



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITNA
UNIDAD XOCHIMILCO**

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

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:
TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA**

**“OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS Y DE UNA MATRIZ DE LIBERACIÓN
CONTROLADA CONTENIENDO UN AGENTE ANTITUMORAL DE ESTAÑO,
UTILIZANDO LA TÉCNICA DE SOL-GEL”**

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

**PRESENTA:
ERNESTO CUAHUTENCOS ESCOBAR
MATRÍCULA 208385707**

COMITÉ TUTORAL

**TUTORA: M. EN C. NORMA ANGÉLICA NOGUEZ MÉNDEZ
ASESOR: DR. ÁNGEL ENRIQUE CHÁVEZ CASTELLANOS
ASESOR: DR. JOSÉ REYES GASGA**

“OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS Y DE UNA MATRIZ DE LIBERACIÓN CONTROLADA CONTENIENDO UN AGENTE ANTITUMORAL DE ESTAÑO, UTILIZANDO LA TÉCNICA DE SOL-GEL”

Vo Bo. COMITÉ TUTORAL

Tutora: M. en C. Norma Angélica Noguez Méndez

Asesor: Dr. José Reyes Gasga

Asesor: Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos

Alumno: Q.F.B. Ernesto Cuahutencos Escobar

Matrícula 208385707

OBTENCIÓN DE MICROPARTÍCULAS Y DE UNA MATRIZ DE LIBERACIÓN CONTROLADA CONTENIENDO UN AGENTE ANTITUMORAL DE ESTAÑO, UTILIZANDO LA TÉCNICA DE SOL-GEL

JURADO DEL EXAMEN DE GRADO

Dr. Máximo Pliego Díaz

Presidente

Dr. Oscar Gómez Guzmán

Vocal

M. en C. Norma Angélica Noguez Méndez

Secretaria

RESUMEN

En el presente trabajo se muestran los resultados de la elaboración y caracterización fisicoquímica de un sistema microparticulado de SiO₂ con un fármaco antitumoral de estaño. Las micropartículas se obtuvieron mediante dos métodos basados en la combinación del proceso sol-gel y de la tecnología de microemulsiones: uno mediante ciclohexano/Span 80 y otro mediante aceite vegetal como fase continua en la formación de microemulsiones. Las micropartículas desarrolladas mediante el proceso con aceite vegetal presentaron eficiencias de encapsulación del fármaco de 60 al 95 %. Este método de obtención de micropartículas se realizó pensando en la química verde, evitando la contaminación del medio ambiente; de la misma manera este método se optimizó para obtener micropartículas en solo 2 días, recortando el tiempo con respecto al método con ciclohexano/Span 80 que es de 4 días.

Con la implementación de esta metodología se logró las condiciones necesarias para obtener una alta eficiencia de encapsulación, con un tamaño de partícula menor a 100 µm y de forma esférica. El sistema polimérico inorgánico mostró estabilidad térmica, buena manipulación y almacenamiento.

El sistema matricial de tipo inorgánico obtenido en forma de micropartículas esféricas obtenido mediante el método con aceite vegetal mostró en estudios de disolución *in vitro* que el fármaco se libera de manera retardada, ya que este puede mantenerse en la matriz polimérica hasta 79 horas con un por ciento de liberación de 77 a 91 %.

AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES:

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo financiero mediante la beca otorgada con número de registro 270474 la cual me permitió desarrollar mis estudios en la Maestría en Ciencias Farmacéuticas.

A mi "Alma máter": Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco (UAM-X) y sus profesores, por la formación académica y profesional que transmitieron durante mi formación institucional.

Al Instituto de Física de la Universidad Nacional Autónoma de México todo el valioso apoyo, tiempo y dedicación que compartieron en el transcurso de este proyecto de investigación

Al Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la Universidad Autónoma Metropolitana a cada uno de los profesores, compañeros y amigos por todo su tiempo, apoyo y comprensión.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

A través de estas líneas quiero expresar mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que con su soporte científico y humano han colaborado en la realización de este trabajo de investigación.

Agradezco a mi tutora de tesis, la *M. en C. Norma Angélica Noguez Méndez* y al *Ing. Alejandro Rubio Martínez* su apoyo y conocimientos invaluable que me brindaron para llevar a cabo esta investigación, y sobre todo su gran paciencia para esperar a que este trabajo pudiera llegar a su fin.

A mis asesores de tesis, el *Dr. José Reyes Gasga* y el *Dr. Ángel Enrique Chávez Castellanos* por sus valiosos conocimientos, aportes, experiencia y paciencia para el término de este proyecto.

Al *Dr. Máximo Pliego Díaz* y al *Dr. Oscar Gómez Guzmán* por aceptar ser parte del Jurado Calificador del Examen de Grado.

A mis padres por darme la vida y haber confiado en mí, quienes sin escatimar esfuerzo alguno han sacrificado gran parte de su vida, quienes me han formado y educado. A quienes nunca podré pagar ni con las riquezas más grandes de mundo.

A mi tía Ana que aunque ha partido de este mundo siempre estará en mi corazón; gracias por todos tus consejos, apoyo, tus horas de desvelo y por demostrarme que con paciencia y esfuerzo todo es posible, hasta lo que creía imposible.

A Ángel por todo su cariño, paciencia y por ser mi compañero en los buenos y malos momentos. Por recordarme que la familia es el tesoro más valioso que tenemos en este mundo.

A mis amigas, Gabriela gracias por compartir conmigo tu experiencia de transformación, por tu apoyo y todas cosas que has compartido desinteresadamente conmigo. Sabé gracias por darme ánimos y por mostrarme que si me lo propongo lo puedo lograr.

A Adriana, tú mi compañera y cómplice gracias por estar a mi lado compartiendo mis alegrías y angustias, gracias por nunca dejarme caer, por darme ese empuje con el que me supero día con día, por tu apoyo incondicional y sobre todo por tomar este camino juntos. Pero gracias sobre todo por ser mi compañera de vida.

"Lo mejor de la vida son esos determinados momentos que quedan en tu retina y te dan impulso para vivir"

ÍNDICE

1. Introducción	1
2. Antecedentes	2
3. Marco Teórico	5
3.1. Cáncer.....	5
3.2. Tratamientos del Cáncer.....	6
3.2.1. Cirugía.....	7
3.2.2. Radioterapia.....	7
3.2.3. Quimioterapia.....	7
3.3. Compuestos organoestañados con actividad biológica.....	10
3.4. Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato.....	11
3.4.1. Propiedades Físicoquímicas.....	12
3.4.2. Propiedades citotóxicas.....	13
3.5. Sistemas Poliméricos de Transporte y Liberación de Fármacos.....	13
3.5.1. Sistemas Macromoleculares.....	15
3.5.2. Sistemas de tamaño de partícula.....	15
3.5.2.1. Sistemas Tipo Reservorio.....	16
3.5.2.2. Sistemas Matriciales.....	16
3.5.3. Microesferas.....	16
3.5.3.1. Métodos de preparación.....	17
3.6. Mecanismos de liberación de fármacos de matrices poliméricas.....	18
3.6.1. Liberación en sistemas no degradables.....	18
3.6.2. Liberación en sistemas activados por disolvente.....	20
3.6.3. Liberación en sistemas biodegradables.....	21
3.6.4. Tratamiento empírico para describir la liberación de fármacos.....	22
3.7. Proceso Sol-Gel.....	24
3.7.1. Bases del proceso sol-gel.....	24
3.7.2. Reacciones del Proceso sol-gel.....	26
3.7.2.1. Hidrolisis y condensación.....	27

3.7.3. Gelación.....	30
3.7.4. Secado.....	31
4. Planteamiento del Problema.....	33
5. Hipótesis.....	33
6. Objetivos.....	34
6.1. Objetivo General.....	34
6.2. Objetivos particulares.....	34
7. Material y métodos.....	35
7.1. Reactivos.....	35
7.2. Equipos.....	35
7.3. Validación del método analítico.....	35
7.4. Elaboración de matriz de liberación controlada.....	35
7.5. Elaboración de micropartículas cargados con el fármaco.....	36
7.5.1. Método con ciclohexano/Span 80.....	36
7.5.2. Método con aceite vegetal.....	37
7.6. Diseño Experimental.....	37
7.7. Caracterización fisicoquímica de las micropartículas.....	38
7.7.1. Caracterización térmica.....	38
7.7.2. Tamaño de Partícula.....	38
7.7.3. Caracterización mediante Espectroscopia IR.....	38
7.7.4. Encapsulación del fármaco.....	38
7.8. Cinética de liberación del fármaco encapsulado en las microesferas.....	38
8. Resultados y Discusión.....	39
8.1. Validación del método analíticos.....	39
8.2. Elaboración de la matriz de liberación controlada.....	40
8.3. Elaboración de micropartículas.....	41
8.3.1. Método con fase continua ciclohexano/span 80.....	41
8.3.2. Método con fase continua aceite vegetal.....	41
8.3.3. Diseño Experimental.....	43
8.4. Caracterización fisicoquímica de las micropartículas.....	49
8.4.1. Caracterización térmica.....	49

8.4.2. Tamaño de partícula.....	53
8.4.3. Caracterización mediante Espectroscopia IR.....	54
8.5. Encapsulación del fármaco.....	59
8.5.1. Cinética de liberación del fármaco encapsulado en las microesferas.....	60
9. Conclusiones.....	65
10. Perspectivas.....	66
11. Referencias bibliográficas.....	67
12. Anexos.....	79

ÍNDICE FIGURAS

1. Momento de actuación de los diferentes fármacos en el ciclo celular.....	9
2. Fórmula estructural del tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato.....	10
3. Estructura cristalina en zigzag del tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato.....	12
4. Sistemas de Transporte y liberación de fármacos.....	15
5. Tipos de sistemas particulados.....	16
6. Resumen de los procesos de formación de distintas formas con la tecnología sol-gel.....	26
7. Mecanismos de hidrólisis en el proceso sol-gel.....	28
8. Mecanismo de condensación de Sílica mediante catálisis ácida.....	29
9. Mecanismo de condensación de Sílica mediante catálisis básica.....	30
10. Representación esquemática del proceso sol-gel.....	31
11. Curva de calibración de Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato.....	40
12. Matriz con fragmentación en bordes, 24 horas después de proceso de secado.....	41
13. Contraste de los factores experimentales y sus combinaciones.....	44
14. Gráfico de Probabilidad Normal que muestra los cuantiles normalizados.....	45
15. Gráfico de predicción del % de encapsulación del fármaco.....	46
16. Estimación de contrastes del modelo de filtrado.....	47
17. Gráfico de interacción de factores de diseño experimental.....	48
18. Gráfica de cubo donde se muestran los niveles óptimos para obtener el mayor % de encapsulación del fármaco en micropartículas.....	49
19. Endoterma de fusión del el Tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato.....	50
20. Endoterma de fusión de mezcla física de Fármaco-Matriz de SiO ₂	51
21. Endotermas de fusión de micropartículas de experimento 2 sin fármaco (a), con fármaco (b), experimento 5	

sin fármaco (c), con fármaco (d) y experimento 8 sin fármaco (e) y con fármaco (f).....	52
22. Micropartículas obtenidas mediante el método con ciclohexano/span 80.....	53
23. Micropartículas obtenidas mediante el método con aceite vegetal.....	54
24. Espectro de absorción infrarrojo del Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato.	55
25. Espectro de absorción infrarrojo de micropartículas de SiO ₂ obtenidas por el método con aceite vegetal.....	56
26. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO ₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 2).....	57
27. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO ₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 5).....	58
28. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO ₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 8).....	59
29. Perfil de liberación del fármaco en micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal.....	60
30. Perfil de liberación del fármaco micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal durante las primeras horas.....	61
31. Liberación fraccional del fármaco en micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal.....	62
32. Ajuste de experimento 2 con modelo de Liberación de primer orden	63

ÍNDICE DE TABLAS

1. Distribución porcentual de defunciones por principales tipos de tumores malignos para cada sexo durante 2008.....	6
2. Fármacos antineoplásicos más comunes en el uso clínico.....	10
3. Exponente y mecanismos de liberación difusional de sistemas de liberación cilíndricos y esféricos con o sin hinchamiento.....	23
4. Factores y niveles del diseño factorial 2^4	37
5. Parámetros de validación del método analítico.....	39
6. Resultados del % de encapsulación para los tratamientos.....	43
7. Análisis de varianza del modelo de encapsulación del fármaco.....	46
8. Temperaturas de Transición vítrea de micropartículas de SiO_2 con y sin fármaco.....	51
9. Coeficiente de correlación R^2 de la relación de liberación fraccional de micropartículas y el tiempo expresado por cada ecuación o modelo.....	63
10. Constantes de velocidad de liberación k, mediante los distintos modelos.....	64

1. INTRODUCCIÓN

El cáncer es uno de los principales problema de salud en el mundo. Actualmente un caso nuevo de cáncer es diagnosticado aproximadamente cada 25 segundos, y se estima que para el año 2030, 12 millones de personas podrían morir cada año si no se realizan acciones para controlar el cáncer (Gospodarowicz, 2009). Asimismo, en 1997 se estimó que cerca de veinte millones de personas presentarían algún tipo de cáncer cada año, y de no implementarse acciones de prevención de cáncer, se presentarán 15.5 millones de nuevos casos anualmente (Lazcano, 1997). Esto se pone de manifiesto ya que en el 2008 se ha reportado 12.7 millones de casos nuevos y 7.6 millones de muertes relacionados con los 27 tipos de cáncer más comunes en el mundo. Siendo el cáncer de pulmón y el de mama los principales tipos de cáncer con 1.6 y 1.4 millones de muertes respectivamente, aun cuando existen otros tipos de cáncer como el de estómago, colon, próstata e hígado que también presentan una incidencia alta (Ferlay, 2008).

Aunque el uso de fármacos en el tratamiento del cáncer ha tenido una evolución e impacto significativo, las limitaciones de estos son la nula especificidad y la presencia de multiresistencia en células cancerosas. Uno de los retos en la terapéutica del cáncer es la dosificación óptima y dirigida al sitio de acción. Para hacer frente a este desafío se necesitan estrategias tecnológicas empleando fármaco específicos y dirigidos (Ewesuedo, 2004), por tanto es necesario el diseño de sistemas de entrega y/o liberación de fármacos que permitan tener una acción terapéutica con bajas dosis, menor frecuencia en la administración y liberación modificada en el sitio requerido. En este contexto, el diseño y elaboración de transportadores de fármacos inteligentes ofrece la posibilidad de mejorar el transporte y la liberación de los principios activos depositándolos preferencialmente en el sitio diana, reduciendo así su toxicidad en tejidos sanos y maximizando el efecto terapéutico en el sitio deseado.

Con base en esto, los materiales sol-gel han sido investigados como transportadores de fármacos desde los años 80's, Unger y col en 1983 publicaron el

primer artículo en el cuál proponían el uso de superficies porosas de sílicas modificadas para liberación de fármacos y agentes estabilizantes. Los materiales sol-gel comprenden una amplia variedad de materiales inorgánicos y también materiales híbridos (orgánicos/inorgánicos) que comparten la preparación basada inicialmente en un sol (partículas coloidales en suspensión), que mediante reacciones de hidrolisis y condensación se llega a un material en forma de gel, que posteriormente se solidifica (Wright, 2001). En los últimos veinte años, numerosas publicaciones sobre la liberación de fármacos, biocompatibilidad, efectos en tejidos y biodisponibilidad se han publicado, siendo este tipo de materiales aptos para el desarrollo de matrices de liberación prolongada.

2. ANTECEDENTES

La técnica sol-gel ha cobrado gradualmente gran interés en distintas aplicaciones biológicas como: implantes biocompatibles, biomineralización, biosensores y reservorios para liberación modificada de fármacos (Kumaran, 1997). La posibilidad de encapsular tanto moléculas biológicas tales como enzimas, anticuerpos, microorganismos y una gran variedad de fármacos hace esta tecnología versátil y con una amplia gama de preparación de matrices.

Los xerogeles de SiO₂ (dióxido de silicio), fabricados mediante la técnica sol-gel han sido estudiados para una gran cantidad de activos. Estos agentes pueden ser incorporados dentro de la matriz polimérica del xerogel por adsorción en matrices tratadas térmicamente (Otsuka, 2000, López, 2009) o por la adición del fármaco durante algún paso del proceso (Antovska, 2006, Bush, 2004, Viitalia, 2005, Radin, 2009). La solubilidad del fármaco limita la cantidad añadida durante la fase sol-gel (Sieminska, 1997).

Unger y col en 1983 fueron los que introdujeron estos sistemas como transportadores de fármacos. Unger encontró que las características fisicoquímicas del fármaco significativamente controlan la velocidad de liberación. Los fármacos básicos son liberados de manera controlada mientras que fármacos neutros o ácidos se liberan muy rápidamente. Esto es debido a las propiedades iónicas de la

estructura del xerogel, los fármacos con grupo funcionales reactivos tales como alcohol o grupos fenol (OH) pueden reacción químicamente en la superficie por medio de enlaces $\equiv\text{Si-O}\equiv\text{C}$ o por puentes de Hidrógeno. La cantidad de grupos hidroxilo y carbonilo en la molécula del fármaco afecta la liberación del fármaco. Los puentes de hidrógeno se forman en un pH entre 1.5 y 3.0 y algunos de estos tipos de enlaces fuertes son formados con bases nitrogenadas como: piridinas, o con oxígenos de grupos éter o ceto (Iler, 1979).

El mecanismo de liberación de fármacos a partir de matrices de xerogel de sílice no ha sido estudiado a detalle, mucho depende del fármaco atrapado dentro de la matriz. En su mayoría puede deberse a la difusión del fármaco o disolución de la matriz o ambas (Radin, 2009), pero se ha demostrado que son unos excelentes sistemas de liberación de fármacos, obteniéndose liberaciones desde las 8 horas (Kortesuo, 2000), hasta aproximadamente 1 mes (López, 2009), dependiendo de la preparación y el modo de síntesis del polímero de SiO_2 .

Las matrices obtenidas a partir de sistemas sol-gel han demostrado ser biocompatibles, no han presentado efectos de toxicidad o respuestas del tipo carcinogénico, inmunogénico ni inflamatorio (Ahola, 2000, Kortesuo, 2000). Esta biocompatibilidad se describe a menudo en términos de la respuesta inflamatoria aguda y crónica, y se presenta mediante una cápsula fibrosa en diversos intervalos de tiempo después de la implantación del material (Williams, 2008). Esto debido a que el silicio se ha reconocido como un elemento esencial presente en bajas cantidades en el cuerpo humano y participa en la conectividad entre tejidos, especialmente en la formación de cartílago y huesos (Kortesuo. 2000). Mientras que el dióxido de silicio cristalino es conocido como citotóxico, los materiales obtenidos mediante la tecnología sol-gel son biocompatibles y en muchos casos bioactivos. Se han realizado estudios *in vitro* e *in vivo* para evaluar la toxicidad de estos materiales (Kortesuo, 2000, Wilson, 1981) y se ha encontrado que en efecto este tipo de matrices son no-tóxicas y biocompatibles debido a que el xerogel cuando es expuesto al agua o a fluidos biológicos estos inician la degradación de los enlaces siloxano a ácido silícico ($\text{Si}(\text{OH})_4$) (Brinker, 1990), cuando este difunde dentro del

tejido local, entra al torrente sanguíneo o a circulación linfática y es excretado en la orina o es fagocitado por los macrófagos (Lai, 1998). Durante la reabsorción del silicio las concentraciones permanecen dentro de los intervalos fisiológicos y no existe una acumulación en órganos periféricos (Kortesuo, 2000).

Existen en la terapéutica del cáncer, una gran cantidad de fármacos antitumorales, entre los que se encuentran, los compuestos organometálicos que han ganado un lugar importante dentro de esta, equiparable en acción a fármacos como el cis-platino y el carbo-platino que son ampliamente usados en quimioterapia contra diversos tipos de cáncer como el de testículos, ovario y vejiga (MacDonald, 2005). Sin embargo, todos los fármacos citotóxicos presentan un alto grado de toxicidad periférica, la cual se ha tratado de evitar, haciendo uso de la encapsulación. Se ha demostrado que fármacos encapsulados con liposomas dan una mejor terapéutica en ciertos tipos de cáncer (Yokoe, 2008), aunque existe todavía algo de escepticismo en el utilizar tecnologías con polímeros inorgánicos, teniendo estos todos los elementos necesarios para considerárseles biomateriales y con ventajas potenciales superiores a los polímeros naturales y de origen orgánico.

Por otra parte los compuestos organoestañados son ciertamente muy prometedores para utilizarse en la quimioterapia del cáncer y han sido ampliamente estudiados en pruebas *in vitro* e *in vivo* para probar su actividad antitumoral (Crowe, 1993; Gielen, 2002) en especial los carboxilatos de estaño han mostrado particularmente esta elevada actividad. Todas estas investigaciones han mostrado particularmente una elevada actividad antitumoral de varios tri-*n*-butil-carboxilatos de estaño que han reportado actividad antitumoral *in vitro* contra líneas celulares de origen humano (Kemmer, 1999; Shahzadi, 2002) entre ellos se encuentra el tri-*n*-butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato que ha reportado actividad antitumoral *in vitro* contra líneas celulares de cáncer de mamá (MCF-7 y EVSA-T), colon (WiDr), ovario (IGROV), renal (A498), pulmón (H226) y melanoma (M19) de origen humano (Gielen, 2002), incluso este fármaco ha mostrado ser más potente que el cisplatino (Camacho, 2000), siendo este último uno de los fármacos más eficaces para el tratamiento de los distintos tipos de cáncer antes mencionados (Boulikas, 2007).

No existe actualmente ninguna investigación acerca del prominente efecto farmacológico de esta molécula; su alta potencia y eficacia lo hace un candidato ideal para ser usado con algún sistema de liberación, por lo cual el objetivo de este trabajo es elaborar un sistema matricial de liberación prolongada mediante el uso de la tecnología sol-gel que permita vehiculizar a este fármaco.

3. MARCO TEÓRICO

3.1. Cáncer

El cáncer constituye un grupo de enfermedades crónico degenerativas que se define como la proliferación anormal y descontrolada de la células de un tejido u órgano; también conocida como neoplasia (del griego νεο-*neo* y πλάσμα-*plasma*, "nuevo crecimiento"). Estas células pueden proliferar formando masas denominadas tumores. La mayoría de las neoplasias malignas muestran una capacidad para invadir estructuras vecinas y la capacidad de diseminarse hacia otros órganos a través del sistema linfático y la sangre (CRUK, 2011). El cáncer en la actualidad es una de las primeras causas de mortalidad y representa un serio problema de salud pública, se ha estimado que para 2020 se diagnosticaran 15 millones de nuevos casos de cáncer y 12 millones habrán muerto por esta causa si no se emprenden acciones (Anand, 2008). Además que más del 70 % de todas las muertes por cáncer se producen en países con ingresos económicos en vías de desarrollo (WHO, 2011). En México, para el año 2008 el cáncer represento la tercera causa de muerte en mujeres (32,204) y Hombres (32,842). Los principales tipos de cáncer en ambos sexos se resumen en la tabla 1.

Tabla 1. Distribución porcentual de defunciones por principales tipos de tumores malignos para cada sexo durante 2008 (INCAN, 2008)

Mujeres		Hombres	
Tipo	%	Tipo	%
Mama	13.4	Próstata	14.8
Cuello de útero	11.2	Tráquea, Bronquios y pulmón	12.8
Hígado y vías biliares	7.5	Estómago	8.5
Estómago	7.1	Colón, recto y ano	6.0
Tráquea, Bronquios y pulmón	6.2	Leucemias	5.9

El problema más común en el tratamiento del cáncer es la recaída y la metástasis de las células cancerosas después del tratamiento típico con quimioterapia, radioterapia o cirugía. Este problema empeora por la presencia de resistencia de los tumores a los fármacos, toxicidad de los tratamientos actuales y la ineficacia de los tratamientos en los estadios avanzados de la enfermedad (Airley, 2009).

3.2 Tratamiento del cáncer.

El tratamiento pretender curar la enfermedad, prologar y mejorar la calidad de vida tras la confirmación del diagnóstico de cáncer por los procedimientos apropiados y disponibles (WHO. 2006). La mayor parte, de este tipo de enfermedad se manifiesta inicialmente como nódulos tumorales localizados que originan síntomas locales. Dependiendo del tipo de cáncer, el tratamiento inicial deberá tratarse localmente en forma de cirugía o radioterapia. La extirpación quirúrgica o la radiación local (o ambas) son el tratamiento de primera elección para una variedad de cánceres potencialmente curables, incluso la mayor parte de los cánceres gastrointestinales, genitouterinos, tumores del sistema central, cánceres surgidos de la mama, tiroides o la piel, así como la mayor parte de los sarcomas (Torres, 1994).

3.2.1 Cirugía

La cirugía al momento de la detección tiene eficacia diagnóstica y terapéutica, ya que permite la clasificación por etapas patológicas de la extensión de invasión local y regional, así como una oportunidad para la extirpación de la neoplasia primaria. El sistema más utilizado para determinar el grado de enfermedad es el TNM, el cual está basado en la extensión del tumor primario (T), la presencia o ausencia de metástasis en nódulos linfáticos (N) y la presencia o ausencia de metástasis distantes (M), establecido por la Unión Internacional para el control del cáncer (UICC), el cual es una herramienta indispensable en la toma de decisiones como el pronóstico inicial y el tratamiento (UICC, 2012).

3.2.2 Radioterapia

Este tipo de tratamiento local que se basa en la interacción del tumor con la radiación ionizante, la cual causa daño interno en las células tumorales, ocasionando así su muerte. Esta acción también puede ejercerse sobre los tejidos normales, sin embargo los tejidos tumorales son más sensibles a la radiación y no pueden reparar el daño producido de manera tan eficiente como un tejido sano. La radioterapia es ampliamente usada en pacientes con un tumor maligno localizado en las fases iniciales, en el momento de alguna recidiva (reaparición del tumor después de un periodo a mediano-largo plazo de ausencia de este) -o por tumores secundarios-, y al menos un 60 % de los pacientes presenta en su historial algún tratamiento radioterápico; a menudo este tipo de tratamiento se utiliza en combinación con la cirugía y la quimioterapia, por ejemplo en el tratamiento de cáncer de mama en fases iniciales (De las Heras, 2008)

3.2.3 Quimioterapia

Durante el desarrollo de la enfermedad, la aparición de metástasis suele ser un factor muy frecuente y deja fuera la extirpación quirúrgica o de la ablación local por medio de radioterapia, siendo necesaria la quimioterapia, la cual se define como

la aplicación de fármacos citotóxicos que tienen como función el impedir la reproducción de las células cancerosas.

En esta clase terapéutica heterogénea se incluye un sin número de moléculas que se agrupan principalmente por su modo de acción y su objetivo a nivel celular de la siguiente manera:

Agentes quelantes: Su objetivo es la cadena de ADN, fijándose en sus bases nitrogenadas por alquilación, como su nombre lo indica.

Antimetabolitos: Estos interfieren en el metabolismo de las células mediante la inhibición de enzimas o productos inactivos de algún proceso donde estas intervengan, son dependientes de la interfase o fase S (del inglés Synthesis, en esta fase se produce la síntesis de ADN) de división celular.

Antibióticos: Estas moléculas actúan mediante la intercalación del Ácido Desoxirribonucleico en el proceso de replicación y transcripción evitando el avance de la topoisomerasa II.

Venenos del huso: Son agentes mitostáticos, se conjugan a la tubulina o favorece la polimerización excesiva de esta, dando lugar a una inhibición o termino incorrecto de la mitosis; dependen particularmente de Fase M del ciclo celular (Lanore, 2004).

Los momentos de actuación de los distintos tipos de fármacos se resumen en el figura 1.

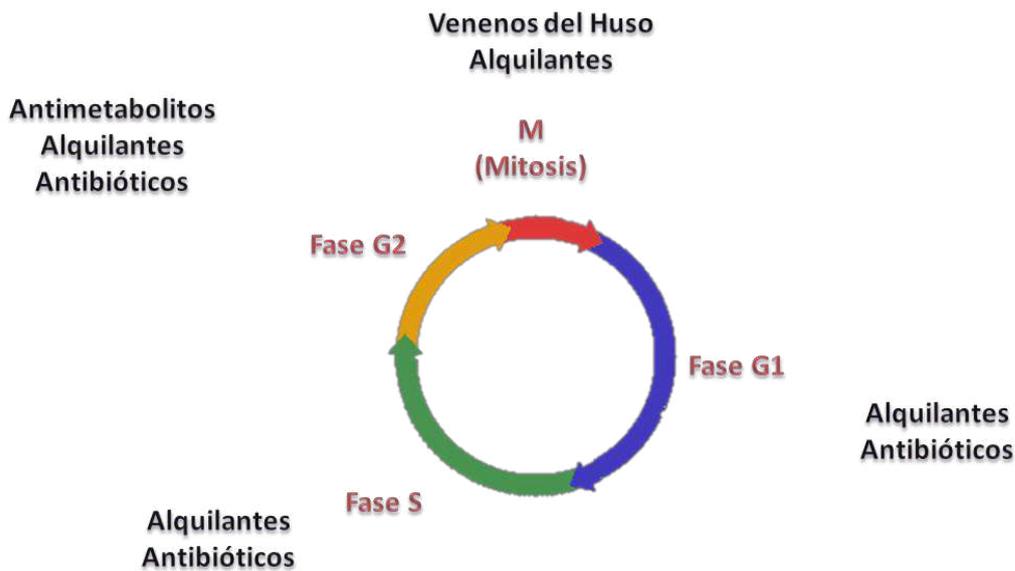


Figura 1. Momento de actuación de los diferentes fármacos en el ciclo celular (Lanore, 2004).

Actualmente existen más de 100 agentes que se utilizan como fármacos antineoplásicos y muchos más se están investigando. El cuadro básico de medicamentos del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) en el grupo de Oncología cuenta con aproximadamente 75 de estos 100 agentes utilizado mundialmente (IMSS, 2012). La Organización Mundial de la Salud (OMS), en el World Cancer Report del 2008, reportó los principales agentes quimioterapéuticos utilizados para el tratamiento de esta enfermedad, los cuales se muestran en la tabla 2 (WHO, 2008).

Tabla 2. Fármacos antineoplásicos más comunes en el uso clínico (WHO, 2008)

Fármacos alquilantes.	Antibióticos citotóxicos	Antimetabolitos y terapia relacionada	Alcaloides de la vinca y etopósido	Otros
Ciclofosfamida	Bleomicina	Citarabina	Vinblastina	Asparaginasa
Clorambucilo	Doxorrubicina	Fluorouracilo	Vincristina	Cisplatino y otros análogos de platino
	Dactinomicina	Mercaptopurina	Etopósido	Dacarbazina
	Daunorrubicina	Metotrexato		Procarbazina
		Folinato de calcio		

El conjunto de fármacos citotóxicos disponibles en la terapéutica oncológica es extensa, sin embargo los compuestos organometálicos como el *cis*-platino y *carbo*-platino han ganado un lugar importante en quimioterapia combinada contra diversos tipos de cáncer como el de testículos, ovario y vejiga (Macdonald, 2005). Este tipo de moléculas ofrecen un gran potencial y una versatilidad única enfocada en el desarrollo de nuevas entidades que ofrecen una diversidad química y farmacológica impresionante. Con el descubrimiento de la actividad antitumoral en ratones del acetato de trifenilestaño en 1972 (Pizarro, 2010) se han realizado diversas investigaciones donde se han demostrado una elevada actividad antitumoral de los complejos de estaño (Tabassum, 2006), en especial los carboxilatos de estaño (Gielen, 2002).

3.3 Compuestos organoestañados con actividad biológica

Las propiedades biocidas de los compuestos organoestañados en general y particularmente en los que presentan tri-sustitución fueron descubiertos por Van der Kerkan en el Instituto de Ciencias Ambientales, Investigación de Energías e Innovación de los Procesos de los Países Bajos (TNO Institute) y más tarde en los años 50's por Utrecht. El primer compuesto con aplicación biocida que se usó fue el óxido de bis (tributilestaño) (TBTO por sus siglas en inglés) como un conservador

de la madera; que se impregnaba a esta y protegía efectivamente de hongos e insectos, sin embargo poco después con el uso de agua como solvente hizo posible el uso de sales cuaternarias de amonio y el desarrollo de biocidas más solubles como los metasulfonatos trialkylestano y la tributyl mesilimida. La segunda utilidad biocida más importante de este tipo de compuestos fueron las pinturas antiin crustantes y revestimientos para la protección de cascos de buques contra organismos, así se estima que la marina de Estados Unidos se ahorró cerca de 150 millones de dólares usando esta tecnología (Thoonen, 2004).

La extensiva investigación e innovación, nos ha llevado a la utilización rutinaria de este tipo de compuestos en aplicaciones comerciales y biomédicas (Sheeraz, 2008), pero hasta hace apenas algunos años los carboxilatos de estaños se han investigado como excelentes candidatos para fármacos citotóxicos con una alta actividad antitumoral (Gielen, 2002). Estos compuestos presentan una menor toxicidad que los fármacos con platino y una resistencia no cruzada con estos (Hodge, 1979).

Los compuestos organestaños han sido probados y han obtenido resultados favorables, haciendo de estos compuestos una alternativa viable en la terapia contra el cáncer.

3.4 Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato

El Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato (Figura 2) se sintetiza a partir del ácido 3,4(dioxi metil) fenilacético con Acetato de n-tributilestano u óxido del bis-tributilestano mediante reflujo en benceno o tolueno. Presenta un esqueleto bicíclico encontrado en estructuras de inhibidores de la fosfodiesterasa y en algunos fármacos antitumorales para el tratamiento de hiperplasia prostática (Camacho, 2000).

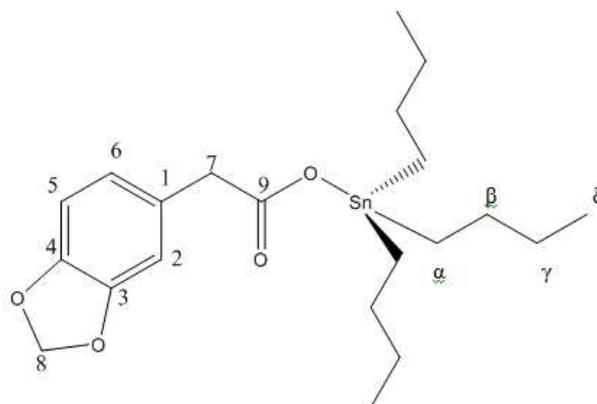


Figura 2: Fórmula estructural del tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato (Camacho, 2000).

3.4.1 Propiedades fisicoquímicas

El Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato es un polvo amarillo ambarino con cristales no muy definidos, debido a que los cristales presentan una estructura polimérica de tipo zigzag (Gielen, 2001) que implican enlaces con los grupos carboxilatos donde el átomo de estaño presenta una geometría de bipirámide-trigonal distorsionada fuera del plano del C3 (Sharma, 2006), esta pentacoordinado con los carbonos C10, C14 y C18 formando el plano ecuatorial y los átomos de oxígeno O1 y O2i en las posiciones axiales, donde este último proviene de otra molécula(Figura 3). Su peso molecular es de 483.23 g/mol; es moderadamente soluble en agua y etanol, soluble en metanol y poco soluble en n-hexano. Con un pKa de 2.13 y un LogP aparente de 2.3, su temperatura de fusión es de 57 °C.

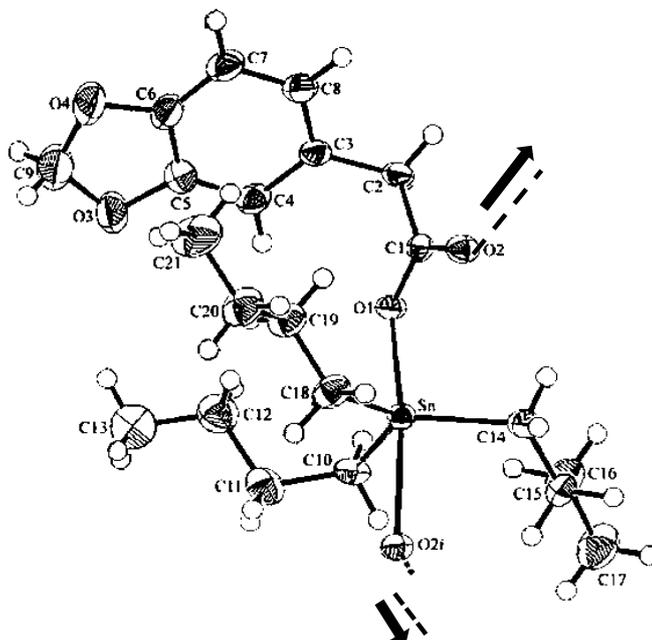


Figura 3: Estructura cristalina en zigzag del tri-n-butil estaño 3,4-(dióxido metil) fenilacetato. (Gielen, 2001)

3.4.2 Propiedades citotóxicas

El Tri-n butil estaño 3,4-(metil dióxido) fenilacetato ha demostrado en pruebas *in vitro* una potencial eficacia en 7 líneas celulares de origen humano: cáncer mamario (MCF-7, EVSA-T), cáncer de colón (WiDr), cáncer de ovario (IGROV), melanoma (M19), cáncer renal (MEL A498) y de pulmón (H2265) e incluso una mayor potencia que otros citotóxicos utilizados en la terapia como Cis platino, 5- fluoracilo y epóxido (Camacho, 2000).

3.5 Sistemas poliméricos de transporte y liberación de fármacos

El estudio teórico y tecnológico de sistemas de liberación controlada de fármacos muestra desde comienzos de la década del 80' hasta la fecha un desarrollo e interés impresionante, como lo demuestra una inmensa cantidad de trabajos publicados (Andreetta, 2003). Todas estas nuevas tecnologías tienen un fin

en común: dirigir el fármaco a su sitio de acción, un efecto farmacológico óptimo y la disminución de los efectos adversos (Ramos, 2000). Visto desde el punto de vista tecnológico y biofarmacéutico tienen múltiples ventajas:

- -Protección del activo contra la inactivación (química, enzimática o inmunológica), desde el lugar de administración hasta la biofase.
- -Incremento de la vida media del fármaco en circulación.
- -Alteración de las características de solubilidad del activo.
- -Disminución de la toxicidad para ciertos órganos por modificación de la distribución tisular del principio activo.
- Los materiales ocupados carecen de toxicidad, son biodegradables y biocompatibles (Reddy, 2008)

Por tanto muchos productos se han desarrollado basados en varios mecanismos y tipos de fabricación para el tratamiento de diversas enfermedades. Los parches transdérmicos, tabletas con bombas osmóticas y sistemas parenterales de liberación controlada son solo algunos de los éxitos de estas tecnologías (Kim, 2000). En la mayoría de los sistemas de liberación controlada, el fármaco, pesticida o cualquier otro agente biológico, se introduce en el interior de lo que se denomina transportador, siendo éste generalmente un material polimérico (Paolino, 2006).

Los sistemas de liberación de fármacos se clasifican en base a su magnitud estructural considerándose dos grandes grupos: sistemas macromoleculares y sistemas de tamaño de partícula (Kaparissides, 2006)

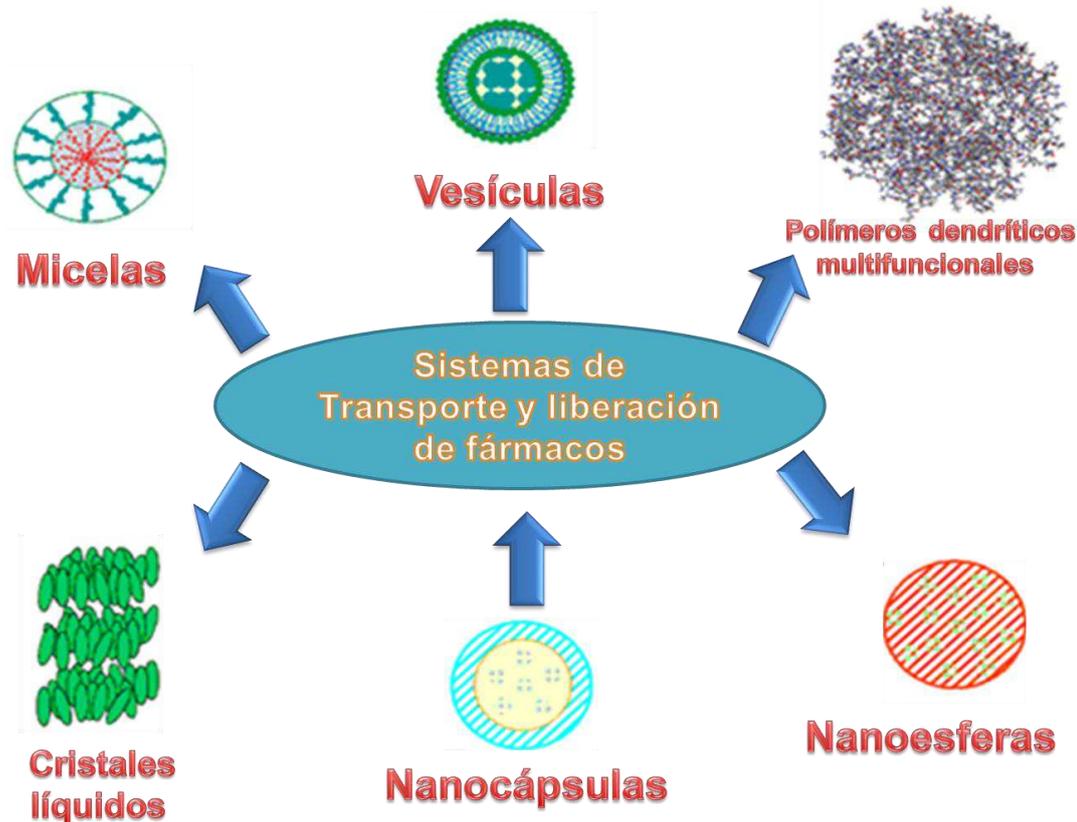


Figura 4. Sistemas de Transporte y liberación de fármacos (Kaparissides, 2006).

3.5.1 Sistemas macromoleculares

Los sistemas macromoleculares pueden ser moléculas de origen natural, como ácidos nucleicos, inmunoglobulinas, anticuerpos, eritrocitos, proteínas y moléculas sintéticas como polímeros de alcohol vinilo y derivados (polivinilpirrolidona), así como polipéptidos de alanina y tiroxina o de lisina. Estos transportadores pueden reducir la toxicidad intrínseca de ciertos fármacos, pero estos transportadores sólo presentan una capacidad de unión limitada a un reducido número de agentes, o unión fármaco-transportador es irreversible.

3.5.2 Sistemas de tamaño de partícula.

Los sistemas matriciales de tamaño de partícula más utilizados son los de tipo monolítico como: Nanoesferas, microesferas; y de tipo reservorio:

Nanocápsulas, microcápsulas, niosomas, liposomas y polimerosomas (Figura 5) (Airifin, 2005).

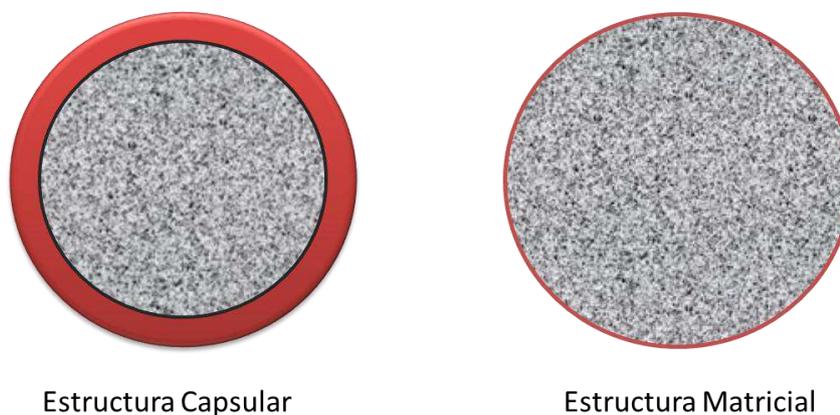


Figura 5. Tipos de sistemas particulados (Sáez, 2007)

3.5.2.1 Sistemas tipo reservorio

Las estructuras más simples de estos sistemas están compuestas por dos elementos: Membrana de material polimérico o lipídico que sirve como barrera de protección y que engloba un núcleo líquido u otro tipo de material (Dash, 2010). Esta membrana controla la migración del fármaco o solvente entre el ambiente interno y exterior mediante permeabilidad de la membrana, formación de poros o degradación de la misma (Kim, 2000).

3.5.2.2 Sistemas matriciales

En este tipo de sistemas el fármaco encapsulado está disuelto o disperso como partículas discretas dentro de la matriz, ambos casos dependen de la solubilidad del fármaco en el polímero. La velocidad de disolución del fármaco en la mayoría de estos sistemas depende mucho de la naturaleza y propiedades fisicoquímicas del polímero (Temperatura de transición vítrea, peso molecular, entrecruzamiento, etcétera), aditivos, el fármaco y la geometría; a su vez es gobernada por la penetración del solvente en la matriz polimérica (Kim, 2000).

3.5.3 Microesferas

Las microesferas se han utilizado exitosamente para encapsular una amplia variedad de principios activos, incluyendo citostáticos (Ike, 1992), antiinflamatorios (Bazzo, 2008), péptidos (Hermann, 1993) y hormonas (Ogawa, 1989), entre otros. Las microesferas son partículas esféricas con un tamaño comprendido entre 1 y 2000 μm , son análogas de las microcápsulas pero sin una distinción clara entre cubierta y núcleo (estructura monolítica), el fármaco queda incorporado dentro de la matriz polimérica y cuenta con un intervalo extenso de velocidades de liberación y propiedades de degradación (Sáez, 2004).

Las características de una microesfera ideal serían: selectividad por el tejido diana, biocompatible, sistema de liberación del fármaco sea controlada y sostenida (Ramos, 2000).

3.5.3.1 Métodos de Preparación

Existen diversos métodos para la producción de microesferas. La elección de la técnica de microencapsulación se realiza principalmente en base a las características fisicoquímicas del polímero, del principio activo y la vía de administración (Prasanth, 2011). En general se pueden dividir en dos grupos:

- Procesos físicos: Secado por aspersión,
- Procesos fisicoquímicos: Polimerización por emulsión, coacervación y gelificación iónica (Martín, 2009)

a) Secado por aspersión

Esta técnica consiste en la transformación de un fluido en material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un ambiente caliente para que se produzca la solidificación del material polimérico seguido de la rápida evaporación del solvente (Mathew, 2008).

b) Polimerización por emulsión:

En esta clasificación se engloban todos los procesos en el que se produce polimerización de algún monómero en una de las fases de la emulsión mediante

la adición de un iniciador, cambio de pH, aumento de temperatura o fuerzas mecánicas entre otros factores en el microambiente de polimerización (Dandagi, 2007, Trivedi, 2008).

c) Coacervación

Este método se basa en la separación de fases, formando un sistema ternario donde las fases son químicamente inmiscibles (una fase líquida o fase continua, un material a encapsular y un material de solidificación).

Con esta técnica, se pueden obtener microcápsulas esféricas muy pequeñas, de hasta de 4 μm y con una carga de material a encapsular de alrededor del 90% (Murtaza, 2009).

d) Gelificación iónica

Esa técnica se basa en la liberación del ion calcio desde un complejo insoluble en una solución de alginato de sodio. Este método se lleva a cabo por acidificación de un sistema aceite-ácido soluble, con la participación en la fase acuosa del alginato (Giunchedi, 1994).

3.6 Mecanismos de liberación de fármacos de matrices poliméricas.

El comportamiento de liberación de fármacos es el resultado del fenómeno de difusión en el polímero y de restricciones de transferencia de masa en la interfase polímero/líquido (Sáez, 2004), además de otros mecanismos que controlan la velocidad de liberación ya sea mediante osmosis, cambio iónico o por degradación/hinchamiento de la matriz (Langer, 1990, Langer 1993)

3.6.1 Liberación de fármacos en sistemas poliméricos no degradables

El mecanismo de difusión en sistemas tipo reservorio está gobernado por la barrera de difusión, la liberación es constante y obedece una cinética de orden cero, tanto para geometrías planas, como para cilíndricas y esféricas (Sáez, 2004). En contraste a los sistemas monolíticos donde el fármaco puede estar dispersado o

disuelto dentro de la matriz, la difusión del fármaco a través de la matriz polimérica es el paso limitante, por tanto la velocidad de liberación es determinada por la elección del polímero y esto tiene un efecto consecuente en la difusión y el coeficiente de partición del fármaco (Baker, 1987).

El tratamiento matemático de la difusión también depende del tipo de inclusión del fármaco en la matriz polimérica, si el fármaco está disuelto en la matriz, la liberación sigue la ley de Fick. La siguiente ecuación describe la liberación de fármacos a partir de una matriz en forma de bloque:

$$\frac{M_t}{M_0} = 4 \frac{Dt}{\pi h^2}^{1/2} \quad (1)$$

M_t/M_0 es la fracción liberada del fármaco, D es el coeficiente difusional del fármaco en la matriz, (h) es el espesor del bloque y (t) es el tiempo. Esta ecuación es válida hasta el 60 % del fármaco liberado, ya que posteriormente la velocidad de liberación sigue una cinética de primer orden. La razón para la disminución de la velocidad de liberación es que el recorrido de difusión aumenta de forma continua (Park, 1993, Yao, 2010). Este problema puede evitarse mediante el uso de una geometría especial que proporciona un aumento de área superficial con el tiempo (Langer, 1980).

Higuchi desarrolló una ecuación para matrices de liberación donde el fármaco está disperso y este difunde a través de un polímero no poroso. La liberación del fármaco no solo es afectada por la geometría de la matriz, también es afectada por la concentración del fármaco. La liberación del fármaco tiene una cinética de $t^{1/2}$ hasta que la concentración en la matriz disminuya por debajo del valor de saturación ($C_0 \gg C_s$) (Siepmann, 2001).

$$\frac{dM_t}{dt} = \frac{A}{2} \frac{2DC_sC_0}{t}^{1/2} \quad (2)$$

En esta ecuación dM/dt es la velocidad de liberación del fármaco, A es el área total del bloque (ambos lados), D es el coeficiente de difusión del fármaco en la matriz, C_s es la solubilidad del fármaco en la matriz, C_0 es la cantidad total de fármaco (disuelta y dispersa) por unidad de volumen dentro de la matriz y es tiempo. En los sistemas monolíticos donde el exceso de fármaco esta dispersión, la velocidad de liberación incrementa con el aumento de la concentración del mismo. La ecuación 5 predice la liberación de manera eficiente en sistemas que contengan 5 a 10 por ciento del volumen del fármaco (Dash, 2010).

La difusión a través de matrices porosas es descrita por la segunda forma de la ecuación de Higuchi:

$$Q = \frac{D\varepsilon}{\tau} (2C_0 - \varepsilon C_s) C_s t^{1/2} \quad (3)$$

En este caso el aumento de la liberación de fármaco por unidad de área de a la matriz Q , depende del coeficiente de difusión (D), solubilidad (C_s) y la cantidad de total de fármaco en la matriz, esto es mediante unidad de volumen de la matriz (C_0) por tiempo (t) y otras factores importantes como el factor de porosidad (ε) y de tortuosidad (τ) de la matriz polimérica (Baker 1987, Dash, 2010).

3.6.2 Liberación en sistemas activados por disolvente

En este tipo de sistemas el fármaco está disuelto o disperso en la matriz o cubierto por un polímero, generalmente el fármaco no difunde a través de la matriz. La permeación del medio de disolución controla el comportamiento y velocidad del fármaco en estos sistemas. Existen de forma preponderante de dos tipos: los osmóticos y los de hinchamiento de la matriz. La liberación a partir de sistemas de hinchamiento sigue la ley de Fick, cuando la penetración de agua en el polímero es rápida en comparación con la difusión del fármaco, mientras que la difusión no-Fickiana se logra cuando la difusión del fármaco y la relajación del polímero inducida por disolvente están en el mismo intervalo. Cuando la difusión del fármaco es rápida en comparación con la relajación e hinchamiento del polímero debido a la

permeación del disolvente se consigue una cinética de liberación de orden cero en este caso aplica para los fármacos del tipo II (Baker, 1987), donde son altamente permeables con una baja solubilidad (FDA, 2000). Los sistemas osmóticos son construidos por la inclusión del fármaco en una membrana semipermeable equipada con un orificio. La velocidad de liberación del fármaco es gobernada por la naturaleza de la membrana y de la actividad osmótica del núcleo. Una liberación constante es mantenida tan prolongada como el núcleo este saturado del fármaco (Leong, 1987).

3.6.3 Liberación en sistemas biodegradables

El mecanismo de biodegradación y liberación de fármacos de este tipo de sistemas son descritos en términos de tres parámetros básicos.

- Tipo de unión hidrolítica en el sistema
- Posición del grupo lábil en el polímero
- La inclusión del fármaco en el sistema: unión química a la cadena polimérica, dispersado o disuelto.

La liberación de en estos sistemas es controlada por difusión o degradación y por una combinación de ambas. Existen dos tipos de erosión en este tipo de matrices: Degradación homogénea y degradación heterogénea (erosión de la superficie). Estos son los casos extremos y muchos sistemas están constituidos de los dos tipos de mecanismos (Siepmann, 2001). El proceso de degradación es mediante la escisión de la cadena polimérica principal, esta conlleva a la reducción del tamaño de esta cadena, mientras que la erosión es la pérdida de masa de la matriz del polímero (Göpferich, 1997).

La degradación homogénea es el mecanismo más común para estos sistemas, donde el polímero se degrada homogéneamente por toda la matriz mediante hidrolisis y se explica mediante la pérdida de peso molecular de todo el sistema en primera instancia, seguido por una pérdida de masa cuando el peso molecular de las cadenas se ha reducido a 15 000 g/mol o menos (Pitt, 1981). Por

tanto la velocidad de degradación puede ser modificada cambiando la composición del matriz, pero no por el cambio de tamaño o forma (González, 2009).

La liberación de fármacos en estos sistemas puede ser gobernada por las ecuaciones derivadas para sistemas de difusión simple si el fármaco difunde rápidamente antes de que la degradación de la matriz comience. Sin embargo, este tipo de degradación causa dificultades en la velocidad de liberación debido a los cambios estructurales del polímero en el proceso de degradación. A medida que el polímero comienza a perder masa, la velocidad de liberación aumenta debido a que los mecanismos de difusión y erosión del polímero se hacen de manera simultánea (Ritch, 2000).

Los sistemas con degradación heterogénea pierden el material de la superficie y el grado de erosión es dependiente del área superficial y la geometría del sistema. El peso molecular del polímero generalmente no tiene un cambio significativo en función del tiempo (Baker, 1987), Sin embargo la erosión de la superficie requiere que la velocidad de degradación de esta sea mucho más rápida que la velocidad de penetración de agua en la matriz (Langer, 1990).

3.6.4 Tratamiento empírico para describir la liberación de fármacos

Para simplificar el análisis de los datos de liberación a partir de sistemas poliméricos de geometría variable, una expresión empírica, exponencial fue propuesta por Korsmeyer en 1983 (Korsmeyer, 1983) y Peppas en 1985 (Ritger, 1987) para relacionar la fracción liberada del fármaco en un tiempo determinado (Ecuación 4). Esta ecuación nace del intento de explicar mecanismos de liberación de fármacos donde se presenta erosión o disolución de la matriz, y es fundamentalmente una forma generalizada de la ecuación de Higuchi (Aragón, 2009) que se expresa como:

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n \quad (4)$$

Donde M_t/M_∞ es la fracción de soluto que se ha liberado a un tiempo t y K es una constante que incorpora características estructurales y geométricas del sistema de liberación y n es el exponente que indica el mecanismo de liberación del fármaco (Ritger, 1987). Esta predice que la fracción liberada del fármaco esta exponencialmente relacionado con el tiempo de liberación y describe adecuadamente la liberación a partir de bloques, esferas, cilindros y discos de matrices con o sin hinchamiento por solvente, esto se describe en la tabla 3. Cuando el valor de n es de 0.5 la liberación del fármaco sigue un mecanismo de difusión de tipo Fickiano o transporte caso I. Una difusión no Fickiana se produce cuando los valores de n son mayores que 0.5 y menores de 1 (Aragón, 2009).

En los casos donde el sistema de liberación es un material poroso, la constante n puede tomar valores menores que 0,50, puesto que se combinan los mecanismos de difusión parcial a través de una matriz hinchada y a través de los poros llenos de agua (Doadrio, 2008). Además, valores de $n < 0,50$ denotan la existencia de otro proceso simultáneo al proceso de difusión. No obstante, Peppas sugiere que esta expresión podría aplicarse para el análisis fenomenológico de cualquier mecanismo de liberación, independientemente del mecanismo molecular específico de transporte del fármaco (Korsmeyer, 1983).

Tabla 3: Exponente y mecanismos de liberación difusional de sistemas de liberación cilíndricos y esféricos con o sin hinchamiento (Peppas, 1985, Ritger, 1987).

Sistema	Exponente difusional (n)	Mecanismo de liberación
Sin hinchamiento	< 0.5	Liberación a través de material poroso
	0.5	Difusión tipo Fickiana.
	0.5- 1.0	Transporte no-Fickiano.
	1.0	Orden Cero.
Con hinchamiento	0.45	Difusión tipo Fickiana.
	0.45-0.89	Transporte no-Fickiano.
	0.89	Transporte Caso II.
	>1	Super Transporte Caso II.

3.7 Proceso sol-gel

El método sol-gel se desarrolló desde hace más de 40 años como una alternativa tecnológica para la preparación de vidrios y cerámicos a temperaturas considerablemente bajas (Ramírez, 2010). Este proceso en la actualidad es utilizado para la producción de diversos materiales como: fibras, recubrimientos, nanoesferas, microesferas, películas y monolitos con propiedades muy controladas (Wright, 2001). Además este proceso se clasifica dentro de los llamados procedimientos suaves de síntesis de materiales, ya que se puede trabajar a temperaturas muy bajas (Ramírez, 2010). Esta técnica nos brinda la posibilidad de inmovilizar, estabilizar y encapsular moléculas biológicas tales como enzimas, anticuerpos, microorganismos y una gran variedad de fármacos (Hernández, 2007).

El uso de esta técnica de síntesis permite, dadas la alta homogeneidad y tamaño de partícula a escala molecular de los materiales de partida, que se alcance el estado de equilibrio con mayor facilidad, así como un control adecuado de las condiciones de síntesis, nuevos materiales difícilmente accesibles por otras vías (Sakka, 2004). Además que ofrece muchas ventajas en la encapsulación o inclusión de activos frente a otro tipo de matrices poliméricas de uso similar:

1. Son estables térmica, química y fotométricamente
2. Las moléculas encapsuladas se protegen mejor
3. La mayoría de este tipo de compuestos son transparentes incluso en la región de Luz ultravioleta (UV)
4. Las moléculas pueden estar atrapadas dentro de la matriz durante un largo periodo de tiempo (Matsui, 2004).

3.7.1 Bases del proceso sol-gel

El proceso sol-gel consiste básicamente en la formación de redes en forma de gel compuestas por elementos inorgánicos obtenidos a través de dos reacciones químicas simultáneas que son la hidrólisis y condensación a partir de una solución homogénea o sol del precursor (alcóxido), solvente, agua y un catalizador (Ramírez,

2010). Un sol es una dispersión de partículas coloidales de un líquido donde las partículas son suficientemente pequeñas para permanecer suspendidas por movimiento Browniano, estas partículas inicialmente de tamaño coloidal presentan diámetros de 1-100 nanómetros (Martínez, 1999). Un gel es un sólido consistente de al menos dos fases: una fase sólida que forma una red que atrapa e inmoviliza a una fase líquida (González, 2000).

Los precursores más comúnmente utilizados en el proceso sol-gel son los alcóxidos metálicos o alcoxisilanos. Estos reaccionan con agua a través de las reacciones de hidrólisis y condensación (polimerización) hasta conducir a un óxido metálico amorfo, el alcohol producido durante la reacción de hidrólisis se remueve fácilmente durante el proceso (Böttcher, 1988).

El producto inicial de las transiciones sol-gel se conoce como alcogel, después de esta transición, la fase solvente se remueve de los poros de la red interconectada. Si se remueve mediante un tratamiento térmico convencional, el resultado es un xerogel. Si se remueve a través de evacuación supercrítica, el resultado es un aerogel (Woignier, 2006), así mismo si se liofiliza obtenemos un criogel (Quintanar, 2009); estos diferentes tipos de estructuras se muestran en el figura 6.

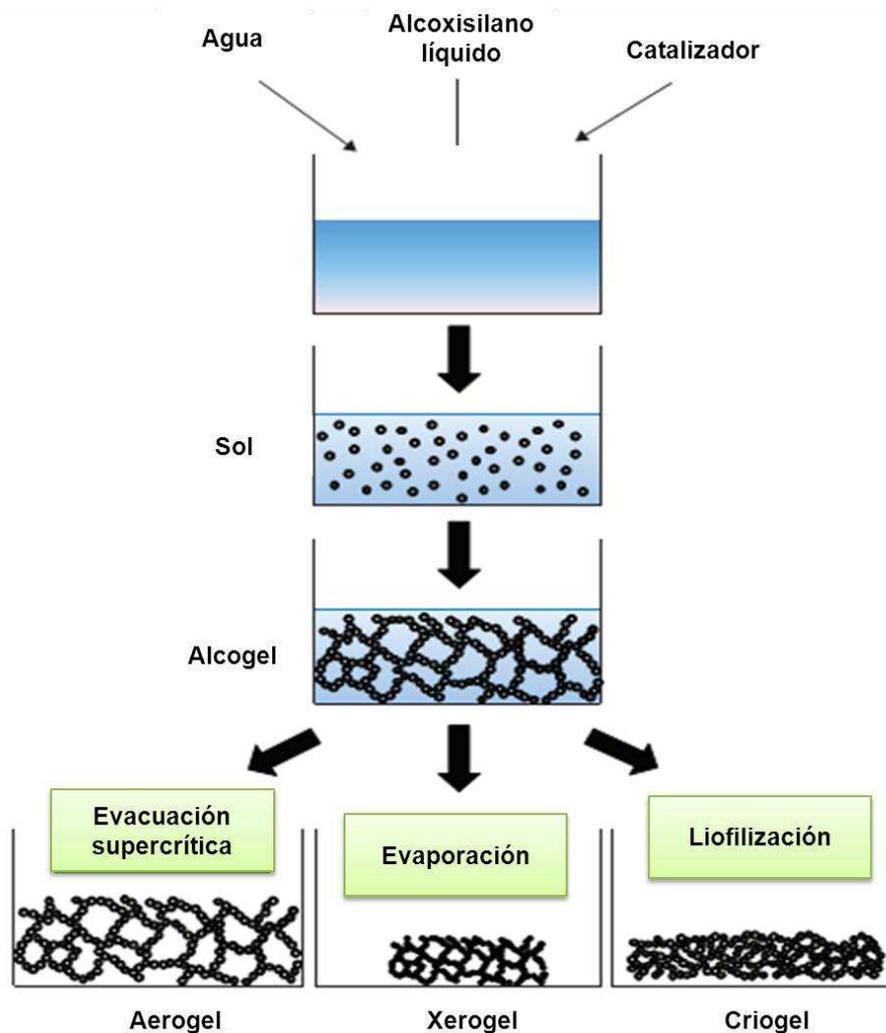


Figura 6: Resumen de los procesos de formación de distintas formas con la tecnología sol-gel (Quintanar, 2000).

3.7.2 Reacciones del proceso sol-gel.

En el inicio del proceso sol-gel existen la hidrólisis y la condensación de manera simultánea, las principales variables que controlan la polimerización mediante el crecimiento y agregación de especies sol/silicato a través de la transición desde un sol hasta el estado gel son:

1. Tipo de alcoxilano y su funcionalidad
2. Tipo de catalizador (OH o H⁺)

3. La razón agua/alcóxido (R) (Brinker, 1990)

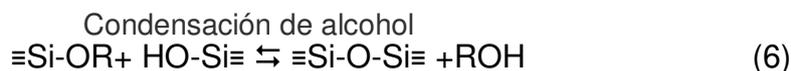
El resultado de estas reacciones es la formación del gel o el proceso denominado gelación, en el cual hay un cambio de viscosidad en el medio y la reacción predominante es la condensación. Finalmente los procesos de envejecimiento, secado y densificación son opcionales y dependen del tipo de material a crear (Wright, 2001).

3.7.2.1 Hidrólisis y condensación

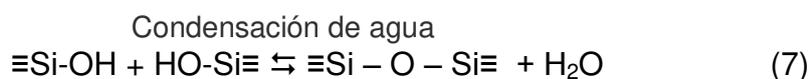
Las reacciones de hidrólisis y policondensación inician en numerosos sitios dentro del sol del alcoxilano y agua cuando la mezcla ocurre. Ambas, hidrólisis y condensación, pueden ocurrir mediante ácidos o bases que catalizan reacciones de sustitución bimoleculares nucleofílicas por ataque nucleofílico de los átomos de oxígeno del agua sobre los átomos de silicio (Araujo, 2000). A nivel de grupo funcional molecular el proceso se resume en tres reacciones:



Esterificación



Alcoholólisis



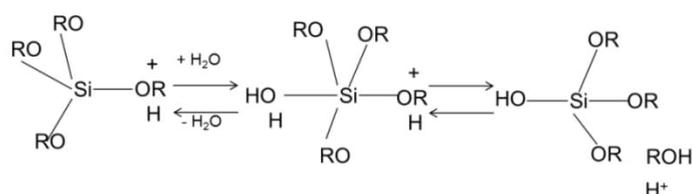
Hidrólisis

Donde R es un grupo alquilo ($\text{C}_x\text{H}_{2x+1}$), el producto intermedio de la reacción de hidrólisis que existe como resultado de una hidrólisis parcial, incluye grupos Si-OH, los cuales son llamados silanoles. La hidrólisis completa de $\text{Si}(\text{OR})_4$ a $\text{Si}(\text{OH})_4$ daría ácido silícico, pero esto no ocurre. En su lugar las reacciones de condensación pueden ocurrir entre cualquiera de los dos silanoles o un silanol y un grupo etoxi

para formar un puente oxígeno o un grupo siloxano Si-O-Si (Reacción 7) (Brinker, 1990, Martínez, 1999).

El efecto de catálisis puede ser juzgado por la velocidad de reacción a diferentes valores de pH, los ácidos minerales y el amoniacó son los más generalmente usado en este proceso (Araujo, 2000). Los mecanismos de hidrólisis con catálisis ácida y con catálisis básica son resumidos en la siguiente figura:

Hidrólisis catálisis ácida



Hidrólisis catálisis básica

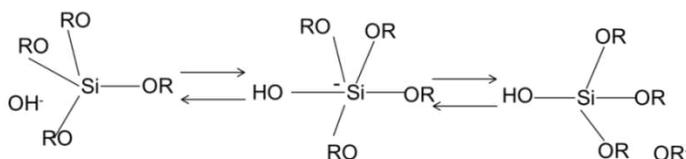


Figura 7: Mecanismos de hidrólisis en el proceso sol-gel (Martínez, 1999)

El mecanismo de catalización ácida está precedido por una rápida protonación de -OR o sustituyentes -OH enlazados a Si, mientras que bajo condiciones básicas, aniones hidroxilo o silonatos atacan directamente al Si. (Martínez, 1999).

Un factor importante en la hidrólisis y condensación es el grado molar Agua/Alcóxido (w), el factor estequiométrico para una hidrólisis completa es de 4. Sin embargo, se puede ocupar una menor cantidad de agua, debido a que la reacción de condensación produce agua, pero si la cantidad de esta es muy pequeña la velocidad de hidrólisis disminuye notablemente, de manera similar pasa

cuando hay grandes cantidades de agua, por tanto el tiempo de gelación aumenta (Wright, 2001).

Las reacciones de condensación simultáneas o posteriores a la hidrólisis son de gran importancia en la gelificación, ya que dependiendo de las condiciones a las cuales se lleva la preparación del material, ya que en condiciones ácidas la hidrólisis es lenta y la sílica tiende a formar moléculas lineales que ocasionalmente se entrelazan (Brinker, 1990), como se muestra en el figura 8. Estas cadenas de moléculas se enredan y forman ramificaciones adicionales resultantes que llevan a una gelación (Martínez, 1999). Bajo condiciones básicas la hidrólisis es rápida y se forman rápidamente cúmulos de ramificaciones que no son interpenetrables antes del secado y entonces se comportan como especies discretas (Martínez, 1999), como se muestra en el figura 9.

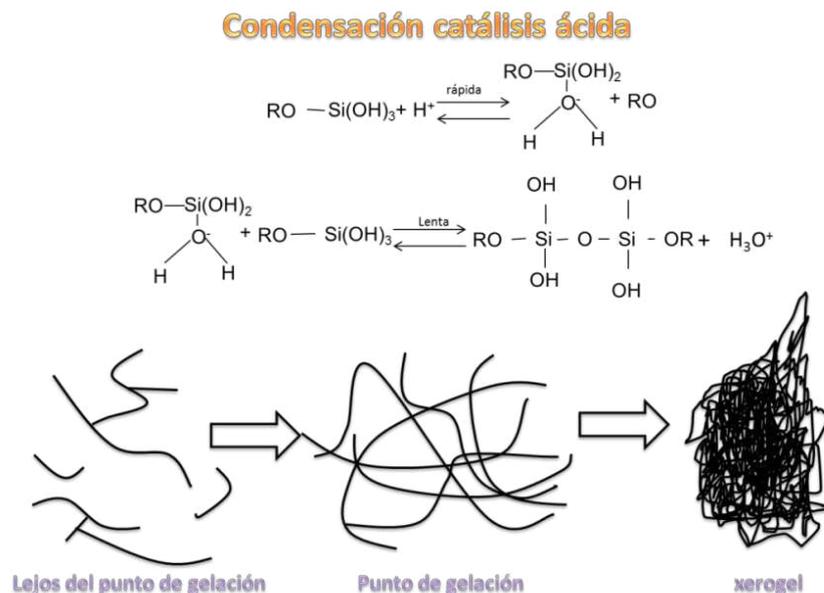


Figura 8. Mecanismo de condensación de Sílica mediante catálisis ácida (Martínez, 1999)

Condensación catálisis básica

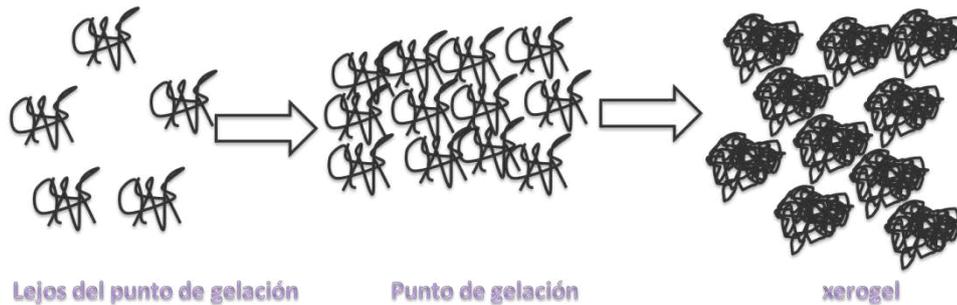
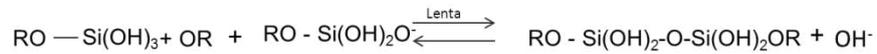
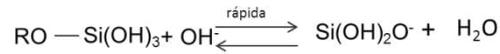


Figura 9. Mecanismo de condensación de Sílica mediante catálisis básica (Martínez, 1999)

3.7.3 Gelación

Cuando se forman suficientes enlaces interconectados Si-O-Si en una región, responden cooperativamente como si fueran partículas coloidales o soles. Con el tiempo las partículas coloidales y las especies de sílica condensada se unen para formar redes tridimensionales (González, 2000). En la gelación la viscosidad se incrementa de manera notable para finalmente formar un sólido que adopta la forma del recipiente o molde que contiene al material (Colby, 1986). El producto de este proceso y de las transiciones sol-gel es llamado alcogel (Martínez, 1999), el proceso se resumen en el figura 10.

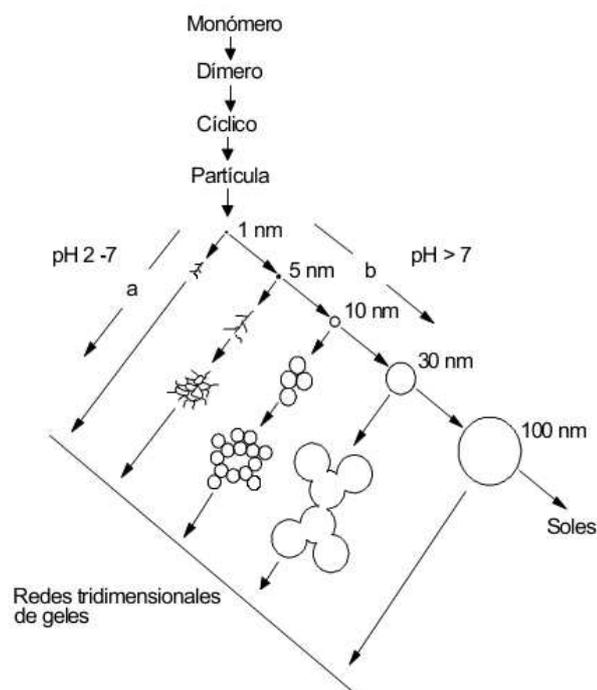


Figura 10. Representación esquemática del proceso sol-gel (González, 2000).

Las reacciones de policondensación continúan aún mucho tiempo después del punto de gelación, este proceso también llamado “envejecimiento”, consta del fortalecimiento, refuerzo y contracción de la red polimérica. Los procesos de disolución y reprecipitación pueden entorpecer la estructura del poro, y la separación puede ocurrir incluso en interfaces sólido-líquido, sólido-sólido y líquido-líquido. Además estos cambios tienen un profundo efecto en el proceso de secado y sinterización (Brinker, 1990).

3.7.4 Secado

El secado es una parte crítica en la síntesis sol-gel, ya que de este paso va a depender en gran medida las propiedades del material finalmente obtenido, este se describe como la operación de eliminación de agua o solventes de los poros del sólido, este se efectúa generalmente en el dominio de temperatura 30-150 °C. En esta etapa se producen transformaciones físicas, químicas y mecánicas las cuales modifican profundamente la estructura del gel (Rojas, 2012). Las partículas se

someten a fuertes tensiones capilares las cuales disminuyen con el incremento del diámetro del poro, este puede ser aumentado a través de la maduración o envejecimiento o sustitución de disolvente (Crossley, 1995). Durante este proceso se presenta una contracción considerable de la red hasta formar un gel de mayor resistencia, que se transformará posteriormente en un sólido (Partlow, 1985). El secado por evaporación convencional de un gel induce presión capilar asociada entre la interfase líquido-vapor con un poro. Durante la remoción del solvente se puede obtener como producto seco un xerogel o aerogel. Los aerogeles son obtenidos por secado a condiciones supercríticas para evacuar el fluido (solvente), son procesados por incremento de temperatura y presión arriba del punto crítico. Mientras que los xerogeles son obtenidos por la evaporación del solvente y agua hacia la atmósfera, mientras el líquido es evaporado, la estructura del gel se colapsa (Ramírez, 2010).

4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Uno de los retos en la terapia del cáncer es la dosificación óptima y vectorización del activo al sitio de acción. La aparición de nuevos fármacos que prometen ser más eficaces y específicos que los empleados actualmente, conlleva a nuevos retos tecnológicos. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de sistemas de liberación modificada que permitan a estos fármacos llegar al sitio de acción y mantener la cantidad necesaria durante el tiempo requerido. Debido a que el tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato es un fármaco prometedor en la terapéutica anticancerosa, se propone desarrollar un sistema biocompatible de liberación modificada para este compuesto mediante la técnica de sol-gel

5. HIPÓTESIS

Si el polímero inorgánico obtenido mediante el proceso sol-gel permite el desarrollo de matrices y de micropartículas que encapsulen al tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato entonces será capaz de liberar el fármaco de una manera controlada.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Diseñar y optimizar una matriz de SiO₂ biocompatible de liberación controlada y micropartículas que encapsulen y liberen un fármaco antitumoral de estaño.

6.2 Objetivos particulares

1. Síntesis del polímero inorgánico por la técnica de sol-gel para la elaboración de la matriz y de las micropartículas.
2. Caracterizar el material obtenido por Difracción de Rayos X (DRX), Microscopía electrónica de barrido (SEM) y Espectroscopía Infrarroja.
3. Diseñar y validar el método analítico del tri-n butil estaño 3,4- (metil dioxi) fenilacetato para el estudio de disolución *in vitro*.
4. Demostrar mediante estudios de disolución la liberación controlada del tri-n butil estaño 3,4- (metil dioxi) fenilacetato en la matriz y micropartículas.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Reactivos

El Tri-n butil estaño 3,4- (metil dioxi) fenilacetato y el agua bidestilada se obtuvieron del Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada. El Tetraetoxisilano se obtuvo de Sigma-Aldrich[®], Agua bidestilada, etanol anhidro, Ácido Clorhídrico, Ciclohexano, Span 80, fosfato monobásico de potasio, el fosfato dibásico de sodio y el ácido ortofosfórico se obtuvieron de J.T. Baker. El aceite vegetal fue de grado alimenticio.

7.2 Equipos

Calorímetro Diferencial de Barrido Perkin Elmer[®] DSC-9, Espectrofotómetro UV-Vis Varian[®] Cary 50Probe, Espectrofotómetro IR Perkin Elmer Spectrum RX-1.

7.3 Validación del método analítico.

El método de cuantificación fue validado utilizando los criterios de la guía de validación de métodos analíticos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C. Los criterios evaluados fueron linealidad del método y del sistema, precisión, exactitud y porcentaje de recobro.

Las concentraciones del Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato en las curvas de calibración se encuentran en el intervalo de 4 a 20 µg/mL y la calibración se construye graficando la relación de la concentración del fármaco en función de señal de respuesta (Absorbancia) tomando como blanco solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.4 en la cual fueron humectadas micropartículas sin fármaco.

7.4 Elaboración de matriz de liberación controlada

Este sistema sol-gel se compone de Tetraetoxisilano (TEOS), etanol (EtOH), Agua Bidestilada (H₂O), Ácido Clorhídrico (HCl) y Polietilenglicol 300 (PEG₃₀₀) este último como modificador de liberación y formación de una red polimérica orgánica-inorgánica con la siguiente relación molar: TEOS:EtOH:H₂O:HCl = 1:4:4:0.6 y

TEOS:PEG300 = $1:3.07 \times 10^{-4}$, $1:4.5 \times 10^{-3}$ y $1:2.25 \times 10^{-3}$. La cantidad de fármaco por sistema para la formación de la matriz fue de 2 mg.

La elaboración de la matriz de liberación prolongada se realizó mediante la mezcla de TEOS, Etanol, agua y PEG300 con agitación mecánica durante 30 minutos obteniéndose una solución clara que posteriormente se colocó en calentamiento a 80 °C con reflujo durante 2 horas. Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se agregó el fármaco con agitación mecánica durante 1 hora. Posteriormente, la solución se trasvasó a un molde de polipropileno de 2cm de diámetro y 1.5 cm de profundidad donde se llevó a secado a 40 °C con vacío durante 48 horas.

7.5 Elaboración de micropartículas cargadas con el fármaco

Se realizaron dos métodos diferentes para la encapsulación del fármaco en microesferas, los dos basados en la combinación de microemulsiones y la tecnología sol-gel.

7.5.1 Método con ciclohexano/span 80

El sistema sol-gel se compone de Tetaetoxisilano (TEOS), Etanol (EtOH), Agua Bidestilada (H₂O) y Ácido Clorhídrico (HCl) con la siguiente relación molar: TEOS:EtOH:H₂O:HCl = 1:4:4:0.6.

Adicionar el TEOS, agua, HCl, y etanol, mezclar con agitación a 300 rpm durante 30 minutos, al finalizar se obtiene una solución. Esta solución se dejó en reposo en un recipiente tapado durante 20 horas.

Pasado ese tiempo se adiciona el fármaco y mezcla por 4 horas más (Solución A). La fase continúa se prepara a partir de una dilución de Span 80 en ciclohexano con una concentración de 1% p/v y se agitó hasta obtener una solución clara amarillada (Solución B). Después de las 24 horas totales que se dejó envejeciendo la Solución A, esta se goteó lentamente en la fase continua (Solución B) con agitación a 500 rpm durante 1 hora.

Las micropartículas fueron separadas mediante filtración y lavadas con tres partes de ciclohexano para remover los restos del surfactante, posteriormente se secaron a temperatura ambiente durante 24 horas y después a 40 °C durante 3 días.

7.4.2 Método con aceite vegetal

Se realizó una mezcla con TEOS, HCl al 0.1 M y agua bidestilada con agitación a 300 rpm durante 90 minutos, se obtiene una solución homogénea con un pH final de 1 a 2 dependiendo de la cantidad adicionada de una solución de HCl 0.1 M, después de obtener el sol agregar el fármaco en solución a una concentración de 1.28 mg/mL con agitación mecánica a 300 rpm durante 30 minutos. Esta solución se agrega lentamente mediante goteo a la fase oleosa (aceite vegetal) en agitación a 600 o 840 rpm durante 90 minutos en una proporción de fase orgánica/Agua de 5 o 10. Pasado el tiempo las micropartículas obtenidas fueron separadas mediante filtración y enjuagadas con 3 partes de agua bidestilada. Después secar con vacío a 40 °C durante 24 horas.

7.6 Diseño Experimental

Se realizó un diseño factorial 2⁴, en este diseño los factores a evaluar fueron: el pH del sol, relación molar Agua/TEOS, velocidad de agitación (rpm) y relación O/W. Siendo la respuesta a evaluar el porcentaje de fármaco encapsulado. En la tabla 4 se muestra a mayor detalle los factores y niveles con los cuales se realizó el diseño factorial. El diseño, aleatorización de los experimentos y análisis estadístico fue realizado mediante el programa estadístico JMP 10.

Tabla 4. Factores y niveles del diseño factorial 2⁴.

Factores	Nivel bajo	Nivel Alto
pH del sol	1	2
Relación molar Agua/TEOS	4	6
Relación O/W	6	10
Velocidad de agitación (rpm)	600	840

7.7 Caracterización fisicoquímica de las micropartículas

7.7.1 Caracterización térmica

Se lleva a cabo la técnica de calorimetría diferencial de barrido en un equipo Perkin Elmer DSC-9 mediante calentamiento a una velocidad de 10 °C/minuto, en atmosfera inerte de Nitrógeno.

7.7.2 Tamaño de partícula

Se determinó mediante el análisis de un microscopio óptico marca Leitz equipado con un sistema de medición de 10 µm a 200 µm y un sistema de contraste de fases y luz polarizada a un aumento de 1200 X. Las fotografías de microscopio óptico fueron tomadas en ese mismo laboratorio con una cámara digital Sony modelo Cyber-shot DSCP10 de 2.1 megapíxeles.

7.7.3 Caracterización mediante Espectroscopia IR

Se caracterización en un Espectroscopio FT-IR Marca Perkin Elmer[®] Spectrum RX-1 mediante Barrido de 4000 a 400 cm⁻¹.

7.7.4 Encapsulación del fármaco

Se determinó mediante la cuantificación del fármaco no encapsulado, en los lavados de las micropartículas. Tomando una alícuota y leyendo al espectrofotómetro UV-Vis a una longitud de onda máxima de 286 nm.

7.8 Cinética de liberación del fármaco encapsulado en las microesferas.

En vasos enchaquetados con un sistema de calentamiento mediante recirculación de agua se colocó 100 ml de solución amortiguadora de fosfatos ajustada a pH 7.4 manteniendo la temperatura de esta a 37.5±0.5 °C se agregó 500 mg de micropartículas que contenían el fármaco se colocaron en agitación a 10 rpm durante 72 horas, obteniendo 3 mL de muestras con reposición de medio. Las alícuotas se leyeron a una longitud de onda de 286 nm, tomando como blanco un sistema de microesferas sin activo y mediante las mismas condiciones.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Validación del método analítico

El método resultó ser lineal, preciso y exacto en el rango de concentración de 4 a 20 $\mu\text{g/mL}$. Los parámetros principales de validación se resumen en la tabla 5.

Tabla 5 Parámetros de validación del método analítico

Linealidad del sistema		
Parámetro	Valor	Especificación
Coeficiente de determinación (r^2)	0.9994	$r^2 > 0.98$
Pendiente (m)	0.0079	-
Intercepto (b)	- 0.0047	-
Intervalo confianza para ordenada al origen (β_0)	-2.39 a 1.03	Debe incluir cero
Linealidad del método		
Coeficiente de determinación (r^2)	0.998	$R^2 > 0.98$
Intervalo de confianza para la pendiente (β_1)	0.96 a 1.03	Debe incluir 1
Intervalo de confianza para ordenada al origen (β_0)	0.33 a 0.46	Debe incluir cero
Coeficiente variación para regresión ($CV_{Y/X}$)	2.44	$< 3\%$
Intervalo de confianza para la media poblacional	99.53 a 102.39	Debe incluir el 100%
Precisión		
Inter-análisis (C.V)	1.60	$< 3\%$
Intra-análisis (C.V)	1.39	$< 3\%$
Exactitud		
Porcentaje de recobro	100.96	97-103 %
CV del porcentaje de recobro	1.85	$< 3 \%$

¶

En la figura 11 se muestra la curva de calibración de Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato a 286 nm.

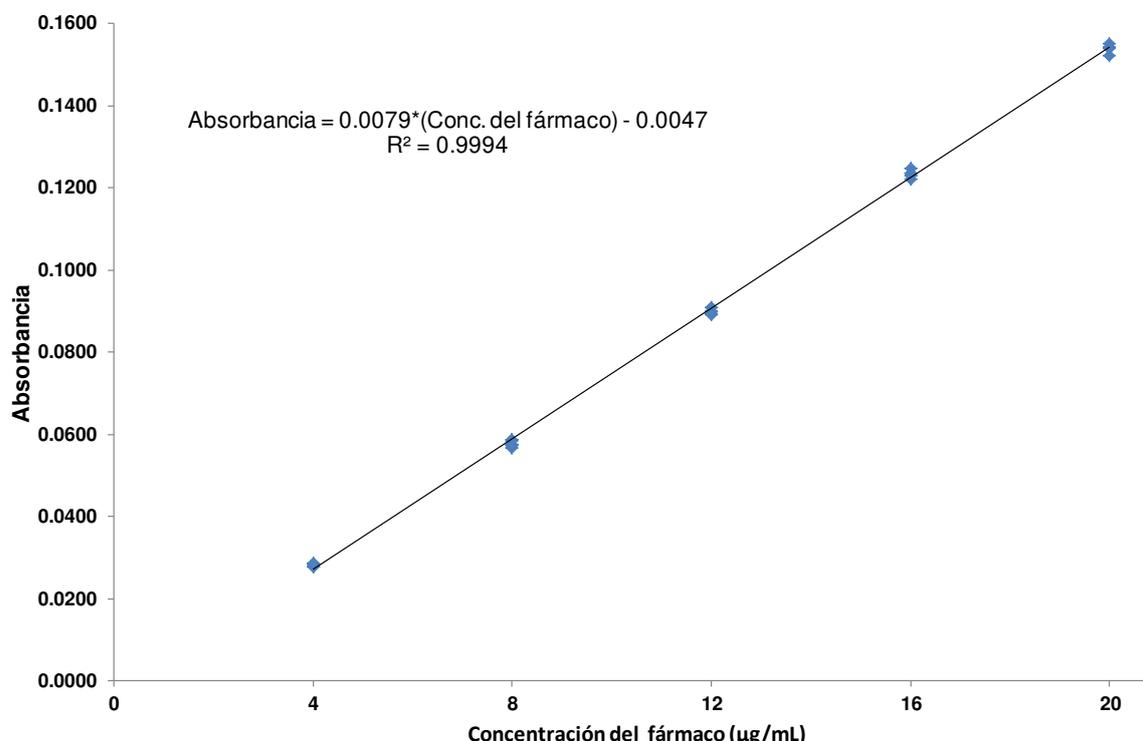


Figura 11. Curva de calibración de Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato.

8.2 Elaboración de la matriz de liberación controlada

Las matrices de liberación prolongada son estables físicamente después de 48 horas de secado no importando la relación molar TEOS:PEG₃₀₀, sin embargo a partir de que la matriz es retirada del molde estas comienzan a sufrir ruptura en bordes y posteriormente fragmentación total de la matriz. Esto se puede deber a dos factores importantes: el proceso de secado y el sinterizado que puede ser ineficiente aún para las cantidades mínimas empleadas de PEG₃₀₀ debido a que en este proceso el secado fue a 40 °C, por tanto el proceso de secado no fue lo suficientemente eficiente que evitara la oclusión de agua o etanol provocando así tensión en el ambiente microporoso del alcogel dando como resultado fragmentación como se muestra en la figura 12.



Figura 12. Matriz con fragmentación en bordes, 24 horas después de proceso de secado.

8.3 Elaboración de micropartículas

Los dos métodos de obtención de micropartículas comparten la unión de la tecnología sol-gel con la técnica de polimerización por emulsión mediante los cuales se obtuvieron micropartículas esféricas, el resultado de cada proceso se presenta a continuación.

8.3.1 Método con fase continua ciclohexano/span 80

Con este método se obtuvieron micropartículas de forma esférica con un diámetro menor a 100 μm , se decidió no proseguir con la optimización de esta técnica debido a problemas con el límite de cuantificación del fármaco presente en la fase continua (ciclohexano/Span 80) y el tiempo de reacción más largo.

8.3.2 Método con fase continua aceite vegetal

El método ocupado para la obtención de micropartículas está basado en uno propuesto por Radin y col, modificando la hidrólisis ácido-base de dos pasos por solo la hidrólisis ácida. La cantidad de fármaco agregada al sol fue disminuida debido a que el fármaco juega un papel importante en el proceso de gelación, ya que a una concentración ≥ 12 mg/mL el sol comienza a tener un rápido proceso de gelación, esta actividad catalizadora es posiblemente a causa de la captación del etanol generado en el proceso sol-gel para la solvatación del fármaco. Este proceso

desestabiliza el equilibrio de las reacciones en el sistema sol-gel, disminuyendo en gran medida el proceso de re-esterificación y aumentando así el proceso de condensación que es desfavorecida a pH ácido (Milea, 2011). Se descarta el aumento de velocidad de gelación por cambio de pH debido a que en soles con una concentración de 10 mg/mL de fármaco el cambio de pH en el sol es ≤ 0.5 . Aunado a esto el acomodo estructural de tipo polimérico que podría tener el fármaco-fármaco o fármaco-SiO₂ no queda descartado para que el tiempo de gelación sea acortado de una forma anormal a la concentración arriba descrita.

Por otra parte las micropartículas obtenidas mediante este método son de forma esférica con un tamaño no mayor a 100 μm como se muestran en la figura 23 en el apartado del diseño experimental.

8.3.3 Diseño Experimental

Las micropartículas obtenidas mediante la metodología de microemulsión con aceite vegetal y su porcentaje de encapsulación se muestra en la tabla 6.

Tabla 6 Resultados del % de encapsulación para los tratamientos.

No	pH	Agua/TEOS	Velocidad(rpm)	O/W	% encapsulación
1	1	6	600	10	82.02
2	2	6	840	10	90.94
3	1	6	840	5	75.25
4	2	6	600	10	88.89
5	2	4	600	10	95.58
6	2	4	600	5	70.76
7	1	4	840	5	60.30
8	1	4	600	5	92.89
9	1	4	840	10	84.91
10	2	6	600	5	70.48
11	2	4	840	5	86.78
12	1	6	600	5	80.10
13	2	6	840	5	87.77
14	1	6	840	10	72.11
15	2	4	840	10	81.90
16	1	4	600	10	88.00

Para evaluar los efectos de cada factor y las interacciones con los demás factores se realizó el cálculo de los contrastes de factores individuales y las combinaciones principales y secundarias, mostradas en la figura 13.

Contrastes						
Factor	Contraste			Razón de t-Lenth	Valor ind. de p	Valor de p simultaneo
O/W	3.75125			1.74	0.0956	0.6417
pH	2.34500			1.09	0.2616	0.9829
Velocidad (rpm)	-1.79750			-0.83	0.3795	0.9999
Agua/TEOS	-0.84750			-0.39	0.7135	1.0000
O/W*pH	1.43875			0.67	0.5315	1.0000
O/W*Velocidad (rpm)	-1.28125			-0.59	0.5792	1.0000
pH*Velocidad (rpm)	4.50750			2.09	0.0538	0.4327
O/W*Agua/TEOS	-1.20625			-0.56	0.6014	1.0000
pH*Agua/TEOS	1.23000			0.57	0.5950	1.0000
Velocidad (rpm)*Agua/TEOS	2.37000			1.10	0.2575	0.9806
O/W*pH*Velocidad (rpm)	-4.33625			-2.01	0.0611	0.4777
O/W*pH*Agua/TEOS	1.41125			0.65	0.5436	1.0000
O/W*Velocidad (rpm)*Agua/TEOS	-1.25625			-0.58	0.5865	1.0000
pH*Velocidad (rpm)*Agua/TEOS	-0.24500			-0.11	0.9156	1.0000
O/W*pH*Velocidad (rpm)*Agua/TEO	3.06375			1.42	0.1523	0.8501

Figura 13. Contraste de los factores experimentales y sus combinaciones.

En esta figura se presenta los contrastes de factores y las combinaciones principales y secundarias, en el gráfico de barras podemos ver que los contrastes con un efecto significativo ($p > 0.05$) son los valores que sobrepasan a las líneas azules.

La combinación principal *pH*Velocidad* y la combinación secundaria *O/W*pH*Velocidad* son los que tienen un efecto significativo en el por ciento de encapsulación con una $p < 0.05$. Esto también se muestra en la figura 14 donde se representa el gráfico de Probabilidad Normal en cuál se gráfica el Cuantil de distribución t contra el valor absoluto del contraste.

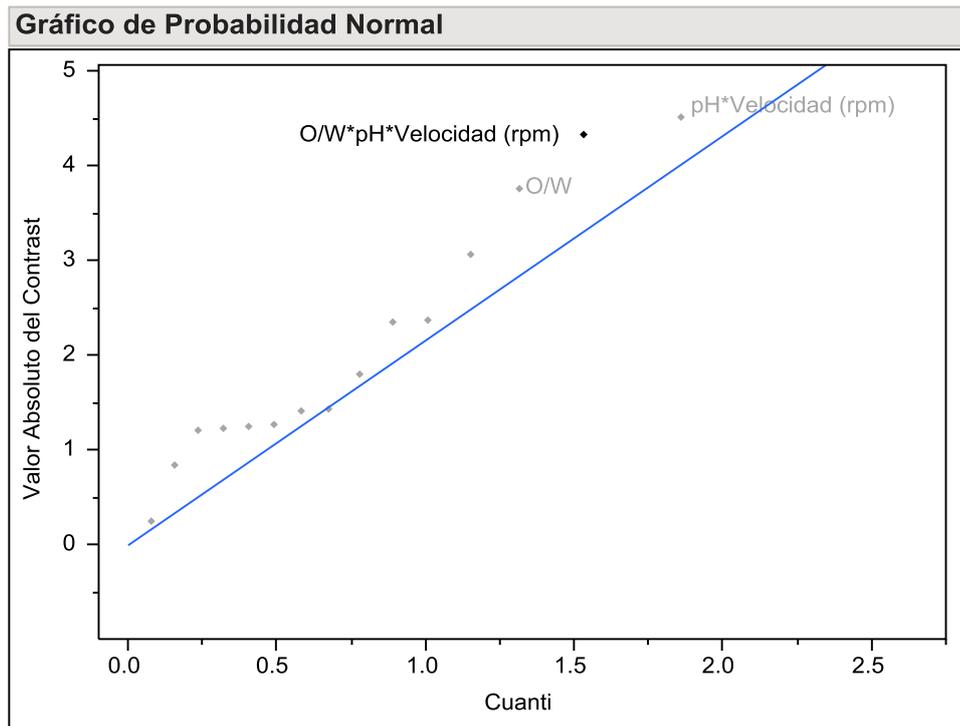


Figura 14. Gráfico de Probabilidad Normal que muestra los cuantiles normalizados contra los valores absolutos de los contrastes.

Se analizaron todos los factores y efectos primarios y secundarios mediante análisis de varianza, de esta manera evitar sesgos de exclusión de datos. En la figura 15 se muestra el gráfico de predicción junto con la tabla 7 esta muestra evidencia que no existe ningún efecto significativo en el modelo.

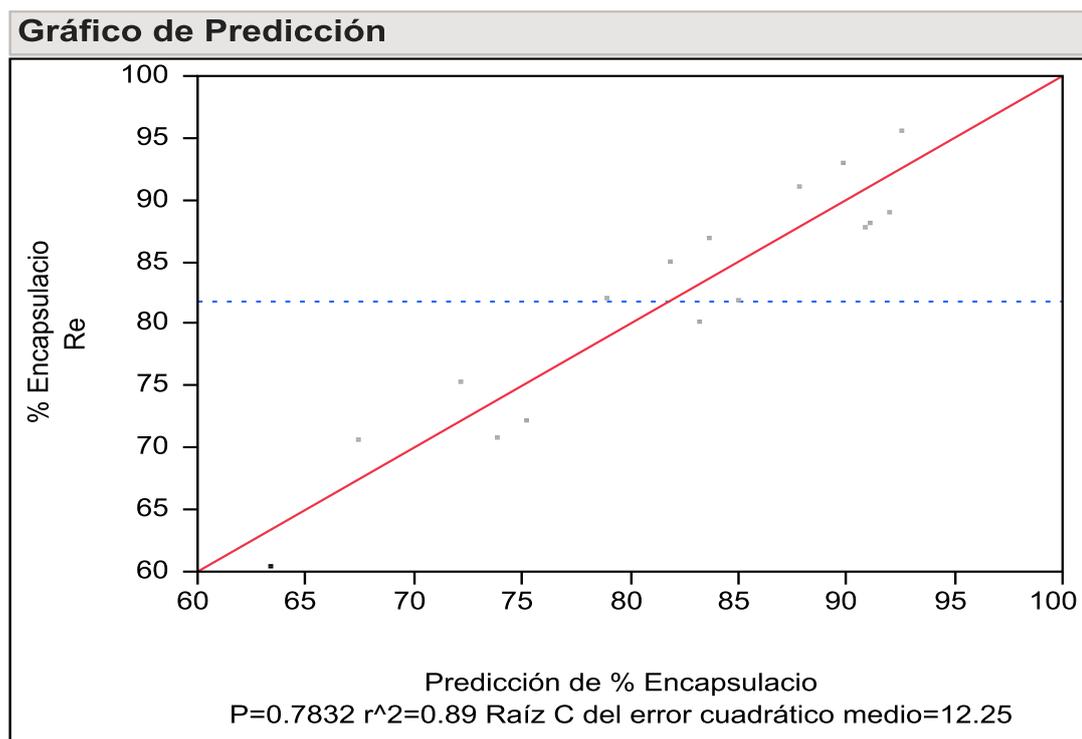


Figura 15. Gráfico de predicción del Porcentaje de encapsulación del fármaco

Tabla 7. Análisis de varianza del modelo del fármaco

Fuente	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F
Modelo	14	1257.073	89.791	0.5979
Error	1	150.185	150.185	Prob>F
Total	15	1407.258		0.7832

A pesar de que ningún factor o combinación no mostraron un efecto significativo vale la pena analizar que algunos efectos mostrados tiene un alto nivel de contraste y una combinación de tres factores (O/W*pH*Velocidad (rpm)) con un contraste de efecto negativo como se muestra en la figura 16.

Estimaciones de los parámetros				
Término	Estimación	Error Std	Razón t	Prob> t
Intercept	81.7925	3.06375	26.70	0.0238 *
O/W(5,10)	3.75125	3.06375	1.22	0.4360
pH(1,2)	2.345	3.06375	0.77	0.5841
Velocidad (rpm)(600,840)	-1.7975	3.06375	-0.59	0.6622
Agua/TEOS(4,6)	-0.8475	3.06375	-0.28	0.8282
O/W*pH	1.43875	3.06375	0.47	0.7205
O/W*Velocidad (rpm)	-1.28125	3.06375	-0.42	0.7478
pH*Velocidad (rpm)	4.5075	3.06375	1.47	0.3800
O/W*Agua/TEOS	-1.20625	3.06375	-0.39	0.7612
pH*Agua/TEOS	1.23	3.06375	0.40	0.7570
Velocidad (rpm)*Agua/TEOS	2.37	3.06375	0.77	0.5808
O/W*pH*Velocidad (rpm)	-4.33625	3.06375	-1.42	0.3916
O/W*pH*Agua/TEOS	1.41125	3.06375	0.46	0.7252
O/W*Velocidad (rpm)*Agua/TEO	-1.25625	3.06375	-0.41	0.7523
pH*Velocidad (rpm)*Agua/TEOS	-0.245	3.06375	-0.08	0.9492

Figura 16. Estimación de contrastes del modelo de filtrado.

En la figura 17 podemos ver el perfil de interacciones de los factores estudiados donde la interacción *pH*Velocidad* es significativo, el factor O/W con un nivel alto (10) mostró un mayor porcentaje de encapsulación interactuando con los demás factores. Por último se aprecia que el factor Agua/TEOS mostró interacción con O/W, pH y velocidad pero es debido a que estos tres últimos factores tienen un efecto superior. Por tanto separando en dos grupos mediante el factor Agua/TEOS se puede distinguir de una manera más adecuada el efecto de los tres factores con un mayor nivel de contraste.

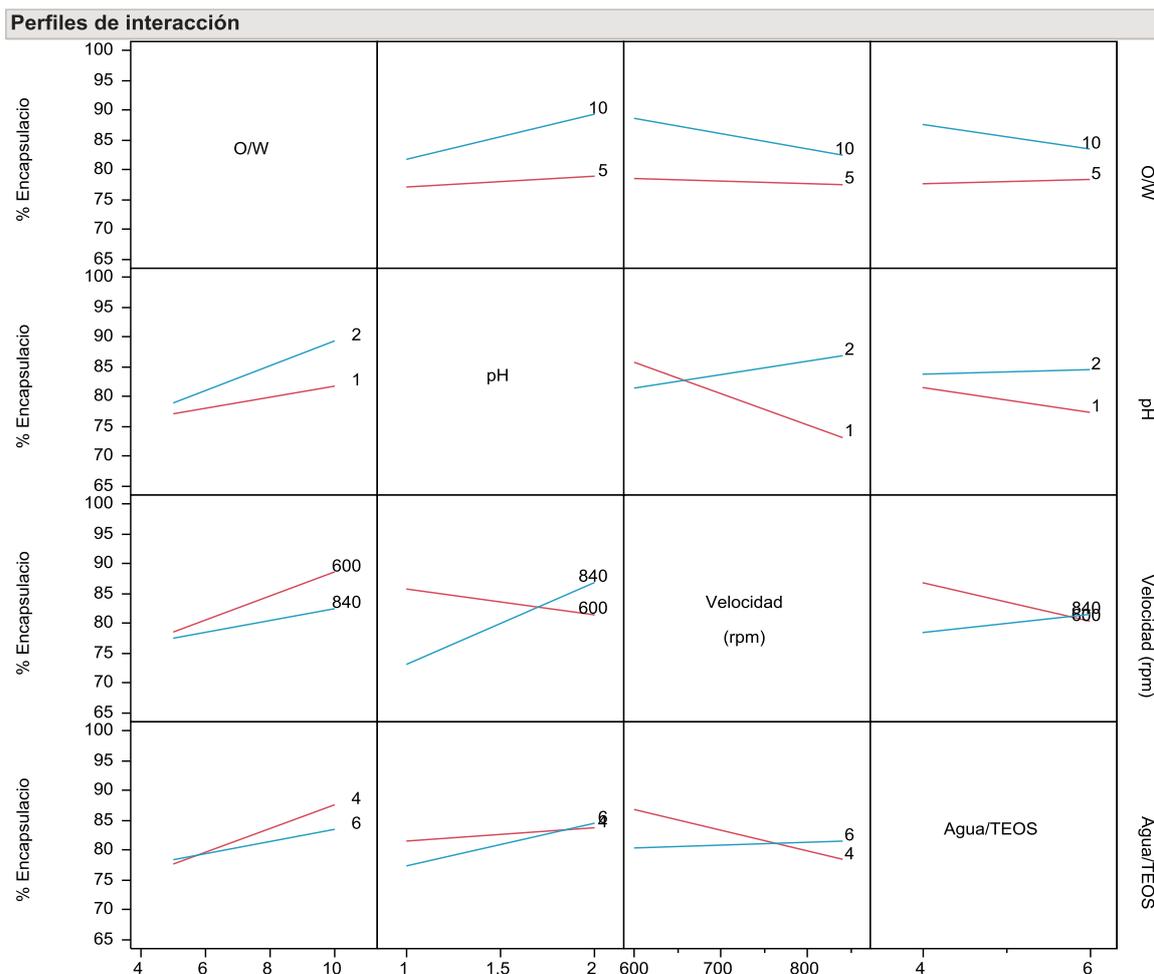


Figura 17. Gráfico de interacción de factores de diseño experimental.

En la figura 18 se muestra el gráfico de cubo donde observamos que la mayor respuesta para ambos grupos se encuentra en la siguiente combinación de factores: pH=2(+), O/W=10(+), y Velocidad (rpm)= 600 (-), y cada grupo muestra los efectos inherentes del nivel alto y bajo de la relación molar Agua/TEOS.

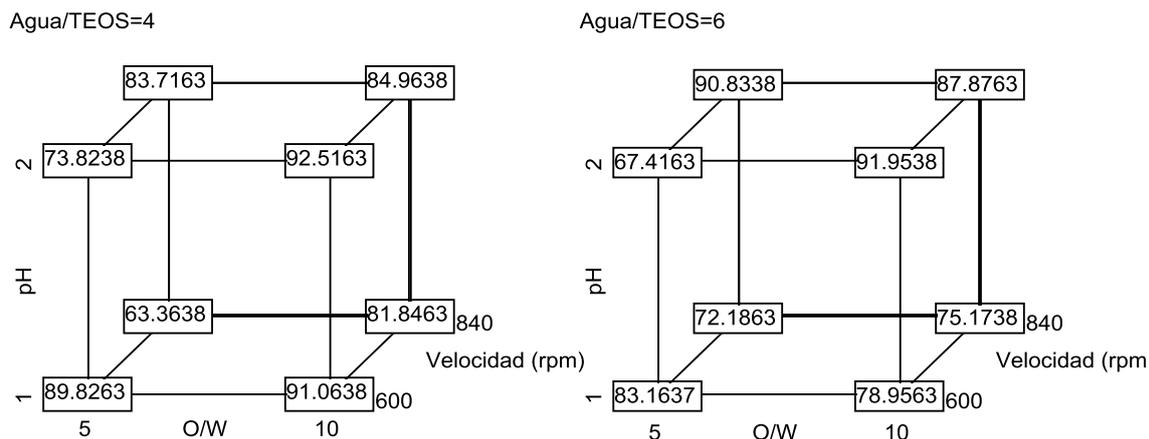


Figura 18. Gráfica de cubo donde se muestran los niveles óptimos para obtener el mayor porcentaje de encapsulación del fármaco en micropartículas.

Por tanto podemos concluir que aun cuando en el diseño experimental no pone en evidencia algún efecto estadísticamente significativo, si muestra una clara tendencia en cuál es la combinación de factores anteriormente descritos podría dar un porcentaje mayor de encapsulamiento.

8.4 Caracterización fisicoquímica de las micropartículas

8.4.1 Caracterización térmica

En la figura 19 se muestra el termograma en donde se aprecia la endoterma de fusión del Tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato donde se muestra su pureza relativa de 99.76 % y su pico de fusión de 57 °C.

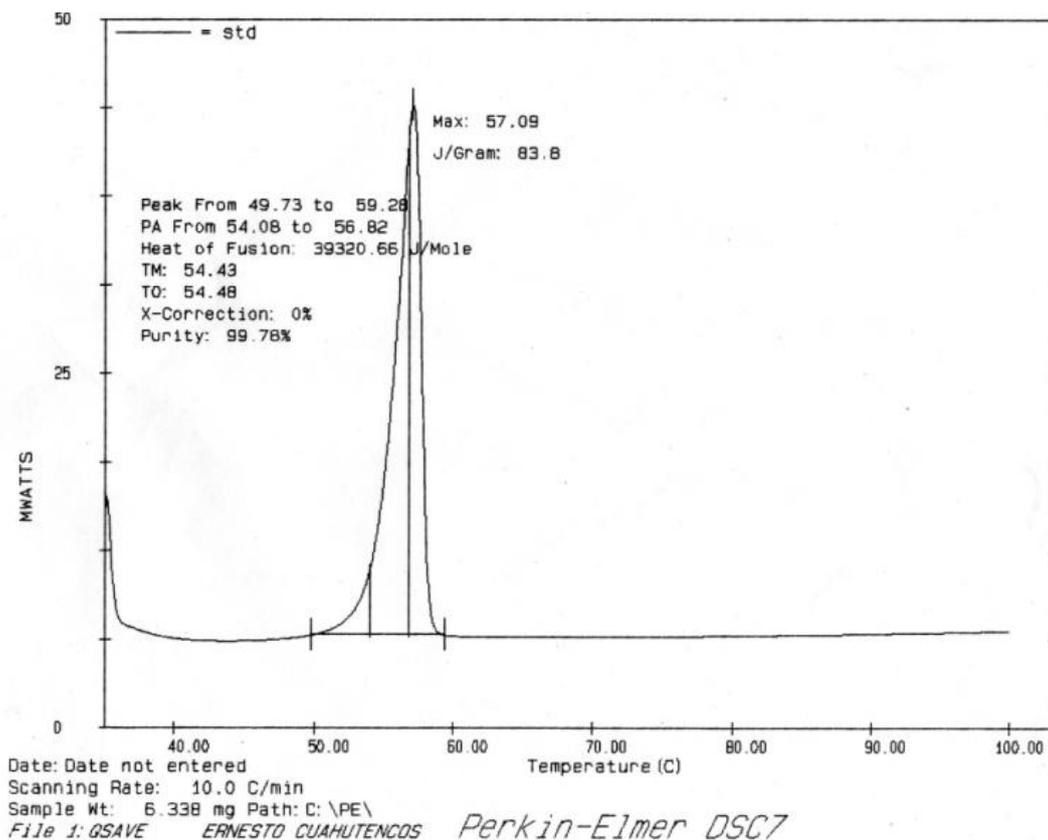


Figura 19. Endoterma de fusión del el Tri-n-butil estaño 3,4-(dióxi metil) fenilacetato.

Se realizó una mezcla física para evaluar la interacción entre SiO_2 y el fármaco, donde podemos observar el pico de fusión del fármaco con un corrimiento mínimo a 57.52°C con esto se confirma que no hay interacción alguna entre la matriz polimérica y el fármaco, esto se observa en la figura 20 donde también observamos un ascenso en la línea base con una transición vítrea (T_g) entre $80-140^\circ\text{C}$ de la matriz polimérica, esta pseudotransición y el aumento o disminución del intervalo de temperatura puede estar influenciado por el tamaño de partícula de las micropartículas de SiO_2 (Soon, 2012).

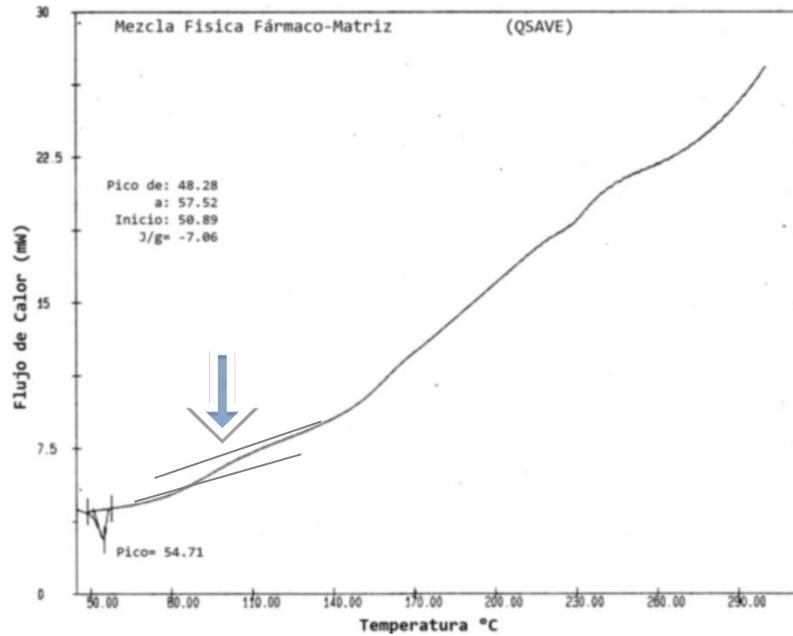


Figura 20. Endoterma de fusión de mezcla física de Fármaco-Matriz de SiO₂.

En la figura 21 se muestran los endotermas de micropartículas sin fármaco (lado izquierdo) y con fármaco (lado derecho) de los experimento 2, 5 y 8. Las micropartículas del experimento 2 que no contienen el fármaco presentan un Tg= 100.93 °C mientras que las micropartículas con fármaco presentan un corrimiento negativo muy pequeño de esta transición a Tg= 97.22 °C, atribuido a la inclusión del fármaco dentro de la matriz polimérica. En los endotermas de los experimentos 5 y 8 ocurre el mismo comportamiento pero con un Tg menor con respecto al experimento 2 esto debido a las condiciones de la relación Agua/TEOS y la cantidad de fármaco encapsulado. En la tabla 8 se resumen los Tgs de los experimentos.

Tabla 8. Temperaturas de Transición vítrea de micropartículas de SiO₂ con y sin fármaco

Experimento	Sin Fármaco (°C)	Con Fármaco (°C)
2	100.93	97.22
5	~79.0	77.59
8	76.12	75.02

"Obtención de micropartículas y de una matriz de liberación controlada conteniendo un agente antitumoral de estaño, utilizando la técnica de sol-gel"

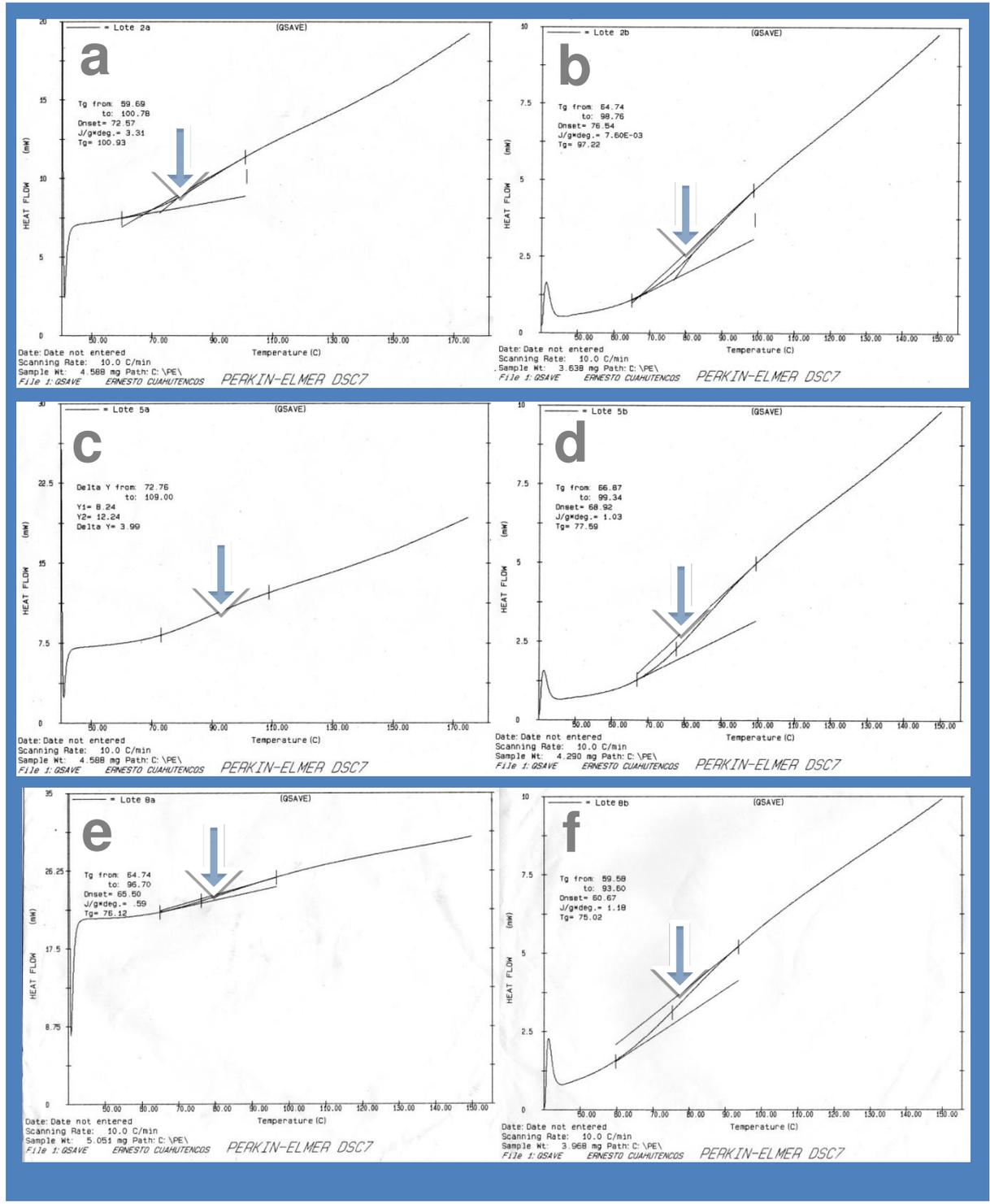


Figura 21. Endotermas de fusión de micropartículas de experimento 2 sin fármaco (a), con fármaco (b), experimento 5 sin fármaco (c), con fármaco (d) y experimento 8 sin fármaco (e) y con fármaco (f).

8.4.2 Tamaño de partícula

Se realizó la caracterización de tamaño de partícula mediante microscopía de luz con el método con ciclohexano/span 80 donde se observan partículas esféricas y porosas con un tamaño menor a 100 μm (figura 22).

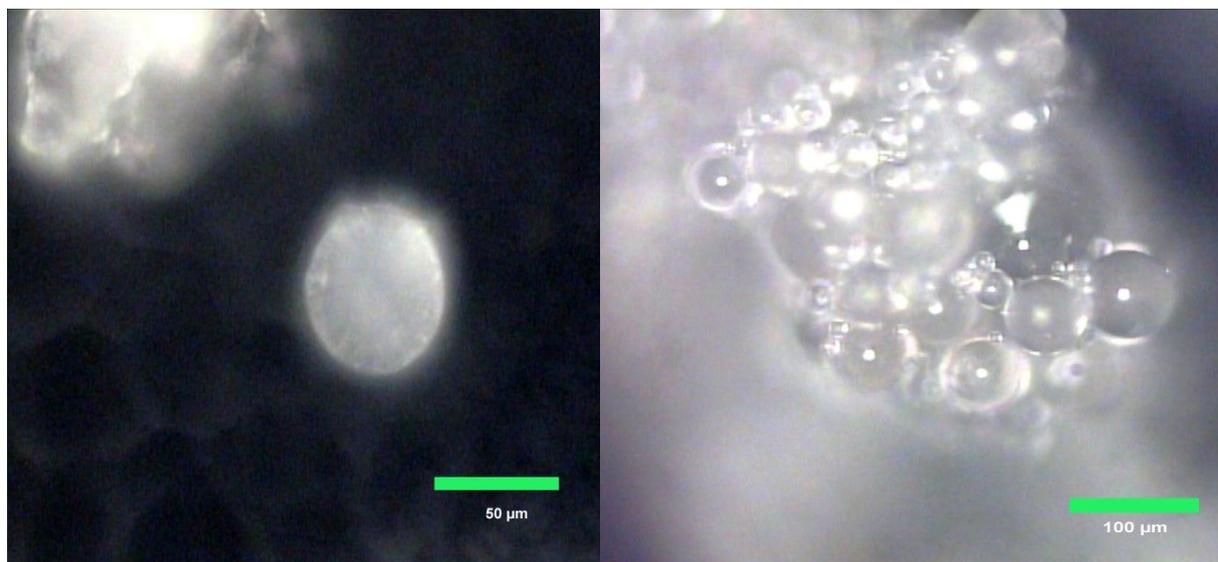


Figura 22. Micropartículas obtenidas mediante el método con ciclohexano/span 80.

En la figura 23 se muestran imágenes de las micropartículas obtenidas mediante el método con aceite vegetal, donde estas son de forma esférica con tamaño de 50 μm y no mayor de 100 μm .

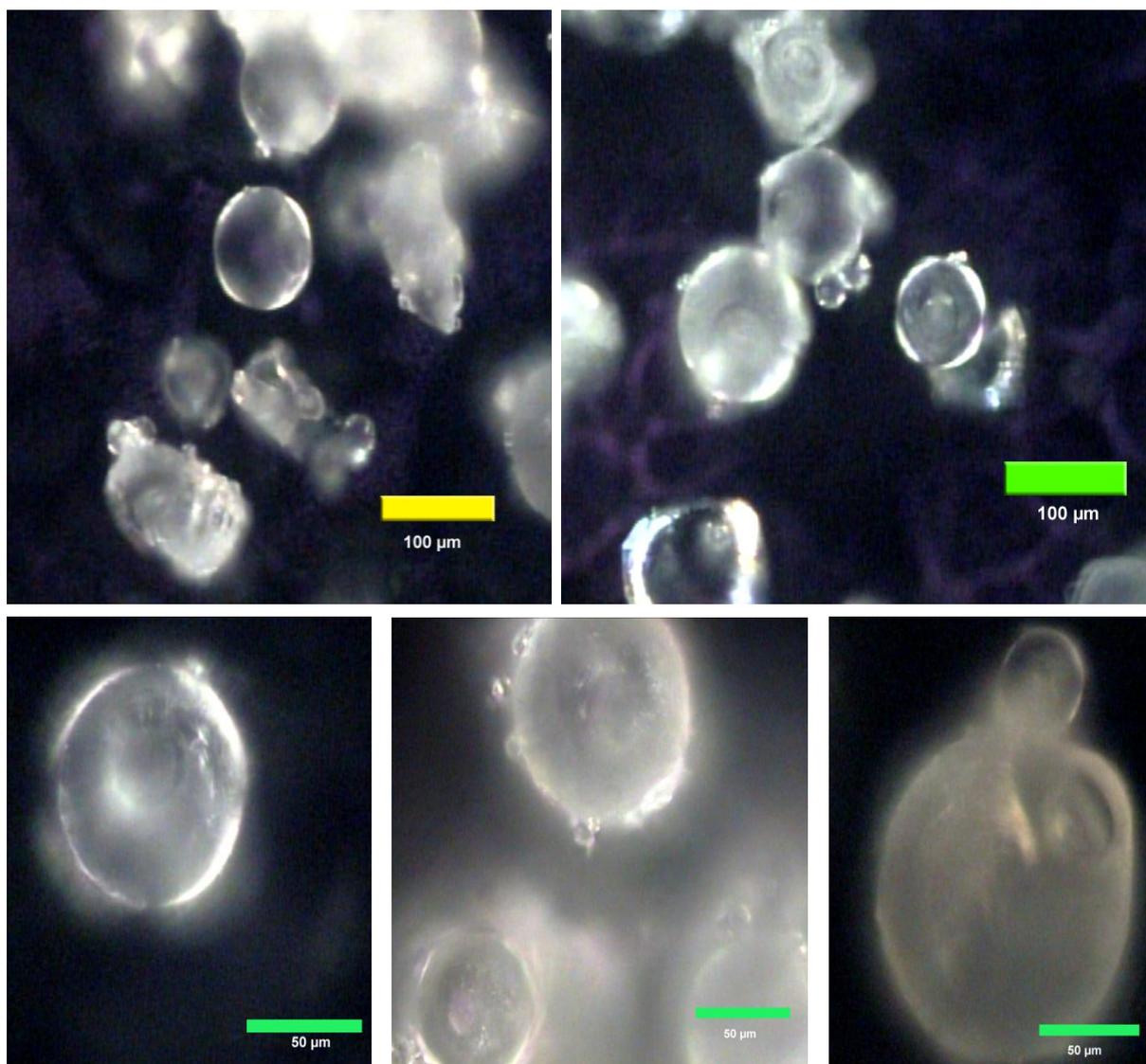


Figura 23. Micropartículas obtenidas mediante el método con aceite vegetal.

8.4.3 Caracterización mediante Espectroscopia IR

En la figura 24 se muestra el espectro infrarrojo del fármaco donde se observan las bandas de absorción bien definidas del fármaco de $2980-2880\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a los estiramientos de radicales butilos y de $1700-1550\text{ cm}^{-1}$ de estiramiento del grupo carbonil debido a la formación del enlace covalente con Sn (Pergamon, 1979), y de $500-600\text{ cm}^{-1}$ corresponden a las vibraciones de los enlaces Sn-O y Sn-C.

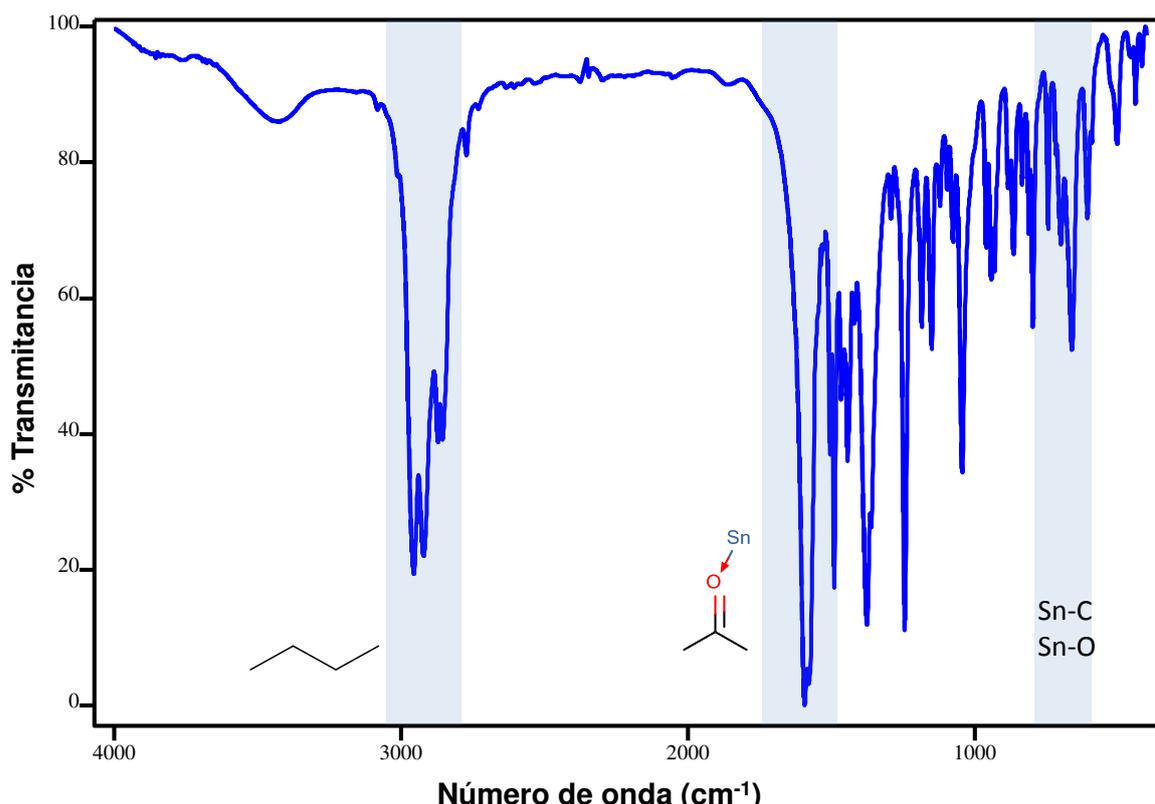


Figura 24. Espectro de absorción infrarrojo del Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato.

En la figura 25 se muestra el espectro infrarrojo de las micropartículas sin fármaco de tres experimentos, en el que podemos observar tres bandas principales de absorción, la primera a $\sim 465 \text{ cm}^{-1}$ se debe a las vibraciones de balance de Si, la banda de $\sim 800 \text{ cm}^{-1}$ se debe al estiramiento simétrico del O de los enlaces Si-O-Si y la banda localizada en $\sim 1080 \text{ cm}^{-1}$ se debe al movimiento asimétrico de estiramiento del O entre de los enlaces Si-O-Si. Las bandas adicionales de absorción de 3100 a 4000 cm^{-1} corresponden a las vibraciones fundamentales de estiramiento de los diferentes grupos OH dentro del xerogel como agua adsorbida (3540 cm^{-1}), pares de Si y OH superficiales mutuamente ligados por puentes de hidrógeno (3660 cm^{-1}) y SiOH libres sobre la superficie del xerogel (3750 cm^{-1}). La banda de 1620-1650 cm^{-1} está asignada a la deformación de agua molecular.

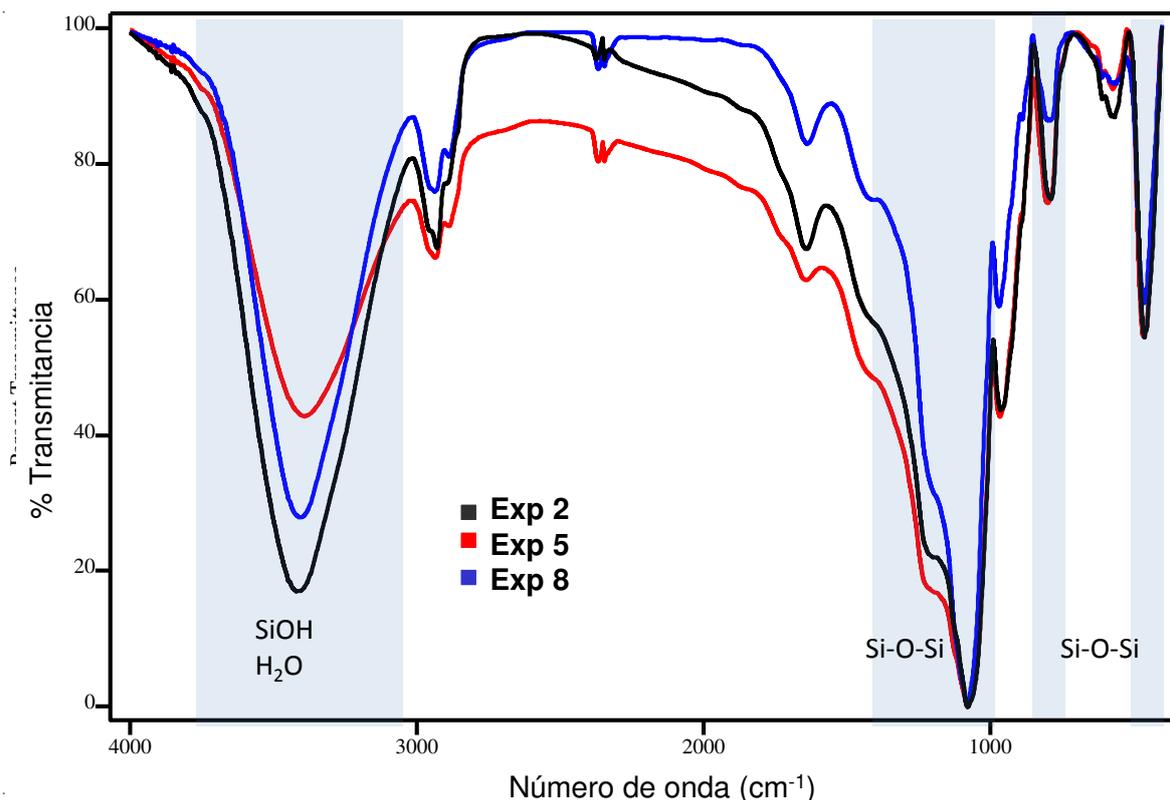


Figura 25. Espectro de absorción infrarrojo de micropartículas de SiO₂ obtenidas por el método con aceite vegetal.

En la figura 25, los cambios en la intensidad de la banda de 3100-3800 cm⁻¹ es debida al acomodo estructural de los silanoles y es independiente de la cantidad de agua ocluida en las micropartículas, la red polimérica también es confirmada por las bandas características anteriormente descritas del SiO₂. En la figuras 26, 27 y 28 se muestra la comparación de micropartículas con y sin fármaco, se puede apreciar que la banda de las vibraciones de enlaces Sn-O y Sn-C a 500-600 cm⁻¹ y la banda de estiramiento de radicales butilos a 2880-2980 cm⁻¹ tiene una mayor intensidad en los tres experimentos, aunque hay cambios en algunas bandas referentes a la estructura de la matriz de SiO₂.

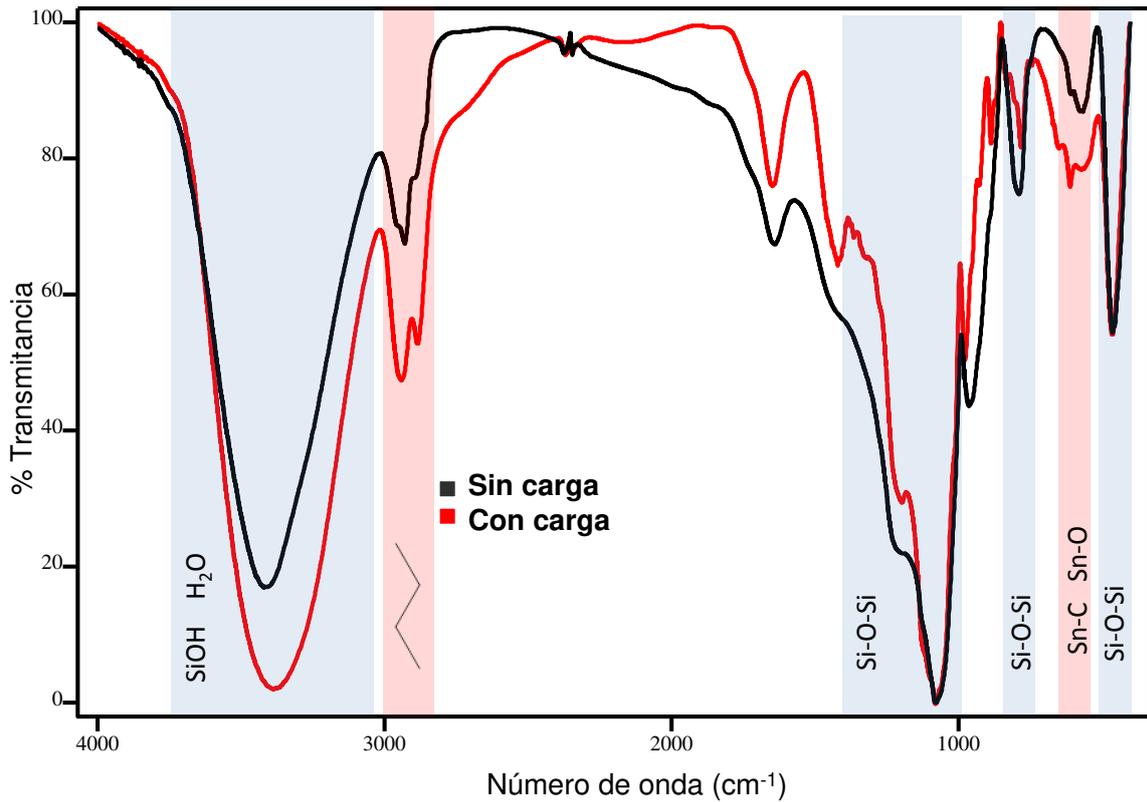


Figura 26. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 2).

En la figura 26 muestra que las bandas de absorción del O para grupos siloxanos se mantienen en ambas muestras, la banda de estiramiento de los grupos OH aumenta y puede ser debido a la adición de fármaco formando puentes de hidrógeno con grupos silanoles y siloxanos de la matriz, se descarta que la cantidad de agua influya ya que la banda de deformación de esta disminuye con la presencia del fármaco en la matriz.

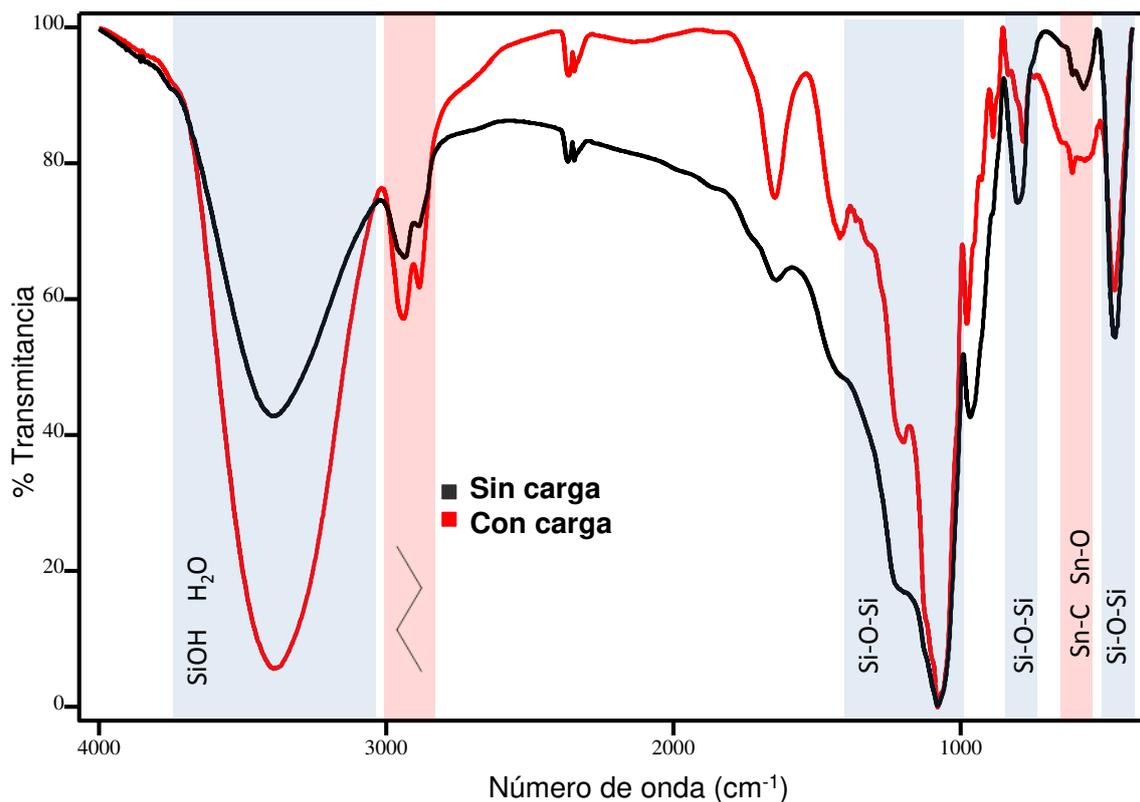


Figura 27. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 5).

Las micropartículas con carga del experimento 5 muestran una banda más definida de 1200-1300 cm⁻¹ esto debido a la formación de estructuras lineales o de tipo cadena (González, 2000), el aumento en la banda de estiramientos de OH es debido a la cantidad de fármaco encapsulado enlazado a grupos silanoles y siloxanos mediante puentes de hidrógeno y/o enlace covalente del hábito cristalino de zigzag (figura 27).

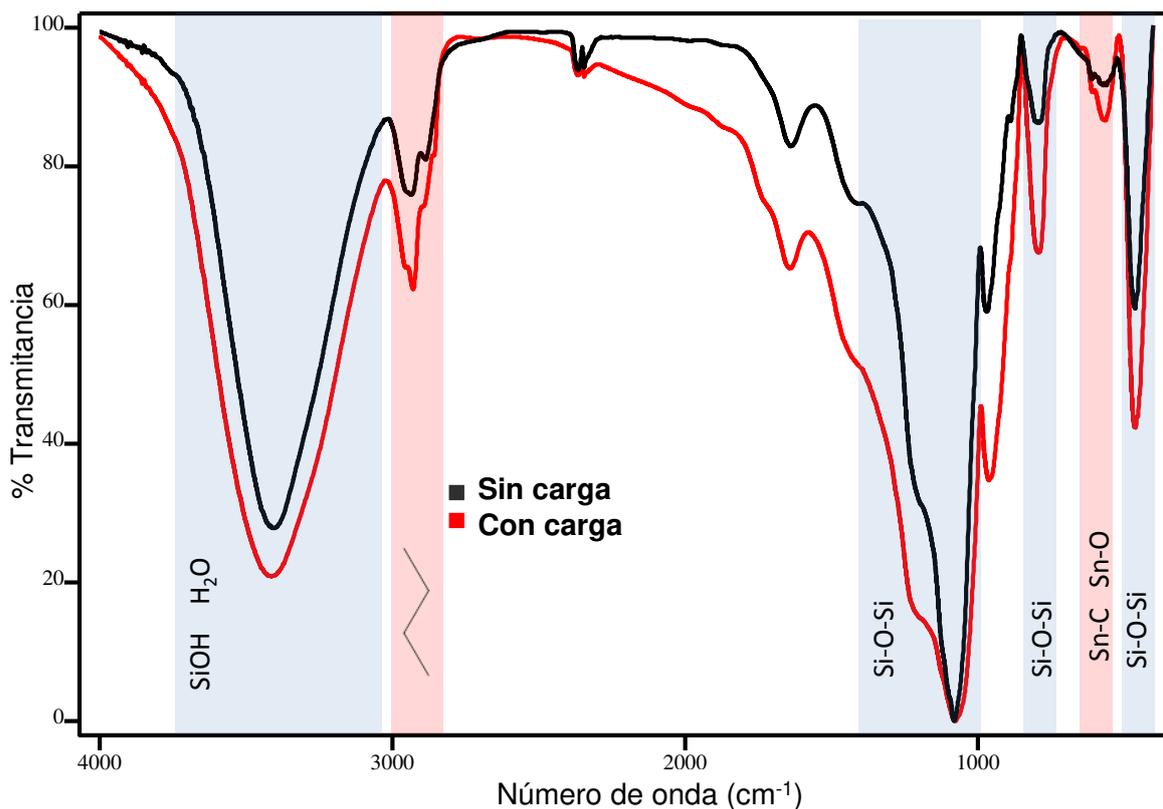


Figura 28. Espectro de absorción infrarroja de micropartículas de SiO₂ con y sin carga del fármaco obtenidas por el método con aceite vegetal (Experimento 8).

En la figura 28 se muestra que la cantidad de agua y la formación de siloxanos es la razón del aumento de la banda de las deformaciones de grupos OH debido a las bandas de 465 y 800 cm⁻¹ aumentan con la presencia del fármaco. Mediante esta técnica se comprueba la existencia del fármaco encapsulado dentro de la matriz polimérica de las micropartículas, conforme aumenta la cantidad de fármaco encapsulado aumenta también la banda de 3080-3800 cm⁻¹.

8.5 Encapsulación del fármaco

Se realizó la cinética de liberación del fármaco en los experimentos con mayor porcentaje de fármaco encapsulado estos son los experimentos 2, 5 y 8 tomados de los resultados del apartado 8.3.3 Diseño Experimental.

8.4.5 Cinética de liberación del fármaco encapsulado en las microesferas.

Se realizó la cinética de liberación del fármaco de los 3 experimentos con mayor porcentaje de encapsulación (Experimentos 2, 5 y 8) en la figura 29 se muestra este perfil de liberación del fármaco encapsulado en las micropartículas de los experimentos antes mencionados.

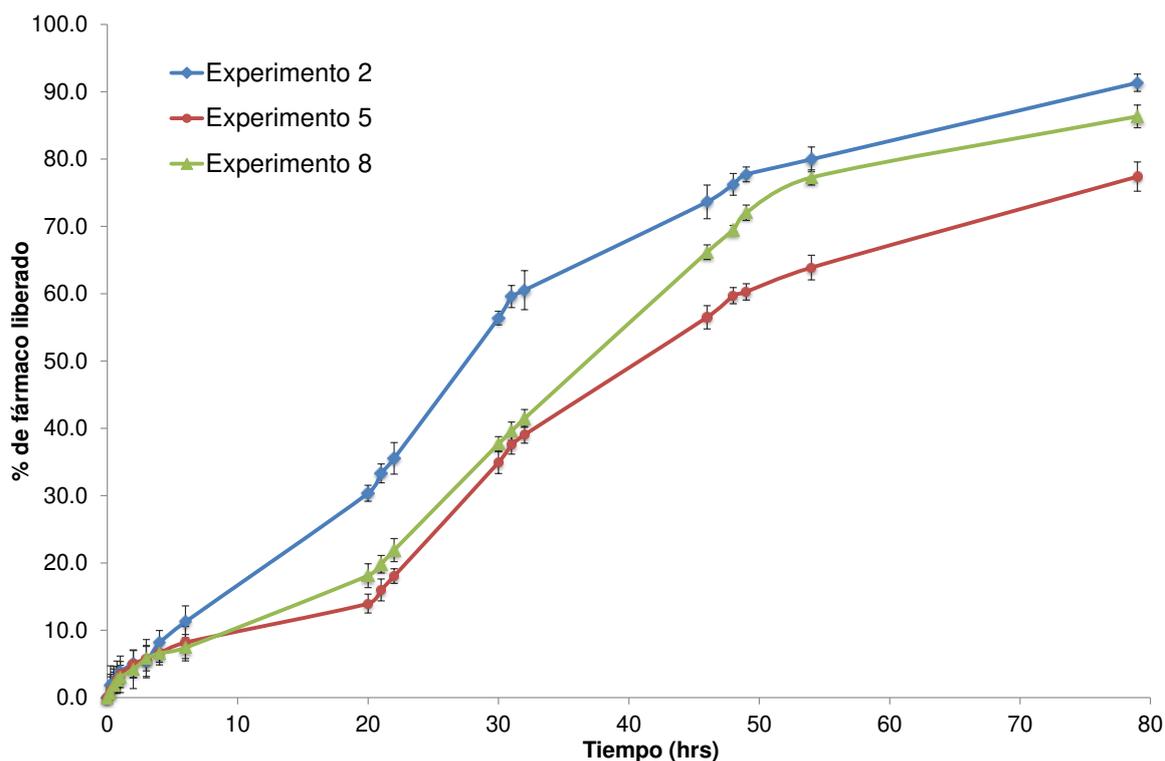


Figura 29. Perfil de liberación del fármaco en micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal.

Los resultados de la cinética de liberación del fármaco a las 79 horas es el siguiente: Experimento 2 con 91.35%, Experimento 5 con 77.40 % y Experimento 8 con 86.35 % (Anexo 1). En las primeras 6 horas los tres experimentos no presentan el denominado “efecto disparo” esto es debido a las condiciones del proceso sol-gel en específico el intervalo de pH del sol (Paul, 2008), durante esta primera etapa de tiempo las tres muestras presentan un comportamiento similar aunque en el

experimento 2 se presenta la tendencia de mayor porcentaje de liberación del fármaco (figura 30).

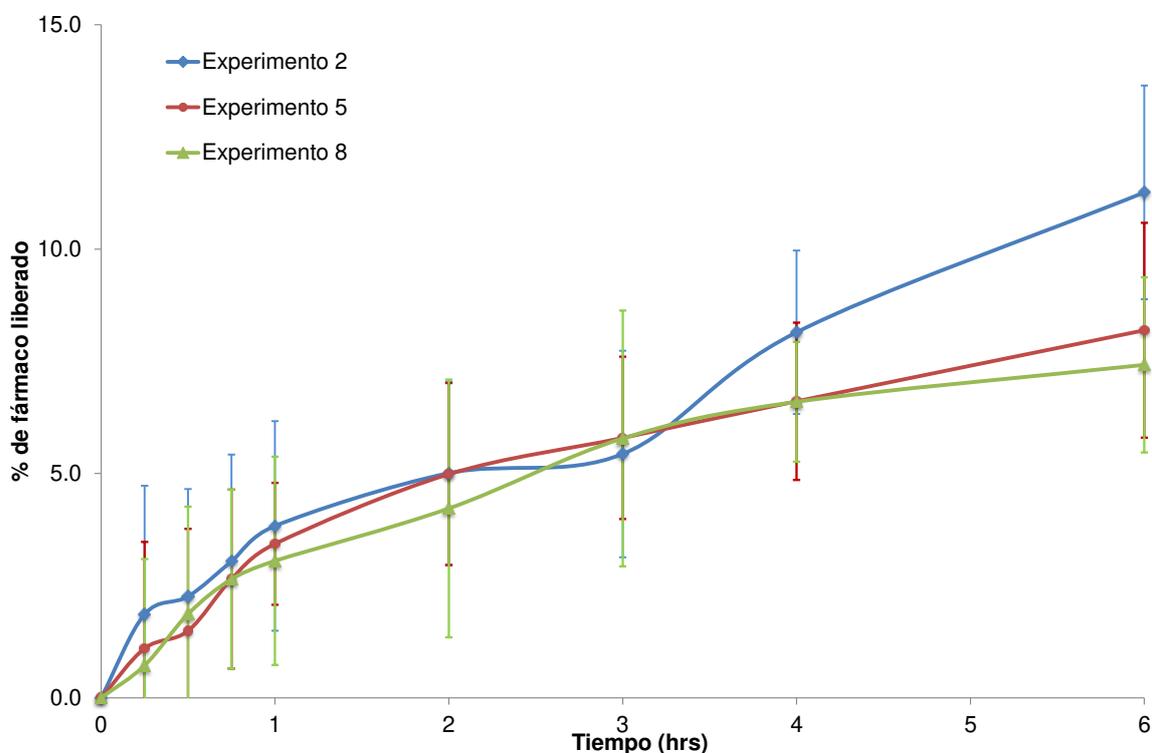


Figura 30. Perfil de liberación del fármaco micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal durante las primeras horas.

La liberación de fármacos en matrices de SiO_2 mediante la técnica sol-gel pueden deberse a dos procesos fundamentales: difusión y/o disolución controlada, aunque dentro del proceso de liberación del activo el que tiene un mayor efecto es el primero (Kortesuo, 2001, Radin, 2008). Se aplicó el modelo de Higuchi para la cinética de liberación del fármaco de las micropartículas (Figura 31) donde se grafica la fracción liberada del fármaco (M_t/M_∞ , donde M_t es la fracción liberada a tiempo t) contra el cuadrado medio del tiempo expresado en horas de los experimentos 2, 5 y 8 (Figura 31).

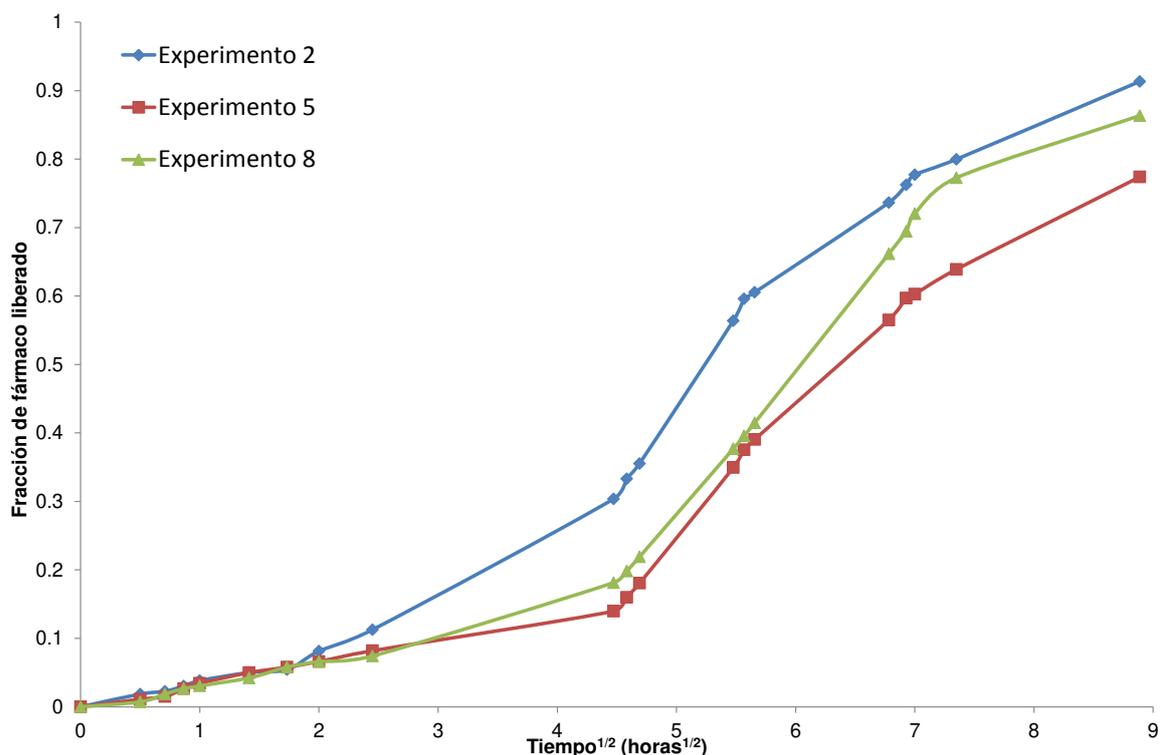


Figura 31. Liberación fraccional del fármaco en micropartículas obtenidas por el método con aceite vegetal.

En las primeras 6 horas se puede apreciar un efecto con respecto al grado Agua/TEOS (6) y la velocidad de agitación (840 rpm) en el experimento 2 donde hay una mayor fracción del fármaco liberado con respecto a los experimentos 5 y 8 que puede ser debido a que la estructura del xerogel permite de manera más rápida la inclusión del agua en los poros de la matriz. Esto se contrasta con los experimentos 5 y 8 donde el grado Agua/TEOS y la velocidad de agitación fue de 4 y 600 respectivamente esto modificando la estructura conformacional de la matriz de SiO₂ esto va acorde a la banda de grupos OH del espectro infrarrojo (Figura 26).

También se analizaron los datos usando otros modelos como el de cinética de orden cero, de primer orden y el modelo de Baker-Lonsdale para matrices con forma esférica (Po, 1990, Chiappetta, 2005, Kockish, 2005) con este análisis obtenemos que solo el experimento número 2 se ajustó a un modelo de primer orden ($R^2=0.986$)

que se muestra en la figura 32, debido a que existe una combinación de los procesos de difusión y erosión en la cinética de liberación del fármaco en este experimento. (Tabla 10).

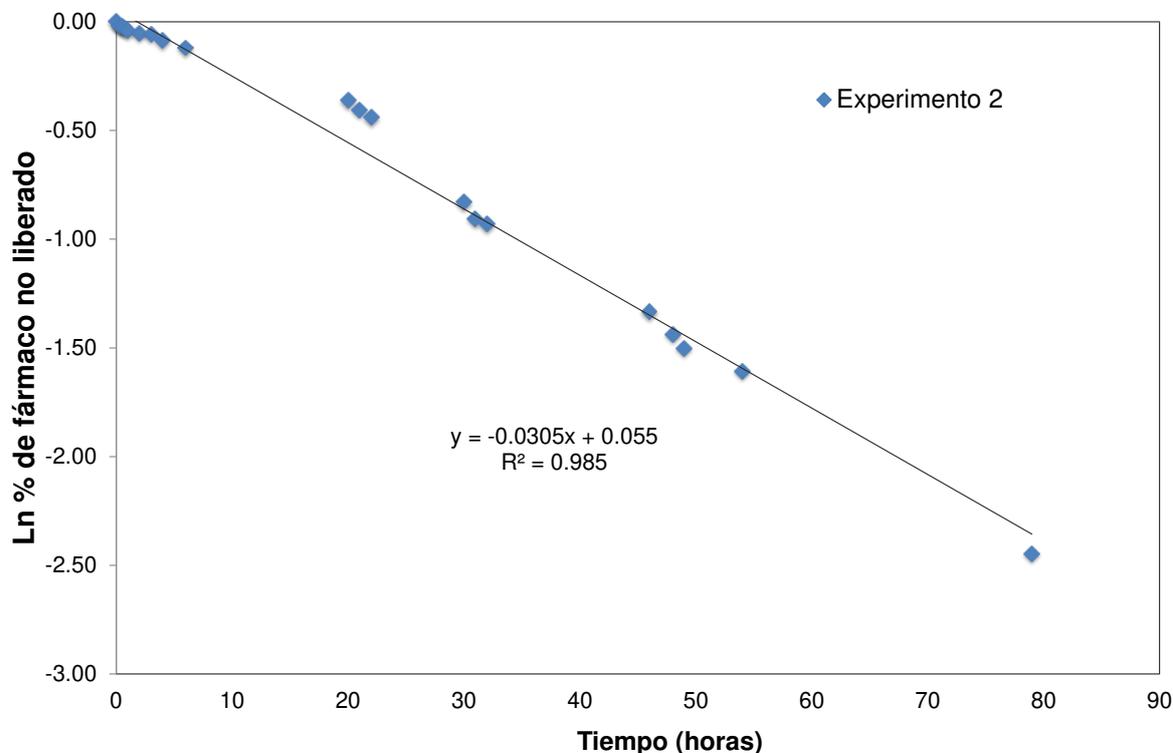


Figura 32. Ajuste de experimento 2 con modelo de Liberación de primer orden.

Tabla 9. Coeficiente de correlación R^2 de la relación de liberación fraccional de micropartículas y el tiempo expresado por cada ecuación o modelo.

Modelo / Ecuación	Experimento		
	2	5	8
Higuchi	0.963	0.904	0.902
Orden cero	0.948	0.965	0.962
Primer orden	0.986	0.962	0.944
Baker-Lonsdale	0.965	0.921	0.903

Todos los experimentos con sus correspondientes también se ajustan al modelo de Baker-Lonsdale con una $R^2 > 0.90$. Generalmente esta ecuación se ajusta a sistemas matriciales esféricos (Shuckla, 1991) y asume que el paso limitante para la liberación del fármaco es la erosión de la matriz por lo cual a mayor tamaño de partícula el fármaco debería liberar a un mayor tiempo (Chiappetta, 2005).

Con estos resultados podemos demostrar que el ajuste del modelo de Higuchi, orden cero y primer orden son adecuados para los perfiles de liberación del fármaco y confirma que el proceso de disolución de las matrices de los tres sistemas puede ser descrito como un proceso de difusión. En la tabla 11 se muestra las constantes de velocidad de los experimentos.

Tabla 10. Constantes de velocidad de liberación k, mediante los distintos modelos

Modelo / Ecuación	k, h ⁻¹ Experimento		
	2	5	8
Higuchi	0.116	0.088	0.103
Orden cero	0.014	0.011	0.013
Primer orden	0.031	0.019	0.025
Baker-Lonsdale	0.006	0.004	0.005

9. CONCLUSIONES

Se desarrolló y optimizó una metodología para la elaboración de una matriz de liberación controlada en forma de micropartículas mediante un sistema de microemulsiones con un tiempo de gelación disminuido, sin el uso de solventes orgánicos y surfactantes. Con esta metodología se logró encapsular desde el 60.30 % hasta un 95.58% del fármaco en las micropartículas, resultado dosis desde 2.07 μg de fármaco a 5.5 μg de fármaco por cada miligramo de micropartículas.

No se logró desarrollar el sistema monolítico de liberación controlada debido a que no se encontraron las condiciones óptimas para el secado y sinterizado de éste.

Se logró caracterizar mediante microscopía óptica, espectroscopia infrarroja y calorimetría diferencial de barrido las micropartículas obtenidas, tanto conteniendo el fármaco como sólo el material matricial de SiO_2 .

Se diseñó y validó un método de cuantificación de Tri-n butil estaño 3,4-(metil dioxi) fenilacetato para los estudio de encapsulación y disolución *in vitro* de las micropartículas obtenidas.

Las condiciones de obtención de micropartículas con el que se obtiene un alto porcentaje de encapsulación del fármaco son: pH 2, Relación molar Agua/TEOS 4, Velocidad agitación de la microemulsión 600 rpm y una relación O/W de 10. Además de obtenerse una liberación del fármaco mediante difusión desde el 77 % hasta 91 % del fármaco liberado después de 3 días.

10. PERSPECTIVAS

De acuerdo con los resultados obtenidos en este proyecto se proponen algunos puntos para dar seguimiento a la investigación.

1. Realizar un estudio del efecto catalizador del fármaco en la reacción sol-gel mediante difracción de rayos x, espectroscopía Raman y Microscopía Electrónica de Transmisión para investigar el estado del fármaco dentro de la matriz en las micropartículas.

2. Caracterización reológica del sistema sol-gel mediante diferentes relaciones molares de TEOS/Agua y distintas concentraciones del fármaco para investigar la función catalizadora del fármaco.

3. Utilizar un método por cromatografía de líquidos para la cuantificación del fármaco en las diferentes etapas.

4. Estudio conformacional del fármaco dentro de la matriz polimérica inorgánica.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ahola M, Korteso P, Kangasniemi I, Kiesvaara J, Yli-Urpo A (2000). Silica xerogel carrier material for controlled release of toremifene citrate. *International Journal of Pharmaceutics* 195, 219 – 227.

Airifin DR, Palmer AF. (2005) Polymersome encapsulated hemoglobin: a novel type of oxygen carrier. *Biomacromolecules* 6(4), 2172-2181.

Anand P, Kunnumakkara AB, Kunnumakara AB, Sundaram C, Harikumar KB, Tharakan ST, Lai OS, Sung B, Aggarwal BB (2008). Cancer is a preventable disease that requires major lifestyle changes. *Pharmaceutical Research* 25(9), 2097–116.

Andretta H (2003). Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Uso de Distintos Modelos. *Latin American Journal of Pharmacy.*, 22(4), 355-64.

Antovska P, Cvetkovska M, Goračinova K (2006). Preparation and characterization of sol-gel processed spray dried silica xerogel microparticles as carriers of heparin sodium. *Bulletin of the Chemists and Technologists of Macedonia* 25(2), 121–126.

Aragón J, Gonzáles R, Fuentes G (2009). Cinética de liberación de cefalexina desde un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO₃. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia* 75(3) 345-363.

Araujo C, Ortega G, Ponce S, Martínez J R (2000). Análisis de las reacciones de hidrólisis y condensación en muestra de sílica xerogeles usando espectroscopía infrarroja. *Revista Mexicana de Física*; 46(6), 593-597.

Arley R (2009). *Cancer Chemotherapy*, 1a ed. Gran Bretaña: Wiley- Blackwell. Pp 3,4, 37-40.

Baker R (1987). *Controlled release of biologically active agents*, Editorial Wiley Interscience Publications, New York, p 279.

Bazzo C, Lemos E, Gonçalves M, Pires A (2008). Effect of Preparation Conditions on Morphology, Drug Content and Release Profiles of Poly(hydroxybutyrate) Microparticles Containing Piroxicam. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19(5), 914-921.

Böttcher H, Slowink P, Süb W (1998). Sol-Gel Carrier System for Controlled Drug Delivery. *Journal of Sol-Gel Science and technology*; 13, 277-281.

Brinker CJ, Scherer G W (1990). *Sol-gel Science, The Physic and Chemistry of Sol-Gel Processing*. 1a Ed. New York: Academic.

Bush A, Beyer R, Tratman R, Barbé C, Barlett J (2004). Ceramic Micro-Particles Synthesised using Emulsion and Sol–Gel Technology: An Investigation into the Controlled Release of Encapsulants and the Tailoring of Micro-Particle Size. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 32, 85–90.

Camacho C, de-Vos D, Mahieu B, Gielen M, Kemmer M, Biesemans M, Willem R (2000). Organotin(IV) derivatives of 3,4-(methylene-dioxy)phenylacetic acid: Synthesis, spectroscopic characterization and in vitro antitumour properties. *Main Group Metal Chemistry* 23, 381-386.

Cancer researcher UK. What cancer is. 2011. <http://cancerhelp.cancerresearchuk.org/about-cancer/what-is-cancer/cells/what-cancer-is>. Acceso 12 Mar 2012.

Chiappetta D, Legaspi MJ, Niselman V, Pasquali R, Georgio E, Rodríguez AC, Bregni C (2005). Microesferas biodegradables de poli(D,L-láctico) conteniendo progesterona. *Ars Pharmaceutica* 46 (4) 383-398.

Colby M, Osaka A, Mackenzie J (1986). Effects of temperature on formation of silica gel. *Journal of Non-Crystalline Solid* 82, 37-41

Crossley A, Sofield CJ, Goff JP, Lake A, Hutchings M, Menelle A (1995). A study comparing measurements of roughness of silicon and SiO₂ surfaces and interfaces

using scanning probe microscopy and neutron reflectivity. *Journal of Non-Crystalline Solid*. 187, 221-226.

Dandagi M, Masthiolimath S, Gadad P, Iliger R (2007). Mucoadhesive Microspheres of Propranolol Hcl for Nasal Delivery, *Indian Journal of pharmaceutical Sciences*. 69(3) 402-407.

Dash S, Murthy P, Nath L, Chowdhury P (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica - Drug Research*, 67(3) 217-223.

Dash V, Mishra S K, Singh M, Goyal A K, Rath G (2010). Release Kinetic Studies of Aspirin Microcapsules from Ethyl Cellulose, Cellulose Acetate Phthalate and their Mixtures by Emulsion Solvent Evaporation Method. *Scientia Pharmaceutica*. doi:10.3797/scipharm.0908-09

De las Heras M, Córdoba S, Puebla F (2008). *Radioterapia*. 1ª Ed. Madrid: Arán Editores, p. 19-20.

Doadrio A, Vallet R (2008). Liberación de fármacos en matrices biocerámicas. Monografía XIX. Avances y perspectivas. Instituto de España. Real Academia Nacional de Farmacia. <http://www.ranf.com/publi/mono/mesoporoso.pdf> Acceso: 20 may 12

Ewesuedo R., Ratain M. Dennis M. Brown J (2004). Systemically Administered Drugs. En. *Drug Delivery Systems in Cancer Therapy Drug*. 1ra edición, editorial Humana Press, New Jersey.pp. 3-15.

Ferlay J, Shin H, Bray F, Forman D, Mathers C, Perkin DM (2010). Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int. J. Cancer*. 127:2893-2917

Giunchedi P, Conti B, Maggi L, Conte U (1994). Cellulose acetate butyrate and polycaprolactone for ketoprofen spray-dried microsphere preparation. *Journal of Microencapsulation*. 11(4) 381-93.

Gielen M (2002). Organotin compounds and their therapeutic potencial. Applied Organometallic Chemistry. 16:481-494

Gielen M (2002). Review: Organotin compounds and their therapeutic potential: a report from the Organometallic Chemistry Department of the Free University of Brussels. Applied Organometallic Chemistry. 16, 481-494

Gielen M, Biesemans M, de-Vos D, Willem R (2000). Synthesis, characterization and in vitro antitumor activity of di- and triorganotin derivatives of polyoxa- and biologically relevant carboxylic acids. Journal of. Inorganic. Biochemistry.. 79, 139-45

Gielen M, Kemmer M, Camacho C, Willem R, Tiekink E (2001). Crystal structure of zig-zag polymeric Tri-n-butyltin (IV)3,4-Methylenedioxyphenylacetate. Main Group Metal Chemistry. 24 (12):873-874

Gospodarowicz M K., Cazap E, Jadad A R (2009). Cancer in the world – a call for international collaboration. Salud Pública de México. 51(2): 305-308.

González J, Pérez J (2000). Vidrios SiO₂ nanocompuestos preparados por sol-gel: revisión. Superficies y vacío 11:1-16.

Göpferich A (1997). Handbook of biodegradable polymers. Domb A, Kost A, Wiseman editores: Nueva York. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, pp. 451-471.

Hermann J, Bodmeier R (1993). Peptide containing biodegradable microspheres prepared by modified solvent evaporation methods. Proceedings International Symposium on Control Release Bioactive Material. 20 258-9.

Hernández A, Esquivel P (2007). Incorporación de un fármaco antiinflamatorio no esterooidal en SiO₂ sintetizado por sol-gel. http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-16-2007/documentos/farmacia/F5_ResExtenso_A.Hernandez.pdf. Acceso 10 Marzo 2010.

Higuchi T (**1963**). Mechanism of sustained action medication: theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 52 207–216.

Ike O, Shimizu Y, Wada R, Hyon SH, Ikada Y (1992). Controlled cisplatin delivery system using poly (DL-lactic acid). *Biomaterials* 13 230-4.

Iler, R (**1979**). *The chemistry of silica*. New York John Wiley & Sons, New York

Instituto Mexicano del Seguro Social. Medicamentos, Grupo: Oncología. (**2012**) http://www.imss.gob.mx/transparencia/CuadrosBasicos/Documents/g17_oncologia.pdf. Acceso 03 may 2012.

Instituto Nacional de Cancerología. Sistemas de información sobre cáncer, Estadísticas (2008). Defunciones. 2008. <http://www.infocancer.org.mx/contenidos.php?idsubsubcontenido=345>. Acceso 10 Nov 2011

Kaparrissides C, Alexandridou S, Kottli K, Chaitidou S (**2006**). Recent Advances in Novel Drug Delivery Systems doi : 10.2240/azojono0111

Kemmer M., Gielen M, Biesemans M., Willem D. de Vos R (**1999**). Synthesis, characterization and in vitro antitumour activity of di-n-butyl, tri-n-butyl and triphenyltin 3,6-dioxaheptanoates and 3,6,9-trioxadecanoates, *Metal Based Drugs*. 5:4

Kim C (**2000**). *Controlled Release Dosage Form Design*. 1a Ed. New York: CRC Press p 8-13.

Kockish S, Rees GD, Tsibouklis J, Smart JD (**2005**). Mucoadhesive, triclosan loaded polymer microspheres for application to the oral cavity: preparation and controlled release characteristics. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 59 207–216

Korsmeyer R, Peppas N (1983). Swelling-Controlled delivery systems for pharmaceutical application: macromolecular and modeling consideration. *Controlled Release Delivery Systems*. Roseman T, Mansdorf S editores: New York. Marcel Dekker.

Kortesuo P, Ahola M, Kangas M, Kangasniemi I, Yli-Urpo A, Kiesvara J (2000). In vitro evaluation of sol – gel processed spray dried silica gel microspheres as carrier in controlled drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics* 200: 223 – 229.

Kortesuo P, Ahola M, Karlsson S, Kangasniemi I, Yli-Urpo A, Kiesvara J (2000). Silica xerogel as an implantable carrier for controlled drug delivery – evaluation of drug distribution and tissue effects after implantation. *Biomaterials* 21, 193-198.

Kortesuo P, Ahola M, Kangas M, Leino T, Laasko S, Vuorilehto L (2001). Alkyl-substituted silica gel as a carrier in the controlled release of decmedetomidine. *Journal of Controlled Release* 76 (3) 227-238.

Kumaran R, Kamalansan MN, Malhotra BD, Pradhan DR, Chandra S (1997). Immobilization and Characterization of Lactate Dehydrogenase on TEOS Derived Sol-Gel Films. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 10, 309–316.

Lai W, Ducheyne P, Garino J (1998). Removal pathway of silicon released from bioactive glass granules in vivo. en *Proceeding of the 11th International Symposium on Ceramics in Medicine Bioceramics*. LeGeros, R, LeGeros, editores. New York: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd. p. 383-386

Langer R (1980). Polymeric delivery systems for controlled drug release. *Chemical Engineering Communications* 6, 1-48.

Langer R (1990). New methods of drug delivery. *Science* 24, 1527-1533.

Langer R (1993). Polymer-controlled drug delivery systems. *Accounts of Chemical Research* 26, 537-542.

Lanore D, Delprat (2004). Quimioterapia anticancerosa. 1ª Ed. Barcelona: Masson p 5-9.

Lazcano E, Hernández M (1997). Cáncer: frecuencia, factores de riesgo y medidas de prevención. Salud Pública de México. doi: 10.1590/S0036-36341997000400001.

Leong K, Langer R (1987). Polymeric controlled drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 1 199-233.

Lopez T, Ortiz E, Alexander-Katz R, Basaldella E, Bokhimi X (2009). Cortisol controlled release by mesoporous silica. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 5:170–177.

Macdonald F, Ford CH, y Casson AG (2005). *Molecular Biology of Human Cancer* 2a Edición. *BIOS Scientific Publishers*, Paris, Francia pp 312-324

Martín M, Morales M, Gallardo V, Ruiz M (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *ARS Pharmaceutica* 50(1), 43-50.

Mathew S, Devi S, Prasanth V, Vinod B (2008). NSAIDs as microspheres, *The Internet Journal of Pharmacology* 6(1)

Martínez JR (1999). Formación y caracterización de materiales vítreos preparados por la técnica sol-gel. *Revista Mexicana de física* 45 (5); 472-479.

Matsui K (2004) Encapsulation of Organic Materials en *Handbook of SolGel Science & Technology: Processing Characterization and Applications. Volumen 1*. Sakka S, Kozuka H, editores. Japón: Kluwer Academic Publishers, pp. 459-484

Murtaza G, Ahamd M, Akthar N, Rasool (2009). Comparative study of various microencapsulation techniques. Effect of polymer viscosity on microcapsule characteristics, *Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research*. 22 (3):291-300

Ogawa Y, Okada H, Shimamoto T (1989). Controlled release of LHRH agonist, leuprolide acetate from microspheres: Serum drug levels profiles and

pharmacological effects in animals. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 41 439-4

Otsuka M, Tokumitsu K, Matsuda Y (2000). Solid dosage from preparations from oily medicines and their drug release. Effect of degree of surface-modification of silica gel on the drug release from phytonadione-loaded silicagels. *Journal of Controlled Release* 67, 369-384

Paolino D, Fresta M, Slnha P, Ferrari M (2006). Drug Delivery Systems en *Encyclopedia of Medical Devices and Instrumentation 2da Edición*. Webster J, editor. Estados Unidos de América: Wiley & Sons, Inc; pp 437-495

Park K, Shalaby W, Park H (1993). *Biodegradable hydrogels for drug delivery*. Technomic Publishing company Inc., Lancaster, USA.

Partlow D, Yoldas B (1981). Colloidal versus polymer gels and monolithic transformation in glass-forming systems. *Journal of Non-Crystalline Solids* 46(2), 153-161

Paul G, Heimink J, Koller H (2008). Controlling Drug Release of Sol-Gel Encapsulated Persantin and Propranolol by Surface Interactions. *Chemistry of materials*, 20 5083-5089.

Pitt G, Gratzl G, Kimmel G, Surles J, Schindler A (1981). Aliphatic polyesters II: The degradation of poly(DL-lactide), poly(ϵ -caprolactone), and their copolymers in vivo. *Biomaterials* 2 215-220

Pizarro AM, Habtemariam A, Sadler PJ (2010). Activation Mechanisms for Organometallic anticancer complex. *Topics in Organometallic Chemistry* 32:21–56.

Po AL, Wong LP, Gilligan CA (1990). Characterization of commercially available theophylline sustained or controlled release systems: in vitro drug release profiles. *International Journal of Pharmaceutics* 66 111–30.

Prasanth V, Chakraborty A, Mathew S, Mathapan R (2011). Microspheres—An Overview. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* 2(2) 332-338.

Quintanar D, Ganem A, Nava M G, Piñon Elizabeth (2000). Silica Xerogels as Pharmaceutical Drug Carriers. *Expert Opinion Drug Delivery* 6(5): 485-498.

Radin S, Chen T, Duchyne P (2009). The controlled release of drugs from emulsified, sol gel processed silica microspheres. *Biomaterials* 30 850-858.

Ramírez M, Huirache R, Espinosa G, Hernández G (2010). Estado del arte del proceso sol-gel en México. *Ciencia Ergo Sum*, Vol. 17, Núm. 2 pp. 183-188

Ramos D, Gómez M, Fernández D, Núñez L (2000). Microesferas biodegradables de liberación controlada para administración parenteral. *Revista Cubana de Farmacia* 34(1):70-7.

Reddy H (2008). *Novel Drug Delivery Strategies for Effective Treatment of Cancer: Implications of Nanoparticulate Carrier Systems* en *Hanbook of Particulate Drug Delivery* Vol 2. Kumar R, editor. California: American Scientific Publishers p. 41.

Rich J, Korteso P, Ahola M, Yli-Urpo A, Kiesvaara J, Seppälä J (2000). Effect of the molecular weight of poly(ϵ -caprolactone-co-DL-lactide) on toremifene citrate release from copolymer/silica xerogel composites. *International Journal of Pharmaceutics* 212 121-130.

Ritger PL, Peppas AN (1987). A simple equation for description of solute release I. Fickian and non-Fickian release from non-swellable devices in the form of slabs, spheres cylinders or discs. *Journal of Controlled Release* 5, 23-36.

Rojas ML (2012). *Diseño y síntesis de Materiales "a medida" mediante el método sol-gel*. 1ª Ed. España: Universidad Nacional de Educación a Distancia.

Sáez V, Hernáez E, Angulo LS, Ketime I (2004). Liberación controlada de fármacos. Micropartículas. *Revista Iberoamericana de polímeros* 5:2.

Sáez V, Hernández J, Peniche C (2007). Las microesferas como sistemas de liberación controlada de péptidos y proteínas. *Biotecnología aplicada* 24 98-107.

Sakka S (2004). Sol-Gel Formation of Bulk Glasses. en: *Handbook of Sol-Gel Science and Technology: Processing Characterization and Applications*. Sakka S, Kozuka H, editores. Japón: Kluwer Academic Publishers p. 129-147

Shahzadi S; Bhatti MH; Shahid K; Ali S; Tariq, SR; Mazhar, M.; Khan, K. M (2002). Synthesis, Characterization, and Biological Activity of n-Tributyltin Derivatives of Pharmaceutically Active Carboxylates. *Monatshefte für Chemie* 133, 1089-1096.

Sharma V, Bohra R (2006). Structural Chemistry of Organotin(IV) Complex Containing Sn-O-C Funcionalidad: A Perspective. Cato M A editor. New York: Nova Science Publishers, Inc pp 89-92

Sheeraz M (2008). Biological Screening of Organotin(IV) Complexes. Quaid-i-Azam University. <http://pr.hec.gov.pk/thesis/246S.pdf>. Acceso 11 Dic 2011

Sieminska L, Ferguson M, Zerda T, Cough E (1997). Diffusion of steroids in porous sol-gel glass: application in slow drug delivery. *Journal of Sol-Gel Science Technology* 8, 1105-1109.

Siepmann J, Peppas N (2001). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews* 48 139–157.

Soon J (2012). Particle size effect on mechanical and thermal properties of SiO₂ particulate polymer composites. http://udspace.udel.edu/bitstream/handle/19716/12049/Jaesoon_Jang_thesis.pdf?sequence=1 Acceso 18 diciembre 2013

Shukla AJ, Price JC (1991). Effect of Drug Loading and Molecular Weight of Cellulose Acetate Propionate on the Release Characteristics of Theophylline Microspheres. *Pharmaceutical Research* 8 (11) 1396-1400.

Thoonen S, Deelman BJ, Koten GV (2004). Synthetic aspects of tetraorganotin and organotin(IV) halides. *Journal of Organometallic Chemistry* 689: 2145–2157.

Torres T.R (1994). Diagnóstico clínico de los tumores mamarios En: Torre T. R., (eds.), *Tumores de mama, diagnóstico y tratamiento*. 1a ed. Interamericana-McGraw-Hill pp. 7-9.

Trivedi P, Verma A, Garud N (2008). Preparation and Characterization of Acclofenac Microspheres. *Asian Journal of pharmaceutics* 2(2) 110-115

Unger K, Rupprecht H, Valentin B, Kircher M (1983). The use of porous and surface modified sílicas as drug delivery and stabilizing agents. *Drug Development and Industrial Pharmacy* 9(162) 69-91.

Union for International Cancer Control. TNM: Classification of Malignant Tumours. 2012. <http://www.uicc.org/resources/tnm>. Acceso 20 Feb 12

United States Food and Drug Administration (2000). Waiver of In Vivo Bioavailability and Bioequivalence Studies for Immediate-Release Solid Oral Dosage Forms Based on a Biopharmaceutics Classification System. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070246.pdf> Acceso 11 Mayo 2012.

Viitala R, Jokinen M, Maunu SL, Jalonen H, Rosenholm Jarl (2005). Chemical characterization of bioresorbable sol–gel derived SiO₂ matrices prepared at protein-compatible pH. *Journal of Non-Crystalline Solids* 351:3225–3234

World Health Organization (2006). Cancer control: Knowledge into action planning. http://whqlibdoc.who.int/publications/2006/9241546999_eng.pdf. Acceso 10 Nov 11

World Health Organization (2010). Global status report on noncommunicable diseases 2011. http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789240686458_eng.pdf. Acceso 15 May 12

Williams D (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials* 29(20) 2941–2953.

World Health Organization (2008). World Cancer Report 2008. http://www.iarc.fr/en/publications/pdfs-online/wcr/2008/wcr_2008.pdf. Acceso: 12 Ene 11.

Woignier T, Adil HA, Primera J, Phalippou J (2006). Properties and applications of porous glasses from foamed glasses and gel-derived glasses to allophones. *Revista Mexicana de física* 52 (3): 190-194.

Wright JD, Sommerdijk N A J M (2001). *Sol-gel Material chemistry and Applications*. 1a Ed. Estados Unidos de América; p.3,5

Yao F, Weiyuan J (2010). Drug Release Kinetics and Transport Mechanisms of Non-degradable and Degradable Polymeric Delivery Systems. *Expert Opinion Drug Delivery* 7(4) 429-444.

Yokoe J, Sakuragi S, Yamamamoto K, Teragaki T, Ogawara K, Higaki K, Katayama N, kai T, Sato M, Kimura T (2008). Albumin-conjugated PEG liposome enhances tumor distribution of liposomal doxorubicin in rats. *International Journal of Pharmaceutics* 353:(1-2):28-34.

12. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de cinética de liberación del fármaco

Tiempo (hrs)	Experimento (% fármaco liberado)		
	2	5	8
0	0	0	0
0.25	1.86	1.10	0.72
0.5	2.26	1.49	1.87
0.75	3.04	2.65	2.65
1	3.83	3.43	3.05
2	5.01	4.98	4.22
3	5.44	5.79	5.78
4	8.15	6.61	6.60
6	11.26	8.19	7.42
20	30.36	13.97	18.13
21	33.32	16.00	19.82
22	35.54	18.05	21.91
30	56.39	34.94	37.69
31	59.59	37.55	39.58
32	60.54	39.05	41.47
46	73.65	56.52	66.18
48	76.25	59.72	69.47
49	77.73	60.28	72.03
54	79.97	63.89	77.27
79	91.35	77.40	86.35

Anexo 2. Reconocimiento de la presentación del trabajo en el XLII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas



La Asociación Farmacéutica Mexicana A.C.
Otorga el presente

Reconocimiento

a: Cuahutencos Escobar Ernesto, Noguez Méndez Norma Angélica, Reyes Gasga José, Chávez Castellanos Ángel Enrique, Rubio Martínez Alejandro, Quirino Barreda Carlos Tomás

Por la presentación del trabajo libre titulado:
Encapsulación de un fármaco antitumoral de estaño en microesferas de una matriz polimérica inorgánica de SiO₂

En el XLIII Congreso Nacional de Ciencias Farmacéuticas
Celebrado del 3 al 6 de octubre de 2010,
en la Ciudad de Puerto Vallarta Jalisco, México.



Dr. Vicente Jesús Hernández Abad
Presidente



MASS Cynthia Espinosa Contreras
Directora de Ciencia y Tecnología



Anexo 2. Reconocimiento de la presentación del trabajo en el Simposio 2010 Nanotecnología y Nanociencias en la UAM.

simposio 2010



nanotecnología
y nanociencias
en la uam



La Universidad Autónoma Metropolitana
y la Red Nanociencias UAM

Otorgan la presente Constancia a:

Cuahutencos Escobar Ernesto
Noguez Méndez Norma Angélica
Reyes Gasga José
Chávez Castellanos Ángel E.
Rubio Martínez Alejandro
Quirino Barreda Carlos Tomás

Por su participación con el Cartel:

**Obtención de microesferas de una matriz polimérica
inorgánica de SiO₂ por el método sol-gel de polimerización
por emulsión**

en el marco del

Simposio 2010 Nanotecnología y Nanociencias en la UAM

15 y 16 de noviembre de 2010, Ciudad de México

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda
Coordinador de la Comisión Académica
Red Nanociencias UAM



**Red
Nanociencias UAM**

Dra. Claudia Haydée González de la Rosa
Secretaría de la Comisión Académica
Red Nanociencias UAM