

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**Combinación de micropartículas de cera de abeja e hidrogeles a base de pectina y quitosano para la liberación controlada de ibuprofeno como fármaco modelo.**

**Doménica Del Pilar Romo Rodríguez**

**Ingeniería Química**

Trabajo de fin de carrera presentado como requisito  
para la obtención del título de  
Ingeniera Química

Quito, 2 de mayo de 2023

# **UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

## **HOJA DE CALIFICACIÓN DE TRABAJO DE FIN DE CARRERA**

**Combinación de micropartículas de cera de abeja e hidrogeles a base de pectina y quitosano para la liberación controlada de ibuprofeno como fármaco modelo.**

**Doménica Del Pilar Romo Rodríguez**

**Nombre del profesor, Título académico**

**José Álvarez Barreto, PhD**

**Nombre del profesor, Título académico**

**Juan Diego Fonseca, PhD**

Quito, 2 de mayo de 2023

## © DERECHOS DE AUTOR

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en la Ley Orgánica de Educación Superior del Ecuador.

Nombres y apellidos: Doménica del Pilar Romo Rodríguez

Código: 00207497

Cédula de identidad: 1804305314

Lugar y fecha: Quito, 2 de mayo de 2023

## **ACLARACIÓN PARA PUBLICACIÓN**

**Nota:** El presente trabajo, en su totalidad o cualquiera de sus partes, no debe ser considerado como una publicación, incluso a pesar de estar disponible sin restricciones a través de un repositorio institucional. Esta declaración se alinea con las prácticas y recomendaciones presentadas por el Committee on Publication Ethics COPE descritas por Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing, disponible en <http://bit.ly/COPETHeses>.

## **UNPUBLISHED DOCUMENT**

**Note:** The following capstone project is available through Universidad San Francisco de Quito USFQ institutional repository. Nonetheless, this project – in whole or in part – should not be considered a publication. This statement follows the recommendations presented by the Committee on Publication Ethics COPE described by Barbour et al. (2017) Discussion document on best practice for issues around theses publishing available on <http://bit.ly/COPETHeses>.

## RESUMEN

En el presente estudio se planteó combinar dos sistemas de encapsulación de ibuprofeno como las micropartículas de cera de abeja y los hidrogeles a base de pectina y quitosano, para prolongar la liberación del fármaco en el tiempo. Se inició con la definición y selección de los protocolos de elaboración de cada sistema individual (micropartículas o hidrogeles). Para evaluar la eficiencia de los protocolos, se analizó la formación de las micropartículas mediante SEM, la formación de los parches con FTIR y su capacidad de hinchamiento. Se analizaron diferentes protocolos de formación de los parches, y se determinó que el mejor fue el de homogeneización de la solución polimérica durante el entrecruzamiento a una concentración polimérica del 3.33% p/v, y una relación pectina:quitosano de 1:1. Además, se realizaron pruebas de liberación de ibuprofeno en cada sistema por separado. Con esto se demostró que los sistemas individuales liberan el fármaco de manera abrupta durante las 5 primeras horas. Posteriormente, se realizaron pruebas de inserción de ibuprofeno en los parches por medio de dos protocolos: adición directa y adición por hinchamiento, siendo el más efectivo el método de adición por hinchamiento. Finalmente, se evaluó la liberación del fármaco en el sistema combinado en donde se evidenció la liberación prolongada de ibuprofeno, demostrando así, que la combinación de los sistemas es eficiente.

**Palabras clave:** micropartículas, cera de abeja, parches, pectina, quitosano, liberación acelerada, liberación prolongada, sistemas de liberación.

## ABSTRACT

In the present study, it was proposed to combine two ibuprofen encapsulation systems such as beeswax microparticles and hydrogels based on pectin and chitosan, to prolong drug release over time. We started with the definition and selection of the processing protocols for each individual system (microparticles or hydrogels). To evaluate the efficiency of the protocols, the formation of the microparticles was analyzed by SEM, the formation of the patches with FTIR and their swelling capacity. Different patch formation protocols were analyzed, and it was determined that the best one was the homogenization of the polymer solution during crosslinking at a polymer concentration of 3.33% w/v, and a relation pectin:chitosan of 1:1. In addition, ibuprofen release tests were performed on each system separately. With this, it was shown that the individual systems release the drug abruptly during the first 5 hours. Subsequently, ibuprofen insertion tests were performed on the patches by means of two protocols: direct addition and addition by swelling, with the swelling addition method being the most effective. Finally, the drug release was evaluated in the combined system where the prolonged release of ibuprofen was evidenced, demonstrating that the combination of the systems is efficient.

**Keywords:** microparticles, beeswax, patches, pectin, chitosan, accelerated release, prolonged release, release systems.

**TABLA DE CONTENIDO**

1. Introducción .....	11
2. Materiales y metodología.....	14
2.1 Elaboración de micropartículas.....	14
2.2 Liberación de ibuprofeno en micropartículas .....	15
2.3 Elaboración de hidrogeles.....	15
2.4 Encapsulación y liberación de ibuprofeno en hidrogeles .....	16
2.5 Combinación de los sistemas y liberación .....	17
2.7 Microscopía electrónica de barrido.....	18
2.8 Análisis estadístico (ANOVA) .....	18
3. Resultados y discusiones.....	19
3.1 Tamaño y morfología de las micropartículas.....	19
3.2 Topografía y estabilidad de los parches de hidrogel.....	21
3.3 Caracterización química de los parches de hidrogel.....	25
3.4 Liberación de ibuprofeno en los sistemas individuales .....	28
3.5 Liberación de ibuprofeno en el sistema combinado .....	30
4. Conclusiones .....	33
5. Referencias bibliográficas.....	34
6. Anexo A: protocolo de elaboración de micropartículas .....	41
7. Anexo B: Curva de calibración de ibuprofeno .....	41
8. Anexo C: Protocolo de elaboración de hidrogeles.....	42
9. Anexo D: análisis de tamaño de micropartículas.....	42

10.	Anexo E: parche sin tratamiento mecánico degradado.....	43
11.	Anexo F: parches en Prueba de hinchamiento.....	43
12.	Anexo G: Espectros FTIR de pectina y quitosano sin tratamiento mecánico.....	44
13.	Anexo H: Espectros FTIR de parches con distintas relaciones poliméricas.....	45
14.	Anexo I: inserción directa de ibuprofeno en parches de hidrogel .....	45
15.	Anexo K: Hinchamiento de parches para diferentes protocolos.....	46
16.	Anexo L: Hinchamiento de parches con distintas relaciones poliméricas.....	46
17.	Anexo M: Hinchamiento de parches con distintos tratamientos .....	47
18.	Anexo N: Liberación de ibuprofeno en los sistemas individuales.....	47
19.	Anexo O: Liberación de ibuprofeno en parches con micropartículas.....	48
20.	Anexo p: Liberación de ibuprofeno en los tres sistemas .....	49

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Micrografías ópticas de micropartículas (a) cera de abeja sin ibuprofeno y (b) cera de abeja con ibuprofeno.....	20
Figura 2. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas: (a) cera de abeja sin ibuprofeno y (b) cera de abeja con ibuprofeno. ....	21
Figura 3. Micrografías electrónicas de barrido de parches de control (sin tratamiento mecánico). (a) Mezcla manual (protocolo original), (b) Mezcla manual y buffer caliente, y (c) Mezcla con homogeneizador. ....	22
Figura 4. Micrografías electrónicas de barrido de parches con una relación pectina:quitosano 1:1 a diferentes concentraciones poliméricas: (a) 10% p/v, (b) 5% p/v y, (c) 3.33% p/v. ....	23
Figura 5. Cinética de hinchamiento de los parches sin tratamiento mecánico (control) con distintos protocolos: mezcla manual original, mezcla manual con buffer caliente y mezcla con homogeneizador. ....	24
Figura 6. Cinética de hinchamiento de los parches con tratamiento mecánico, mezcla con homogeneizar y distintas concentraciones poliméricas: 10%, 5% y 3.33% p/v. ....	25
Ilustración 7. Espectros FTIR de mezclas sólidas de pectina y quitosano sometidas a tratamiento mecánico y sin tratamiento mecánico. ....	26
Figura 8. Espectros FTIR de parches sin tratamiento mecánico con diferentes protocolos de elaboración como protocolo normal, mezcla manual con calor y mezcla con homogeneizador. ....	27
Figura 9. Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno en PBS 1X a 37°C de las micropartículas de cera de abeja durante 48 horas.....	29

Figura 10. (a) Masa Acumulada y (b) Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno con distintos volúmenes 1X a 37°C en los parches de pectina y quitosano durante 48 horas. ....	30
Figura 11. (a) Masa acumulada y (b) Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno en PBS 1X a 37°C de los parches pectina y quitosano, cargados con distintas cantidades de micropartículas de cera de abeja e ibuprofeno (1, 2, 3 y 4 mg/mL), durante 48 horas. ....	32
Figura 12. Elaboración de micropartículas por método emulsión- evaporación de solvente por Wang et al., en el 2016 [23]. ....	41
Figura 13. Curva de calibración de ibuprofeno en PBS 1X. ....	41
Figura 14. Elaboración de hidrogeles con tratamiento mecánico [26]. ....	42
Figura 15. Análisis de micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno con el software ImageJ. ....	42
Figura 16. Parche sin tratamiento mecánico sometido a prueba de hinchamiento por 48 horas en PBS 1X a 37°C. ....	43
Figura 17. Pruebas de hinchamiento en parches con tratamiento mecánico a 10%, 5% y 3.33% p/v de polímero buffer y parches sin tratamiento mecánico con distintos protocolos de elaboración: mezcla manual normal, mezcla manual con calor, mezcla con homogeneizador. ....	43
Figura 18. Espectros FTIR de diferentes polímeros como (a) Pectina sin tratamiento mecánico y (b) Quitosano sin tratamiento mecánico ....	44
Ilustración 19. Espectros FTIR de parches con tratamiento mecánico a diferentes relaciones poliméricas: 10%, 5% y 3.33% p/v. ....	45
Figura 20. Parches no formados de pectina y quitosano con ibuprofeno añadido por el método de inserción directa. ....	45

## 1. INTRODUCCIÓN

Los sistemas de liberación de fármaco son formas de dosificación de medicamentos a una velocidad y/o zona determinada del cuerpo por un periodo de tiempo específico. Estos sistemas funcionan como vehículos que transportan un fármaco hacia la zona que desea ser tratada [1]. Existen diferentes tipos de sistemas de liberación y encapsulación de fármaco, como son los: sistemas de liberación acelerada, sistemas de liberación diferida, sistemas flotantes y bioadhesivos y, los sistemas de liberación controlada [2]. Estos últimos, son uno de los sistemas más estudiados en los últimos años ya que mejoran las pautas posológicas, el perfil farmacocinético pero también logra reducir los efectos secundarios [3]. Además, existen varias rutas para administrar el fármaco como la oral, transdérmico, pulmonar, etc., y dependiendo de estas, existen diferentes sistemas para administrar el fármaco siendo las más comunes las micropartículas y los hidrogeles [4].

Por un lado, las micropartículas son sistemas coloidales que comprenden un tamaño de partícula de 1 a 1000  $\mu\text{m}$  [5]. En los últimos años, las micropartículas han sido utilizadas como sistemas de administración de fármaco por lo que existen diferentes métodos para su elaboración, tales como vapor químico, hidrólisis, método sol-gel y el más utilizado, emulsión evaporación de solvente [6]. Para su elaboración, se pueden utilizar como agentes encapsulantes materiales naturales como ceras y mantecas además de materiales sintéticos como vidrio, cerámica, entre otros. Estudios demuestran numerosos beneficios de estos sistemas en el campo de la biomedicina como la protección efectiva contra la degradación, facilidad para administrar fármacos y efectividad para controlar la liberación del fármaco, dependiendo el agente encapsulante [7].

Los materiales naturales, en especial los biopolímeros, son el foco de estudio en los últimos años por su baja toxicidad, biodegradabilidad, bajo costo y flexibilidad a los cambios en su estructura [8]. Un claro ejemplo de esto es la cera de abeja, la cuál ha sido sometida a estudios como agente micro encapsulante de fármaco [9], por su asequibilidad en territorio ecuatoriano, fácil manejo y bajo costo como una alternativa a los agentes convencionales sintéticos; sin embargo, se han encontrado factores que interfieren en la liberación de fármaco con micropartículas de cera de abeja como su bajo punto de fusión que provoca emulsiones heterogéneas y micropartículas con morfología irregular [10], obteniendo como resultado una liberación acelerada no deseada.

Por otro lado, los hidrogeles son estructuras biopoliméricas tridimensionales hidrofílicas, que tienen capacidad para hincharse y retener ciertas cantidades de agua, manteniendo su estructura gracias al entrecruzamiento el cuál puede ser físico o químico [11]. Se ha estudiado la aplicación de hidrogeles en la industria cosmética, alimenticia y agroquímica; sin embargo, al auge de este sistema se encuentra en la industria biomédica como agente encapsulante de fármacos, por su característica biocompatible [12]. Existen distintos tipos de hidrogeles que se clasifican en sensibles al pH, sensibles a temperatura, electro sensibles y fotosensibles [13]. Los materiales comúnmente usados en la elaboración de hidrogeles son las proteínas como la albumina y gelatina y, polímeros como el almidón, celulosa, pectina y quitosano.

Para la formación de hidrogeles, se han efectuado pruebas con distintos tipos de polímeros, encontrándose entre los más comunes, la pectina y el quitosano [14]. La pectina es un polisacárido que está conformado principalmente por ácido galacturónico que tiene propiedades gelificantes y está presente en los tejidos frutales y vegetales [15]. Asimismo, el quitosano es un producto de la desacetilación de la quitina, el cual, es el segundo polisacárido más abundante en la naturaleza y se puede encontrar mayormente en el exoesqueleto de los

crustáceos [16]. Se ha demostrado que existe compatibilidad entre la pectina y el quitosano al momento del entrecruzamiento para la elaboración de parches de hidrogel por medio de la mecano-química, la cual consiste en realizar un tratamiento mecánico de molienda a los polímeros [17]; sin embargo, en distintos estudios de los hidrogeles como agentes encapsulantes de fármaco se obtiene como resultado una liberación acelerada [18].

Se ha detectado como problema general la liberación acelerada de fármaco en los sistemas individuales mencionados, lo que significa que los sistemas de administración de fármaco pueden presentar efectos adversos como sobredosis, efectos secundarios y la necesidad de administraciones repetitivas más periódicas [19]. Para estudiar esta problemática, se ha utilizado al ibuprofeno como fármaco modelo por su amplia disponibilidad, farmacocinética conocida y sensibilidad a factores ambientales [20]. Estudios recientes, mencionan pruebas de encapsulación de ibuprofeno en sistemas combinados como microesferas de quitosano con un complejo interpolimérico [21], obteniendo como resultado el mismo problema detectado, la liberación acelerada. Con estos antecedentes, surge la posibilidad de combinar las micropartículas con los hidrogeles para obtener una doble barrera protectora [22] que podría favorecer la liberación controlada de fármaco.

Es por esto que, se propone desarrollar un sistema de administración controlada de ibuprofeno como fármaco modelo, combinando dos sistemas de liberación de fármaco, tales como, micropartículas de cera de abeja e hidrogeles a base de pectina y quitosano. Para cumplir dicho objetivo, primero se estudiará la liberación de ibuprofeno en las micropartículas de cera de abeja y posteriormente se estudiará la liberación de ibuprofeno en los hidrogeles a base de pectina y quitosano. Finalmente, se combinarán los sistemas de liberación de fármaco para prolongar la liberación del ibuprofeno. Con esto se espera aportar información relevante a la industria ecuatoriana y así fortalecer los campos biomédicos del país.

## 2. MATERIALES Y METODOLOGÍA

Los materiales usados en la formulación de micropartículas fueron cera de abeja obtenida de mercados locales e ibuprofeno al 98% obtenido de Sigma-Aldrich (Nro. de catálogo: I4883). Asimismo, los materiales usados para la elaboración de parches de hidrogel fueron pectina cítrica brasileña (con grado de metoxilación de aproximadamente 69%), quitosano (obtenido de cáscara de camarones con grado de desacetilación  $\geq 75\%$ ) de Sigma-Aldrich (Nro. de catálogo: C3646) y glicerol con 99.5% de grado USP de Loba Chemie.

### 2.1 Elaboración de micropartículas

Para las micropartículas de cera de abeja se utilizó el método de emulsión-evaporación de solvente propuesto por Wang et al. usando como solvente orgánico el acetato de etilo [23], variando el surfactante a Tween80. Este método consta de dos partes, en primera instancia se calentó a 65°C la fase orgánica (que contiene 1 g de cera de abeja con ibuprofeno al 5% p/v y acetato de etilo) para mezclar con la fase acuosa (que contiene Tween80 0.5%) previamente calentada a 80°C, por 1 minuto con el homogeneizador a 1200 rpm. Una vez homogeneizado por 1 minutos, se añadió 50 mL de agua destilada y se homogeneizó por 10 segundos más. Posteriormente, se dejó en agitación (400 rpm) durante 24 horas para la evaporación del solvente orgánico a temperatura ambiente. Se puede observar el proceso ilustrado en el anexo A.

Para corroborar la formación de las micropartículas se analizaron alícuotas en un microscopio LEICA DM 500, a una magnitud de 40x. Finalmente, se escogieron las imágenes adecuadas para analizarlas en el software ImageJ, y se obtuvieron las mediciones del diámetro y área de partícula (mínimo 70 mediciones).

Como blancos, se prepararon micropartículas sin ibuprofeno siguiendo el mismo protocolo. Esto se utilizó para compararlas con las micropartículas con ibuprofeno.

## **2.2 Liberación de ibuprofeno en micropartículas**

Para realizar la prueba de liberación de fármaco, se mezclaron las micropartículas liofilizadas (5 mg/mL) en una solución tampón fosfato salina (PBS) de pH 7.3 que simula los fluidos corporales [24] con Tween80 al 5% p/v para evitar aglomeración de las micropartículas. Se colocó 5 ml de la mezcla en jeringas con filtros con tamaño de poro de 0.45  $\mu\text{m}$  y se incubaron a 37°C, bajo agitación constante de 40 rpm. Se tomaron alícuotas de 100  $\mu\text{L}$  a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 24, y 48 horas.

Para cuantificar el porcentaje liberado del fármaco modelo, se analizaron las muestras diluidas en 1.9  $\mu\text{L}$  de PBS en un espectrofotómetro CECIL CE 2041 UV-VIS, a una longitud de onda de 222 nm ( $\lambda_{\text{max}}$  del ibuprofeno) [25]. La concentración del fármaco se obtuvo con la curva de liberación (Anexo B) para la cual, se utilizaron estándares con concentraciones conocidas de ibuprofeno en PBS.

Micropartículas sin ibuprofeno elaboradas a través de la misma metodología, fueron utilizadas como blancos.

## **2.3 Elaboración de hidrogeles**

Según lo propuesto en trabajos previos en el Laboratorio de Biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito [26], se estableció la relación entre pectina cítrica y quitosano 1:1 para la elaboración de parches de hidrogel. La mezcla sólida de los polímeros se sometió a un tratamiento mecánico durante 15 minutos con ayuda de un mortero y un pistilo [17]. Posteriormente, se mezcló manualmente los polímeros con un buffer de acetato de sodio (1.0 N y pH 2) y glicerina al 5% v/v como plastificante durante 30 segundos aproximadamente.

Se permitió la formación de los hidrogeles por 2 horas a temperatura ambiente y finalmente, se secaron los hidrogeles a 40°C; se puede observar este proceso ilustrado en el anexo C.

Al obtener como resultado parches heterogéneos (ver sección de Resultados y Discusión), se decidió realizar pruebas de variación en la concentración polimérica (10%, 5% y 3.33% p/v) además, se probaron nuevos protocolos de elaboración de parches tales como: mezcla manual (protocolo original establecido), mezcla con homogeneizador por 30 segundos y mezcla manual con previo calentamiento del buffer. Una vez obtenidos los parches, se realizaron pruebas de hinchamiento, un parámetro que sirve como indicador de estabilidad, y, por lo tanto, para determinar el mejor protocolo de elaboración.

Para la prueba de hinchamiento, se sumergieron muestras de los parches con un diámetro de 1 cm en PBS a 37°C, temperatura corporal [27]. Se pesaron las muestras a las 5 primeras horas y posteriormente a las 24 y 48 horas, para determinar el porcentaje de hinchamiento con la ecuación 1.

$$\%Hinchamiento = \frac{m_t}{m_i} \times 100\% \quad (1)$$

En la cual,  $m_t$  es la diferencia de la masa final menos la inicial y  $m_i$  es la masa inicial.

Finalmente, los hidrogeles se caracterizaron por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR, Agilent Cary 630 con punta de diamante). Para esto se ajustó el equipo a un gain de 222 con un rango de número de onda de 650 a 4000  $\text{cm}^{-1}$  y se sometieron a prueba los hidrogeles con concentración polimérica de: 10%, 5% y 3.33% p/v, elaborados con el protocolo de mezcla por homogeneizador.

## 2.4 Encapsulación y liberación de ibuprofeno en hidrogeles

Se probaron dos de los tres métodos propuestos por Patel y Joshi en 2019, para encapsular el fármaco [28]. El primer método fue el de adición directa, que consistía en añadir

el ibuprofeno en el buffer de acetato de sodio con glicerina y seguir el protocolo establecido de elaboración de hidrogeles (sección 2.3), mientras que, el segundo método consistió en insertar el fármaco por hinchamiento (ver protocolo establecido en la sección 2.3) durante 5 horas, con distintos volúmenes: 5 mL, 1 mL y 0.5 mL, en muestras circulares de 1x1 cm aproximadamente. Para esto, se preparó PBS con 100 µg/mL de ibuprofeno. Finalmente, se determinó el volumen final y se lo analizó en el UV-VIS para calcular el porcentaje de eficiencia de encapsulación con la ecuación 2.

$$\% \text{Eficiencia de encapsulación} = \frac{m_0 - m_f}{m_0} \times 100\% \quad (2)$$

En la cual,  $m_0$  es la masa inicial y  $m_f$  es la masa final.

Una vez encapsulado el fármaco, se secaron las muestras a temperatura ambiente para evitar la degradación del ibuprofeno. Asimismo, para la liberación de fármaco, se sometió a los parches a una segunda prueba de hinchamiento con PBS en dónde se retiraron alícuotas las 5 primeras horas y posteriormente a las 24 y 48 horas. Finalmente, se determinó la cantidad de ibuprofeno liberado como se explicó anteriormente (sección 2.2).

## 2.5 Combinación de los sistemas y liberación

Para la combinación de los sistemas (hidrogeles + micropartículas), primero se prepararon las micropartículas (ver sección 2.1) y los hidrogeles (ver sección 2.3) por separado. Una vez obtenidos los sistemas individuales, se insertaron las micropartículas en los hidrogeles por medio de hinchamiento durante 5 horas. Se suspendieron distintas cantidades de micropartículas (1, 2, 3 y 4 mg/mL) en PBS y se sumergieron los parches en un volumen conocido de esta suspensión (0.5 mL).

Una vez insertadas las micropartículas en los parches, se llevaron a cabo ensayos de liberación como se especificó en la sección 2.4. Se utilizaron blancos que consistían en

muestras de parches combinados con micropartículas sin ibuprofeno, siguiendo el mismo protocolo.

## **2.7 Microscopía electrónica de barrido**

En el microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-IT300 se analizó la topografía de las micropartículas e hidrogeles en función de las variables. Las micropartículas fueron liofilizadas previamente y congeladas a  $-24^{\circ}\text{C}$ . Las muestras fueron espolvoreadas y fijadas en la cinta adhesiva en el disco porta muestras y, se tomaron registros en resoluciones de 200x, 500x y 1000x con un voltaje de 30 kV y presión de 30 Pa. De igual manera, para el análisis de los hidrogeles se tomaron muestras de  $5\text{ mm}^2$  aproximadamente y, se colocaron en la cinta adhesiva del disco porta muestras. Al igual que con las micropartículas, se tomaron registros a resoluciones de 200x, 500x y 1000x, pero con voltaje de 15kV y presión de 30 Pa.

## **2.8 Análisis estadístico (ANOVA)**

Con ayuda del software Minitab, se realizó un análisis de varianza conocido como ANOVA. Se seleccionó el modelo lineal general del software y se usó un intervalo de confianza del 95% para la prueba de comparación de pares. Los valores son representados como el promedio de al menos tres mediciones  $\pm$  desviación estándar (ver anexos).

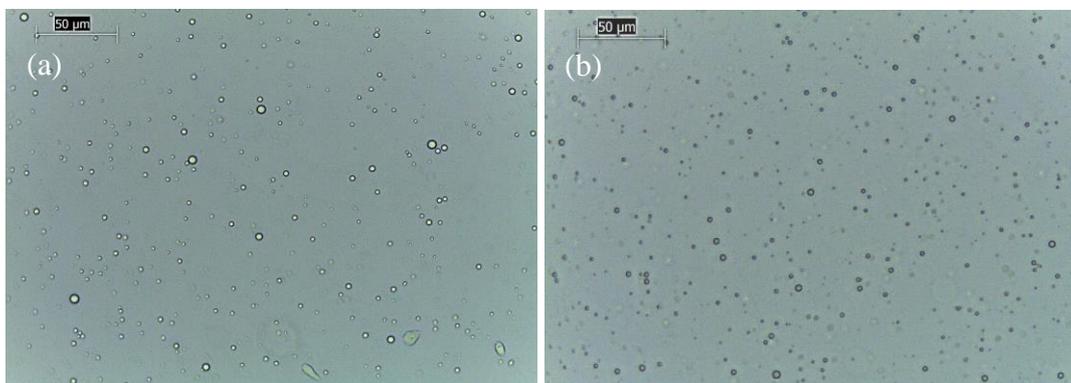
### 3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Se han estudiado diferentes tipos de sistemas de liberación y encapsulación de fármacos para poder reducir problemas de efectos secundarios como sobredosis, ocasionadas por la liberación acelerada de estos. Un ejemplo, son los distintos estudios realizados en el Laboratorio de Biomateriales de la Universidad San Francisco de Quito sobre cada sistema por separado, comprobando que existen posibles mejoras en los protocolos; sin embargo, no se ha llegado a obtener la liberación controlada esperada. Es por esto que, este estudio busca desarrollar un sistema de liberación prolongada de fármaco con la combinación de micropartículas en hidrogeles. Se utilizó ibuprofeno como un fármaco modelo, representativo de otros fármacos con baja solubilidad en sistemas acuosos.

#### 3.1 Tamaño y morfología de las micropartículas

Se analizó la eficiencia encapsulante de la cera de abeja por el método de emulsión- evaporación de solvente. Para poder llevar a cabo esto, primero se analizaron las micropartículas sin ibuprofeno y con ibuprofeno en el microscopio óptico. En la figura 1 se puede evidenciar una diferencia en el tamaño de partícula de cada muestra. Las micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno (figura 1b) tienden a tener un menor tamaño que las micropartículas sin ibuprofeno (figura 1a) por lo que, en diferentes estudios con este fármaco modelo se lo ha atribuido a las características propias del compuesto tales como: sensibilidad a la humedad y alta degradabilidad [29]. De estudios previos, se conoce que las micropartículas de ibuprofeno, puede llegar a un máximo de 15  $\mu\text{m}$  [30], se comprobó esto con el software de ImageJ [ver anexo D] utilizando los registros obtenidos para el presente estudio, en donde se obtuvieron micropartículas con tamaños aproximados de 4 hasta 9  $\mu\text{m}$ . Es importante tener en

cuenta el factor de tamaño de partícula ya que, se ha encontrado una relación directa entre este factor y la liberación de fármaco. Es decir, a menor tamaño de partícula, mayor velocidad de liberación de fármaco [31].



*Figura 1. Micrografías ópticas de micropartículas (a) cera de abeja sin ibuprofeno y (b) cera de abeja con ibuprofeno.*

A continuación, se analizaron las micropartículas a través de SEM para conocer la morfología de cada muestra. Como se puede observar en la figura 2, las micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno presentan formas irregulares, mientras que, aquellas sin ibuprofeno tienden a aglomerarse. Esto puede ser ocasionado por las propiedades del agente encapsulante al momento de elaborar las micropartículas ya que, su punto de fusión se encuentra entre los 63°C a los 65°C [32], y al no mantener estrictamente este rango, se puede solidificar fácilmente. Además, se ha encontrado una relación entre la velocidad de agitación al elaborar las micropartículas y el tamaño de partícula, en el cual, a mayor velocidad de agitación, menor tamaño de partícula y mayor desperdicio de material por su adhesión a las paredes del vaso de precipitación [9].

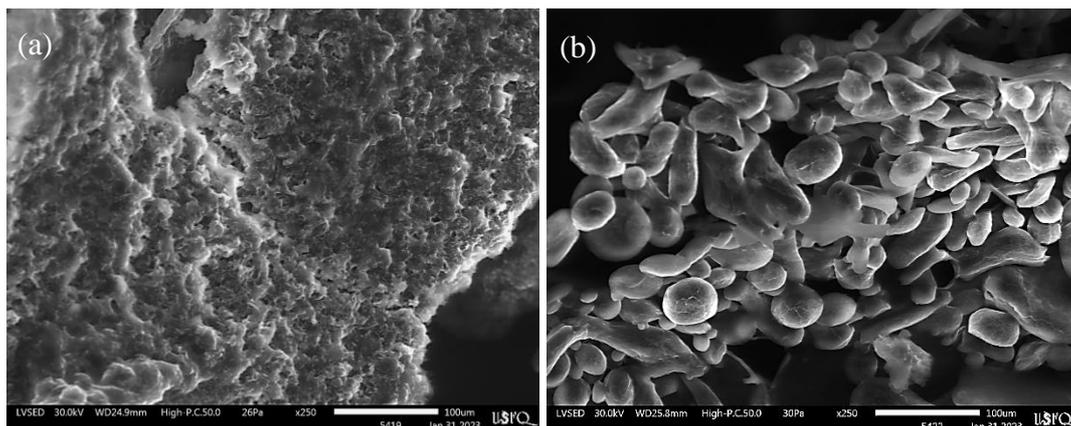
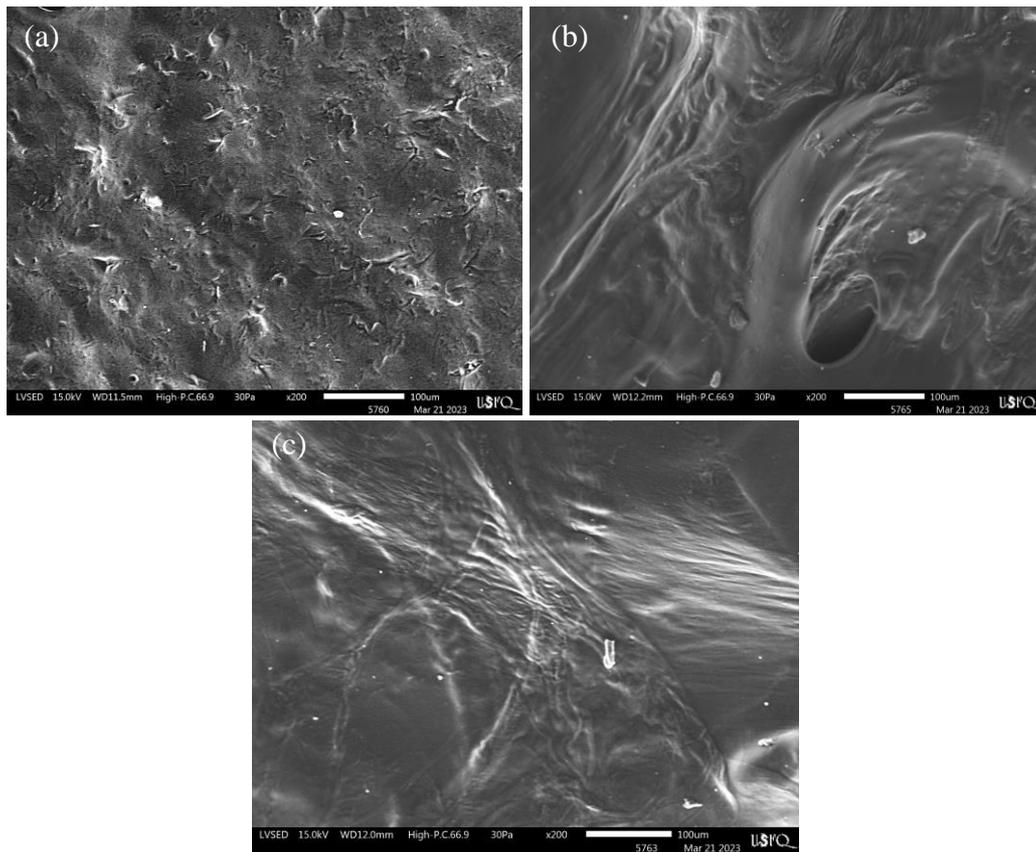


Figura 2. Micrografías electrónicas de barrido de micropartículas: (a) cera de abeja sin ibuprofeno y (b) cera de abeja con ibuprofeno.

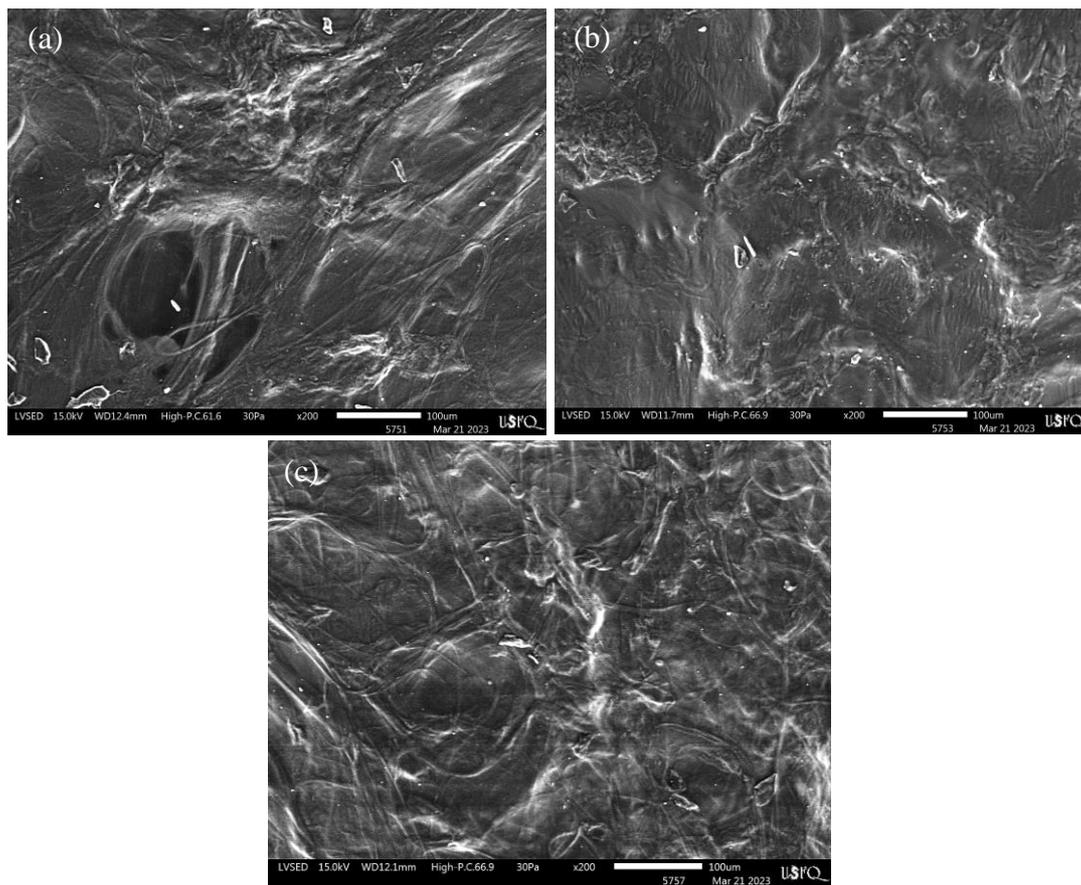
### 3.2 Topografía y estabilidad de los parches de hidrogel

Por medio de SEM, se pudo observar la topografía de la superficie de los parches de hidrogel, y se definió el protocolo adecuado para elaborar parches más estables. Como se evidencia en la figura 3, los parches realizados con el protocolo propuesto por Andrés Stacey en el 2019 [17] pero sin tratamiento mecánico, tienen una superficie altamente porosa formando una apariencia de parches heterogéneos (figura 3a). Asimismo, los parches con mezcla manual y variación de temperatura del buffer (figura 3b), presentaron una superficie poco porosa con ciertas áreas irregulares; sin embargo, los hidrogeles elaborados en el homogeneizador no presentaron superficie porosa y tienen una apariencia regular, comparados con los obtenidos a través de los otros dos protocolos. Esto es importante tener en cuenta ya que, cuando se obtiene parches con superficies regulares y con poca porosidad, significa que existe un entrecruzamiento fuerte y a su vez, el fármaco tardará en ser liberado [33]. A partir de esto, se consideró que el protocolo para obtener parches visualmente homogéneos es 3c, mezcla con homogeneizador.



*Figura 3. Micrografías electrónicas de barrido de parches de control (sin tratamiento mecánico). (a) Mezcla manual (protocolo original), (b) Mezcla manual y buffer caliente, y (c) Mezcla con homogeneizador.*

Una vez determinado el proceso adecuado para homogeneizar adecuadamente los parches, se realizaron pruebas de elaboración, siguiendo el tratamiento de mecano-química para que ocurra la correcta acción de entrecruzamiento [17]. En la figura 4, se puede observar los parches de pectina y quitosano con una relación 1:1 ya que, en estudios anteriores se determinó que es la proporción de polímeros con mayor capacidad de hinchamiento [34]; sin embargo, se varió la concentración polimérica (10%, 5% y 3.33% p/v) para determinar las mejores formulaciones. En la figura 4a se puede observar un poro con residuos de polímeros que no se homogeneizaron en el proceso; sin embargo, en la figura 4b se observan parches con superficies irregulares y poco porosas. Asimismo, se puede evidenciar que, a mayor cantidad de buffer, mayor homogeneización de los polímeros, aunque, existe un incremento de rugosidades fibrilosas, tal como se observa en la figura 4c.

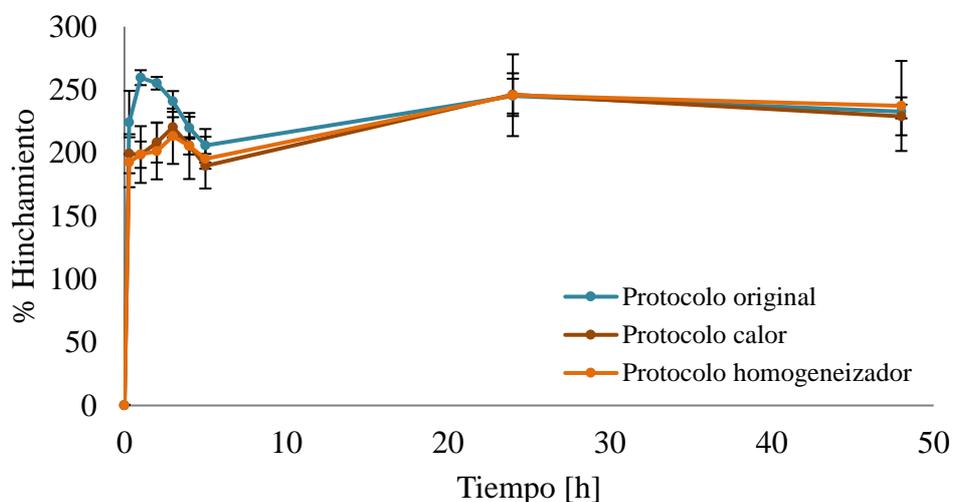


*Figura 4. Micrografías electrónicas de barrido de parches con una relación pectina:quitosano 1:1 a diferentes concentraciones poliméricas: (a) 10% p/v, (b) 5% p/v y, (c) 3.33% p/v.*

Posteriormente, se sometieron a los parches a pruebas de hinchamiento para analizar su estabilidad en condiciones fisiológicas, siguiendo el protocolo detallado en la subsección 2.3. A partir de esto, se puede observar la importancia de dar un tratamiento mecánico a los polímeros para formar el hidrogel. En la figura 5, se evidencia que los parches sin el tratamiento mecano-químico tienden a hincharse aceleradamente durante las 5 primeras horas, en especial, los parches elaborados a partir del protocolo original con una capacidad de hinchamiento hasta del 260% ( $\pm 5.60$  desviación estándar). Comparando esto con la topografía de los parches anteriormente analizada, se observa que la figura 3a presenta una superficie altamente porosa. Sin embargo, a partir de las 24 horas de monitoreo, el hinchamiento de todos los parches sin tratamiento mecano-químico comienza a decrecer. Esto se puede atribuir a la degradación de

los hidrogeles en el buffer de fosfatos, lo cual, no ocurriría si existiese un entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas [35]; esto se observó empíricamente durante la experimentación (ver anexos E y F).

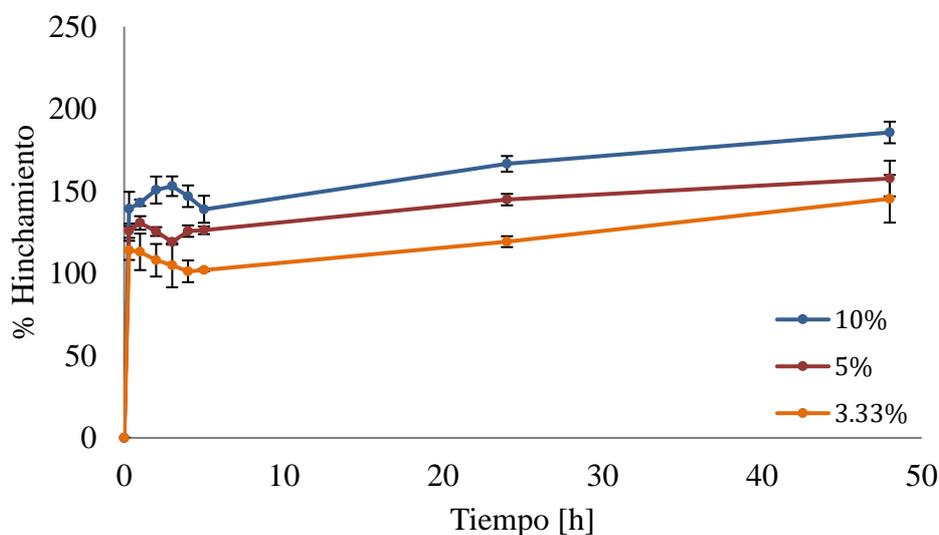
Estadísticamente, no existe diferencia significativa entre el protocolo de mezcla manual con calor y el protocolo de mezcla con homogeneizador; sin embargo, demuestran tener menor capacidad de hinchamiento, por ende, son más estables que los hidrogeles elaborados con el protocolo original, los cuales, si demuestran tener diferencia significativa en las primeras 5 horas, comparado con los otros protocolos ( $p < 0.05$ , ver anexo K). Esto puede estar relacionado con la homogeneidad de los parches ya que, anteriormente se demostró que a mayor homogeneidad menor porosidad, por ende, son más estables[33]. A partir de esto, se escogió como mejor protocolo para elaborar parches homogéneos por su apariencia física y sin afectar el entrecruzamiento polimérico, el protocolo de mezcla con homogeneizador.



*Figura 5. Cinética de hinchamiento de los parches sin tratamiento mecánico (control) con distintos protocolos: mezcla manual original, mezcla manual con buffer caliente y mezcla con homogeneizador.*

Una vez definido el mejor protocolo de homogeneización de hidrogeles, se realizaron pruebas de hinchamiento a los parches con tratamiento mecánico y a distintas concentraciones

poliméricas (10%, 5% y 3.33% p/v). En la figura 6, se observa un porcentaje de hinchamiento menor a la de los hidrogeles sin tratamiento mecánico; sin embargo, a partir de las 24 horas, los parches continúan hinchándose. Esto concuerda con el estudio realizado por Michal Dziadek et al., en el 2022, en el que se confirma que cuando existe mayor grado de entrecruzamiento, menor será el hinchamiento y menos degradación del parche [36]. Asimismo, los datos coinciden con lo observado en el microscopio electrónico de barrido, en donde la superficie de dichos parches es poco porosa. Con esto, se establece que los parches con menor porcentaje de hinchamiento y, en consecuencia, los más estables, fueron los elaborados al 3.33% p/v. Esto se confirma con el análisis de Tukey, en donde los parches mencionados, tienen menor hinchamiento (112.674%,  $\pm 5.82$  desviación estándar); sin embargo, todas las relaciones poliméricas analizadas, arrojan datos estadísticamente significativos (ver anexo L).

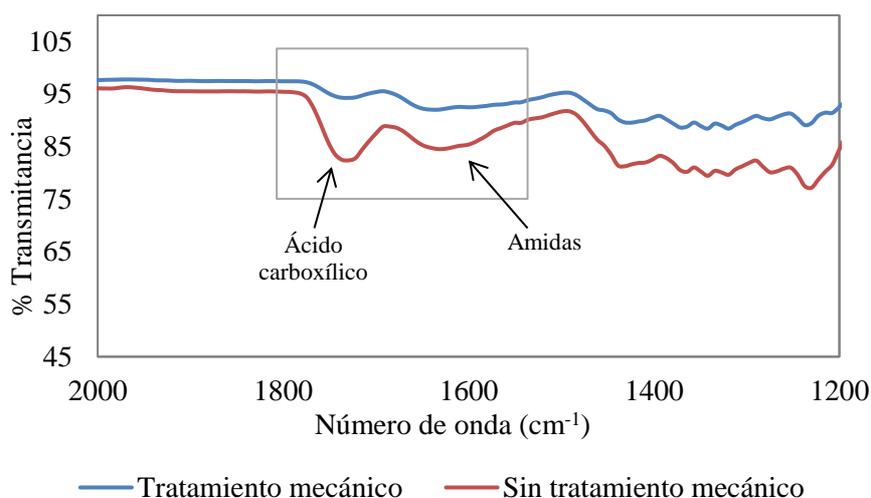


*Figura 6. Cinética de hinchamiento de los parches con tratamiento mecánico, mezcla con homogeneizar y distintas concentraciones poliméricas: 10%, 5% y 3.33% p/v.*

### 3.3 Caracterización química de los parches de hidrogel

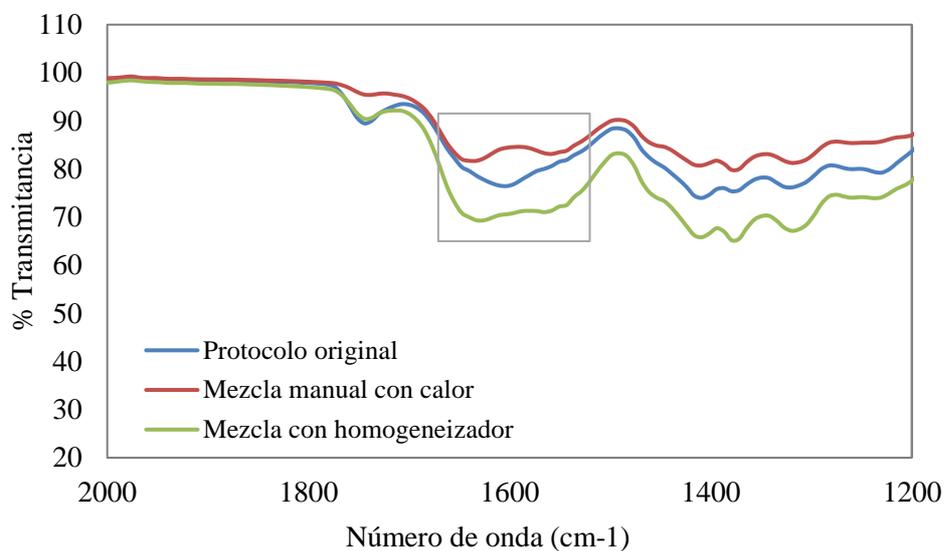
En primera instancia, se analizaron los materiales utilizados en el presente estudio (pectina y quitosano comercial), para los cuales se tomaron los espectros FTIR de cada uno (ver anexo

G). En el espectro de la pectina, las señales correspondientes a los grupos  $-\text{COOCH}_3$  y  $-\text{COOH}$  están solapadas en la misma longitud de onda ( $1714\text{ cm}^{-1}$ ), mientras que los grupos  $-\text{COO}^-$  está en una longitud de onda de  $1602\text{ cm}^{-1}$  (figura 17a). En cuanto al quitosano, se encontraron los grupos amidas I y II con longitudes de onda de  $1550\text{ cm}^{-1}$  y  $1647\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente (figura 17b). A partir de esto, Stacey en el 2019, identificó que no existen cambios significativos en la estructura química de los polímeros si estos se someten a un tratamiento mecánico por 15 minutos, por separado [17]; sin embargo, cuando se mezcla la pectina con el quitosano y se les da un tratamiento mecano-químico, si existen diferencia como la reducción de la banda de grupos carboxílicos y el crecimiento de la banda de los grupos amidas (ver figura 7), además, se comprobó esto estadísticamente con el hinchamiento de los parches con distintos tratamientos en el anexo M, en el cual existe una diferencia significativa entre los métodos. Un claro ejemplo de esto es la reducción de la intensidad en la banda con una longitud de onda de  $1714\text{ cm}^{-1}$  correspondiente a los grupos carboxílicos, lo que significa que ocurre una transferencia de protón de ácido carboxílico hacia la amina [37] que se encuentra en la banda  $1602\text{ cm}^{-1}$  por lo que, existe un crecimiento en dicha banda que se traduce como la formación de grupos amidas.



*Ilustración 7. Espectros FTIR de mezclas sólidas de pectina y quitosano sometidas a tratamiento mecánico y sin tratamiento mecánico.*

Con esto se puede demostrar que existe de una reacción mecano-química entre los polímeros. Finalmente, se comprobó con los espectros FTIR que si existe diferencia con los distintos protocolos de elaboración sin tratamiento mecánico y los protocolos a diferentes concentraciones con tratamiento mecánico. En el anexo I, se puede observar que no existen cambios significativos en las bandas de los espectros IR a medida que varían las concentraciones poliméricas; sin embargo, en la figura 8, se puede observar que existen cambios en la banda  $1600\text{ cm}^{-1}$  según los diferentes protocolos para cada parche. Se puede decir que existe un desdoblamiento de la banda cuando se añade calor al buffer y cuando se utiliza el homogeneizador para obtener parches homogéneos lo cual podría implicar la formación de nuevos grupos que fortalecen o no el entrecruzamiento [38] (ver figura 8). A partir de estos análisis, se corrobora que la mezcla con homogeneizador o calor añadido y relación polimérica del 3.33% p/v es lo idóneo para la formación de parches homogéneos y por consecuencia, con entrecruzamiento fuerte.

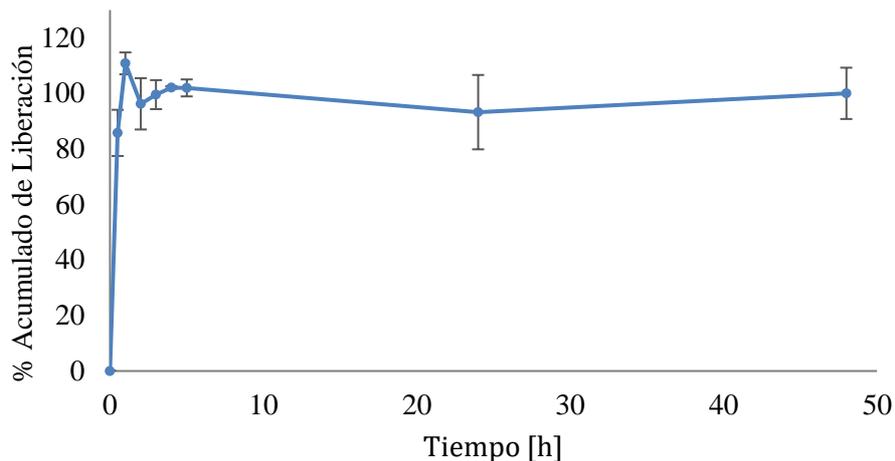


*Figura 8. Espectros FTIR de parches sin tratamiento mecánico con diferentes protocolos de elaboración como protocolo normal, mezcla manual con calor y mezcla con homogeneizador.*

### **3.4 Liberación de ibuprofeno en los sistemas individuales**

Los parches de hidrogel y micropartículas son sistemas de encapsulación y liberación del fármaco, por lo que, idealmente deberían presentar liberaciones controladas para contrarrestar efectos adversos como sobredosis y administraciones continuas, optimizando el fármaco a largo plazo [4]. A partir de esto, nace la importancia de evaluar los perfiles de liberación del fármaco en cada sistema por separado. Para esto, se siguieron los protocolos expuestos en las secciones 2.2 y 2.3.

En el caso de las micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno, se realizaron pruebas de liberación por triplicado con sus controles respectivos. En la figura 9, se puede observar la cinética de liberación del fármaco durante 48 en PBS, a 37°C (temperatura corporal) [27]. Lo que se debe destacar de esta figura, es la liberación acelerada durante las 5 primeras horas de la prueba. Teniendo en cuenta que las micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno previamente analizadas en la sección 3.1 tienen un tamaño de partícula reducido, se puede atribuir a este factor, la liberación acelerada del sistema. Además, se deben tener en cuenta las propiedades de la cera de abeja como su bajo punto de fusión; sin embargo, se cree que, al incrementar la proporción de cera de abeja, se logrará disminuir la tasa de liberación del fármaco en las microesferas [9].



*Figura 9. Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno en PBS 1X a 37°C de las micropartículas de cera de abeja durante 48 horas.*

Del mismo modo, se realizan pruebas de liberación del ibuprofeno en los parches de hidrogel formados y previamente cargados con ibuprofeno (ver figura 10). Se probó la inserción del ibuprofeno con distintos métodos. El primer método que consistía en la adición directa no demostró ser eficaz a la hora de elaborar los parches (ver anexo I). Se cree que este tipo de método afecta al entrecruzamiento de los polímeros por lo que el parche no se forma en su totalidad, por ende, se degrada fácilmente en PBS. Además, el ibuprofeno es un compuesto con alta tasa de degradabilidad por lo que, pudo degradarse al ser sometido a la mezcla con los polímeros en el homogeneizador [39]. Posteriormente, se analizó el método de inserción por hinchamiento en distintos volúmenes de PBS mezclado con ibuprofeno (0.1 mg/mL). En este análisis se evidenció una liberación acelerada similar a la de las micropartículas (figura 9), en el que la mayor cantidad de ibuprofeno es liberado dentro de las 5 primeras horas y estadísticamente, no existe diferencia entre las liberaciones de los sistemas individuales (ver anexo N). Uno de los principales motivos puede ser las propiedades de los polímeros que conforman la membrana como, por ejemplo, el quitosano tiene baja hidrofiliidad por lo que la resistencia mecánica de las membranas también se ve afectada [40]. Esto puede mejorar añadiendo la pectina en la mezcla ya que es un polisacárido aniónico que

incrementa la hidrofiliidad del quitosano [36]; sin embargo, al tener un tratamiento mecánico que hace que el entrecruzamiento sea reversible, ambos materiales tienen la capacidad de degradarse con el tiempo en soluciones acuosas, por lo que, el fármaco se libera con facilidad. De igual manera, se puede observar que los valores más parecidos al modelo de liberación de las micropartículas son los parches cargados con ibuprofeno en 5 ml y 0.5 ml de PBS.

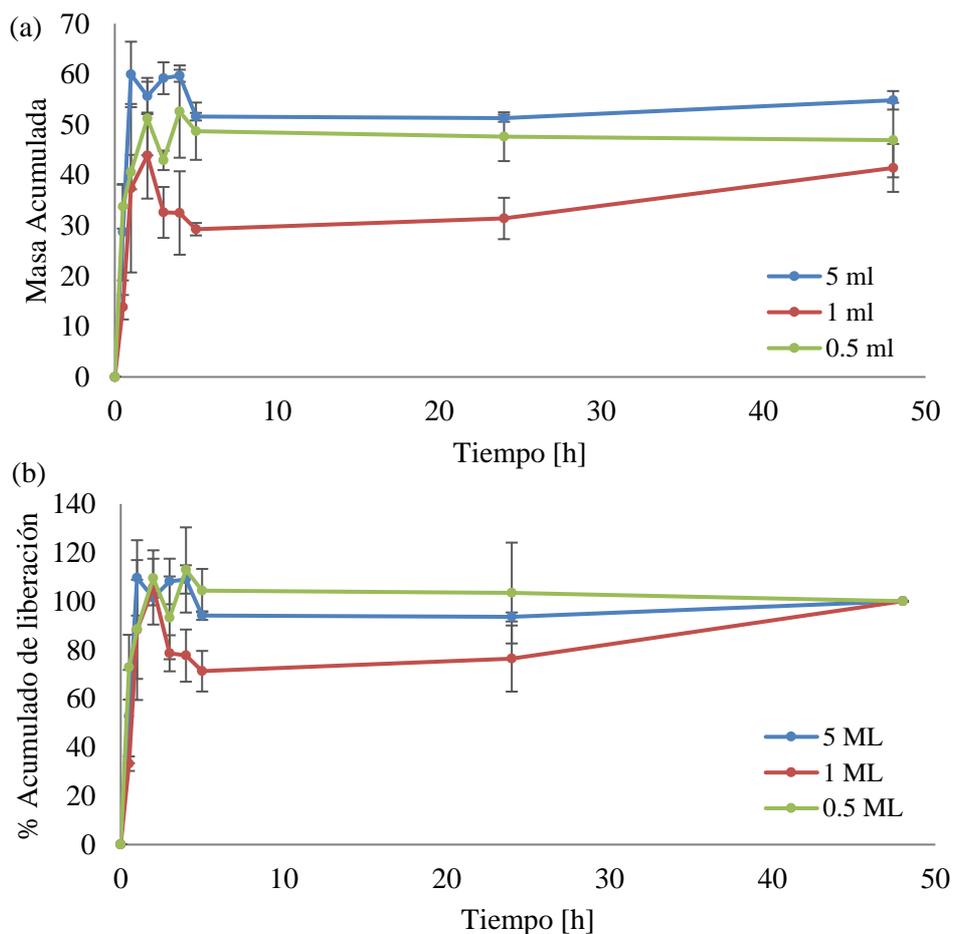


Figura 10. (a) Masa Acumulada y (b) Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno con distintos volúmenes 1X a 37°C en los parches de pectina y quitosano durante 48 horas.

### 3.5 Liberación de ibuprofeno en el sistema combinado

Durante años, se han estudiado diferentes sistemas para controlar la liberación del fármaco en el tiempo; sin embargo, los resultados han demostrado que se logra sostener el fármaco hasta 10 horas aproximadamente [41]. Es por esto, que se han buscado alternativas para prolongar la

liberación hasta 48 horas o más, combinando los sistemas de administración de fármaco existentes, en este caso, las micropartículas y los hidrogeles.

Después de insertar las micropartículas cargadas de ibuprofeno en los hidrogeles por medio de hinchamiento con distintas cantidades de micropartículas (1 hasta 4 mg/mL), se realizaron las pruebas de liberación de fármaco en PBS. Como resultado se obtuvo que, el hidrogel cargado con 3 mg/mL de micropartículas es el que logra sostener la liberación del fármaco en el tiempo (figura 11); sin embargo, existe similitud entre la liberación de los parches cargados con 2 y 4 mg/mL. Con ayuda del método de ANOVA y Tukey, se analizaron las liberaciones de los parches cargados con distintas cantidades de micropartículas, obteniendo que existe diferencia significativa entre la liberación de los parches cargados con 1 mg/mL de micropartículas y aquellos cargados con 3 mg/mL ( $p < 0.05$ ), mientras que los parches con 2 y 4 mg/mL tienen liberaciones similares (ver anexo O). Como se puede observar en la figura 11, el fármaco sigue liberándose después de las 24 horas. Los resultados del presente estudio se asemejan a los datos obtenidos en la investigación en el 2021 de Carrêlo et al., en donde se observa como la liberación del fármaco es controlada, al combinar sistemas de encapsulación, aunque estos sean elaborados con materiales distintos a los reportados en este estudio [42]. Asimismo, se realizó análisis estadístico entre el tiempo de liberación y las formulaciones de los diferentes parches, obteniendo que entre los primeros 30 minutos hasta la primera hora de liberación no existen diferencias significativas; sin embargo, a partir de la primera hora hasta las 48 horas de análisis, si existe diferencia en el porcentaje acumulado de liberación (ver anexo O).

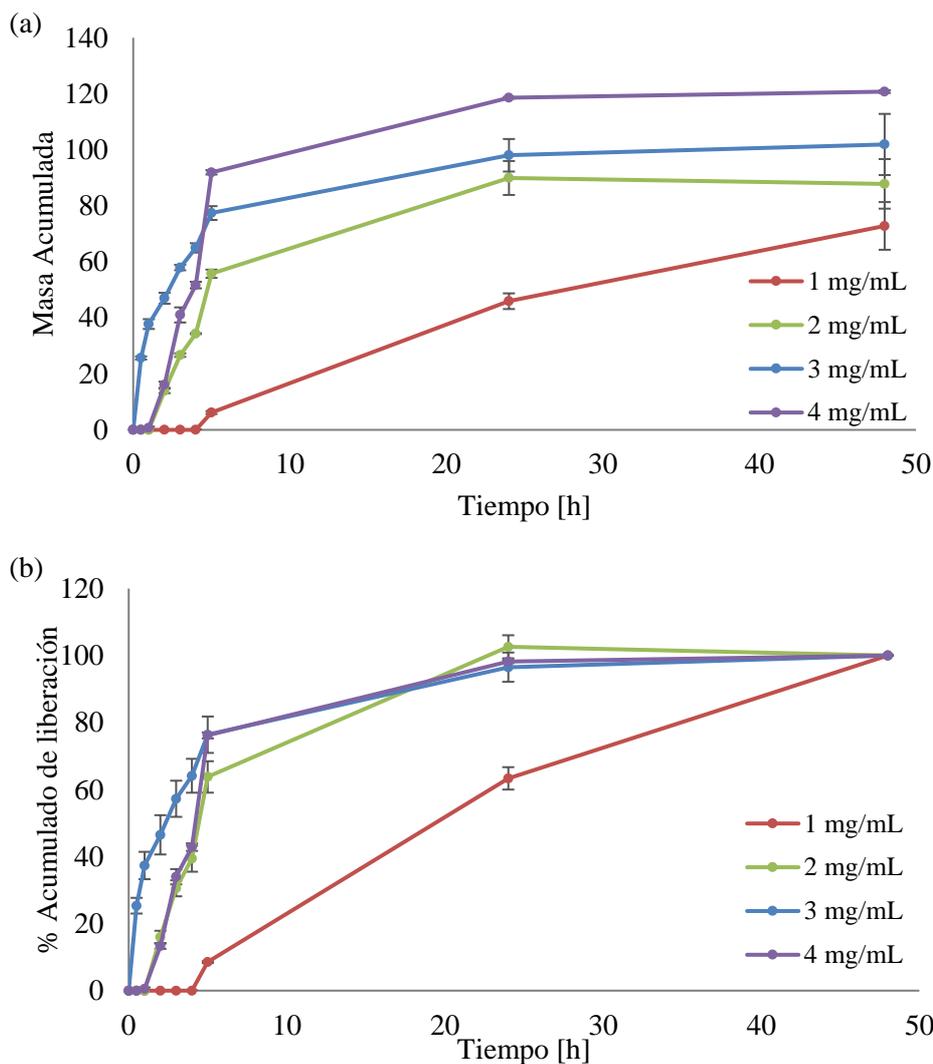


Figura 11. (a) Masa acumulada y (b) Porcentaje acumulado de liberación de ibuprofeno en PBS IX a 37°C de los parches pectina y quitosano, cargados con distintas cantidades de micropartículas de cera de abeja e ibuprofeno (1, 2, 3 y 4 mg/mL), durante 48 horas.

Finalmente, se observa una diferencia estadística entre la liberación de los sistemas individuales y la liberación del sistema combinado (ver anexo P), en donde este último sistema, tiene un menor porcentaje de liberación con un promedio general del 62.93%. Esto es posible ya que el hidrogel actúa como barrera protectora del fármaco y de las micropartículas. A su vez, las micropartículas encapsulan y protegen al fármaco [42] por lo que, se presenta una doble barrera que garantiza la prolongación de la vida útil del sistema con la liberación sostenida.

#### 4. CONCLUSIONES

Se combinaron dos sistemas de administración de fármaco para prolongar la liberación del ibuprofeno siendo estos, las micropartículas de cera de abeja y los hidrogeles a base de pectina y quitosano plastificados. De esta manera, se busca aportar información para el desarrollo de un nuevo sistema que prolongue la liberación y así optimizar el fármaco, fortaleciendo la industria ecuatoriana.

De esta manera, se mejoraron los protocolos preexistentes para elaborar parches más homogéneos y estables. Asimismo, se demostró la necesidad de un tratamiento mecano-químicos para un entrecruzamiento fuerte entre las cadenas poliméricas. Al realizar pruebas de liberación de cada sistema por separado, se obtuvieron liberaciones aceleradas con oscilaciones durante las primeras horas. Con esto, se demostró la necesidad de desarrollar nuevos sistemas para controlar la liberación del fármaco. Finalmente, se encontró que la liberación de ibuprofeno con los sistemas combinados es prolongada hasta 48 horas; sin embargo, existen valores de liberación iniciales no significativos que fueron reportados como 0, por lo que se recomienda incorporar más micropartículas a los hidrogeles o incorporar ibuprofeno no encapsulado junto a las micropartículas para así obtener una liberación inicial significativa durante las primeras horas.

Con esto, se comprueba la viabilidad de combinar los sistemas de administración de fármaco para sostener su liberación en el tiempo. Finalmente, se recomienda realizar estudios con distintos materiales de encapsulación y combinar diferentes sistemas para compararlos. Asimismo, se recomienda buscar alternativas para evitar la degradación de los parches en soluciones acuosas y así establecer un protocolo para la cuantificación de micropartículas ingresadas en el sistema.

## 5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] A. Vargason, A. Anselmo, y S. Mitragotri, «The evolution of commercial drug delivery technologies», *Nature Biomedical Engineering*, vol. 5, n.º 9. Nature Research, pp. 951-967, 1 de septiembre de 2021. doi: 10.1038/s41551-021-00698-w.
- [2] S. Adepuy y S. Ramakrishna, «Controlled drug delivery systems: Current status and future directions», *Molecules*, vol. 26, n.º 19. MDPI, 1 de octubre de 2021. doi: 10.3390/molecules26195905.
- [3] J. Paredero, «NUEVAS FORMAS FARMACÉUTICAS DE LIBERACIÓN MODIFICADA: REVISIÓN Y RELEVANCIA», 2007. Accedido: 8 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en:  
[https://sanidad.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacia/ix\\_01\\_nuevasffdeliberacionmodificada.pdf](https://sanidad.castillalamancha.es/sites/sescam.castillalamancha.es/files/documentos/farmacia/ix_01_nuevasffdeliberacionmodificada.pdf)
- [4] K. K. Jain Editor, «Drug Delivery Systems», 2020. doi: 10.1007/978-1-4939-9798-5.
- [5] L. Bautista, «Elaboración y caracterización de micropartículas parentales por el método A1/O/A2 - evaporación del solvente optimizado: biopolímeros útiles, factores tecnológicos y de formulación y su aplicación en un fármaco hidrosoluble», Lima, 2009. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/tesis/principal.asp>
- [6] R. Lancheros, J. Beleño, C. Guerrero, y R. Godoy-Silva, «Producción de nanopartículas de PLGA por el método de emulsión y evaporación para encapsular N-Acetilcisteína (NAC)», *Univ Sci (Bogota)*, vol. 19, n.º 2, mar. 2014, doi: 10.11144/Javeriana.SC19-2.mpre.

- [7] J. Siepmann y F. Siepmann, «Microparticles Used as Drug Delivery Systems», *Progress in Colloid and Polymer Science*, vol. 133. pp. 15-21, 2006. doi: 10.1007/2882\_053.
- [8] V. Subha, W. Arulsha, S. Kirubanandan, y S. Renganathan, «Sustained drug delivery of capecitabine using natural (bee wax) and synthetic polymer (PLGA)», *MOJ Drug Design Development & Therapy*, vol. 2, n.º 3, jun. 2018, doi: 10.15406/mojddt.2018.02.00042.
- [9] N. M. Ranjha, H. Khan, y S. Naseem, «Encapsulation and characterization of controlled release flurbiprofen loaded microspheres using beeswax as an encapsulating agent», *J Mater Sci Mater Med*, vol. 21, n.º 5, pp. 1621-1630, may 2010, doi: 10.1007/s10856-010-4034-4.
- [10] M. L. Bruschi, «STRATEGIES TO MODIFY THE DRUG RELEASE FROM PHARMACEUTICAL SYSTEMS», en *Interfacing PIC Microcontrollers*, Elsevier, 2015, pp. i-iii. doi: 10.1016/b978-0-08-099363-8.00011-x.
- [11] A. Arredondo Peñaranda y M. E. Londoño López, «Hidrogeles. Potenciales biomateriales para la liberación controlada de medicamentos HYDROGELS. POTENTIALS BIOMATERIALS FOR CONTROLLED DRUG DELIVERY», *Rev Ing Biomed*, vol. 3, pp. 83-94, 2009.
- [12] G. Villarreal, E. Múzquiz, y L. Farías, «Aplicaciones médicas de biopolímeros», 2020, [En línea]. Disponible en: <https://nexciencia.exactas.uba.ar/preservacion-alimentos-peliculas-comestibles-lia-gerschenson-silvia-flores>
- [13] M. Bahram, N. Mohseni, y M. Moghtader, «An Introduction to Hydrogels and Some Recent Applications», en *Emerging Concepts in Analysis and Applications of Hydrogels*, InTech, 2016. doi: 10.5772/64301.

- [14] N. G. Burciaga-Montemayor, J. A. Claudio-Rizo, L. F. Cano-Salazar, A. Martínez-Luévanos, y P. Vega-Sánchez, «Compósitos en estado hidrogel con aplicación en la adsorción de metales pesados presentes en aguas residuales», *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 23, mar. 2020, doi: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.211.
- [15] P. Narasimman y P. Sethuraman, «AN OVERVIEW ON THE FUNDAMENTALS OF PECTIN.», *Int J Adv Res (Indore)*, vol. 4, n.º 12, pp. 1855-1860, dic. 2016, doi: 10.21474/IJAR01/2593.
- [16] C. Lárez, «Quitina y quitosano: materiales del pasado para el presente y el futuro», 2006. [En línea]. Disponible en: [www.saber.ula.ve/avancesenquimica](http://www.saber.ula.ve/avancesenquimica)
- [17] A. Stacey, «Elaboración de hidrogeles en base al entrecruzamiento entre pectina extraída de 3 frutas y quitosano para la liberación controlada de una proteína modelo», abr. 2019. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/>
- [18] C. González, «HIDROGELES PARA LA LIBERACIÓN SOSTENIDA DE FÁRMACOS», 2019. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://biblioteca.ucm.es/tesisdigitales>
- [19] C. Ramírez, «SISTEMAS PARENTERALES RECARGABLES PARA LA LIBERACIÓN SOSTENIDA DE FÁRMACOS», 2017, Accedido: 8 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://biblioteca.ucm.es/tesisdigitales>
- [20] A. Taboada *et al.*, «Protein free microcapsules obtained from plant spores as a model for drug delivery: Ibuprofen encapsulation, release and taste masking», *J Mater Chem B*, vol. 1, n.º 5, pp. 707-713, feb. 2013, doi: 10.1039/c2tb00228k.
- [21] J. García *et al.*, «Recubrimiento de microesferas de quitosana-ibuprofeno con un complejo interpolimérico pH dependiente Coating of chitosan-Ibuprofen

- microspheres with a pH-depending interpolymer complex», 2014. [En línea].  
Disponibile en: <http://scielo.sld.cu>
- [22] A. C. Daly, L. Riley, T. Segura, y J. A. Burdick, «Hydrogel microparticles for biomedical applications», *Nature Reviews Materials*, vol. 5, n.º 1. Nature Research, pp. 20-43, 1 de enero de 2020. doi: 10.1038/s41578-019-0148-6.
- [23] Y. Wang, P. Li, T. T. D. Tran, J. Zhang, y L. Kong, «Manufacturing techniques and surface engineering of polymer based nanoparticles for targeted drug delivery to cancer», *Nanomaterials*, vol. 6, n.º 2, feb. 2016, doi: 10.3390/nano6020026.
- [24] L. Uhljar, S. Kan, N. Radacsi, V. Koutsos, P. Szabó-Révész, y R. Ambrus, «In vitro drug release, permeability and structural test of ciprofloxacin-loaded nanofibers», *Pharmaceutics*, vol. 13, 2021, doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040556>.
- [25] G. M. Khan y J.-B. Zhu, «Studies on drug release kinetics from ibuprofen-carbomer hydrophilic matrix tablets: influence of co-excipients on release rate of the drug», 1999. doi: doi:10.1016/s0168-3659(98)00122-9.
- [26] K. Calvopiña, «Parches a base de mecanogel de quitosano y pectina con potencial aplicación en la encapsulación y administración transdermal de fármacos», 2022. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.usfq.edu.ec/>
- [27] E. J. W. Van Someren, «Age-Related changes in thermoreception and thermoregulation», en *Handbook of the Biology of Aging*, Elsevier Inc., 2011, pp. 463-478. doi: 10.1016/B978-0-12-378638-8.00022-1.

- [28] G. C. Patel y S. A. Joshi, «Targeting aspects of hydrogels in drug delivery», en *Biomedical Applications of Nanoparticles*, Elsevier, 2019, pp. 195-231. doi: 10.1016/B978-0-12-816506-5.00010-3.
- [29] N. Ventosa, J. Veciana, M. Cano, y S. Sala, «Procedimiento para la obtención de micro- o nanopartículas sólidas», Madrid, 2010.
- [30] S. F. Yap, M. Adams, J. Seville, y Z. Zhang, «UNDERSTANDING THE MECHANICAL PROPERTIES OF SINGLE MICRO-PARTICLES AND THEIR COMPACTION BEHAVIOUR», 2006.
- [31] L. Melgoza, X. Espinosa, A. Hernández, J. Ruis, y N. Venteño, «Influencia del tamaño de partícula en la estimación del umbral de percolación en comprimidos matriciales inertes elaborados en prensa hidráulica y tableteadora excéntrica», vol. 36, 2005, [En línea]. Disponible en:  
<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57936402>
- [32] R. Márquez, «APROVECHAMIENTO TECNOLÓGICO DE LA CERA DE ABEJA PARA LA OBTENCIÓN DE PRODUCTOS SINTÉTICOS ORGÁNICOS, NO TÓXICOS PARA EL SER HUMANO», 2015. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <http://www.saber.ula.ve/>
- [33] D. Toribio, «HIDROGELES BASADOS EN POLISCÁRIDOS PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS», Bilbao. Accedido: 1 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en:  
[https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/54031/TFM\\_DAVID\\_TORIBIO\\_RUIZ.pdf?sequence=3](https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/54031/TFM_DAVID_TORIBIO_RUIZ.pdf?sequence=3)
- [34] F. Palomo, «Modulación de las propiedades mecánicas de hidrogeles», Zaragoza, 2016. Accedido: 3 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en:  
<http://hdl.handle.net/10261/149636>

- [35] Y. Zhan, W. Fu, Y. Xing, X. Ma, y C. Chen, «Advances in versatile anti-swelling polymer hydrogels», *Materials Science and Engineering C*, vol. 127. Elsevier Ltd, 1 de agosto de 2021. doi: 10.1016/j.msec.2021.112208.
- [36] M. Dziadek *et al.*, «Newly crosslinked chitosan- and chitosan-pectin-based hydrogels with high antioxidant and potential anticancer activity», *Carbohydr Polym*, vol. 290, ago. 2022, doi: 10.1016/j.carbpol.2022.119486.
- [37] M. C. Koetting, J. F. Guido, M. Gupta, A. Zhang, y N. A. Peppas, «PH-responsive and enzymatically-responsive hydrogel microparticles for the oral delivery of therapeutic proteins: Effects of protein size, crosslinking density, and hydrogel degradation on protein delivery», *Journal of Controlled Release*, vol. 221, pp. 18-25, ene. 2016, doi: 10.1016/j.jconrel.2015.11.023.
- [38] M. A. López-Mata, R. G. Valdez-Melchor, L. Quihui-Cota, y P. S. Osuna-Amarillas, «Recubrimientos para heridas con Aloe-gel combinado con alginato, pectina y quitosano: aplicaciones in vivo», *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*, vol. 23, dic. 2020, doi: 10.22201/fesz.23958723e.2020.0.279.
- [39] S. Cuesta y L. Meneses, «CARACTERIZACIÓN POR ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA DE LOS PRODUCTOS INTERMEDIOS EN LA RUTA SINTÉTICA DE IBUPROFENO», nov. 2015. Accedido: 6 de mayo de 2023. [En línea]. Disponible en: <http://investigaciones.puce.edu.ec/handle/23000/750>
- [40] B. Hastuti y S. Hadi, «Synthesis and Characterization of Pectin-Chitosan as Candidate Materials for Slow Release System», en *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, Institute of Physics Publishing, oct. 2019. doi: 10.1088/1757-899X/617/1/012002.

- [41] G. Acharya *et al.*, «The hydrogel template method for fabrication of homogeneous nano/microparticles», *Journal of Controlled Release*, vol. 141, n.º 3, pp. 314-319, feb. 2010, doi: 10.1016/j.jconrel.2009.09.032.
- [42] H. Carrêlo, P. I. P. Soares, J. P. Borges, y M. T. Cidade, «Injectable composite systems based on microparticles in hydrogels for bioactive cargo controlled delivery», *Gels*, vol. 7, n.º 3. MDPI, 1 de septiembre de 2021. doi: 10.3390/gels7030147.

## 6. ANEXO A: PROTOCOLO DE ELABORACIÓN DE MICROPARTÍCULAS

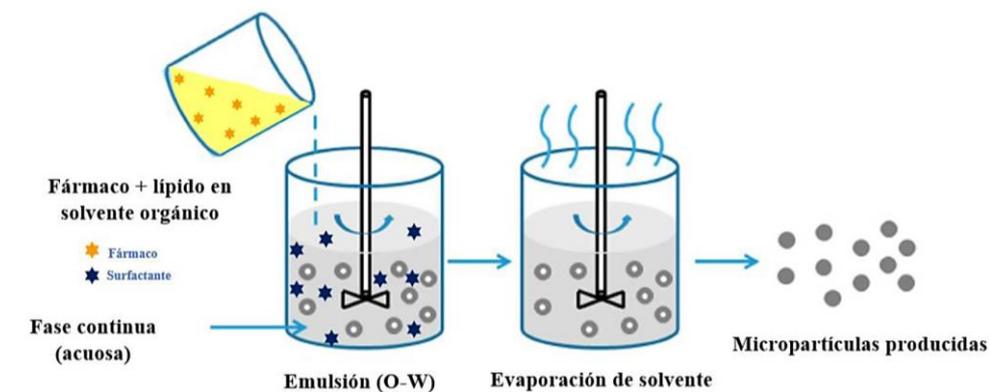


Figura 12. Elaboración de micropartículas por método emulsión- evaporación de solvente[23].

## 7. ANEXO B: CURVA DE CALIBRACIÓN DE IBUPROFENO

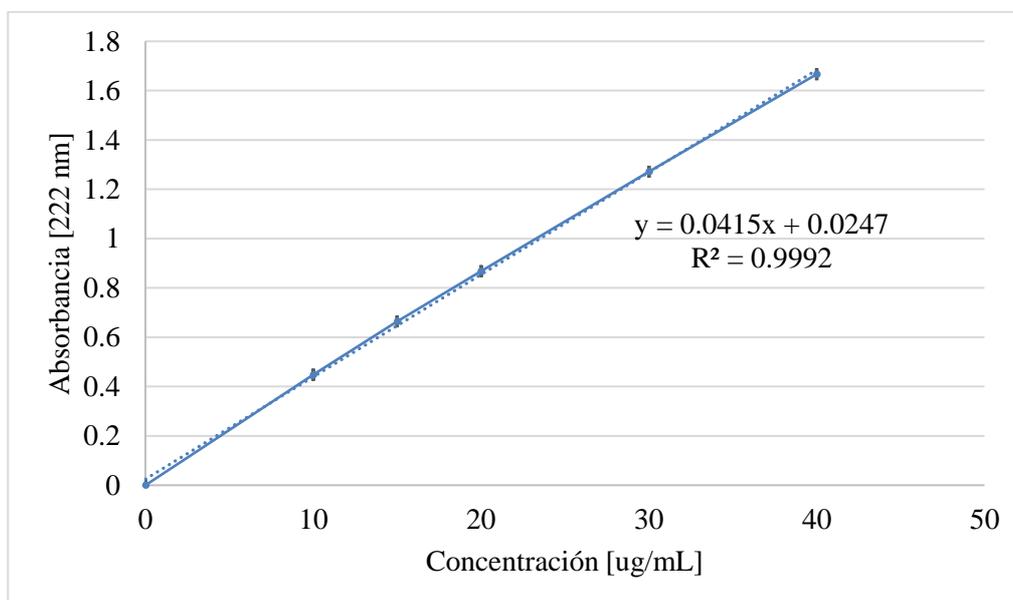


Figura 13. Curva de calibración de ibuprofeno en PBS 1X.

## 8. ANEXO C: PROTOCOLO DE ELABORACIÓN DE HIDROGELES

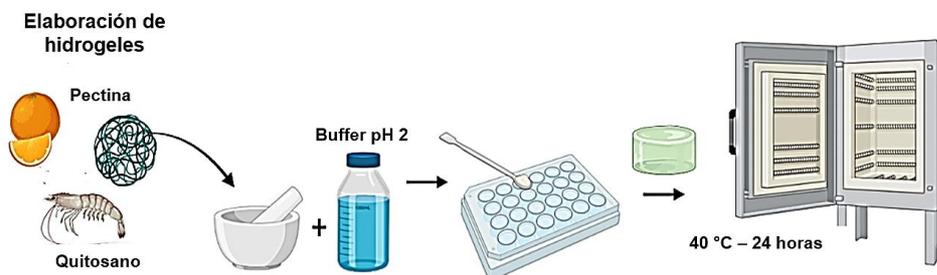


Figura 14. Elaboración de hidrogeles con tratamiento mecánico [26].

## 9. ANEXO D: ANÁLISIS DE TAMAÑO DE MICROPARTÍCULAS

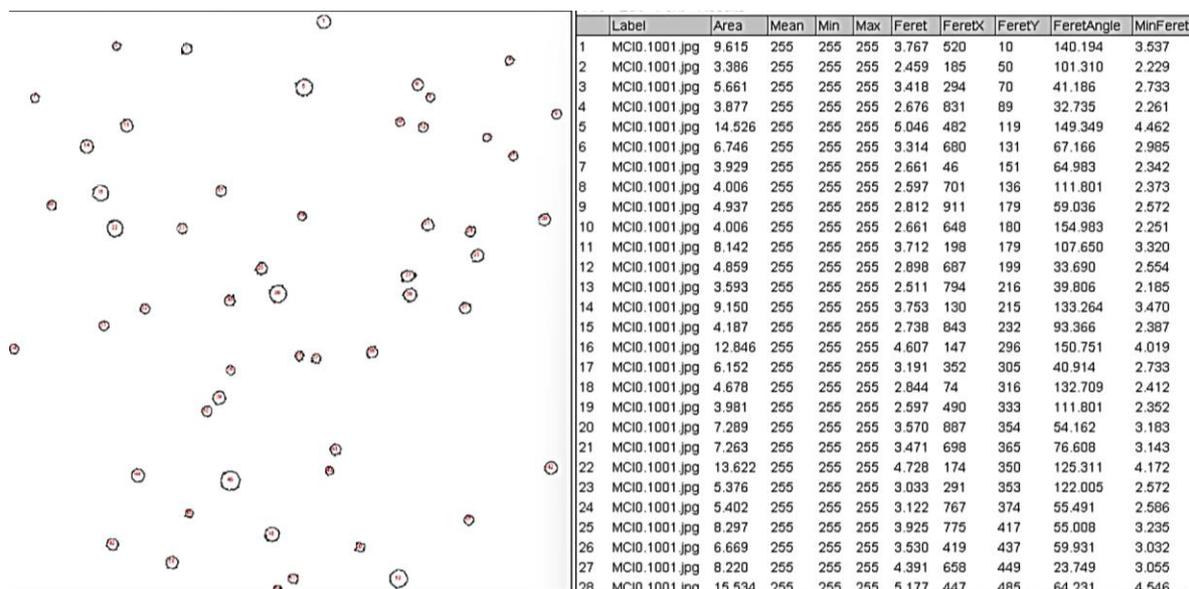


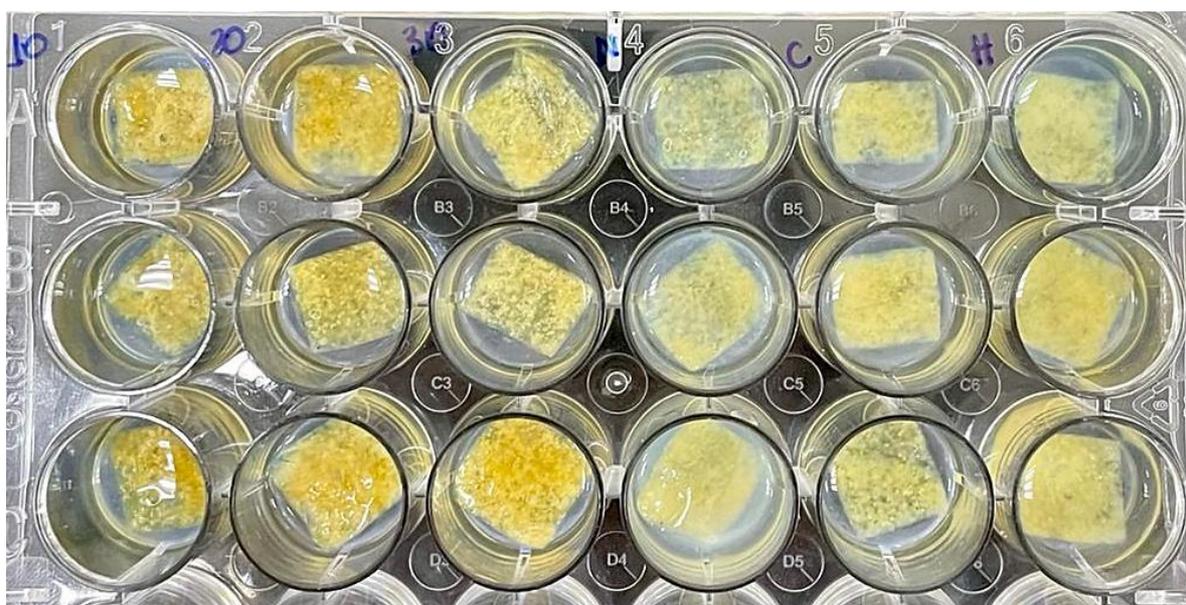
Figura 15. Análisis de micropartículas de cera de abeja con ibuprofeno con el software ImageJ.

## 10. ANEXO E: PARCHE SIN TRATAMIENTO MECÁNICO DEGRADADO



*Figura 16. Parche sin tratamiento mecánico sometido a prueba de hinchamiento por 48 horas en PBS 1X a 37°C.*

## 11. ANEXO F: PARCHES EN PRUEBA DE HINCHAMIENTO



*Figura 17. Pruebas de hinchamiento en parches con tratamiento mecánico a 10%, 5% y 3.33% p/v de polímero buffer y parches sin tratamiento mecánico con distintos protocolos de elaboración: mezcla manual normal, mezcla manual con calor, mezcla con homogeneizador.*

## 12. ANEXO G: ESPECTROS FTIR DE PECTINA Y QUITOSANO SIN TRATAMIENTO MECÁNICO

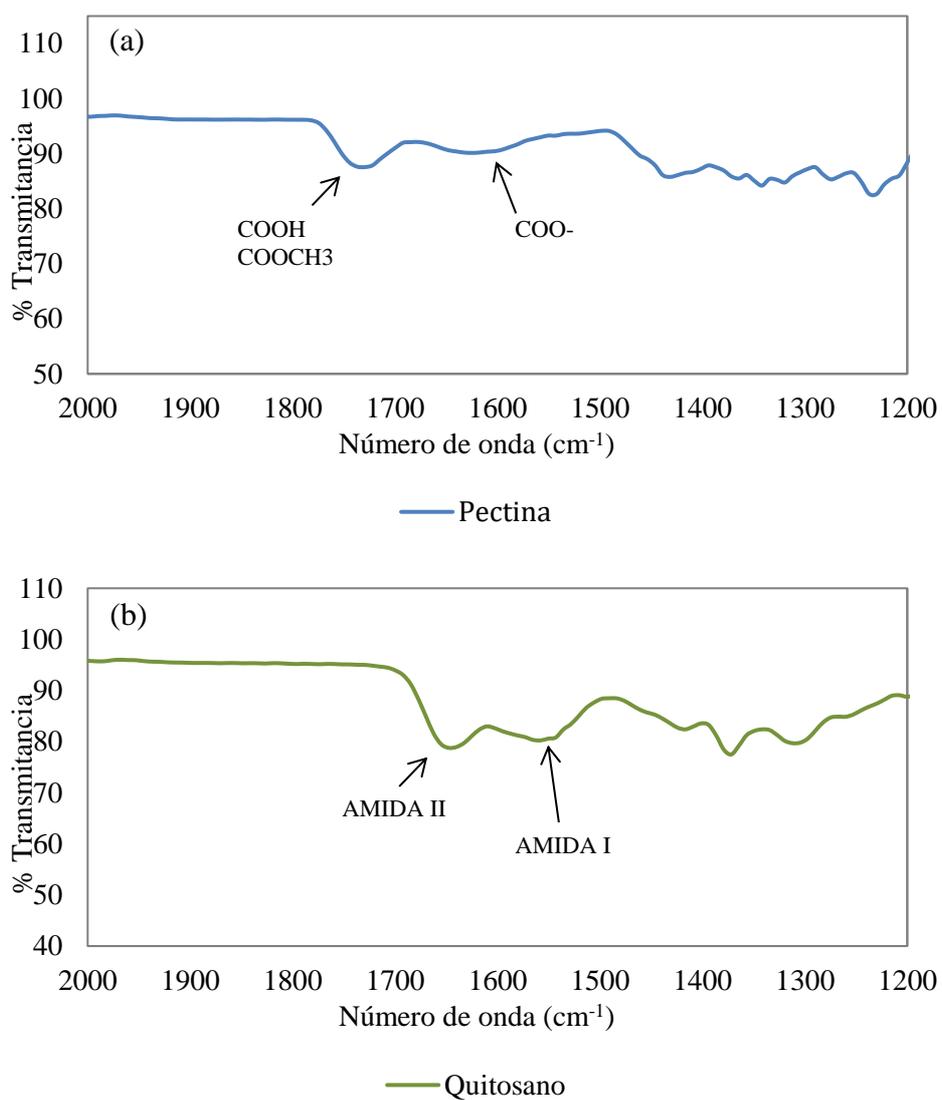
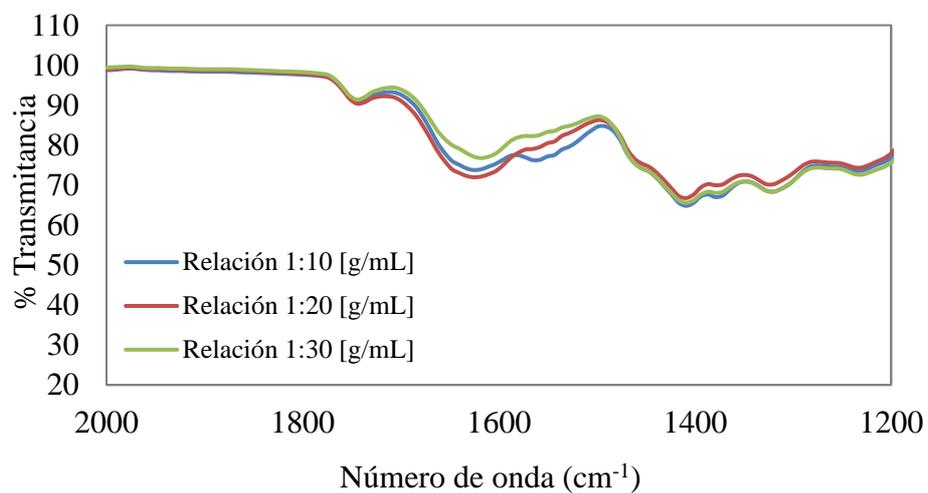


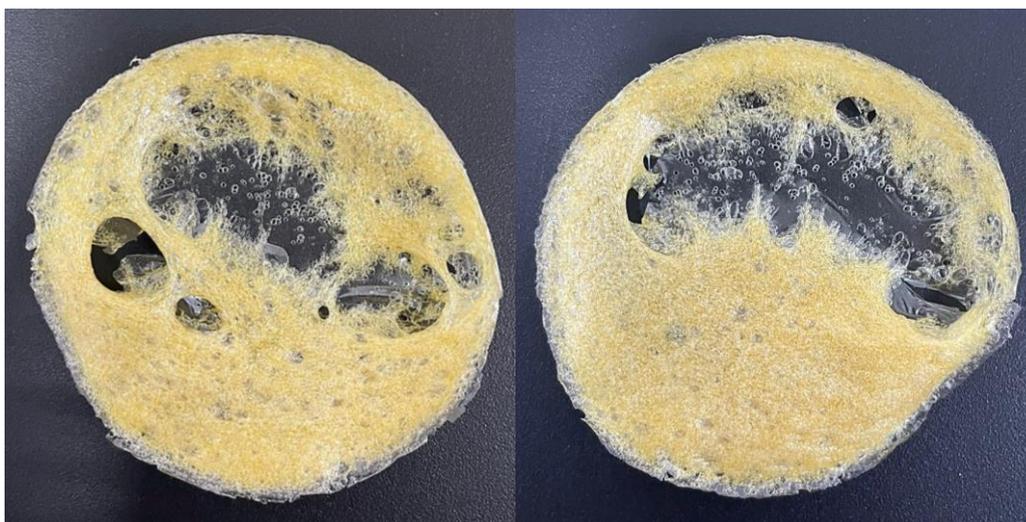
Figura 18. Espectros FTIR de diferentes polímeros como (a) Pectina sin tratamiento mecánico y (b) Quitosano sin tratamiento mecánico

### 13. ANEXO H: ESPECTROS FTIR DE PARCHES CON DISTINTAS RELACIONES POLIMÉRICAS



*Ilustración 19. Espectros FTIR de parches con tratamiento mecánico a diferentes relaciones poliméricas: 10%, 5% y 3.33% p/v.*

### 14. ANEXO I: INSERCIÓN DIRECTA DE IBUPROFENO EN PARCHES DE HIDROGEL



*Figura 20. Parches no formados de pectina y quitosano con ibuprofeno añadido por el método de inserción directa.*

## 15. ANEXO K: HINCHAMIENTO DE PARCHES PARA DIFERENTES PROTOCOLOS.

Análisis de varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Protocolo	2	10024	5011.9	15.50	0.000
T	7	15141	2163.1	6.69	0.000
Protocolo*T	14	6984	498.8	1.54	0.132
Error	48	15520	323.3		
Total	71	47669			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
17.9816	67.44%	51.84%	26.74%

Método de Tukey una confianza de 95% para diferentes protocolos

Protocolo	N	Mean	Grouping
Original	24	236.029	A
Calor	24	212.900	B
Homogeneizador	24	209.456	B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## 16. ANEXO L: HINCHAMIENTO DE PARCHES CON DISTINTAS RELACIONES POLIMÉRICAS.

Análisis de varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
T	7	12382	1768.80	34.54	0.000
Relacion Polimeros [%]	2	19498	9749.16	190.36	0.000
T*Relacion Polimeros [%]	14	1153	82.33	1.61	0.111
Error	48	2458	51.22		
Total	71	35491			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
7.15650	93.07%	89.75%	84.41%

Método de Tukey una confianza de 95% para diferentes relaciones poliméricas

Relación Polimérica [%]	N	Mean	Grouping		
10.00	24	152.978	A		
5.00	24	132.250		B	
3.33	24	112.674			C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## 17. ANEXO M: HINCHAMIENTO DE PARCHES CON DISTINTOS

### TRATAMIENTOS

Análisis de varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tratamiento	1	112401	112401	293.07	0.000
T	7	10035	1434	3.74	0.005
Tratamiento*T	7	2276	325	0.85	0.557
Error	32	12273	384		
Total	47	136984			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
19.5839	91.04%	86.84%	79.84%

Método de Tukey una confianza de 95% para diferentes tratamientos

Tratamiento	N	Mean	Grouping	
Sin tratamiento mecanico	24	209.456	A	
Con tratamiento mecanico	24	112.674		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## 18. ANEXO N: LIBERACIÓN DE IBUPROFENO EN LOS SISTEMAS

### INDIVIDUALES

Análisis de varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
T	7	10313	1473.4	10.34	0.000
Sistema	2	18157	9078.7	63.69	0.000
T*Sistema	14	10631	759.4	5.33	0.000
Error	40	5701	142.5		
Total	63	45033			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
11.9389	87.34%	80.06%	68.62%

Método de Tukey una confianza de 95% para diferentes sistemas

Sistema	N	Mean	Grouping
Microparticulas	24	98.7238	A
Hidrogel	16	96.0637	A

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## 19. ANEXO O: LIBERACIÓN DE IBUPROFENO EN PARCHES CON MICROPARTÍCULAS

Análisis de varianza

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
T	7	106699	15242.7	2050.35	0.000
CantMicrop	3	20814	6937.8	933.23	0.000
T*CantMicrop	21	10968	522.3	70.25	0.000
Error	64	476	7.4		
Total	95	138956			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
2.72658	99.66%	99.49%	99.23%

Método de Tukey una confianza de 95% para cantidades de micropartículas insertadas.

CantMicrop	N	Mean	Grouping
3 mg	24	62.9327	A
4 mg	24	45.6318	B
2 mg	24	44.0304	B
1.053 mg	24	21.4824	C

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey una confianza de 95% para liberación vs tiempo.

<b>T</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>Grouping</b>							
48.0	12	100.000	A							
24.0	12	90.166		B						
5.0	12	56.206			C					
4.0	12	36.580				D				
3.0	12	30.446					E			
2.0	12	18.944						F		
1.0	12	9.474								G
0.5	12	6.337								G

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

## 20. ANEXO P: LIBERACIÓN DE IBUPROFENO EN LOS TRES SISTEMAS

Análisis de varianza

<b>Source</b>	<b>DF</b>	<b>Adj SS</b>	<b>Adj MS</b>	<b>F-Value</b>	<b>P-Value</b>
T	7	10313	1473.4	10.34	0.000
Sistema	2	18157	9078.7	63.69	0.000
T*Sistema	14	10631	759.4	5.33	0.000
Error	40	5701	142.5		
Total	63	45033			

Los datos resaltados no se incluyen en Tukey porque no son significativos ( $P > 0.05$ ).

Resumen del modelo

<b>S</b>	<b>R-sq</b>	<b>R-sq(adj)</b>	<b>R-sq(pred)</b>
11.9389	87.34%	80.06%	68.62%

Método de Tukey una confianza de 95% para los sistemas de encapsulación de fármaco.

<b>Sistema</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>Grouping</b>	
Microparticulas	24	98.7238	A	
Hidrogel	16	96.0637	A	
Combinacion	24	62.9327		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

Método de Tukey una confianza de 95% para liberación en cada sistema vs tiempo.

<b>T*Sistema</b>	<b>N</b>	<b>Mean</b>	<b>Grouping</b>						
1.0 Microparticulas	3	110.964	A						
1.0 Hidrogel	2	109.614	A						
4.0 Hidrogel	2	108.975	A						
3.0 Hidrogel	2	108.129	A						
4.0 Microparticulas	3	102.114	A						
5.0 Microparticulas	3	101.963	A	B					
2.0 Hidrogel	2	101.498	A	B					
48.0 Combinacion	3	100.000	A	B					
48.0 Microparticulas	3	100.000	A	B					
48.0 Hidrogel	2	100.000	A	B					
3.0 Microparticulas	3	99.539	A	B					
24.0 Combinacion	3	96.526	A	B					
2.0 Microparticulas	3	96.227	A	B					
5.0 Hidrogel	2	94.115	A	B	C				
24.0 Hidrogel	2	93.549	A	B	C				
24.0 Microparticulas	3	93.229	A	B	C				
0.5 Microparticulas	3	85.755	A	B	C				
5.0 Combinacion	3	76.372	A	B	C	D			
4.0 Combinacion	3	64.121		B	C	D	E		
3.0 Combinacion	3	57.256			C	D	E	F	
0.5 Hidrogel	2	52.630			C	D	E	F	
2.0 Combinacion	3	46.501				D	E	F	
1.0 Combinacion	3	37.338					E	F	
0.5 Combinacion	3	25.349						F	

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.