruto	Producto purificado
Color muestra en solución	Transparente	Transparente
Coloración con FeCl <sub>3</sub>	Violeta	Violeta

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

Como se observa en la tabla 7-3 tras colocar el FeCl<sub>3</sub> al producto obtenido tanto de la síntesis como de la purificación se observa que las muestras toman una coloración violeta como especifica la Farmacopea Argentina Séptima Edición (ANMAT, 2014, p. 68), y mediante la coloración se confirma que se logró sintetizar el principio activo de ácido acetilsalicílico.

- **Determinación de la pureza del principio activo sintetizado**

Realizar la determinación de la pureza del p.a. sintetizado es de gran importancia, ya que al determinar la pureza permite conocer si los procesos de síntesis y purificación se realizaron de manera correcta, además si el p.a. sintetizado contiene un grado de pureza elevado indica que puede ser consumido sin temor a que se produzcan efectos adversos o intoxicación.

**Tabla 8-3.** Resultados de la titulación

Reactivos titulados	Concentración de NaOH	g o mL de la sustancia a titular	Valorante gastado (NaOH)	Concentración
Etanol	0,1 N	25 mL	0,1 mL	0,0004 N
AAS sintetizado	0,1 N	0,2028 g disueltos en 25 mL de etanol	12,7 mL	0,0508 N

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

Se realizó la valoración del etanol para demostrar que al disolver el p.a. sintetizado en etanol este no afecta al resultado, esto se comprueba al momento de colocar la primera gota de NaOH produciéndose el cambio de coloración de manera inmediata.

Cálculos:

Concentración NaOH: 0,1 N

mL valorante: 12,7 mL

g o mL de la sustancia a valorar: 0,2028 g disueltos en 25 mL

$$\frac{[\text{NaOH}] \times \text{mL valorante}}{\text{g o mL de la sust a valorar}} = \text{concentracion real AAS sintetizado}$$

$$\frac{0,1 \times 12,7}{25} = 0,0508$$

Concentración real AAS sintetizado: 0,0508 N

Concentración teórica del AAS: 0,04731 N

$$\frac{[\text{teorica AAS}]}{[\text{real AAS sintetizado}]} \times 100$$

$$\frac{0,04731}{0,0508} \times 100 = 93,13\%$$

% de pureza del AAS obtenido: 93,13%

Se efectuó una titulación para determinar la concentración exacta del AAS sintetizado, los resultados de la titulación se muestran en la tabla 8-3. Una vez realizada la titulación y habiéndose obtenido todos los datos necesarios, se realizó los cálculos respectivos para determinar el grado de pureza del AAS sintetizado, partiendo de que la concentración teórica del AAS (0,04731 N) (Aravena, 2018) es menor a la concentración real del AAS sintetizado que se obtuvo mediante la valoración, sabemos que el p.a. obtenido no es puro, obteniéndose un p.a. con un porcentaje de pureza del 93,13%, pudiendo deberse este porcentaje a varias razones como podrían ser una mala ejecución en los procesos de síntesis y purificación o la calidad de los reactivos usados en dichos procesos.

#### 3.2.2.2. Adición del principio activo

Una vez determinadas las constantes e identificado las variables para obtener las mejores formulaciones, se procede a añadir el principio activo en diferentes concentraciones para determinar cuál sería la cantidad idónea de principio activo que se debe añadir a la formulación, el cálculo para determinar el porcentaje de principio activo encapsulado se detalla en el apartado 3.3.3.

**Tabla 9-3.** Adición del principio activo en la formulación

Formulación	Concentración de principio activo (g)	Tween-80 (mL)	Glutaraldehído (mL)	Porcentaje de principio activo encapsulado (%)
FA1	0,25	0,5	2,0	21,6
FA2	0,5	0,5	2,0	25,2
FA3	1,0	0,5	2,0	25,2
FA4	0,25	1,0	2,0	28,8
<b>FA5</b>	<b>0,5</b>	<b>1,0</b>	<b>2,0</b>	<b>32,4</b>
FA6	1,0	1,0	2,0	32,4

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la Tabla 9-3 se muestra las distintas formulaciones que se llevaron a cabo, realizando variaciones tanto en la concentración del principio activo como en la cantidad del emulsionante. Como se observa las formulaciones FA5 (0,5 g de p.a. y 1,0 mL Tween-80) y FA6 (1,0 g de p.a. y 1,0 mL Tween-80) son aquellas en la que se registró el 32,4% de principio activo encapsulado, las demás formulaciones (FA1-FA4) no serán tomadas en cuenta para los estudios posteriores, puesto que su porcentaje de encapsulación es inferior al 30% y como se indica en bibliografía la fracción de principio activo encapsulada en la matriz polimérica debe ser mayor al 30 % (Rodríguez Llimós, Bregni y de los Santos Carvallido, 2013, p. 221).

La formulación seleccionada para continuar con el estudio es FA5, esto debido a que presenta el mayor porcentaje de encapsulación junto con FA6 (32,4%).

### **3.3. Caracterización de las microesfera**

Una vez que se determinó las formulaciones con las cuales se obtenían microesferas con las características morfológicas deseadas y mayor porcentaje de encapsulación, se evaluó el tamaño, el porcentaje de encapsulación y perfil de disolución de las microesferas, todos los ensayos se realizan por triplicado.

#### **3.3.1. Morfología y tamaño de partícula**

La morfología y el tamaño de partícula son dos parámetros importantes, para que una forma farmacéutica sea considerada como microesfera el tamaño debe ser inferior a 2 mm (López y Villalta, 2009, p. 178), Lozano y Córdoba (2012, p. 97) indican que el tamaño estándar de las microesferas debe oscilar entre 0,1 a 2000  $\mu\text{m}$ .

**Tabla 10-3.** Tamaño de las microesferas en mm

FA5 (0,5 g de p.a./1,0 mL Tween-80/2 mL glutaraldehido)		
FA5a	FA5b	FA5c
0,45	0,50	0,45
0,40	0,40	0,60
0,55	0,60	0,35
0,35	0,55	0,40
0,60	0,35	0,45
0,35	0,50	0,50
0,50	0,40	0,50
0,40	0,60	0,55
0,55	0,35	0,45
0,40	0,60	0,55

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

Como se observa en la tabla 10-3 todas las microesferas obtenidas cumplen con los criterios establecidos por (Lozano y Córdoba, 2012, p. 97) y (López y Villalta, 2009, p. 179), al poseer un tamaño inferior a 2 e inclusive a 1 mm.

Se elaboró la formulación FA5 por triplicado, tomándose diez mediciones de cada réplica para tener un tamaño de muestra aceptable y así realizar un tratamiento estadístico ANOVA de un factor para los datos obtenidos de las mediciones de las microesferas (tabla 10-3), en el que se comparó el valor de F experimental con el valor crítico para F; si el valor de F experimental es menor que el valor crítico para F, indica que no existe una diferencia significativa entre los datos (tabla 11-3).

**Tabla 11-3.** ANOVA para el tamaño de las microesferas

Análisis de varianza			
Origen de las variaciones	F	Valor crítico para F	Diferencia significativa
Entre grupos	0,31922197	3,35413083	NO

**Realizado por:** Pulistar, Jean, 2021.

En la tabla 11-3 se observa que no existe diferencia significativa del tamaño de las microesferas entre las 3 réplicas de las mediciones de la formulación FA5, de lo cual se puede deducir que con un 95% de confianza para este parámetro el proceso es replicable.

### 3.3.2. Identificación de principio activo en las microesferas

Para determinar si las microesferas obtenidas estaban cargadas o no con principio activo, se realizó un ensayo de identificación, el cual se lo realizó como lo indica la Farmacopea Argentina Séptima Edición, efectuando pequeñas modificaciones al momento de disolver las microesferas haciendo uso de diferentes solventes y no solo agua como se establece en (ANMAT, 2014, p. 68).

**Tabla 12-3.** Identificación de principio activo en las microesferas elaboradas

Característica	Agua destilada	Etanol	Ácido clorhídrico
Color muestra en solución	Amarillo tenue	Amarillo tenue	Amarillo tenue
Coloración con FeCl <sub>3</sub>	Violeta	Violeta	Rojo violáceo

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la tabla 12-3 se detallan los resultados del ensayo de identificación para determinar si las microesferas elaboradas contenían o no el principio activo, como se observa en la tabla las microesferas fueron disueltas en tres solventes diferentes y en los tres casos se obtuvieron resultados favorables, es decir, al momento de colocar el FeCl<sub>3</sub> se produjo la coloración violeta en los tubos que contenían microesferas disueltas en agua destilada y etanol, mientras que en el tubo que contenía microesferas disueltas con ácido clorhídrico se produjo una coloración rojo violáceo, esto es indicativo de que las microesferas elaboradas si contenían el principio activo encapsulado, puesto que en la Farmacopea Argentina Séptima Edición (ANMAT, 2014, p. 68) se establece que al producirse una coloración rojo violáceo o violeta indica la presencia de ácido acetilsalicílico.

### 3.3.3. Determinación del contenido de principio activo en las microesferas

Para determinar el contenido de principio activo encapsulado en las microesferas se realizó una valoración directa de tipo ácido-base, los resultados de este ensayo se visualizan en la tabla 10-3.

Cálculo del factor: Formulación FA5

1000 mL sol ——— 0,5 eq g NaOH

X= 0,00045 eq g NaOH

0,9 mL sol ——— X

1 eq g NaOH ——— 180 g AAS

X= 0,081 g AAS

0,00045 eq g NaOH ——— X

0,25 g ——— 100

X= 32,4 %

0,081 g ——— X

**Tabla 13-3.** Porcentaje de encapsulación del principio activo

Formulación	Concentración de principio activo (g)	Valorante gastado (NaOH 0,5N)	g de AAS en las microesferas	Porcentaje de principio activo encapsulado (%)
FA1	0,25	0,6 mL	0,054	21,6
FA2	0,5	0,7 mL	0,063	25,2
FA3	1,0	0,7 mL	0,063	25,2
FA4	0,25	0,8 mL	0,072	28,8
<b>FA5</b>	<b>0,5</b>	<b>0,9 mL</b>	<b>0,081</b>	<b>32,4</b>
FA6	1,0	0,9 mL	0,081	32,4

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

El contenido de principio activo encapsulado en la matriz polimérica, debe ser mayor al 30% (Rodríguez Llimós, Bregni y de los Santos Carvallido, 2013, p. 221), las formulaciones FA5 y FA6 son las únicas que cumplen con este indicador como se observa en la tabla 13-3, sin embargo la formulación FA5 es la seleccionada como la mejor formulación obtenida, esto debido a que el porcentaje de principio activo encapsulado es el mismo que en la formulación FA6, pero con la diferencia de que en FA5 se utilizó la mitad de la concentración de principio activo que en FA6, siendo esto una gran ventaja que permite el ahorro materia prima, el cual posteriormente podría utilizarse con otros fines.

Luego de seleccionar la mejor formulación, se realiza réplicas de esta para determinar si es posible replicar el proceso de elaboración de FA5 sin que exista variabilidad entre formulaciones, para esto se realizó un tratamiento estadístico en el cual se evalúa los valores obtenidos entre formulaciones (tabla 14-3).

**Tabla 14-3.** ANOVA para el porcentaje de encapsulación del principio activo

Formulación	Porcentaje de principio activo encapsulado (%)
FA5-1	32,4
FA5-2	32,1

FA5-3	32,3		
Análisis de varianza			
Origen de las variaciones	F	Valor crítico para F	Diferencia significativa
Entre grupos	0,1	7,70864742	NO

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la tabla 14-3 se observa que no existe diferencia significativa del porcentaje de encapsulación del principio activo entre las 3 réplicas de las de la formulación FA5, por lo cual se puede deducir que con un 95% de confianza para este parámetro el proceso de microesferización es replicable.

### 3.3.4. Perfil de liberación del principio activo de las microesferas

Se determinó la liberación del principio activo en tiempos específicos que son a 1h, 2h, 3h y 4h, los cuales son especificados por la USP39-NF34 como criterios de aceptación, los resultados obtenidos se pueden ver en la tabla 16-3.

Luego de elaborada la curva de calibración para la solución estándar de AAS de concentración conocida, se procede a realizar los cálculos con los datos obtenidos (tabla 15-3).

**Tabla 15-3.** Cálculo del por ciento disuelto sin reposición del medio de disolución

Fd = 10	Tiempo (h)	Xi (mg/mL)	Ei	Di	Vi
V = 5	30 min	2,879 x 10 <sup>-5</sup>	1,439 x 10 <sup>-3</sup>	7,12	495
Vd = 500	1	7,088 x 10 <sup>-5</sup>	3,544 x 10 <sup>-3</sup>	17,54	495
	2	1,079 x 10 <sup>-4</sup>	5,395 x 10 <sup>-3</sup>	26,71	495
	3	1,499 x 10 <sup>-4</sup>	7,499 x 10 <sup>-3</sup>	37,12	495
Dosis = 64,8 mg*	4	2,190 x 10 <sup>-4</sup>	0,0109	54,20	495

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

\*Cantidad de p.a. contenido en 0,2g de microesferas

El cálculo del porcentaje de liberación del principio activo se realiza según la NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable, calculándose con las siguientes formulas: (DOF - Diario Oficial de la Federación, 2013).

$$X_i = \frac{Y_i - A}{B}$$

Donde:

$Y_i$  = Absorbancia del principio activo en la preparación de la muestra al i-ésimo tiempo de muestreo

A = Ordenada al origen

B = Pendiente

$$E_i = (X_i)(F_d)(V)$$

Donde:

$E_i$  = mg disueltos en el volumen de muestra tomada al i-ésimo tiempo de muestreo

$X_i$  = concentración al i-ésimo tiempo de muestreo

$F_d$  = Factor de dilución de la muestra

V = volumen de muestra tomada

$$D_i = (X_i)(F_d)(V_i) + E_i$$

$$V_i = V_o - [(N - 1)V]$$

Donde:

$D_i$  = mg disueltos al i-ésimo tiempo de muestreo

$V_i$  = Volumen del medio de disolución al i-ésimo tiempo de muestreo

$V_o$  = Volumen inicial del medio de disolución

N = Número de extracciones al i-ésimo tiempo de muestreo

$$\%D_i = \frac{D_i}{Dosis} \times 100$$

Donde:

$\%D_i$  = Por ciento del principio activo disuelto al i-ésimo tiempo de muestreo

$D_i$  = mg disueltos al i-ésimo tiempo de muestreo

Dosis = mg de principio activo indicados en la etiqueta

El perfil de disolución ayuda a evaluar la cantidad de principio activo liberado en un tiempo determinado, la formulación seleccionada para llevar a cabo dicho ensayo es la formulación FA5, los datos obtenidos se muestran en la tabla 16-3, la duración del ensayo fue de 4 horas.



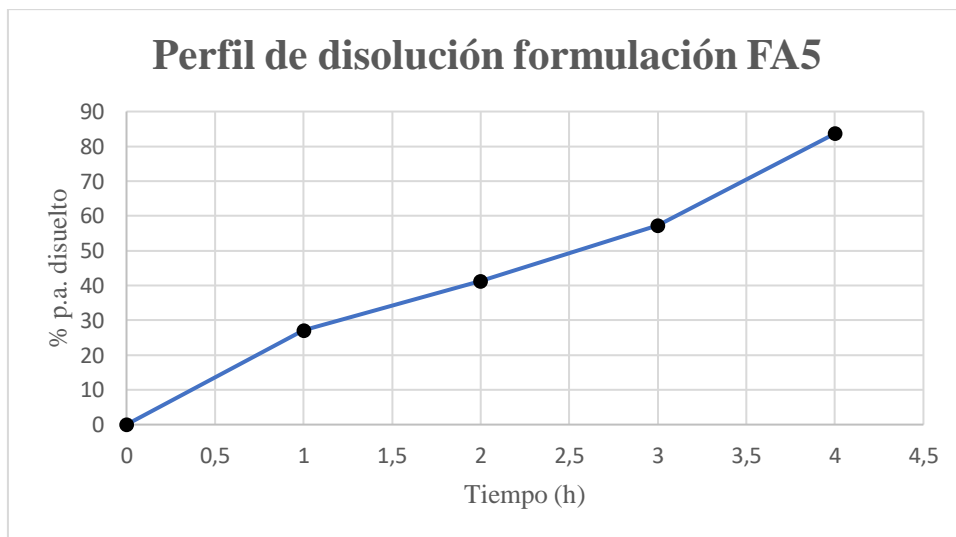
**Tabla 16-3.** Porcentaje de principio activo disuelto vs Tiempo de liberación

Tiempo (h)	Absorbancia	% p.a. liberado
0	0	0
1	0,48	27,07
2	0,70	41,21
3	0,95	57,28
4	1,36	83,65

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la tabla 16-3 se muestran los datos del porcentaje de liberación del principio activo en un tiempo determinado, todos los resultados obtenidos entran en los rangos de aceptación especificados por la USP39-NF34. Obteniendo a la 1, 2 y 3 horas una liberación del principio activo de 27,07%, 41,21% y 57,28% respectivamente, por lo cual se cumple con lo establecido en la tabla de aceptación 2 que indica que en esos tiempos debe haber una liberación de principio activo entre 20% y 55%, de igual manera a las 4 horas se obtuvo un porcentaje de liberación de 83,65%, cumpliendo también con lo especificado en la USP39-NF34, que establece que a las 4 horas no menos del 80% de principio activo debe estar liberado (USP 39 NF 34 United States Pharmacopeial Convention, 2016, p. 1586).

**Gráfica 1-3.** Porcentaje de principio activo liberado en función del tiempo



Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

En la gráfica 1-3 se visualiza la liberación del principio activo en un tiempo determinado, se puede apreciar que el porcentaje de principio activo disuelto se incrementa de manera constante, es decir el fármaco se libera progresivamente con el paso del tiempo, y la liberación no se ve afectada por el medio de disolución, lo que indica que FA5 es una formulación muy estable.

### 3.3.5. Rendimiento de producción de microesferas de quitosano

Se calculó el rendimiento de producción de microesferas, para determinar si el proceso de elaboración es factible, los resultados de la determinación del rendimiento de producción se muestran en la tabla 17-3.

**Tabla 17-3.** Resultados del rendimiento de producción de microesferas de quitosano

Formulación	Cantidad en g de AAS utilizado	Cantidad en g de quitosano utilizado	Cantidad de glutaraldehído utilizado	Cantidad en g microesferas obtenidas	Rendimiento de producción (%)
FR1	0,25	2,0	2,0	1,5689	34,86
FR2	0,5	2,0	2,0	1,5308	34,01
FR3	0,25	2,0	2,0	1,5611	34,69
FR4	0,5	2,0	2,0	1,5878	35,28
<b>Media</b>	-	-	-	<b>1,5621</b>	<b>34,71</b>

Realizado por: Pulistar, Jean, 2021.

$$\text{Rendimiento de producción} = \frac{M}{AAS + Q + GTA} \times 100$$

$$\text{Rendimiento de producción} = \frac{1,5689}{0,5 + 2 + 2} \times 100 = 34,86\%$$

Como se observa en la tabla 17-3 el porcentaje de rendimiento de producción de microesferas de quitosano ronda entre el 34 y 35% con un valor medio de 34,71%, se considera que el rendimiento es bajo en comparación con otras investigaciones, en donde se registran rendimientos de 60,95% (Zava y Estrada, 2015, p. 123) y (Kosobe y Kawashima, 2005, p. 626) que en su estudio reportan un porcentaje de rendimiento de entre 50 y 87%. Aunque no existen criterios de aceptación oficiales para este parámetro, el rendimiento podría mejorarse con el uso de reactivos de grado analítico o empleando otro tipo de técnica como por ejemplo gelificación iónica o microencapsulación por extrusión (Lupo, González y Maestro, 2012, p. 144). Otro factor que puede influir al bajo rendimiento es la forma del recipiente utilizado en el proceso, dado que la profundidad debe ser mínima, pero suficiente para que las microesferas estén suspendidas en el seno de la solución sin que queden adheridas al fondo del recipiente, mejorando así el rendimiento de producción como lo indican (Lozano y Córdoba, 2012, p. 103) en un estudio similar.

## CONCLUSIONES

Se prepararon microesferas de liberación prolongada de quitosano encapsulando ácido acetilsalicílico y se estandarizó el método de elaboración para los parámetros de velocidad de agitación, método y tiempo de secado, demostrando que la mejor formulación fue FA5 (2,0g quitosano / 0,5 g de p.a. / 1,0 mL Tween-80 / 2 mL glutaraldehído) para todos los parámetros evaluados cumpliendo en todos los casos con los criterios de aceptación establecidos en bibliografía, llegando a la conclusión de que las microesferas elaboradas por el método enmarcado en este estudio pueden llegar a ser una alternativa de uso para los sólidos orales.

La morfología y tamaño de partícula se determinó mediante microscopía óptica, observándose que todas las microesferas presentaban morfología esférica y un tamaño de partícula inferior a 1 mm, cumpliendo con las especificaciones requeridas, esto permite que las microesferas obtenidas a partir de las formulaciones establecidas en nuestro estudio sean fáciles de administrar y por tanto solucionan uno de los inconvenientes que presentan los sólidos orales.

Las microesferas elaboradas por el método de emulsificación contenían encapsulado el principio activo en un 32,4%, y al evaluar el perfil de liberación del mismo se obtuvo que a la 1, 2 y 3 horas el porcentaje de liberación fue de 27,07%, 41,21% y 57,28% respectivamente, mientras que a las 4 horas se obtuvo un porcentaje de liberación de 83,65%, cumpliendo con los rangos de aceptación mencionados en la farmacopea USP39- NF34, por tal razón, se concluye que las microesferas elaboradas se consideran como formas farmacéuticas de liberación prolongada y con la realización de estudios posteriores *in vitro*, consecuentemente podrían ser utilizadas en un tratamiento farmacológico de ser así necesario.

## **RECOMENDACIONES**

Optimizar el proceso de elaboración de microesferas, con el fin de realizar formulaciones que mejoren el rendimiento de producción obtenido en el estudio actual.

En futuras investigaciones realizar ensayos de estabilidad a las microesferas obtenidas mediante el método de emulsificación, para determinar si las formulaciones propuestas pueden ser aplicables a estudios in vitro.

Evaluar si en las formulaciones obtenidas mediante esta técnica es posible encapsular otro tipo de principios activos, vitaminas, minerales, entre otros.

Determinar si en las formulaciones propuestas en este estudio es posible encapsular más de un principio activo a la vez.

## GLOSARIO

**Ácido acetilsalicílico:** Fármaco perteneciente a la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) específicamente al grupo de los salicilatos, usado para tratar el dolor, fiebre y la inflamación, debido a sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antipiréticas, además de ser un AINE funciona también como antiagregante plaquetario (Benites, 2019).

**Emulsión:** Sistema de al menos dos fases en el cual un líquido se dispersa en otro líquido en la forma de glóbulos o gotitas pequeñas (ANMAT, 2014).

**Formas farmacéuticas de liberación prolongada:** Formas farmacéuticas que aportan mejores pautas posológicas, mejor perfil farmacocinético e incluso disminución de efectos adversos, en ellas se realizan modificaciones en la formulación o en el proceso de elaboración con el propósito de alterar la velocidad, el tiempo o el lugar de liberación del principio activo (Pardo, 2019).

**Microencapsulación:** Proceso por el cual una sustancia activa es rodeada por una pared porosa que la protege o introducida en una matriz homogénea o heterogénea que puede liberar su contenido a velocidades controladas bajo condiciones específicas (Reyna et al., 2015).

**Microesferas:** Sistemas de pequeñas partículas elaborados a base de polímeros u otros materiales biocompatibles capaces de permitir la erosión o la difusión de un compuesto activo, poseen una estructura de tipo matricial, en la cual las sustancias quedan incorporadas en el interior de la matriz polimérica o pueden ser adsorbidas en la superficie de la partícula (Garcés, 2018).

**Polímero:** Macromoléculas de alto peso molecular, formados por la unión de unidades repetitivas de menor peso, llamadas monómeros, a través de enlaces covalentes (Cobos de Rangel, 2017).

**Principio activo:** Cualquier componente de un medicamento destinado a proporcionar una actividad farmacológica u otro efecto directo en la diagnosis, tratamiento o prevención de enfermedades, o a actuar sobre la estructura o función de un organismo humano o animal por medios farmacológicos (Ministerio de Sanidad y Consumo, 2015).

**Quitosano:** Polisacárido natural semicristalino derivado de la quitina, está formado por copolímeros de  $\beta$ -(1-4) glucosamina y N-acetil glucosamina. Es un tipo de polímero natural, biocompatible, biodegradable, no tóxico y con una gran capacidad para formar películas (Osorio-Delgado et al., 2017).

## BIBLIOGRAFIA

**ANMAT.**, "Farmacopea Argentina Séptima Edición". [en línea], 2014. [Consulta: 24 enero 2021]. Disponible en: [http://anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip\\_pages/Farmacopea\\_Vol\\_II/files/assets/basic-html/page116.html](http://anmat.gov.ar/webanmat/fna/flip_pages/Farmacopea_Vol_II/files/assets/basic-html/page116.html).

**ANTA, J.A.**, "Práctica 10: síntesis del ácido acetyl salicílico". [en línea], 2014. [Consulta: 20 enero 2021]. Disponible en: <https://www.upo.es/depa/webdex/quimfis/docencia/quimbiotec/FQpractica10.pdf>.

**ARAVENA, R.**, "Síntesis, purificación y análisis de ácido acetilsalicílico". [en línea], 2018. [Consulta: 18 febrero 2021]. Disponible en: [https://www.academia.edu/37924545/Síntesis\\_purificación\\_y\\_análisis\\_de\\_ácido\\_acetilsalicílico](https://www.academia.edu/37924545/Síntesis_purificación_y_análisis_de_ácido_acetilsalicílico).

**BANERJEE, S., SIDDIQUI, L., BHATTACHARYA, S.S., KAITY, S., GHOSH, A., CHATTOPADHYAY, P., PANDEY, A. y SINGH, L.**, "Interpenetrating polymer network (IPN) hydrogel microspheres for oral controlled release application". *International Journal of Biological Macromolecules* [en línea], 2012. vol. 50, no. 1, pp. 198-206. ISSN 01418130. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2011.10.020. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2011.10.020>.

**BENITES, M.A.**, *Carrera De Bioquímica Y Farmacia* [en línea], 2019. S.l.: s.n. Disponible en: [http://186.3.32.121/bitstream/48000/14682/1/E-7894\\_BENITES\\_DAVILA\\_MIGUEL\\_ANTONIO.pdf](http://186.3.32.121/bitstream/48000/14682/1/E-7894_BENITES_DAVILA_MIGUEL_ANTONIO.pdf).

**BORNACHERA, L.C.**, "Formas farmaceuticas de liberación controlada: sistema oros". [en línea], 2019. S.l.: s.n. Disponible en: [https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/10121/INFORME\\_FINAL\\_BORNACHERA\\_real.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unicartagena.edu.co/bitstream/handle/11227/10121/INFORME_FINAL_BORNACHERA_real.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**BULUT, E.**, "Controlled delivery of the popular nonsteroidal anti-inflammatory drug, paracetamol, from chitosan-g-polyacrylamide microspheres prepared by the emulsion crosslinking technique". *Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology* [en línea], 2015. vol. 44, no. 6, pp. 1482-1490. ISSN 2169141X. DOI 10.3109/21691401.2015.1042109. Disponible en: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25985724/>.

**CETA - FES ZARAGOZA - UNAM.**, "Anexo 2: Cámara de Neubauer – Blog del Manual del Laboratorio". *Manual de Bioquímica Celular y de los Tejidos* [en línea], 2018. [Consulta: 6 marzo 2021]. Disponible en: <https://blogceta.zaragoza.unam.mx/manualbct2/anexo-2-camara-de-neubauer/>.

**COBOS DE RANGEL, O.**, "Grupo de biopolímeros y biofuncionales". Revista Colombiana de Biotecnología [en línea], 2017. pp. 11-13. ISSN 0123-3475. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/776/77653191002.pdf>.

**CORONA, S.O.**, "Desarrollo de formas farmacéuticas de liberación modificada y su importancia en la terapia medicamentosa". [en línea], 2016. pp. 59. Disponible en: [https://148.204.103.62/bitstream/handle/123456789/25572/ORTIZ CORONA SUSANA PAOLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://148.204.103.62/bitstream/handle/123456789/25572/ORTIZ_CORONA_SUSANA_PAOLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**COSTA, E., ARANCIBIA, A. y AÑACHE, J.M.**, "Sistemas matriciales". Acta Farmaceutica Bonaerense [en línea], 2004. vol. 23, no. 2, pp. 259-265. ISSN 03262383. Disponible en: [http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/2/LAJOP\\_23\\_2\\_6\\_1\\_0PM30H5NDZ.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/23/2/LAJOP_23_2_6_1_0PM30H5NDZ.pdf).

**COUCE, J.G. et al.**, "Recubrimiento de microesferas de quitosano-ibuprofeno con un complejo interpolimérico pH dependiente". [en línea], 2014. [Consulta: 30 enero 2021]. Disponible en: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75152014000400013&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75152014000400013&script=sci_arttext&tlng=en).

**DENKBA, E.B., SEYYAL y PISKIN, E.**, "5-Fluorouracil loaded chitosan microspheres for chemoembolization". Journal of Microencapsulation [en línea], 2008. vol. 16, no. 6, pp. 741-749. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/026520499288681>.

**DOF - DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN.**, "Norma Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013". [en línea], 2013. [Consulta: 9 marzo 2021]. Disponible en: [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5314833&fecha=20/09/2013](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5314833&fecha=20/09/2013).

**FCBQF - UNR.**, "Valoración de aspirina". [en línea], 2019. [Consulta: 4 febrero 2021]. Disponible en: [https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/208257/mod\\_folder/content/0/GCM\\_TP-VOLUMETRIA.pdf?forcedownload=1](https://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/208257/mod_folder/content/0/GCM_TP-VOLUMETRIA.pdf?forcedownload=1).

**FREITAS, S., MERKLE, H.P. y GANDER, B.**, "Microencapsulation by solvent extraction/evaporation: Reviewing the state of the art of microsphere preparation process technology". Journal of Controlled Release [en línea], 2005. vol. 102, no. 2, pp. 313-332. ISSN 01683659. DOI 10.1016/j.jconrel.2004.10.015. Disponible en: <http://www.nanoparticles.org/EMU/SurfMod/Wk12/JCR-05-102-313.pdf>.

**GARCÉS, J.A.**, *Elaboración de microesferas de diclofenaco sódico por gelación ionotrópica para la obtención de formas farmacéuticas sólidas de liberación prolongada* [en línea], 2018. S.l.: s.n. [Consulta: 31 enero 2021]. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15496/1/T-UCE-0008-CQU-002.pdf>.

**GONZÁLEZ, E., GONZÁLEZ, A., CASTRO, R., LUNA, H. y CHÁVEZ, A.**, "Implementación de la técnica de doble emulsión para la microencapsulación polimérica de moléculas iónicas". Revista iberoamericana de ciencias [en línea], 2015. vol. 2, no. July 2015, pp. 117-125. ISSN 2334-2501. Disponible en: <http://reibci.org/publicados/2015/julio/1000108.pdf>.

**HARRIS, R.**, *Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos* [en línea]. S.l.: 2010. s.n. ISBN 9788469359839. Disponible en: <http://revistas.um.es/index.php/medievalismo/article/view/52081>.

**HE, T., WANG, W., CHEN, Boshui, WANG, J., LIANG, Q. y CHEN, Boshui**, "5-Fluorouracil monodispersed chitosan microspheres: Microfluidic chip fabrication with crosslinking, characterization, drug release and anticancer activity". Carbohydrate Polymers [en línea], 2020. vol. 236, no. February, pp. 39. ISSN 01448617. DOI 10.1016/j.carbpol.2020.116094. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116094>.

**HERNÁNDEZ, E.**, "Obtención y caracterización de microcápsulas de liberación controlada por el método de emulsificación y evaporación del disolvente, para un fármaco hidrosoluble: Metformina clorhidrato". [en línea], 2017. Disponible en: <http://repositorio.sibdi.ucr.ac.cr:8080/jspui/bitstream/123456789/13421/1/41925.pdf>.

**KOSOBE, T. y KAWASHIMA, N.**, "Size and Surface Charge Effect of Liposomes on Photodynamic Therapy for Cultivated Cancer Cells". , 2005. pp. 623-629. DOI 10.1080/03639040500216170.

**LÓPEZ, L.C. y VILLALTA, M.A.**, "Propuesta de un método para la elaboración de microesferas matriciales de ácido acetilsalicílico utilizando alginato de sodio por la técnica de gelificación iónica". [en línea], 2009. pp. 22-188. Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/2785/>.

**LOZANO, M. y CÓRDOBA, C.**, *Manual de Tecnología Farmacéutica*. 1 Ed. S.l.: 2012. s.n.

**LUNA GUEVARA, J.J., LÓPEZ FUENTES, J.M., JIMÉNEZ GONZÁLEZ, O. y LUNA GUEVARA, L.**, "Microencapsulación de algunos compuestos bioactivos mediante secado por aspersión / Microencapsulation of some bioactive compounds through spray drying". CIBA Revista Iberoamericana de las Ciencias Biológicas y Agropecuarias [en línea], 2016. vol. 5, no. 10, pp. 39. ISSN 2007-9990. DOI 10.23913/ciba.v5i10.56. Disponible en: [https://www.researchgate.net/publication/312955428\\_Microencapsulacion\\_de\\_algunos\\_compuestos\\_bioactivos\\_mediante\\_secado\\_por\\_aspersion\\_Microencapsulation\\_of\\_some\\_bioactive\\_compounds\\_through\\_spray\\_drying](https://www.researchgate.net/publication/312955428_Microencapsulacion_de_algunos_compuestos_bioactivos_mediante_secado_por_aspersion_Microencapsulation_of_some_bioactive_compounds_through_spray_drying).



**LUPO, B., GONZÁLEZ, C. y MAESTRO, A.**, "Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones". *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos* [en línea], 2012. vol. 3, no. 1. ISSN 2218-4384. Disponible en: <http://oaji.net/articles/2017/4924-1495374245.pdf>.

**MENNINI, N., FURLANETTO, S., CIRRI, M. y MURA, P.**, "Quality by design approach for developing chitosan-Ca-alginate microspheres for colon delivery of celecoxib-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin-PVP complex". *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* [en línea], 2012. vol. 80, no. 1, pp. 67-75. ISSN 0939-6411. DOI 10.1016/j.ejpb.2011.08.002. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejpb.2011.08.002>.

**MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO**, *Real Farmacopea Española*. 5a ed. Madrid: 2015. s.n.

**MITRA, A. y DEY, B.**, "Chitosan microspheres in novel drug delivery systems". *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2011. vol. 73, no. 4, pp. 355-366. ISSN 0250474X. DOI 10.4103/0250-474X.95607.

**MONTANER, I.M.**, "Formas farmacéuticas de liberación modificada y estereoisómeros ¿Nos aportan algo en la práctica clínica?". *Boletín de información Farmacoterapéutica de Navarra* [en línea], 2005. vol. 13, pp. 1-10. Disponible en: [https://www.navarra.es/appsext/DescargarFichero/default.aspx?codigoAcceso=PortalDeSalud&fichero=bit/Bit\\_v13n1.pdf](https://www.navarra.es/appsext/DescargarFichero/default.aspx?codigoAcceso=PortalDeSalud&fichero=bit/Bit_v13n1.pdf).

**MUNDARGI, R.C., PATIL, S.A., KULKARNI, P. V., MALLIKARJUNA, N.N. y AMINABHAVI, T.M.**, "Sequential interpenetrating polymer network hydrogel microspheres of poly(methacrylic acid) and poly(vinyl alcohol) for oral controlled drug delivery to intestine". *Journal of Microencapsulation*, 2008. vol. 25, no. 4, pp. 228-240. ISSN 02652048. DOI 10.1080/02652040801896435.

**NOKHODCHI, A., ZAKERI MILANI, P., VALIZADEH, H. y HASSAN ZADEH, D.**, "Evaluación de microcápsulas de ácido acetilsalicílico preparadas con etilato de acetilcelulosa, etilcelulosa o sus mezclas, mediante una técnica de adición de emulsión no disolvente". *Ars Pharmaceutica* [en línea], 2002. pp. 135-147. Disponible en: <https://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/5685>.

**OSORIO-DELGADO, M.A., HENAO-TAMAYO, L.J., VELÁSQUEZ-COCK, J.A., CAÑAS-GUTIERREZ, A.I., RESTREPO-MÚNERA, L.M., GAÑÁN-ROJO, P.F., ZULUAGA-GALLEGO, R.O., ORTIZ-TRUJILLO, I.C. y CASTRO-HERAZO, C.I.**, "Aplicaciones

biomédicas de biomateriales poliméricos". DYNA (Colombia) [en línea], 2017. vol. 84, no. 201, pp. 241-252. [Consulta: 21 febrero 2021]. ISSN 00127353. DOI 10.15446/dyna.v84n201.60466. Disponible en: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/dyna/article/view/60466/64242>.

**OTZEN, T. y MANTEROLA, C.**, "Técnicas de Muestreo sobre una Población a Estudio". International Journal of Morphology [en línea], 2017. vol. 35, no. 1, pp. 227-232. [Consulta: 2 agosto 2021]. ISSN 07179502. DOI 10.4067/S0717-95022017000100037. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0717-95022017000100037&lng=es&nrm=iso&tlng=es](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-95022017000100037&lng=es&nrm=iso&tlng=es).

**PARDO, A.M.**, "CONTRIBUCIÓN AL DISEÑO DE UN SISTEMA DE LIBERACIÓN MODIFICADA DE OXITETRACICLINA, PARA PRODUCTOS FARMACÉUTICOS INYECTABLES DE USO VETERINARIO". [en línea], 2019. pp. 208. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/69802/tesismaestriacienciasfarmaceuticas.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

**PEÑA BLANQUE, V.**, "Sistemas de liberación controlada de medicamentos. Aplicaciones biomédicas.". [en línea], 2016. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/VIRGINIA PEÑA BLANQUE.pdf>.

**PILOTZI XAHUENTITLA, A.**, "Comportamiento de la tensión superficial en la interfase agua-aceite y su influencia sobre la estabilidad de emulsiones". Revista Facultad Nacional de Agronomía [en línea], 2015. vol. 63, no. 2, pp. 59. ISSN 0304-2847. Disponible en: <https://www.fcfm.buap.mx/assets/docs/docencia/tesis/fisica/2015/PilotziXahuentitlaArturo.pdf>.

**QUINTANAR, D. y ALCALA, S.**, "Método para la obtención de microesferas de liberación controlada de activos sensibles preparadas por ensamblaje de microesferas porosas y nanopartículas". [en línea], 2015. no. 12, pp. 42. Disponible en: <https://patentimages.storage.googleapis.com/83/cc/d0/d5648bb0072298/WO2015126234A1.pdf>.

**REYNA, E.N., ÁLVAREZ, G.M., ILINÁ, A. y MARTÍNEZ, J.L.**, "Microencapsulación de componentes bioactivos". [en línea], 2015. pp. 11-16. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=67446014009>.

**RODRIGUEZ, L.J. y ORREGO, C.E.**, "Aplicaciones de mezclas de biopolímeros y polímeros sintéticos: revisión bibliográfica". Revista Científica [en línea], 2016. no. 0124 2253, pp. 1-13. DOI 10.14483/udistrital.jour.RC.2016.25.a9. Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/308099703>.

**RODRÍGUEZ LLIMÓS, A., BREGNI, C. y DE LOS SANTOS CARVALLIDO, C.,** "Microesferas de alginato para uso dermatofarmacéutico/Alginate microspheres for dermatopharmaceutical use". *Ars Pharmaceutica* [en línea], 2013. vol. 44, pp. 215-224. Disponible en: <http://revistaseug.ugr.es/index.php/ars/article/view/5151/4962>.

**RUIZ, S.D.,** *Sistemas matriciales para liberación modificada de biodegradables* [en línea], 2016. S.l.: s.n. Disponible en: [https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/50464/Ruiz\\_García%2C\\_Sergio\\_Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/50464/Ruiz_García%2C_Sergio_Daniel.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**SÁEZ, V.,** "Liberación controlada de fármacos. Micropartículas.". *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 2014. pp. 87-90.

**SEPÚLVEDA, R.A., ORTEGA, M., DONOSO, N. y JARA, A.,** "Physiopathology and management of acetylsalicylic acid intoxication". *Revista Medica de Chile* [en línea], 2018. vol. 146, no. 11, pp. 1309-1316. [Consulta: 24 febrero 2021]. ISSN 07176163. DOI 10.4067/S0034-98872018001101309. Disponible en: [https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0034-98872018001101309&lng=es&nrm=iso&tlng=e](https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-98872018001101309&lng=es&nrm=iso&tlng=e).

**STAMPA, A.,** "MATRICES POROSAS BASADAS EN POLÍMEROS BIODEGRADABLES COMO SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS". [en línea], 2019. Disponible en: [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/179438/TFG-Memoria\\_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/179438/TFG-Memoria_final.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

**TAPIA, M.J.,** "«Microencapsulación del Ácido Ascórbico mediante Secado por Aspersión con Almidón y Maltodextrina»". [en línea], 2017. S.l.: [Consulta: 30 enero 2021]. Disponible en: [https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25306/1/BQ\\_121.pdf](https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/25306/1/BQ_121.pdf).

**USP 39 NF 34 UNITED STATES PHARMACOPEIAL CONVENTION,** *Farmacopea de los Estados Unidos de América : USP 39 : Formulario nacional : NF 34*. Maryland: 2016. s.n.

**VALERA, R.L.R., MORALES, I.P.P. y MORFA, C.A.R.,** "Caracterización y evaluación sistémica de empaquetamientos de partículas como conjuntos iniciales para simulaciones con elementos discretos Systemic characterization and evaluation of particle packings as initial sets for discrete elements simulations". [en línea], 2017. vol. VIII, no. 2, pp. 35-46. Disponible en: <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwj28aY58bvAhUaTjABHWGzAkqQFjABegQIAXAD&url=https%3A%2F%2Frci.cujae.edu.cu%2Findex.php%2Frci%2Farticle%2Fdownload%2F637%2Fpdf%23%3A~%3Atext%3DEI>

%2520di%25C3%25A1metro%2520de%2520Feret%2520representa%2Cpart%25C3%25ADcula%2520(figura%25202%2520b).%26text%3DEN%2520este%2520caso%2520tambi%25C3%25A9n%2520deben%2Ccon%25201%25C3%25ADneas%2520en%2520varias%2520direcciones.&usg=AOvVaw3QVPSQfDirN6PKwMv5xJA9.

**VÁSQUEZ, A.**, "Evaluación de parámetros óptimos para mejorar la resistencia de biopolímero producido a partir de almidón: Revisión bibliográfica". Revista Científica Pakamuros [en línea], 2020. vol. 8, no. 1, pp. 22-33. ISSN 2306-9805. DOI 10.37787/pakamuros-unj.v8i1.112. Disponible en: <http://revistas.unj.edu.pe/index.php/pakamuros/article/view/112/95>.

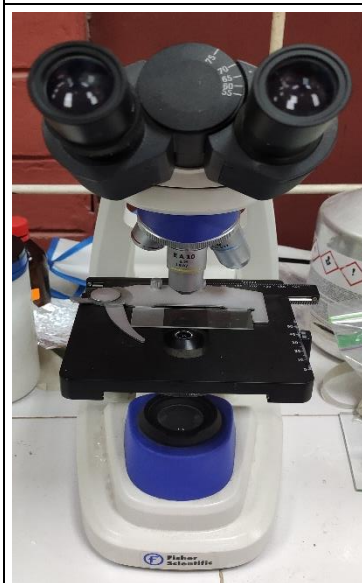
**VILLARROEL, L.A.**, "Elaboración y Evaluación de Microesferas Mucoadhesivas preparadas a través de la técnica de Gelificación Iónica utilizando Alginato Sódico y Quitosano.". Facultad de Ciencias [en línea], 2015. vol. Bachelor, pp. 116. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4562>.

**VILLICAÑA, E.M.**, "Desarrollo e incorporación de microesferas biodegradables en andamios porosos de biovidrios CEL2". [en línea], 2019. S.l.: [Consulta: 30 enero 2021]. Disponible en: [http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB\\_UMICH/1330/IIMM-D-2019-0257.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://bibliotecavirtual.dgb.umich.mx:8083/xmlui/bitstream/handle/DGB_UMICH/1330/IIMM-D-2019-0257.pdf?sequence=1&isAllowed=y).

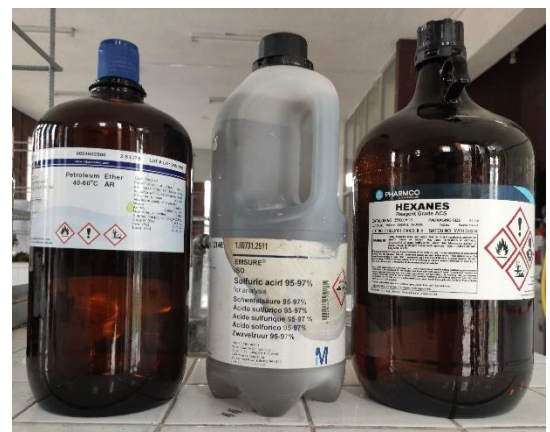
**ZAVA, W.J. y ESTRADA, K.A.**, "Encapsulación de ácido  $\delta$ - aminolevulínico en microesferas de alginato". [en línea], 2015. vol. 15, no. 2, pp. 117-125. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03639040500216170>.

## ANEXOS

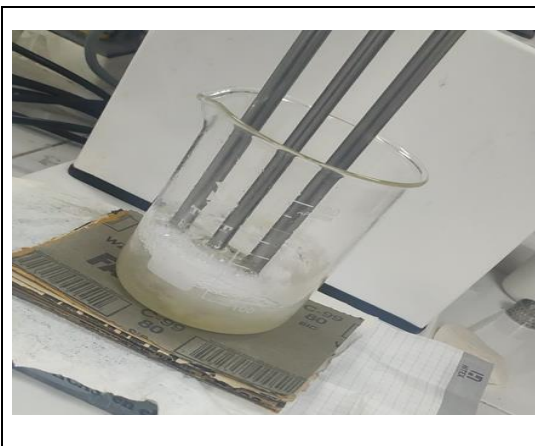
### ANEXO A: EQUIPOS Y REACTIVOS USADOS EN LA ELABORACIÓN DE MICROESFERAS DE QUITOSANO







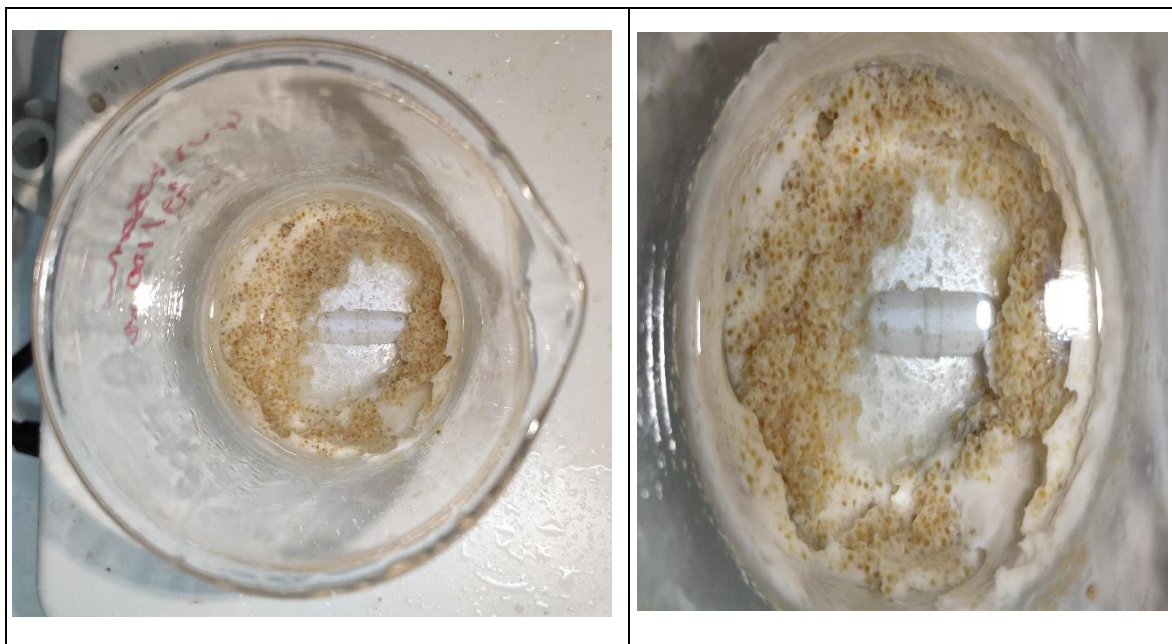
**ANEXO B: ELABORACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO – QUITOSANO – PRINCIPIO ACTIVO**



**ANEXO C: PROCESO DE AGITACIÓN PARA LA FORMACIÓN DE LAS MICROESFERAS**



**ANEXO D: MICROESFERAS FORMADAS AL FINALIZAR EL PROCESO DE AGITACIÓN**



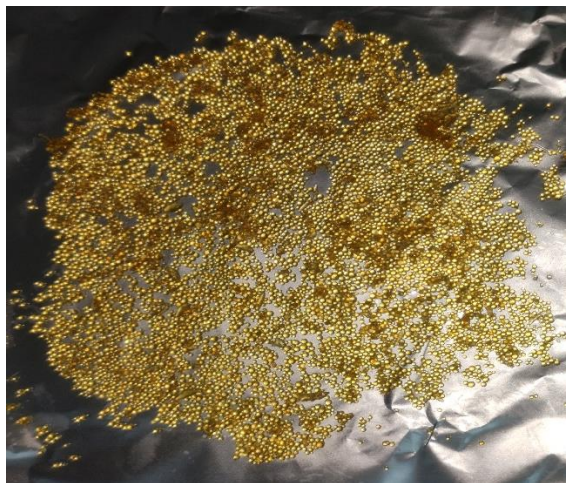
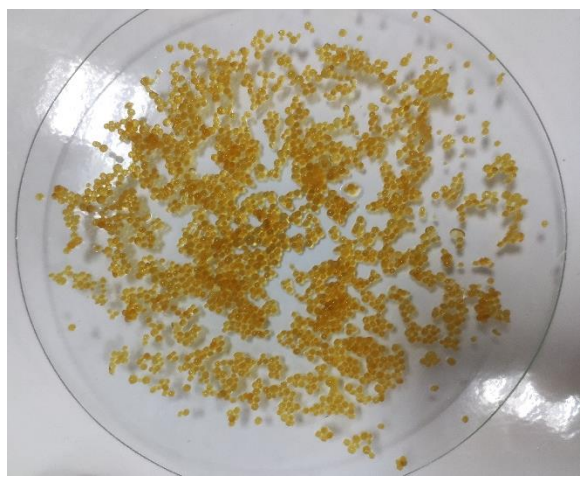


**ANEXO E: PROCESO DE FILTRACIÓN DE LAS MICROESFERAS**



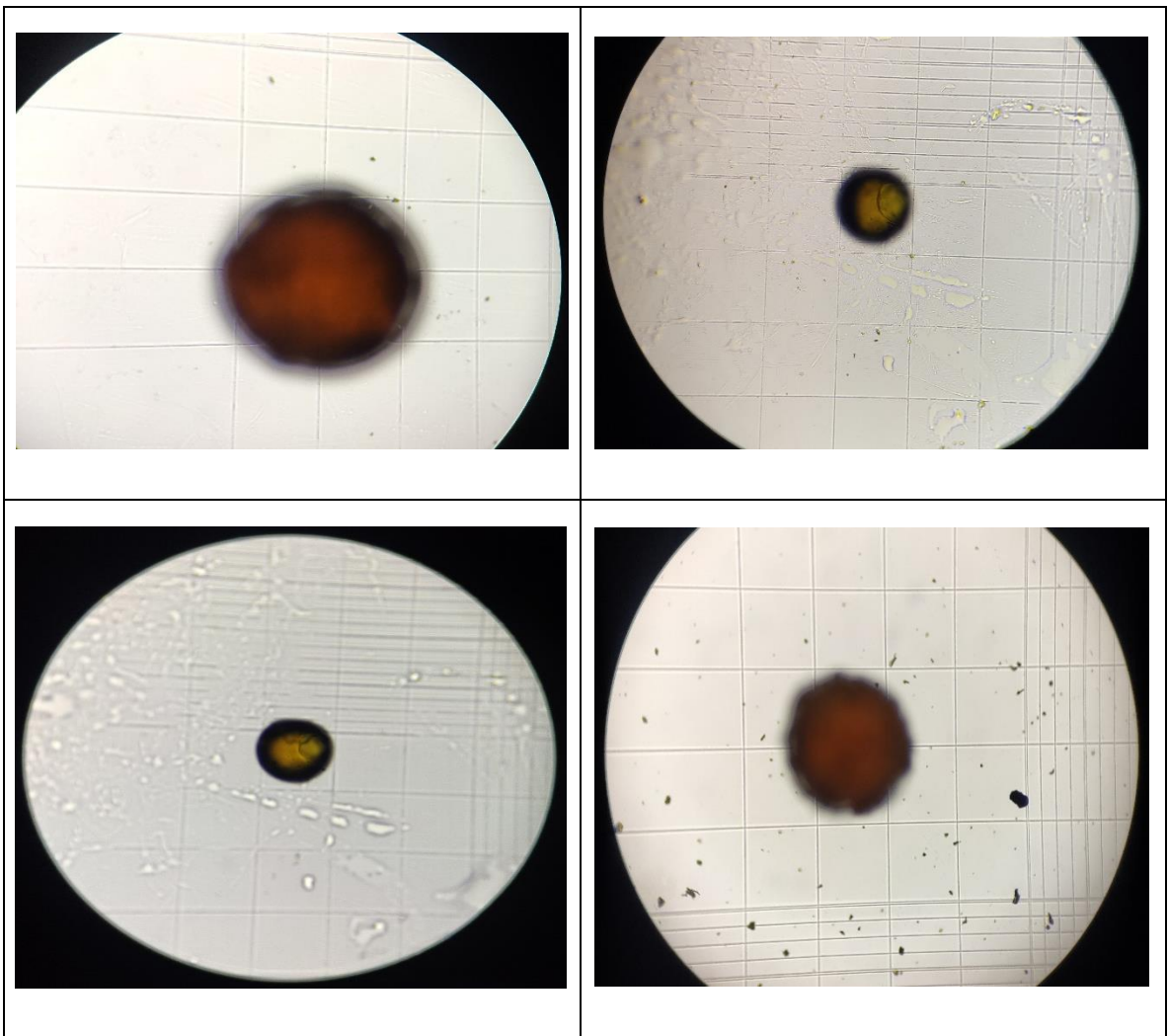


## ANEXO F: MÉTODOS DE SECADO

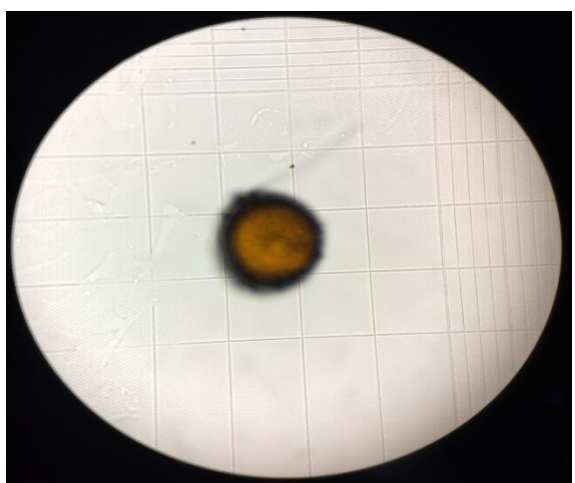
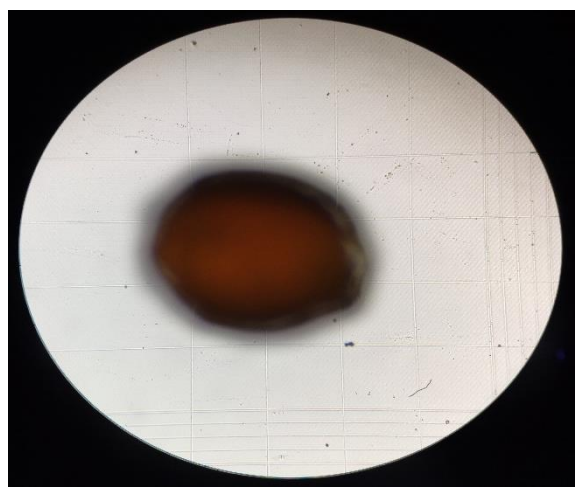
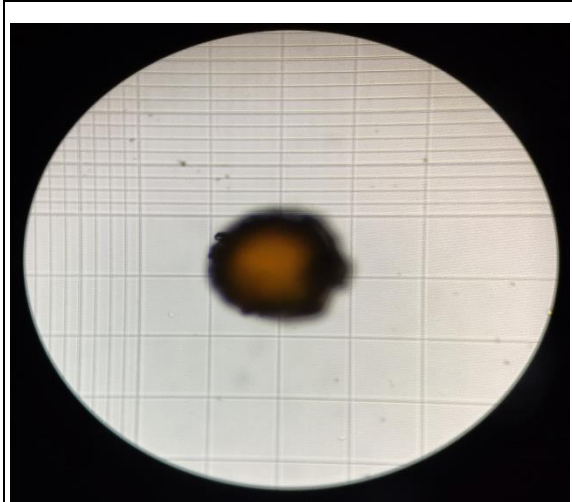
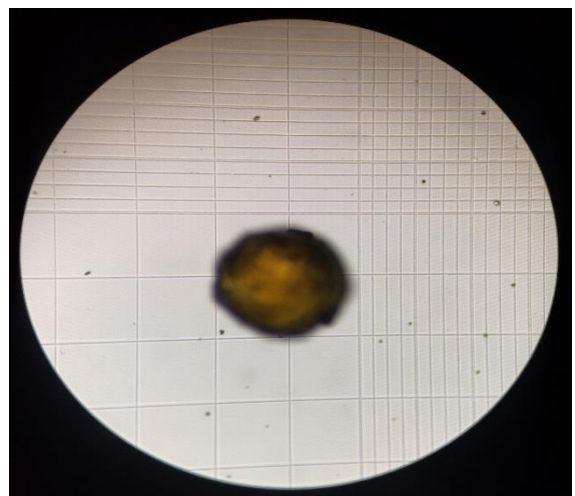
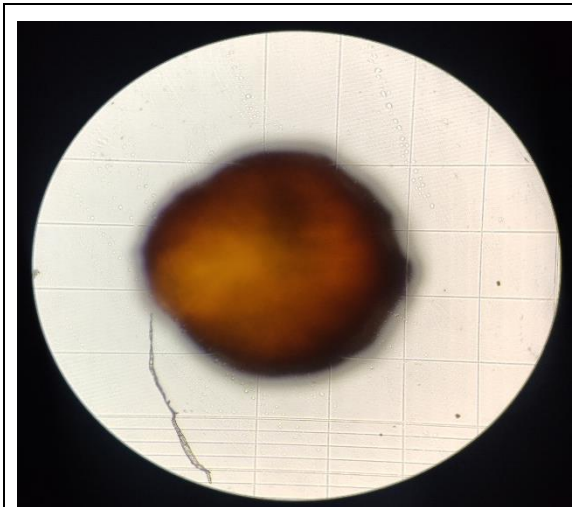


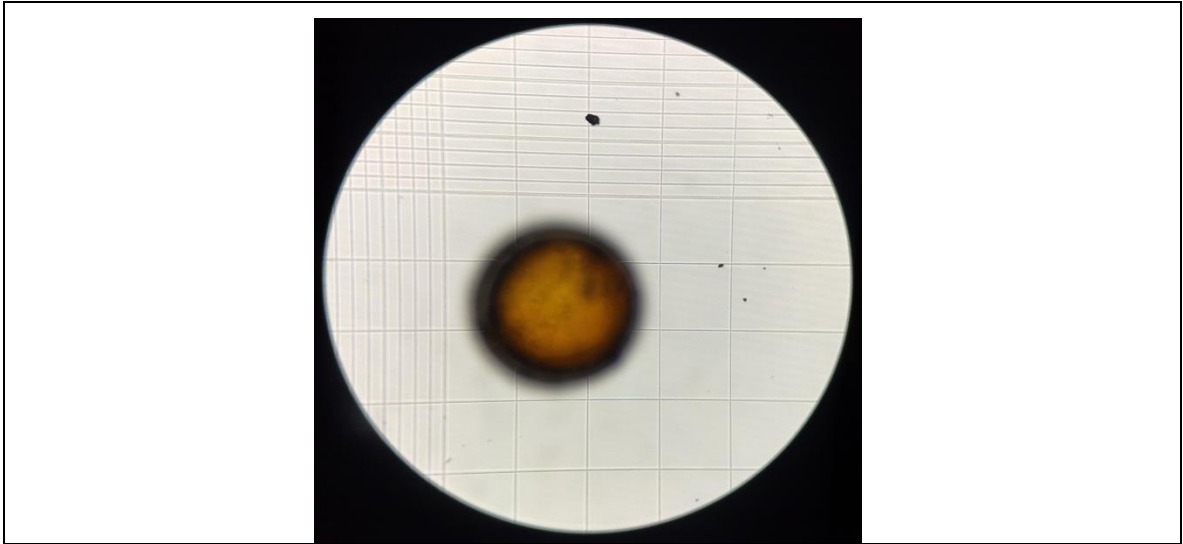


**ANEXO G: MICROESFERAS OBSERVADAS MEDIANTE MICROSCOPIA ÓPTICA**

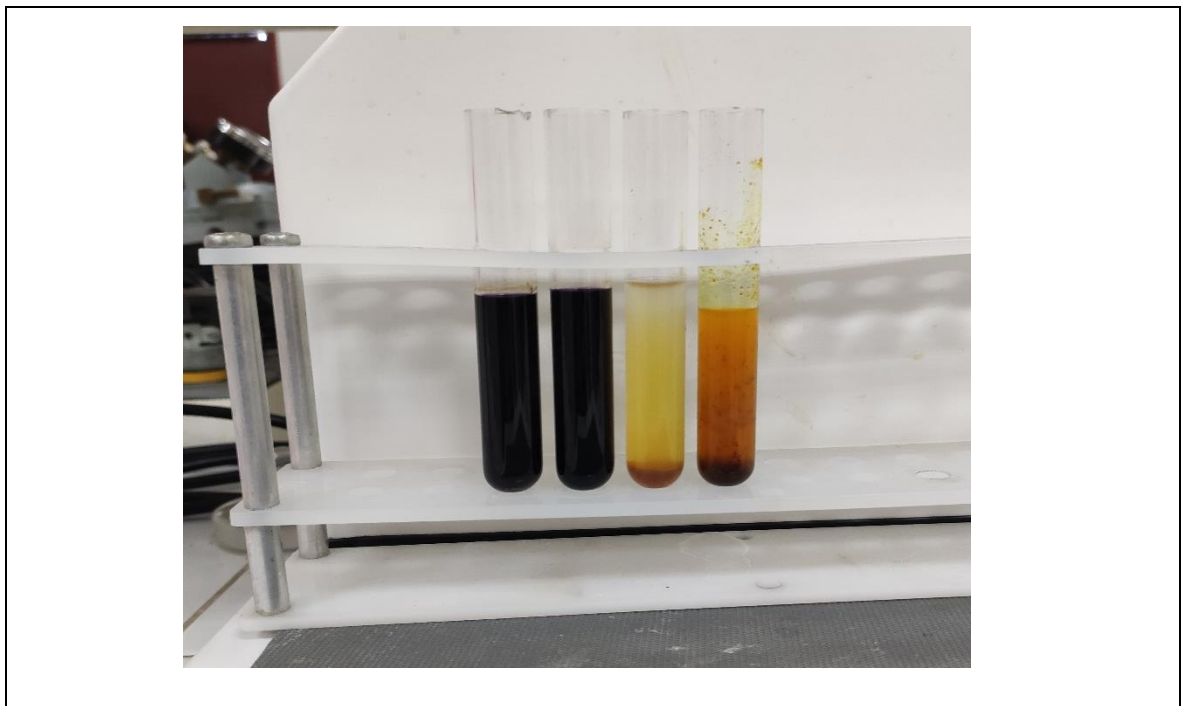




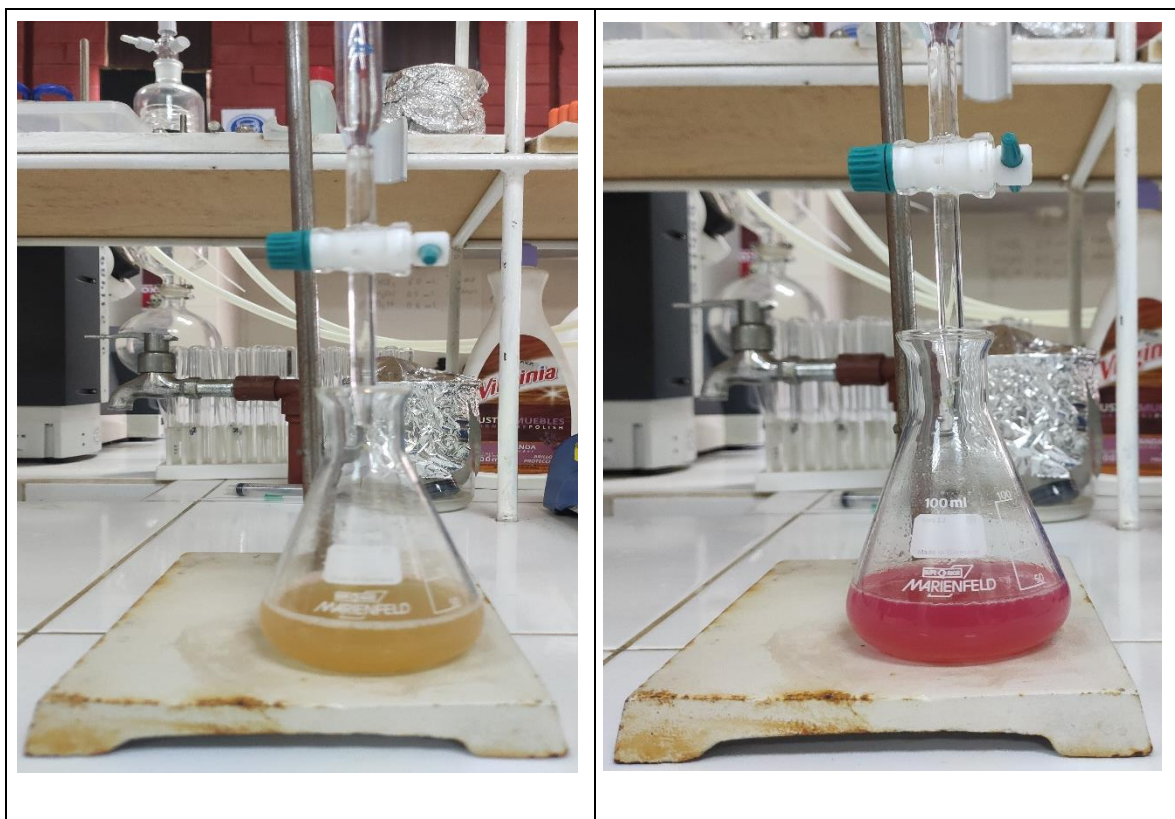




**ANEXO H:** ENSAYO PARA DETERMINAR SI LAS MICROESFERAS CONTENÍAN PRINCIPIO ACTIVO



**ANEXO I: TITULACIÓN PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE PRINCIPIO ACTIVO EN LAS MICROESFERAS**



**ANEXO J: DISOLUCIONES DE LA SOLUCIÓN ESTÁNDAR PARA REALIZAR LA CURVA DE CALIBRACIÓN**

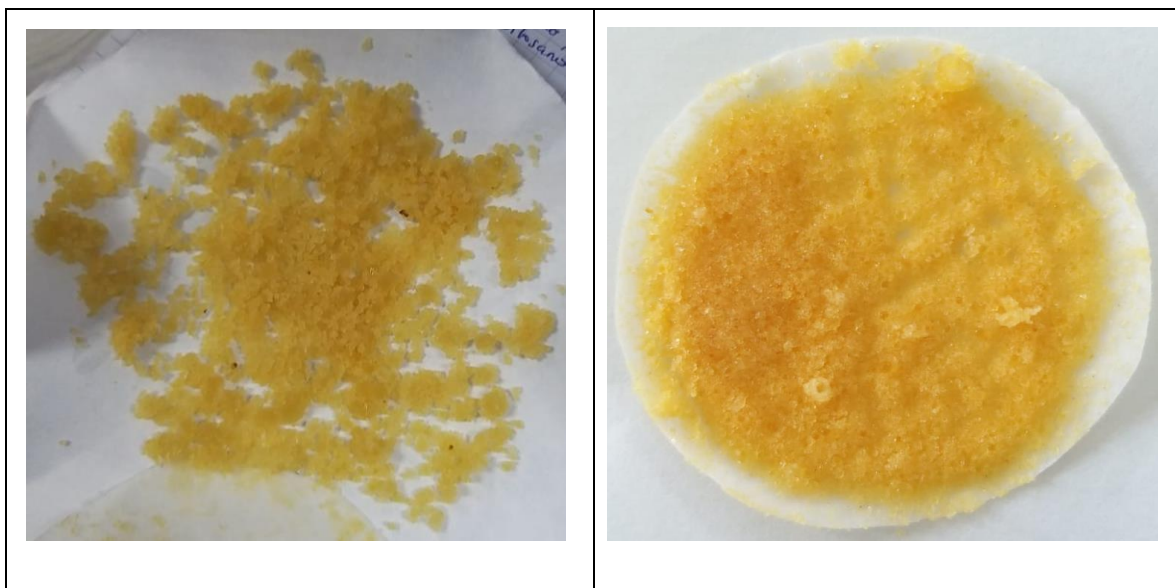


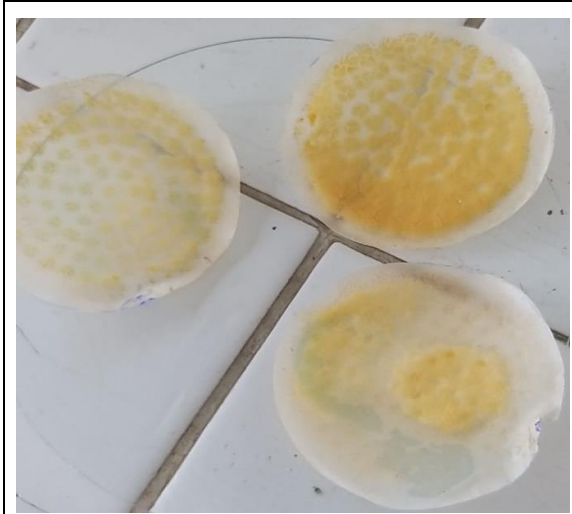


**ANEXO K: ENSAYO DE DISOLUCIÓN PARA DETERMINAR EL PERFIL DE LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO**



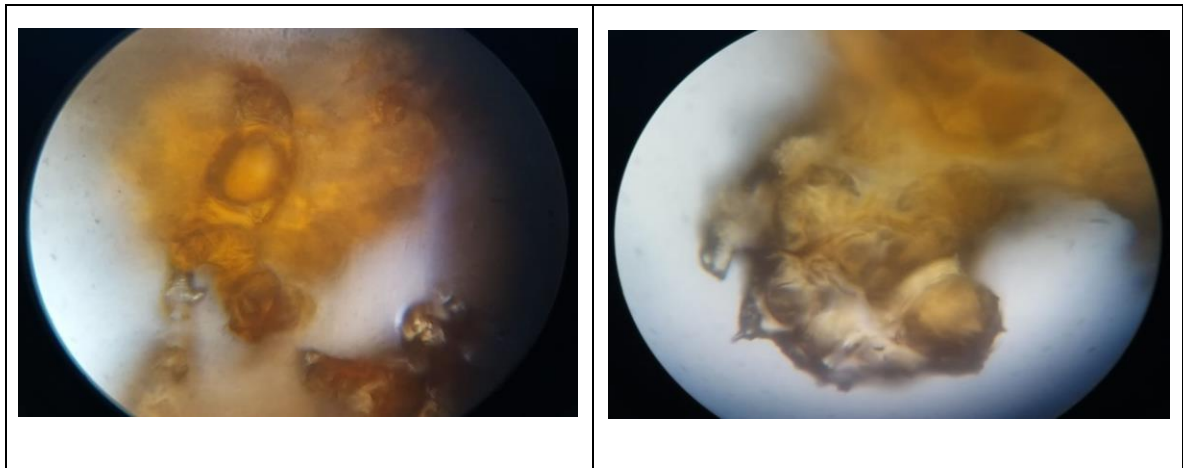
**ANEXO L: MICROESFERAS OBTENIDAS CON LAS PRIMERAS FORMULACIONES EXPERIMENTALES**







**ANEXO M: PRIMERAS MICROESFERAS OBTENIDAS OBSERVADAS EN EL MICROSCOPIO ÓPTICO**



**ANEXO N: MICROESFERAS OBTENIDAS CON LAS FORMULACIONES FINALES**

