



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

INFORME FINAL DE SERVIVIO SOCIAL

**Síntesis de Nanopartícula Lipídicas sólidas para la encapsulación de
moléculas con interés farmacéutico**

PRESENTA

Juan Pablo Luna Huerta

Matricula: 2212030176

LUGAR DE REALIZACIÓN

Laboratorio N-006 Desarrollo Galénico UAM-Xochimilco y Laboratorio 118
Sistemas de liberación de fármacos Facultad de Química-UNAM

Asesor Interno

Dr. Jorge Esteban Miranda Calderón

Asesor Externo

Dra. Xelhua Elihut Marcos Benitez

Agradecimientos

A mi madre, por todo el apoyo incondicional que me brindó a lo largo de mi carrera. Gracias por permitirme estudiar en otra ciudad, aun cuando no fue fácil. Siempre estaré profundamente agradecido, ya que esta oportunidad me permitió crecer tanto académica como personalmente

A mis compañeros, por su valiosa compañía y apoyo durante este recorrido. Gracias a ustedes pude ampliar mis conocimientos, superar momentos difíciles y encontrar motivación para seguir adelante. Me impulsaron a ser una mejor persona y a dar lo mejor de mí, incluso en los momentos más complicados

Al Dr. Jorge Miranda, por su guía, paciencia y constante motivación a lo largo de mi formación. Le agradezco profundamente por creer en mí y por su compromiso con la enseñanza. Reconozco que no siempre fui el mejor alumno, pero usted siempre fue un gran profesor, no solo para mí, sino para todos los estudiantes que tuvo a su cargo

A la Dra. Xelhua Elihut, por brindarme la oportunidad de realizar mi servicio social en la Facultad de Química de la UNAM. Gracias a su apoyo y enseñanza, pude ampliar mis conocimientos tanto teóricos como prácticos. Le agradezco por su dedicación y por ser una excelente profesora que me ayudó significativamente en mi formación

A la Dra. Josefa Bernard por aceptarme en su proyecto y recibirme con los brazos abiertos y guiarme y resolviendo mis dudas durante mi trayecto de formación, gracias por permitirme ser parte de la familia UNAM y dejarme mejorar mis técnicas dentro del laboratorio y desarrollar más mis conocimientos y aplicarlos

A la Dra. Josefa Bernard, por haberme aceptado en su proyecto y recibirme con los brazos abiertos, guiándome y resolviendo mis dudas a lo largo de mi trayecto de formación. Gracias por permitirme ser parte de la familia UNAM, brindarme la oportunidad de mejorar mis técnicas en el laboratorio, y ampliar y aplicar mis conocimientos.

Contenido

<i>Agradecimientos</i>	2
1. Introducción	5
2. Antecedentes	5
2.1 Sistemas de liberación controlada	5
2.2 Nanopartículas lipídicas	6
2.3 Aplicaciones farmacéuticas	7
2.3.1 Administración parenteral de NLS	7
2.3.2 Terapia contra el cáncer	8
2.3.3 Nanopartículas lipídicas sólidas para la administración de péptidos y proteínas . 8	
3. Planteamiento del problema y Justificación	8
4. Objetivo General	9
5. Objetivos particulares	9
6. Metodología	9
6.1 Caracterización de fármacos hidrosolubles	9
6.2 Espectrofotometría Uv-Vis	11
6.2.1 Identificación de la longitud de onda	11
6.2.2 Desarrollo de las curvas de calibración	12
6.3 Síntesis de Nanopartículas Lipídicas Sólidas	13
6.4 Lavado de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas	14
6.5 Medición del tamaño de partícula y potencial Z	16
6.6 Liberación del fármaco encapsulado en las NLS	16
7. Resultados	17
7.1 Longitud de onda	17
7.2 Curvas de calibración	22
7.3 Síntesis de Nanopartículas Lipídicas Sólidas	27
7.4 Lavado	29
7.5 Caracterización de las Nanopartículas	30
7.5.1 Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga	30
7.5.2 Tamaño y potencial Z	32
7.6 Liberación	33
8. Conclusión	37
Bibliografía	38

9. Anexos	40
Anexo A	40
Tabla A1. <i>Curvas de calibración de la Hidroquinona.....</i>	40
Tabla A2. <i>Curvas de calibración de la Cefalexina</i>	40
Tabla A3. <i>Curvas de calibración del Clorhidrato de Ractopamina</i>	40
Tabla A4. <i>Curvas de calibración de la Norfloxacin.....</i>	41
Tabla A4. <i>Curvas de calibración de la Furosemida.....</i>	41
Anexo B	42
Tabla B1. <i>Abs del perfil de liberación de la Hidroquinona.....</i>	42
Tabla B2. <i>Abs del perfil de liberación de la Cefalexina</i>	43
Tabla B3. <i>Abs del perfil de liberación del Clorhidrato de Ractopamina</i>	44
Tabla B4. <i>Abs del perfil de liberación de la Norfloxacin.....</i>	46
Tabla B5. <i>Abs del perfil de liberación de la Furosemida.....</i>	47

1. Introducción

La investigación de sistemas de liberación de fármacos tiene una relevancia importante esto debido a la creciente necesidad de mejorar la biodisponibilidad y la estabilidad de los medicamentos. A lo largo de su tránsito por el organismo, los fármacos se ven expuestos a una serie de desafíos biológicos, como cambios de pH, interacción con proteínas y enzimas del torrente sanguíneo, entre otros factores, que pueden comprometer su eficacia terapéutica. Para mitigar estos obstáculos, se requieren métodos de transporte que ofrezcan protección al fármaco y aseguren su llegada al sitio de acción en condiciones óptimas (Shidaye, 2008).

En este contexto, el presente trabajo de servicio social se propone sintetizar y caracterizar nanopartículas lipídicas obtenidas de extractos naturales de bajo costo como una alternativa viable para el transporte de fármacos. Estas nanopartículas, formadas por una combinación de lípidos sólidos, lípidos líquidos y surfactantes, ofrecen características favorables como estabilidad térmica, biocompatibilidad, y potencial para encapsular fármacos hidrosolubles. Parte del planteamiento es estudiar el porcentaje de encapsulación de estos fármacos y evaluar el perfil de liberación del sistema desarrollado, al final evaluaremos la estructura de las diferentes moléculas para tratar de encontrar una relación de las estructuras con su porcentaje de encapsulación.

Para obtener las nanopartículas, se empleará el método de "Homogenización en caliente", seguido del lavado por diálisis, análisis de tamaño, espectro infrarrojo, comportamiento térmico y liberación in-vitro de los sistemas.

Este trabajo contribuye al campo de los sistemas de liberación al proponer el uso de materiales económicos y biodegradables en la síntesis de nanopartículas lipídicas, destacando su potencial como vehículos seguros y eficaces para la administración de fármacos en diversos contextos terapéuticos.

Los resultados obtenidos en este proyecto servirán como base para una mejor comprensión de estos sistemas y su mejora continua para el desarrollo de diferentes formulaciones tanto en humanos como en animales

2. Antecedentes

2.1 Sistemas de liberación controlada

El diseño y aplicación de sistemas de dosificación controlada y de liberación dirigida de medicamentos representan una de las áreas más relevantes en el desarrollo de nuevas formas terapéuticas. En este contexto, la utilización de materiales de origen natural como soportes para fármacos ha cobrado gran interés, debido a su capacidad para regular y dosificar la liberación del principio activo en aplicaciones específicas. (Sáez V., 2002)

A pesar del progreso logrado en el diseño racional de medicamentos —incluidos aquellos desarrollados mediante estrategias avanzadas en biología molecular— muchos compuestos

aún presentan efectos secundarios no deseados. Esto se debe principalmente a la interacción del fármaco con tejidos sanos, distintos al sitio terapéutico de acción, lo que representa una limitación importante en el tratamiento eficaz de enfermedades complejas como el cáncer, las patologías neurodegenerativas y las infecciones crónicas. En este sentido, los sistemas de administración controlada ofrecen una alternativa, ya que permiten regular tanto el ritmo de liberación del fármaco como su localización en el organismo, optimizando su eficacia terapéutica y reduciendo los efectos secundarios. (NIH, 2016)

El objetivo principal de la liberación controlada es claro: administrar la cantidad adecuada del agente activo, en el momento preciso y en el sitio específico de acción. Este tipo de sistemas se utiliza comúnmente para prolongar la presencia de concentraciones terapéuticas efectivas mediante una sola dosis y para evitar o minimizar los niveles plasmáticos superiores a los requerimientos terapéuticos. (Sáez V., 2002)

Estas presentaciones ofrecen ventajas significativas, tales como pautas posológicas más cómodas, perfiles farmacocinéticos mejorados y una notable reducción de efectos adversos. No obstante, a pesar del desarrollo tecnológico alcanzado, estos avances no siempre se traducen en mejoras clínicas relevantes. (Paredero JM, 2007)

2.2 Nanopartículas lipídicas

En las últimas dos décadas, el campo farmacéutico ha experimentado avances significativos en el desarrollo de medicamentos y en los métodos de administración de fármacos. Uno de los impulsores clave de esta evolución ha sido la nanotecnología, la cual ha revolucionado el diseño de sistemas terapéuticos para aplicaciones dirigidas, diagnósticas y farmacológicas. Su implementación ha permitido el desarrollo de nuevos nanotransportadores, entre los cuales destacan las nanopartículas lipídicas como una alternativa innovadora para la liberación controlada de fármacos. (Mishra DK, 2018)

Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) son sistemas de administración de fármacos de tamaño submicrónico, que oscila entre 10 y 1000 nm. Estas estructuras se consideran una opción eficaz frente a otros sistemas coloidales, gracias a su capacidad para transportar tanto compuestos lipofílicos como hidrofílicos en una matriz lipídica sólida (Mehnert W, 2012). Las síntesis de NLS puede ser a partir de materiales biocompatibles y biodegradables, lo que favorece su uso seguro en aplicaciones médicas.

A diferencia de los liposomas tradicionales, las NLS presentan una mayor estabilidad en medios biológicos, debido a su núcleo rígido compuesto por lípidos sólidos a temperatura ambiente y corporal, rodeado por una monocapa de fosfolípidos. El perfil de liberación del fármaco también se ve influido por la cantidad y tipo de surfactante utilizado durante su producción. (Kumar N, 2014)

Los lípidos utilizados en estos sistemas, obtenidos de fuentes vegetales y animales, han adquirido un papel relevante como excipientes en la formulación de medicamentos. Las nanopartículas lipídicas sobresalen entre las nanoformulaciones actuales por su biocompatibilidad, flexibilidad y bajo costo, siendo aptas para múltiples vías de

administración: oral, tópica, parenteral e inhalada. Su diseño puede personalizarse para responder a las necesidades terapéuticas según la enfermedad, la vía de administración, y factores relacionados con la estabilidad, toxicidad y viabilidad del producto final. (Mishra DK, 2018)

Las NLS presentan una menor toxicidad comparada con otros nanotransportadores como las nanopartículas poliméricas o cerámicas debido a su fácil degradación. Además, ofrecen parámetros farmacocinéticos controlables y pueden diseñarse con distintos tipos de núcleo hidrofóbico: una matriz homogénea, una cubierta enriquecida con fármaco o un núcleo enriquecido con fármaco. Se ha demostrado que la liberación del fármaco desde el núcleo hidrofóbico puede ser modulada por la temperatura: a temperaturas más altas se facilita la liberación, mientras que a temperaturas más bajas se favorece su encapsulación. (Kumar N, 2014)

Pese a los avances logrados, aún existen limitaciones que deben abordarse para garantizar una aplicación clínica segura y eficaz. Es necesario establecer métodos estandarizados para la caracterización preclínica de estas nanopartículas, así como protocolos de control de calidad que consideren los efectos a corto y largo plazo. Solo mediante estudios experimentales rigurosos será posible consolidar el uso de las nanopartículas lipídicas como sistemas eficientes y seguros para la administración de fármacos. (Amjad S, 2021)

2.3 Aplicaciones farmacéuticas

Las NLS presentan propiedades funcionales destacadas, como una estructura lipídica biocompatible, alta estabilidad y capacidad para encapsular compuestos tanto hidrofílicos como lipofílicos. Estas características permiten mejorar la distribución de los fármacos hacia órganos diana, modificar su perfil farmacocinético, aumentar su eficacia terapéutica y reducir los efectos secundarios adversos. (Musielak E, 2022)

2.3.1 Administración parenteral de NLS

La administración oral de muchos fármacos, especialmente péptidos y proteínas se ve limitada por su degradación enzimática en el tracto gastrointestinal. En estos casos, la vía parenteral se convierte en una alternativa eficaz. Las NLS han demostrado ser transportadores prometedores para la liberación prolongada y controlada de fármacos mediante esta vía. Gracias a su tamaño nanométrico, pueden circular eficientemente en el sistema microvascular y ejercer una acción terapéutica prolongada. (Wissing, S. A., 2004)

En el tratamiento de enfermedades del sistema nervioso central (SNC), donde la barrera hematoencefálica (BHE) limita la penetración de muchos fármacos, las NLS han permitido el transporte exitoso de compuestos como la doxorrubicina (Zara, G. P., 2002). En general, estas nanopartículas reducen los efectos secundarios asociados a la administración parenteral

(Almeida, A. J., 2007). Además, diversas compañías están desarrollando nuevos productos basados en NLS que actualmente se encuentran en fase preclínica.

2.3.2 Terapia contra el cáncer

El uso de NLS en quimioterapia ha despertado gran interés debido a su capacidad para mejorar la eficacia terapéutica y reducir efectos adversos. Diversos estudios han demostrado que la encapsulación de agentes quimioterapéuticos en NLS permite una mejor estabilidad del fármaco, un perfil farmacocinético favorable y una menor toxicidad *in vitro* (Cho, K., 2008). Estos sistemas también ayudan a superar barreras frecuentes en la quimioterapia, como la toxicidad en tejidos sanos, la baja especificidad del tratamiento y la resistencia a los medicamentos (Muchow, M., 2008).

Por ejemplo, se ha demostrado que las NLS pueden liberar genes mediante interacciones electrostáticas para el tratamiento del cáncer (Bondi, M. L., 2007). Además, el recubrimiento con polietilenglicol (PEG) mejora la biodisponibilidad al reducir la captación fagocítica (Üner, M., 2007). Las NLS recubiertas con materiales hidrofílicos también han mostrado buena eficacia en la entrega dirigida de fármacos anticancerígenos (Wong, H. L., 2007).

2.3.3 Nanopartículas lipídicas sólidas para la administración de péptidos y proteínas

Las SLN representan una alternativa eficaz para la administración de proteínas, péptidos y antígenos. El principal desafío radica en optimizar estos sistemas para incorporar adecuadamente compuestos hidrofílicos o hidrofóbicos y lograr una formulación estable y funcional. Una ventaja notable de las NLS es su idoneidad para múltiples vías de administración, incluyendo la parenteral, oral, nasal y pulmonar (Almeida, A. J., 2007).

Se han investigado formulaciones con péptidos como ciclosporina A, insulina, calcitonina y somatostatina encapsulados en NLS, mostrando mejoras en la estabilidad de las moléculas, protección frente a la degradación y un perfil de liberación sostenida (Kumar, R., 2019).

3. Planteamiento del problema y Justificación

En la actualidad, uno de los principales desafíos en el ámbito farmacéutico es lograr una administración eficiente, segura y dirigida de los principios activos. Muchos fármacos presentan limitaciones significativas, como baja biodisponibilidad, rápida degradación metabólica, efectos adversos sistémicos y liberación no controlada, lo que compromete su eficacia terapéutica y puede afectar negativamente la calidad de vida del paciente.

Ante este panorama, el desarrollo de sistemas de liberación modificada, controlada o dirigida ha cobrado gran relevancia como estrategia para optimizar los tratamientos farmacológicos. Estos sistemas permiten mantener concentraciones plasmáticas más constantes, reducir la frecuencia de administración y minimizar los efectos secundarios. Sin embargo, también

enfrentan desafíos relacionados con la estabilidad del principio activo, la biocompatibilidad de los excipientes, la complejidad de los procesos de fabricación y los costos de producción.

Este proyecto surge como respuesta a la creciente necesidad de diseñar sistemas de liberación que mejoren la biodisponibilidad y estabilidad de los medicamentos frente a desafíos fisiológicos como variaciones de pH, interacción con enzimas y proteínas plasmáticas. Además, se plantea el desarrollo de sistemas basados en materiales biodegradables y de bajo costo, como triglicéridos y ácidos grasos monoinsaturados, lo cual no solo favorece la sostenibilidad ambiental, sino que también contribuye a la reducción de los costos asociados a su producción y comercialización. De esta manera, se busca avanzar hacia soluciones terapéuticas más accesibles, efectivas y seguras para una amplia variedad de patologías.

4. Objetivo General

Obtener nanopartículas lipídicas con materiales económicos y biodegradables como una alternativa en el transporte de fármacos

5. Objetivos particulares

- Sintetizar nanopartículas lipídicas mediante el método de “Homogenización en caliente”
- Determinar el porcentaje de encapsulación de fármacos hidrofílicos utilizando técnicas espectrofotométricas
- Caracterizar las nanopartículas mediante el análisis de tamaño de partícula, potencial Z, eficiencia de encapsulación y capacidad de carga
- Evaluar el perfil de liberación in vitro en condiciones fisiológicas

6. Metodología

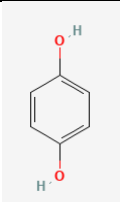
6.1 Caracterización de fármacos hidrosolubles

Previo a la síntesis de las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS), se seleccionaron cinco fármacos hidrosolubles con el objetivo de caracterizar sus propiedades fisicoquímicas. Entre los parámetros evaluados se incluyeron: solubilidad, estructura química, peso molecular, estado físico y actividad farmacológica principal. Asimismo, se investigó la longitud de onda máxima de absorción (λ máx) de cada fármaco mediante espectrofotometría UV-Vis.

Toda esta información fue organizada en tablas individuales para cada compuesto, lo que permitió una visualización más clara y comparativa de sus características. Este análisis preliminar resultó fundamental para comprender qué factores, como los grupos funcionales, el peso molecular o la estructura tridimensional, pueden influir en la eficiencia de encapsulación de los fármacos dentro de las NLS.

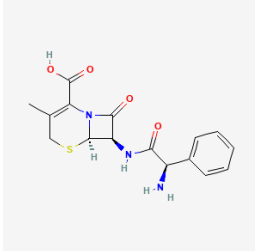
- Hidroquinona

Tabla 1. *Caracterización fisicoquímica del fármaco Hidroquinona*

 Hidroquinona	Formula	C6H6O2	Medicamentos utilizados para proteger contra las radiaciones ionizantes. Generalmente son de interés para su uso en radioterapia. Sustancias naturales o sintéticas que inhiben o retardan las reacciones de oxidación
	PM:	110,11 g/mol	
	PF:	170-171°C	
	Solubilidad:	≥50 mg/ml en H2O .464 mg/ml de etanol en 30 °C	
	Estado físico:	Cristales de color tostado claro, gris claro o incoloros	
Longitud de onda UV: 292.85 nm			

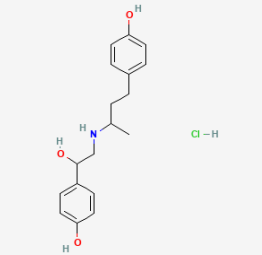
- Cefalexina

Tabla 2. *Caracterización fisicoquímica del fármaco Cefalexina*

 Cefalexina	Formula	C16H17N3O4S	Antibiótico para infecciones del tracto respiratorio y genitourinario y de la piel, ojos y huesos; antibiótico para uso veterinario
	PM:	347,4 g/mol	
	PF:	326,8°C	
	Solubilidad:	10 mg/ml en agua	
	Estado físico:	Polvo cristalino de color blanco a blanco rojo	
Longitud de onda UV: 254 nm			

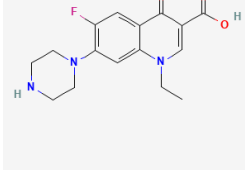
- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 3. *Caracterización fisicoquímica del fármaco Clorhidrato de ractopamina*

 Clorhidrato de Ractopamina	Formula	C18H24ClNO3	Es un agonista betaadrenérgico. Es un activador de los receptores beta2-AR y beta1-AR. Tiene el efecto de aumentar la masa muscular y disminuir la grasa corporal en roedores y ganado
	PM:	337,8 g/mol	
	PF:	129°C	
	Solubilidad:	41.2 mg/ml en agua	
	Estado físico:	Polvo blanco	
Longitud de onda UV: 280 nm			

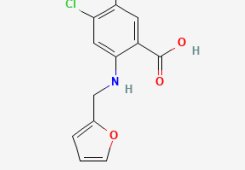
- Norfloxacin

Tabla 4. Caracterización físicoquímica del fármaco Norfloxacin

 Norfloxacin	Formula	C16H18FN3O3	Es un antibiótico quinolónico / fluoroquinolónico. Es bactericida y su mecanismo de acción se basa en el bloqueo de la replicación del ADN bacteriano al unirse a una enzima llamada ADN girasa, que permite la destorsión necesaria para replicar una doble hélice de ADN en dos
	PM:	319,33 g/mol	
	PF:	228°C	
	Solubilidad:	.28 mg/ml en agua	
	Estado físico:	Polvo cristalino de color blanco a amarillo claro	
Longitud de onda UV: 291 nm			

- Furosemida

Tabla 5. Caracterización físicoquímica del fármaco Furosemida

 Furosemida	Formula	C12H11ClN2O5S	Trata la hipertensión y el edema asociados con la insuficiencia cardíaca congestiva, la cirrosis y la enfermedad renal, incluyendo el síndrome nefrótico
	PM:	330,74 g/mol	
	PF:	206°C	
	Solubilidad:	.073 mg/ml en agua	
	Estado físico:	Polvo cristalino inodoro, de color blanco a ligeramente amarillento	
Longitud de onda UV: 238 nm			

6.2 Espectrofotometría Uv-Vis

6.2.1 Identificación de la longitud de onda

Aunque se habían investigado previamente las longitudes de onda teóricas para cada fármaco, fue necesario realizar una verificación experimental debido al uso de un espectrofotómetro distinto. Para obtener resultados precisos y reproducibles, se decidió establecer de manera práctica la longitud de onda óptima de lectura para cada fármaco en el equipo disponible en el laboratorio, así como las concentraciones adecuadas para su análisis.

Para ello, se desarrolló una metodología específica: se pesaron 5 mg del fármaco y se disolvieron en solución tampón con pH 7.4 hasta un volumen final de 5 ml. Esta solución madre se llevó al espectrofotómetro para registrar la absorbancia inicial. Si la absorbancia resultaba alta o superior a 1, el fármaco era considerado adecuado para trabajar en concentraciones menores, ya que se buscaba evaluar la liberación a niveles bajos de concentración. En cambio, si la absorbancia era demasiado baja, menor a 1 en la solución

madre, se descartaba para el estudio, ya que indicaba un bajo coeficiente de absorptividad, dificultando su detección en condiciones experimentales reales.

En los casos en los que la absorbancia era suficientemente alta, se realizaron diluciones sucesivas de 10 a 100, obteniendo concentraciones entre 10 y 100 $\mu\text{g/ml}$. Estas diluciones fueron analizadas nuevamente para obtener valores de absorbancia dentro del rango lineal del equipo <1.0 , asegurando así la sensibilidad y linealidad del método.

Una vez obtenidas absorbancias medibles, se procedió a determinar la longitud de onda óptima para cada fármaco. En aquellos casos en los que se observaron múltiples picos de absorción, se eligió el de mayor intensidad por encima de los 250 nm, con el objetivo de minimizar interferencias por ruido instrumental o del medio.

Con esta información de la longitud de onda específica, concentración y valores de absorbancia se procedió a construir las curvas de calibración correspondientes para cada fármaco, permitiendo cuantificar de forma precisa la cantidad liberada por las NLS durante los ensayos.

6.2.2 Desarrollo de las curvas de calibración

Para el desarrollo de las curvas de calibración, se preparó inicialmente una solución madre con concentración conocida, utilizando una solución tampón de pH 7.4. A partir de esta, se obtuvieron cinco soluciones con distintas concentraciones, manteniendo un mismo volumen final, las cuales fueron utilizadas para construir la curva de calibración.

En aquellos casos donde las absorbancias obtenidas directamente de la solución madre resultaban demasiado altas (superiores a 1.0), fue necesario preparar una solución intermedia. Esta se obtuvo al tomar un volumen determinado de la solución madre y llevarlo a un nuevo volumen mediante aforo. Posteriormente, a partir de esta solución intermedia, se prepararon nuevamente cinco soluciones con diferentes concentraciones denominadas alícuotas, las cuales fueron analizadas en un espectrofotómetro UV-Vis para registrar sus respectivas absorbancias (Figura 1).

Con los datos obtenidos, se construyó la curva de calibración para cada fármaco, relacionando la concentración con su correspondiente absorbancia. La linealidad de la curva se evaluó mediante el coeficiente de correlación (R^2), considerándose aceptable cuando su valor fue igual o superior a 0.99.

Finalmente, a partir de los datos experimentales se obtuvieron las ecuaciones de las rectas de calibración, las cuales se utilizaron como herramientas analíticas para la cuantificación de los fármacos. Estas ecuaciones permitieron determinar la concentración de cada fármaco una vez encapsulado en los sistemas de liberación controlada (NLS) previamente sintetizados, posibilitando así la evaluación de la eficiencia de encapsulación y el potencial uso de estos sistemas en aplicaciones farmacéuticas.

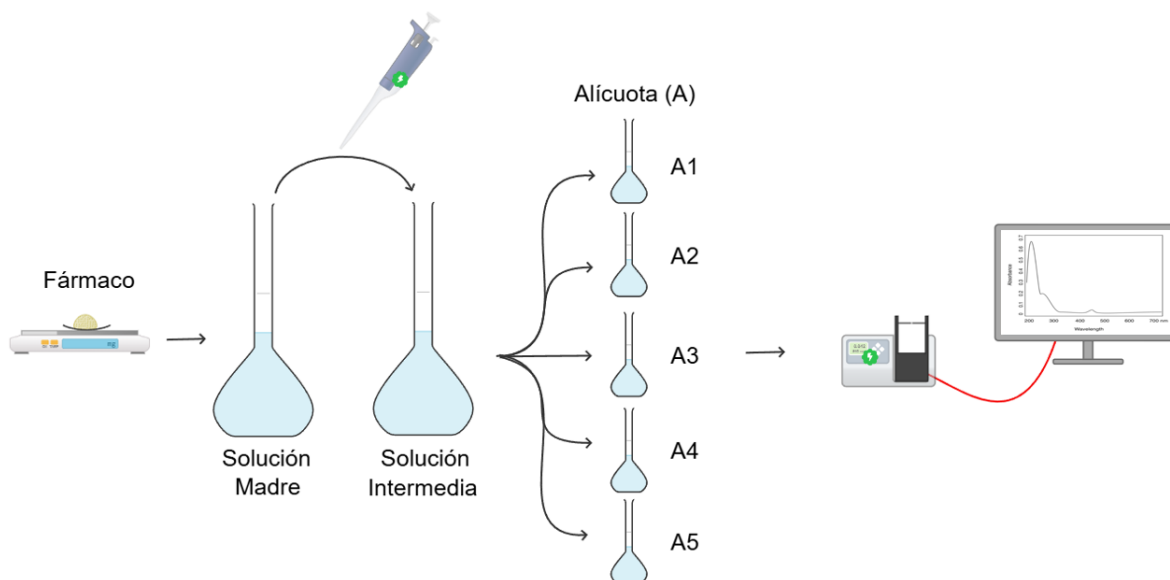


Figura 1. Metodología para la preparación de curvas de calibración

6.3 Síntesis de Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Para la síntesis de NLS, se inicia con la preparación del área de trabajo, asegurando que la mesa esté despejada y debidamente limpia. Dado que el procedimiento se realiza por triplicado, se preparan tres juegos de material: tres vasos de precipitado de 10 mL, tres paletas de agitación, tres tubos de vidrio y tres frascos ámbar para el almacenamiento final de las nanopartículas sintetizadas.

Para cada síntesis, se pesan individualmente 20 mg del fármaco, resultando en un total de 60 mg para las tres réplicas. Además, se utilizan 20 g de solución de Tween 80 al 1.5% y 1 g de la mezcla de lípidos proporcionada.

En un vaso de precipitado de 10 mL, se colocan los 20 mg de fármaco junto con 1 g de lípidos. Paralelamente, en un tubo de vidrio, se vierte la solución de Tween 80. Ambos recipientes se calientan a la misma temperatura hasta que los lípidos se funden completamente. Una vez derretidos, se homogeniza la mezcla de lípidos y fármaco con la paleta hasta obtener una mezcla uniforme.

A continuación, se monta el equipo Ultra-Turrax, asegurándose de que esté limpio y en condiciones óptimas de funcionamiento. Se calienta un vaso de precipitado de 250 mL con agua destilada, que luego se coloca en el equipo con el fin de calentar el vástago y así evitar choques térmicos con la mezcla lipídica. Tras dos minutos, se retira el vaso con agua y se reemplaza por el tubo de vidrio que contiene la solución de Tween 80 previamente calentada. Se enciende el Ultra-Turrax, aumentando progresivamente la velocidad hasta alcanzar 10,000 rpm, para minimizar la formación de burbujas de aire.

Una vez alcanzada la velocidad deseada, se incorpora lentamente la mezcla de lípidos con el fármaco al tubo de vidrio con Tween 80, y se mantiene la agitación por 5 minutos. Al finalizar, las nanopartículas recién sintetizadas se transfieren cuidadosamente a un frasco ámbar y se colocan en un cuarto frío (2–8 °C) durante 24 horas, para favorecer la formación de las NLS, mejorar la eficiencia de encapsulación y prevenir fenómenos como la coalescencia.

Finalmente, se limpia cuidadosamente el vástago del Ultra-Turrax y se repite el procedimiento para las dos réplicas restantes.

6.4 Lavado de las Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Tras 24 horas de almacenamiento en el cuarto frío (2–8 °C), se tomaron 5 mL de cada una de las tres síntesis (triplicado) por fármaco y se colocaron en membranas de diálisis con un corte molecular de 3.5 kDa. Cada membrana se introdujo en un vaso de precipitado de 100 mL que contenía 50 mL de solución tampón de pH 7.4, manteniéndose en agitación durante 24 horas, con el fin de remover el fármaco no encapsulado.

Pasado ese tiempo, se retiraron 5 mL del medio externo (solución tampón), y el resto fue desechado. Se repusieron 50 mL nuevos de solución tampón y se dejó en contacto durante una hora más. Esta operación se repitió cada hora, recolectando muestras de 5 mL para su análisis. En total, se realizaron hasta cinco recambios, debido a que aún se detectaba fármaco no encapsulado en el medio, evidenciado mediante análisis en el espectrofotómetro UV-Vis. Este procedimiento representó un consumo considerable de tiempo y materiales, ya que debía realizarse para cada muestra dentro del laboratorio.

Ante esta situación, se discutió el problema con las investigadoras responsables, y se propuso realizar un experimento empleando fluoresceína de sal sódica como modelo de fármaco, debido a su propiedad fluorescente, lo que facilita su detección visual sin necesidad del espectrofotómetro UV-Vis, acelerando el monitoreo del proceso.

Se realizaron cuatro síntesis de NLS con fluoresceína de sal sódica y se sometieron al mismo protocolo de lavado con solución tampón pH 7.4, dividiéndose en dos grupos: dos fueron almacenadas en el cuarto frío (2–8 °C) y dos a temperatura ambiente. Cabe destacar que el experimento se llevó a cabo en temporada cálida, por lo que se planteó la hipótesis de que la temperatura ambiental podría influir negativamente en la eficiencia de encapsulación.

Después de 24 horas, se extrajeron las NLS de las membranas de diálisis y se transfirieron a recipientes de vidrio. Se observó que una muestra presentaba mayor intensidad de fluorescencia que otra, lo cual indicaba una mayor concentración de fármaco encapsulado (ver Figura 2).

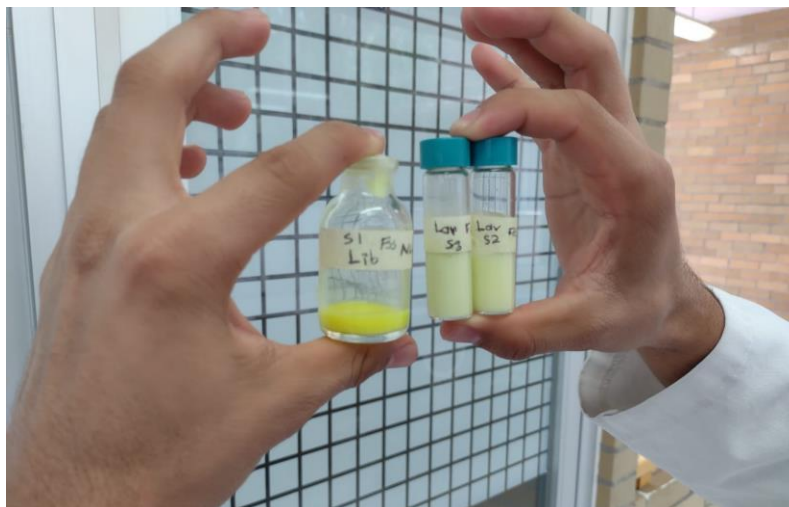


Figura 2. *NLS con fármaco en cuarto frío (lado izquierdo) y NLS en temperatura ambiente (lado derecho)*

Posteriormente, se continuó con la evaluación del medio externo cada hora, sustituyendo los 50 mL de solución tampón por nuevo volumen fresco. Se observó que las NLS almacenadas a temperatura ambiente seguían liberando fluoresceína, mientras que las conservadas en el cuarto frío liberaban cantidades mínimas o nulas. En el caso de las muestras refrigeradas, tras varios recambios ya no se observaba fluorescencia en el medio, ni señal en el UV-Vis, confirmando la ausencia de fármaco libre. Por el contrario, en las muestras a temperatura ambiente, aún era evidente la presencia de fármaco no encapsulado, incluso a simple vista.



Figura 3. *Lavado de las NLS en cuarto frío (lado izquierdo) y lavado de las NLS en temperatura ambiente (lado derecho)*

Se concluyó que la temperatura del ambiente externo influye directamente en la estabilidad de las NLS, favoreciendo la liberación del fármaco previamente encapsulado. Esta liberación podía confundirse con la presencia de fármaco no encapsulado desde el inicio. Dicha conclusión se reforzó al observar que, cuando las membranas de diálisis se mantenían durante un periodo prolongado (inicialmente 24 horas) antes del primer recambio, y bajo condiciones de agitación, las NLS se desestabilizaban más fácilmente. Esto fue aún más evidente en las muestras mantenidas a temperatura ambiente.

Con esta incógnita resuelta, se ajustó la metodología: a partir de entonces, todos los lavados se realizaron dentro del cuarto frío con el fin de preservar la integridad estructural de las NLS. Además, se modificaron los tiempos de recambio de la solución tampón y de toma de muestra a tres momentos clave: a las 24 horas, a 1 hora y a los 30 minutos posteriores. Estos tiempos se determinaron como suficientes, ya que a partir de ellos no se detectaba fármaco libre (no encapsulado) en el medio, ni visualmente ni por espectroscopía UV-Vis.

Una vez concluido el proceso de lavado y asegurada la eliminación del fármaco no encapsulado, las NLS purificadas fueron transferidas a frascos ámbar y almacenadas en el cuarto frío hasta su posterior utilización.

6.5 Medición del tamaño de partícula y potencial Z

Las nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) previamente sintetizadas y lavadas fueron diluidas en agua Milli-Q para su caracterización. Se tomaron 100 μL de la muestra y se mezclaron con 900 μL de agua Milli-Q en un microtubo. Esta dilución se repitió tres veces más de manera secuencial, realizando en total cuatro diluciones 1:10 para alcanzar una concentración adecuada para el análisis.

Posteriormente, la muestra diluida se transfirió a una celda de potencial Z (modelo DTS1070) para su análisis en el equipo de dispersión dinámica de luz. Con este procedimiento se midió el tamaño hidrodinámico de partícula y el potencial zeta (carga superficial) de las NLS sintetizadas.

Cabe destacar que esta caracterización se realizó únicamente para una réplica de síntesis de un fármaco, y los resultados obtenidos fueron registrados para evaluar la estabilidad fisicoquímica de las nanopartículas.

6.6 Liberación del fármaco encapsulado en las NLS

El estudio de liberación del fármaco comenzó con la preparación de una solución tampón fosfato con pH 7.4, en cantidad suficiente para realizar todos los ensayos. Se utilizaron tubos Falcon de 50 ml etiquetados como S1, S2 y S3, correspondientes a las tres síntesis (triplicado) de un mismo fármaco. Además, se prepararon tubos Eppendorf marcados con los tiempos de muestreo: 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 180 y 240 minutos. Esta preparación se realizó por triplicado para cada uno de los cinco fármacos evaluados.

La incubadora se ajustó previamente a una temperatura constante de 37 °C y una agitación de 150 rpm. La solución tampón también se precalentó a 37 °C para evitar choques térmicos durante el experimento.

Una vez preparada el área de trabajo y los materiales las NLS previamente sintetizadas y sintetizadas, se retiraron del cuarto frío. Con ayuda de una micropipeta, se tomaron 3 ml de cada síntesis y se transfirieron a membranas de diálisis con un corte molecular de 3.5 kDa.

Cada una de las membranas (por triplicado) fue colocada dentro de un tubo Falcon correspondiente y se añadieron 10 ml de solución tampón. Los tubos se colocaron inmediatamente en la incubadora.

Al cumplirse cada tiempo de muestreo establecido, se retiraron 5 ml del medio externo de la membrana y se reemplazaron con 5 ml de solución tampón fresca, previamente calentada. De los 5 ml recolectados, se tomaron 2 ml y se transfirieron a los microtubos previamente etiquetados, mientras que el volumen restante fue desechado. Cabe destacar que los tiempos de muestreo se contabilizaron a partir del inicio de la incubación, no desde el momento de la recolección de la muestra anterior.

Tras finalizar las 4 horas de muestreo, todas las muestras del triplicado correspondiente fueron llevadas al espectrofotómetro UV-Vis para registrar la absorbancia del fármaco liberado. A partir de estos datos, se calcularon los perfiles de liberación y la cantidad de fármaco liberado por las NLS sintetizadas.

Este procedimiento se replicó de forma idéntica para los cinco fármacos estudiados y sus respectivos triplicados.

7. Resultados

7.1 Longitud de onda

- *Hidroquinona*

Tabla 6. *Preparación de la alícuota para medir su Abs y longitud de onda del fármaco Hidroquinona*

Hidroquinona			
Solución Madre	API	6.4	mg
	Aforo	5	ml
	Concentración	1.28	mg/ml
Solución Intermedia	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	1	ml
	Concentración	1280	µg/ml
Alícuota	Volumen Transferido	0.1	ml
	Aforo	10	ml
	Concentración	12.8	µg/ml
Lectura	Abs	0.3259	
	Longitud de onda	292.85	nm

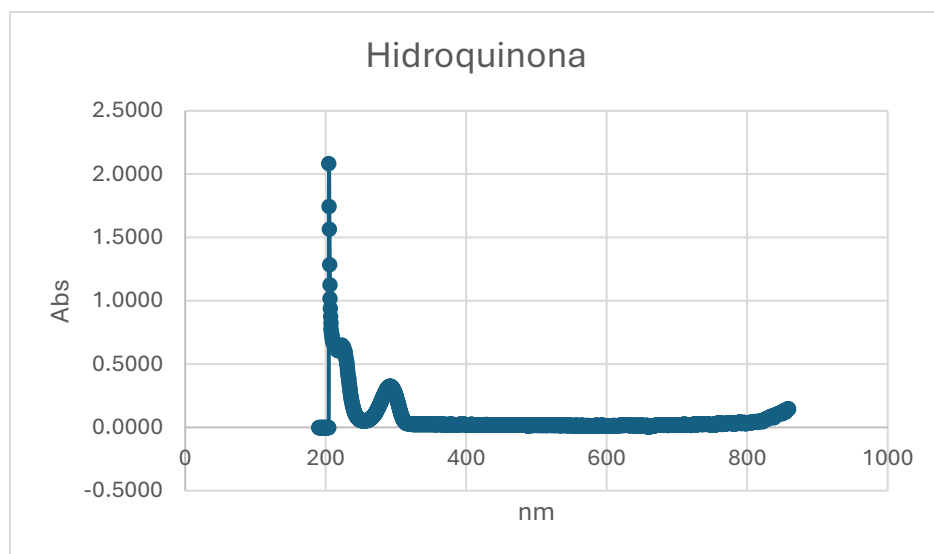


Figura 4. *Espectro Uv-Vis de la Hidroquinona*

- *Cefalexina*

Tabla 7. *Preparación de la alícuota para medir su Abs y longitud de onda del fármaco Cefalexina*

Cefalexina			
Solución Madre	API	5.05	mg
	Aforo	5	ml
	Concentración	1.01	mg/ml
Solución Intermedia	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	5	ml
	Concentración	202	µg/ml
Alícuota	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	10	ml
	Concentración	20.2	µg/ml
Lectura	Abs	0.3975	
	Longitud de onda	260.55	nm

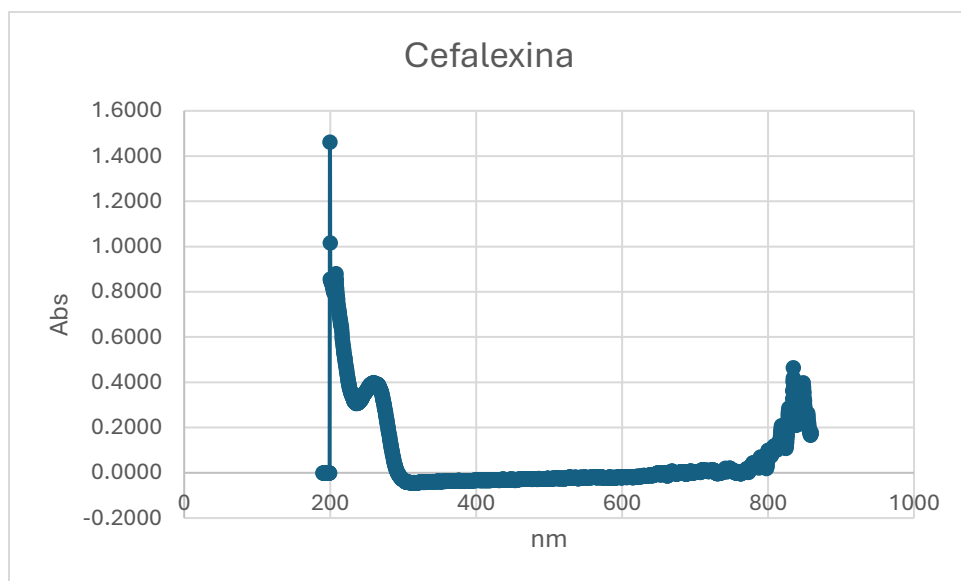


Figura 5. Espectro Uv-Vis de la Cefalexina

- *Clorhidrato de Ractopamina*

Tabla 8. Preparación de la alícuota para medir su Abs y longitud de onda del fármaco
Clorhidrato de Ractopamina

Clorhidrato de Ractopamina			
Solución Madre	API	5.2	mg
	Aforo	5	ml
	Concentración	1.04	mg/ml
Solución Intermedia	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	1	ml
	Concentración	1040	µg/ml
Alícuota	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	10	ml
	Concentración	104	µg/ml
Lectura	Abs	0.8082	
	Longitud de onda	277.97	nm

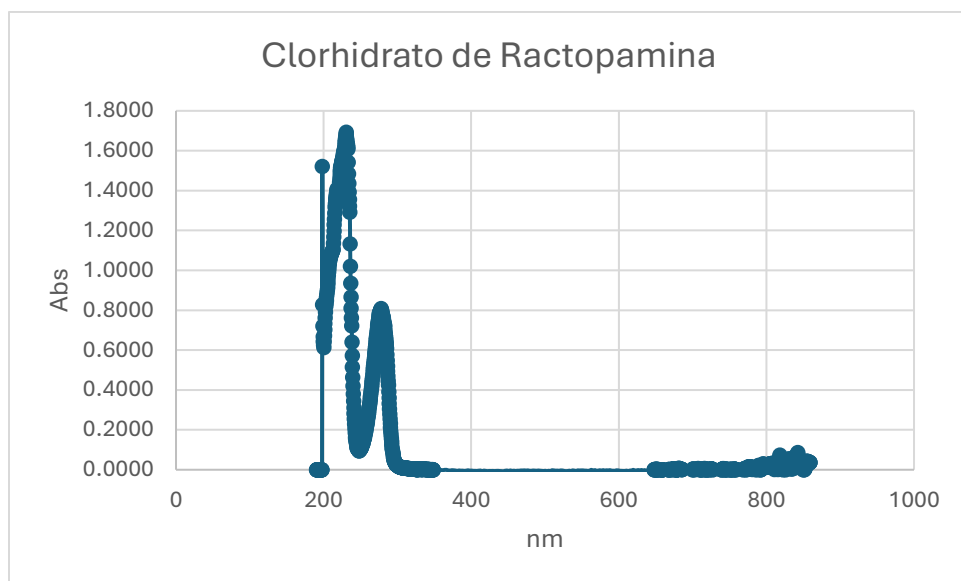


Figura 6. Espectro Uv-Vis del Clorhidrato de Ractopamina

- *Norfloxacina*

Tabla 9. Preparación de la alícuota para medir su Abs y longitud de onda del fármaco
Norfloxacina

Norfloxacina			
Solución Madre	API	5	mg
	Aforo	5	ml
	Concentración	1	mg/ml
Solución Intermedia	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	10	ml
	Concentración	100	µg/ml
Alícuota	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	25	ml
	Concentración	4	µg/ml
Lectura	Abs	0.6238	
	Longitud de onda	280.45	nm

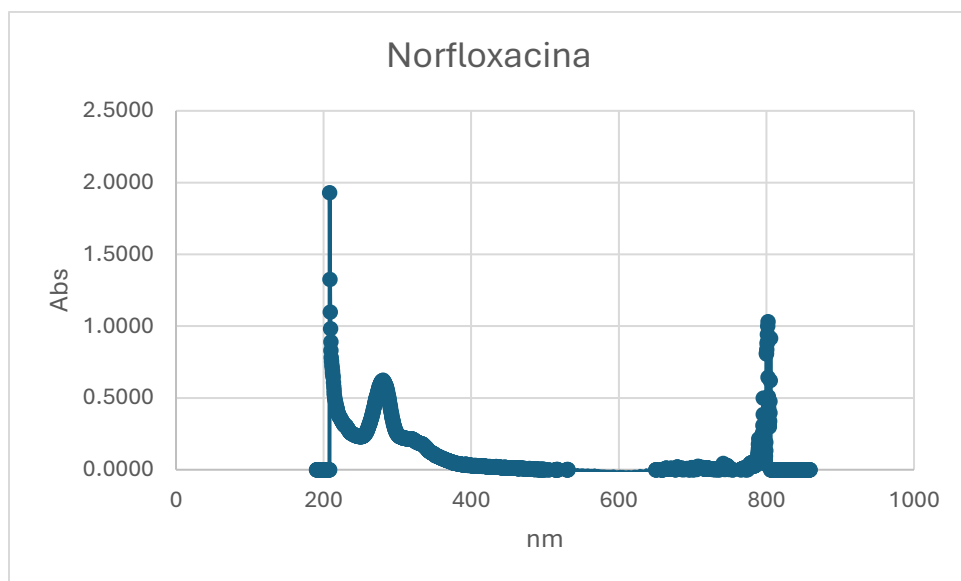


Figura 7. Espectro Uv-Vis de Norfloxacin

- *Furosemida*

Tabla 10. Preparación de la alícuota para medir su Abs y longitud de onda del fármaco
Furosemida

Furosemida			
Solución Madre	API	5	mg
	Aforo	5	ml
	Concentración	1	mg/ml
Solución Intermedia	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	10	ml
	Concentración	100	µg/ml
Alícuota	Volumen Transferido	1	ml
	Aforo	25	ml
	Concentración	4	µg/ml
Lectura	Abs	0.6238	
	Longitud de onda	280.45	nm

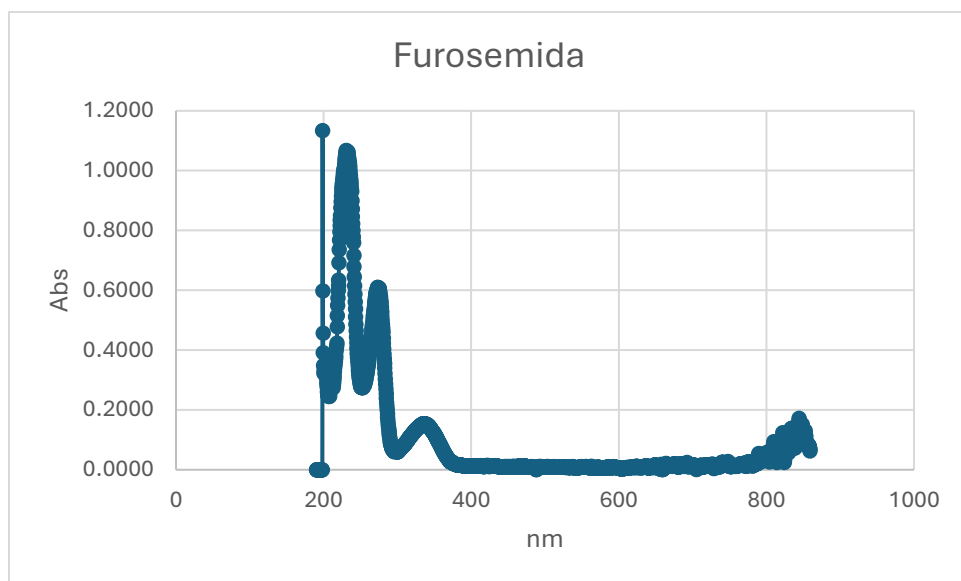


Figura 8. *Espectro Uv-Vis de Furosemida*

7.2 Curvas de calibración

Se realizaron 3 curvas de calibración para cada fármaco y se encuentran en el anexo A, los resultados obtenidos se promediaron y se utilizaron para calcular el fármaco liberado

- Hidroquinona

Tabla 11. *Datos experimentales para la curva de calibración de la Hidroquinona*

Hidroquinona				
SM	API (mg)	100	SI	Vol. Transf. (ml)
	Aforo (ml)	25		Aforo (ml)
	Conc. (µg/ml)	4000		Conc. (µg/ml)
				0.5
				10
				200

Hidroquinona				
	Vol. Transferido (ml)	Aforo (ml)	Concentración (µg/ml)	Abs
A1	0.5	10	10	0.2355
A2	0.7	10	14	0.3397
A3	0.9	10	18	0.4273
A4	1.1	10	22	0.5253
A5	1.3	10	26	0.6677

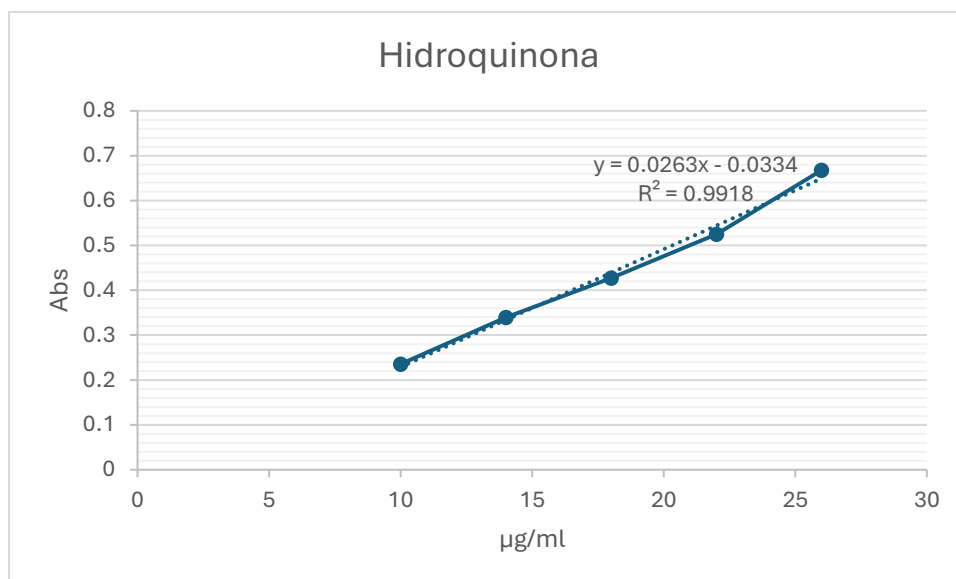


Figura 9. Curva de calibración de Hidroquinona

- Cefalexina

Tabla 12. Datos experimentales para la curva de calibración de Cefalexina

Cefalexina					
SM	API (mg)	22.3	SI	Vol. Transf. (ml)	5
	Aforo (ml)	25		Aforo (ml)	50
	Conc. (µg/ml)	892		Conc. (µg/ml)	89.2

Cefalexina				
	Vol. Transferido (ml)	Aforo (ml)	Concentración (µg/ml)	Abs
A1	0.5	10	4.46	0.0952
A2	1.5	10	13.38	0.2596
A3	2.5	10	22.3	0.4373
A4	3.5	10	31.22	0.601
A5	4.5	10	40.14	0.783

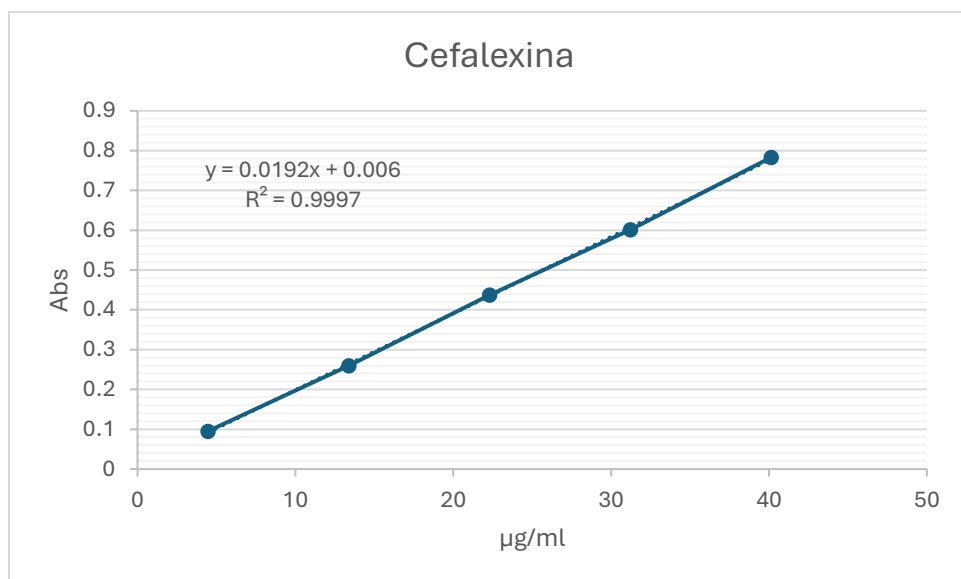


Figura 10. Curva de calibración de Cefalexina

- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 13. Datos experimentales para la curva de calibración de Clorhidrato de Ractopamina

Clorhidrato de Ractopamina					
SM	API (mg)	24	SI	Vol. Transf. (ml)	1
	Aforo (ml)	25		Aforo (ml)	1
	Conc. (µg/ml)	960		Conc. (µg/ml)	960

Clorhidrato de Ractopamina				
	Vol. Transferido (ml)	Aforo (ml)	Concentración (µg/ml)	Abs
A1	0.1	10	9.6	0.2355
A2	0.3	10	28.8	0.3397
A3	0.55	10	52.8	0.4273
A4	0.8	10	76.8	0.5253
A5	1	10	96	0.6677

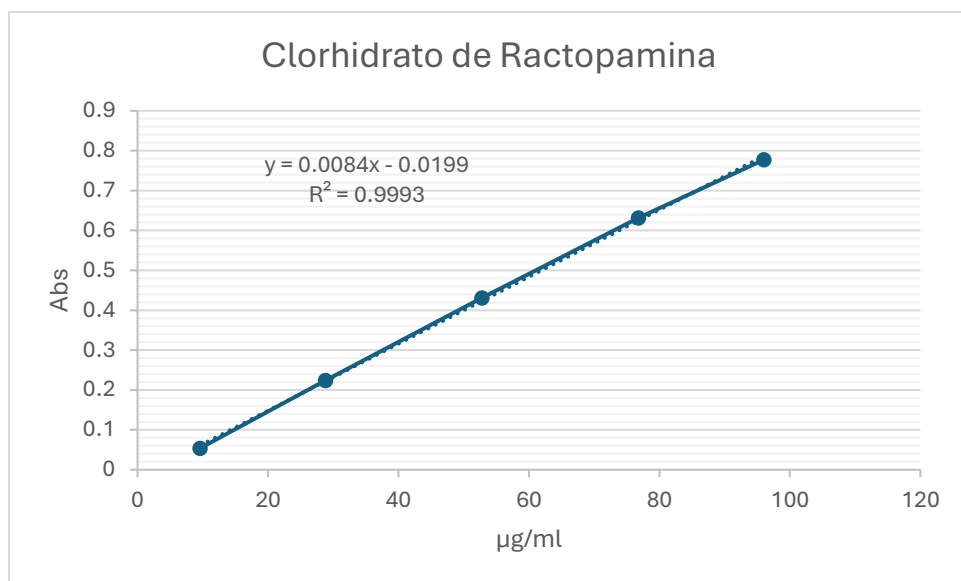


Figura 11. *Curva de calibración de Clorhidrato de Ractopamina*

- Norfloxacina

Tabla 14. *Datos experimentales para la curva de calibración de Norfloxacin*

Norfloxacin					
SM	API (mg)	50.5	SI	Vol. Transf. (ml)	1
	Aforo (ml)	50		Aforo (ml)	10
	Conc. (µg/ml)	1010		Conc. (µg/ml)	101

Norfloxacin				
	Vol. Transferido (ml)	Aforo (ml)	Concentración (µg/ml)	Abs
A1	0.1	10	1.01	0.1163
A2	0.2	10	2.02	0.2337
A3	0.4	10	4.04	0.4588
A4	0.5	10	5.05	0.5765
A5	0.6	10	6.06	0.6849

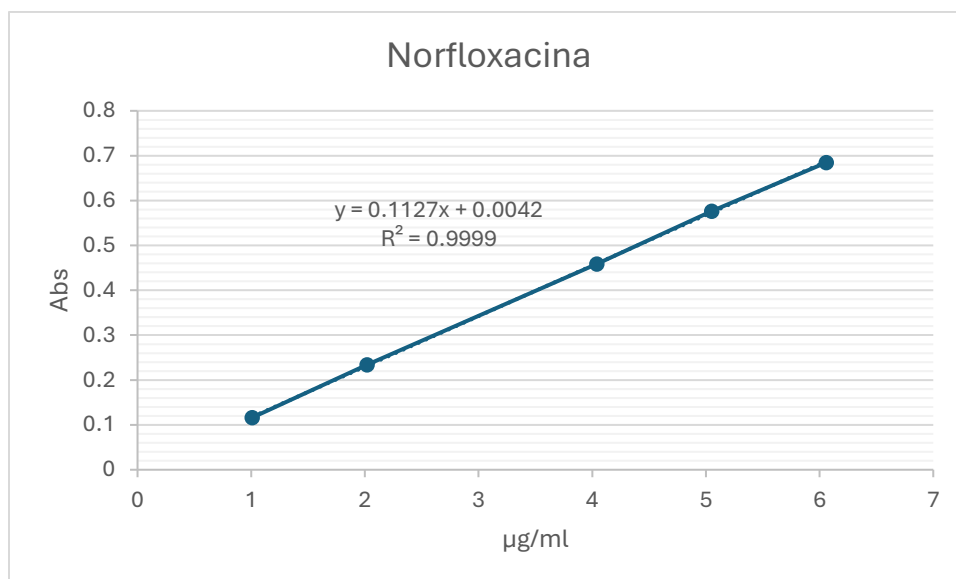


Figura 12. Curva de calibración de Norfloxacin

- Furosemida

Tabla 15. Datos experimentales para la curva de calibración de Furosemida

Furosemida					
SM	API (mg)	50	SI	Vol. Transf. (ml)	1
	Aforo (ml)	50		Aforo (ml)	1
	Conc. (µg/ml)	1000		Conc. (µg/ml)	1000

Furosemida				
	Vol. Transferido (ml)	Aforo (ml)	Concentración (µg/ml)	Abs
A1	0.1	50	2	0.1504
A2	0.25	50	5	0.3582
A3	0.5	50	10	0.61
A4	0.65	50	13	0.804
A5	0.75	50	15	0.903

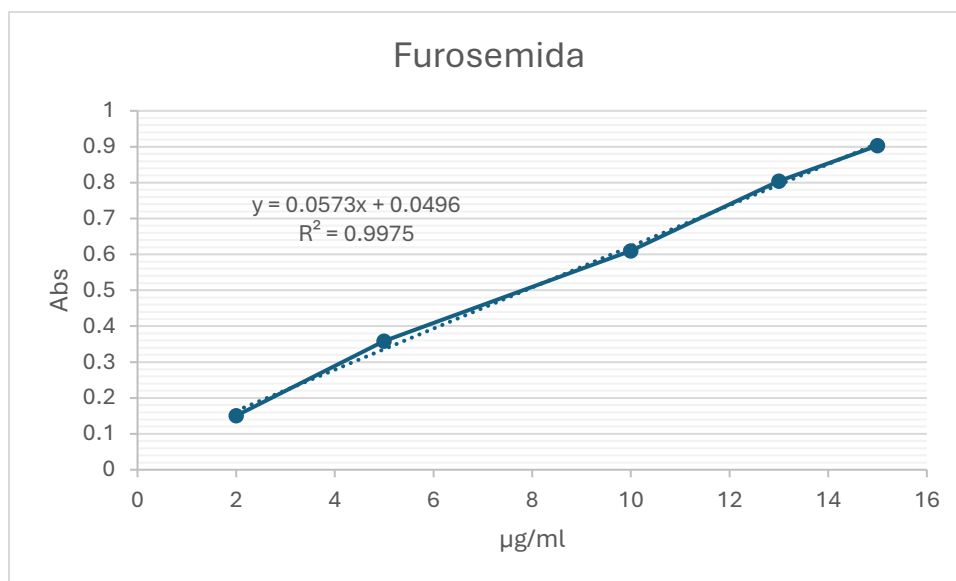


Figura 12. Curva de calibración de Furosemida

7.3 Síntesis de Nanopartículas Lipídicas Sólidas

Durante el proceso de síntesis de las NLS, se registraron los datos experimentales en tablas, en las cuales se anotaron los pesos reales de cada uno de los factores utilizados. Entre ellos se incluyeron el fármaco (en mg), los lípidos (fase oleosa, FO) y el medio acuoso, que consistió en Tween 80 al 1.5% (fase acuosa, FA). Asimismo, se pesaron los residuos adheridos al material de vidrio empleado durante la síntesis. Estos residuos, compuestos por la mezcla de lípidos y fármaco, fueron denominados merma.

- Hidroquinona

Tabla 16. Cantidades usadas para la elaboración de NLS de Hidroquinona por triplicado

Síntesis	mg de API	FO (g)	FA (g)	Merma (FO + FA) g	mg reales adicionados de API
1	28.7	1.0195	20.0001	0.3048	20.35
2	20.4	1.0326	20.008	0.3885	12.87
3	20.6	1.0136	20.0013	0.3622	13.39

- Cefalexina

Tabla 17. *Cantidades usadas para la elaboración de NLS de Cefalexina por triplicado*

Síntesis	mg de API	FO (g)	FA (g)	Merma (FO + FA) g	mg reales adicionados de API
1	21.6	1.0379	20.0055	0.2008	17.51
2	20	1.023	20.0569	0.206	16.05
3	19.5	1.0245	20.0422	0.2633	14.58

- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 18. *Cantidades usadas para la elaboración de NLS de Clorhidrato de Ractopamina por triplicado*

Síntesis	mg de API	FO (g)	FA (g)	Merma (FO + FA) g	mg reales adicionados de API
1	23.6	1.052	20.0246	0.2637	17.81
2	21.5	1.0139	20.0202	0.2355	16.61
3	23.8	1.0159	20.0049	0.2134	18.92

- Norfloxacin

Tabla 19. *Cantidades usadas para la elaboración de NLS de Norfloxacin por triplicado*

Síntesis	mg de API	FO (g)	FA (g)	Merma (FO + FA) g	mg reales adicionados de API
1	20.4	1.1962	20.2391	0.3439	14.63
2	19.7	1.0804	20.063	0.2306	15.57
3	18.4	1.0478	20.037	0.2943	13.32

- Furosemida

Tabla 20. *Cantidades usadas para la elaboración de NLS de Furosemida por triplicado*

Síntesis	mg de API	FO (g)	FA (g)	Merma (FO + FA) g	mg reales adicionados de API
1	23.5	1.0975	20.0078	0.222	18.85
2	24	1.0113	20.0253	0.2923	17.22
3	19.9	1.0081	20.0015	0.1938	16.15

7.4 Lavado

Las muestras recolectadas a los tiempos de 24 horas, 1 hora y 30 minutos fueron analizadas mediante espectrofotometría UV-Vis para determinar la cantidad de fármaco no encapsulado. Los datos experimentales obtenidos se registraron en una tabla con el fin de facilitar su análisis. Posteriormente, se calculó el porcentaje real de fármaco encapsulado.

- Hidroquinona

Tabla 21. *Abs del lavado de las NLS de Hidroquinona en diferentes tiempos*

	24 hrs	1 hr	30 min	Tiempo extra	mg de API Total
S1	0.753	0.231	0.0259	0	2.11
S2	0.689	0.117	0.07	0	1.86
S3	0.937	0.314	0.105	0.087	3.00

- Cefalexina

Tabla 22. *Abs del lavado de las NLS de Cefalexina en diferentes tiempos*

	24 hrs	1 hr	30 min	Tiempo extra (1 hr)	mg de API Total
M1	1.661	0.1347	0.0647	0	4.30
M2	0.8301	0.0207	0.0238	0	2.14
M3	1.66	0.0238	0.0207	0	4.30

- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 23. *Abs del lavado de las NLS de Clorhidrato de Ractopamina en diferentes tiempos*

	24 hrs	1 hr	30 min	Tiempo extra (1 hr)	mg de API Total
S1	0.4514	0.0718	0.0418	0	3.72
S2	0.5155	0.044	0.0343	0	3.89
S3	0.5932	0.0776	0	0	4.23

- Norfloxacin

Tabla 24. *Abs del lavado de las NLS de Norfloxacin en diferentes tiempos*

	24 hrs	1 hr	30 min	Tiempo extra (1 hr)	mg de API Total
S1	1.07	0.203	0.128	0	0.62
S2	3.664	0.514	0.244	0	1.96

S3	3.167	0.457	0.281	0	1.73
----	-------	-------	-------	---	------

- Furosemida

Tabla 25. *Abs del lavado de las NLS de Furosemida en diferentes tiempos*

	24 hrs	1 hr	30 min	Tiempo extra (1 hr)	mg de API Total
S1	0.812	0.134	0.102	0	0.78
S2	0.906	0.129	0.111	0	0.87
S3	1.793	1.1	0.522	0.123	2.92

7.5 Caracterización de las Nanopartículas

7.5.1 Eficiencia de encapsulación y capacidad de carga

Una vez cuantificada la cantidad de fármaco no encapsulado (expresada en miligramos), se procedió a calcular la cantidad real de fármaco que fue efectivamente incorporada en las NL. Para ello, se utilizaron dos parámetros fundamentales: la eficiencia de encapsulación (%EE) y la capacidad de carga (%DL).

Eficiencia de encapsulación (%EE):

Este parámetro permite determinar el porcentaje de fármaco que fue encapsulado en relación con la cantidad total inicialmente empleada. Se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$\%EE = \frac{C_{total} - C_{libre}}{C_{total}} \times 100$$

- *C_{total}*: corresponde a la concentración total del fármaco añadido al sistema.
- *C_{libre}*: representa la concentración del fármaco no encapsulado, es decir, el que permanece libre en el medio de diálisis.

Capacidad de carga (%DL):

La capacidad de carga expresa la proporción del fármaco encapsulado respecto al peso total de los componentes sólidos de la formulación (fármaco encapsulado más lípidos). Se calculó utilizando la siguiente ecuación:

$$\%DL = \frac{W \text{ farmaco encapsulado}}{W \text{ fármaco encapsulado} + W \text{ lípidos}} \times 100$$

- *W* *farmaco encapsulado*: es el peso del fármaco efectivamente encapsulado.
- *W* *lípidos*: corresponde al peso total de los lípidos utilizados en la formulación.

- Hidroquinona

Tabla 26. %EE y % DL de las NLS de Hidroquinona

	mg API usados	mg no encapsulados	mg encapsulados reales	% EE	% DL
M1	20.35	2.11	18.24	89.61	94.78
M2	12.87	1.86	11.01	85.56	91.57
M3	13.39	3.00	10.38	77.56	91.25
Promedio				84.24	92.53

- Cefalexina

Tabla 27. %EE y % DL de las NLS de Cefalexina

	mg API usados	mg no encapsulados	mg encapsulados reales	% EE	% DL
M1	17.51	4.30	13.21	75.44	92.78
M2	16.05	2.14	13.91	86.66	93.21
M3	14.58	4.30	10.29	70.54	91.04
Promedio				77.55	92.34

- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 28. %EE y % DL de las NLS de Clorhidrato de ractopamina

	mg API usados	mg no encapsulados	mg encapsulados reales	% EE	% DL
M1	17.81	3.72	14.10	79.13	93.14
M2	16.61	3.89	12.72	76.58	92.69
M3	18.92	4.23	14.69	77.64	93.59
Promedio				77.78	93.14

- Norfloxacin

Tabla 29. %EE y % DL de las NLS de Norfloxacin

	mg API usados	mg no encapsulados	mg encapsulados reales	% EE	% DL
M1	14.63	0.62	14.01	95.79	92.25
M2	15.57	1.96	13.61	87.44	92.72
M3	13.32	1.73	11.59	87.04	91.82
Promedio				90.09	92.26

- Furosemida

Tabla 30. %EE y % DL de las NLS de Furosemida

	mg API usados	mg no encapsulados	mg encapsulados reales	% EE	% DL
M1	18.85	0.78	18.06	95.84	94.33
M2	17.22	0.87	16.35	94.95	94.25
M3	16.15	2.92	13.23	81.95	92.98
Promedio				90.91	93.85

7.5.2 Tamaño y potencial Z

Los datos recolectados a partir de cada síntesis del triplicado para cada fármaco se presentan en las siguientes tablas. En ellas se reportan los resultados de la medición de la distribución del tamaño de las partículas, basada en la intensidad de la luz dispersada (Intensity), el tamaño promedio hidrodinámico de las nanopartículas obtenido mediante análisis cumulante (Z-ave), así como el índice de polidispersidad (PDI), el cual indica el grado de homogeneidad en la distribución del tamaño de partícula.

- Hidroquinona

Tabla 31. Caracterización de las NLS de Hidroquinona

Síntesis	Intensity	Z-ave	PDI
1	488.4	243.9	0.605
2	622	234.4	0.655
3	584	242.6	0.645
Promedio	564.8	240.3	0.635

- Cefalexina

Tabla 32. *Caracterización de las NLS de Cefalexina*

Síntesis	Intensity	Z-ave	PDI
1	200.5	407.6	0.609
2	468	300.3	0.562
3	627.2	248.3	0.748
Promedio	431.9	318.733333	0.63966667

- Clorhidrato de Ractopamina

Tabla 33. *Caracterización de las NLS de Clorhidrato de Ractopamina*

Síntesis	Intensity	Z-ave	PDI
1	252.2	345.4	0.578
2	219	219	0.548
3	244.4	244.4	0.627
Promedio	238.533333	269.6	0.58433333

- Norfloxacin

Tabla 34. *Caracterización de las NLS de Norfloxacin*

Síntesis	Intensity	Z-ave	PDI
1	500.2	379.4	0.498
2	1012	545.8	0.545
3	430.9	380.8	0.429
Promedio	647.7	435.333333	0.49066667

- Furosemida

Tabla 35. *Caracterización de las NLS de Furosemida*

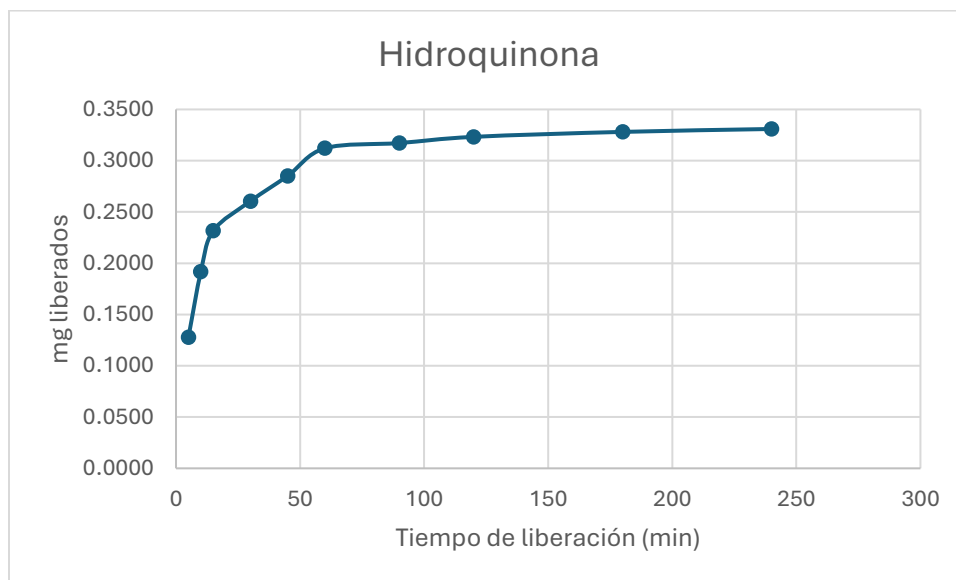
Síntesis	Intensity	Z-ave	PDI
1	1000	742.1	0.293
2	650.4	541.2	0.592
3	463.1	607.6	0.508
Promedio	704.5	630.3	0.46433333

7.6 Liberación

Las muestras obtenidas del estudio de liberación, correspondientes al triplicado de la síntesis de cada fármaco, fueron analizadas mediante espectrofotometría UV-Vis. Los datos experimentales se registraron en tablas y se promediaron, las cuales se presentan en el Anexo

B. Posteriormente, los datos obtenidos fueron graficados con el propósito de visualizar y analizar el comportamiento de liberación de cada formulación. A continuación, los valores experimentales se analizaron utilizando **DDSolver**, un complemento de Microsoft Excel, con el fin de determinar el modelo cinético que mejor describe el perfil de liberación observado.

- Hidroquinona

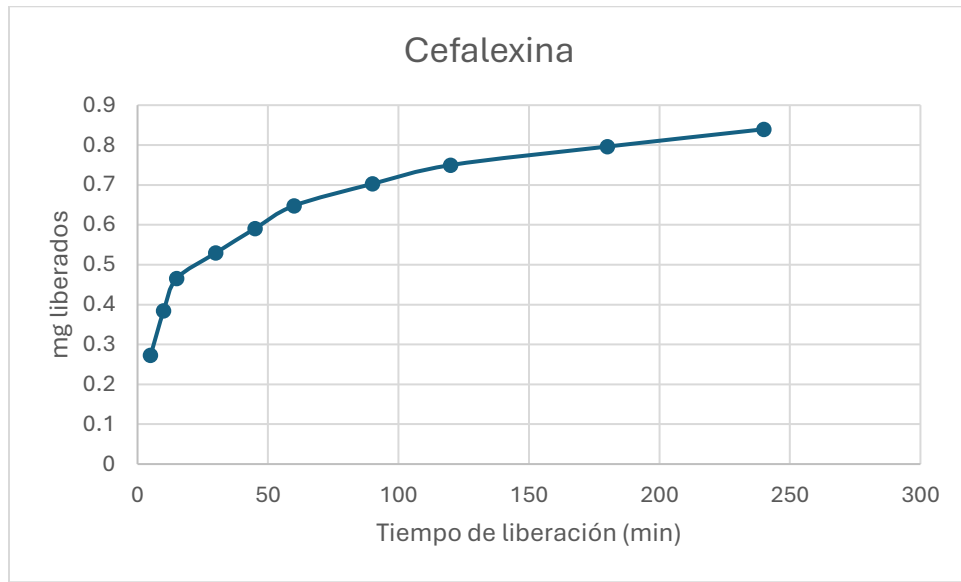


Gráfica 1. *Perfil de liberación del triplicado de las NLS de Hidroquinona*

La ecuación que mejor se ajustó al perfil de liberación de la Hidroquinona corresponde al **modelo de Weibull**, el cual se expresa de la siguiente forma:

$$F = F_{max} \left[1 - e^{-\frac{(t-Ti)^{\beta}}{a}} \right]$$

- Cefalexina

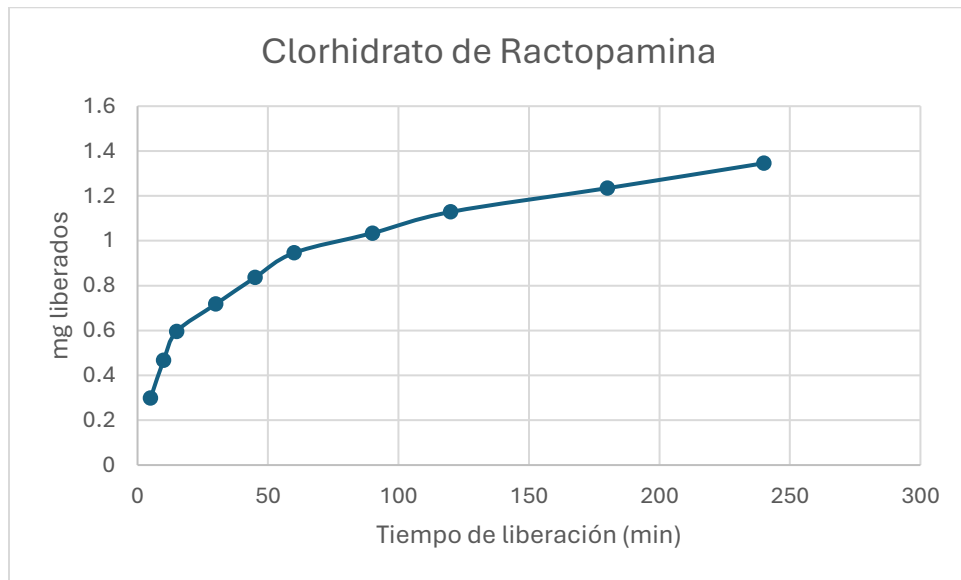


Gráfica 2. Perfil de liberación del triplicado de las NLS de Cefalexina

La ecuación que mejor se ajustó al perfil de liberación de la Cefalexina corresponde al **modelo de Weibull**, el cual se expresa de la siguiente forma:

$$F = F_{max} \left[1 - e^{-\frac{(t-Ti)^{\beta}}{a}} \right]$$

- Clorhidrato de Ractopamina

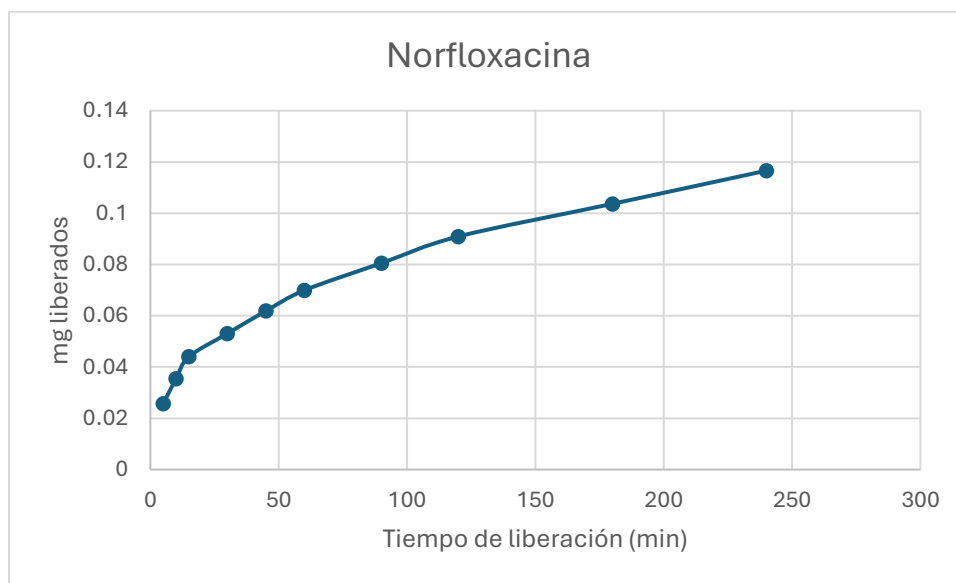


Gráfica 3. Perfil de liberación del triplicado de las NLS de Clorhidrato de Ractopamina

La ecuación que mejor se ajustó al perfil de liberación del Clorhidrato de Ractopamina corresponde al **modelo de Weibull**, el cual se expresa de la siguiente forma:

$$F = F_{max} \left[1 - e^{-\frac{(t-Ti)^\beta}{a}} \right]$$

- Norfloxacin

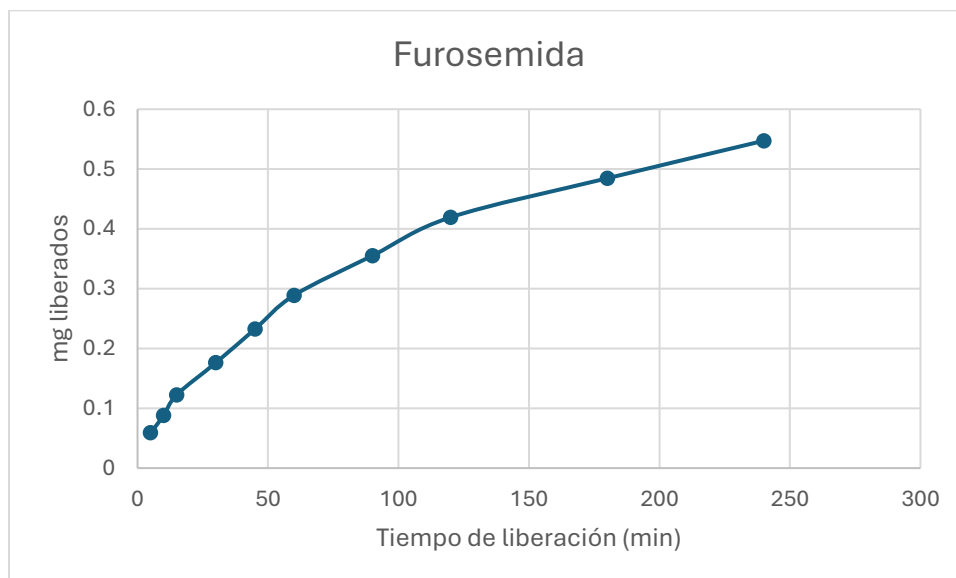


Gráfica 4. Perfil de liberación del triplicado de las NLS de Norfloxacin

La ecuación que mejor se ajustó al perfil de liberación de Norfloxacin corresponde al **modelo de Korsmeyer-Peppas whit T_{lag}** , el cual se expresa de la siguiente forma:

$$F = K_{KP}(t - T_{lag})^n$$

- Furosemida



Gráfica 5. Perfil de liberación del triplicado de las NLS de Furosemida

La ecuación que mejor se ajustó al perfil de liberación de la Furosemida corresponde al **modelo de Weibull**, el cual se expresa de la siguiente forma:

$$F = F_{max} \left[1 - e^{-\frac{(t-Ti)^{\beta}}{a}} \right]$$

8. Conclusión

Se realizaron cinco síntesis de nanopartículas lipídicas sólidas (NLS) para cada fármaco, cada una con su respectivo triplicado. Posteriormente, se caracterizaron y registraron los resultados obtenidos. El método de homogeneización en caliente permitió una encapsulación eficiente de los fármacos, lo que respalda su idoneidad como técnica para la síntesis de NLS. Además, fue posible optimizar el proceso de encapsulación, obteniendo mejores rendimientos.

La concordancia observada entre los porcentajes de encapsulación y los perfiles de liberación sugiere una adecuada capacidad de carga y liberación por parte de las NLS. No obstante, es importante considerar las características fisicoquímicas de los fármacos empleados, ya que estas propiedades pueden influir significativamente tanto en su encapsulación como en su liberación.

La mezcla lipídica utilizada mostró un buen desempeño en términos de encapsulación; sin embargo, existe la posibilidad de mejorar aún más los resultados mediante el uso de otros excipientes lipídicos que favorezcan también una liberación más rápida

Bibliografía

Shidhaye, S. S., Vaidya, R., Sutar, S., Patwardhan, A., & Kadam, V. J. (2008). Solid lipid nanoparticles and nanostructured lipid carriers--innovative generations of solid lipid carriers. *Current Drug Delivery*, 5(4), 324–331. <https://doi.org/10.2174/156720108785915087>

Sáez V, Hernáez E, Sanz Angulo L. *Sistemas de liberación controlada de medicamentos*. Rev Iberoam Polímeros. 2002; 3:1–20. Disponible en: <https://reviberpol.org/wp-content/uploads/2019/08/2003-saez-1.pdf>

Paredero Domínguez JM. *Nuevas formas farmacéuticas de liberación modificada: revisión y relevancia*. Toledo: Editorial SESCAM; 2007. 4 p. Disponible en: https://sanidad.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacologia/ix_01_nuevasffdeliberacionmodificada.pdf

Instituto Nacional de Bioingeniería e Imágenes Biomédicas (NIH). *Sistemas de administración de fármacos: administración dirigida de fármacos de manera controlada*. 2016. 2 p. Disponible en: https://www.nibib.nih.gov/sites/default/files/Drug%20Delivery_SPANISH_508.pdf

Kumar N, Kumar R. Chapter 2 - Nano-based drug delivery and diagnostic systems. In: Kumar N, Kumar R, editors. *Nanotechnology and nanomaterials in the treatment of life-threatening diseases*. William Andrew Publishing; 2014. p. 53–107. Disponible en: <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/B978-0-323-26433-4.00002-6>

Amjad S, Serajuddin M. Chapter 11 - Nanoparticle drug delivery: An advanced approach for highly competent and multifunctional therapeutic treatment. In: Azar AT, editor. *Modeling and control of drug delivery systems*. Academic Press; 2021. p. 183–193. Disponible en: <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/B978-0-12-821185-4.00008-7>

Mishra DK, Shandilya R, Mishra PK. Lipid based nanocarriers: a translational perspective. *Nanomedicine*. 2018;14(7):2023–50. Disponible en: <https://doi.uam.elogim.com/10.1016/j.nano.2018.05.021>

Mehnert W, Mäder K. Solid lipid nanoparticles: production, characterization and applications. *Adv Drug Deliv Rev*. 2012;64(Suppl):83–101. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.addr.2012.09.021>

Wissing, S. A., Kayser, O., & Müller, R. H. (2004). Solid lipid nanoparticles for parenteral drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(9), 1257–1272. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2003.12.002>

Zara, G. P., Cavalli, R., Bargoni, A., Fundarò, A., Vighetto, D., & Gasco, M. R. (2002). Intravenous administration to rabbits of non-stealth and stealth doxorubicin-loaded solid lipid nanoparticles at increasing concentrations of stealth agent: pharmacokinetics and distribution of doxorubicin in brain and other tissues. *Journal of Drug Targeting*, 10(4), 327–335. <https://doi.org/10.1080/10611860290031861>

Almeida, A. J., & Souto, E. (2007). Solid lipid nanoparticles as a drug delivery system for peptides and proteins. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 478–490. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.007>

Cho, K., Wang, X., Nie, S., & Shin, D. M. (2008). Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. *Clinical Cancer Research*, 14(5), 1310–1316. <https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-07-1441>

Muchow, M., Maincent, P., & Müller, R. H. (2008). Lipid nanoparticles with a solid matrix (SLN®, NLC®, LDC®) for oral drug delivery. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 34(12), 1394–1405. <https://doi.org/10.1080/03639040802130061>

Bondi, M. L., Azzolina, A., Craparo, E. F., Lampiasi, N., Capuano, G., Giammona, G., & Cervello, M. (2007). Novel cationic solid-lipid nanoparticles as non-viral vectors for gene delivery. *Journal of Drug Targeting*, 15(4), 295–301. <https://doi.org/10.1080/10611860701290334>

Üner, M., & Yener, G. (2007). Importance of solid lipid nanoparticles (SLN) in various administration routes and future perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, 2(3), 289–300. <https://doi.org/10.2147/IJN.S2.3.289>

Wong, H. L., Bendayan, R., Rauth, A. M., Li, Y., & Wu, X. Y. (2007). Chemotherapy with anticancer drugs encapsulated in solid lipid nanoparticles. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59(6), 491–504. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2007.04.008>

Musielak E, Feliczak-Guzik A, Nowak I. Synthesis and Potential Applications of Lipid Nanoparticles in Medicine. *Materials* (Basel). 2022 Jan 17;15(2):682. doi: 10.3390/ma15020682. PMID: 35057398; PMCID: PMC8780297. (aplicaciones farmacéuticas 2)

Kumar, R. (2019). Chapter 8 - Lipid-Based Nanoparticles for Drug-Delivery Systems. In S. S. Mohapatra, S. Ranjan, N. Dasgupta, R. K. Mishra, & S. Thomas (Eds.), *Nanocarriers for Drug Delivery* (pp. 249–284). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814033-8.00008-4>

9. Anexos

Anexo A

Tabla A1. *Curvas de calibración de la Hidroquinona*

Hidroquinona	Abs			
µg/ml	1	2	3	Promedio
10	0.2353	0.2352	0.236	0.2355
14	0.3395	0.3392	0.3404	0.3397
18	0.4274	0.4275	0.427	0.4273
22	0.5243	0.5249	0.5267	0.5253
26	0.6668	0.667	0.6693	0.6677
R ²	0.9917941	0.99999759	0.99997207	

Tabla A2. *Curvas de calibración de la Cefalexina*

Cefalexina	Abs			
µg/ml	1	2	3	Promedio
4.46	0.0949	0.0957	0.095	0.0952
13.38	0.2591	0.2603	0.2594	0.2596
22.3	0.4375	0.437	0.4374	0.4373
31.22	0.6012	0.6018	0.6	0.601
40.14	0.7823	0.7846	0.7821	0.783
R ²	0.9997279	0.99998807	0.99999023	

Tabla A3. *Curvas de calibración del Clorhidrato de Ractopamina*

HCl Ractopamina	Abs			
µg/ml	1	2	3	Promedio
9.6	0.0545	0.0538	0.0537	0.054
28.8	0.2248	0.2239	0.2236	0.2241
52.8	0.4308	0.4312	0.4313	0.4311
76.8	0.6318	0.6324	0.6306	0.6316
96	0.7789	0.7764	0.7766	0.7773
R ²	0.9994279	0.99998303	0.99999262	

Tabla A4. *Curvas de calibración de la Norfloxacin*

Norfloxacin	Abs			
$\mu\text{g/ml}$	1	2	3	Promedio
1.01	0.1168	0.116	0.1161	0.1163
2.02	0.2335	0.2332	0.2344	0.2337
4.04	0.4589	0.459	0.4585	0.4588
5.05	0.5767	0.5773	0.5755	0.5765
6.06	0.684	0.6842	0.6865	0.6849
R^2	0.9998852	0.99999897	0.99995577	

Tabla A4. *Curvas de calibración de la Furosemida*

Furosemida	Abs			
$\mu\text{g/ml}$	1	2	3	Promedio
2	0.1509	0.1502	0.1501	0.1504
5	0.3589	0.358	0.3577	0.3582
10	0.6097	0.6101	0.6102	0.61
13	0.803	0.8042	0.8048	0.804
15	0.9046	0.9021	0.9023	0.903
R^2	0.9975371	0.99997966	0.99999949	

Anexo B

Tabla B1. *Abs del perfil de liberación de la Hidroquinona*

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.0795	4.300952381	43.00952381	0.043009524
10	0.056	3.405714286	17.02857143	0.060038095
15	0.056	3.405714286	17.02857143	0.077066667
30	0.0503	3.188571429	15.94285714	0.093009524
45	0.045	2.986666667	14.93333333	0.107942857
60	0.2385	10.35809524	51.79047619	0.159733333
90	0.0474	3.078095238	15.39047619	0.17512381
120	0.0616	3.619047619	18.0952381	0.193219048
180	0.043	2.91047619	14.55238095	0.207771429
240	0.011	1.691428571	8.457142857	0.216228571

S2				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.4137	17.03238095	170.3238095	0.17032381
10	0.4245	17.44380952	87.21904762	0.257542857
15	0.2365	10.28190476	51.40952381	0.308952381
30	0.1524	7.078095238	35.39047619	0.344342857
45	0.1216	5.904761905	29.52380952	0.373866667
60	0.0423	2.883809524	14.41904762	0.388285714
90	0	0	0	0.388285714
120	0	0	0	0.388285714
180	0	0	0	0.388285714
240	0	0	0	0.388285714

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.0131	1.771428571	17.71428571	0.017714286
10	0.0441	2.952380952	14.76190476	0.03247619
15	0.0402	2.803809524	14.01904762	0.046495238
30	0.0542	3.337142857	16.68571429	0.063180952
45	0.036	2.643809524	13.21904762	0.0764
60	0.0135	1.786666667	8.933333333	0.085333333
90	0	0	0	0.085333333
120	0	0	0	0.085333333
180	0	0	0	0.085333333
240	0	0	0	0.085333333

Minutos	S1	S2	S3	Promedio
5	0.0430	0.1703	0.1703	0.1279
10	0.0600	0.2575	0.2575	0.1917
15	0.0771	0.3090	0.3090	0.2317
30	0.0930	0.3443	0.3443	0.2606
45	0.1079	0.3739	0.3739	0.2852
60	0.1597	0.3883	0.3883	0.3121
90	0.1751	0.3883	0.3883	0.3172
120	0.1932	0.3883	0.3883	0.3233
180	0.2078	0.3883	0.3883	0.3281
240	0.2162	0.3883	0.3883	0.3309

Tabla B2. Abs del perfil de liberación de la Cefalexina

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.603	31.0163518	310.1635178	0.310163518
10	0.464	23.795152	118.97576	0.429139278
15	0.386	19.742968	98.71483984	0.527854118
30	0.299	15.2232242	76.11612114	0.603970239
45	0.278	14.1322516	70.66125801	0.674631497
60	0.2534	12.8542551	64.27127548	0.738902772
90	0.275	13.9763984	69.88199185	0.808784764
120	0.21	10.5995783	52.99789167	0.861782656
180	0.21	10.5995783	52.99789167	0.914780547
240	0.188	9.45665463	47.28327315	0.962063821

S2				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.495	25.4056354	254.0563541	0.254056354
10	0.42	21.5093046	107.546523	0.361602877
15	0.2844	14.4647385	72.32369249	0.43392657
30	0.231	11.690551	58.4527548	0.492379324
45	0.222	11.2229913	56.11495632	0.548494281
60	0.213	10.7554316	53.77715783	0.602271439
90	0.188	9.45665463	47.28327315	0.649554712
120	0.176	8.8332417	44.1662085	0.69372092
180	0.172	8.62543739	43.12718695	0.736848107
240	0.166	8.31373093	41.56865463	0.778416762

S3				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.454	23.2756412	232.7564123	0.232756412
10	0.368	18.8078486	94.03924287	0.326795655
15	0.222	11.2229913	56.11495632	0.382910612
30	0.213	10.7554316	53.77715783	0.436687769
45	0.182	9.14494817	45.72474083	0.48241251
60	0.169	8.46958416	42.34792079	0.524760431
90	0.163	8.15787769	40.78938847	0.565549819
120	0.2	10.0800676	50.4003378	0.615950157
180	0.2	10.0800676	50.4003378	0.666350495
240	0.151	7.53446476	37.67232382	0.704022819

Minutos	S1	S2	S3	Promedio
5	0.3102	0.2541	0.2541	0.2728
10	0.4291	0.3616	0.3616	0.3841
15	0.5279	0.4339	0.4339	0.4652
30	0.6040	0.4924	0.4924	0.5296
45	0.6746	0.5485	0.5485	0.5905
60	0.7389	0.6023	0.6023	0.6478
90	0.8088	0.6496	0.6496	0.7026
120	0.8618	0.6937	0.6937	0.7497
180	0.9148	0.7368	0.7368	0.7962
240	0.9621	0.7784	0.7784	0.8396

Tabla B3. *Abs del perfil de liberación del Clorhidrato de Ractopamina*

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.2782	35.486799	354.8679895	0.35486799
10	0.2163	28.1171996	140.5859978	0.495453987
15	0.21	27.3671434	136.835717	0.632289704
30	0.272	34.7486484	173.7432422	0.806032946
45	0.1543	20.7356945	103.6784725	0.909711419
60	0.1613	21.5690902	107.8454511	1.01755687
90	0.1265	17.4259229	87.12961438	1.104686484
120	0.176	23.3192213	116.5961063	1.221282591
180	0.1296	17.7949981	88.97499064	1.310257581
240	0.177	23.4382778	117.191389	1.42744897

S2				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.207	27.0099738	270.0997379	0.270099738
10	0.2875	36.5940247	182.9701235	0.453069861
15	0.1884	24.7955223	123.9776114	0.577047473
30	0.1419	19.2593935	96.29696743	0.67334444
45	0.1915	25.1645975	125.8229876	0.799167428
60	0.1667	22.2119955	111.0599775	0.910227405
90	0.1287	17.6878472	88.43923624	0.998666642
120	0.1203	16.6877724	83.43886185	1.082105504
180	0.1722	22.8668064	114.3340322	1.196439536
240	0.162	21.6524298	108.262149	1.304701685

S3				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.399	49.8688282	498.6882815	0.498688282
10	0.2999	38.0703257	190.3516286	0.68903991
15	0.1729	22.950146	114.7507301	0.80379064
30	0.1649	21.9976937	109.9884687	0.913779109
45	0.154	20.6999775	103.4998877	1.017278997
60	0.1791	23.6882965	118.4414826	1.135720479
90	0.1345	18.3783751	91.8918757	1.227612355
120	0.1141	15.9496219	79.74810932	1.307360464
180	0.1694	22.5334481	112.6672407	1.420027705
240	0	2.36527143	11.82635717	1.431854062

Minutos	S1	S2	S3	Promedio
5	0.3549	0.2701	0.2701	0.2984
10	0.4955	0.4531	0.4531	0.4672
15	0.6323	0.5770	0.5770	0.5955
30	0.8060	0.6733	0.6733	0.7176
45	0.9097	0.7992	0.7992	0.8360
60	1.0176	0.9102	0.9102	0.9460
90	1.1047	0.9987	0.9987	1.0340
120	1.2213	1.0821	1.0821	1.1285
180	1.3103	1.1964	1.1964	1.2344
240	1.4274	1.3047	1.3047	1.3456

Tabla B4. Abs del perfil de liberación de la Norfloxacin

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.178	1.54186346	15.41863458	0.015418635
10	0.144	1.24021695	6.201084736	0.021619719
15	0.12	1.02729	5.136449992	0.026756169
30	0.125	1.07164978	5.358248897	0.032114418
45	0.122	1.04503391	5.225169554	0.037339588
60	0.13	1.11600956	5.580047802	0.042919636
90	0.121	1.03616195	5.180809773	0.048100445
120	0.13	1.11600956	5.580047802	0.053680493
180	0.13	1.11600956	5.580047802	0.059260541
240	0.136	1.1692413	5.846206488	0.065106747

S2				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.352	3.08558384	30.85583837	0.030855838
10	0.262	2.28710778	11.4355389	0.042291377
15	0.237	2.06530887	10.32654437	0.052617922
30	0.25	2.1806443	10.90322152	0.063521143
45	0.243	2.11854061	10.59270306	0.074113846
60	0.214	1.86125388	9.306269407	0.083420116
90	0.304	2.65972994	13.2986497	0.096718765
120	0.293	2.56213842	12.81069211	0.109529457
180	0.372	3.26302296	16.31511481	0.125844572
240	0.376	3.29851079	16.49255393	0.142337126

S3				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.277	2.42018712	24.20187122	0.024201871
10	0.212	1.84350997	9.217549845	0.033419421
15	0.178	1.54186346	7.70931729	0.041128738
30	0.249	2.17177235	10.85886174	0.0519876
45	0.227	1.97658931	9.88294656	0.061870547
60	0.202	1.75479041	8.773952035	0.070644499
90	0.269	2.34921147	11.74605736	0.082390556
120	0.12	1.02729	5.136449992	0.087527006
180	0.288	2.51777864	12.5888932	0.100115899
240	0.358	3.13881557	15.69407787	0.115809977

Minutos	S1	S2	S3	Promedio
5	0.0154	0.0309	0.0309	0.0257
10	0.0216	0.0423	0.0423	0.0354
15	0.0268	0.0526	0.0526	0.0440
30	0.0321	0.0635	0.0635	0.0531
45	0.0373	0.0741	0.0741	0.0619
60	0.0429	0.0834	0.0834	0.0699
90	0.0481	0.0967	0.0967	0.0805
120	0.0537	0.1095	0.1095	0.0909
180	0.0593	0.1258	0.1258	0.1036
240	0.0651	0.1423	0.1423	0.1166

Tabla B5. Abs del perfil de liberación de la Furosemida

S1				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.337	5.01708097	50.17080966	0.05017081
10	0.323	4.77264441	23.86322206	0.074034032
15	0.365	5.50595407	27.52977036	0.101563802
30	0.604	9.67883523	48.39417614	0.149957978
45	0.661	10.6740412	53.37020597	0.203328184
60	0.704	11.4248106	57.12405303	0.260452237
90	0.889	14.6548651	73.27432528	0.333726563
120	0.826	13.5549006	67.77450284	0.401501065
180	0.964	15.9643466	79.82173295	0.481322798
240	0.961	15.9119673	79.55983665	0.560882635

S2				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.413	6.34402225	63.44022254	0.063440223
10	0.412	6.3265625	31.6328125	0.095073035
15	0.484	7.58366477	37.91832386	0.132991359
30	0.694	11.2502131	56.25106534	0.189242424
45	0.711	11.5470289	57.73514441	0.246977569
60	0.693	11.2327533	56.16376657	0.303141335
90	0.769	12.5596946	62.79847301	0.365939808
120	0.764	12.4723958	62.36197917	0.428301787
180	0.712	11.5644886	57.82244318	0.486124231
240	0.672	10.8660985	54.33049242	0.540454723

S3				
Minutos	Abs	µg/ml	µg liberados	mg acumulados
5	0.668	10.7962595	107.9625947	0.107962595
10	0.55	8.73600852	43.68004261	0.151642637
15	0.591	9.45185843	47.25929214	0.198901929
30	0.823	13.5025213	67.51260653	0.266414536
45	0.825	13.5374408	67.68720407	0.33410174
60	0.813	13.3279238	66.63961884	0.400741359
90	0.974	16.1389441	80.69472064	0.48143608
120	0.904	14.9167614	74.58380682	0.556019886
180	0.966	15.9992661	79.99633049	0.636016217
240	0.969	16.0516454	80.2582268	0.716274444