



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRIA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS

**FORMACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POR LA TÉCNICA DE DESPLAZAMIENTO DE
DISOLVENTE UTILIZANDO DIÓXIDO DE SILICIO COMO ESTABILIZANTE.**

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

P R E S E N T A:

LUIS DAVID TORRES PEDRAZA
Matricula: 2122800455

COMITÉ TUTORIAL

Tutor: Dr. David Quintanar Guerrero
Asesora: Dra. Luz María Melgoza Contreras
Asesora: Dra. Elizabeth Piñón Segundo

NOVIEMBRE, 2014

Formación de nanopartículas por la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando dióxido de silicio como estabilizante.

Vo. Bo. del comité Tutoral

Tutor

Dr. David Quintanar Guerrero

Asesores

Dra. Luz María Melgoza Contreras

Dra. Elizabeth Piñón Segundo

Alumno

Luis David Torres Pedraza
Matricula: 2122800455

Formación de nanopartículas por la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando dióxido de silicio como estabilizante.

JURADO

Presidenta

Dra. Helgi Helene Jung Cook

Vocal

Dra. Susana Elisa Mendoza Elvira

Secretaria

Dra. Luz María Melgoza Contreras

RESUMEN

El propósito de este trabajo fue desarrollar un método para preparar nanopartículas poliméricas y nanocristales mediante la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando dióxido de silicio coloidal como estabilizante. Para la preparación de nanopartículas se evaluaron 3 polímeros; Etilcelulosa, Ácido poli(láctico-co-glicólico) y Poli- ϵ -caprolactona.

Para la preparación de nanocristales se seleccionaron diversos fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica. Se obtuvieron nanocristales de ivermectina y ketoconazol estabilizados con dióxido de silicio coloidal. Esto es un importante hallazgo ya que no existen otras referencias de nanocristales obtenidos mediante la técnica de desplazamiento de disolvente que utilicen como estabilizante algún sólido.

En la preparación de nanopartículas de Etilcelulosa la presencia de dióxido de silicio coloidal no presentó las propiedades de un estabilizante que ayudara a incrementar la estabilidad y rendimiento. En el caso del Ácido poli(láctico-co-glicólico) y de Poli- ϵ -caprolactona ocurrió floculación del polímero en presencia de dióxido de silicio coloidal. El dióxido de silicio coloidal no fue efectivo como estabilizante de nanopartículas preparadas a partir de los polímeros evaluados en este trabajo.

Los nanocristales de menor tamaño de partícula fueron los obtenidos con ketoconazol, por lo que se prepararon comprimidos con estos nanocristales y se comparó su velocidad de disolución contra comprimidos preparados utilizando los cristales de ketoconazol sin tratamiento previo. La velocidad de disolución se evaluó conforme a la prueba indicada para este fármaco en la USP. No se observó diferencia en la velocidad de disolución de ambos sistemas, esto se debió a que el ketoconazol a pesar de ser poco soluble en agua, presenta una rápida disolución en el medio especificado para la prueba en la USP (HCl 0.1N).

AGRADECIMIENTOS

A la UAM-X por permitirme realizar en esta institución mis estudios de posgrado.

A la FES-Cuautitlán de la UNAM por brindarme todas las facilidades para realizar en sus instalaciones el presente trabajo.

Al CONACYT por la beca que me otorgó para realizar mis estudios de maestría.

A mi tutor, el Dr. David Quintanar Guerrero por su apoyo, guía y consejo brindado durante la realización de este trabajo.

A mis asesoras: Dra. Luz María Melgoza Contreras y Dra. Elizabeth Piñón Segundo por sus observaciones y consejos en la realización de este trabajo.

A la M en IQ Alicia del Real López del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada de la UNAM por su apoyo para la obtención de las fotografías de microscopía electrónica de barrido.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. ANTECEDENTES	2
III. MARCO TEÓRICO	3
1. Nanotecnología	3
1.1. Nanopartículas poliméricas.	3
1.2. Nanocristales	4
2. Polímeros	6
2.1 Polímeros sintéticos utilizados en la preparación de Nanopartículas	6
2.2 Etilcelulosa (EC)	8
2.3 Ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA)	9
2.4 Poli-ε-caprolactona (PCL)	10
3. Potencial Zeta	11
3.1 Movilidad electroforética y medición de potencial Zeta	13
4. Desplazamiento de disolvente	15
4.1 Variables que afectan la formación de nanopartículas mediante desplazamiento de disolvente	15
4.2 Tensoactivos como estabilizantes	17
5. Dióxido de silicio (SiO₂) coloidal	18
IV. JUSTIFICACIÓN	21
V. HIPÓTESIS	22
VI. OBJETIVOS	23
1. Objetivo general	23
2. Objetivos particulares	23
VII. METODOLOGÍA	24
1. Preparación de dispersiones de dióxido de silicio coloidal	24
2. Preparación de nanopartículas poliméricas	24
3. Selección de fármacos para la formación de nanocristales	26
4. Formación de nanocristales	27
5. Caracterización de nanocristales obtenidos	28
5.1 Resuspendibilidad	28
5.2 Microscopía electrónica de barrido	28

5.3 Calorimetría diferencial de barrido	29
5.4 Velocidad de disolución	29
VIII. RESULTADOS	31
1. Dispersiones de dióxido de silicio coloidal	31
2. Preparación de nanopartículas poliméricas	33
2.1 Nanopartículas poliméricas de Etilcelulosa (EC)	33
2.2 Nanopartículas poliméricas de Poli- ϵ -caprolactona (PLC)	35
2.3 Nanopartículas poliméricas de Ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA)	38
3. Selección de fármacos para la formación de nanocristales	41
4. Caracterización de nanocristales obtenidos	42
4.1 Tamaño de partícula y potencial Zeta	42
4.2 Resuspendibilidad	45
4.3 Microscopía electrónica de barrido	49
4.4 Calorimetría diferencial de barrido	52
4.5 Velocidad de disolución	54
IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	57
1. Floculación del SiO₂ por parte de polímeros	57
2. Posible mecanismo de estabilización mediante SiO₂ de los nanocristales obtenidos	60
3. Velocidad de disolución de comprimidos de compresión directa con mezcla física y con nanocristales	66
X. CONCLUSIONES	67
XI. PERSPECTIVAS	68
XII. REFERENCIAS	69
XIII. ANEXOS	78

I. INTRODUCCIÓN

Un gran número de fármacos presentan problemas de solubilidad, aproximadamente el 40% de los que actualmente se encuentran en fase de desarrollo tienen una baja solubilidad en agua. Son de principal interés aquellos fármacos que pertenecen al grupo II de la clasificación biofarmacéutica (baja solubilidad, alta permeabilidad), pues para estos la disolución es el paso limitante de la absorción.

Se han utilizado diversas estrategias para incrementar la velocidad de disolución de fármacos poco solubles, por ejemplo; co-disolvencia, micronización, formación de sales, dispersiones sólidas, y nanosistemas: sistemas vesiculares (liposomas y niosomas), complejos de inclusión (ciclodextrinas), microemulsiones, nanopartículas y nanocristales.

En el presente trabajo se propuso una metodología para formar nanopartículas poliméricas y nanocristales estabilizados mediante dióxido de silicio coloidal, como una alternativa que permita aumentar la velocidad de disolución de fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica.

II. ANTECEDENTES

Existen múltiples técnicas para la formación de nanopartículas poliméricas y de nanocristales. Se pueden obtener nanopartículas poliméricas, por ejemplo, mediante emulsificación- evaporación, "salting-out", emulsificación-difusión y desplazamiento de disolvente. Los nanocristales a su vez pueden obtenerse mediante técnicas como molienda en húmedo, microfluidización, homogenización a alta presión, tecnología de fluidos supercríticos y desplazamiento de disolvente.

Independientemente de la técnica utilizada en la preparación de nanopartículas poliméricas y de nanocristales, suele incorporarse algún estabilizante para evitar la agregación de las estructuras formadas. Como estabilizante generalmente se emplea algún agente tensoactivo, sin embargo en un trabajo previo se utilizó dióxido de silicio coloidal como estabilizante en la preparación de nanocristales de ciclosporina. Debido a la amplia utilización del dióxido de silicio coloidal en la industria farmacéutica, resulta un material que de utilizarse en la preparación de nanopartículas o nanocristales, facilitaría la incorporación de estas estructuras en diversas formas farmacéuticas, tales como suspensiones o comprimidos de compresión directa.

En el presente trabajo se propuso una metodología para obtener nanocristales de varios fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica, así como nanopartículas poliméricas mediante desplazamiento de disolvente utilizando como estabilizante dióxido de silicio coloidal.

III. MARCO TEÓRICO

1. NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología es la tecnología de los materiales y de las estructuras en la que el orden de magnitud se mide en nanómetros (1-1000 nm), con aplicaciones a la física, química y biología.

Uno de los campos en que la nanotecnología está teniendo un gran impacto es el ámbito médico. Mediante la nanotecnología ha sido posible mejorar la farmacocinética y farmacodinamia de diversos fármacos usando como acarreadores numerosos nanosistemas, tales como liposomas, microemulsiones, dendrímeros, cristales líquidos, nanopartículas poliméricas y nanocristales (1, 2).

Los nanosistemas anteriormente mencionados tienen una aplicación especialmente importante para fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica (baja solubilidad, alta permeabilidad), en los cuales la solubilidad es el paso limitante para su absorción. Para resolver la problemática de estos fármacos se han utilizado ampliamente nanopartículas poliméricas y nanocristales, a continuación se mencionan algunas generalidades de estos dos sistemas.

1.1. Nanopartículas poliméricas.

Existen múltiples trabajos en los que se han desarrollado nanopartículas poliméricas como sistemas de liberación de fármacos (3-13) entre las principales ventajas que se obtienen mediante la incorporación de fármacos en nanopartículas están la protección ante agentes degradantes, mayor biodisponibilidad, menor toxicidad y menos efectos adversos, así como la posibilidad de dirigir el fármaco a un sitio específico dentro del organismo (14).

Las nanopartículas de uso farmacéutico generalmente tienen un tamaño que va de los 10 a 1000 nm. Las nanopartículas poliméricas pueden subdividirse de acuerdo a la distribución del fármaco como nanocápsulas y nanoesferas. Las nanocápsulas son sistemas vesiculares en los que el fármaco está confinado en una cavidad

central (la cual puede ser de naturaleza oleosa) rodeada de una membrana de polímero, mientras que las nanoesferas son sistemas matriciales en los que el fármaco y el polímero se encuentran uniformemente distribuidos (14).

En la preparación de nanopartículas poliméricas se prefiere utilizar polímeros biodegradables, algunos de los que más se han utilizado son el ácido poliláctico, ácido poliglicólico, ácido poli(láctico-co-glicólico) en diversas proporciones y policianoacrilatos, también se ha utilizado quitosán, gelatina y alginato de sodio (14).

Existen varios métodos para la preparación de nanopartículas poliméricas, pueden agruparse en tres grandes categorías; 1) Dispersiones de polímeros preformados, 2) Polimerización de monómeros y 3) Gelación iónica o coacervación de polímeros hidrofílicos (1). La dispersión de polímeros preformados ha sido ampliamente utilizada debido a que los requerimientos para trabajar con esta técnica son más accesibles que los requeridos en las otras metodologías. Para la formación de nanopartículas a partir de polímeros preformados existen diversas técnicas, algunas de ellas son emulsificación- evaporación, desplazamiento de disolvente, “salting-out” y emulsificación-difusión (15).

En el presente trabajo se utilizó el método de desplazamiento de disolvente, el cual se describirá más adelante.

1.2 Nanocristales.

Los nanocristales se definen como partículas sólidas de fármacos con un tamaño de 1 a 1000 nanómetros. Estas partículas de tamaño submicrónico pueden ser amorfas y aun así ser consideradas como nanocristales (16). Por definición están compuestos 100% de fármaco, sin ningún otro material que componga la matriz, sin embargo, la mayoría de ellos contienen en su superficie algún estabilizante que previene su agregación en cristales de mayor tamaño. Cuando se encuentran en dispersión se les conoce como nanosuspensiones y comúnmente se componen del medio de dispersión (generalmente agua), fármaco y algún estabilizante (17).

Como resultado de su mayor área superficial, el uso de fármacos en tamaño nanométrico aporta ventajas muy importantes, algunas de las más notables son: mayor solubilidad y velocidad de disolución, rápido efecto, incremento en la biodisponibilidad oral, menor dosis requerida y menor variabilidad en la biodisponibilidad resultado de la dieta (17).

Mediante la formación de nanocristales se consiguen mayores ventajas que con el uso de la micronización, por ejemplo; mediante la micronización se obtienen cristales con un rango de tamaños de 1 a 10 μm lográndose así un incremento en la velocidad de disolución por el aumento del área superficial, sin embargo, la solubilidad del fármaco no se ve modificada. Con la formación de nanocristales es posible incluso incrementar la solubilidad. El incremento en la solubilidad puede explicarse utilizando la ecuación de Freundlich-Ostwald (18).

$$x_{A(\beta)} = x_{A(B)}^{\circ} * e^{\frac{2 * V_{A(\alpha)}^{\circ} * \sigma_{\alpha/\beta}^{\circ}}{R * T * r_{\alpha}}} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde $x_{A(\beta)}$ es la solubilidad del compuesto A expresada en fracción mol, el cual tiene forma esférica con un radio r_{α} en un disolvente β a una temperatura T (en grados Kelvin) y presión p (Pa), $x_{A(\beta)}^{\circ}$ es la solubilidad bajo las mismas condiciones para una fase α infinitamente grande, $\sigma_{\alpha/\beta}^{\circ}$ es la energía interfacial (J/m^2) entre ambas fases, $V_{A(\alpha)}^{\circ}$ es el volumen molar de la fase $A(\alpha)$ y R es la constante universal de los gases. Como puede apreciarse en la ecuación 1, a menor radio de la partícula mayor solubilidad, sin embargo este aumento comienza a ser significativo únicamente cuando tenemos tamaños en el rango nanométrico.

Los métodos para la preparación de nanocristales pueden agruparse de manera general en dos categorías: aquellos en los que a partir de cristales grandes se procede a su fragmentación para obtener nanocristales (*top-down*) y en los que a partir de moléculas individuales se induce un proceso de cristalización controlado

(*bottom-up*). Algunos métodos de tipo *top-down* que se han utilizado para preparar nanocristales son molienda en húmedo, microfluidización y homogenización a alta presión. En cuanto a métodos de tipo *bottom-up* se encuentra el método de desplazamiento de disolvente y tecnologías de fluidos supercríticos (19).

2. POLÍMEROS

Como ya se mencionó anteriormente, diversos polímeros se utilizan en la formación de nanopartículas, por lo tanto en esta sección se describirán algunos de ellos.

2.1 Polímeros sintéticos utilizados en la preparación de nanopartículas.

Los polímeros son cadenas largas de moléculas repetidas, cada una de las unidades repetidas pueden diferir de las moléculas individuales a partir de las cuales se obtuvo el polímero en la pérdida de alguna insaturación o de alguna molécula pequeña como H₂O o HCl. Estas diferencias dependen de la reacción de polimerización utilizada (20).

Los métodos para obtener polímeros sintéticos se clasifican en dos categorías principales; crecimiento en cadena (polimerización de adición) y crecimiento en etapas (polimerización de condensación) (21).

En la polimerización de crecimiento en cadena un *iniciador* se adiciona a un doble enlace carbono-carbono de un sustrato insaturado y forma un intermediario reactivo, este a su vez reacciona con una segunda molécula del monómero generando un segundo intermediario que reacciona con una tercera unidad de monómero y así consecutivamente. El *iniciador* puede ser un radical, un ácido, o un anión (21).

En la polimerización de crecimiento en etapas cada enlace de la cadena se forma de manera independiente de los otros. Dos monómeros reaccionan para formar un enlace covalente eliminando de su estructura alguna molécula pequeña o rompiendo algún enlace (insaturación o apertura de algún anillo) (20).

2.2 Etilcelulosa

La etilcelulosa (EC) es un polímero semisintético derivado de la celulosa, se obtiene sometiendo celulosa purificada a una solución alcalina, para después hacerla reaccionar con cloruro de etilo como se muestra en la figura 2 (22).

El grado de sustitución (GS) designa el número promedio de grupos hidroxilos que han reaccionado con cloruro de etilo en cada anhidroglucosa. Debido a que cada unidad de anhidroglucosa posee tres grupos hidroxilo, el máximo valor de GS es 3. El porcentaje de contenido de grupos etoxilo en muestras comerciales va de 44% a 52.5% (22-23).

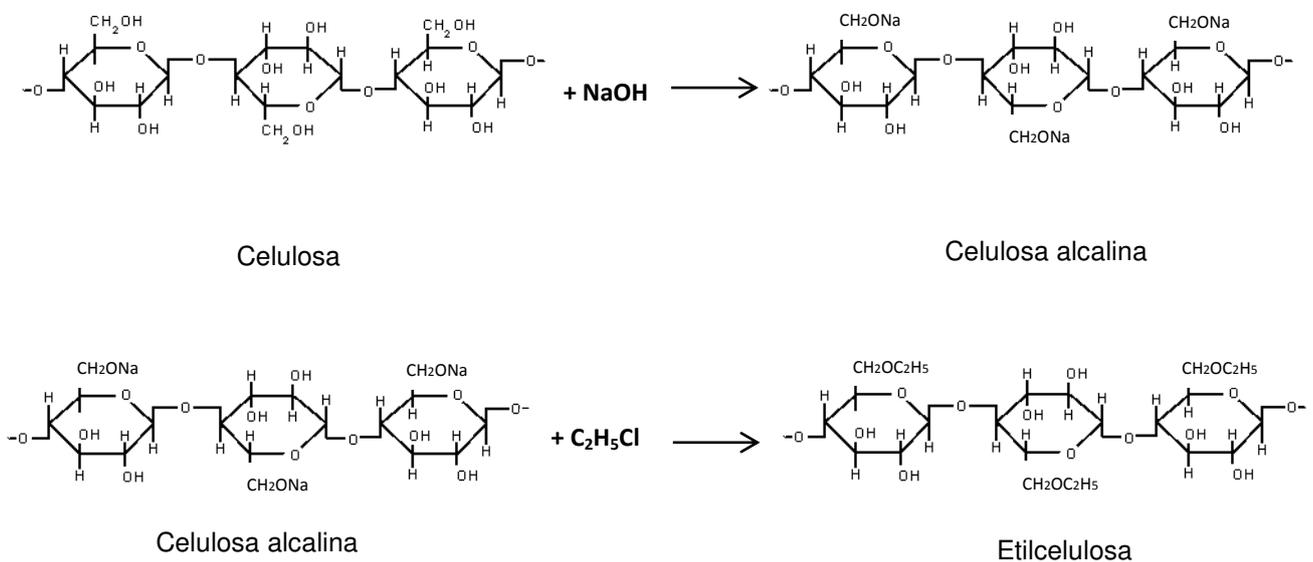


Fig. 2 Reacción de obtención de etilcelulosa. Se muestra la sustitución sólo en uno de los grupos oxidrilo de cada anhidroglucosa, pero puede ocurrir en cualquiera de los tres.

La etilcelulosa se utiliza ampliamente en la industria farmacéutica como polímero de recubrimiento en formas farmacéuticas de liberación modificada. También se ha utilizado en la preparación de nanopartículas no biodegradables (23).

2.3 Ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA)

El PLGA es un copolímero aleatorio de tipo poliéster. Es uno de los polímeros que más se ha utilizado para la preparación de sistemas de liberación de fármacos, entre ellos las nanopartículas. La principal razón por la que se usa ampliamente es que se trata de un polímero biodegradable, biocompatible y no tóxico. Mediante la hidrólisis de sus enlaces ésteres es degradado a ácido láctico y glicólico, y estos se eliminan del organismo fácilmente mediante el ciclo de Krebs (24). Puede obtenerse una amplia variedad de cadenas de PLGA (diferentes pesos moleculares y proporciones de monómeros) mediante dos procesos de síntesis: 1) policondensación directa (se utiliza principalmente para obtener bajos pesos moleculares) y 2) polimerización cíclica de dímeros por apertura de anillo, siendo esta última la más utilizada (Fig. 3) (25).

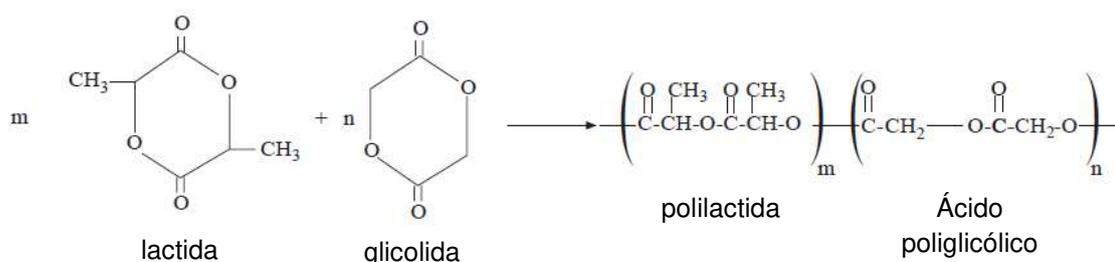


Fig. 3 Síntesis de PLGA mediante polimerización cíclica de dímeros por apertura de anillo

En la polimerización cíclica de dímeros mediante apertura de anillo los polímeros se hacen reaccionar durante un tiempo de entre 2 y 6 horas a una temperatura de 175°C. Normalmente se utiliza como catalizador cloruro de estaño u octoato de estaño, pero también se ha usado ácido p-toluenosulfónico y trifloruro de antimonio. Por lo general se adiciona alcohol láurico para controlar el peso molecular resultante (24).

Debido al carbono β asimétrico del ácido láctico, existen dos estereoisómeros (D y L), por lo que los polímeros resultantes pueden ser D, L o racémicos (24).

La estructura química del ácido láctico y del glicólico difieren únicamente en que el primero posee un grupo metilo, siendo por tanto más hidrofóbico, esto contribuye a que existan diferencias en la cinética de degradación del PLGA dependiendo de la proporción de sus monómeros. Una mayor cantidad de ácido poliláctico ocasiona una más rápida degradación debido a una disminución en la cristalinidad del polímero (26).

Se han realizado múltiples estudios de la cinética de degradación del PLGA, el amplio conocimiento que existe acerca de los tiempos de vida media de varios PLGAs *in vivo* es una de las razones de su amplia utilización. El copolímero 50:50 láctico-co-glicólico es el que más rápido se degrada, los PLGAs de proporción 65:35, 75:25 y 85:15 tienen progresivamente menores velocidades de degradación (24).

2.4 Poli- ϵ -caprolactona (PCL)

La poli- ϵ -caprolactona (PCL), al igual que el PLGA, es un poliéster alifático biodegradable. La polimerización de la caprolactona puede llevarse a cabo mediante por lo menos cuatro mecanismos; aniónico, catiónico, coordinación y mediante radicales (24).

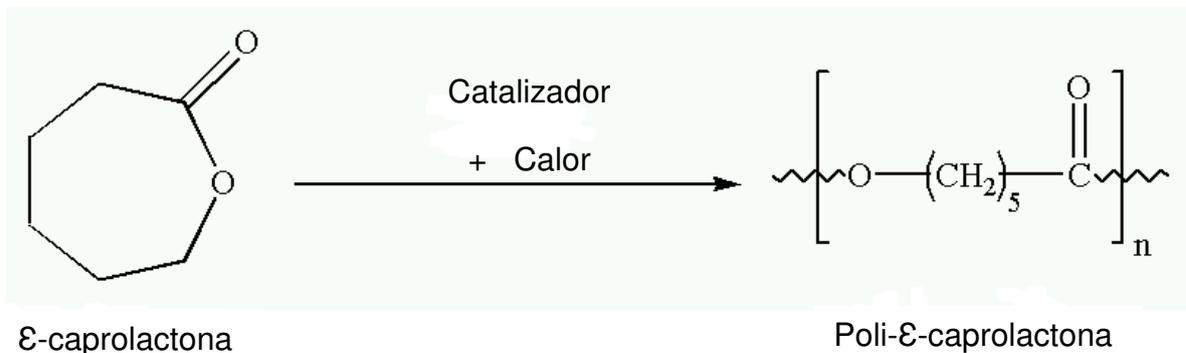


Fig. 4 Síntesis de Poli- ϵ -caprolactona

La PCL tiene una velocidad de degradación menor al PLGA y por lo tanto se utiliza para sistemas de liberación de tiempo más prolongado. La PLC tiene una estructura semicristalina y funde entre 59 - 64 °C. El grado de cristalinidad de la

PLC varía con su peso molecular, en las moléculas cuyo peso excede los 100,000 Daltons su grado de cristalinidad es de alrededor del 40% mientras que en aquellas cuyo peso es menor a 500 daltons alcanza el 80%. La cristalinidad juega un papel importante tanto en la permeabilidad como en la biodegradabilidad del polímero (debido a que el agua no tiene acceso a las estructuras internas de los cristales) (24).

Una propiedad importante de la PCL es que puede copolimerizarse con otros monómeros, tales como óxido de etileno, cloropreno, tetrahidrofurano, varelolactona, metacrilato y vinilacetato. Se han estudiado sobre todo los copolímeros de caprolactona con ácido láctico (27).

3. POTENCIAL ZETA

Para que las nanopartículas poliméricas y los nanocristales se mantengan en dispersión un factor importante es su potencial Zeta, por lo que a continuación se dará una breve introducción a este concepto.

Las partículas dispersas en un líquido pueden adquirir carga debido principalmente a dos fenómenos; por la absorción de iones en solución (incluso de iones hidronio o hidroxilo provenientes de la ionización del agua), o debido a la ionización de especies químicas presentes en la superficie de la partícula. Un tercer fenómeno menos común se da cuando existe una diferencia en la constante dieléctrica de la partícula y el medio en que se encuentra dispersa (28).

Cuando una partícula coloidal con carga positiva se dispersa en un medio líquido que contiene iones, los aniones se adsorben sobre su superficie dotándola de carga negativa. Por otro lado, el movimiento térmico tiende a producir una distribución equitativa de todos los iones en solución. Como resultado de estos dos fenómenos se establece un equilibrio en el que existe un exceso de aniones cerca de la superficie positiva, este exceso de aniones va disminuyendo a medida que se incrementa la distancia con respecto a la superficie de la partícula. A una distancia dada de la superficie, la concentración de aniones y cationes son equivalentes, por lo que prevalece la neutralidad eléctrica de la solución; es decir,

el sistema es eléctricamente neutro, sin embargo, existen regiones con distribución inequitativa de cationes y aniones (28).

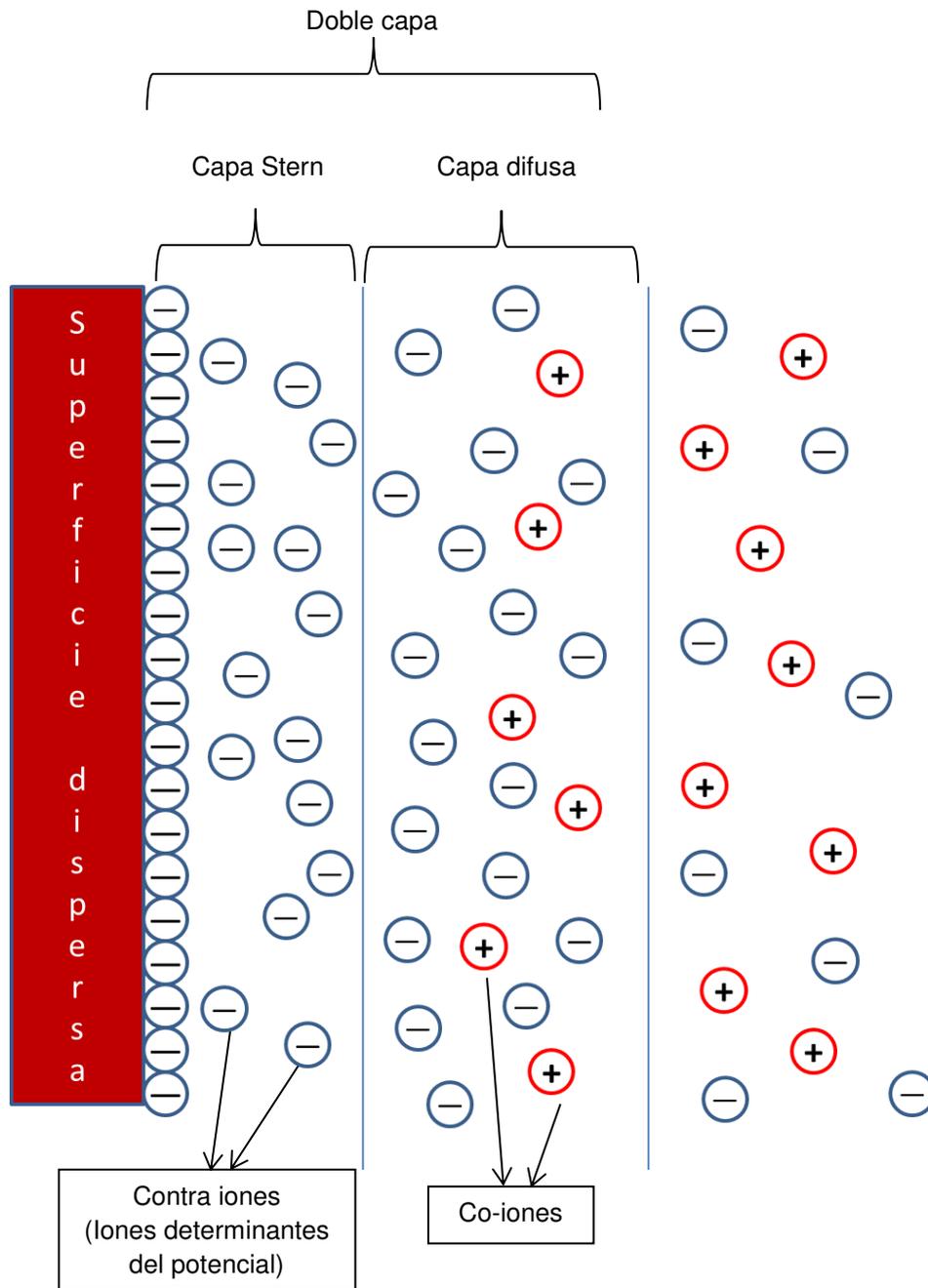


Fig. 5 Representación esquemática de la doble capa difusa.

Lo antes descrito se ilustra en la figura 5; los iones adsorbidos que dotan de carga negativa la superficie se denominan *contra-iones* (por tener carga opuesta a la superficie) o *iones determinantes del potencial*, estos forman una capa rígida conocida como *capa Stern*. El grado de atracción entre la *capa Stern* y el coloide es tal que los movimientos del coloide con respecto al medio de dispersión tienen como plano de corte la *capa Stern* y no la superficie verdadera del coloide. Otros iones de carga opuesta al coloide (co-iones) son atraídos por la *capa Stern*.

Este equilibrio dinámico resulta en la formación de una capa difusa compuesta principalmente por contra iones y en menor medida co-iones (carga igual a la del coloide). La llamada doble capa está compuesta por la capa Stern y la capa difusa (28), (29).

El coloide y su atmósfera cargada producen un potencial eléctrico relativo a la solución. Este tiene valor máximo en la superficie y disminuye gradualmente con la distancia, aproximándose a cero fuera de la capa difusa (29).

El potencial en la zona de unión entre la capa difusa y la *Stern* se denomina potencial zeta y tiene implicaciones prácticas debido a que éste determina el grado de repulsión entre partículas dispersas con carga similar (28). Si ponemos como ejemplo de sistema disperso una suspensión coloidal, entonces si todas las partículas en suspensión tienen un alto potencial zeta (positivo o negativo) tenderán a repelerse y no flocularán. En general se considera que partículas con potencial zeta mayor a ± 30 mV son estables y no tienden a flocular (30).

3.1 Movilidad electroforética y medición de potencial Zeta

Un efecto importante ocasionado por la existencia de cargas eléctricas sobre la superficie de una partícula es la electroforesis. Cuando se aplica un campo eléctrico a través de un electrolito, las partículas cargadas que se encuentran en suspensión son atraídas hacia el electrodo de carga opuesta. La viscosidad del medio se opone al movimiento de las partículas, sin embargo cuando se alcanza el equilibrio entre ambas fuerzas las partículas cargadas se mueven a una

velocidad constante, la cual depende además, del voltaje aplicado, de la constante dieléctrica del medio y del potencial Zeta de la partícula (30).

La velocidad de partículas cargadas en un campo eléctrico se denomina **movilidad electroforética** y puede calcularse mediante la ecuación de Henry:

$$U_E = \frac{2\varepsilon z f(Ka)}{3\eta}$$

Donde:

U_E = movilidad electroforética

ε = constante dieléctrica del medio

z = potencial Zeta de la partícula

$f(Ka)$ = función de Henry

η = viscosidad del medio

Por lo tanto, utilizando la ecuación de Henry es posible determinar el potencial Zeta de una partícula si se conoce su movilidad electroforética.

Existen diversos instrumentos capaces de medir la movilidad electroforética utilizando la técnica de velocimetría laser doppler (LDV por sus siglas en inglés). La medición se realiza haciendo incidir un haz de luz sobre las partículas en movimiento, las cuales dispersan la luz, entonces el haz de luz dispersado es comparado contra un haz de referencia. Esto produce una fluctuación en la intensidad de la señal donde el grado de fluctuación es proporcional a la velocidad de las partículas (30).

4. DESPLAZAMIENTO DE DISOLVENTE

El desplazamiento de disolvente es una técnica sencilla que se ha utilizado para la preparación de nanopartículas poliméricas y más recientemente también para la preparación de nanocristales, se le conoce también como nanoprecipitación.

Para la formación de nanopartículas poliméricas mediante esta técnica se disuelve el fármaco y polímero en un disolvente semipolar miscible con agua (p. ej. acetona o etanol). Esta solución es vertida o inyectada en una solución acuosa que puede o no contener un estabilizante (p. ej. alcohol poli vinílico o polaxámero) y que se encuentra en agitación moderada (15, 31).

Se ha sugerido que la formación de nanopartículas mediante esta técnica es comparable al mecanismo de “difusión y varamiento” que ocurre durante la emulsificación espontánea. Conforme a este mecanismo, el disolvente orgánico difunde rápidamente hacia el agua llevando consigo cadenas de polímero que aún se encuentran en solución. A medida que la acetona difunde mayormente hacia el agua el polímero queda “varado” en el agua formando diferentes estructuras (partículas cuyo tamaño puede estar en el rango nanométrico) (32). El mecanismo de formación de las nanopartículas puede describirse en base a las interacciones agua-disolvente, agua-polímero y disolvente-polímero (31).

4.1 Variables que afectan la formación de nanopartículas mediante desplazamiento de disolvente.

Se han identificado diversos factores que afectan la formación de nanopartículas, algunos de ellos son la concentración utilizada de polímero, la proporción de disolvente y antidisolvente (L1/L2) utilizados y las características fisicoquímicas de la mezcla final, particularmente la constante dieléctrica. Stainmesse y colaboradores (33) evaluaron estos tres aspectos utilizando como polímero poli- ϵ -caprolactona (PCL), como disolvente acetona y como antidisolvente agua (no se adicionó ningún estabilizante), para lo cual construyeron un diagrama ternario (figura 6).

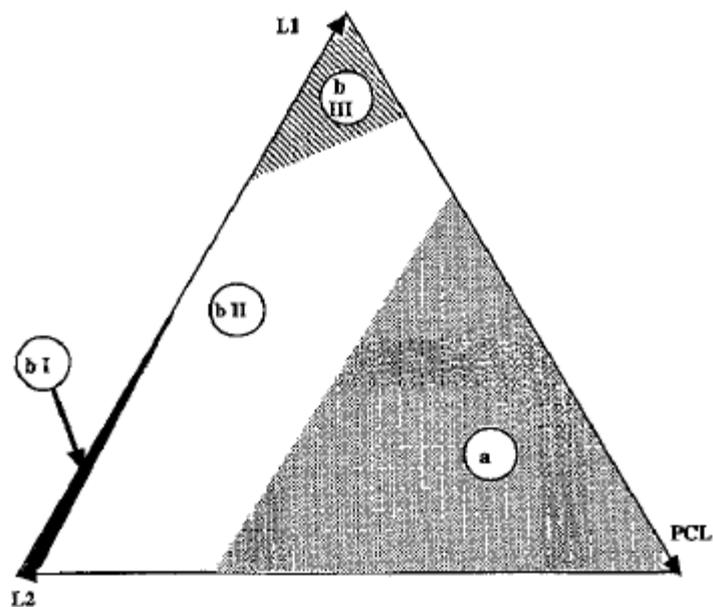


Fig 6. Diagrama ternario que muestra las regiones de formación y no formación de nanopartículas de PCL mediante la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando acetona como disolvente y agua como anti disolvente. Tomado del trabajo de Stainmesse *et al* (33)

En el diagrama se distinguen cuatro zonas. En la zona **a**, la concentración de PCL es mayor a su solubilidad en acetona, la zona **bl** corresponde a la región donde se forman las nanopartículas (0.5 a 1.5% PCL), mientras que en la zona **bII** ocurre floculación del polímero y en la **bIII** disolución del mismo. Nos concentraremos en la zona **bl** ya que sólo en ésta se da la formación de nanopartículas (34).

Stainmesse *et al.* (34) mantuvieron constante la concentración de polímero (26 g/L) modificando la proporción acetona/agua, monitorearon como se modifica la constante dieléctrica (ϵ) y el diámetro de las partículas obtenidas (tabla 1). Conforme se incrementó la proporción de acetona, disminuyó la ϵ y el diámetro medio de las partículas obtenidas. A valores por arriba de 0.333 para proporción acetona/agua la floculación fue tan marcada que no fue posible determinar el tamaño de las partículas obtenidas.

Tabla 1. Modificación del diámetro de partícula obtenido con respecto a la constante dieléctrica del medio en el trabajo de Stainmesse *et al* (33).

Proporción $\frac{\text{acetona}}{\text{agua}}$	Constante dieléctrica	Diámetro (nm)
0.133	73.0	115
0.167	71.5	130
0.333	65.2	150
1.000	50.3	Floculación
1.600	43.5	Floculación
2.500	37.6	Floculación
5.000	30.6	Floculación

Adicionalmente Stainmesse *et al.* (34) encontraron que conforme se incrementó la concentración del polímero se obtuvieron mayores tamaños de partícula, hasta llegar a la floculación. Como se ha visto la constante dieléctrica es un parámetro importante en la formación de nanopartículas mediante esta técnica.

4.2 Tensoactivos como estabilizantes.

Para que se dé la formación de nanopartículas mediante la técnica de desplazamiento de disolvente no se necesita la presencia de un estabilizante. Sin embargo, casi siempre se adiciona alguno para evitar la agregación de las partículas. Los estabilizantes utilizados son tensoactivos, estos pueden ser iónicos (aniónicos y catiónicos), no iónicos o anfóteros (35). Un inconveniente del uso de tensoactivos es la irritación producida por estos, por ejemplo, se ha reportado que los surfactantes producen irritación local cuando son utilizados en formas farmacéuticas de aplicación tópica (35,36). A partir de estudios *in vitro* e *in vivo* se sabe que los surfactantes pueden inducir cambios en la estructura de las membranas celulares. Los surfactantes son capaces de solubilizar los lípidos que componen las membranas biológicas, este efecto es dependiente de la concentración del surfactante. A baja concentración de surfactante las membranas disminuyen su capacidad de barrera protectora incrementándose su

permeabilidad (este efecto es aprovechado para mejorar la absorción de algunos fármacos), mientras que a concentraciones altas ocurre la lisis celular (35). Se sabe que los surfactantes aniónicos causan irritación importante en piel de humanos y animales, los catiónicos son igualmente irritantes pero más citotóxicos, mientras que los surfactantes no iónicos son los menos irritantes (35).

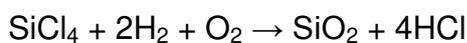
5. DIÓXIDO DE SILICIO (SiO₂) COLOIDAL

Las formas comercialmente disponibles de dióxido de silicio pueden dividirse en dos grupos principales, *soles* y muestras sólidas. Los *soles* son partículas coloidales dispersas en un medio líquido, estas partículas no sedimentan ni se aglomeran. Las muestras sólidas comercialmente disponibles pueden a su vez subdividirse de acuerdo a su método de obtención en xerogeles, aerogeles, precipitados secos y *fumed silica*, siendo estos dos últimos los más utilizados en la industria farmacéutica (37).

Los precipitados secos de SiO₂ coloidal se obtienen desprendiendo SiO₂ de alguna sal de dióxido de silicio que se hace reaccionar con algún ácido inorgánico, procediendo después a la precipitación y secado del SiO₂ (37).



Se denomina *fumed silica*, Aerosil[®] (marca comercializada por Evonik[®]) o *pyrogenic silica* al SiO₂ coloidal obtenido mediante reacción a altas temperaturas (38).



En el Aerosil[®], el SiO₂ se encuentra agrupado en cuatro niveles que se describirán a continuación.

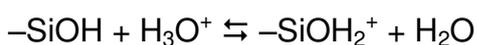
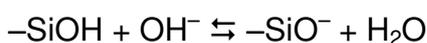
Durante la reacción en la flama se forman protopartículas con tamaño de 1-2 nm (primer nivel), las cuales chocan entre sí quedando adheridas y son cubiertas por nuevas capas de SiO₂ originando partículas primarias con diámetros de 5-50 nm (segundo nivel). A su vez las partículas primarias sufren colisiones y se fusionan

(mediante enlaces siloxano Si–O–Si) produciendo agregados primarios (tercer nivel). La unión de partículas primarias a estos agregados conduce a la formación de agregados secundarios (cuarto nivel) estables de mayor tamaño (100–500 nm) que se mantienen unidos mediante puentes de hidrógeno y fuerzas electroestáticas (38, 39). Finalmente la asociación de los agregados secundarios origina conglomerados laxos ($>1\mu\text{m}$) relativamente inestables (39).

Los agregados no separables de SiO_2 formados están en el orden de 100 nm o más, por lo tanto es mejor considerar al Aerosil[®] como partículas submicrónicas más que como partículas nanométricas (40).

Las partículas de Aerosil[®] poseen gran área superficial específica y altos potenciales de superficie, esto último debido a su alta densidad de grupos silanol activos (alrededor de 1.8 por nm^2) (38).

Al dispersar partículas de SiO_2 en agua, estas adquieren carga por la ionización de los grupos silanol presentes en su superficie. A valores altos de pH los grupos silanol actúan como ácidos débiles adquiriendo carga negativa, mientras que a valores bajos de pH se comportan como bases débiles protonables, por lo que adquieren carga positiva (38):



Los grupos silanol no presentan carga cuando el pH de la dispersión es cercano a su punto isoeléctrico (≈ 2.5) (41)

Las partículas de SiO_2 no contienen únicamente grupos silanol en su superficie, pueden contener también grupos siloxano. Los grupos siloxano se originan por la formación de enlaces entre grupos silanol vecinos con la consecuente pérdida de agua (37).

La cantidad de grupos siloxano presentes depende del método de obtención de las partículas de dióxido de silicio, así como de los tratamientos posteriores a los

cuales se les somete. En las partículas obtenidas mediante reacción en flama abundan los grupos siloxano, pues a la temperatura a que se da la reacción ocurre fácilmente la deshidratación de múltiples grupos silanol con la consiguiente formación de grupos siloxano. En cambio, las partículas de SiO_2 obtenidas mediante precipitación son pobres en grupos siloxano. Cuando partículas abundantes en grupos siloxano se dispersan en agua muchos de estos grupos son hidratados, de forma que después de un tiempo quedan pocos grupos siloxano (37).

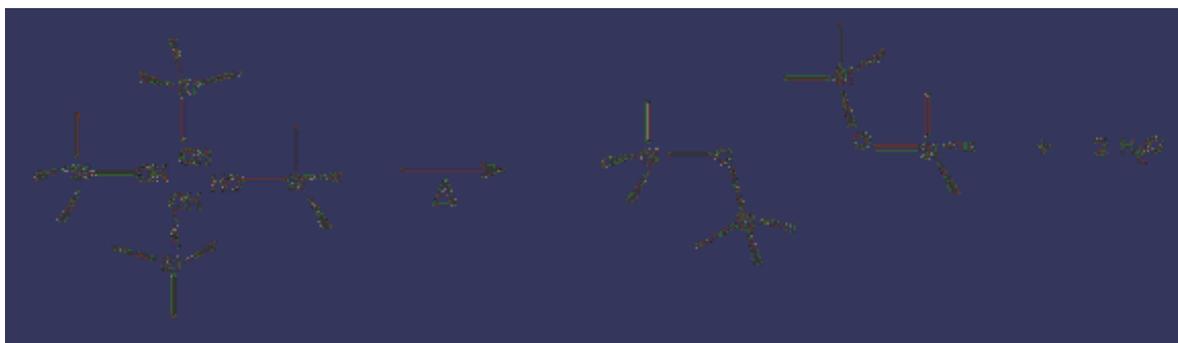


Fig 7. Formación de grupos siloxano a partir de grupos silanol mediante calentamiento.

El SiO_2 coloidal se utiliza ampliamente en la fabricación de medicamentos, por ejemplo, en la fabricación de comprimidos se utiliza como deslizante (42, 43), teniendo también aplicaciones en la formulación de formas farmacéuticas líquidas y semisólidas, principalmente como espesante, ayudando así a la estabilización de suspensiones (43). Debido a su tamaño, el SiO_2 coloidal se ha utilizado para la preparación de emulsiones aprovechando el principio de estabilización mediante sólidos finamente divididos (44).

Debido a la amplia utilización del SiO_2 coloidal en la industria farmacéutica, resulta un material que de utilizarse en la preparación de nanopartículas o nanocristales, facilitaría la incorporación de estas estructuras en diversas formas farmacéuticas, tales como suspensiones o comprimidos de compresión directa.

IV. JUSTIFICACIÓN

Mediante la técnica de desplazamiento de disolvente es posible obtener tanto nanopartículas poliméricas como nanocristales. Ambos sistemas pueden ayudar a aumentar o mejorar la solubilidad de diversos fármacos, específicamente los del grupo II de la clasificación biofarmacéutica (baja solubilidad, alta permeabilidad), para los cuales la disolución es el paso limitante de la absorción.

Es de interés para fines farmacéuticos obtener sistemas estabilizados con algún material que pueda utilizarse en la preparación de comprimidos de compresión directa. Un excipiente accesible y ampliamente utilizado en compresión directa es el dióxido de silicio, por lo tanto resulta importante evaluar si este puede utilizarse para estabilizar nanosistemas (nanopartículas poliméricas y nanocristales) preparados por la técnica de desplazamiento de disolvente.

V. HIPÓTESIS

Si el dióxido de silicio sirve como estabilizante para prevenir la agregación de partículas en dispersión, entonces se puede utilizar como estabilizante de nanosistemas preparados mediante la técnica de desplazamiento de disolvente.

VI. OBJETIVOS

1. OBJETIVO GENERAL

Obtener dispersiones nanométricas (nanopartículas poliméricas y nanocristales de fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica) por la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando dióxido de silicio como estabilizante.

2. OBJETIVOS PARTICULARES

1.- Desarrollar un método que utilice la técnica de desplazamiento de disolvente para la formación de nanosistemas (nanopartículas poliméricas y nanocristales de fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica) utilizando dióxido de silicio como estabilizante.

2.- Caracterizar los nanosistemas obtenidos mediante su tamaño de partícula, índice de polidispersión, potencial Zeta, y análisis mediante microscopía electrónica de barrido (MEB).

VII. METODOLOGÍA

1. PREPARACIÓN DE DISPERSIONES DE DIÓXIDO DE SILICIO COLOIDAL

En distintos experimentos se utilizaron dispersiones a diferentes concentraciones (1 a 6%). Para cada una de las preparaciones se agitó la cantidad necesaria de dióxido de silicio (SiO_2) coloidal (Aerosil[®] 200, Evonik[®]) en agua durante 12 horas, después de lo cual se agitó la dispersión utilizando un Ultra-Turrax[®] T18 basic (IKA[®], Germany) a 17,000 rpm durante 15 minutos, y posteriormente se sonicó la muestra durante 1 hora. A las dispersiones de SiO_2 se les determinó tamaños de partícula y potencial Zeta utilizando un Zetasizer[®] Nano-ZS90 (Malvern Instruments, USA), cada una de las muestras se leyó por triplicado constando cada lectura de 10 corridas.

2. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS.

Para determinar si es posible preparar nanopartículas poliméricas mediante la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando SiO_2 coloidal como estabilizante se probaron tres polímeros; Etilcelulosa (Ethocel[®], Dow Chemical[®]), Poli- ϵ -caprolactona (PLC, peso molecular \approx 14,000, Aldrich[®]) y ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA, láctico:glicólico 50:50, peso molecular 76,000 – 115,000, Resomer[®] RG 756).

En el caso de los tres, se disolvió el polímero en 20 mL de acetona y este se inyectó lentamente en 125 mL de dispersión de SiO_2 coloidal (1 y 2 %).

En la tabla 2 se presentan las concentraciones utilizada de cada uno de los polímero.

Tabla 2. Concentraciones de polímeros y de SiO₂ coloidal utilizadas en el estudio.

Polímero utilizado	Concentración del polímero en la dispersión final (%)	Concentración de SiO ₂ en la dispersión final (%)	Nombre de la preparación
Etilcelulosa	0.32	0	0.32%EC
Etilcelulosa	0.32	1	0.32%EC 1% SiO ₂
Etilcelulosa	0.32	2	0.32% EC 2% SiO ₂
Etilcelulosa	0.46	0	0.46% EC
Etilcelulosa	0.46	1	0.46% EC 1% SiO ₂
Etilcelulosa	0.46	2	0.46% EC 2% SiO ₂
Poli-ε-caprolactona	0.46	0	0.46%PLC
Poli-ε-caprolactona	0.46	1	0.46%PLC 1% SiO ₂
Poli-ε-caprolactona	0.46	2	0.46%PLC 2% SiO ₂
Poli-ε-caprolactona	2.50	0	2.5%PLC
Poli-ε-caprolactona	2.50	1	2.5%PLC 1% SiO ₂
Poli-ε-caprolactona	2.50	2	2.5%PLC 2% SiO ₂
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.32	0	0.32%PLGA
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.32	1	0.32%PLGA 1% SiO ₂
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.32	2	0.32%PLGA 2%SiO ₂
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.46	0	0.46%PLGA
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.46	1	0.46%PLGA 1%SiO ₂
Ácido poli-(láctico-co-glicólico)	0.46	2	0.46%PLGA 2%SiO ₂

Las muestras se mantuvieron en agitación dentro de una campana de extracción hasta la completa evaporación del disolvente. Después cada una de las preparaciones se filtró a través de una malla con tamaño de poro de 10 μm para determinar el rendimiento, es decir, del total de polímero utilizado cuanto de este se agregó en partículas de tamaño menor a 10 μm , el cálculo se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$\left(1 - \frac{g \text{ residuo}}{g \text{ polímero} + g \text{ SiO}_2}\right) \times 100$$

3. SELECCIÓN DE FÁRMACOS PARA LA FORMACIÓN DE NANOCRISTALES

Para determinar si era posible formar nanocristales utilizando SiO_2 coloidal como estabilizante se evaluaron varios fármacos del grupo II de la clasificación biofarmacéutica (Tabla 3). Todos los fármacos seleccionados para la evaluación son solubles en mayor o menor medida en acetona o etanol, ya que este es un requisito para utilizar la técnica de desplazamiento de disolvente. El disolvente utilizado para cada fármaco se muestra también en la tabla 3. La primera opción fue acetona y en caso de no ser soluble es esta se utilizó etanol.

El volumen de disolvente utilizado en la mayoría de los casos fue 10 mL y la cantidad de fármaco 0.62 g. Cuando el fármaco presentó una muy baja solubilidad en ambos disolventes se optó por disminuir la cantidad del mismo (como fue el caso de praziquantel) e incluso por aumentar la cantidad de disolvente (como ocurrió con carbamacepina). La disolución de cada fármaco se inyectó a 62 mL de dispersión de SiO_2 al 2% (p/v) utilizando una bomba de infusión (Syringepump New Era, NE-300). Durante la inyección la aguja se sumergió completamente en la dispersión de dióxido de silicio, la velocidad de inyección en todos los casos fue de 1 mL/min.

Tabla 3. Fármacos evaluados para la formación de nanocristales, se muestra además la cantidad de fármaco utilizado y el volumen disolvente para cada uno.

Nombre del fármaco	Cantidad de fármaco utilizada (g)	Disolvente	Volumen de disolvente utilizado (mL)
Ibuprofeno	0.62	Acetona	10
Naproxeno base	0.62	Acetona	10
Nifedipino	0.62	Acetona	10
Atorvastatina	0.62	Acetona	10
Ivermectina	0.62	Etanol	10
Ketoconazol	0.62	Etanol*	10
Propionato de testosterona	0.62	Etanol	10
Cipionato de testosterona	0.62	Etanol	10
Metiltestosterona	0.62	Etanol	10
Tiaprofenato	0.62	Etanol	10
Praziquantel	0.31	Etanol	10
Carbamacepina	0.31	Etanol	25

* Etanol a 60°C

Las muestras se mantuvieron en agitación dentro de una campana de extracción hasta la completa evaporación del disolvente. Se observaron las dispersiones formadas y se descartaron aquellas muestras que presentaron precipitado visible a simple vista.

4. FORMACIÓN DE NANOCRISTALES

Para la formación de nanocristales se eligieron aquellos fármacos para los que en la preparación obtenida en la fase anterior no se observó la formación de un precipitado visible después de evaporar el disolvente orgánico (acetona o etanol).

Se repitió el proceso antes descrito para dichos fármacos pero utilizando diferentes concentraciones de SiO₂ (1, 2, 3, 4, 5 y 6%). Una vez evaporado el

disolvente, se determinó tamaño de partícula y potencial Zeta a cada una de las preparaciones, para su posterior liofilización. Los cristales obtenidos fueron resuspendidos en agua y se determinó nuevamente su potencial Zeta y tamaño de partícula.

5. CARACTERIZACIÓN DE NANOCRISTALES OBTENIDOS.

La caracterización de los nanocristales se realizó mediante las pruebas de resuspendibilidad, microscopía electrónica de barrido (MEB), calorimetría diferencial de barrido y velocidad de disolución. A continuación se describe la metodología utilizada en cada una de las pruebas.

5.1 Resuspendibilidad.

Los cristales obtenidos después de la liofilización se resuspendieron en agua y se les determinó tamaño de partícula y potencia Zeta. Para ello se pesaron 0.2 g de liofilizado y se colocaron en un tubo eppendorf de 15 mL, se le adicionaron 10 mL de agua y se agitaron en vortex durante 5 minutos, después se colocó el tubo en un baño de ultrasonido durante 5 minutos, estos dos pasos se repitieron 2 veces más y posteriormente se midió el tamaño de partícula y potencial Zeta.

5.2 Microscopía electrónica de barrido.

Las muestras se colocaron en el portamuestras y se estabilizaron en un desecador con silica gel por 24 h, para posteriormente aplicarles un baño de oro (~20nm) utilizando un evaporador catódico Sputter Coater JFC-1100 (Jeol, Tokyo Japan). Los cortes así preparados se observaron en un microscopio electrónico de barrido de bajo vacío LV-SEM JSM 5600 (resolución de 5 nm), con un voltaje de 20 kV y 12-20 Pa de presión en la cámara, obteniéndose así las micrografías de la superficie de las nanopartículas.

5.3 Calorimetría diferencial de barrido.

Se pesaron aproximadamente 2 mg de muestra (ketoconazol, mezcla física ketoconazol-dióxido de silicio y nanocristales ketoconazol-dióxido de silicio). En una charola de aluminio para calorimetría (no hermética), se colocó la tapa y se selló con ayuda de una prensa. Las muestras se analizaron en un calorímetro marca TA Instruments modelo Q10. Previamente se corrió la línea base (utilizando charolas vacías) y el estándar de indio en las mismas condiciones de la muestra. Los datos de calorimetría de la línea base y del indio se utilizaron para realizar la corrección de las muestras. Las condiciones utilizadas fueron; flujo de N₂ de 50 mL/min, velocidad de calentamiento de 5°C/min de 40°C a 200°C.

5.4 Velocidad de disolución.

Para determinar si los nanocristales de ketoconazol obtenidos aumentan la velocidad de disolución con respecto a la materia prima, se desarrollaron dos fórmulas de compresión directa, una de ellas de desintegración rápida (1A y 1B) y la otra de desintegración lenta (2A y 2B). La preparación 1A difiere de la 1B únicamente en que en la primera se incorporó SiO₂ y ketoconazol en la misma proporción que los nanocristales (2:1) y en la segunda se utilizaron los nanocristales, lo mismo ocurre entre las fórmulas 2A y 2B (Tabla 4 a 7).

Como medio de disolución se utilizó 400 mL de HCl 0.1 N previamente degasificado mediante ultrasonificación. Las condiciones de la prueba fueron las que especifica la USP; 37 ± 1°C en agitación con paletas a 50 ± 5 rpm. El volumen de muestreo en cada tiempo fue de 3 mL con reposición de medio. Previamente a la determinación de ketoconazol disuelto, las muestras se filtraron a través de una membrana minisart sartorius con tamaño de poro de 0.2 µm. La cantidad disuelta de ketoconazol en cada tiempo de muestreo se determinó leyendo la solución a 270 nm en un espectrofotómetro Cary 50 e interpolando la absorbancia obtenida en una curva de calibración realizada previamente por triplicado (37 - 370µg/mL). Cada una de las fórmulas se evaluó por sextuplicado.

Tabla 4. Fórmula 1A

(Mezcla física)

Fórmula 1A		
Fuerza de compresión =1 tonelada, 15segundos		
Componente	%	mg/comprimido
Aerosil® 200	20	100
Ketoconazol	10	50
Estearato de Magnesio	1	5
Avicel® PH 102	69	345

Tabla 5. Fórmula 1B

(Nanocristales)

Fórmula 1B		
Fuerza de compresión =1 tonelada, 15segundos		
Componente	%	mg/comprimido
Nanocristales (2%Aerosil®1%ketoconazol)	30	150
Estearato de Magnesio	1	5
Avicel® PH 102	69	345

Tabla 6. Fórmula 2A

(Mezcla física)

Fórmula 2A		
Fuerza de compresión =1 tonelada, 20segundos		
Componente	%	mg/comprimido
Aerosil® 200	20	100
Ketoconazol	10	50
Croscarmelosa sódica	0.2	1
Azúcar compresible	69.8	349

Tabla 7. Fórmula 2B

(Nanocristales)

Fórmula 2B		
Fuerza de compresión =1 tonelada, 20segundos		
Componente	%	mg/comprimido
Nanocristales (2%Aerosil®1%ketoconazol)	30	150
Croscarmelosa sódica	0.2	1
Azúcar compresible	69.8	349

VIII. RESULTADOS

1. DISPERSIONES DE DIÓXIDO DE SILICIO.

Los resultados obtenidos de tamaño de partícula, índice de polidispersión y potencial Zeta en las dispersiones de SiO₂ se muestran en la tabla 8. Los gráficos de distribución se muestran en el anexo 1. En la dispersión al 1% los tamaños de partícula obtenidos van desde 50 hasta 400 nm, a concentraciones mayores la distribución se vuelve más ancha, lo cual puede observarse en el aumento del valor del índice de polidispersidad, siendo esto más evidente en las dispersiones al 4, 5 y 6%, donde incluso se vuelven distinguibles dos poblaciones, una cuya media es menor a 60 nm y otra de media mayor a 300 nm. Puede afirmarse entonces que en todas las muestras se detectaron partículas en un amplio rango de tamaños, de hecho para tener muestras con una sola población de distribución estrecha se requiere que el índice de polidispersidad sea menor a 0.1 (30), lo cual no se obtuvo en ninguna de las concentraciones evaluadas. El aumento en el índice de polidispersidad a medida que se incrementa la concentración puede deberse a la presencia de partículas aglomeradas. También se observa que el potencial Zeta de las partículas en dispersión disminuye a medida que se incrementa la concentración. Entre mayor es el valor absoluto del potencial Zeta menor es la tendencia de las partículas a agruparse entre sí. Los valores menores de potencial Zeta observados a concentraciones bajas proporcionan evidencia adicional para afirmar que el ensanchamiento en la distribución de tamaños a concentraciones altas está dado por la presencia de partículas aglomeradas. Como ya se mencionó, a concentraciones mayores al 3% se evidencian 2 poblaciones, esto puede explicarse porque al haber mayor número de partículas para ser detectadas por el equipo este puede distinguir dos poblaciones.

Tabla 8. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de las dispersiones

	Primer población			Segunda población			IDP	Po
	%	tamaño (nm)		%	tamaño (nm)			
1% SiO₂	100.00	151.2		0.00	0.00		0.144	-26.
	100.00	152.1	$\bar{X}=152.23$	0.00	0.00	$\bar{X}=0.00$	0.099	-27.
	100.00	153.4	CV=0.73%	0.00	0.00	CV=0.00%	0.164	-27.
2% SiO₂	100.00	192.3		0.00	0.00		0.165	-26.
	100.00	187.3	$\bar{X}=194.93$	0.00	0.00	$\bar{X}=0.00$	0.171	-26.
	100.00	205.2	CV=4.74%	0.00	0.00	CV=0.00%	0.152	-26.
3% SiO₂	100.00	217.4		0.00	0.00		0.175	-22.
	100.00	230.7	$\bar{X}=223.53$	0.00	0.00	$\bar{X}=0.00$	0.223	-22.
	100.00	222.5	CV=3.00%	0.00	0.00	CV=0.00%	0.201	-22.
4% SiO₂	100.00	259.4		0.00	0.00		0.265	-22.
	87.60	305.1	$\bar{X}=288.10$	12.40	64.60	$\bar{X}=58.91$	0.298	-22.
	91.20	299.8	CV=8.68%	8.80	53.21	CV=13.67%	0.352	-22.
5% SiO₂	79.20	357.0		20.80	56.20		0.508	-22.
	100.00	338.4	$\bar{X}=340.37$	0.00	0.00	$\bar{X}=58.03$	0.485	-22.
	82.80	325.7	CV=4.63%	17.20	59.86	CV=4.46%	0.465	-22.
6% SiO₂	84.60	402.8		15.10	39.37		0.579	-19.
	88.70	458.1	$\bar{X}=426.37$	11.30	31.51	$\bar{X}=42.48$	0.592	-19.
	75.70	418.2	CV=6.69%	23.70	24.30	CV=30.15%	0.641	-19.

2. PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS POLIMÉRICAS

Para determinar si el dióxido de silicio coloidal es capaz de estabilizar nanopartículas poliméricas preparadas mediante el método de desplazamiento de disolvente se evaluaron 3 polímeros (etilcelulosa, PLC y PLGA), cada uno de ellos a dos concentraciones distintas, las pruebas se realizaron en ausencia de SiO₂ y utilizando SiO₂ a dos concentraciones. Se muestra los resultados obtenidos en las tablas 9 - 12.

2.1 Nanopartículas poliméricas de etilcelulosa (EC)

En la tabla 9 se resumen los resultados obtenidos para el tamaño de partícula, potencial Zeta y rendimiento (%). Al comparar los tamaños de partícula obtenidos en ausencia de SiO₂ contra los obtenidos cuando se incorporó este, se puede observar que para la concentración más baja de EC (0.32%) la incorporación de SiO₂ al 1% prácticamente no tuvo efecto sobre el tamaño de partícula del pico principal (de 250.40 a 223.50 nm), sin embargo, al utilizar SiO₂ al 2% se observó un incremento en el tamaño promedio de partícula (de 250.40 a 363.83). En el caso de las muestras preparadas con EC al 0.42 % el tamaño de partícula obtenido prácticamente no se vio afectado por la presencia de SiO₂ al 1 y 2 % (de 341.80 a 303.70 y 301.43 nm respectivamente).

Por otro lado el SiO₂ no afectó el potencial Zeta de las nanopartículas de EC en ninguna de las concentraciones evaluadas.

El mayor rendimiento se obtuvo utilizando 0.32 % de EC en ausencia de SiO₂ (99.23%), se observó un ligero decremento en el rendimiento con la incorporación de SiO₂ al 1 y 2 % (94.60 y 93.20 %). Cuando se utilizó EC al 0.42 % no se observó diferencia importante con la incorporación de SiO₂, pues en ausencia de este el rendimiento fue de 57.85% mientras que con SiO₂ al 1 y 2% se obtuvieron rendimientos del 64.03 y 59.50 respectivamente.

Tabla 9. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de dispersiones de

Nombre	Potencial Zeta (mV)		Pico 1			Pico 2		
			%	Tamaño (nm)		%	Tamaño (nm)	
0.32% EC 1	-42.40	$\bar{X}=-42.70$	81.9	229.9	$\bar{X}=250.40$	18.1	39.9	$\bar{X}=35.67$
0.32% EC 2	-43.60		94.3	272.1		5.7	24.1	
0.32% EC 3	-42.10	CV=1.86%	79.2	249.2	CV=8.44%	20.8	43.0	CV=28.34%
0.32% EC 1% SiO ₂ 1	-43.00	$\bar{X}=-42.47$	88.6	215.8	$\bar{X}=223.50$	11.4	33.7	$\bar{X}=30.56$
0.32% EC 1% SiO ₂ 2	-42.20		87.0	226.0		13.0	34.7	
0.32% EC 1% SiO ₂ 3	-42.20	CV=1.09%	92.5	228.7	CV=3.04%	5.8	23.3	CV=20.70%
0.32% EC 2% SiO ₂ 1	-42.10	$\bar{X}=-41.93$	85.6	331.2	$\bar{X}=363.83$	14.4	22.8	$\bar{X}=45.92$
0.32% EC 2% SiO ₂ 2	-41.70		54.5	426.9		37.6	73.7	
0.32% EC 2% SiO ₂ 3	-42.00	CV=0.50%	68.2	333.4	CV=15.01%	31.8	41.2	CV=56.10%
0.46% EC 1	-33.50	$\bar{X}=-33.50$	82.7	295.5	$\bar{X}=341.80$	17.3	55.3	$\bar{X}=61.56$
0.46% EC 2	-33.60		90.2	312.4		9.8	40.1	
0.46% EC 3	-33.40	CV=0.30%	67.1	417.5	CV=19.34%	31.3	89.3	CV=40.89%
0.46% EC 1% SiO ₂ 1	-33.20	$\bar{X}=-33.27$	77.7	270.5	$\bar{X}=303.70$	22.3	41.4	$\bar{X}=45.41$
0.46% EC 1% SiO ₂ 2	-33.40		64.7	358.9		35.3	59.1	
0.46% EC 1% SiO ₂ 3	-33.20	CV=0.35%	77.1	281.7	CV=15.85%	21.2	35.8	CV=26.80%
0.46% EC 2% SiO ₂ 1	-33.20	$\bar{X}=-33.13$	73.6	254.2	$\bar{X}=301.43$	26.4	28.5	$\bar{X}=38.65$
0.46% EC 2% SiO ₂ 2	-33.10		51.2	356.1		43.7	50.7	
0.46% EC 2% SiO ₂ 3	-33.10	CV=0.17%	60.5	294.0	CV=17.04%	35.4	36.8	CV=29.11%

En resumen, los efectos producidos por la incorporación de SiO₂ solamente se presentaron al utilizar EC al 0.32 % y estos fueron negativos (incremento en el tamaño de partícula y ligera reducción en el rendimiento obtenido), puede entonces concluirse que en las condiciones evaluadas el SiO₂ no presentó las propiedades de un estabilizante que ayudara a incrementar la estabilidad y rendimiento de nanopartículas poliméricas de etilcelulosa.

2.2 Nanopartículas poliméricas de Poli- ϵ -caprolactona (PLC)

En la tabla 10 se muestran los resultados obtenidos en la preparación de dispersiones de PLC mediante la técnica de desplazamiento del disolvente tanto en agua como en dispersiones de SiO₂ al 1 y 2 %. No fue posible determinar el rendimiento de las muestras que contenían SiO₂ y 2.5 % de PLC, esto debido a que el proceso de filtración fue demasiado lento. Se optó entonces por filtrar sólo un pequeños volumen de muestra (alrededor de 10 mL) y a partir de este volumen de filtrado se realizaron las determinaciones de tamaño de partícula y potencial Zeta. En las muestras preparadas utilizando una concentración de 0.46 % de PLC si fue posible determinar el rendimiento, este se vio ligeramente incrementado por la presencia de SiO₂ al 1 y 2 % (de 86.15 a 94.33 y 96.15 % respectivamente).

El potencial Zeta se vio drásticamente disminuido por la presencia de SiO₂, en las muestras con 0.46 % de PLC el potencial Zeta promedio disminuyó de -31.40 a -12.97 y -11.80 mV para las muestras que contenían 1 y 2 % de SiO₂ respectivamente. En las muestras con un 2.5 % de PLC disminuyó de -27.33 a -10.97 y -9.80 mV en las muestras con 1 y 2 % de SiO₂ respectivamente.

En las preparaciones con 0.46 % de PLC el tamaño promedio de partícula del pico principal se incrementó en presencia de SiO₂ (de 226.20 a 564.63 y 588.80 con SiO₂ al 1 y 2 %), además si se observan en la tabla 11 las lecturas consecutivas de 0.46 % PLC 1 % SiO₂ y 0.46 % PLC 2 % SiO₂ puede apreciarse que en ambas muestras cada lectura corresponde a un mayor tamaño de partícula con respecto a la anterior, por ejemplo en la muestra con 0.46% PLC y 1 % SiO₂, las lecturas consecutivas corresponden a los tamaños; 365.40, 565.40 y 763.10 nm. Después

Tabla 10. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de dispersiones de

Nombre	Potencial Zeta (mV)		Pico 1			Pico 2		
			%	Tamaño (nm)		%	Tamaño (nm)	
0.46%PLC 1	-26.8	$\bar{X}=-31.40$	84.5	195.6	$\bar{X}=226.20$	15.5	33.9	$\bar{X}=25.0$
0.46%PLC 2	-28.1		100.0	228.2		0.0	0.0	
0.46%PLC 3	-27.1	CV=2.49%	73.7	254.8	CV=13.11%	24.5	41.5	CV=87.92
0.46%PLC 1% SiO ₂ 1	-13.0	$\bar{X}=-12.97$	100.0	365.4	$\bar{X}=564.63$	0.0	0.0	$\bar{X}=15.0$
0.46%PLC 1% SiO ₂ 2	-12.7		100.0	565.4		0.0	0.0	
0.46%PLC 1% SiO ₂ 3	-13.2	CV=1.94%	93.0	763.1	CV=35.22%	7.0	47.0	CV=173.0
0.46%PLC 2% SiO ₂ 1	-12.0	$\bar{X}=-11.80$	93.6	332.7	$\bar{X}=588.80$	6.4	40.5	$\bar{X}=60.0$
0.46%PLC 2% SiO ₂ 2	-12.0		74.4	666.2		24.6	74.4	
0.46%PLC 2% SiO ₂ 3	-11.4	CV=2.94%	77.1	767.5	CV=38.64%	22.6	66.5	CV=29.38
2.5%PLC 1	-31.9	$\bar{X}=-27.33$	96.7	237.4	$\bar{X}=251.90$	0.0	0.0	$\bar{X}=0.0$
2.5%PLC 2	-30.6		98.3	249.2		0.0	0.0	
2.5%PLC 3	-31.7	CV=2.23%	100.0	269.1	CV=6.36%	0.0	0.0	CV=0.00
2.5%PLC 1% SiO ₂ 1	-10.5	$\bar{X}=-10.97$	98.4	251.3	$\bar{X}=247.43$	0.0	0.0	$\bar{X}=32.0$
2.5%PLC 1% SiO ₂ 2	-11.3		92.9	251.3		6.0	46.8	
2.5%PLC 1% SiO ₂ 3	-11.1	CV=3.80%	89.0	239.7	CV=2.71%	6.6	51.9	CV=86.94
2.5%PLC 2% SiO ₂ 1	-9.6	$\bar{X}=-9.80$	98.8	265.1	$\bar{X}=260.90$	1.2	20.0	$\bar{X}=34.0$
2.5%PLC 2% SiO ₂ 2	-10.1		93.0	274.6		4.4	40.2	
2.5%PLC 2% SiO ₂ 3	-9.7	CV=2.69%	87.9	243.0	CV=6.21%	7.9	43.0	CV=36.46

Tabla 11. Tamaño e IDP de partícula en lecturas consecutivas de dispersiones de PLC con SiO₂

Nombre	Primeras 3 lecturas				Segundas 3 lecturas		
	%	Tamaño (nm)		IDP	%	Tamaño (nm)	
0.46%PLC 1% SiO ₂ 1	100.0	365.4		0.275	100.0	354.6	
0.46%PLC 1% SiO ₂ 2	100.0	565.4	$\bar{X}=564.63$	0.174	100.0	580.1	$\bar{X}=5$
0.46%PLC 1% SiO ₂ 3	93.0	763.1	CV=35.22%	0.347	96.0	792.7	CV=3
0.46%PLC 2% SiO ₂ 1	93.6	332.7		0.393	96.3	325.4	
0.46%PLC 2% SiO ₂ 2	74.4	666.2	$\bar{X}=588.80$	0.676	80.5	670.0	$\bar{X}=5$
0.46%PLC 2% SiO ₂ 3	77.1	767.5	CV=38.64%	0.719	82.4	782.6	CV=4
2.5%PLC 1% SiO ₂ 1	98.4	251.3		0.364	98.5	260.4	
2.5%PLC 1% SiO ₂ 2	92.9	251.3	$\bar{X}=247.43$	0.271	98.9	266.7	$\bar{X}=2$
2.5%PLC 1% SiO ₂ 3	89.0	239.7	CV=2.71%	0.341	91.4	265.2	CV=
2.5%PLC 2% SiO ₂ 1	98.8	265.1		0.308	99.1	270.3	
2.5%PLC 2% SiO ₂ 2	93.0	274.6	$\bar{X}=260.90$	0.316	94.5	280.5	$\bar{X}=2$
2.5%PLC 2% SiO ₂ 3	87.9	243.0	CV=6.21%	0.374	86.4	237.7	CV=

de realizar las lecturas se agitó ligeramente la celda y nuevamente se leyó tres veces la muestra, observándose el mismo comportamiento (tabla 11). Esto pudiera explicarse por la formación de agregados fácilmente redispersables, ya que una leve agitación es suficiente para obtener nuevamente los tamaños de partícula de la primera lectura. Es bastante probable que en las muestras con SiO₂ y PLC esté ocurriendo agregación de partículas debido a su bajo potencial Zeta.

Después de las determinaciones de potencial Zeta y tamaño de partícula las muestras se conservaron en tubos de ensaye con tapón de baquelita, tres días después se observó en todas las muestras que contenían SiO₂ una separación en dos fases; un sobrenadante transparente y un sedimento laxo blanco, fácilmente resuspendible.

Las dispersiones de SiO₂ coloidal tienen un tiempo de precipitación muy prolongado debido a su pequeño tamaño de partícula y alto potencial Zeta. Al encontrarse en presencia de PLC ocurrió la separación descrita, la cual se puede correlacionar con la disminución en el potencial Zeta observado en estas muestras.

2.3 Nanopartículas poliméricas de PLGA

En la tabla 12 se muestran los resultados obtenidos en la preparación de dispersiones de PLGA mediante la técnica de desplazamiento de disolvente tanto en agua como en dispersiones de SiO₂ al 1 y 2 %. El rendimiento se incrementó ligeramente con la incorporación de SiO₂ tanto en las muestra con 0.32 como con 0.46 % de PLGA. Sin embargo, en todas las muestras que contenían SiO₂ se observó un incremento en el tamaño de partícula entre cada una de las tres lecturas consecutivas realizadas a la misma muestra (tal como ocurrió en el caso de PLC al 0.46 % con SiO₂). Por ejemplo para la muestra 0.32 % PLGA 2% SiO₂ los tamaños obtenidos en las tres lecturas consecutivas fueron 538.80, 743.20 y 842.50 nm y para la muestra 0.46 % PLGA 2 % SiO₂ fueron 540.70, 684.90, y 1276.00 nm. No se reportan los valores de potencial Zeta para las muestras con tamaños de partícula mayores a 1 µm debido a que el potencial Zeta es aplicable

únicamente a partículas coloidales. El incremento en los tamaños entre lecturas consecutivas puede deberse a procesos de agregación tal como ocurrió en el caso de las muestras con SiO₂ y PLC. Las muestras con SiO₂ y PLGA también presentaron separación (sobrenadante transparente y sedimento blanco, laxo, fácilmente resuspendible) después de 3 días de almacenamiento.

Tabla 12. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de dispersiones de

Nombre	Potencial Zeta (mV)		Pico 1			Pico 2		
			%	Tamaño (nm)		%	Tamaño (nm)	
0.32%PLGA 1	-22.70	$\bar{X}=-22.50$ CV=3.20%	97.6	198.3		2.4	25.9	
0.32%PLGA 2	-23.10		100.0	203.1	$\bar{X}=203.87$	0.0	0.0	$\bar{X}=8$
0.32%PLGA 3	-21.70		100.0	210.2	CV=2.94%	0.0	0.0	CV=173.2
0.32%PLGA 1% SiO ₂ 1	-----	-----	100.0	1123.0		0.0	0.0	
0.32%PLGA 1% SiO ₂ 2	-----		93.8	2003.0	$\bar{X}=1713.67$	6.2	263.7	$\bar{X}=8$
0.32%PLGA 1% SiO ₂ 3	-----		100.0	2015.0	CV=29.85%	0.0	0.0	CV=173.2
0.32%PLGA 2% SiO ₂ 1	-2.58	$\bar{X}=-2.34$ CV=10.71 %	83.5	538.8		16.5	135.4	
0.32%PLGA 2% SiO ₂ 2	-2.37		94.9	743.2	$\bar{X}=708.17$	5.1	66.8	$\bar{X}=115$
0.32%PLGA 2% SiO ₂ 3	-2.08		76.5	842.5	CV=21.87%	23.5	144.3	CV=36.7
0.46%PLGA 1	-33.00	$\bar{X}=-33.07$ CV=0.92%	87.5	220.2		12.5	39.1	
0.46%PLGA 2	-32.80		96.7	216.6	$\bar{X}=228.93$	0.0	0.0	$\bar{X}=2$
0.46%PLGA 3	-33.40		83.8	250.0	CV=8.01%	15.1	44.3	CV=87.1
0.46%PLGA 1% SiO ₂ 1	-----	-----	92.6	890.6		7.4	133.8	
0.46%PLGA 1% SiO ₂ 2	-----		100.0	1093.0	$\bar{X}=1248.53$	0.0	0.0	$\bar{X}=4$
0.46%PLGA 1% SiO ₂ 3	-----		81.5	1762.0	CV=36.53%	0.0	0.0	CV=173.2
0.46%PLGA 2% SiO ₂ 1	-----	-----	91.2	540.7		8.8	78.3	
0.46%PLGA 2% SiO ₂ 2	-----		100.0	684.9	$\bar{X}=833.87$	0.0	0.0	$\bar{X}=80$
0.46%PLGA 2% SiO ₂ 3	-----		88.3	1276.0	CV=46.73%	11.7	162.0	CV=101.1

3. SELECCIÓN DE FÁRMACOS PARA LA FORMACIÓN DE NANOCRISTALES

En la tabla 13 se muestra el disolvente y volumen utilizado para cada fármaco. En el caso de ketoconazol fue necesario usar como disolvente etanol a 60°C. Se descartaron aquellas preparaciones en las que antes o después de eliminar el disolvente mediante evaporación se observara algún agregado. Las únicas preparaciones en que no se observó ningún agregado fueron ketoconazol e ivermectina, por lo que se siguió trabajando solamente con estos dos fármacos.

Tabla 13. Búsqueda de fármacos para la formación de nanocristales

Nombre del fármaco	Cantidad de fármaco utilizada (g)	Disolvente	Volumen de disolvente utilizado (mL)
Ibuprofeno	0.62	Acetona	10
Naproxeno base	0.62	Acetona	10
Nifedipino	0.62	Acetona	10
Atorvastatina	0.62	Acetona	10
Ivermectina	0.62	Etanol	10
Ketoconazol	0.62	Etanol*	10
Propionato de testosterona	0.62	Etanol	10
Cipionato de testosterona	0.62	Etanol	10
Metiltestosterona	0.62	Etanol	10
Tiaprofenato	0.62	Etanol	10
Praziquantel	0.31	Etanol	10
Carbamacepina	0.31	Etanol	25

* Etanol a 60°C

4. CARACTERIZACIÓN DE NANOCRISTALES OBTENIDOS

A continuación se detallarán los resultados obtenidos en cada una de las pruebas de caracterización a que fueron sometidos los nanocristales obtenidos; resuspendibilidad, microscopía electrónica de barrido, calorimetría diferencial de barrido y velocidad de disolución.

4.1 Tamaño de partícula y potencial Zeta

En la tabla 14 se muestra los resultados obtenidos para las dispersiones de ketoconazol utilizando distintas concentraciones de SiO₂ y en la tabla 15 los obtenidos para ivermectina.

Como puede apreciarse en el caso del ketoconazol se obtuvieron cristales con tamaño nanométrico al utilizar 1 y 2 % de SiO₂, presentando un menor tamaño las muestras con 2 % de SiO₂, para el resto de muestras los tamaños obtenidos fueron mayores a un micrómetro. Se reporta el valor de potencial Zeta únicamente para las muestras con 1 y 2 % de SiO₂, pues esta determinación es aplicable únicamente a partículas coloidales. Es interesante observar que para todas las muestras sólo existe una población, lo cual es indicativo de que en todas las concentraciones evaluadas el SiO₂ se asoció completamente al fármaco, ya que no se observó la presencia de dos poblaciones (nanocristales y SiO₂ libre), sin embargo los valores de índice de polidispersidad fueron bastante altos (en todos los casos mayor a 0.1), por lo que la población es muy polidispersa. El valor de potencial Zeta para las preparaciones con 1 y 2 % de SiO₂ fue cercano a -30 mV.

En el caso de ivermectina se observaron 2 poblaciones en cada una de las muestras, siendo la población más abundante la correspondiente a un mayor tamaño de partícula. Se sugiere que esta corresponde a los nanocristales (fármaco asociado con SiO₂) y que la población menos abundante y con menores tamaños de partícula corresponde a partículas libres de SiO₂. Se obtuvieron tamaños de partícula nanométricos en las muestras con 3, 4, 5 y 6 % de SiO₂, sólo para estas se reporta potencial Zeta, siendo todos los valores muy inferiores a -30 mV.

Tabla 14. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de los cristales de ketoconazol obtenidos.

Nombre	Pico 1			IDP	Potencial Z (mV)	
	%	Tamaño (nm)				
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	501		0.814	-31.2	
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	502	$\bar{X}=509.07$	0.935	-32.2	$\bar{X}=-32.23$
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	523	CV=2.46%	0.857	-33.3	CV=3.26%
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	299		1.000	-28.8	
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	374	$\bar{X}=340.13$	1.000	-28.8	$\bar{X}=-29.57$
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	346	CV=11.07	1.000	-31.1	CV=4.49
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1287		0.267	NA	NA
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1277	$\bar{X}=1282.67$	0.600	NA	
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1284	CV=0.40%	0.529	NA	
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1608		0.151	NA	NA
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1644	$\bar{X}=1644.00$	0.324	NA	
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1680	CV=2.19%	0.564	NA	
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1613		0.110	NA	NA
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1748	$\bar{X}=1726.00$	0.301	NA	
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1817	CV=6.01%	0.143	NA	
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1777		0.545	NA	NA
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1922	$\bar{X}=1880.33$	0.018	NA	
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1942	CV=4.79%	0.214	NA	

Tabla 15. Tamaño de partícula, índice de polidispersidad (IDP) y potencial Zeta de los cristales de

Nombre	Pico 1			Pico 2			IDP
	%	Tamaño (nm)		%	Tamaño (nm)		
1% SiO ₂ 1% ivermectina 1	100	1423		0.0	0		0.3
1% SiO ₂ 1% ivermectina 2	100	1513	$\bar{X}=1473.27$	0.0	0	$\bar{X}=27.00$	0.3
1% SiO ₂ 1% ivermectina 3	73.1	1484	CV=3.11%	26.9	81	CV=173.21%	0.3
2% SiO ₂ 1% ivermectina 1	91.8	1189		8.2	83		0.3
2% SiO ₂ 1% ivermectina 2	81.6	1196	$\bar{X}=1182.00$	18.4	177	$\bar{X}=158.78$	0.5
2% SiO ₂ 1% ivermectina 3	74.3	1161	CV=1.57%	25.7	217	CV=43.07%	0.4
3% SiO ₂ 1% ivermectina 1	89	815		11.0	112		0.4
3% SiO ₂ 1% ivermectina 2	92.9	904	$\bar{X}=871.27$	7.1	88	$\bar{X}=112.54$	0.4
3% SiO ₂ 1% ivermectina 3	83.6	894	CV=5.61%	16.4	138	CV=22.35%	0.5
4% SiO ₂ 1% ivermectina 1	85.5	754		14.5	76		0.5
4% SiO ₂ 1% ivermectina 2	89.9	756	$\bar{X}=750.13$	10.1	67	$\bar{X}=85.53$	0.5
4% SiO ₂ 1% ivermectina 3	75.8	740	CV=1.17%	24.2	114	CV=28.82%	0.5
5% SiO ₂ 1% ivermectina 1	89.1	633		10.9	102		0.3
5% SiO ₂ 1% ivermectina 2	87.8	665	$\bar{X}=645.63$	10.9	84	$\bar{X}=98.07$	0.3
5% SiO ₂ 1% ivermectina 3	85.4	639	CV=2.63%	14.6	107	CV=11.89%	0.3
6% SiO ₂ 1% ivermectina 1	89.1	629		9.5	74		0.4
6% SiO ₂ 1% ivermectina 2	82.2	615	$\bar{X}=632.20$	16.5	111	$\bar{X}=90.55$	0.5
6% SiO ₂ 1% ivermectina 3	86.8	653	CV=3.11%	13.2	87	CV=20.55%	0.5

4.2 Resuspendibilidad

Se midió el tamaño de partícula y potencial Zeta a las muestras resuspendidas. Los resultados obtenidos con las muestras resuspendidas de ketoconazol se muestran en la tabla 16. No se reportan valores de potencial Zeta debido a que en todos los casos el tamaño obtenido fue mayor a una micra.

En la tabla 17 y en la figura 8 puede apreciarse un comparativo para cada una de las muestras con ketoconazol antes y después de liofilizar. Se observa un marcado incremento en el tamaño de partícula para las muestras resuspendidas que contienen 1 y 2 % de SiO₂. Los tamaños encontrados pueden corresponder a aglomerados que no fue posible separar mediante la metodología de resuspensión empleada.

Tabla 16. Tamaño e índice de polidispersidad (IDP) de Cristales de ketoconazol resuspendidos

Nombre	Pico 1			IDP
	%	Tamaño (nm)		
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1582		0.267
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1623	\bar{x} =1639.00	0.600
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1712	CV=4.05%	0.529
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1247		1.000
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1301	\bar{x} =1295.00	1.000
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1337	CV=3.50%	1.000
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1624		0.267
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1636	\bar{x} =1626.00	0.600
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1618	CV=0.56%	0.529
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1721		0.151
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1738	\bar{x} =1734.67	0.324
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1745	CV=0.71%	0.564
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1865		0.289
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1790	\bar{x} =1835.67	0.646
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1852	CV=2.18%	0.547
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	100	1809		0.545
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	100	1946	\bar{x} =1901.00	0.218
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	100	1948	CV=4.19%	0.344

Tabla 17. Comparativo de cristales de ketoconazol antes de liofilizar con cristales resuspendidos

Nombre	Tamaño (nm)			
	Antes de liofilizar		Resuspendido	
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	501		1582	
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	502	$\bar{x}=509.07$	1623	$\bar{x}=1639.00$
1% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	524	CV=2.46%	1712	CV=4.05%
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	300		1247	
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	374	$\bar{x}=340.13$	1301	$\bar{x}=1295.00$
2% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	346	CV=11.07	1337	CV=3.50%
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	1287		1624	
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	1277	$\bar{x}=1282.67$	1636	$\bar{x}=1626.00$
3% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	1284	CV=0.40%	1618	CV=0.56%
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	1608		1721	
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	1644	$\bar{x}=1644.00$	1738	$\bar{x}=1734.67$
4% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	1680	CV=2.19%	1745	CV=0.71%
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	1613		1865	
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	1748	$\bar{x}=1726.00$	1790	$\bar{x}=1835.67$
5% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	1817	CV=6.01%	1852	CV=2.18%
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 1	1777		1809	
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 2	1922	$\bar{x}=1880.33$	1946	$\bar{x}=1901.00$
6% SiO ₂ 1% ketoconazol 3	1942	CV=4.79%	1948	CV=4.19%

El tamaño de partícula y el potencial Zeta de las muestras resuspendidas de ivermectina se muestran en la tabla 18.

En la tabla 19 y en la figura 9 puede apreciarse un comparativo para cada una de las muestras antes y después de liofilizar. En el caso de ivermectina no hubo una diferencia significativa en los tamaños de partícula obtenidos en las muestras recién preparadas con respecto a después de resuspendidas.

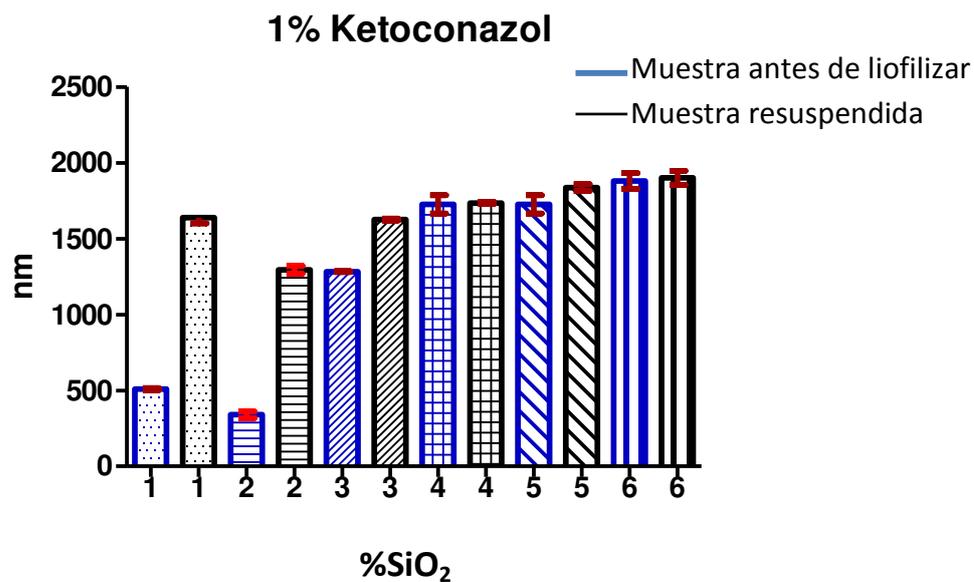


Figura 8. Comparativo del tamaño de cristales de ketoconazol: Antes de liofilizar y cristales resuspendidos.

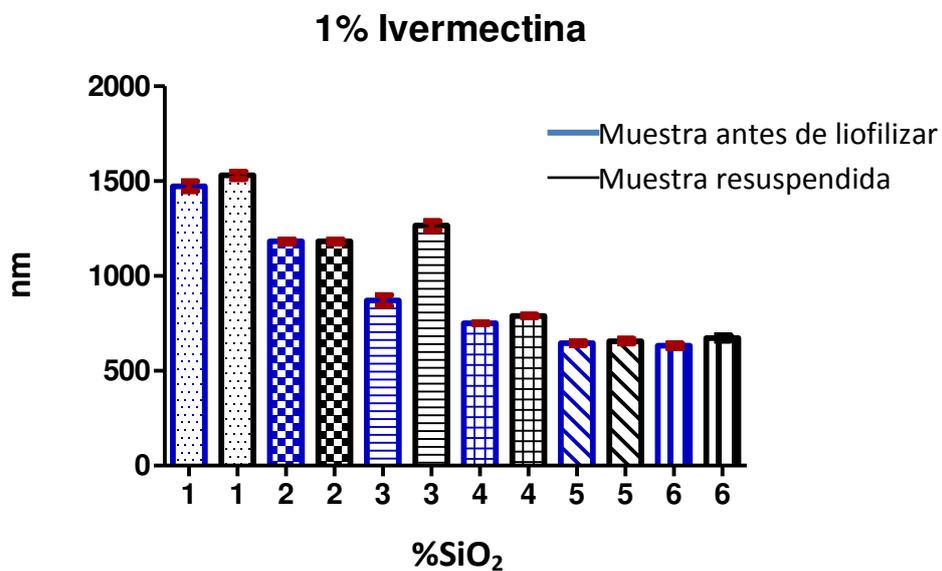


Figura 9. Comparativo del tamaño de cristales de ivermectina antes de liofilizar con cristales resuspendidos

Tabla 18. Tamaño e índice de polidispersidad (IDP) de cristales de ivermectina resuspendidos

Nombre	Pico 1			Pico 2			IDP
	%	Tamaño (nm)		%	Tamaño (nm)		
1% SiO ₂ 1% ivermectina 1	100.0	1502		0.0	0		0.811
1% SiO ₂ 1% ivermectina 2	80.2	1523	$\bar{X}=1530.67$	19.8	67	$\bar{X}=22.47$	0.842
1% SiO ₂ 1% ivermectina 3	100.0	1567	CV=2.17%	0.0	0	CV=173.21%	0.857
2% SiO ₂ 1% ivermectina 1	100.0	1189		0.0	0		0.477
2% SiO ₂ 1% ivermectina 2	90.5	1196	$\bar{X}=1182.00$	9.5	112	$\bar{X}=76.00$	0.494
2% SiO ₂ 1% ivermectina 3	80.7	1161	CV=1.57%	19.3	116	CV=86.64%	0.526
3% SiO ₂ 1% ivermectina 1	88.2	1224		11.8	95		0.329
3% SiO ₂ 1% ivermectina 2	90.0	1265	$\bar{X}=1265.00$	10.0	113	$\bar{X}=121.63$	0.365
3% SiO ₂ 1% ivermectina 3	85.3	1306	CV=3.24%	14.7	157	CV=26.17%	0.533
4% SiO ₂ 1% ivermectina 1	86.0	785		14.0	80		0.342
4% SiO ₂ 1% ivermectina 2	88.4	780	$\bar{X}=789.00$	11.6	75	$\bar{X}=79.77$	0.578
4% SiO ₂ 1% ivermectina 3	80.6	802	CV=1.46%	19.4	84	CV=5.67%	0.598
5% SiO ₂ 1% ivermectina 1	90.0	647		10.0	81		0.529
5% SiO ₂ 1% ivermectina 2	92.3	681	$\bar{X}=656.03$	7.7	103	$\bar{X}=100.67$	0.528
5% SiO ₂ 1% ivermectina 3	88.5	641	CV=3.26%	11.5	118	CV=18.72%	0.584
6% SiO ₂ 1% ivermectina 1	87.5	646		12.5	108		0.335
6% SiO ₂ 1% ivermectina 2	80.5	686	$\bar{X}=673.33$	19.5	113	$\bar{X}=106.13$	0.489
6% SiO ₂ 1% ivermectina 3	83.4	688	CV=3.52%	16.6	97	CV=7.76%	0.458

Tabla 19. Comparativo de cristales de ivermectina antes de liofilizar con cristales resuspendidos.

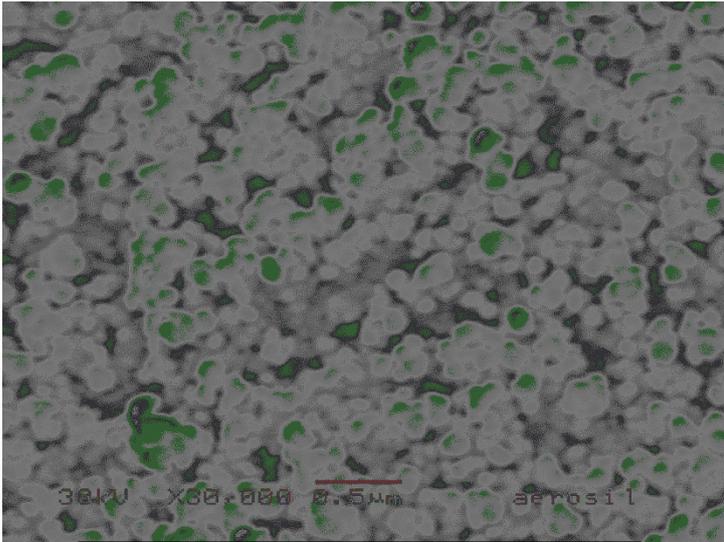
Nombre	Tamaño (nm)			
	Antes de liofilizar		Resuspendido	
1% SiO ₂ 1% ivermectina 1	1423		1502	
1% SiO ₂ 1% ivermectina 2	1512	$\bar{x}=1473.27$	1523	$\bar{x}=1530.67$
1% SiO ₂ 1% ivermectina 3	1484	CV=3.11%	1567	CV=2.17%
2% SiO ₂ 1% ivermectina 1	1189		1189	
2% SiO ₂ 1% ivermectina 2	1196	$\bar{x}=1182.00$	1196	$\bar{x}=1182.00$
2% SiO ₂ 1% ivermectina 3	1161	CV=1.57%	1161	CV=1.57%
3% SiO ₂ 1% ivermectina 1	815		1224	
3% SiO ₂ 1% ivermectina 2	905	$\bar{x}=871.27$	1265	$\bar{x}=1265.00$
3% SiO ₂ 1% ivermectina 3	894	CV=5.61%	1306	CV=3.24%
4% SiO ₂ 1% ivermectina 1	754		785	
4% SiO ₂ 1% ivermectina 2	756	$\bar{x}=750.13$	780	$\bar{x}=789.00$
4% SiO ₂ 1% ivermectina 3	740	CV=1.17%	802	CV=1.46%
5% SiO ₂ 1% ivermectina 1	633		646.7	
5% SiO ₂ 1% ivermectina 2	665	$\bar{x}=645.63$	680.5	$\bar{x}=656.03$
5% SiO ₂ 1% ivermectina 3	639	CV=2.63%	640.9	CV=3.26%
6% SiO ₂ 1% ivermectina 1	629		646	
6% SiO ₂ 1% ivermectina 2	615	$\bar{x}=632.20$	686	$\bar{x}=673.33$
6% SiO ₂ 1% ivermectina 3	653	CV=3.11%	688	CV=3.52%

4.3 Microscopía electrónica de barrido (MEB).

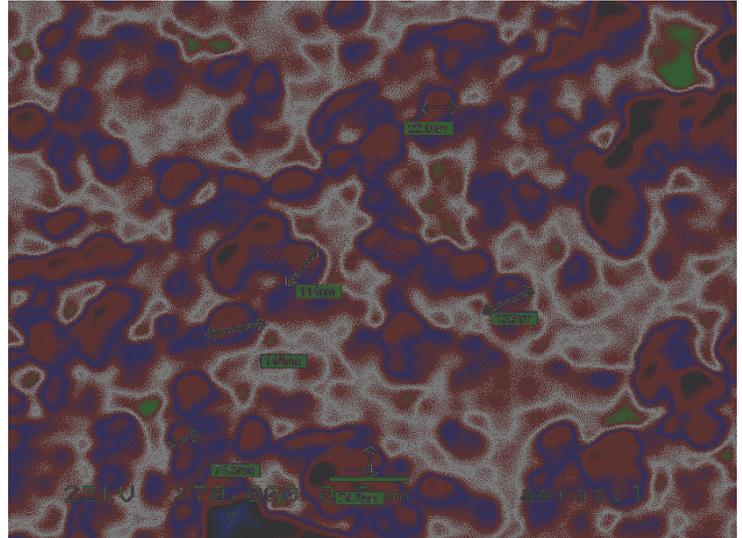
Se analizó mediante microscopía electrónica de barrido únicamente una muestra para cada uno de los fármacos, eligiéndose aquellas para las que se encontró un menor tamaño de partícula al emplear la técnica de dispersión de luz (2% SiO₂ 1% ketoconazol y 5% SiO₂ 1% ivermectina). Se muestra en la figura 10 las fotografías obtenidas tanto para los nanocristales como para el Aerosil[®] y los fármacos en su estado original. En 10A y 10B puede apreciarse la estructura del SiO₂, correspondiendo los tamaños (70 a 130 nm) con los tamaños más pequeños obtenidos en la medición realizada mediante dispersión de luz (Malvern Z sizer[®]), con lo que podemos confirmar que las partículas de mayor tamaño detectadas mediante dispersión de luz corresponden a agregados de SiO₂.

En 10C y 10D se observan los cristales de ketoconazol, siendo estos de gran tamaño (aproximadamente desde 3 hasta más de 30 μm) y presentando un hábito cristalino prismático.

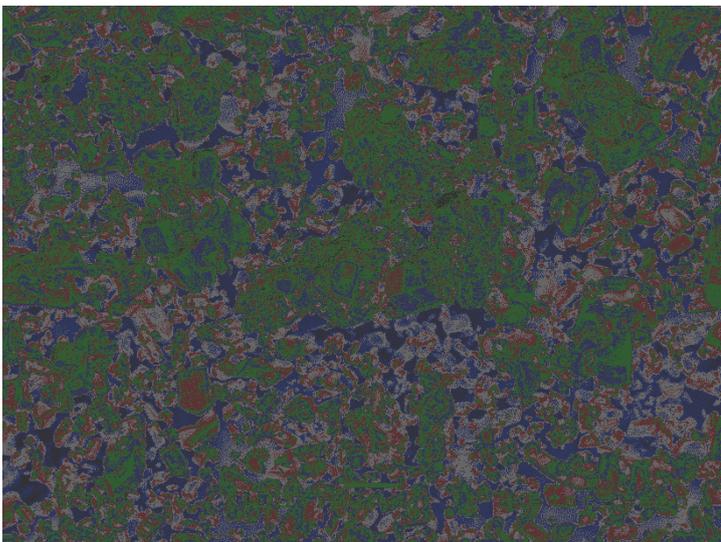
En 10E y 10F se pueden apreciar los cristales de ivermectina, los cuales presentan tamaños de alrededor de 1 μm y un interesante hábito cristalino esferoidal.



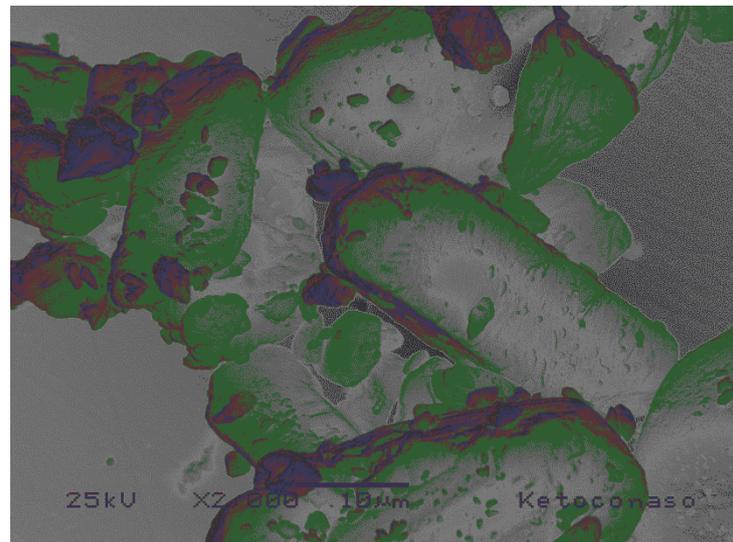
A Aerosil® 30,000X



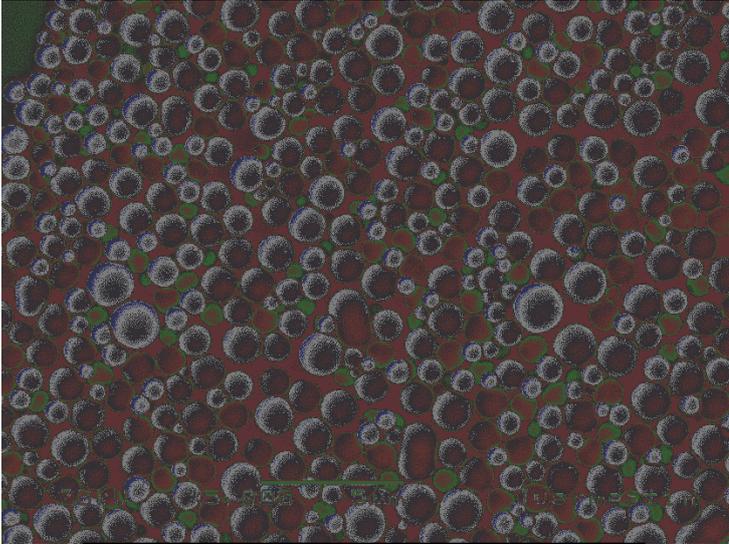
B Aerosil® 70,000X



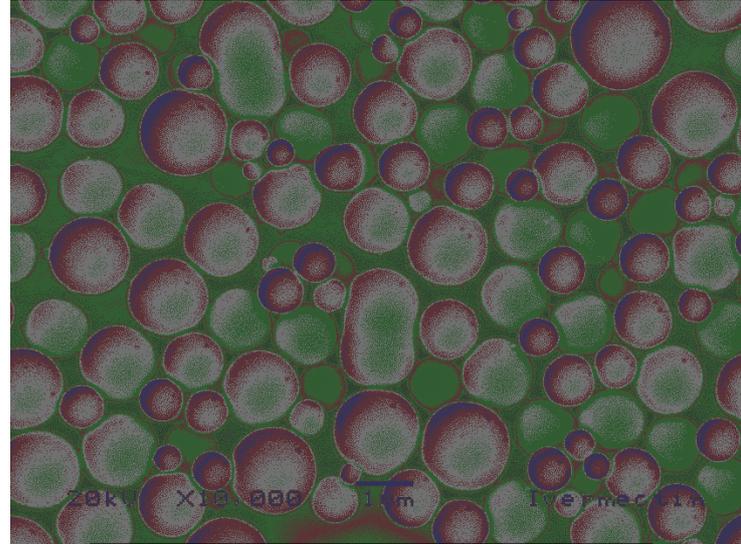
C Ketoconazol 100X



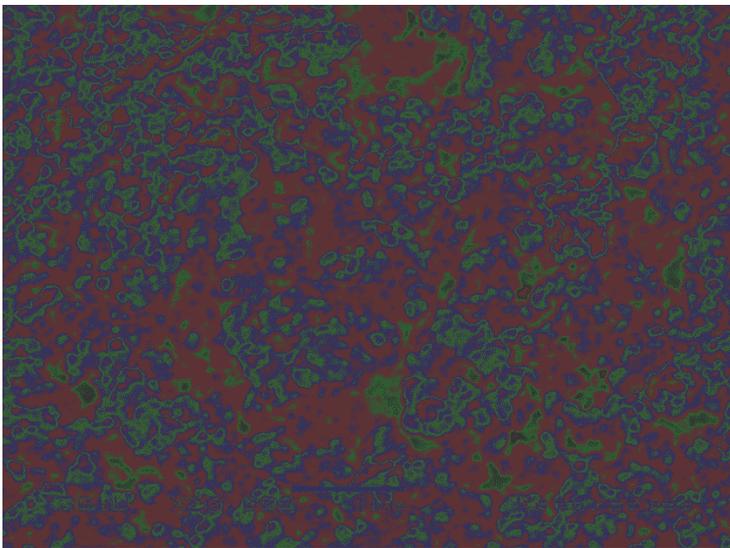
D Ketoconazol 2,000X



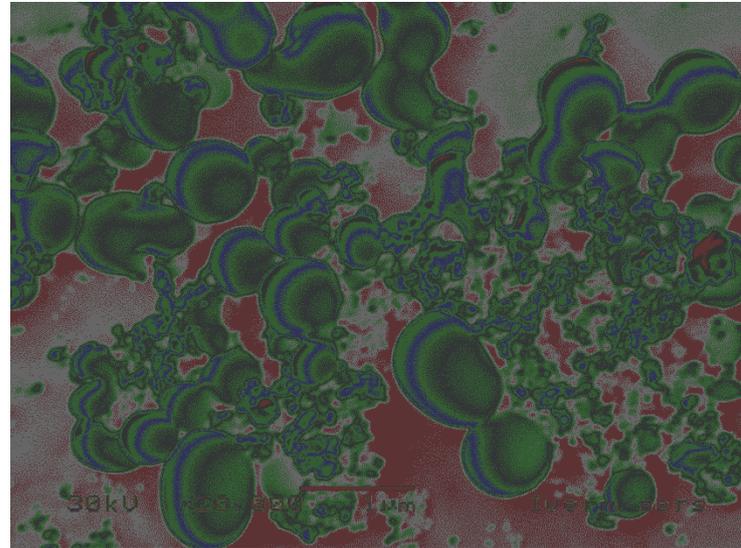
E Ivermectina 5,000X



F Ivermectina 10,000X



G 2% SiO₂ 1% Ketoconazol 20,000X



H 5% SiO₂ 1% Ivermectina 20,000X

La figura 10G corresponde a los nanocristales obtenidos a partir de la dispersión con 2% de SiO₂ y 1% de ketoconazol. Las estructuras observadas fueron tan pequeñas que no fue posible distinguir los cristales de ketoconazol formados de las partículas de SiO₂. En la figura 10H se muestran los cristales obtenidos a partir de la dispersión con 5% de SiO₂ y 1% de ivermectina. A diferencia de lo ocurrido con ketoconazol, en el caso de ivermectina no se observó un decremento significativo en el tamaño de partícula obtenido. Debido a esto se continuó trabajando únicamente con los cristales de ketoconazol.

4.4 Calorimetría diferencial de barrido.

La figura 11 muestra los termogramas obtenidos para el ketoconazol, una mezcla física 2:1 de SiO₂ con ketoconazol y los nanocristales preparados a partir de la dispersión con 2 % SiO₂ y 1 % ketoconazol. Las tres muestras presentaron el mismo punto de fusión (148 – 149 °C), lo cual indica que en la formación de los nanocristales no ocurrió ningún cambio en la forma cristalina del fármaco.

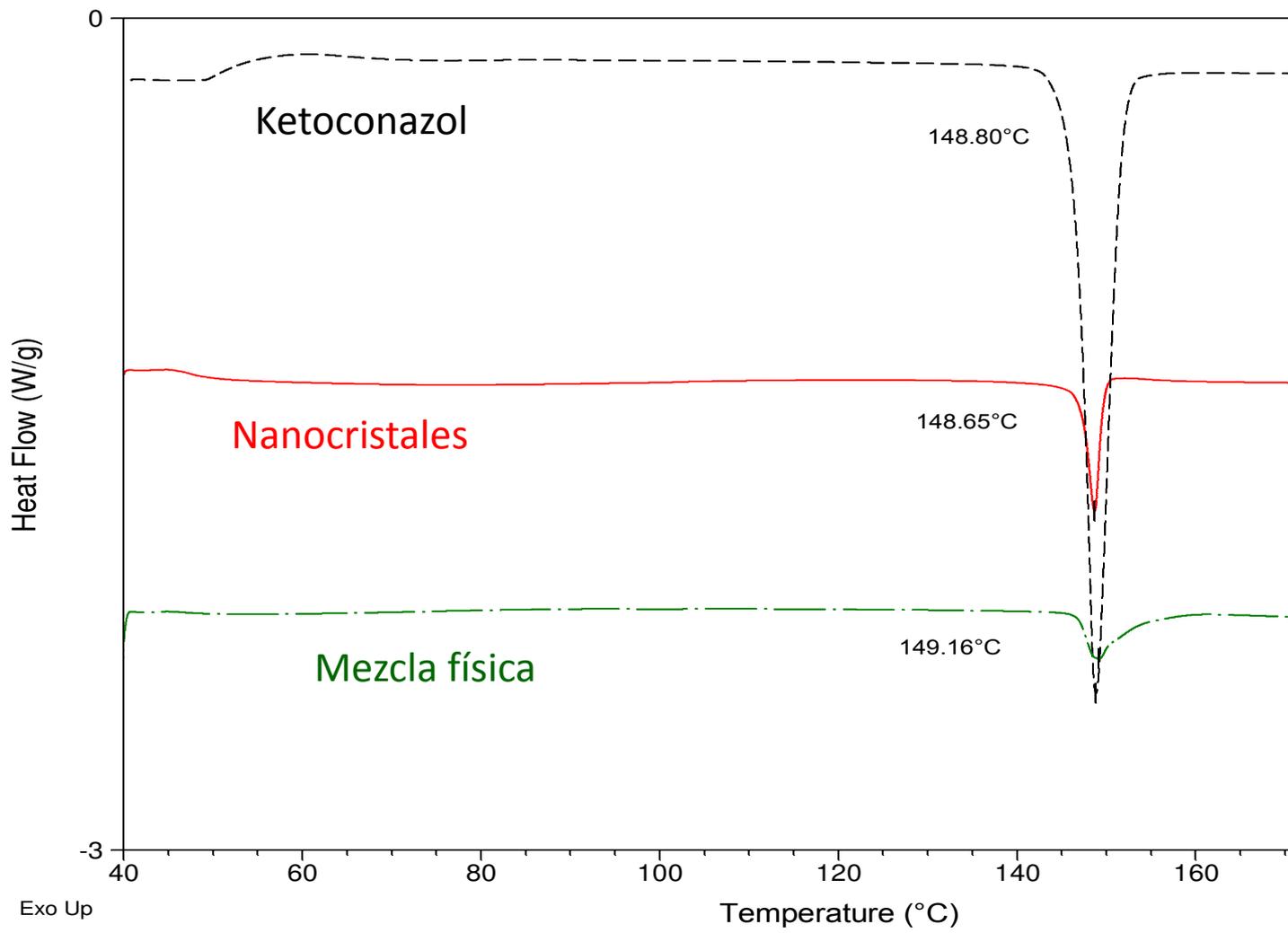


Figura 11. Termograma de ketoconazol, nanocristales y mezcla física (2:1 de SiO₂ con ketoconazol)

4.5 Velocidad de disolución.

Para monitorear la velocidad de disolución de los comprimidos elaborados por compresión directa se elaboró una curva de calibración por triplicado (37 - 370 μ g Ketoconazol/mL), obteniéndose un valor de r^2 de 0.9996 (anexo 4), dicha curva de calibración se utilizó para cuantificar el ketoconazol disuelto en cada uno de los tiempo de muestreo de las pruebas de disolución.

No se encontraron diferencias en la velocidad de disolución de los comprimidos elaborados con la mezcla física de ketoconazol y SiO₂ con respecto a los nanocristales obtenidos de la dispersión con 2 % SiO₂ y 1 % ketoconazol ni en las fórmulas de disolución rápida (1A y 1B) ni en las de disolución lenta (2A y 2B). En las figura 12 y 13 pueden apreciarse los perfiles de disolución.

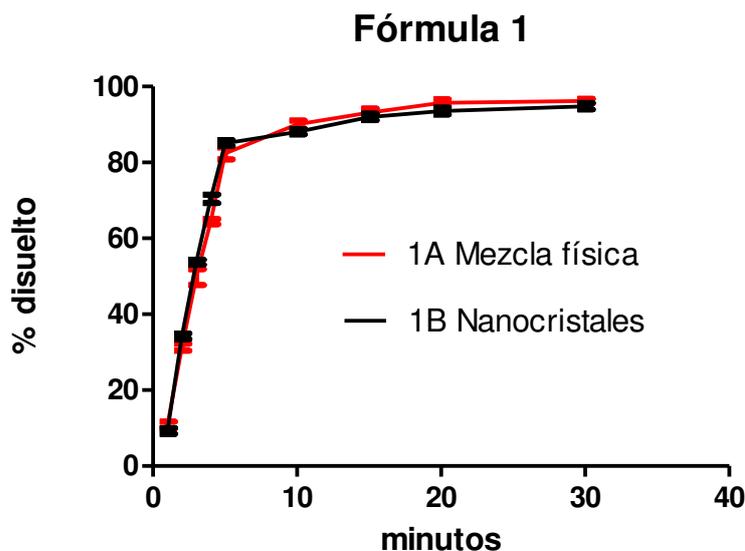


Figura 12. Perfil de disolución fórmula 1A y 1B

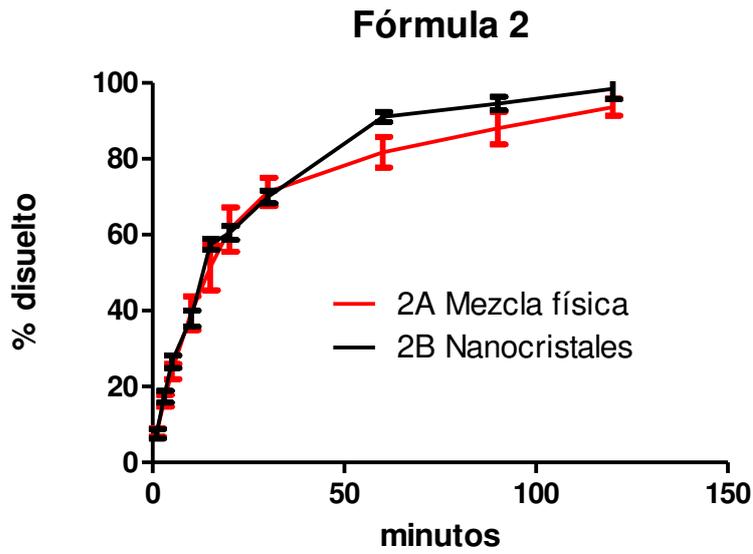


Figura 13. Perfil de disolución fórmula 2A y 2B

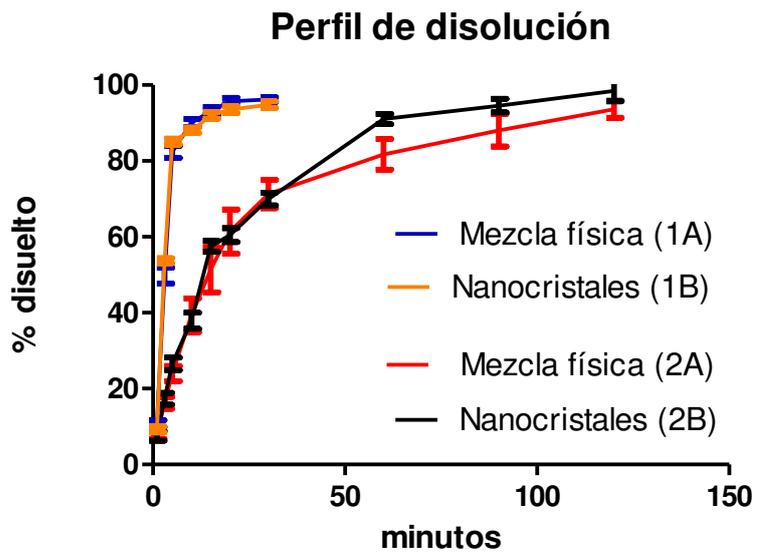


Figura 14. Perfil de disolución fórmulas 1A, 1B, 2A y 2B.

El retraso en la velocidad de disolución observado en las fórmulas 2A y 2B con respecto a las fórmulas 1A y 1B (figura 14) se debe a que las fórmulas 2 tardan más tiempo en desintegrarse. En ninguna de las preparaciones se observó diferencia en la velocidad de disolución cuando se utilizó la mezcla física ketoconazol-SiO₂ con respecto a cuándo se utilizaron los nanocristales. Por lo tanto, en el caso del ketoconazol, a pesar de que se formaron cristales de tamaño nanométrico, su talla no contribuyó a incrementar la velocidad de disolución del fármaco a partir de comprimidos preparados por compresión directa.

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

1. FLOCULACIÓN DEL SiO_2 POR PARTE DE POLÍMEROS.

En el presente trabajo se observó la floculación del SiO_2 por parte de dos polímeros (Poli- ϵ -caprolactona y ácido poli-láctico-co-glicólico). A continuación se describen algunas investigaciones que pueden ayudar a comprender este fenómeno.

Se ha reportado que el SiO_2 puede ser floculado por diversos polímeros hidrosolubles como poliacrilamida (45, 46), polivinil caprolactama (47), polietilenglicoles (48) y alcohol polivinílico (49).

En la mayoría de los casos la floculación se da mediante la formación de puentes de hidrógeno entre los polímeros y los grupos silanol de la superficie de las partículas de SiO_2 , sin embargo se ha sugerido también la existencia de interacciones hidrofóbicas (49).

Griot y Kitchener (45) observaron que el SiO_2 puede ser floculado por la poliacrilamida (PAM). Las amidas forman fuertes puentes de hidrógeno, por lo que se propuso que la floculación se da por la formación de puentes de hidrógeno entre grupos silanol presentes en el SiO_2 y las amidas de la PAM. Una vez floculada con PAM la sílica puede ser redispersada adicionando sustancias formadores de puentes de hidrógeno (por ejemplo quinolina, piridina, dimetilamida, y dietilamida). Los grupos silanol se encuentran disociados a valores altos de pH, por lo que no son capaces de formar puentes de hidrógeno con las amidas; a valores altos de pH no ocurrió floculación. Cuando la sílica se dispersa en agua se forman puentes de hidrógeno entre los grupos silanol y moléculas de agua. Después de dejar “envejecer” durante algún tiempo las dispersiones de SiO_2 prácticamente todos los grupos silanol accesibles forman puentes de hidrógeno con el agua dificultado así la formación de dichos puentes con otras moléculas como la poliacrilamida. Dispersiones de SiO_2 “envejecidas” durante al menos 24 horas no floculan al adicionarles PAM. Todos los datos expuestos refuerzan la

afirmación de que la floculación de la sílica con PAM se da por la formación de puentes de hidrógeno entre las amidas y los grupos silanol (45) (46).

En otro trabajo se encontró que la polivinil caprolactama también es capaz de flocular dispersiones de sílica, pero siempre y cuando se encuentre por arriba de su LCT (por sus siglas en inglés; lower critical temperature, temperatura por encima de la cual una solución homogénea se convierte en un sistema de dos fases) y el pH sea igual o menor a 4. A valores de pH mayores ocurre adsorción pero no floculación debido a que la formación de puentes de hidrógeno que permiten la floculación no se da cuando los grupos silanol se encuentran ionizados (47).

Rubio y Kitchener (48) evaluaron la floculación de dispersiones de dióxido de silicio con óxido de polietileno (OPE). Las cadenas de OPE están presentes en múltiples tensoactivos no iónicos, siendo los grupos éter los responsables de la solubilidad del tensoactivo formando puentes de hidrógeno con el agua. Se ha reportado la formación de puentes de hidrógeno entre grupos silanol presentes y grupos éter $\text{SiOH} - - - \text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$ (50) . Sin embargo, la formación de dichos puentes de hidrógeno se ve reducida por competición con moléculas de agua. En su estudio Rubio y Kitchener evaluaron la absorción de OPE con peso molecular mayor a 5 millones de daltons en dispersiones de sílica obtenida mediante reacción en flama y de sílica obtenida a partir de precipitación. La sílica obtenida mediante precipitación se encuentra densamente cubierta con grupos silanol completamente hidratados, en cambio la obtenida mediante reacción en flama contiene tanto grupos silanol (no hidratados) como grupos siloxano. Mediante el calentamiento de la sílica precipitada se da tanto la deshidratación de grupos silanol como la conversión de algunos de estos a siloxanos, el grado en que esto ocurre depende de la temperatura empleada. Se encontró que la absorción de OPE es mayor en sílica obtenida a partir de reacción en flama que en sílica precipitada. Una posible explicación es que los grupos silanol no hidratados actúan como donadores de hidrógeno siendo buenos sitios de adsorción para el oxígeno de los grupos éter $-\text{SiOH} - - - \text{O}(\text{CH}_2\text{CH}_2)_2$. Rubio y Kitchener (48)

determinaron que los grupos siloxano presentes entre los grupos silanol permiten que los grupos etilo del OPE se coloquen entre dichos espacios. La pobre adsorción de OPE en sílica precipitada se ha explicado a partir de la poca accesibilidad hacía los grupos silanol al encontrarse ocupados por moléculas de agua, como ocurre con las dispersiones de SiO₂ “envejecidas”.

Finalmente, Tadros (49) evaluó la floculación de sílica con alcohol polivinílico (APV), encontrando al igual que en los estudios antes descritos, que la floculación no ocurre a valores altos de pH y que disminuye en dispersiones “envejecidas”. Se determinó además que en la adsorción del APV participan tanto los grupos silanol como grupos siloxano. Los autores proponen que ocurren uniones hidrófobas entre grupos siloxanos y la cadena carbonada del APV (49).

Con base en lo anteriormente mencionado, existen múltiples reportes de floculación de sílica mediante polímeros, donde los grupos silanol son los principales responsables participando en la formación de puentes de hidrógenos con las cadenas de polímero, sin embargo, los grupos siloxano también pueden participar mediante interacciones hidrófobas.

En el presente trabajo se evaluaron 3 polímeros, cuyas estructuras químicas se muestran en las figuras 14, 15 y 16.

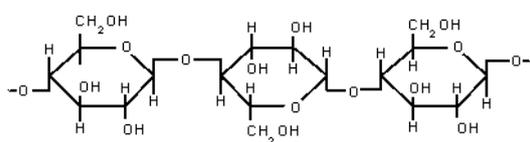


Fig 15. Estructura química de Etilcelulosa

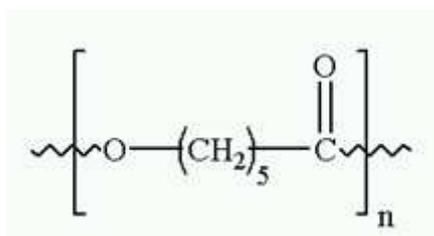


Fig 16. Estructura química de Poli-ε-caprolactona (PLC)

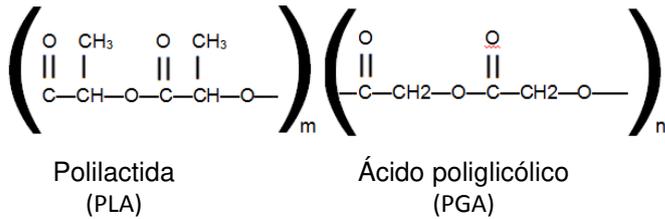


Fig 17. Estructura química de ácido poli-láctico-co-glicólico (PLGA)

De los tres polímeros evaluados, ocurrió floculación con dos de ellos, PLC y PLGA, ambas moléculas tienen en común el presentar un oxígeno carbonílico (el cual no está presente en etilcelulosa). La floculación observada puede deberse a la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos silanol presentes en el SiO_2 coloidal y el oxígeno carbonílico presente en PLC y PLGA. Como se vio anteriormente, los reportes existentes sobre floculación de SiO_2 por parte de polímeros se refieren a polímeros hidrosolubles, resultando por lo tanto novedoso la floculación observada en este trabajo con polímeros no hidrosolubles.

2. Posible mecanismo de estabilización mediante SiO_2 de los nanocristales obtenidos.

En el presente trabajo se obtuvieron nanocristales de dos fármacos (ketoconazol e ivermectina, sus estructuras químicas se muestran en la figura 17 y 18 respectivamente) mediante la técnica de desplazamiento de disolvente, estabilizándolos con un sólido finamente dividido (SiO_2 coloidal). En un trabajo previo se logró también estabilizar nanocristales de ciclosporina (51). Además de estos dos trabajos no existen referencias previas de nanocristales obtenidos mediante la técnica de desplazamiento de disolvente que hayan sido estabilizados mediante sólidos (generalmente se utiliza algún tensoactivo o polímero hidrofílico), por lo que la estabilización aquí reportada resulta de gran novedad. Para elucidar alguna teoría sobre el mecanismo por el cual puede darse la estabilización observada es necesario revisar algunos conceptos.

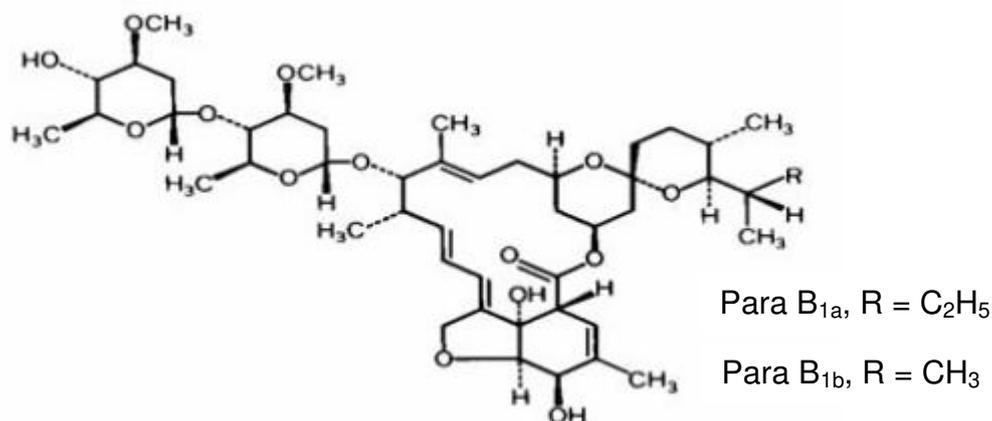


Fig 18. La ivermectina es un agente antiparasitario derivado de las avermectinas. Consiste en una mezcla de alrededor de 90% de B1a y 10% de B1b, siendo sus respectivas fórmulas empíricas C₄₈H₇₄O₁₄ y C₄₇H₇₂O₁₄ con pesos moleculares de 875.10 y 861.07 g/mol (66).

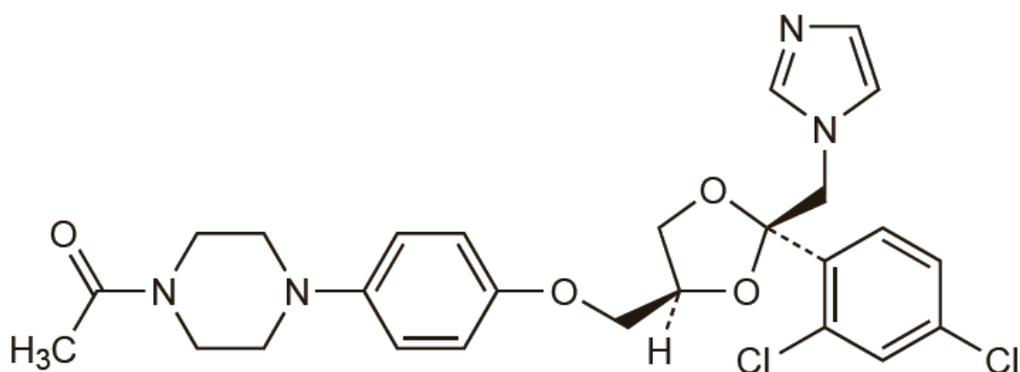


Fig 19. El ketoconazol es un agente antifúngico imidazólico que interfiere con la síntesis de ergosterol y por lo tanto altera la permeabilidad en las células fúngicas. (65), (67)

Como ya se mencionó en el apartado de antecedentes, en la técnica de desplazamiento de disolvente al incorporar la fase orgánica a la dispersión acuosa del estabilizante, la fase orgánica fluye rápidamente hacia el agua dejando “varadas” a las moléculas del polímero o fármaco que se encontraban disueltas en esta, por lo que dichas moléculas tienden a agregarse.

Para que se dé la formación de cristales es necesario que ocurra la formación de *clústers* a partir de unas cuantas moléculas y a partir de estos la nucleación y consecuente crecimiento del cristal. El cambio de energía libre (ΔG) que ocurre para la formación de cristales a partir de soluciones sobresaturadas es resultado de la suma del cambio de la energía libre en la formación de una nueva fase (ΔG_v) y el cambio de energía para la formación de una interfase (ΔG_s) (figura 19).

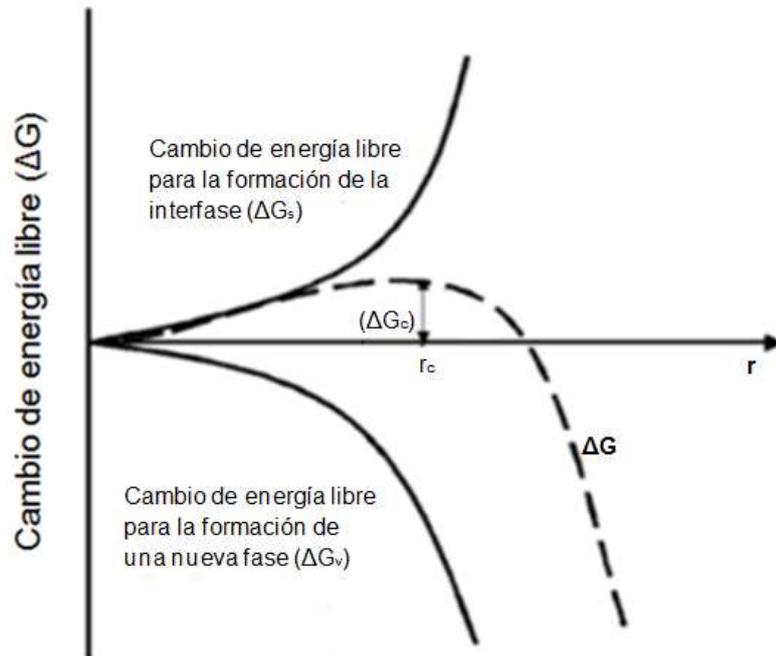


Fig 20. Cambio de energía libre de Gibbs durante la formación de *clústers*. El cambio de energía es resultado de la suma de dos cambios de energía de signo contrario (ΔG_s y ΔG_v), El tamaño del *clúster* se incrementa hasta alcanzar un radio crítico (r_c), por encima de este la energía libre de Gibbs disminuye continuamente y el crecimiento se vuelve energéticamente favorable.

El primer término describe la tendencia natural de las moléculas de soluto en una solución sobresaturada a agregarse entre sí, por lo que ΔG_v se vuelve negativo disminuyendo la energía libre de Gibbs del sistema. Por otro lado, la formación de una nueva interfase (sólido/líquido) aumenta la energía libre de Gibbs (ΔG_s) de

manera proporcional al área del *clúster*. Como resultado, la formación del *clúster* depende de la competencia entre ΔG_v que favorece su crecimiento y ΔG_s que favorece la disolución del *clúster*. ΔG_s es mayor cuando el *clúster* tiene un radio pequeño, por lo que el cambio de energía libre es positivo, entonces los *clústers* más pequeños se disuelven. El tamaño del *clúster* se incrementa hasta alcanzar un radio crítico (r_c), por encima de este la energía libre de Gibbs disminuye continuamente y el crecimiento se vuelve energéticamente favorable. (52)

La nucleación previa al surgimiento de los cristales puede dividirse en nucleación homogénea y heterogénea. La nucleación homogénea se da en soluciones sobresaturadas en ausencia de “partículas extrañas”, por lo que el depósito tiene la misma naturaleza química que el sustrato, es decir, las moléculas del soluto se depositan sobre otras moléculas de soluto. La nucleación heterogénea ocurre sobre partículas con composición química diferente al sustrato, esto disminuye el ΔG crítico de nucleación. La nucleación heterogénea se ve especialmente favorecida cuando las fuerzas de interacción entre las moléculas de soluto y las partículas son más fuertes que las fuerzas de solvatación (53).

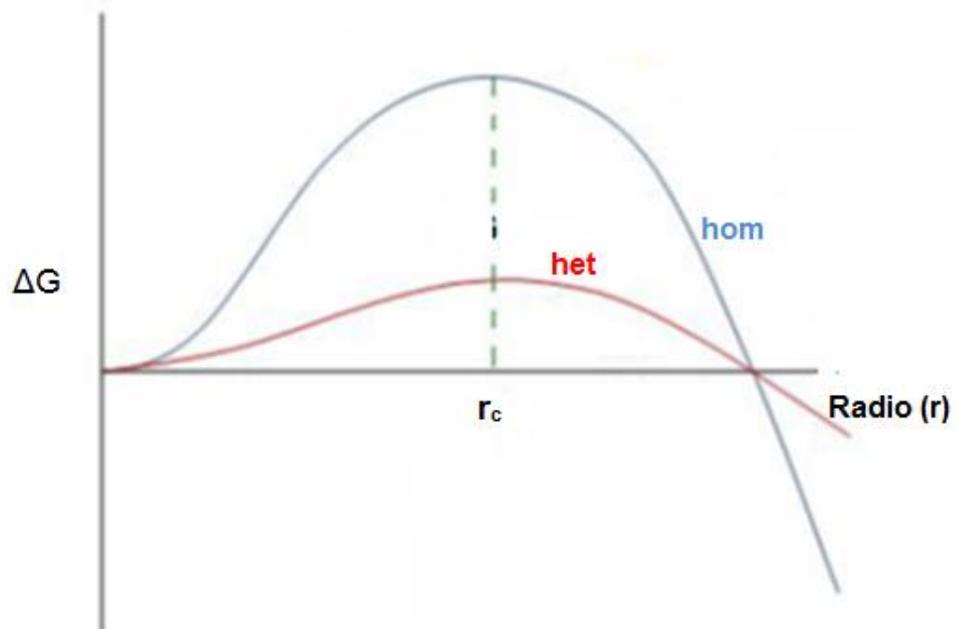


Fig 21. Comparativo de la barrera energética para la nucleación homogénea y heterogénea.

El incremento de energía libre de Gibbs necesario para la nucleación heterogénea es igual al producto del ΔG de la nucleación homogénea y de una función del ángulo de contacto.

$$\Delta G_{\text{homogéneo}} = \Delta G_{\text{heterogéneo}} * f(\theta)$$

Donde

$$f(\theta) = (2 - 3\cos \theta + \cos^3 \theta) / 4$$

Se sabe además que la velocidad de nucleación heterogénea es proporcional a la superficie volumétrica total (a_{extr}) de las partículas extrañas (54).

Como ya se describió, mediante la nucleación heterogénea se favorece la nucleación, si se favorece la nucleación es posible disminuir el tamaño de los cristales, pues las moléculas de fármaco son utilizadas para crear nuevos núcleos y no para aumentar el tamaño de cristales ya existentes, de hecho este principio ha sido utilizado en la preparación de nanocristales mediante la técnica de desplazamiento de disolvente con aplicación de ultrasonido debido a que este aporta al sistema energía necesaria para favorecer la nucleación. (55, 56)

La disminución en la barrera energética alcanzada mediante la nucleación heterogénea se ha utilizado para inducir la nucleación de diversas moléculas (principalmente proteínas) en soluciones no sobresaturadas, gracias a estos estudios se ha comprobado que la nucleación se ve favorecida principalmente en materiales porosos (57, 58).

Page y Sear (59) encontraron que la disminución en la barrera energética de la nucleación heterogénea depende de las propiedades de la superficie utilizada, particularmente de la geometría y tamaño de sus poros. Además únicamente los materiales con una amplia distribución de tamaños de poro son efectivos para inducir la nucleación, aparentemente, para cada sustancia existe un tamaño de poro óptimo al cual la velocidad de nucleación es máxima, por lo que un material con un amplio rango de tamaños de poro tiene altas probabilidades de poseer poros de tamaño cercano al óptimo para la nucleación de cada sustancia.

Chayen y colaboradores (57) utilizaron silicón poroso (con tamaños de poro de 5 a 10 nm) para inducir la nucleación y consecuente cristalización de proteínas a partir de soluciones no saturadas, logrando obtener cristales a partir de 5 de las 6 proteínas evaluadas. En cambio, en otros estudios en los que se utilizaron materiales con una distribución muy estrecha de tamaños de poro los resultados no fueron satisfactorios (57, 60, 61). Chayen y colaboradores (58) reforzaron la teoría de que materiales con amplio rango de tamaños de poros tienen alto potencial para inducir la nucleación de diferentes moléculas, pues obtuvieron excelentes resultados precipitando varias proteínas usando como superficie un gel-cristal ($\text{CaO-P}_2\text{O}_5\text{-SiO}_2$) con tamaños de poro de 2 a 10 nm.

En otro trabajo Pereira y Hench (62) investigaron los factores que favorecen la nucleación heterogénea de hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) en contacto con un gel poroso de sílice (SiO_2). Concluyeron que la carga negativa presente en la superficie del sílice, así como la presencia de poros en escala nanométrica son los principales factores que contribuyen a la formación de cristales de hidroxiapatita y que la velocidad de nucleación se incrementa entre mayor sea el tamaño de poro y el volumen total de los poros en el gel de sílice.

Con base en los trabajos anteriormente mencionados, podemos aventurar la teoría de que, la presencia de SiO_2 coloidal incrementó la velocidad de nucleación de los fármacos (ketoconazol e ivermectina), favoreciendo este proceso sobre el del crecimiento cristalino y por tanto beneficiando la formación de cristales en escala nanométrica. Sin embargo, el crecimiento cristalino puede darse en etapas posteriores a partir de cristales pequeños, por lo que esta explicación no es suficiente para entender la estabilización de nanocristales mediante SiO_2 .

Lee y colaboradores (63) obtuvieron cristales micrométricos de glicina mediante el uso de redes metálicas autoensamblables que forman cavidades cuadradas de área micrométrica. Mediante esta técnica las gotas de la solución de interés quedan confinadas en las "islas" metálicas, se induce entonces la evaporación del disolvente y la cristalización ocurre confinada dentro de cada isla. Un proceso similar puede estar dando en la formación de cristales de ketoconazol e

ivermectina mediante la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando SiO_2 coloidal como estabilizante. De manera que con el SiO_2 no sólo se favorece la nucleación sobre el crecimiento cristalino, sí no que además los cristales formados ven inhibido su crecimiento por un impedimento espacial ocasionado por una red formada entre partículas de SiO_2 adyacentes.

3. VELOCIDAD DE DISOLUCIÓN DE COMPRIMIDOS PREPARADOS POR COMPRESIÓN DIRECTA CON MEZCLA FÍSICA Y CON NANOCRISTALES.

En el presente trabajo no se obtuvo un incremento en la velocidad de disolución de comprimidos al utilizar nanocristales de ketoconazol. La prueba de disolución se realizó utilizando el medio de disolución especificado en la USP (HCl 0.1N), en el cual el ketoconazol muestra una rápida disolución. A pesar de que el ketoconazol presenta una baja solubilidad en agua, su solubilización en HCl 0.1 N es rápida, por lo tanto no se evidenció ningún incremento en la velocidad de disolución de los comprimidos en que se utilizaron los nanocristales obtenidos. En un trabajo previo en el cual se obtuvieron nanocristales de ciclosporina mediante la técnica de desplazamiento de disolvente estabilizados también con SiO_2 coloidal, sí se evidenció un aumento en la velocidad de disolución cuando se utilizaron nanocristales con respecto a aquellas en que sólo se utilizó una mezcla física. Podemos concluir entonces que mediante la obtención de nanocristales por la técnica de desplazamiento de disolvente estabilizados con SiO_2 , sí es posible incrementar la velocidad de disolución, sin embargo, no se observó este efecto con los cristales de ketoconazol debido a que el ketoconazol por sí mismo tiene una rápida disolución en el medio especificado para dicha prueba en la USP (HCl 0.1N).

X. CONCLUSIONES

- a) El dióxido de silicio coloidal (SiO_2) no fue efectivo como estabilizante de nanopartículas para los polímeros evaluados (etilcelulosa, poli- ϵ -caprolactona y ácido poli-lactico-co-glicólico). En el caso de etilcelulosa no se logró incrementar el rendimiento ni disminuir el tamaño de las nanopartículas mediante la incorporación de SiO_2 . En cuanto a poli- ϵ -caprolactona y ácido poli-lactico-co-glicólico estos polímeros floclaron en presencia de SiO_2 , posiblemente mediante la formación de puentes de hidrógeno entre los carbonos carbonílicos presentes en ambos polímeros y los grupos silanol presentes en el SiO_2 .
- b) Se logró formar nanocristales de ketoconazol e ivermectina mediante la técnica de desplazamiento de disolvente utilizando SiO_2 como estabilizante. La mayor disminución de tamaño con respecto a los cristales sin tratamiento se alcanzó con ketoconazol; los cristales originales presentaban tamaños mayores a $10\ \mu\text{m}$ y las estructuras obtenidas en este trabajo fueron de tamaño submicrónico.
- c) Los sistemas obtenidos fueron caracterizados mediante la determinación de su tamaño de partícula, índice de polidispersión, potencial Zeta, y microscopía electrónica de barrido (MEB).
- d) La obtención de nanocristales de ketoconazol no ayudó a incrementar la velocidad de disolución de comprimidos de compresión directa en la prueba de disolución de la USP debido a que el ketoconazol a pesar de ser poco soluble en agua, presenta una rápida disolución en el medio especificado para la prueba en la USP (HCl 0.1N).

XI. PERSPECTIVAS

- Realizar estudios para comprobar el mecanismo mediante el cual se da la floculación del SiO₂ por parte de PCL y PLGA (por ejemplo análisis de grupos funcionales mediante infrarrojo).
- Determinar si con el uso de polímeros con características químicas diferentes a los evaluados es posible obtener nanopartículas estabilizadas mediante SiO₂ o algún otro sólido submicrónico.
- Encontrar otros fármacos a partir de los cuales puedan obtenerse nanocristales estabilizados con SiO₂, así como determinar experimentalmente las variables que influyen en dicha estabilización.
- Evaluar otros estabilizantes sólidos de tamaño de partícula submicrónico y mezclas de SiO₂ con diferentes características (distintos grados de hidrofobicidad y SiO₂ porosos).
- Investigar si la estabilización mediante sólidos puede utilizarse en la formación de nanocristales mediante otras técnicas tales como emulsificación evaporación, *salting-out* y emulsificación difusión.

XII. REFERENCIAS

1. Mohanraj V, Chen Y. Nanoparticles – A Review. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2006 Junio; 5(1): p. 561-573.
2. Gupta A, Arora A, Menakshi A, Sehgal A, Sehgal R. Nanotechnology and Its Applications in Drug Delivery: A Review. *International Journal of Medicine and Molecular Medicine*. 2012; 3(1): p. 1-9.
3. Quintanar-Guerrero D, Fessi H, Allémann E, Doelker E. Influence of stabilizing agents and preparative variables on the formation of poly(d,l-lactic acid) nanoparticles by an emulsification-diffusion technique. *International Journal of Pharmaceutics*. 1996 Noviembre; 143(2): p. 133-141.
4. Piñón-Segundo E, Ganem-Quintanar A, Alonso-Pérez V, Quintanar-Guerrero D. Preparation and characterization of triclosan nanoparticles for periodontal treatment. *International Journal of Pharmaceutics*. 2005 Abril; 294(1-2): p. 217-232.
5. Urbán-Morlán Z, Ganem-Rondero A, Melgoza-Contreras LM, Escobar-Chávez JJ, Nava-Arzaluz , Guadalupe M. Preparation and characterization of solid lipid nanoparticles containing cyclosporine by the emulsification-diffusion method. *International Journal of Nanomedicine*. 2010 Agosto; 5: p. 611–620.
6. Tamayo-Esquivel D, Ganem-Quintanar A, Martínez AL, Navarrete-Rodríguez M, Rodríguez-Romo S, Quintanar-Guerrero D. Evaluation of the Enhanced Oral Effect of Omapatrilat-Monolein Nanoparticles Prepared by the Emulsification-Diffusion Method. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*. 2006 Septiembre/Octubre; 6(9-10): p. 3134-38.

7. Domínguez-Delgado CL, Rodríguez-Cruz IM, Escobar-Chávez JJ, Calderón-Lojero IO, Quintanar-Guerrero D, Adriana G. Preparation and characterization of triclosan nanoparticles intended to be used for the treatment of acne. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2011 Septiembre; 79(1): p. 102-107.
8. Pool H, Quintanar D, Mano CM, Bechara E, Godínez LA, Mendoza S. Antioxidant effects of quercetin and catechin encapsulated into PLGA nanoparticles. *Journal of Nanomaterials*. 2012 Enero; (86).
9. Bisht S, Feldmann G, Soni S, Ravi R, Karikar C, Maitra A. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin ("nanocurcumin"): a novel strategy for human cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology*. 2007 Abril; 5(3): p. 1-18.
10. Lee JH, Jung SW, Kim IS, Jeong YI, Kim YH, Kim SH. Polymeric nanoparticle composed of fatty acids and poly(ethylene glycol) as a drug carrier. *International Journal of Pharmaceutics*. 2003 Enero; 251(1-2): p. 23-32.
11. Moein Moghimi S. Recent Developments in Polymeric Nanoparticle Engineering and Their Applications in Experimental and Clinical Oncology. *Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry*. 2006 Noviembre; 6(6): p. 553-561.
12. Dawson M, Krauland E, Wirtz D, Hanes J. Transport of Polymeric Nanoparticle Gene Carriers in Gastric Mucus. *Biotechnology Progress*. 2004; 20(3): p. 851-857.
13. Chena MC, Sonajeb K, Chenb KJ, Sungb HW. A review of the prospects for polymeric nanoparticle platforms in oral insulin delivery. *Biomaterials*. 2011; 32(36): p. 9826-38.
14. Soppimath KS, Aminabhavi TM, Kulkarni AR, Rudzinski WE. Biodegradable polymeric nanoparticles as drug delivery devices. *Journal of Controlled Release*. 2001; 70: p. 1-20.

15. Quintanar-Guerrero D, Alléman E, Fessi H, Doelker E. Preparation Techniques and Mechanisms of Formation of Biodegradable Nanoparticles from Preformed Polymers. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 1998; 24(12): p. 1113-28.
16. Ruddy SB, Ryde N P, inventors; Solid dose nanoparticulate compositions. patent WIPO Patent No. 2002024163. 2002 March 29.
17. Sudhamani T, Aboobakkarsidhiq K, Kumar D, Ganesan V. Nanocrystallization: a novel solubility enhancement technology for poorly water soluble drugs. *International Journal of Universal Pharmacy and Bio Sciences*. 2013; 2(5): p. 539-556.
18. Kaptay G. On the size and shape dependence of the solubility of nano-particles in solutions. *International Journal of Pharmaceutics*. 2012; 430: p. 253–257.
19. Shegokar R, Müller RH. Nanocrystals: Industrially feasible multifunctional formulation technology for poorly soluble actives. *International Journal of Pharmaceutics*. 2010 Julio; 399: p. 129-139.
20. Visser SA, Hergenrother RW, Cooper SL. 2.3 Polymers. In Ratner BD, Hoffman AS, Schoen FJ, Lemons JE. *Biomaterials Science*. San Diego, California, USA: Academic Press; 1996. p. 50-60.
21. McMurry J. 31 Polímeros sintéticos. In J M. *Química Orgánica*. México D.F.: Thomson; 2004. p. 1160-1170.
22. Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. Ethylcellulose. In Rowe RC, Sheskey PJ, Quinn ME. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*, Sixth edition. Washington, USA: Pharmaceutical Press; 2009. p. 262-267.
23. Tu J, Shen Y, Mahalingam R, Jasti B, Li X. 5 Polymers in Oral Modified Release Systems. In Wen H, Park K. *Oral controlled release formulation design*

- and drug delivery Theory to Practice. USA: Wiley; 2010. p. 71-88.
24. Lewis D H. Controlled Release of Bioactive Agents from Lactide/Glycolide Polymers. In Chasin M LR. Biodegradable Polymers as Drug Delivery Systems. New York USA: MARCEL DEKKER INC; 1990. p. 1-42.
 25. Kiremitci-Gümüsderelioglu M, Deniz, G. Synthesis, Characterization and in Vitro Degradation of Poly(DL-Lactide)/Poly(DL-Lactide-co-Glycolide) Films. Turk J Chem. 1999;; p. 23:153-161.
 26. Anjan N, Hamidreza G. 1 Structure, properties and characterization of polymeric Biomaterials. In Mahato RI. Biomaterials for delivery and targeting of proteins and nucleid acids. USA: CRC Press; 2005. p. 1-37.
 27. Engelber I, Kohn J. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. Biomaterials. 1991; 12: p. 292-304.
 28. Martin A. 14 Interfacial phenomena. In Martin A, Pilar B. Physical Pharmacy, Fourth Edition. USA: Lippincott Williams and Wilkins ; 1993. p. 386-388.
 29. Zeta-Meter. Zeta-Meter, practical zeta potential instruments. [Online].; 1999 [consultado 2014 agosto 02]. <http://www.zeta-meter.com/5min.pdf>.
 30. Zetasizer Nano Series User manual. Malvern Instruments. 2004 febrero.
 31. Galindo-Rodriguez S, Alléman E, Fessi H, Doelker E. Physicochemical Parameters Associated with Nanoparticle Formation in the Salting-out, Emulsification-Diffusion, and Nanoprecipitation Methods. Pharmaceutical Research. 2004; 21(8): p. 1428-1439.
 32. Thioune O, Fessi H, Devissaguet JP, Puisieux F. Preparation of pseudolatex by nanoprecipitation: influence of the solvent nature on intrinsic viscosity and interaction constant. International Journal of Pharmaceutics. 1997; 146: p. 233

238.

33. Stainmesse S, Orecchioni M, Nakache E, Puisieux F, Fessi H. Formation and stabilization of a biodegradable polymeric colloidal suspension of nanoparticles. *Colloid and Polymer Science*. 1995; 273: p. 505-511.
34. Stainmesse S, Orecchioni M, Nakache E, Puisieux F, Fessi H. Formation and stabilization of a biodegradable polymeric colloidal suspension of nanoparticles. *Colloid and Polymer Science*. 1995; 273: p. 505-511.
35. Effendy I, Maibach H. Surfactants and experimental irritation contact dermatitis. *Contact dermatitis*. 1995; 33: p. 217-225.
36. Ujhelyi Z, Fenyvesi F, Váradi J, Fehér P, Kiss T, Veszelka S. Evaluation of cytotoxicity of surfactants used in self-micro emulsifying drug delivery systems and their effects on paracellular transport in Caco-2 cell monolayer. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2012; 47: p. 564-573.
37. Bergna H. 2 The Language of Colloid Science and Silica Chemistry. In Bergna H, Roberts W. *Colloidal silica: fundamentals and applications*. Washington DC: CRC Press; 1994. p. 5-8.
38. Chen S, Øye G, Sjöblom J. Effect of pH and Salt on Rheological Properties of Aerosil Suspensions. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 2007; 28: p. 845–853.
39. Gun'ko V,M, Mirnyuk I,F, Zarko V,I, Turov V,V. Fumed Silicas Possessing Different Morphology and Hydrophilicity. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2001; 242: p. 90–103.
40. Chevalier Y, Bolzinge MA. Emulsions stabilized with solid nanoparticles: Pickering emulsions. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*. 2013; 439: p. 23-34.

41. Evonik Degussa Corp. Technical literature TI 2242. 2006.
42. Jonat S, Hasenzahl S, Gray A, Schmidt P,C. Influence of Compacted Hydrophobic and Hydrophilic Colloidal Silicon Dioxide on Tableting Properties of Pharmaceutical Excipients. *Drug Development and Industrial Pharmacy*. 2005; 31: p. 687–696.
43. Evonik Degussa Corp. Technical literature TI 1281-1: Aerosil colloidal silicon dioxide for pharmaceuticals, 2006.
44. Frelichowska J, Bolzinger MA, Valour JP, Mouaziz H, Pelletier J, Chevalier Y. Pickering w/o emulsions: Drug release and topical delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. 2009; 368: p. 7–15.
45. Griot O, Kitchener JA. Role of Surface Silanol Groups in the Flocculation of Silica Suspensions by Polyacrylamide Part 1.-Chemistry of the Adsorption Process. *Transactions of the Faraday Society*. 1965: p. 61:1026-1031.
46. Griot O, Kitchener JA. Role of surface silanol groups in the flocculation of silica suspensions by polyacrylamide. Part 2.—Surface changes of silica suspensions on ageing. *Transactions of the Faraday Society*. 1965; p. 61:1032-1038.
47. Qui Q, Pethica BA, Somasundaran P. Reversible Flocculation of Silica Across the Phase Boundary of Poly(vinyl caprolactam) in Aqueous Solution. *Langmuir*. 2005: p. 21:12096-99.
48. Rubio J, Kitchener JA. The Mechanism of Adsorption of Poly(Ethylene Oxide) Flocculant on Silica. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1976: p. 57:132-142.
49. Tadros F. Adsorption of Polyvinyl Alcohol on Silica at Various pH Values and Its Effect on the Flocculation of the Dispersion. *Journal of Colloid and Interface*

- Science. 1978: p. 64:36-47.
50. Howard GJ, McConnell P. Adsorption of polymers at the solution-solid interface. I. Polyethers on silica. *Journal of Physical Chemistry*. 1967: p. 71:2974-2981.
 51. Durán M. Desarrollo de un proceso halo para obtener nanocristales de fármacos insolubles al agua usando Aerosil® 200 como estabilizante. Tesis de licenciatura. Cuatitlan Izcalli : UNAM, FES-Cuautitlán; 2014.
 52. Erdemir D, Lee AY, Myerson. Nucleation of Crystals from Solution: Classical and Two-Step Models. *Accounts of chemical research*. 2009 Mayo; 42(5): p. 621-629.
 53. Costa JM. *Diccionario de química física* Madrid: Ediciones Díaz de Santos. 2005.
 54. Mersmann A, Heyer C, EBLE A. Activated Nucleation. In Mersmann A. *Crystallization Technology Handbook*.: CRC Press; 2001. p. 45-79.
 55. Xiaa D, Quana P, Piaoa H. Preparation of stable nitrendipine nanosuspensions using the precipitation–ultrasonication method for enhancement of dissolution and oral bioavailability. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2010; 40: p. 325–334.
 56. Kocbek P, Baumgartner S, Kristl J. Preparation and evaluation of nanosuspensions for enhancing the dissolution of poorly soluble drugs. *International Journal of Pharmaceutics*. 2006: p. 179–186.
 57. Chayen NE, Saridakis E, El-Bahar R, Nemirovsky Y. Porous Silicon: an Effective Nucleation-inducing Material for Protein Crystallization. *J. Mol. Biol*. 2001; 312: p. 591–595.
 58. Chayen NE, Saridakis E, Sear RP. Experiment and theory for heterogeneous

- nucleation of protein crystals in a porous medium. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2006 Enero; 103(3): p. 597–601.
59. Page AJ, Sear RP. Heterogeneous Nucleation in and out of Pores. Physical review letters. 2006 Agosto; 97(6): p. 065701-4.
60. Davis ME, Montes C, Hathaway PE, Arhancet JP, Hasha DL, Garces JM. Physicochemical Properties of VPI-5. Journal of the American Chemical Society. 1989; 111: p. 3919-24.
61. Chayen NE, Saridakis E. Is lysozyme really the ideal model protein? Journal of Crystal Growth. 2001; 232: p. 262–264.
62. Pereira MM, L HL. Mechanisms of Hydroxyapatite Formation on Porous Gel-Silica Substrates. Journal of Sol-Gel Science and Technology. 1996; 7: p. 59-68.
63. Lee AY, Lee IS, Dette SS, Boerner J, Myerson AS. Crystallization on Confined Engineered Surfaces: A Method to Control Crystal Size and Generate Different Polymorphs. J. Am. Chem. Soc. 2005; 127: p. 14982-83.
64. Engelber I, Kohn J. Physico-mechanical properties of degradable polymers used in medical applications: a comparative study. Biomaterials. 1991: p. 292-304.
65. Taneri F, Güneri T, Aigner Z, Kata M. Improvement in the Physicochemical Properties of ketoconazole through Complexation with Cyclodextrin Derivatives. Journal of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chemistry. 2002; 44: p. 257–260.
66. Sweetman SC, editor. Ivermectin. In Martindale The Complete Drug Reference. Chicago : Pharmaceutical Press; 2009. p. 145.

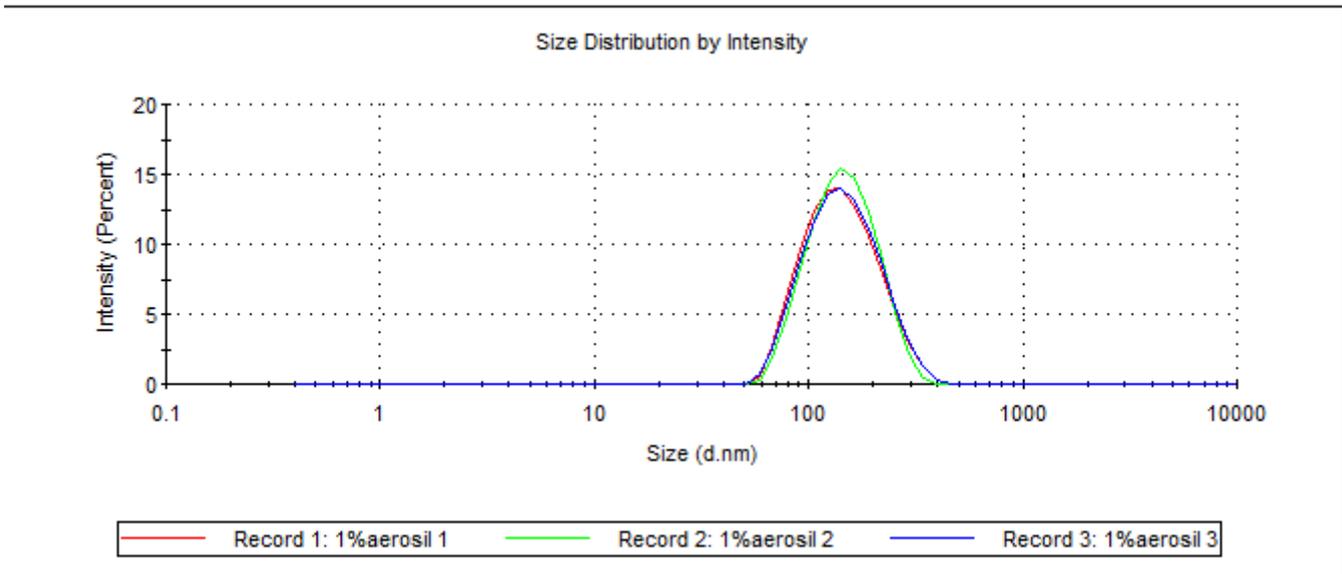
67. Sweetman SC, editor. Ketoconazole. In Martindale The Complete Drug Reference. Chicago: Pharmaceutical Press; 2009. p. 539.

XIII. ANEXOS

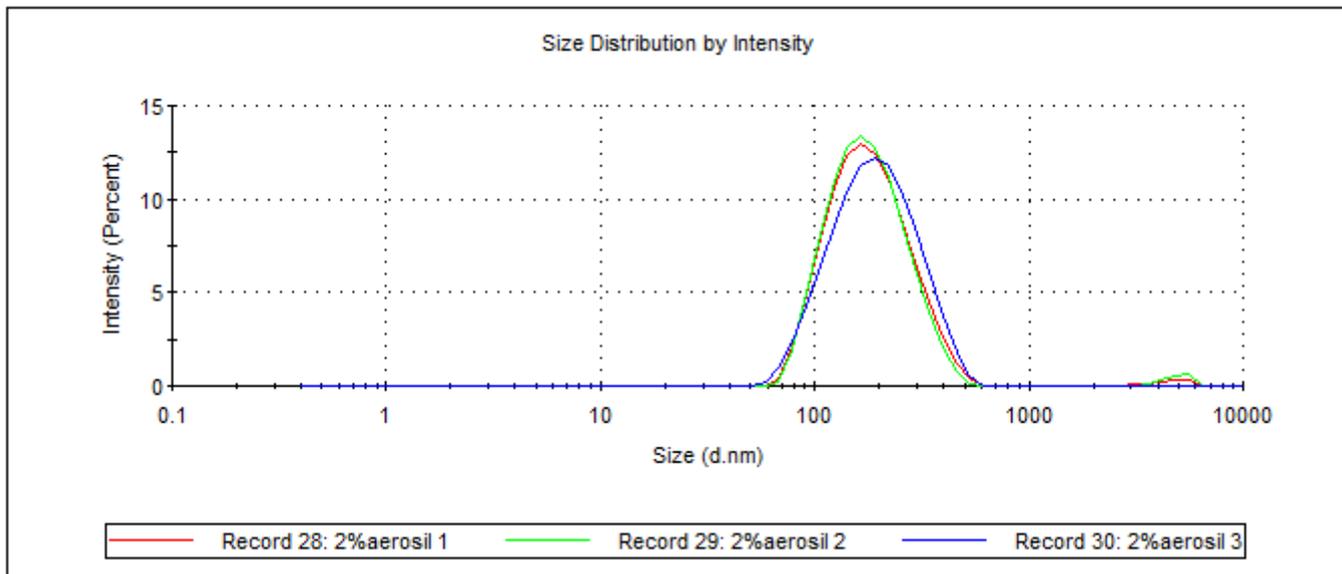
ANEXO 1

Distribución de tamaños de partícula de las dispersiones de dióxido de silicio

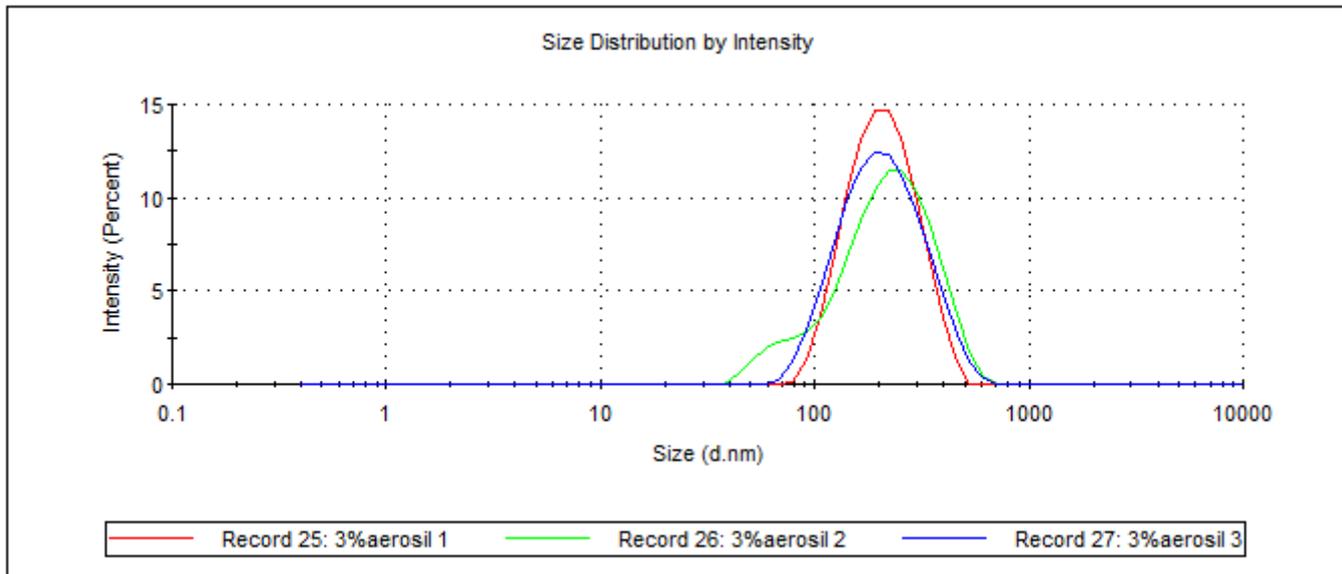
Dióxido de silicio 1%



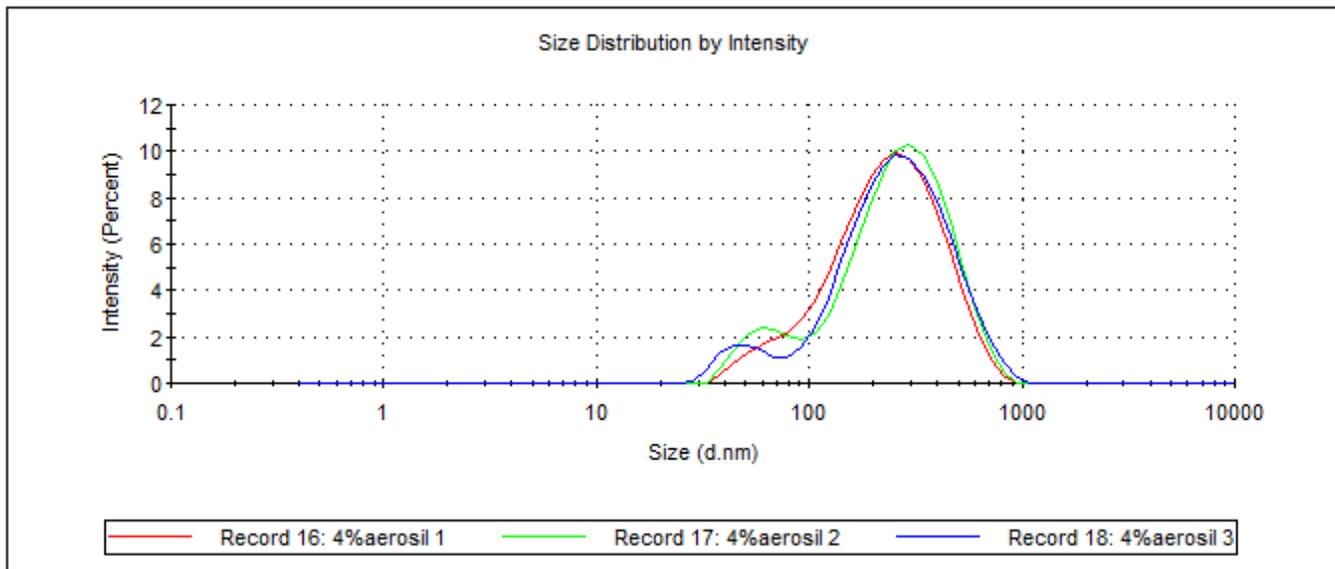
Dióxido de silicio 2%



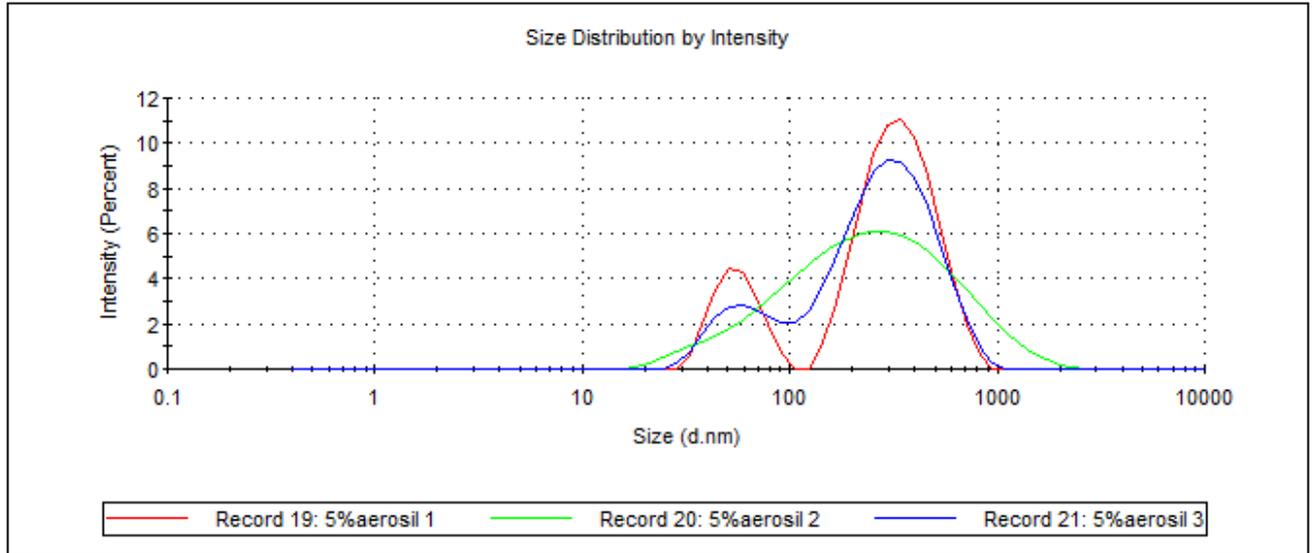
Dióxido de silicio 3%



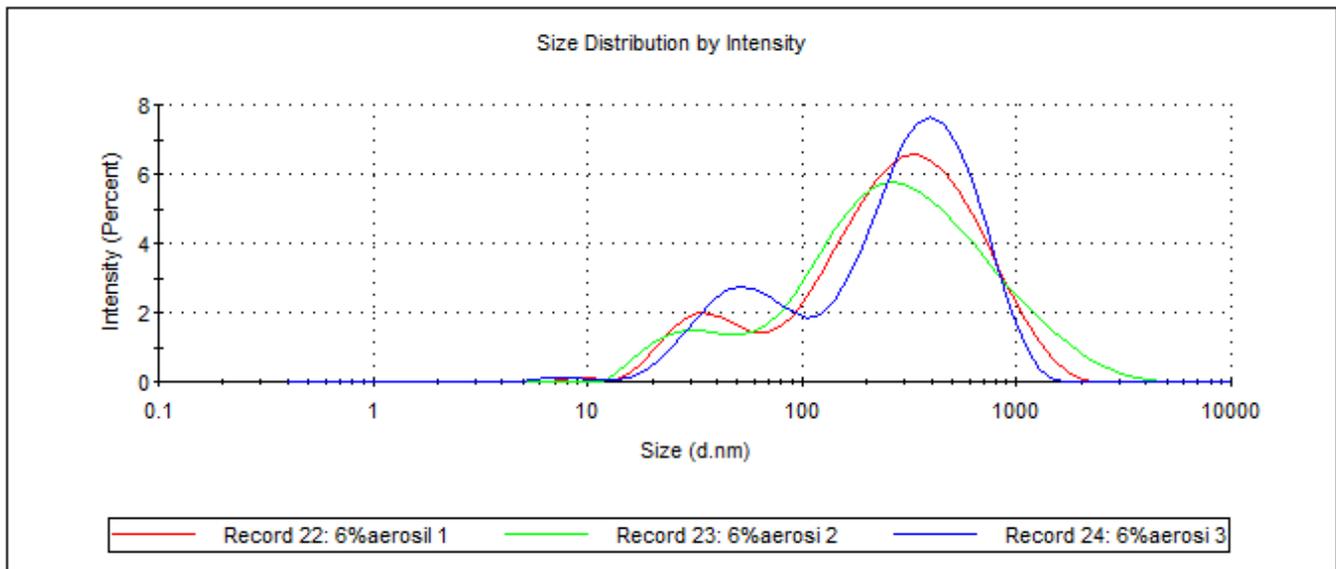
Dióxido de silicio 4%



Dióxido de silicio 5%



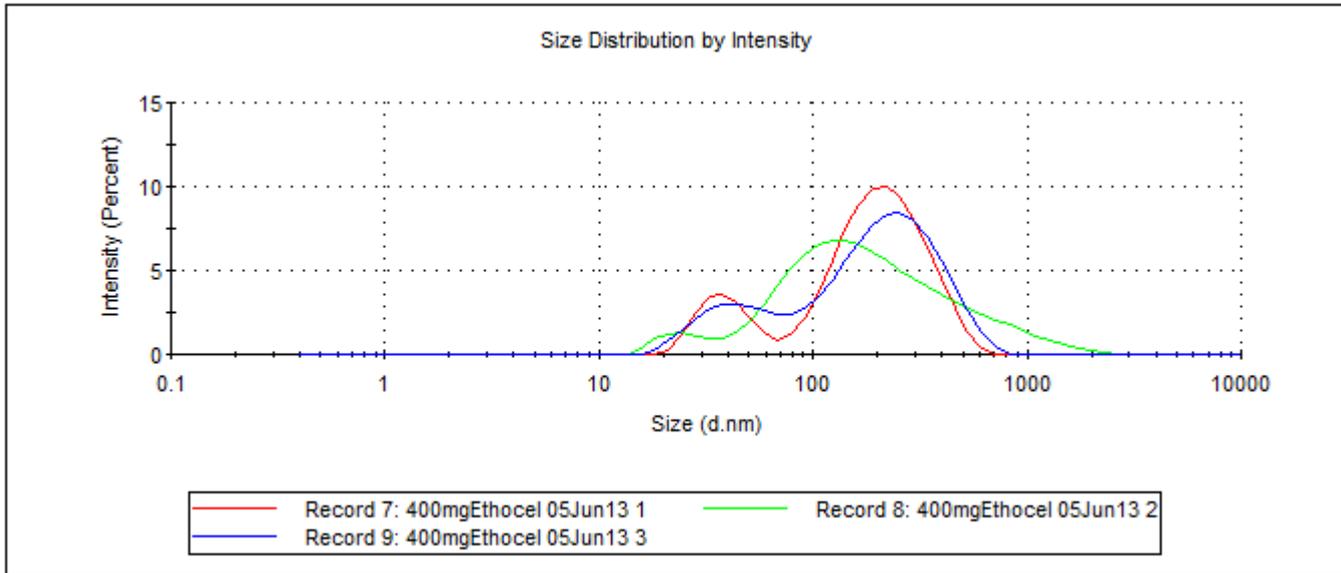
Dióxido de silicio 6%



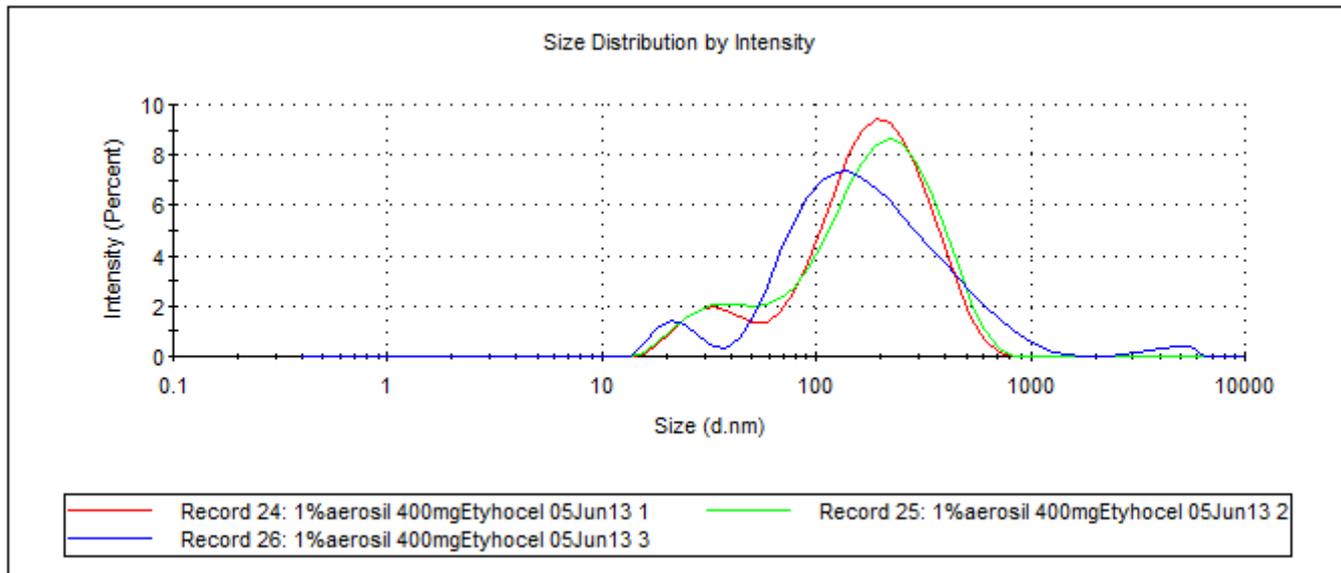
ANEXO 2

Distribución de tamaños de partícula de nanopartículas de EtilCelulosa (EC)

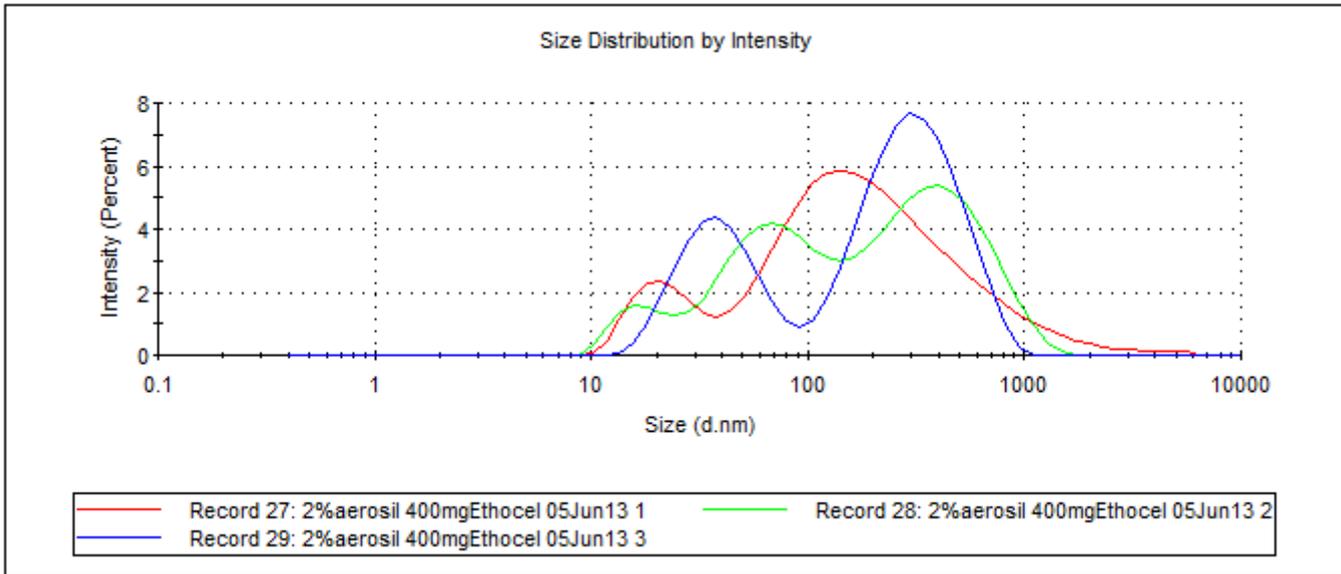
0.32% EC



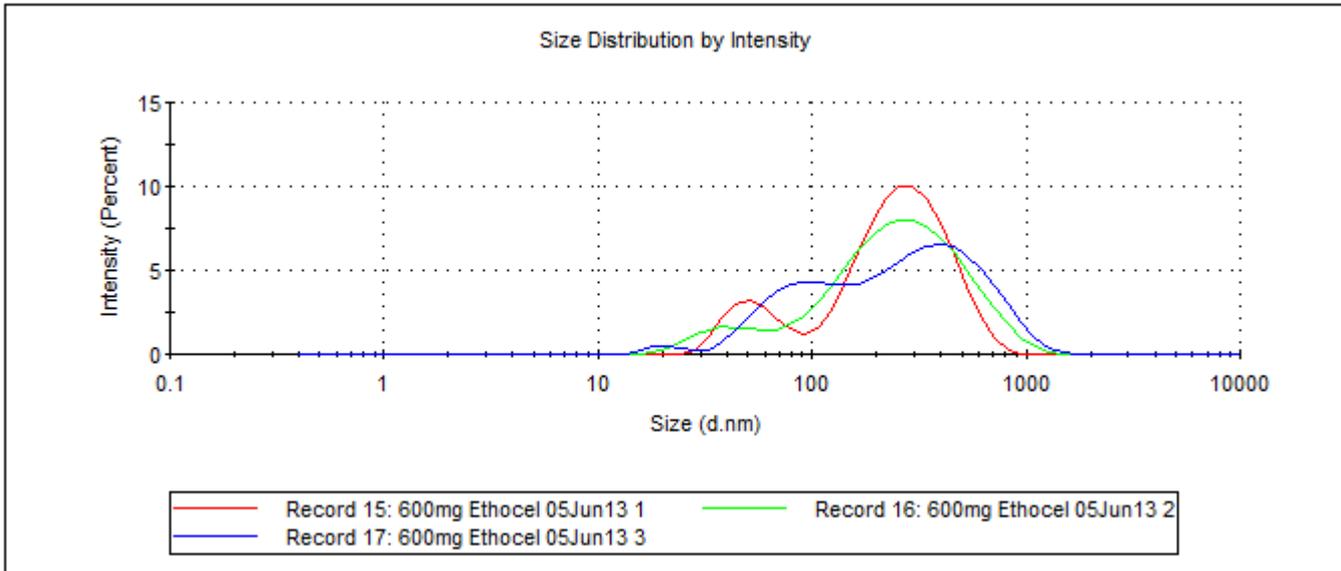
0.32% EC 1%SiO₂



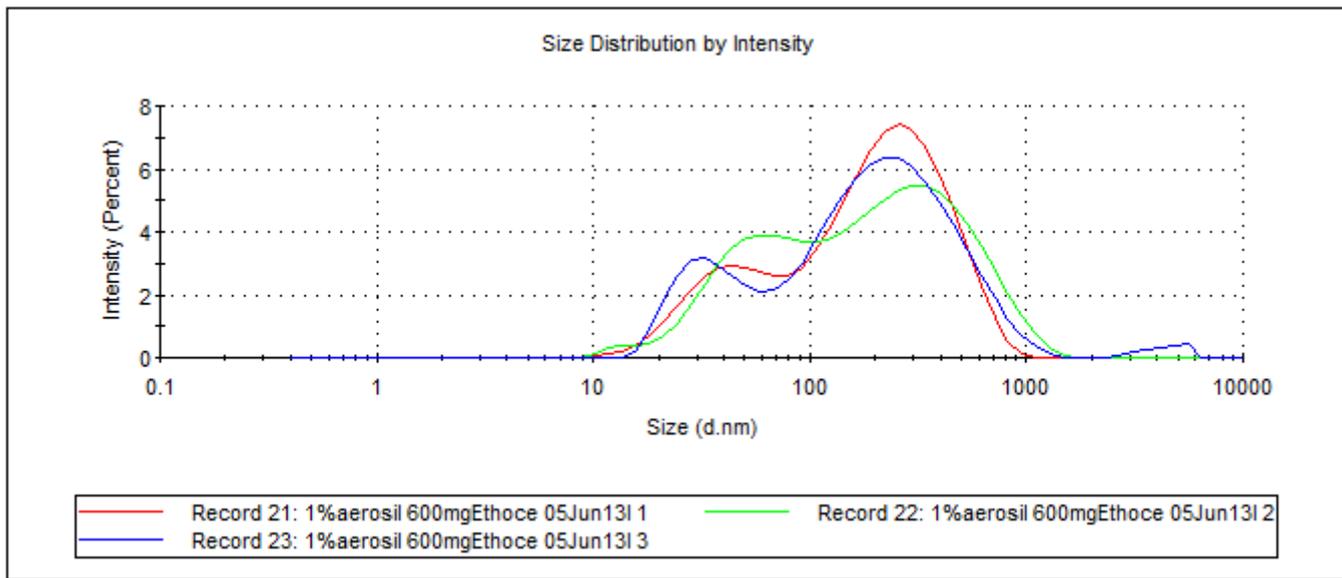
0.32% EC 2%SiO₂



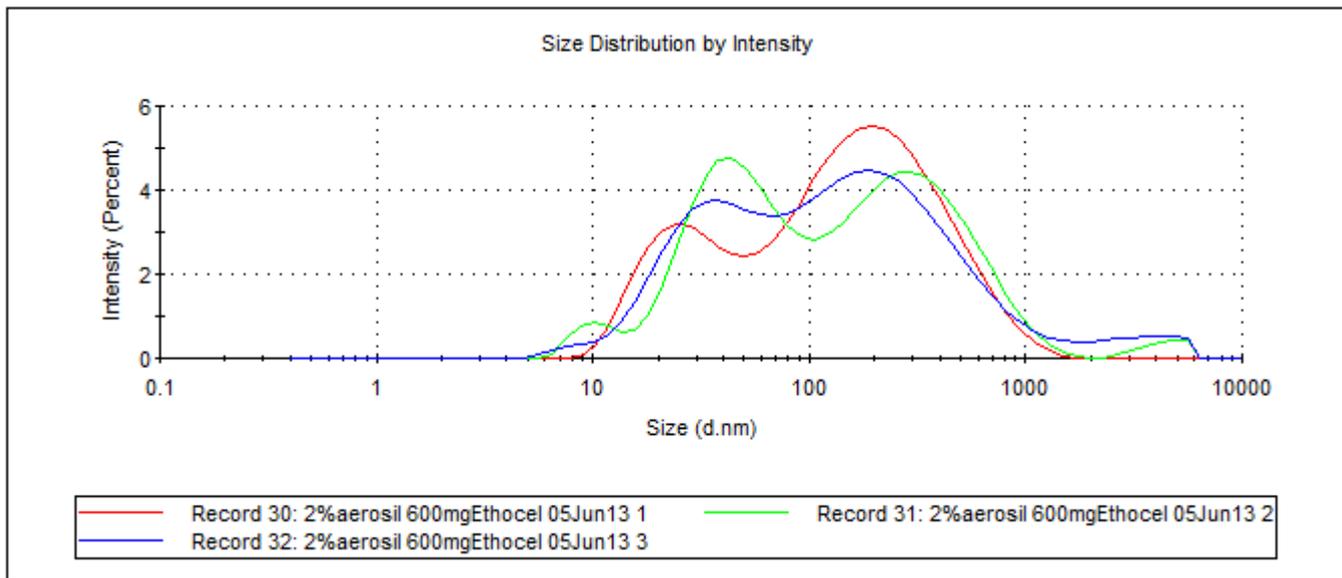
0.46% EC



0.46% EC 1%SiO₂



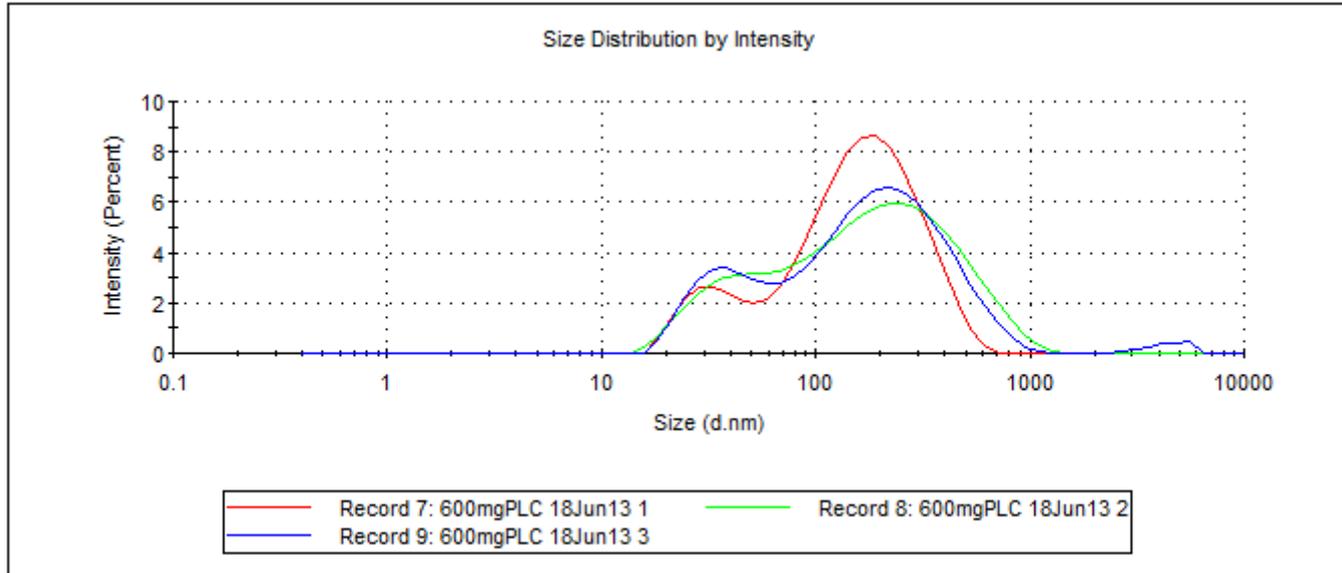
0.46% EC 2%SiO₂



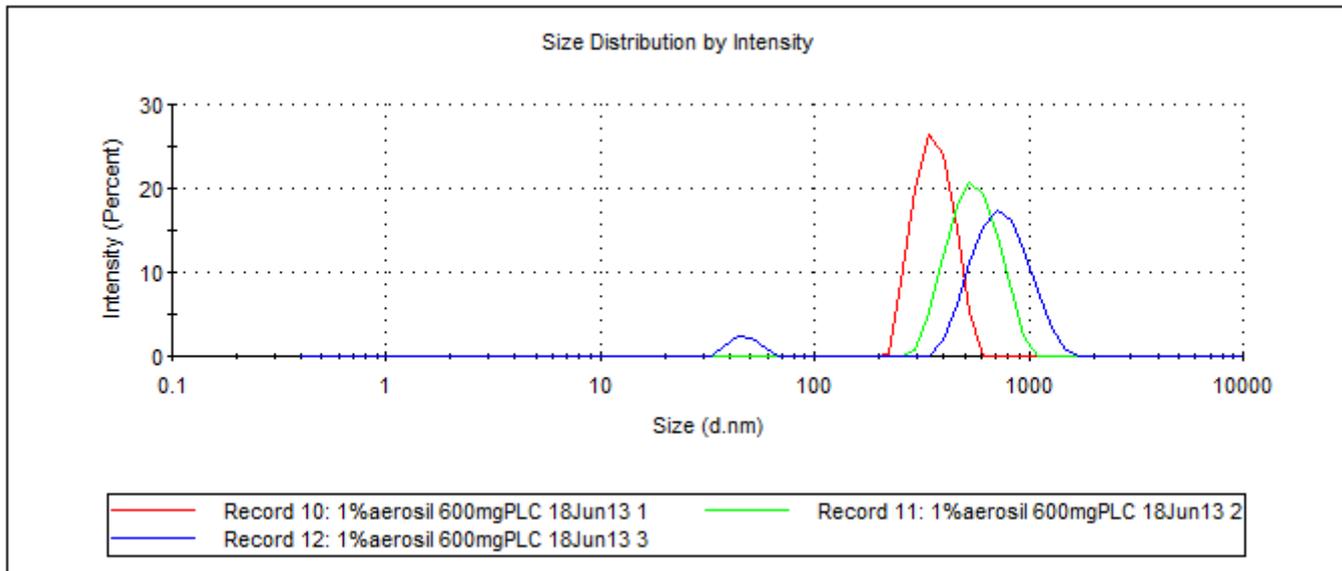
ANEXO 3

Distribución de tamaños de partícula de nanopartículas de Poli-ε-caprolactona (PLC)

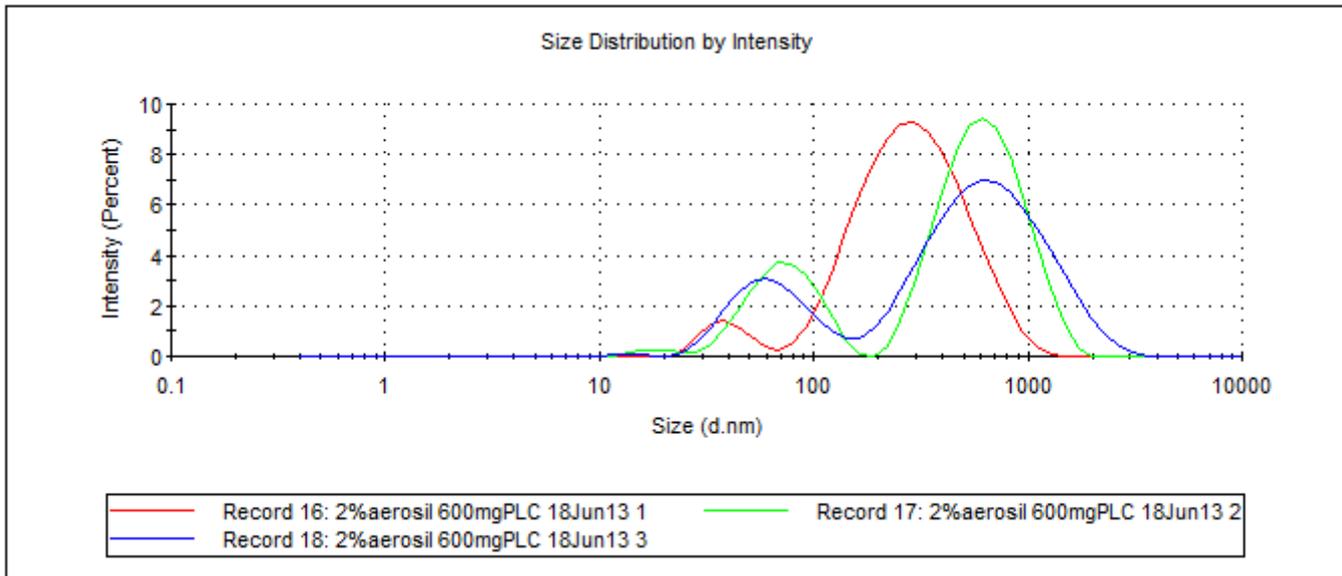
0.46%PLC



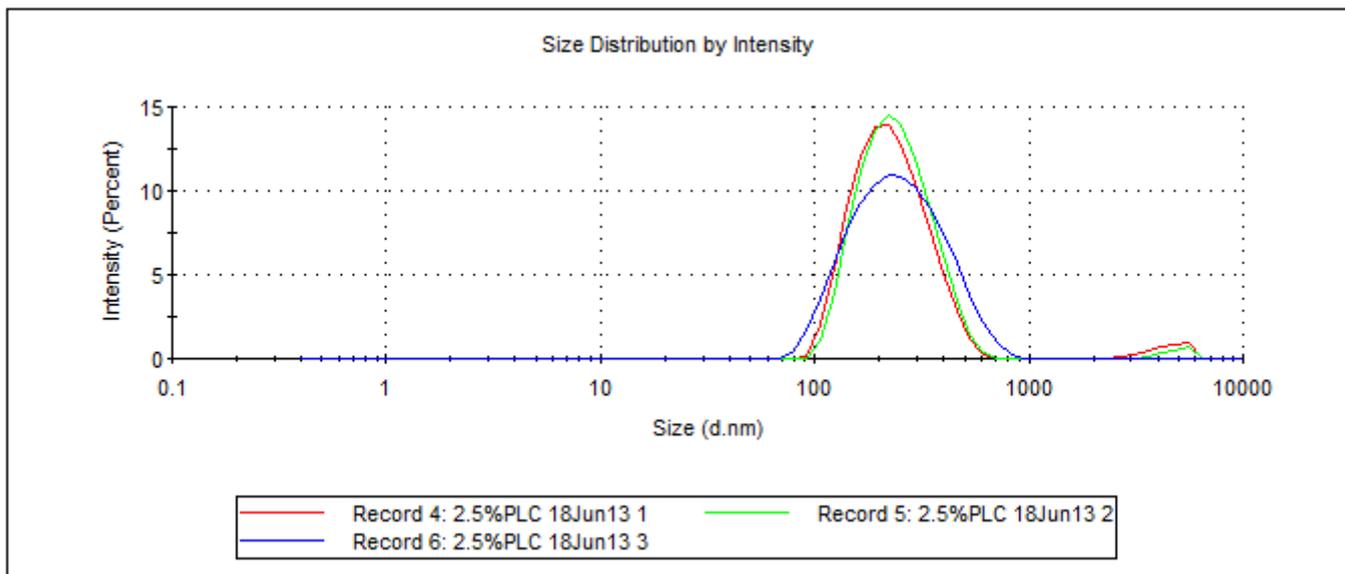
0.46%PLC 1%SiO₂



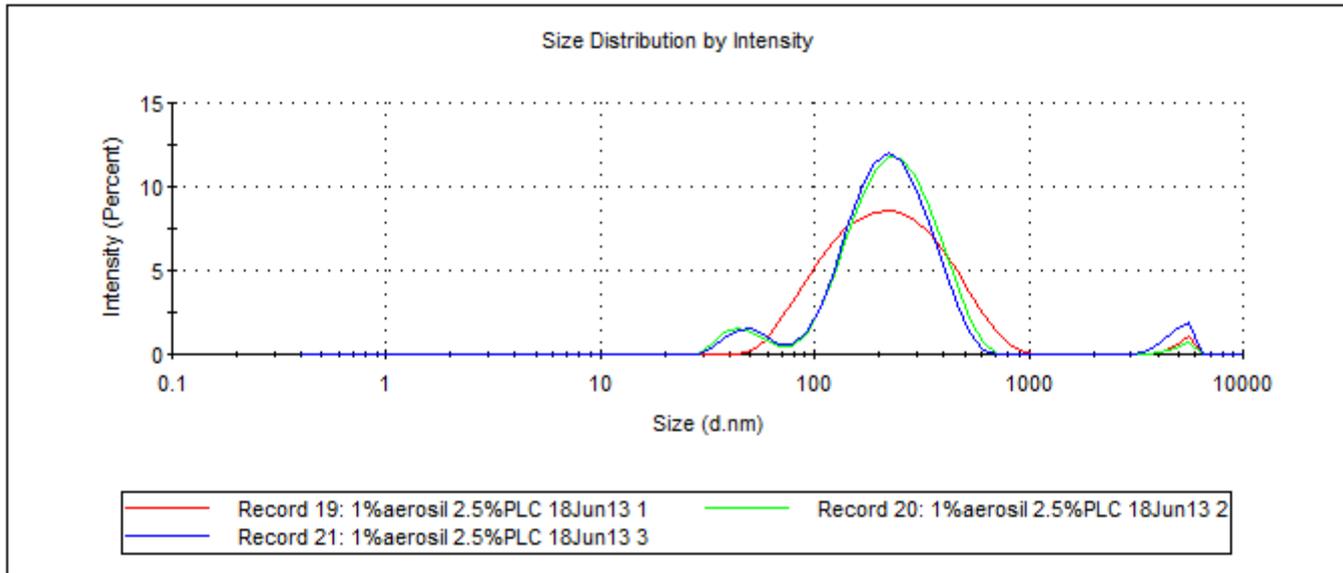
0.46%PLC 2%SiO₂



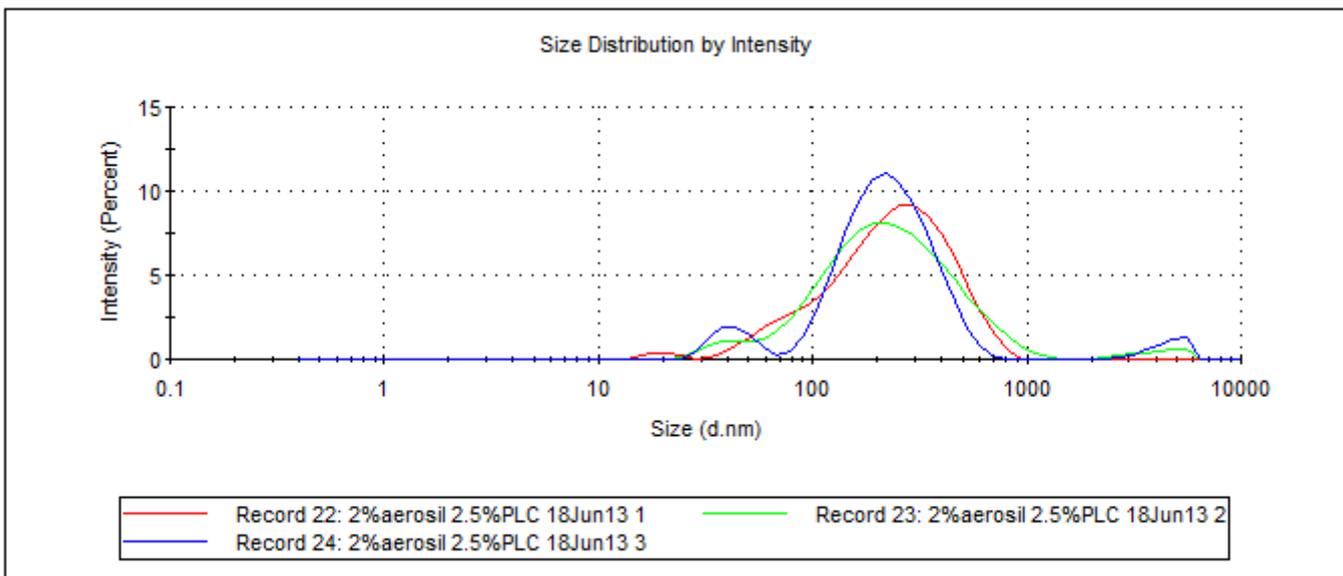
2.5%PLC



2.5%PLC 1%SiO₂



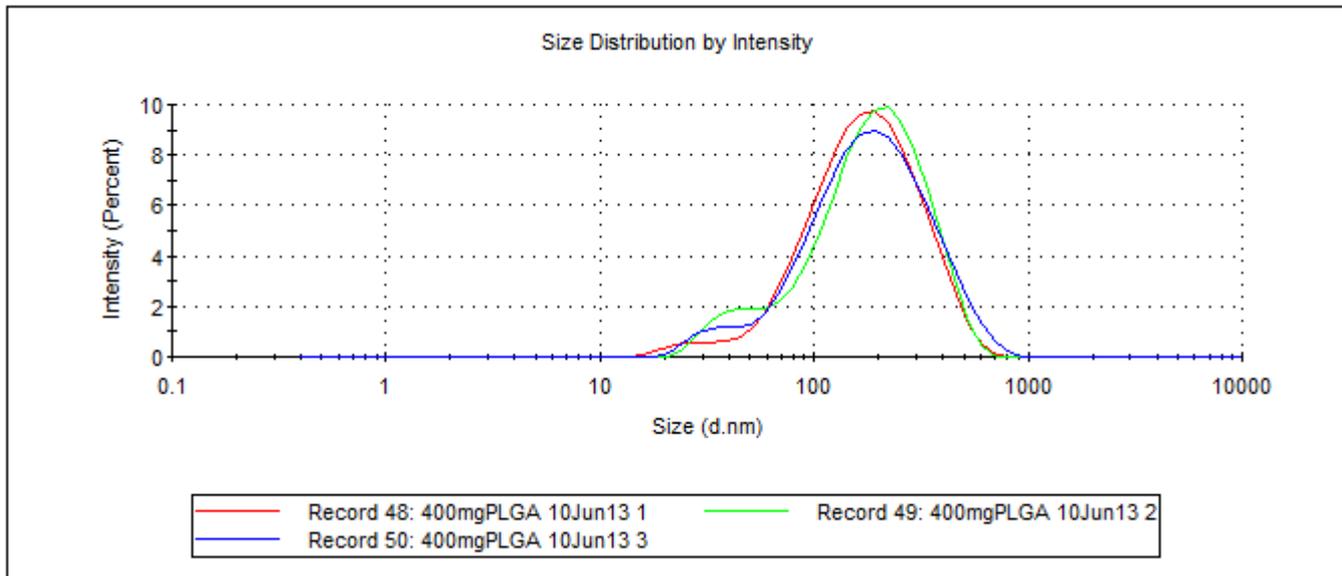
2.5%PLC 2%SiO₂



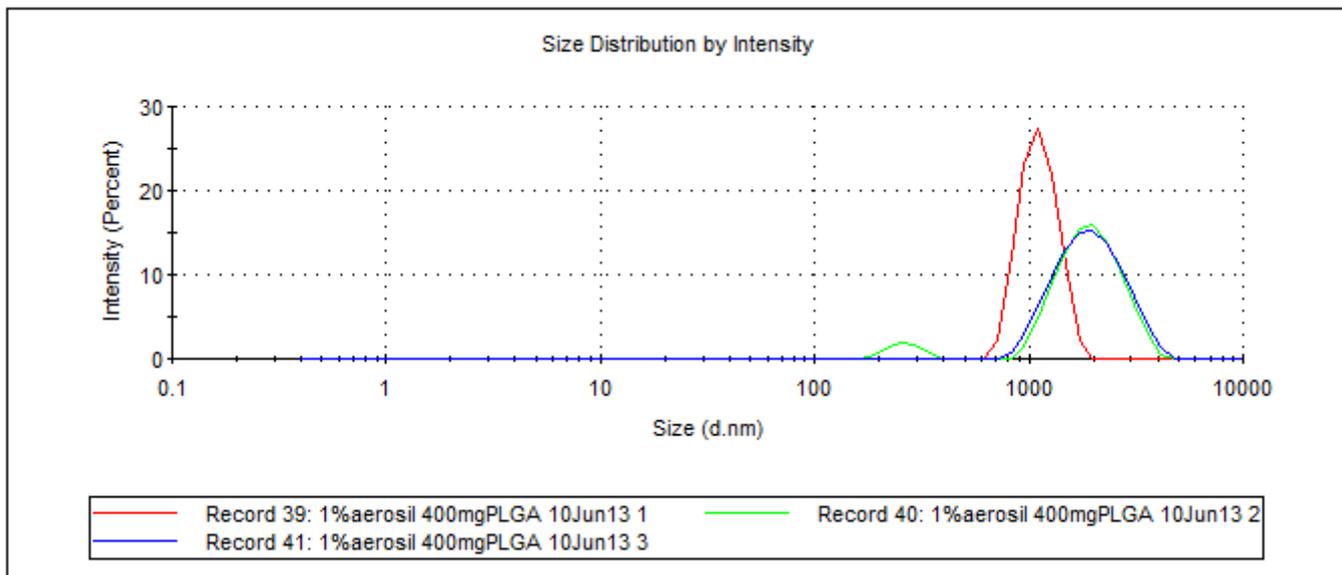
ANEXO 3

Distribución de tamaños de partícula de nanopartículas de Ácido poli(láctico-co-glicólico) (PLGA)

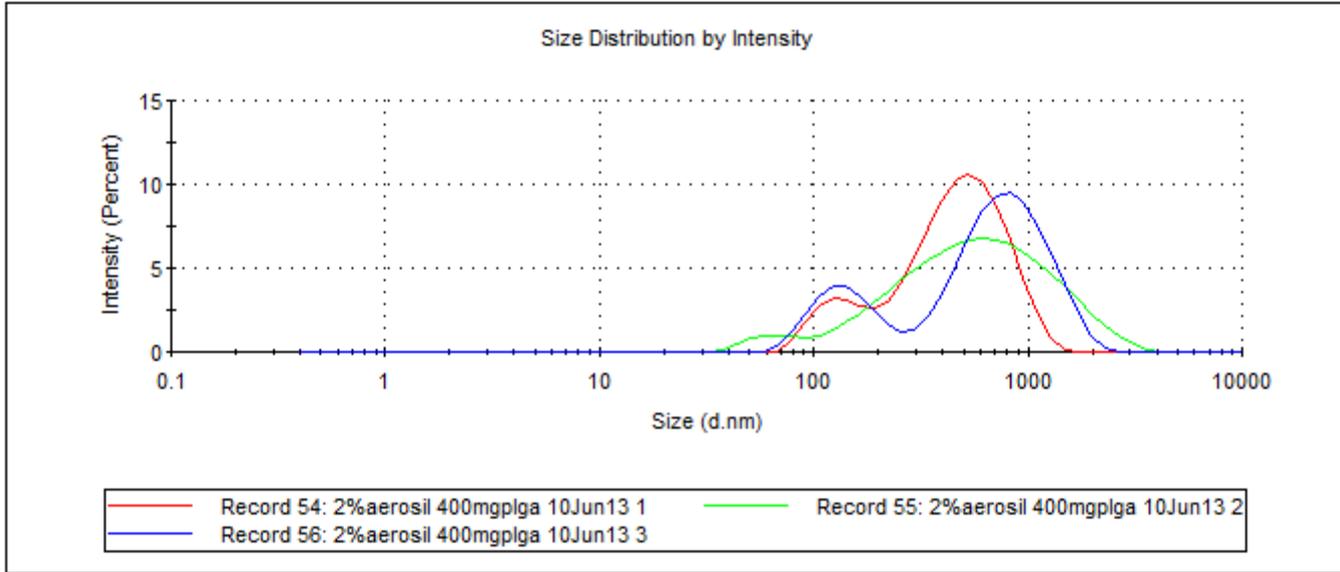
0.32%PLGA



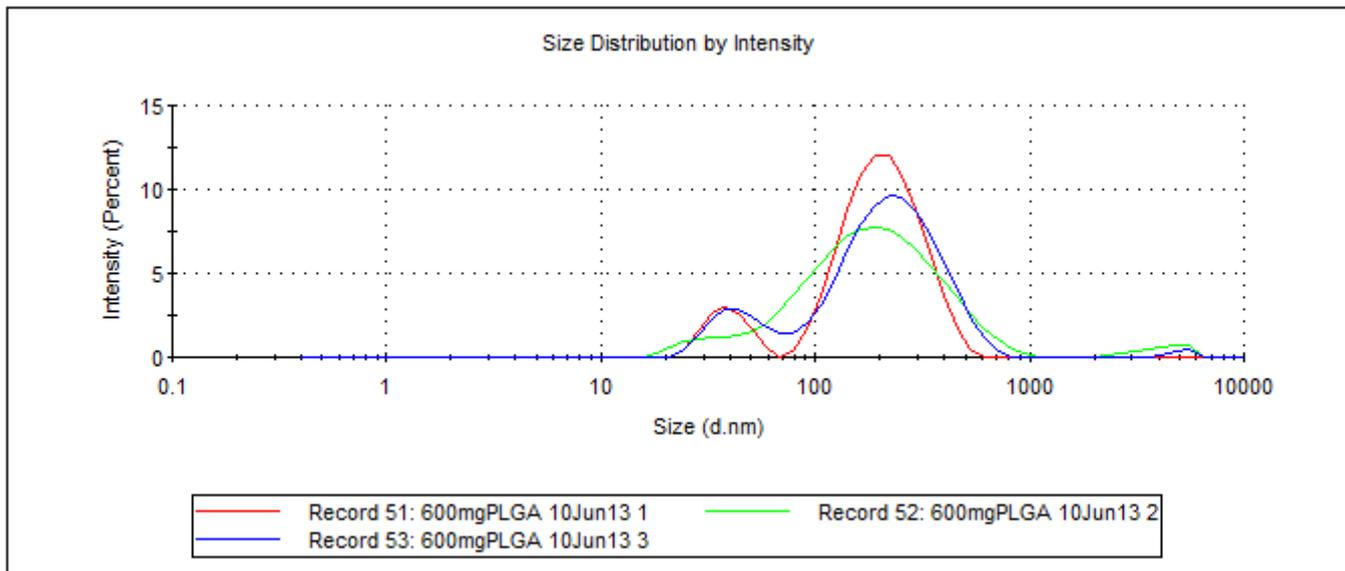
0.32%PLGA 1%SiO₂



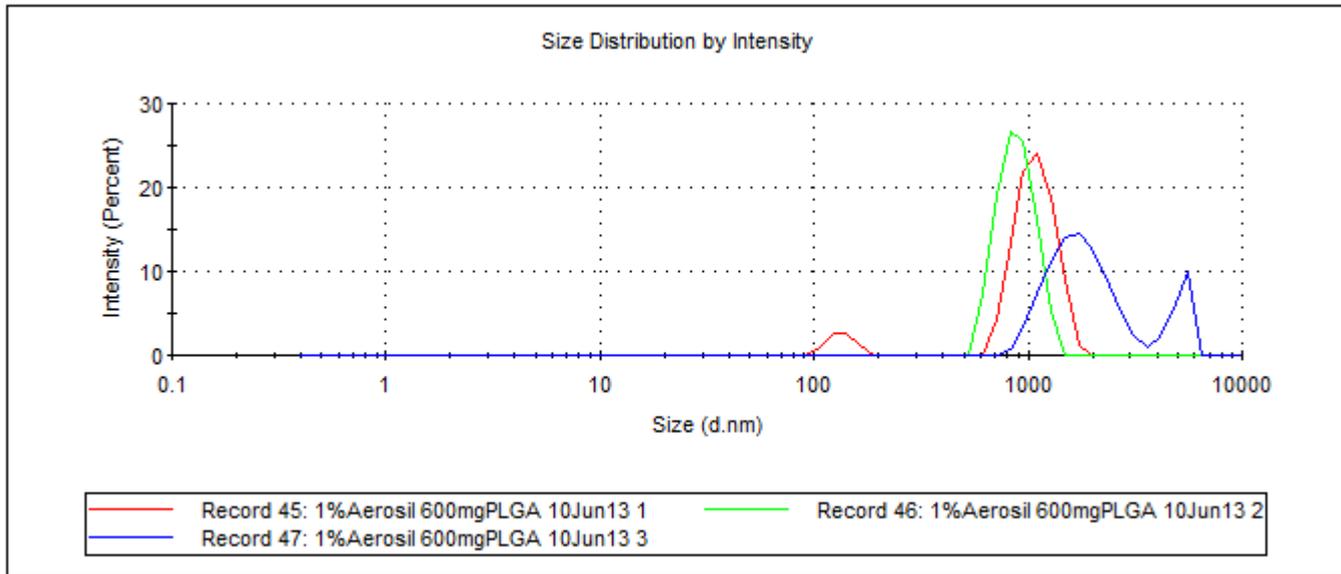
0.32%PLGA 2%SiO₂



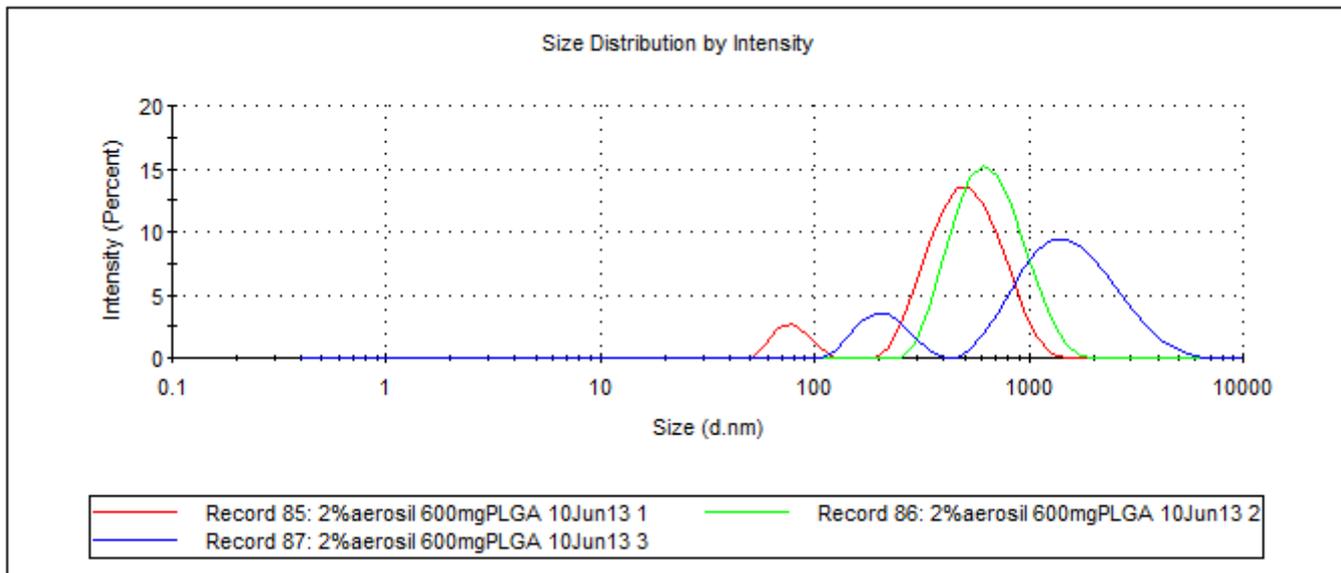
0.46%PLGA



0.46%PLGA 1%SiO₂



0.46%PLGA 2%SiO₂



ANEXO 4

Curva de calibración Ketoconazol en HCl 0.1N, 270 nm

repetición	µg/mL	Abs (270nm)
1	37.60	0.1022
2	37.76	0.1001
3	37.28	0.1072
1	112.80	0.2956
2	113.28	0.2964
3	111.84	0.3044
1	150.40	0.3903
2	151.04	0.4051
3	149.12	0.3980
1	225.60	0.5780
2	226.56	0.5900
3	223.68	0.5813
1	300.80	0.7668
2	302.08	0.7779
3	298.24	0.7660
1	376.00	0.9611
2	377.60	0.9536
3	372.80	0.9513

