



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA

Evaluación de la capacidad de liberación de colorante a partir de nanopartículas del Copolímero de ácido láctico y glicólico (PLGA)

Paula Andrea Betes Sevillano

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental
Bogotá, Colombia
2022

Evaluación de la capacidad de liberación de colorante a partir de nanopartículas del Copolímero de ácido láctico y glicólico (PLGA)

Paula Andrea Betes Sevillano

Tesis o trabajo de investigación presentada(o) como requisito parcial para optar al título de:

Indicar el título que se obtendrá. Magister en Ingeniería Química

Director (a):

Ph.D. Ruth Janneth Lancheros Salas

Línea de Investigación: Nanomateriales

Nombrar la línea de investigación en la que se enmarca la tesis o trabajo de investigación

Grupo de Investigación:

Grupo de investigación de Proceso Químicos y Bioquímicos

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Ambiental

Bogotá, Colombia

2022

(Dedicatoria o lema)

A Dios, que es mi fortaleza, a la Santísima Virgen, mi abuelo que desde el cielo siempre me acompaña, mi madre que está conmigo en cada paso, mi esposo, mi abuela, a cada uno de los miembros de mi familia, y amigos que me han apoyado en todo este proceso.

Declaración de obra original

Yo declaro lo siguiente:

He leído el Acuerdo 035 de 2003 del Consejo Académico de la Universidad Nacional. «Reglamento sobre propiedad intelectual» y la Normatividad Nacional relacionada al respeto de los derechos de autor. Esta disertación representa mi trabajo original, excepto donde he reconocido las ideas, las palabras, o materiales de otros autores.

Cuando se han presentado ideas o palabras de otros autores en esta disertación, he realizado su respectivo reconocimiento aplicando correctamente los esquemas de citas y referencias bibliográficas en el estilo requerido.

He obtenido el permiso del autor o editor para incluir cualquier material con derechos de autor (por ejemplo, tablas, figuras, instrumentos de encuesta o grandes porciones de texto).

Por último, he sometido esta disertación a la herramienta de integridad académica, definida por la universidad.

Paula Andrea Betes Sevillano

Fecha 23/08/2022

Agradecimientos

Universidad Nacional de Colombia por la financiación de este proyecto mediante la convocatoria para el apoyo proyectos de investigación y creación artística de la sede Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia proyecto Hermes 202010027263

Al Departamento de Ingeniería Química y Ambiental, por el apoyo para desarrollar y permitir el uso de los laboratorios

Doctora Ruth Lancheros, directora de este trabajo de grado, por todo el apoyo y orientación para el desarrollo de la investigación.

Doctor Juan Carlos Serrato por facilitar un espacio en el laboratorio y uso de equipos para la obtención de resultados

Doctor Mario Velásquez y la doctora Margareth Patiño, por su colaboración en el laboratorio de bioprocesos con el uso del liofilizador

A el operario Ricardo Cortez, por su asistencia con préstamos de equipos y material de laboratorios y colaboración en todo momento requerido

Resumen

Evaluación de la capacidad de liberación de colorante a partir de nanopartículas del Copolímero de ácido láctico y glicólico (PLGA)

En el presente trabajo se fabricaron nanopartículas por nanoprecipitación, usando PLGA, que ha sido estudiado para su uso en la liberación controlada de principios activos. El objetivo de esta investigación fue analizar la afectación del peso molecular del polímero (PESO MOLECULAR 7-17 kDa , PESO MOLECULAR 38-54 kDa) y la variación solvente - no solvente sobre el tamaño de partícula y el perfil de liberación en aceite mineral (poco estudiado), estas variables son relevantes ya que la aplicación que se dé a las nanopartículas fabricadas dependerá de esto. Empleando la concentración inicial de 1,0 mg/ ml del colorante Oil red O establecido en esta investigación por obtener el menor tamaño de partícula ($298,23 \pm 0,76$ nm) y la mayor eficiencia de encapsulación de ($5,65 \pm 0,11$ %) , respecto a las concentraciones estudiadas de 0,2 mg/ml a 1,0 mg/ml.

Con la concentración inicial fija de colorante se hizo la variación del peso molecular y de las posibles combinaciones binarias entre solvente - no solvente donde se observó que el incremento en el peso molecular aumenta la distribución de tamaño de partícula y la eficiencia de encapsulamiento. Los perfiles de liberación que se realizaron en medio oleoso presentan un perfil bifásico con una liberación rápida antes de las primeras 24h y posterior a esto una etapa de estabilización la cual es levemente afectada por la mezcla solvente no solvente, el tamaño de la partícula y la eficiencia de encapsulamiento, concluyendo que los factores estudiados afectan las variables respuesta.

Palabras claves: nanopartículas PLGA, nanoprecipitación, tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación, perfil de liberación.

Abstract

Evaluation of dye release capacity from lactic acid-glycolic acid copolymer (PLGA) nanoparticles

In the present work, nanoparticles were manufactured by nanoprecipitation, using PLGA, which has been studied for its use in the controlled release of active ingredients. The objective of this research was to analyze the affectation of the molecular weight of the polymer (molecular weight 7-17 kDa, molecular weight 38-54 kDa) and the solvent – non solvent variation on the particle size and the release profile in mineral oil (little studied) these variables are relevant since the application given to the produced nanoparticles came from this. Using the initial concentration of 1.0 mg/ml of the Oil red O dye that obtained the smallest particle size of 298.23 ± 0.76 nm and the highest encapsulation efficiency of $5.65 \pm 0.11\%$, compared to the concentrations studied from 0.2 mg/ml to 1.0 mg/ml

With the initial fixed concentration of dye, the variation of the molecular weight and of the possible binary combinations between solvent - non-solvent was made, where it was shown that the increase in molecular weight increases the particle size distribution and the encapsulation efficiency. The release profiles performed in oily medium present a biphasic profile with a fast release before the first 24h and after that a stabilization stage which is little affected by the non-solvent - solvent mixture, the particle size and the encapsulation efficiency, concluding that the studied factors affect the response variables.

Keywords: PLGA nanoparticles, nanoprecipitation, particle size, encapsulation efficiency, release profile

Contenido

AGRADECIMIENTOS	5
Abstract.....	7
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE TABLAS	14
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	16

2. OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo General	21
2.2 Objetivo Especifico.....	21
3. MARCO TEÓRICO	23
3.1 Vehículos de transporte	23
3.1.1 Nanopartículas	24
3.1.2 Ventajas y desventajas de los diferentes vehículos.....	25
3.2 Materiales poliméricos para fabricación de nanopartículas	27
3.2.1 Polímeros de origen Natural.....	29
3.2.2 Polímeros de origen Sintético.....	30
3.2.3 Ácido poli láctico co glicólico (PLGA).....	31
3.3 Métodos de elaboración de nanopartículas.....	36
3.3.1 Emulsión	36
3.3.2 Emulsión evaporación	36
3.3.3 Doble emulsión	36
3.3.4 Spray Drying	37
3.3.5 Nanoprecipitación	37
3.4 Efecto de la variación de parámetros en el tamaño de partícula	40
3.5 Mecanismos de liberación	41
3.5.1 Difusión a través de poros llenos de agua.....	41
3.5.2 Difusión a través del polímero	42
3.5.3 Disolución del polímero encapsulante	42
3.5.4 Caracterización de nanopartículas	42
4. METODOLOGÍA	46
4.1 Materiales	46
4.2 Diseño experimental.....	46
4.3 Elaboración de nanopartículas por método de nanoprecipitación	49
4.4 Selección de concentración inicial de colorante.....	50
4.5 Determinación del tamaño de partícula e índice de polidispersidad	50
4.6 Eficiencia de la encapsulación (%).....	51

4.7	Perfil de liberación.....	51
4.8	Morfología de las partículas.....	52
5.	RESULTADOS	54
5.1	Concentración inicial de colorante.....	54
5.2	Influencia del solvente	58
5.2.1	Dimetil sulfoxido (DMSO)	58
5.2.1.1	Distribución de tamaño de partícula.....	59
5.2.1.2	Porcentaje de eficiencia de encapsulamiento de colorante en la partícula....	60
5.2.1.3	Perfil de liberación	61
5.2.2	Acetona.....	65
5.2.2.1	Distribución de tamaño de partícula.....	¡Error! Marcador no definido.
5.2.2.2	Porcentaje de eficiencia de encapsulamiento de colorante en la partícula....	67
5.2.2.3	Perfil de liberación	68
5.2.3	Diclorometano	70
5.2.3.1	Distribución de tamaño de partícula.....	71
5.2.3.2	Porcentaje de eficiencia de encapsulacion	72
5.2.3.1	Perfil de liberación	73
5.2.4	Dioxano.....	75
5.2.4.1	Distribución de tamaño de partícula.....	75
5.2.4.1	Porcentaje de eficiencia de encapsulación	77
5.2.4.1	Perfil de liberación	78
5.3	Cinéticas de liberación	81
5.4	Morfología de las partículas.....	86
	CONCLUSIONES	88
	RECOMENDACIONES	90
	BIBLIOGRAFÍA	91
	Anexos	101
	Curvas de calibración	101
	Datos experimentales	104

Lista de Figuras

<i>Figura 1</i> Esquema nanocapsula (izquierda) nanoesfera (derecha) [18].....	25
<i>Figura 2</i> Estructura del polímero PLGA	31
<i>Figura 3</i> Tiempo de degradación de PLGA según relación [18].....	32
<i>Figura 4</i> Hidrólisis de nanopartículas PLGA en ácido láctico y ácido glicólico [5]	32
<i>Figura 5</i> Proceso de elaboración de nanopartículas de PLGA por nanoprecipitación	49
<i>Figura 6</i> Metodología determinación de tamaño de partícula promedio mediante DLS ..	50
<i>Figura 7</i> Metodología porcentaje de eficiencia de encapsulación	51

<i>Figura 8 Metodología para obtener el perfil de liberación en medio oleoso con nanopartículas de PLGA</i>	52
<i>Figura 9 Eficiencia de encapsulación (%) de colorante Oil Red O en nanopartículas de PLGA (50:50) a diferentes concentraciones iniciales de colorante</i>	55
<i>Figura 10 Tamaño promedio de partícula de PLGA a diferentes concentraciones de colorante por DLS</i>	56
<i>Figura 11 Superficie de respuesta concentración (mg/ml) vs distribución de tamaño (nm) vs % de encapsulación de partículas de PLGA a diferentes concentraciones de Oil Red O</i>	56
<i>Figura 12 Distribución de tamaño de partícula con solvente DMSO A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	60
<i>Figura 13 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente DMSO A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	61
<i>Figura 14 Perfil de liberación de oil red O con solvente DMSO empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h.....</i>	63
<i>Figura 15 Perfil de liberación de oil red O con solvente DMSO empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h.....</i>	65
<i>Figura 16 Distribución de tamaño de partícula con solvente Acetona A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa</i>	66
<i>Figura 17 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente Acetona A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	67
<i>Figura 18 Perfil de liberación de oil red O con solvente acetona empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h.....</i>	69
<i>Figura 19 Perfil de liberación de oil red O con solvente acetona empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h.....</i>	70
<i>Figura 20 Distribución de tamaño de partícula con solvente diclorometano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	72

<i>Figura 21 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente diclorometano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	<i>73</i>
<i>Figura 22 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h</i>	<i>74</i>
<i>Figura 23 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-52 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h</i>	<i>75</i>
<i>Figura 24 Distribución de tamaño de partícula con solvente dioxano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa</i>	<i>76</i>
<i>Figura 25 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente dioxano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa.....</i>	<i>77</i>
<i>Figura 26 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h</i>	<i>79</i>
<i>Figura 27 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h</i>	<i>81</i>
<i>Figura 28 Micrografía SEM A) agua-DMSO peso molecular 7-17 KDa. B) agua – DMSO peso molecular 38- 54 KDa, C) etanol – DMSO peso molecular 7-17 KDa, D) etanol-DMSO peso molecular 38-54 KDa, E) propilenglicol -DMSO peso molecular 7-17 KDa, F) propilenglicol – DMSO peso molecular 38-54 KDa</i>	<i>87</i>
<i>Figura 29 Curva de calibración colorante oil red o disuelto en DMSO</i>	<i>101</i>
<i>Figura 30 Curva de calibración Colorante oil red o disuelto en aceite mineral</i>	<i>102</i>

Lista de Tablas

<i>Tabla 1 Ventajas y desventajas de vehículos para transporte de fármacos.....</i>	<i>25</i>
<i>Tabla 2 Fármacos presentes en el mercado con aprobación de la FDA empleando micro o nanopartículas de PLGA[51].....</i>	<i>34</i>
<i>Tabla 3 Ventajas y desventajas de algunos métodos de elaboración de partículas de PLGA [56] [57].....</i>	<i>38</i>
<i>Tabla 4 Afectación de tamaño de nanopartícula de PLGA como respuesta a la variación de parámetros[58-61].</i>	<i>40</i>
<i>Tabla 5 Métodos de caracterización de tamaño de partícula [65].....</i>	<i>43</i>

<i>Tabla 6 Combinación de solvente no solvente con polímero PLGA de PESO MOLECULAR 7-17 kDa.....</i>	<i>47</i>
<i>Tabla 7 Combinación de solvente no solvente con polímero PLGA de PESO MOLECULAR 38-54 kDa.....</i>	<i>48</i>
<i>Tabla 8 Cinéticas de liberación en medio oleoso de colorante Oil red O encapsulado en partículas de PLGA con PESO MOLECULAR 7-17 kDa.....</i>	<i>84</i>
<i>Tabla 9 Cinéticas de liberación en medio oleoso de colorante Oil red O encapsulado en partículas de PLGA con PESO MOLECULAR 38-54 kDa.....</i>	<i>85</i>
<i>Tabla 10 Datos de concentración experimental a diferentes concentraciones de colorante oil red O.....</i>	<i>103</i>
<i>Tabla 11 Distribución de tamaño a diferentes concentraciones de colorante oil red O (datos experimentales).....</i>	<i>104</i>
<i>Tabla 12 % de eficiencia de encapsulación de colorante Oil red O a diferentes concentraciones (datos experimentales).....</i>	<i>104</i>
<i>Tabla 13 Distribución de tamaño de partícula con PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales).....</i>	<i>105</i>
<i>Tabla 14 % de eficiencia de encapsulación PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales).....</i>	<i>105</i>
<i>Tabla 15 Perfil de liberación de colorante PLGA peso molecular 7-17(datos experimentales).....</i>	<i>106</i>
<i>Tabla 16 Velocidades de liberación con PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales).....</i>	<i>107</i>
<i>Tabla 17 Distribución de tamaño de partículas con PLGA peso molecular 38-54 kDa... 108</i>	<i>108</i>
<i>Tabla 18 Porcentaje de eficiencia de encapsulación con PLGA peso molecular 38-54 kDa.....</i>	<i>108</i>
<i>Tabla 19 Perfil de liberación de colorante oil red O con PLGA peso molecular 38-54kDa.....</i>	<i>109</i>
<i>Tabla 20 Velocidades de liberación de colorante oil red O con PLGA peso molecular 38-54 kDa.....</i>	<i>110</i>

Lista de Símbolos y Abreviaturas

Abreviatura	Término
PLGA	Copolímero de ácido láctico y glicólico
TP	Tamaño de partícula
PDI	Índice de polidispersidad
DMSO	Dimetil sulfoxido
PBS	Buffer de fosfatos con un pH de 7.3
FDA	Food and Drug Administration
EMA	Agencia Europea de Medicamentos

ϵ	Constante dieléctica
DLS	Dispersión de luz dinámica
mg/ml	Miligramo / mililitro
μm	Micrometro
PVA	Alcohol polivinílico

Introducción

A lo largo de la historia, la medicina ha tenido una evolución significativa perfeccionando diferentes tratamientos con la ayuda de nuevas tecnologías; actualmente se han realizado grandes avances en el área de la nanotecnología, con una amplia gama en aplicaciones médicas, entre ellas la liberación controlada de medicamentos, que cada vez adquiere una mayor relevancia; buscando prolongar el tiempo de dosis en el momento y lugar adecuado, minimizando efectos secundarios [1] empleando nanovehículos para el transporte de los principios activos de interés.

Ahora bien, uno de los nanovehículos más empleado por la industria farmacéutica son las nanopartículas [2], algunas de las ventajas que presentan las nanopartículas en la administración de fármacos son: el transporte de sustancias tanto hidrófilas como

hidrófobas, mayor estabilidad durante su periodo de almacenamiento, puede ser suministrado por diferentes rutas, debido a su tamaño logran penetrar microcapilares con mayor facilidad, entre otras; pero, también el uso de este tipo de vehículos, posee algunos inconvenientes como: la posibilidad de generar respuesta inmune produciendo reacciones alérgicas y su elevado costo [3]. Estos vehículos pueden ser fabricados de diferentes materiales como: cerámicos, metálicos, poliméricos y carbonosos [4].

En este contexto, se tiene que la selección del material a utilizar depende de diversos factores como: poder de atrapamiento, tiempo de retención, solubilidad y biodisponibilidad [5]. En la industria farmacéutica se utiliza en baja proporción polímeros de origen natural, como de: plantas, hongos o bacterias debido a que sus propiedades presentan variaciones; en cambio, se han desarrollado polímeros sintéticos que poseen propiedades que mejoran el transporte de medicamento y permite una mayor homogeneidad en las partículas obtenidas[6].

Así las cosas, un biopolímero sintético empleado para la elaboración de nanopartículas polimérica es el ácido polilactico co glicólico (PLGA), que ofrece ventajas como: biocompatibilidad , biodegradabilidad, se encuentra aprobado por la FDA y la EMA, brinda protección al fármaco contra a la degradación y la posibilidad de dirigirse a órganos o células específicas[7].

Ahora bien, para la fabricación de las nanopartículas de PLGA como vehículo de transporte de principios activos existen diferentes metodologías como: emulsión, doble emulsión, spray drying, nanoprecipitación, entre otras; todas tienen como factor común la importancia de poder controlar el tamaño de partícula, la encapsulación del principio activo, el mecanismo de liberación y conocer el perfil de liberación para estimar el comportamiento del producto encapsulado, en el caso de este estudio se usó la metodología de nanoprecipitación por las ventajas que ofrece, liberando colorante Oil red O .

De otra parte, existen diferentes investigaciones que reportan el comportamiento de liberación de un compuesto activo tanto hidrófilo como lipofílico liberados en medios fisiológicos como lo es PBS, agua, suero bovino y similares [8-10]. Dentro de la búsqueda bibliográfica realizada no se encontraron referencias que reportaran liberación en medios oleosos, es así como en el presente trabajo, se empleó un medio de este tipo, ya que el compuesto a liberar es de naturaleza hidrofóbica lo que permite que el mecanismo de liberación sea difusivo.

Estudios de este tipo son de particular importancia cuando se quieren emplear las nanopartículas en la liberación de compuestos activos como emulsiones oleosas, cremas cosméticas o medicamentos tópicos, encapsulamiento de quemadores de grasa para implantar en el tejido adiposo, tintes para el cabello, entre otras aplicaciones farmacológicas y cosmetológicas; en consecuencia, se hace necesario comprender el comportamiento de liberación del compuesto encapsulado en nanopartículas de PLGA en medios diferentes y parámetros de gran relevancia para su aplicación como: el tamaño de partícula y eficiencia de encapsulación los cuales se ven alterados por cambios en variables como el peso molecular del polímero y mezclas solvente - no solvente empleados por el método de nanoprecipitación.

Finalmente, el objetivo de este trabajo es determinar el efecto que tiene el peso molecular del polímero y la naturaleza solvente – no solvente en el tamaño de la partícula y en su perfil de liberación. De esta manera poder controlar la velocidad de liberación y el tamaño, a partir de las variables estudiadas.

A partir del comportamiento con el colorante Oil red O de naturaleza hidrofóbica en medio oleoso poco estudiado y que esta investigación tiene gran relevancia para futuras aplicaciones.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Encontrar una relación entre el tamaño de partícula y la cinética de liberación (usando un colorante como agente a liberar) a partir de nanopartículas del Copolímero de ácido láctico y glicólico (PLGA) producidas por el método de nanoprecipitación

2.2 Objetivo Especifico

- Determinar el efecto del peso molecular del Copolímero de PLGA sobre el perfil de liberación y el tamaño de partícula.
- Determinar la concentración de colorante que permita obtener un perfil de liberación donde se puedan distinguir las diferentes etapas de liberación.
- Determinar el efecto de la naturaleza del solvente y no solvente sobre el tamaño de partícula y el perfil de liberación para nanopartículas de PLGA que atrapen el colorante empleando el método de nanoprecipitación.

3.Marco Teórico

3.1 Vehículos de transporte

Se han desarrollado diferentes vehículos para el transporte de compuestos activos, en la nanotecnología se definen los nanovehículos como “una amplia gama de partículas de tamaño nanométrico que conducen a objetos coloidales que son capaces de entrar en células y tejidos y entregar una carga intracelular” [11], algunas de las ventajas que presentan estos sistemas es la liberación controlada y sostenida de los principios activos en un sitio específico minimizando efectos adversos, puede ser utilizado por diferentes rutas de administración y mejora la biodisponibilidad del fármaco.

Por esto, la industria farmacológica ha empleado diversos vehículos como: liposomas, dendrímeros, hidrogeles, micelas, nanopartículas entre otros. Adquiriendo relevancia en el mercado.

3.1.1 Nanopartículas

Las nanopartículas han adquirido gran relevancia en diversas áreas debido a la versatilidad que estas presentan para múltiples aplicaciones, las nanopartículas son definidas como material que posee una o más dimensiones periféricas con tres dimensiones externas a nano escala (1 a 1000 nm) [12]. Existen diferentes tipos de nanopartículas como:

Nanopartículas inorgánicas: Las nanopartículas inorgánicas pueden elaborarse de diferentes materiales como: metales, óxidos metálicos, sulfuros metálicos, sílice y alúmina, permitiendo producir nanoestructuras con diferentes tamaños y formas. Generalmente se pueden diseñar para evadir el sistema reticuloendotelial y la variación de porosidades pueden ayudar a proteger la carga molecular atrapada de la degradación o desnaturalización [13]

Nanopartículas poliméricas: Las nanopartículas poliméricas son partículas de tamaño inferior a 1 μm , elaboradas con materiales poliméricos de diferente naturaleza. [14]. En la década de los ochenta, las nanopartículas poliméricas se han aplicado como micelas en los sistemas de administración de medicamentos, estas nanopartículas pueden suministrar diferentes tipos de moléculas como fármacos, proteínas y ARN interferente corto. [15].

Las nanopartículas poliméricas pueden ser como partículas coloidales solidas entre 1 y 100 nm, empleando polímero de origen natural, sintéticas o semisintéticas, con propiedades biodegradables o no biodegradables [16], estas nanopartículas permiten ajustar características físicas y químicas según la necesidad [17].

Las nanopartículas poliméricas, se clasifican en: nanocapsulas y nanoesferas. Las nanocapsulas contienen el compuesto activo rodeado por una membrana polimérica, mientras que, en las nanoesferas el medicamento se encuentra adsorbido o inmerso dentro de la matriz polimérica. En ambos casos se puede presentar que el medicamento se encuentre atrapado dentro de la matriz polimérica o en la superficie de la misma [18, 19] [20].

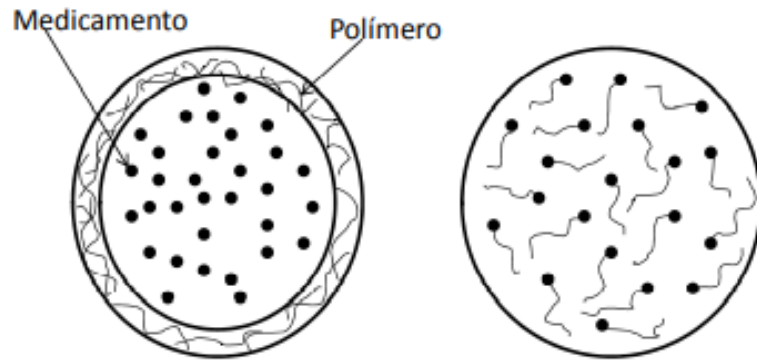


Figura 1 Esquema nanocapsula (izquierda) nanoesfera (derecha) [18]

3.1.2 Ventajas y desventajas de los diferentes vehículos

En la Tabla 1 se presentan algunas de las ventajas y desventajas que poseen los diferentes vehículos de transporte de compuestos activos mencionados anteriormente.

Tabla 1 Ventajas y desventajas de vehículos para transporte de fármacos

Vehículo	Ventajas	Desventajas	Referencia
Dendrímeros	<ul style="list-style-type: none"> Pueden unirse covalentemente a los compuestos activos Son macromoléculas estables 	<ul style="list-style-type: none"> Mayor costo de producción Requiere mayor control de calidad Transferencia del problema del 	<p>[21]</p> <p>[22]</p>

	<ul style="list-style-type: none"> • Alta capacidad de carga de fármacos • Pueden ser en diferentes tamaños, se pueden modificar para transportar ligandos en su superficie • Capacidad de asociarse con una gran cantidad de compuestos activos • Control de degradación del dendrímero 	laboratorio a la clínica	
Liposomas	<ul style="list-style-type: none"> • Pueden formar complejos con moléculas cargadas negativa y positivamente • Las membranas cargadas positivamente son impermeables a los cationes, mientras las cargas negativas son relativamente permeables a los aniones • Son osmóticamente sensibles • Son permeables al agua. • Pueden dirigirse a células o tejidos específicos. • Son capaces de atrapar medicamentos solubles en agua, pueden cargar medicamentos lipofílicos en las capas de lípidos 	<ul style="list-style-type: none"> • El costo de producción es alto • Fugas y fusión de fármacos encapsulados • A veces, el fosfolípido sufre oxidación y reacciones similares a la hidrólisis. • Corta vida media. • Baja solubilidad 	<p>[23]</p> <p>[24]</p> <p>[25]</p>

	para hacerlos dispersables en medio acuoso.		
Nanopartículas	<ul style="list-style-type: none"> • Las nanopartículas tienen un área de superficie más grande que permite mostrar una gran cantidad de grupos funcionales de superficie como ligandos. • Control sobre el tamaño y la distribución del tamaño. • Alta capacidad de carga de compuesto activa • Las nanopartículas son absorbidas por las células de manera más eficientes 	<ul style="list-style-type: none"> • Altos costos de producción 	[16]

3.2 Materiales poliméricos para fabricación de nanopartículas

Los polímeros son macromoléculas formadas por unidades repetitivas llamadas monómeros, generalmente presentan enlaces covalentes [26], pueden ser clasificados como:

Según estructura molecular

Polímeros lineales: tienen un alto grado de flexibilidad debido a que solo existen fuerzas de Van de Waals, estos polímeros fluyen cuando se calientan debido al incremento de movimiento molecular.

Polímeros ramificados: Poseen cadenas cortas unidas a una cadena principal, disminuyendo la movilidad e incrementando la temperatura de fusión.

Polímeros entrecruzados: Es la conformación de redes tridimensionales, las cuales se forman mediante la unión de cadenas vecinas, estas no presentan una gran movilidad, estos polímeros no fluyen con la acción del calor.

Según composición

Homopolímeros: se componen de una sola unidad repetitiva

Copolímeros: se componen de dos o más unidades monoméricas distintas, estas pueden darse como copolímeros aleatorios, alternantes, bloques o colgantes

Según su morfología

Amorfos: No exhiben un orden estructural en sus cadenas, están constituidos de forma irregular

Cristalinos: Es un arreglo ordenado, pueden ser grandes dominios o pequeños agregados esféricos de regiones cristalinas (esferulitas), lo que afecta en propiedades del polímero como si es translucido u opaco [27]

3.2.1 Polímeros de origen Natural

Los polímeros naturales pueden definirse como macromoléculas biológicas producidas por microorganismos (bacterias, levaduras, moho, hongos), plantas o tejidos animales [28]. Los biopolímeros de origen natural han adquirido gran relevancia por sus múltiples aplicaciones en el sector biomédico, medioambiental, farmacéutico, alimentario y biocombustibles/ energía ofreciendo propiedades como: biodegradabilidad, biocompatibilidad, flexibilidad, renovabilidad, la toxicidad [29] algunos de estos son:

Alginato: El alginato es un polisacárido aniónico lineal de β -(1-4)-*D*-mannurónico (bloques M) y α - ácido *L*-gulurónico que se produce en la pared celular de algas y capsula bacteriana de *Azotobacter* sp. y *Pseudomonas* sp [30], el alginato de sodio tiene propiedades como: gelificación, viscosificante y estabilización de dispersiones, este ha sido utilizado en ingeniería de tejidos debido a la compatibilidad que presenta con el cuerpo humano [31]

Agarosa: Es un polisacárido lineal con unidades repetitivas de agarobiosa, extraído de las algas rojas, es un copolímero alterno de β -1,3-vinculado d-gactosa y α -1,4-vinculado 3,6-anhidro- α -l-residuos de gactosa.[32], este polímero se somete a gelizacion gradual a bajas temperaturas y liquifica a temperaturas entre 20°C y los 70°C [33]

Quitosan: El quitosan es un polisacárido amino de β -*D*-glucosamina y *N*-acetil-*D*-glucosamina unidas por 1 \rightarrow 4 enlaces glucosídicos [34]. El quitosan es derivado de la quitina que resulta de la desaminación de la quitina, este polisacárido tiene algunas propiedades de interés en el sector biomédico y farmacéutico como lo es: biocompatibilidad, biodegradabilidad, compuesto no toxico, a escala nanométrica este polímero tiene alta actividad antibacteriana [35, 36]

Celulosa: La celulosa es un polisacárido formado por moléculas de D-glucosa unidas por enlaces glucosídicos β -1 4 requiriendo 8 unidades monoméricas de glucosa para formar un producto insoluble, este compuesto es obtenido de fuentes naturales principalmente de plantas, también puede ser sintetizado por bacterias o algas, dependiendo de su fuente esta molécula puede contener entre 8.000 y 15.000 unidades monoméricas por cadena. La estructura de la celulosa presenta regiones cristalinas y regiones amorfas, la última presenta una composición heterogénea caracterizada por diversidad de enlaces.[37]

3.2.2 Polímeros de origen Sintético

Acido Poli-lactico (PLA): El (ácido polilactico) es un poliéster alifático, este polímero presenta algunas ventajas como: facilidad de producción, reciclable, compostable, biocompatible,[38], inmunológicamente inerte, este polímero al hidrolizarse produce ácido láctico permitiendo que sea eliminado de forma natural mediante rutas metabólicas[39].

Acido Poli-glicolico (PGA): Es un poliéster alifático lineal, biodegradable, biocompatible, alto grado de cristalinidad, [40], alta solubilidad en disolventes orgánicos, alta ductilidad, baja temperatura de transición vítrea -60°C y una temperatura de fusión de 230°C . La sutura Dexon, nombre comercial fue la primera sutura bioabsorbible desarrollada con el PGA [41]

Poli-caprolactona (PCL): Poly (ϵ -caprolactona) es un poliéster alifático semicristalino, este material presenta propiedades como la biocompatibilidad, biodegradabilidad [42], estabilidad química, debido a su alta viscosidad se utiliza para fortalecer y endurecer materiales cerámicos, incrementando su resistencia, la PCL cuenta con la aprobación de la FDA para diversos usos clínicos entre ellos la ingeniería de tejidos, en diferentes formas como: andamios 3D, fibras, compuestos y películas [43]

Polietilénglicol (PEG) Es un poliéter soluble en agua con variación según la temperatura debido a la presencia de grupos hidrofóbicos y grupos hidrofílicos, sus propiedades físicas difieren según la longitud de la cadena ; el punto de fusión incrementa a medida que aumenta el peso molar [44] el PEG ha sido usado en áreas como la biomedicina y biotecnología, no presenta inmunogenicidad [45]

Poli (fumarato de propileno) (PPF) Es un poliéster lineal insaturado, este polímero es biodegradable, biocompatible y de fácil retiro del cuerpo, el control de las propiedades mecánicas y el tiempo de degradación dependen de la preservación del doble enlace y el peso molecular [46]

3.2.3 Ácido poli láctico co glicólico (PLGA)

El ácido polilactico co glicólico (PLGA) es un poliéster de naturaleza sintética, ampliamente usado para la administración de medicamentos gracias a su biocompatibilidad, biodegradación y no toxico aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) para uso humano [47] [48], este biopolímero es sintetizado mediante la reacción de ruptura de anillo copolimerizando dos monómeros [49] los cuales, permiten ajustar las propiedades físicas del material, mediante su composición. Como se observa en la Figura 2. El copolimero está compuesto por ácido poli láctico y ácido poli glicólico

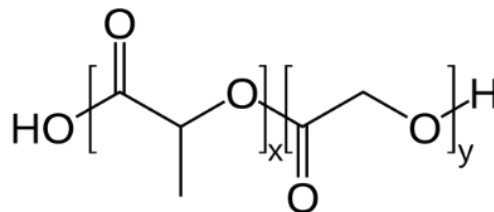


Figura 2 Estructura del polímero PLGA

El grupo metilo presente en el ácido polilactico (PLA) hace la molécula más hidrófoba que el ácido poli glicólico (PGA), absorben más agua. El cambio en las propiedades del

copolimero afectan directamente la tasa de liberación, un mayor contenido de PGA conduce a una mayor tasa de degradación excepto en una proporción 50:50 donde, se presenta una degradación más rápida como se observa en Figura 3

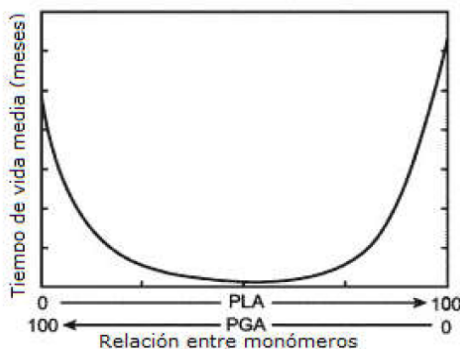


Figura 3 Tiempo de degradación de PLGA según relación [18]

La velocidad de degradación también se encuentra estrechamente relacionada con el grado de cristalinidad donde, el PGA es cristalino y al copolimerizar el PLA reduce el grado de cristalinidad aumentando la velocidad de hidratación e hidrólisis de los enlaces esteres presente en el PLGA. El efecto del peso molecular promedio en peso tiene una relación directa con la degradación del polímero, puesto que a más alto peso molecular más largas será la cadena de polímero necesitando más tiempo [50]. El cuerpo hidroliza el polímero produciendo sus ácidos más simples, ácido láctico y ácido glicólico como se observa en la Figura 4 los cuales son metabolizados en procesos bioquímicos, disminuyendo la toxicidad del polímero [5]

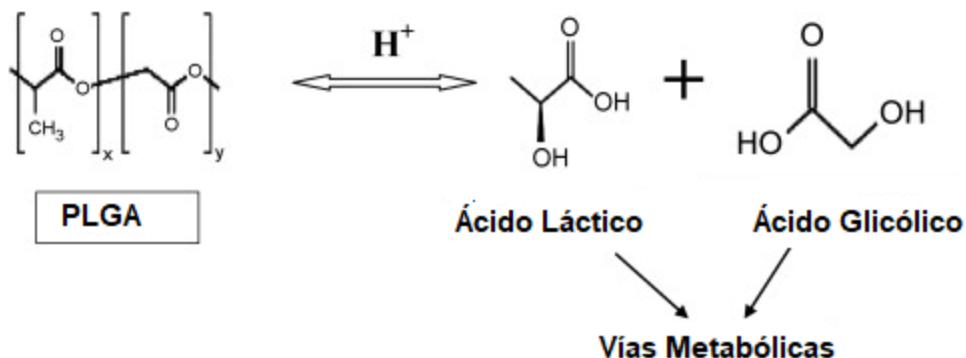


Figura 4 Hidrólisis de nanopartículas PLGA en ácido láctico y ácido glicólico [5]

Actualmente este polímero de gran relevancia para la industria farmacéutica se encuentra a nivel comercial, algunos productos que cuentan con esta tecnología son presentados en la tabla 2 en donde, el principio activo se encuentra encapsulado en micro o nanopartículas

Tabla 2 Fármacos presentes en el mercado con aprobación de la FDA empleando micro o nanopartículas de PLGA[51]

Nombre	Portador	Droga	Aplicaciones investigadas	Compañía	Estado
Lupron Depot®	Microesfera PLGA	Leuprolida	Cáncer de próstata, endometriosis, pubertad precoz central	Laboratorios Abbot, Takeda	Aprobado 1989
Sandostatin Lar®	Microesfera PLGA	Acetato de octreotida	Acromegalia	Novartis	Aprobado 1998
Trelstar®	Microesfera PLGA	Pamoato de triptorelina	Cáncer de próstata	Alérgeno	Aprobado 1998
Arestin®	Microesfera PLGA	Minociclina HCl	Como complemento en periodontitis adulta	Bausch Health Estados Unidos	Aprobado 2001
Eligard®	PLGA - N-metil-2-pirolidona	Acetato de leuprolida	Cáncer de próstata	Tolmar	Aprobado 2002
Risperdal Consta®	Microesfera PLGA	Risperidona	Esquizofrenia y trastorno bipolar I	Janssen Pharmaceuticals Inc.	Aprobado 2003

Vivitrol®	Microesfera PLGA	Naltrexona	Antagonista opioide	Alkermes Inc.	Aprobado 2006
Ozurdex®	Microesfera PLGA	Dexametasona	Corticosteroide	Allergan Inc.	Aprobado 2009
Bydureon®	Microesfera PLGA	Exenatida sintética	Diabetes tipo II	AstraZeneca AB	Aprobado 2012
Signifor Lar®	Microesfera PLGA	Pamoato de pasireotida	Acromegalia	Novartis	Aprobado 2014
Zilretta®	Microesfera PLGA	Triamcinolona	Osteoartritis y otra terapia con corticosteroides	Flexion therapeutics Inc	Aprobado 2017
Bydureon Bcise®	Microesfera PLGA	Exenatida	Diabetes tipo II	AstraZeneca AB	Aprobado 2017
Triptodur Kit®	Microesfera PLGA	Pamoato de triptorelina	Pubertad precoz central	Cenador	Aprobado 2017
Sublocade®	Nanopartículas PLGA	Buprenorfina	Adicción de moderada a severa a las drogas opioides	Indivior	Aprobado 2017

3.3 Métodos de elaboración de nanopartículas

3.3.1 Emulsión

Se utiliza un solvente parcialmente soluble en agua como acetona o carbonato de propileno. Los polímeros y compuestos bioactivos se disuelven en el disolvente y luego se emulsionan en la fase acuosa que contiene el estabilizador. Este último evita la agregación de las gotas de la emulsión por adsorción en la superficie de estas. El agua se agrega a la emulsión, para permitir la difusión del solvente en el agua. La solución se agita y se produce la precipitación de las partículas, posteriormente se recogen por centrifugación, o el disolvente puede eliminarse por diálisis [52]. Es empleada principalmente para atrapar compuestos activos hidrofóbicos

3.3.2 Emulsión evaporación

La metodología de emulsión simple consiste en un procedimiento donde se disuelve el polímero en un solvente orgánico como diclorometano o cloruro de metilo posteriormente, se emulsiona adicionando agua y surfactante a la solución del polímero, la formación de gotas es inducida por sonicación u homogenización posteriormente el disolvente es evaporado. Esta técnica es adecuada para el encapsulamiento de sustancias hidrofóbicas [52], además permite controlar la morfología y el tamaño de las nanopartículas.

3.3.3 Doble emulsión

Esta técnica de doble emulsión es aplicada a compuestos activos hidrosolubles, el tamaño de partícula y la eficiencia de encapsulación de estos compuestos se ven afectados por la velocidad de agitación y el tipo de disolvente empleado, algunos de los más usados son los solventes orgánicos volátiles como acetato de etilo, cloroformo o diclorometano. Inicialmente se forma una emulsión primaria posteriormente, se agrega a

una solución acuosa con agitación constante y luego se permite la evaporación del solvente orgánico.[49]

3.3.4 Spray Drying

Las microesferas cargadas con el medicamento se preparan rociando una dispersión sólida en aceite o emulsión de agua en aceite en una corriente de aire caliente.

Propiedades como la morfología, eficiencia de encapsulamiento de medicamento depende de variables como la naturaleza del solvente, temperatura, velocidad de alimentación [50].

3.3.5 Nanoprecipitación

El método de nanoprecipitación fue desarrollado por Fessi y colaboradores, permitiendo la producción de partículas dentro de un rango de 100–300 nm.[53]. Esta metodología tiene como ventaja que no requiere velocidades de cizallamiento / agitación prolongadas, sonificación o altas temperaturas[54].

La síntesis de nanocápsulas necesita dos fases. La fase del disolvente consiste esencialmente en una solución en un disolvente o en una mezcla de disolventes (es decir, etanol, acetona, hexano, cloruro de metileno o dioxano) de una sustancia formadora de película, como un polímero (polímero sintético, semi sintético o natural), la sustancia activa, el aceite, un tensoactivo lipófilo y un disolvente de la sustancia activa o un disolvente de aceite si son necesarios. Por otro lado, la fase no solvente consiste en un no solvente o una mezcla de no solventes para la sustancia formadora de película, complementada con uno o más surfactantes sintéticos o naturales [55].

En la Tabla 3 se presentan algunas de las ventajas y desventajas de los métodos más empleados para la elaboración de partículas poliméricas de PLGA

Tabla 3 Ventajas y desventajas de algunos métodos de elaboración de partículas de PLGA [56] [57]

Método	Ventajas	Desventajas	Solvente	Surfactante	Rango de diámetro
Emulsificación evaporación solvente	<ul style="list-style-type: none"> · Fácil de ampliar · Cierta control en el tamaño de partícula · Apto para atrapamiento de sustancias lipofílicas 	<ul style="list-style-type: none"> · Inestabilidad de biomacromoléculas bajo en tensión de corte · Varianza entre lotes · Polidispersidad de tamaño de partícula · El tamaño de la partícula se ve afectado por la concentración del polímero 	<ul style="list-style-type: none"> Diclorometano Etil acetato Cloroformo 	<ul style="list-style-type: none"> PVA Tween 80 Pluronic F68 	50-700 nm
Doble emulsión solvente – evaporación	<ul style="list-style-type: none"> · Adecuado para compuestos hidrófilos · Solventes no tóxicos 	<ul style="list-style-type: none"> · El tamaño de la partícula se ve afectado por la carga · Un mayor esfuerzo Cortante 	<ul style="list-style-type: none"> Diclorometano Cloroformo Etil acetato 	<ul style="list-style-type: none"> PVA Pluronic F68 	0,1 – 10 μ

Microfluidos	<ul style="list-style-type: none"> · Monodispersidad · Facilidad de fabricación de emulsiones 	Bajo rendimiento	DMC DMSO	PVA Tween 20/80	200- 1000nm ;
Secado por aspersión	<ul style="list-style-type: none"> · Rápido · Adecuado para aplicación industrial 	<ul style="list-style-type: none"> · Dificultad en control de tamaño de partícula · Adhesión de partículas a las paredes del secador 	Acetona Cloroformo Metanol Etil acetato	Tween 80 Pluronic F68 Pluronic 127	<10 μ
Nano precipitación	<ul style="list-style-type: none"> · Facilidad de procesamiento · Reproducibilidad · Ausencia de grandes esfuerzos cortantes 	· Desarrollado originalmente para compuestos activos hidrofóbicos	Acetonitrilo Acetona Etanol	PVA Poloxamer Poloxamina	80-700 nm

3.4 Efecto de la variación de parámetros en el tamaño de partícula

Las partículas diseñadas para el transporte de medicamentos deben considerar los cambios farmacocinéticos de las nanopartículas; las cuales dependen altamente en su composición química, fuerzas intermoleculares, morfología de la superficie y el tamaño de las nanopartículas, en la Tabla 4 se observan algunas de las variables que afectan el tamaño de la partícula de PLGA

Tabla 4 Afectación de tamaño de nanopartícula de PLGA como respuesta a la variación de parámetros[58-61].

Parámetro	Resultado	Modificación	Explicación
Velocidad de agitación	Disminuye	Incremento	Una velocidad de difusión más rápida facilitara la difusión de disolventes
Relación de la fase Orgánica / Acuosa	Decrece	Incremento del volumen de la fase acuosa	Aumento de la difusión del disolvente soluble en agua en la fase acuosa. En cierto punto, esta difusión de solvente a la fase acuosa llega a ser tan rápida que el polímero precipita inmediatamente antes de aglomerarse en partículas.

Concentración de surfactante	Aumenta luego disminuye	Incrementando	Previene la coalescencia entre sí. El aumento de la viscosidad de la fase acuosa reduce la tensión de corte neta disponible para la descomposición de las gotas
Concentración del polímero	Incrementa	Incrementa	Favorece el crecimiento de partículas con respecto a la nucleación de partículas
Peso molecular del polímero	Incrementa	Incrementa	Solución orgánica con viscosidad más alta

3.5 Mecanismos de liberación

3.5.1 Difusión a través de poros llenos de agua

Este mecanismo permite describir la primera etapa de liberación, esta depende de la estructura porosa del polímero. El coeficiente de difusión efectivo depende del coeficiente de difusión en el fluido en los poros, la porosidad y la tortuosidad. En caso de partículas pequeñas e inicialmente porosas con un alto peso molecular e hidrofóbicos es probable que se encuentren coeficientes de difusión constantes. Algunas veces el compuesto activo presenta un tamaño de molécula mayor e hidrófila la cual, no puede difundirse a través del polímero y la presión osmótica se compensa con hinchazón del polímero. Los procesos de erosión durante la formación de poros, tendrá una mayor incidencia con PLGA de bajo peso molecular y menos hidrófobo. [62]

3.5.2 Difusión a través del polímero

Este mecanismo de liberación es viable para compuestos hidrófobos de tamaño pequeño, este mecanismo no depende de la estructura porosa. De igual manera, el medicamento debe ser disuelto en agua antes de su liberación lo cual, podría disminuir la tasa de liberación. La alta porosidad de la nanopartícula incrementa el área de superficie para la disolución e incrementa la posibilidad de mejorar la liberación del principio activo encapsulado [62, 63].

3.5.3 Disolución del polímero encapsulante

Erosión: hace referencia a la pérdida de masa del polímero, el PLGA normalmente sufre erosión masiva,[62] en contraste con la erosión de la superficie ya que el polímero se hidrata, y se presenta la creación de poros pequeños los cuales se unen a los poros vecinos generando un poro más grande, la estructura porosa eventualmente se vuelve esponjosa, con agujeros llenos de agua que se agranda la matriz hasta perder estabilidad generando la erosión masiva [64].

3.5.4 Caracterización de nanopartículas

Actualmente hay diversos métodos de caracterización los cuales emplean diferentes principios para la obtención de las imágenes en determinados rangos de tamaños con ventajas y limitaciones como se presenta en Tabla 5

Tabla 5 Métodos de caracterización de tamaño de partícula [65]

Método	Principio	Tamaño medido	Ventajas	Limitaciones
Dispersión de luz (LS)	Interacción de luz	50nm-1 μm	También conocido como photon correlation spectroscopy , es un método rápido para determinar el tamaño medio de la partícula, distribución del tamaño y el índice de polidispersidad	Los resultados varían según parámetros como viscosidad, pH, temperatura, concentración y sedimentación de partículas No es adecuado para partículas de más de 1 μm
Difracción de luz (LLD)	Interacción de luz	1 – 1000 μm	Las partículas mayores de 1 μm pueden ser caracterizadas por este método	Se requiere una muestra representativa considerable Sobreestimación de la población de pequeño tamaño
Dispersión de luz dinámica (DLS)	Interacción de luz	2nm – 2 μm	Es usado para determinar el tamaño medio de la partícula y	Para sistemas diluidos

			la distribución de tamaños	
Microscopía electrónica de barrido (SEM), Microscopía electrónica de transmisión (TEM)	Microscopía	50 nm-100 μ m	SEM: permite una resolución entre 3 y 5 nm Tanto la microscopia SEM y TEM requieren unos pasos previos para la preparación de la muestra	Alto costo
Microscopía de fuerza atómica (AFM)	Microscopía	10 nm – 1 μ m	Esta técnica es apropiada para el análisis de superficies	
Hidrodinámica de columna empacada (PCH), Cromatografía de exclusión por tamaño (SEC)	Cromatografía	<100 nm	Puede ser empleado para evaluar el tamaño de las nanopartículas Es apropiado para tamaños menores de 100nm	Requieren un mayor tiempo Son difíciles de optimizar

4. Metodología

4.1 Materiales

Polímeros: PLGA 50/50 Resomer RG 502 (masa molar 7 – 17 kDa) y RG 504 (masa molar 38-54 kDa) terminados en éster marca (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA).

Solventes: Acetona (brand Merck, Merck KGaA, Darmstadt, Germany), Diclorometano y Dimetilsulfoxido (DMSO) (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), Dioxano (Panreac Applichem)

No solvente: Agua destilada, Alcohol etílico absoluto (Chemi), Propilenglicol (Panreac Applichem)

Colorante: oil red O (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), Pluronic F127 (brand Merck), Sacarosa (Sigma-Aldrich St. Louis, MO, USA), Aceite mineral USP

4.2 Diseño experimental

A partir de la hipótesis los factores: peso molecular de PLGA, solvente y no solvente empleados en el método de nanoprecipitación, afectan las características de la partícula como: tamaño, porcentaje de eficiencia de encapsulación y perfiles de liberación. Para esto se desarrolló un diseño experimental univariante multinivel, donde se establecieron como factores:

- Peso molecular de polímero PLGA: peso molecular 7-17 kDa y peso molecular 38 – 54 kDa con terminación éster.

- Solvente: Acetona, DMSO, Dioxano, Diclorometano estudiados anteriormente por otros autores [66-68].
- No solvente: Agua, Etanol, Propilenglicol [18, 67].

En la tabla 6 y 7 se muestran las combinaciones estudiadas en el presente documento.

Para determinar la concentración inicial de colorante hidrófobo (Oil red O) empleado a lo largo de los estudios, se analizó un factor con 5 niveles

- Concentración de colorante: 1,0 mg/ml , 0,8 mg/ml, 0,6 mg/ml, 0,4 mg/ml, 0,2 mg/ml.

Como variable de respuesta se estableció el tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación (%) y perfiles de liberación, para determinar el comportamiento de las partículas de PLGA obtenidas por el método de nanoprecipitación

Tabla 6 Combinación de solvente no solvente con polímero PLGA de peso molecular 7-17 kDa

Peso molecular de PLGA 7 - 17 kDa	
No solvente	Solvente
Agua	Acetona
Agua	DMSO
Agua	Dioxano
Etanol	Acetona
Etanol	DMSO
Etanol	Diclorometano
Etanol	Dioxano

Propilenglicol	Acetona
Propilenglicol	DMSO
Propilenglicol	Diclorometano
Propilenglicol	Dioxano

Tabla 7 Combinación de solvente no solvente con polímero PLGA de peso molecular 38-54 kDa

Peso molecular de PLGA 38 - 54 kDa	
No Solvente	Solvente
Agua	Acetona
Agua	DMSO
Agua	Dioxano
Etanol	Acetona
Etanol	DMSO
Etanol	Diclorometano
Etanol	Dioxano
Propilenglicol	Acetona
Propilenglicol	DMSO
Propilenglicol	Diclorometano
Propilenglicol	Dioxano

4.3 Elaboración de nanopartículas por método de nanoprecipitación

La elaboración de las nanopartículas se realizó mediante el método de nanoprecipitación con una fase orgánica compuesta por 1 ml del solvente que varió entre: acetona, dimetilsulfóxido (DMSO), diclorometano, dioxano, 10 mg de PLGA y la concentración de colorante Oil Red O establecido para los ensayos (0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml). El vial cerrado se dejó durante 2 horas a temperatura ambiente para la disolución del polímero posteriormente, se adicionó lentamente la fase orgánica a la solución acuosa compuesta por 9 ml del no solvente y Pluronic F127 al 1%p/v con agitación de magneto a 400 rpm durante 10 minutos con una relación Fase Orgánica (solvente): Fase acuosa (no solvente) de 1:10 [18].

Se centrifuga la mezcla a 10.000rpm por 20 minutos, el sobrenadante es desechado y el precipitado es lavado con agua destilada, retirando la mayor cantidad de no solvente presente. Se re suspenden las partículas en una solución de sacarosa 7% p/p que actúa como crioprotector, son congeladas durante 24 horas, para posterior liofilización empleando el liofilizador Labconco freeZone 4.5 a una presión de 0,140 mBar y -103°C por un tiempo de 48 horas [18].

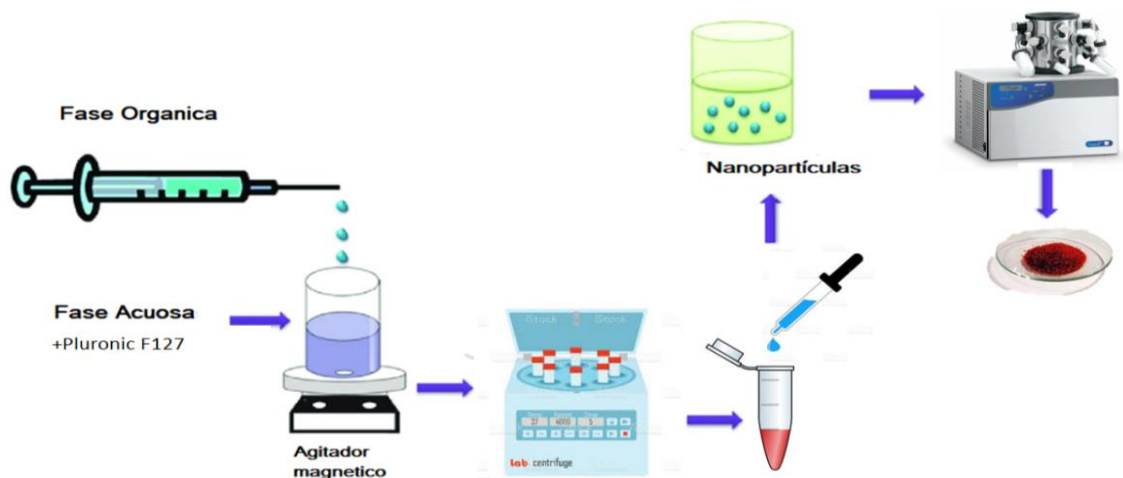


Figura 5 Proceso de elaboración de nanopartículas de PLGA por nanoprecipitación

4.4 Selección de concentración inicial de colorante

Se fabricaron las nanopartículas a diferentes concentraciones de colorantes en la fase orgánica (0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml) y se realizó la liberación por triplicado. Seleccionando la concentración que como respuesta del menor tamaño de partícula y la mayor eficiencia de encapsulamiento (%).

4.5 Determinación del tamaño de partícula e índice de polidispersidad

El diámetro medio del tamaño de partícula y polidispersidad se determinó por dispersión dinámica de luz (DLS) empleado el equipo Malvern Zetasizer ZS. Se tomó 100 μ l de solución de nanopartículas y se completa a 1 ml con el no solvente correspondiente de la muestra. Las propiedades del dispersante que se suministraron al equipo correspondían a la del no solvente empleado. Este procedimiento se realizó por triplicado

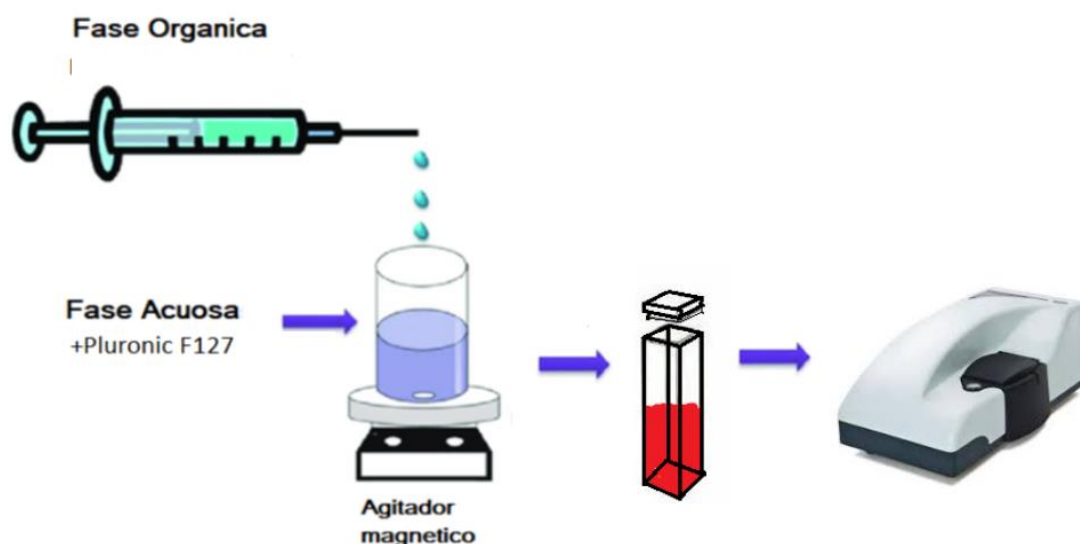


Figura 6 Metodología determinación de tamaño de partícula promedio mediante DLS

4.6 Eficiencia de la encapsulación (%)

La eficiencia de encapsulación fue determinada mediante la ruptura de las nanopartículas, se tomaron 0,2 mg de muestra liofilizada y fue disuelta en 2 ml de DMSO posteriormente se lee el valor de la absorbancia en el espectrofotometro Thermo scientific evolution 300 uv-vis a una longitud de onda de 523 nm previa curva de calibración se calcula la concentración. La eficiencia se determinó dividiendo la concentración de colorante atrapada en las partículas sobre la concentración adicionada inicialmente y se multiplica por 100. Este procedimiento se realizó por triplicado

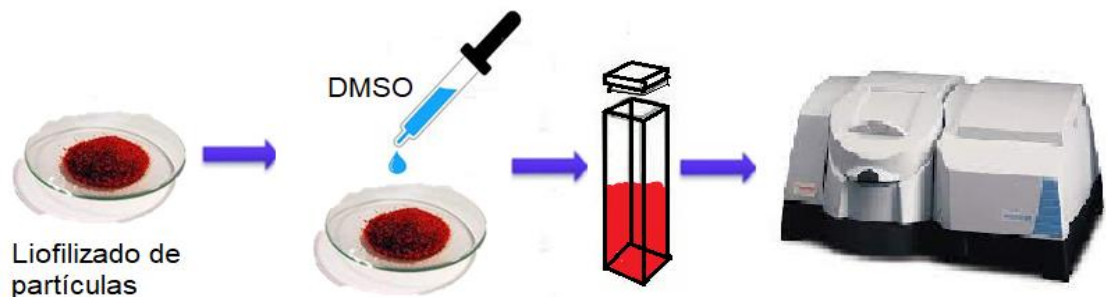


Figura 7 Metodología porcentaje de eficiencia de encapsulación

4.7 Perfil de liberación

Se pesaron 2 mg de muestra liofilizada y se suspendieron en 20ml de aceite mineral utilizando el agitador Heidolph promax 1020, se mantuvo una agitación constante de 150rpm, se tomaron alícuotas en los tiempos 0h, 1h, 2h, 3h, 4h, 24h, 48h, 72h, 168h, centrifugando a 10.000rpm por 20 minutos en la centrifuga Hermle Z 233 M-2, mediante espectrofotometría se determinó la concentración de colorante en el sobrenadante con el espectrofotometro Thermo scientific evolution 300 uv-vis a una longitud de onda de 523 nm. Este procedimiento se realizó por triplicado

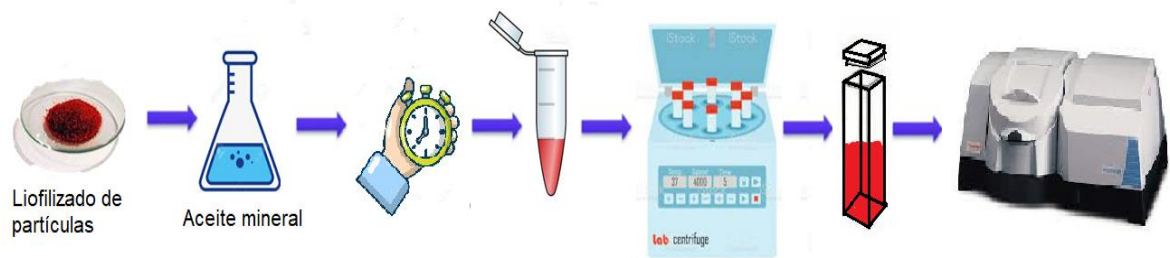


Figura 8 Metodología para obtener el perfil de liberación en medio oleoso con nanopartículas de PLGA

4.8 Morfología de las partículas

Se visualizo la forma de las partículas por microscopia electrónica de barrido (SEM) utilizando el microscopio QUANTA 200 marca FEI ubicado en la Universidad Nacional de Colombia, a diferentes magnificaciones, las muestras fueron previamente sometidas a un proceso de recubrimiento metálico.

5. Resultados

5.1 Concentración inicial de colorante

Con el fin de conocer la mejor concentración de colorante inicial encapsulado en las nanopartículas de PLGA, que permita observar una clara liberación del compuesto encapsulado, obteniendo un menor tamaño de partícula y un alto porcentaje de encapsulación, se fabricaron nanopartículas por el método de nanoprecipitación con la mezcla solvente - no solvente acetona - agua encapsulando diferentes concentraciones de colorante Oil Red O. (0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml, 0.6 mg/ml, 0.8 mg/ml, 1.0 mg/ml) en partículas de PLGA peso molecular 7-17 kDa. En la Figura 9 se visualiza la eficiencia de encapsulación (%) que se obtuvo a las diferentes concentración de colorante con variación significativa (ANOVA $p < 0,05$) lo que permite confirmar que esta variable estudiada es de gran importancia para determinar propiedades de las nanopartículas elaboradas por el método de nanoprecipitación.

Con una concentración inicial de 1.0 mg/ml se logró encapsular $5,65 \pm 0,11$ % de colorante, siendo el máximo valor obtenido con las diferentes concentraciones, aunque este resultado es bajo se observa que al incrementar la concentración del colorante su eficiencia de encapsulación sube, autores han realizado encapsulación de principios activos de naturaleza lipofílica y han reportado comportamientos similares al obtenido en este estudio [69] [70], también se observa un mayor incremento del encapsulamiento a partir de la concentración de 0.6 mg/ml donde se da una mayor adhesión del colorante al polímero.

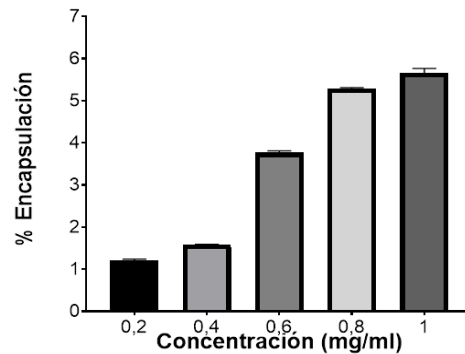


Figura 9 Eficiencia de encapsulación (%) de colorante Oil Red O en nanopartículas de PLGA (50:50) a diferentes concentraciones iniciales de colorante

En la Figura 10, se muestran la distribución media de los tamaños de partícula obtenidos en los diferentes ensayos los cuales, varía significativamente (ANOVA $p < 0,05$) con las diferentes concentraciones de colorante adicionado, afirmando que la concentración de colorante es una variable que interfiere en el tamaño de la partícula, aunque considerando un rango de concentración entre 0,4 mg/ml a 1,0 mg/ml no se da una variación significativa con el cambio de tamaño de partícula (Anova $p > 0,05$). En los rangos establecidos inicialmente se dan valores que oscilan entre $364,77 \pm 0,85$ nm a $298,23 \pm 0,76$ nm con baja polidispersidad (PDI $< 0,3$) excepto la concentración de 0,2 mg/ml el cual tuvo un mayor PDI $> 0,4$. De acuerdo a esto se puede concluir el tamaño de la partícula y la eficiencia de atrapamiento se ven influenciadas por la concentración de colorante. Otros autores han reportado que estas propiedades han mostrado tener efecto en la biodistribución, el destino biológico, toxicidad, la absorción celular [71] carga de fármaco y liberación de mismo [72] por esto es importante considerar la concentración inicial de colorante que de un menor tamaño de partícula.

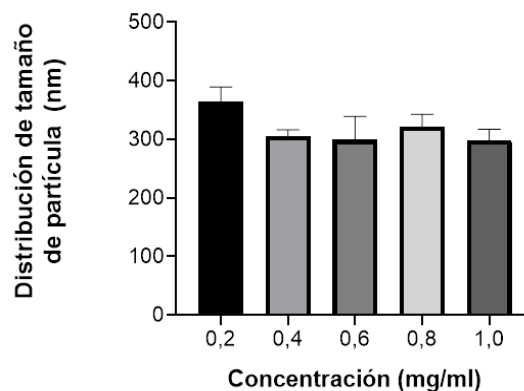


Figura 10 Tamaño promedio de partícula de PLGA a diferentes concentraciones de colorante por DLS

Considerando las variables previamente estudiadas se realizó una superficie de respuesta (Figura 11) utilizando el programa estadístico Minitab 19, con el fin de obtener la mejor concentración de colorante minimizando el tamaño de partícula y maximizando la eficiencia de encapsulación. Dando una concentración deseable de colorante 1.0 mg/ml para el cumplimiento de los condicionales previas que se estipularon, en donde se obtuvo un % de eficiencia de encapsulación de $5,65 \pm 0,11\%$ y un tamaño de $298,23 \pm 0,76$ nm. monodisperso ($PDI < 0,3$)

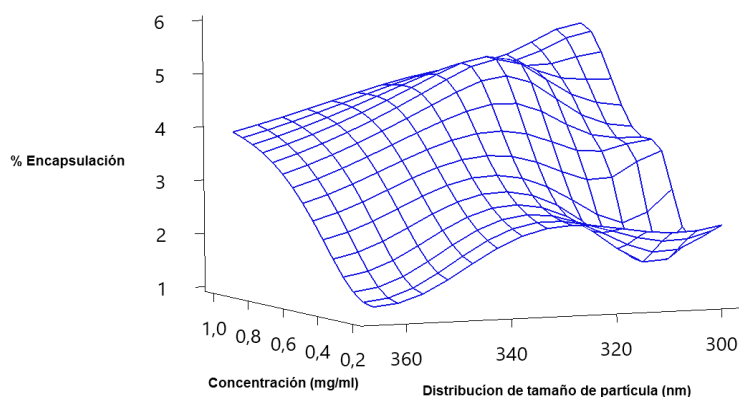


Figura 11 Superficie de respuesta concentración (mg/ml) vs distribución de tamaño (nm) vs % de encapsulación de partículas de PLGA a diferentes concentraciones de Oil Red O

Las partículas obtenidas por nanoprecipitación fueron liofilizadas, y liberadas en medio oleoso (aceite mineral), observando los diferentes comportamientos de liberación a distintas concentraciones; como se presenta en la Figura 12, la concentración inicial de 1.0 mg/ml presenta una mayor liberación de colorante alcanzando, una concentración en el medio del 53% del total encapsulado durante las primeras cuatro horas, esto se puede dar porque la mayor cantidad de colorante quedó en la superficie de la partícula acelerando la liberación, pasadas las 24 h se mantiene una fase de estabilización donde

el cambio de concentración del colorante en el medio no varía significativamente, igualmente se observa un comportamiento similar en la concentración de 0.8 mg/ml.

Posterior a las dos primeras horas, se observa un incremento en la velocidad de liberación en las diferentes concentraciones estudiadas, principalmente en la concentración de 1.0 mg/ml y 0,2mg/ml; la liberación de la concentración inicial de 0,8mg/ml presenta una velocidad de liberación con tendencia constante hasta su estabilización.

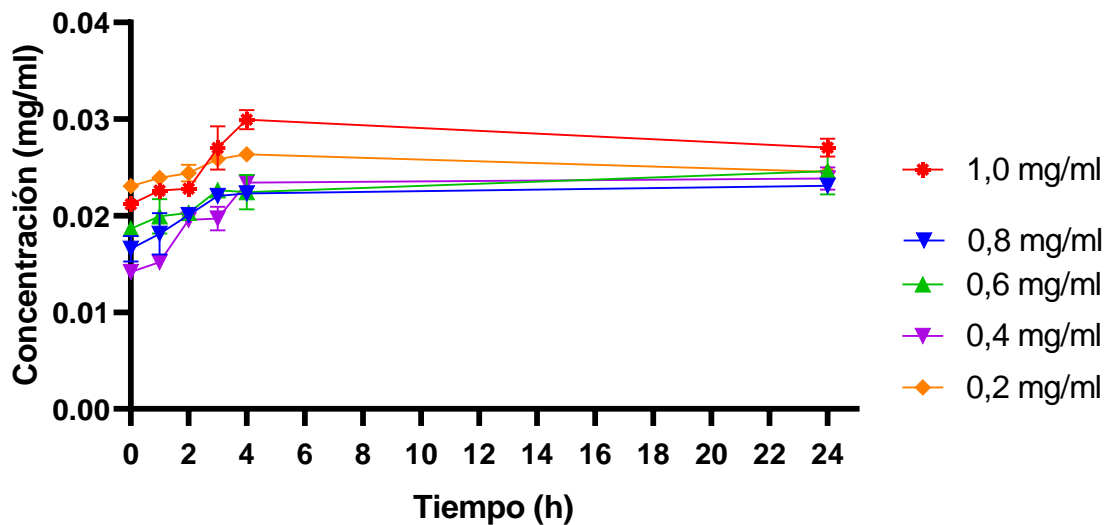


Figura 12 Perfil de liberación de colorante Oil Red O a diferentes concentraciones (0.2mg/ml, 0.4mg/ml, 0.6mg/ml, 0.8mg/ml, 1.0 mg/ml) en aceite mineral

El comportamiento que se observa en la Figura 12 es similar a la tendencia reportada por otros autores en la liberación de principios activos en otros medios de liberación, principalmente PBS [73-75] donde, en las primeras horas se presenta una liberación rápida conocida como efecto Burst, liberando el colorante absorbido en la superficie de la nanopartícula y posteriormente se da una liberación lenta como segunda etapa del patrón bimodal [76, 77], las partículas que presentan este perfil suelen ser partículas pequeñas recubiertas de una capa delgada de PLGA [77], el mecanismo de liberación

que se asume que ocurre con el colorante hidrófobo en medio oleoso es una difusión por diferencias de gradiente de concentración para posteriormente generar una erosión de la matriz del polímero. Estudios han reportado que el PLGA normalmente sufre erosión masiva,[62] y esta tasa de erosión aumenta con un mayor tamaño de partícula [78], autores reportan que los perfiles de liberación posterior a las dos fases mencionadas, se produce una degradación del material generando la erosión y una desaceleración de la liberación[74].

Para el desarrollo de este estudio se utilizará una concentración inicial fija de 1.0 mg/ml, se seleccionó esta concentración por obtener la mayor eficiencia de encapsulación y una distribución de tamaño menor, siendo características importantes para el diseño de nanopartículas empleadas en liberación controlada de principios activos, de igual forma el perfil de liberación de esta concentración presenta una liberación rápida más controlada, permitiendo identificar las dos etapas del perfil bifásico.

5.2 Influencia del solvente

Dentro de la investigación, se examinó el cambio que presenta la distribución de tamaño, el porcentaje de encapsulación del colorante Oil red O, y la liberación de este, empleando PLGA (50:50) peso molecular 7-17 kDa y PLGA (50:50) peso molecular 38-54 kDa con diferentes solventes como: acetona, DMSO, Dioxano y diclorometano. La variación del solvente en el método de nanoprecipitación es de importancia ya que determina características de las nanopartículas.

5.2.1 Dimetil sulfoxido (DMSO)

El primero de los solventes probados fue el dimetilsulfóxido, este es un solvente utilizado en medicina, presenta propiedades que lo hacen un buen candidato para evaluar su efecto en la fabricación de las nanopartículas de PLGA como: excipiente, transdérmico favoreciendo la penetración de medicamentos siendo capaz de atravesar las capas de la piel; además, es amigable con el medio ambiente, reduciendo su impacto durante la

fabricación de las partículas, analgésico, antiinflamatorio [79, 80] y anfílico es decir, que tienen la capacidad de ser afín a sustancias lipofílicas e hidrófilas [81].

Se espera que el uso de este solvente permita tener una mejor adhesión del colorante hidrófobo, aumentando el porcentaje de eficiencia de encapsulación, con un menor tamaño de partícula y una mayor estabilidad en la liberación del compuesto por sus propiedades como estabilizante.

5.2.1.1 Distribución de tamaño de partícula

Como resultado de los diferentes ensayos presentados en la figura 13, se obtuvo que con un peso molecular 7-17 kDa la mezcla de agua - DMSO consiguió el menor tamaño partícula con una media de $163,9 \pm 6,2$ nm monodispersa ($PDI < 0,2$), Chiesa y colaboradores obtuvieron resultados similares, pero con una mayor polidispersidad en sus muestras [1] mientras que, con etanol y propilenglicol se obtienen una distribución de $292,5 \pm 75,9$ y $236,7 \pm 138,3$ respectivamente, todos los ensayos fueron monodispersos con un $PDI < 0,4$.

Estas muestras no presentan una variación significativa ($p > 0,05$) es decir, el cambio en el no solvente durante el proceso de fabricación de las partículas de PLGA de 7-17 kDa, no afectó la distribución de tamaño.

Las partículas con un mayor peso molecular de 38- 54 kDa presentan una variación significativa ($p < 0,05$) entre los diferentes ensayos realizados. Como se observa en la Figura 13, la mezcla propilenglicol - DMSO presenta el menor tamaño de partícula de $205,8 \pm 132,5$ nm. Lancheros y colaboradores obtuvieron tamaño de partícula con la mezcla propilenglicol - DMSO sin surfactante de 696,8 nm con un índice de polidispersidad de 0,13[82], siendo estos valores superiores a los obtenidos en el presente estudio, la mezcla con etanol se obtienen partículas de $978,5 \pm 344,3$ nm con tendencia a ser muestras polidispersas ($PDI < 0,7$).

Empleando las mismas mezclas y variando el peso molecular se obtienen que, con mayor peso molecular se da una variación significativa, debido a las cadenas largas del polímero incrementan la viscosidad, disminuyendo la velocidad en el movimiento de las partículas formando partículas más grandes, concluyendo que la variación en el peso molecular del polímero es la variable que más afecta el tamaño de partícula en este ensayo.

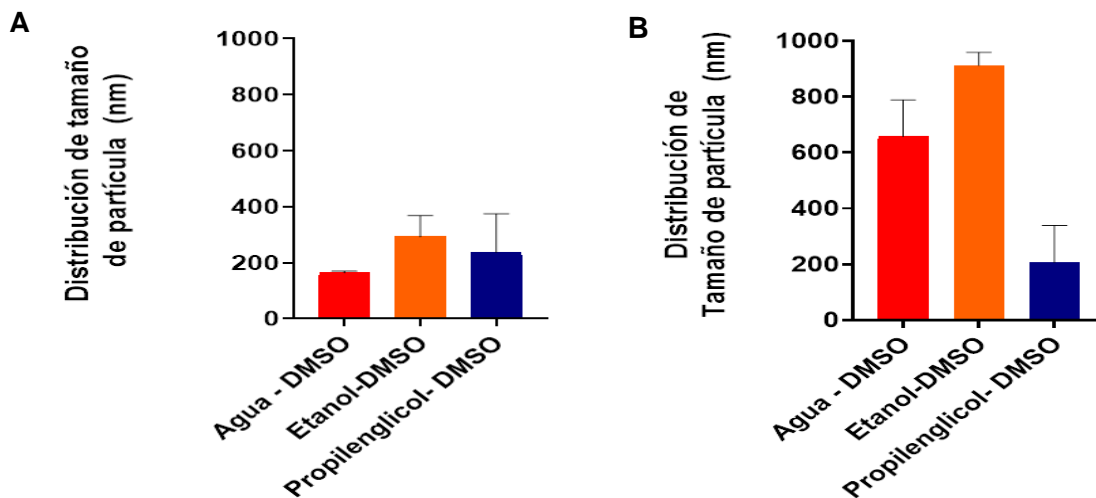


Figura 13 Distribución de tamaño de partícula con solvente DMSO A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.1.2 Porcentaje de eficiencia de encapsulamiento de colorante en la partícula

El porcentaje de eficiencia de encapsulamiento del colorante empleando el DMSO como solvente en el método de nano precipitación, presento una baja eficiencia, sin superar el 7,5 % en las mezclas estudiadas, sin diferencia significativa ($p > 0,05$).

En la Figura 14 se observa que el aumento en el peso molecular del polímero no mejoró la eficiencia de encapsulación, puede deberse a una baja afinidad del colorante con el polímero, tendiendo a difundir de la fase orgánica a la fase acuosa externa durante el

proceso de formación de las partículas [83] con ayuda del DMSO, que por su característica química de ser anfifílica permite una interacción con la fase acuosa.

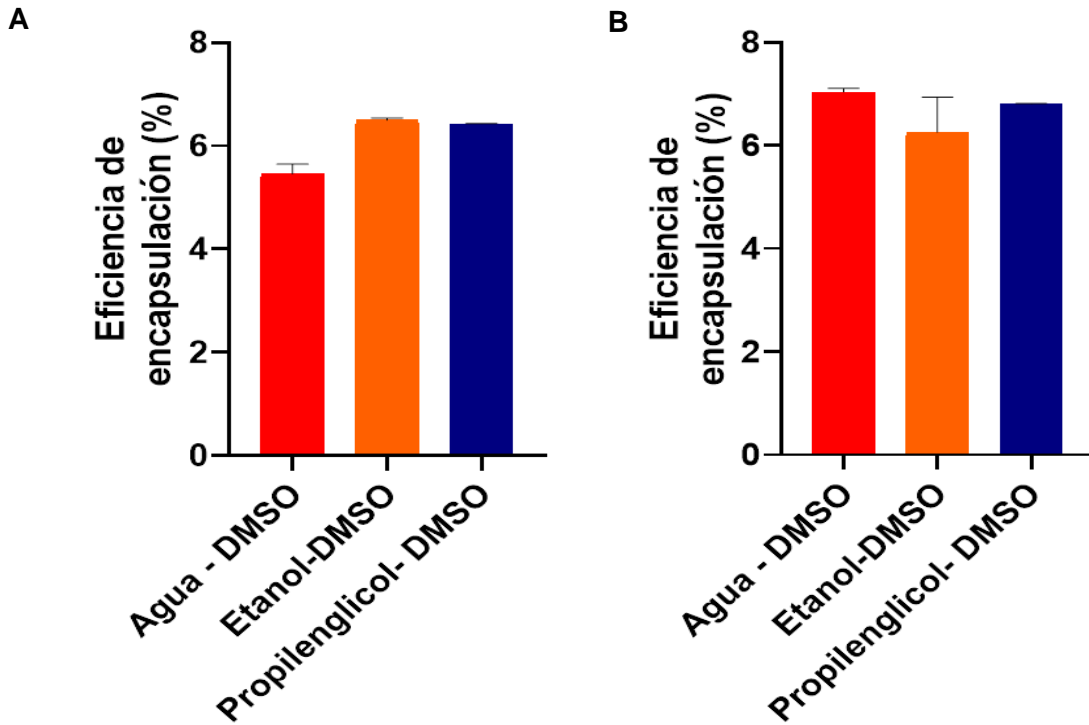


Figura 14 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente DMSO A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.1.3 Perfil de liberación

La liberación del colorante en medio oleoso empleando DMSO como solvente, muestra un perfil bifásico donde, la primera etapa es una liberación rápida dada por la difusión del colorante adherido a la zona superficial, posteriormente tiene una liberación prolongada [84, 85]. La variación de los no solventes en los perfiles de liberación presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) entre ellos.

Las partículas fabricadas con la mezcla agua - DMSO con peso molecular del polímero de 7-17 kDa, tuvo una mayor concentración liberada en el periodo conocido como efecto burst, esto puede deberse a que la mayor cantidad de colorante se halla en la superficie

de la partícula, siendo este el primero en ser liberado, como se observa en la Figura 15 en el tiempo cero inicia con una concentración promedio de 0,0498 mg/ml, un valor más elevado de lo esperado, entre la hora cero y la primera hora de liberación la velocidad es de $0,0292 \pm 0,004$ mg/ml*h, pasadas las primeras dos horas de liberación rápida existe una tendencia de estabilización disminuyendo la velocidad a $0,0017$ mg/ml*h $\pm 0,0001$ llegando a $5,30 \cdot 10^{-5} \pm 2,37 \cdot 10^{-5}$ y entre las 72 - 168 h tuvo una velocidad de liberación de 0,0003 mg/ml*h que puede deberse a colorante residual presente en las partículas.

Los resultados obtenidos con propilenglicol presentan una liberación rápida. pero constante durante las primeras 4 horas con una velocidad de 0,0215 mg/ml*h, pasadas las 24 horas se da una estabilidad en la liberación, este comportamiento es deseado debido a su estabilidad durante el proceso de liberación, la mezcla de etanol - DMSO inicia con la concentración más baja (0,006 mg/ml) de los ensayos realizados, en la primera hora la velocidad de liberación es de 0,01415 mg/ml*h mientras que de la hora 3 a la 4 la velocidad de liberación incremento 0,02683mg/ml*h esto puede deberse a que poca concentración del colorante está adherido a la superficie y pasando las 3 horas inicia un proceso de liberación del colorante encapsulado dentro de la partícula.

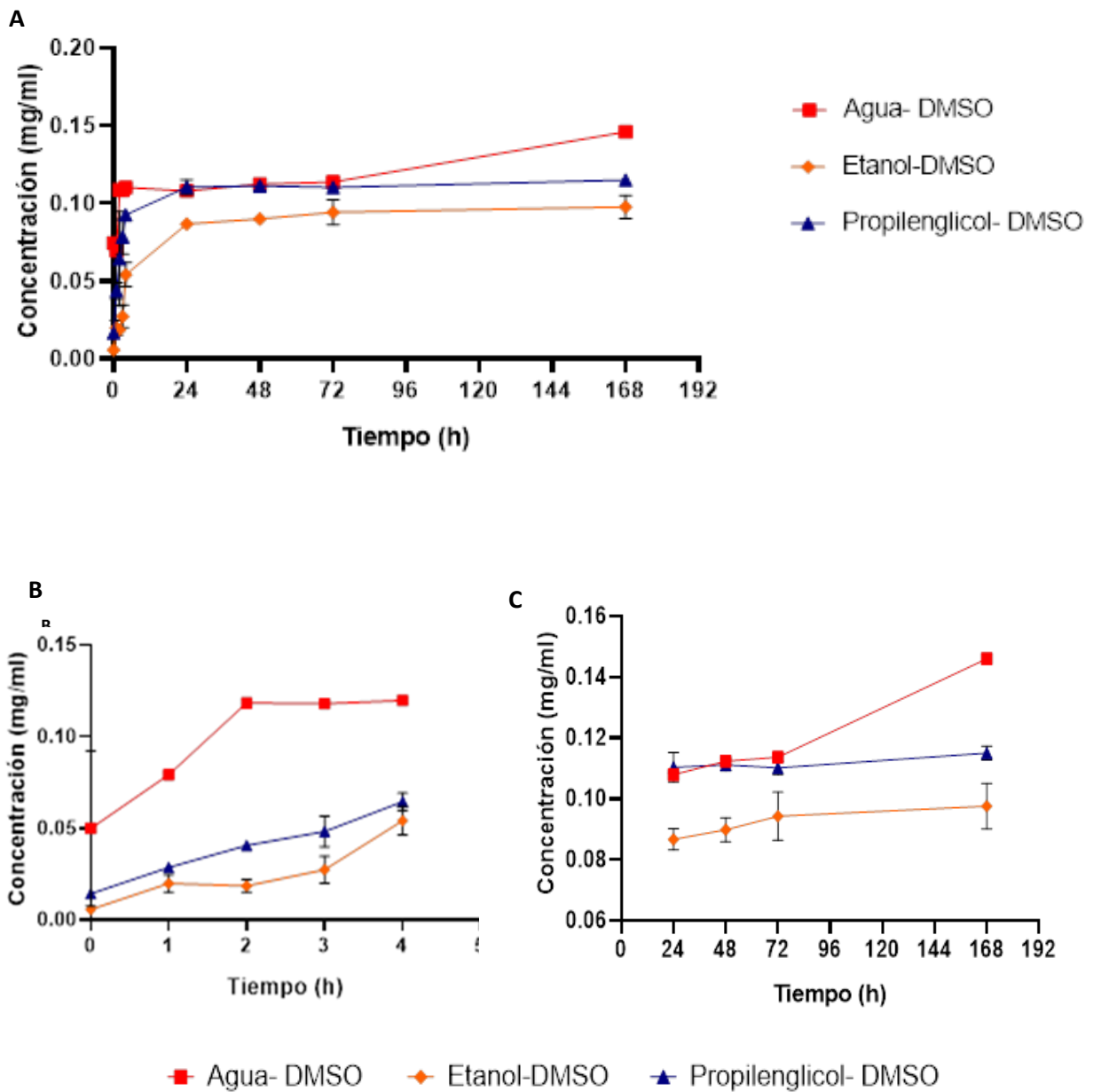


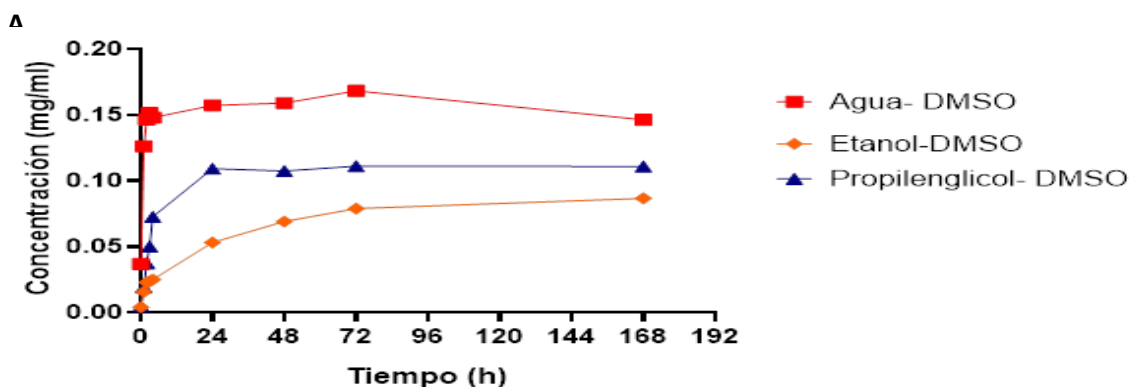
Figura 15 Perfil de liberación de oil red O con solvente DMSO empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

La liberación con polímero de mayor peso molecular (38 – 54 kDa), presenta un comportamiento bifásico, con variación significativa ($p < 0,05$). Como se observa en la Figura 16, la mezcla de agua – DMSO realiza la mayor liberación de colorante en la

primera hora con una velocidad de $0,09289 \pm 0,008$ mg/ml*h, siendo la más alta obtenida en los estudios realizados, este fenómeno también conocido como efecto explosión o efecto Burst se da en las primeras horas de liberación, esto coincide con lo reportado por otros autores que evaluaron en medio acuoso, [86, 87] esta liberación rápida es difícil de controlar, algunos factores como: la interacción que presenta el polímero con el colorante, la distribución heterogénea del oil red o, la porosidad de las partículas pueden afectar la liberación inicial[88]. Pasado este tiempo la liberación tiende a presentar una estabilización disminuyendo la velocidad de liberación a $0,0003 \pm 6,83 * 10^{-5}$ mg/ml*h, con tendencia a llegar a una constante. Esta mezcla fue la que mayor concentración de colorante libero en el medio oleoso

El etanol – DMSO tiene una liberación rápida en la primera hora con una velocidad de $0,0119 \pm 0,001$ mg/ml*h entre la 3 y 4 hora la velocidad disminuye a $0,0007$ mg/ml*h y posteriormente hasta las 24 h se da una velocidad de $0,0014 \pm 1,6*10^{-4}$ mg/ml*h, para continuar disminuyendo la velocidad hasta alcanzar una fase de estabilización con velocidad de $8,17*10^{-5} \pm 6,8*10^{-6}$ mg/ml*h. Esta mezcla fue la que menor concentración de colorante libero.

El propilenglicol – DMSO presento una velocidad inicial de $0,0146 \pm 6,8*10^{-4}$ mg/ml*h a diferencia de las otras mezclas estudiadas, la velocidad máxima alcanzada no se dio en la primera hora sino entre la 3 y 4 hora con una velocidad de $0,0226 \pm 1,3*10^{-3}$ mg/ml*h; posterior a esto se da un proceso de estabilización disminuyendo la velocidad hasta alcanzar una velocidad de $3,19*10^{-6}$ mg/dl*h



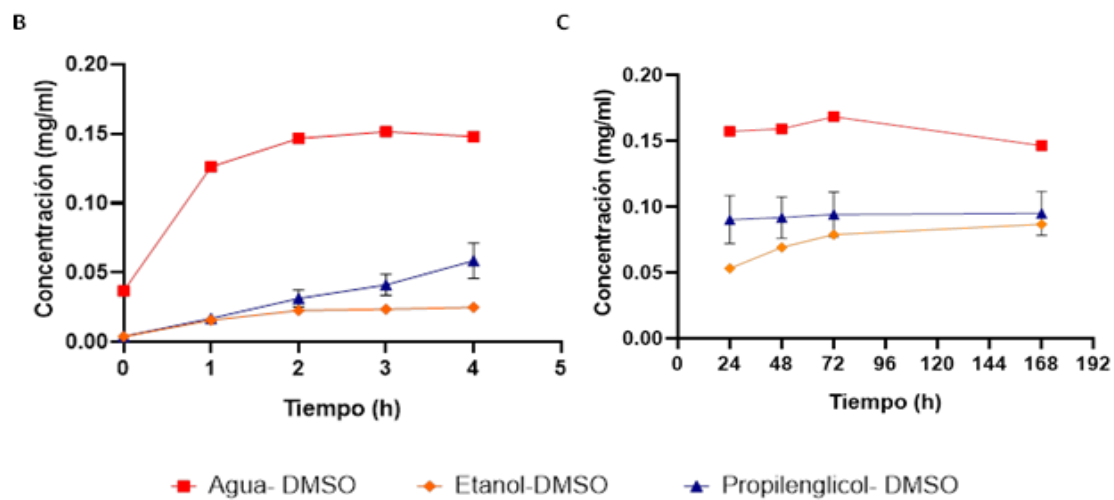


Figura 16 Perfil de liberación de oil red O con solvente DMSO empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

5.2.2 Acetona

La acetona un disolvente orgánico, con características como: ser miscible en agua, incoloro, inflamable, baja viscosidad y biodegradable. Debido a sus propiedades es ampliamente usado en la industria de limpieza, de pinturas, plásticos, cosmética y farmacéutica entre otros [89]. La acetona ha sido uno de los solventes más empleados para la fabricación de nanopartículas por el método de nanoprecipitación [90] es el mejor disolvente disponible, ya que no es toxico y por su bajo punto de ebullición es de fácil eliminación [91].

5.2.2.1 Distribución de tamaño de partícula

En la Figura 17, se puede observar que las partículas elaboradas con acetona como solvente obtuvieron tamaños de partículas inferiores a los 400nm con ambos pesos moleculares. Usando PLGA peso molecular 7-17 kDa se presenta una diferencia

significativa ($p < 0,05$) entre la variación del no solvente; la mezcla agua – acetona ha sido una de las mas empleada en la literatura consultada.

En la Figura 17 se presenta la distribución de tamaño obtenida con el solvente acetona y los no solventes estudiados (agua, etanol y propilenglicol) donde, la mezcla agua - acetona con polimero de peso molecular 7-17 kDa tiene un tamaño promedio de $298,2 \pm 18,9$ nm , monodisperso con PDI $< 0,3$, esta mezcla que ha sido ampliamente usada en el proceso de nanoprecipitación por ser el agua el disolvente universal y la acetona una opción de solvente adecuada por sus propiedades, estudios realizados han obtenido tamaño de partícula inferior a 200nm, otros autores reportan que se podria obtener un menor tamaño de partícula variando la relación solvente no solvente el cual, influye en el tamaño de la partícula final[92].

El uso de propilenglicol como no solvente junto con la acetona, formaron partículas de menor tamaño $142,9 \pm 40,8$ nm con PDI $> 0,8$ estas muestras polidispersas de inferior tamaño pueden tener otro tipo de aplicación, al incrementar el peso molecular del polimero se logra una mayor homogeneidad PDI $< 0,37$ pero, se incrementa el tamaño de partícula a $276,1 \pm 157,9$ nm, siendo aun aceptable para aplicaciones farmacológicas. Con el incremento del peso molecular del polímero PLGA 38-54 kDa no presentan diferencias estadísticas significativas ($p > 0,3$).

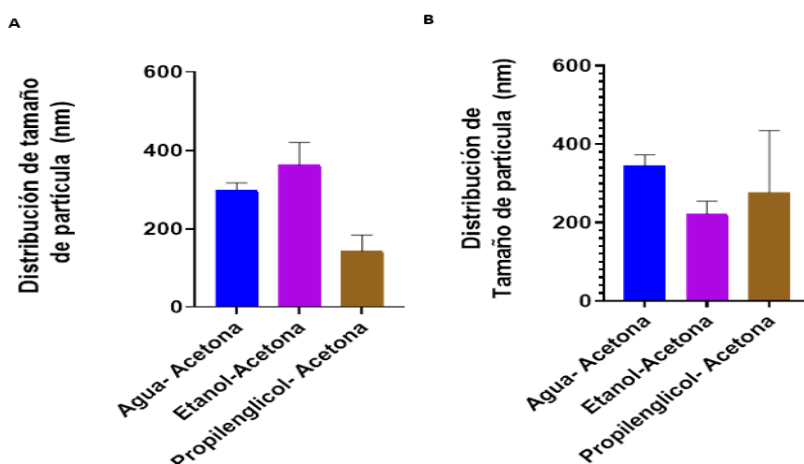


Figura 17 Distribución de tamaño de partícula con solvente Acetona A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.2.2 Porcentaje de eficiencia de encapsulamiento de colorante en la partícula

El porcentaje de eficiencia usando acetona como solvente, se observa en la Figura 18 donde, los resultados obtenidos son inferiores al 8 %, siendo un valor bajo para el resultado esperado. Empleando el polímero PLGA peso molecular 7-17 kDa y 38-54 se obtiene, que su variación con los no solventes presenta diferenciación significativa ($p < 0,05$).

Las mezclas con peso molecular 7-17 kDa obtuvieron los siguientes resultados: agua - acetona encapsulo un promedio de $5,65 \pm 0,11\%$, etanol - acetona $5,15 \pm 0,13\%$ y propilenglicol - acetona $6,22 \pm 0,08\%$ y con peso molecular 38 -54 kDa obtuvieron: agua - acetona encapsulo un promedio de $6,69 \pm 0,04\%$, etanol - acetona $5,66 \pm 0,21\%$ y propilenglicol - acetona $6,36 \pm 0,24\%$, este pequeño incremento puede deberse a la variación del tamaño de las partículas, también se puede atribuir el bajo porcentaje de eficiencia a la interacción del polímero con el colorante hidrófobo empleado en el presente estudio.

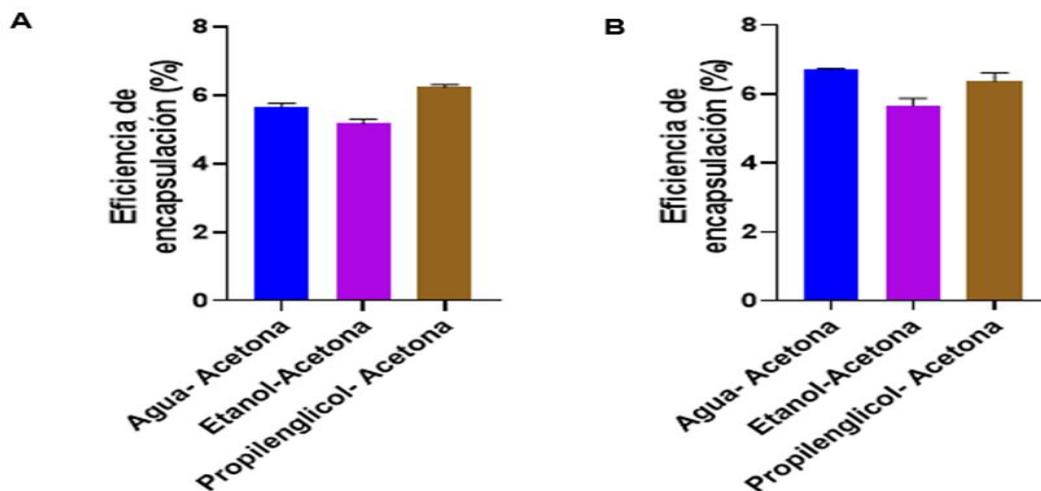


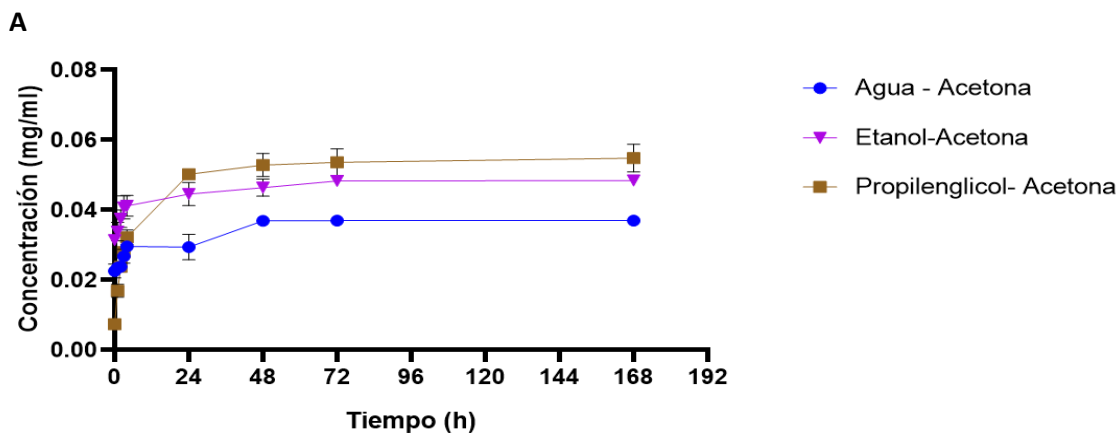
Figura 18 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente Acetona A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.2.3. Perfil de liberación

El comportamiento en la liberación en medio oleoso que presenta las partículas que utilizan acetona como solvente por el método de nanoprecipitación, es bifásico con velocidades de liberación bajas y tendencia a una rápida estabilización. Estadísticamente sin variación significativa ($p > 0,05$) al cambio de no solvente en el análisis global pero, si se analizan las primeras 4h y posteriormente de las 24 a 168 h si se dan diferencias significativa ($p < 0,05$).

En la Figura 19 se presenta el perfil de las partículas con peso molecular de 7 – 17 kDa, la mezcla agua – acetona tiene una velocidad de liberación casi nula de 0,0004 mg/ml*h en las primeras 2 horas, pasado este tiempo la velocidad incrementa a 0,003 mg/ml*h siendo esta su velocidad máxima posteriormente, se da una liberación más constante y lenta sin cambio significativo en el transcurso del tiempo de análisis.

La mezcla etanol - acetona alcanza su velocidad máxima de liberación (0,0037 mg/ml*h) entre la segunda y primera hora estudiada, pasadas las 24 horas la velocidad de liberación no es significativa ($7 \cdot 10^{-5}$ mg/ml*h). El propilenglicol con acetona libera rápidamente en la primera hora con una velocidad de 0,0095 mg/ml*h, donde se cree que se libera el colorante adherido a la superficie, seguidamente se inicia una disminución paulatina en la velocidad hasta las 48 h de liberación que se estabiliza la concentración de colorante en el medio (velocidad de $1,3 \cdot 10^{-5}$ mg/ml*h) .



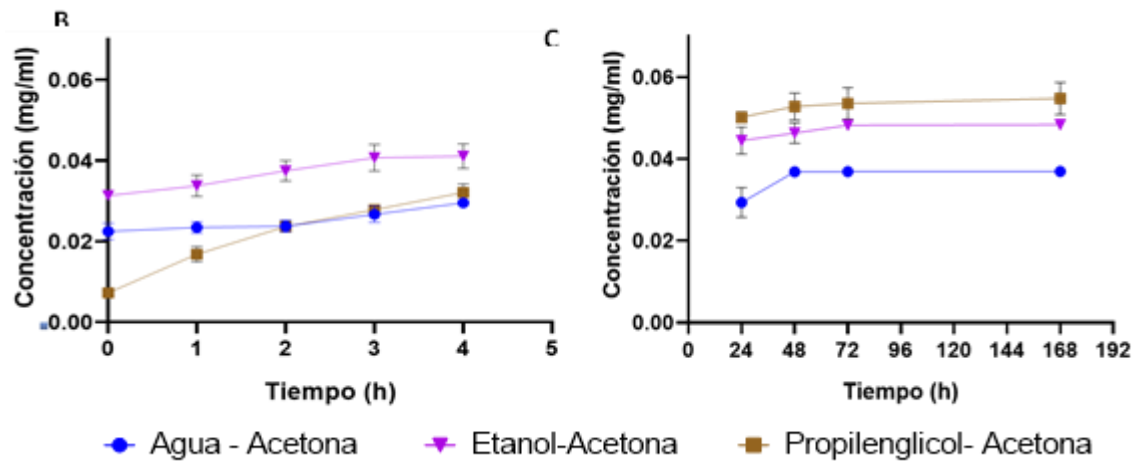


Figura 19 Perfil de liberación de oil red O con solvente acetona empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

Con un peso molecular de 38- 54 kDa a las mismas condiciones, se presentan variaciones significativas ($p < 0,05$) en el cambio de no solvente como se muestra en la Figura 20.

La mezcla agua – acetona presenta una mejor liberación a mayor peso molecular de polímero. A la primera hora, la velocidad máxima de liberación es de 0,033 mg/ml*h posteriormente entre la primera y cuarta hora se da una liberación lenta pero constante a una velocidad de 0,007 mg/ml*h, hasta una estabilización a las 48 horas, logrando liberar una mayor concentración de colorante en el medio.

La mezcla etanol – acetona y propilenglicol – acetona presento una variación significativa en su perfil de liberación comparado a los obtenidos con un menor peso molecular de polímero, la concentración en la hora cero con peso molecular 38 -54 kDa es más cercano a una concentración 0mg/ml lo que podría indicar que en la superficie de estas partículas la cantidad de colorante adherido es más baja

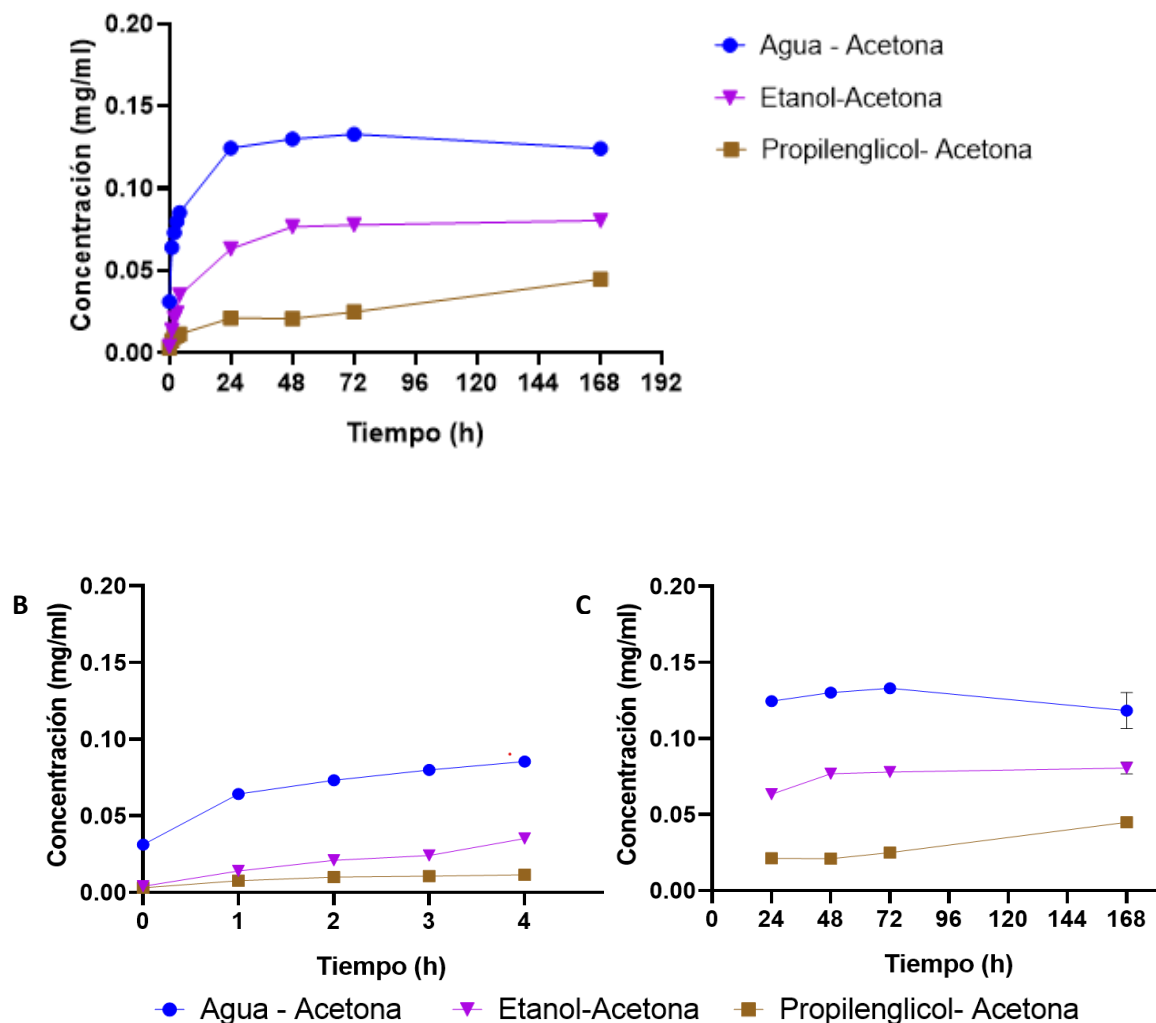


Figura 20 Perfil de liberación de oil red O con solvente acetona empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

5.2.3 Diclorometano

El diclorometano un solvente incoloro y altamente volátil, usado en la industria de pinturas, alimentaria y farmaceutica como medio de extracción [93]. Este solvente ha sido empleado en la elaboración de nanoparticulas lipofilas [94, 95] por su facilidad de evaporación es usado en el metodo de emulsión y evaporación[96]. Debido a que la mezcla agua - diclorometano son inmiscibles entre si,[97] no se pueden fabricar nanoparticulas por el metodo de nanoprecipitación[68] empleando agua como no

solvente, por esto se emplearon no solventes como etanol y propilenglicol, que si son miscibles con él.

5.2.3.1 Distribución de tamaño de partícula

Las partículas fabricadas utilizando diclorometano como solvente, obtuvieron un tamaño mayor a lo deseable con valores $<500\text{nm}$. Como se presenta en la Figura 21, la mezcla de etanol - diclorometano registraron un tamaño de partícula grande, excediendo las medidas para catalogarse como nanopartículas, con peso molecular 7-17 kDa de $1117,2 \pm 198,398\text{ nm}$ con $\text{PDI} < 0,2$ lo que permitiría que estas partículas tenga otra aplicación por su gran tamaño y su monodispersidad y con peso molecular 38-54 kDa $612,9 \pm 88,1\text{ nm}$ disminuyendo su tamaño.

Existen diferentes factores que alteran el tamaño de partícula de PLGA por el método de nanoprecipitación, una de estas es la constante dieléctrica, debido a que esta influye en la difusión del disolvente a través del polímero hacia el no disolvente, afectando la velocidad de difusión y así el tamaño. Los disolventes utilizados, etanol tienen una constante dieléctrica de $\epsilon = 24,55$ y el diclorometano $\epsilon = 8,93$, ya que su valor es igual o inferiores a 32, son más propensos a solubilizar un principio activo lipofílico con tendencia a formar partículas de mayor tamaño [98].

La mezcla de propilenglicol - diclorometano obtuvo tamaños más pequeños con peso molecular de 7-17 kDa $372 \pm 111,7\text{nm}$ con $\text{PDI} < 0,35$ siendo monodispersas y con PLGA peso molecular 38-54 kDa no se presentó cambio en su tamaño promedio $372,6 \pm 205,7\text{ nm}$ $\text{PDI} < 0,2$, se logró una mejor monodispersidad a mayor peso molecular sin presentar cambio significativo.

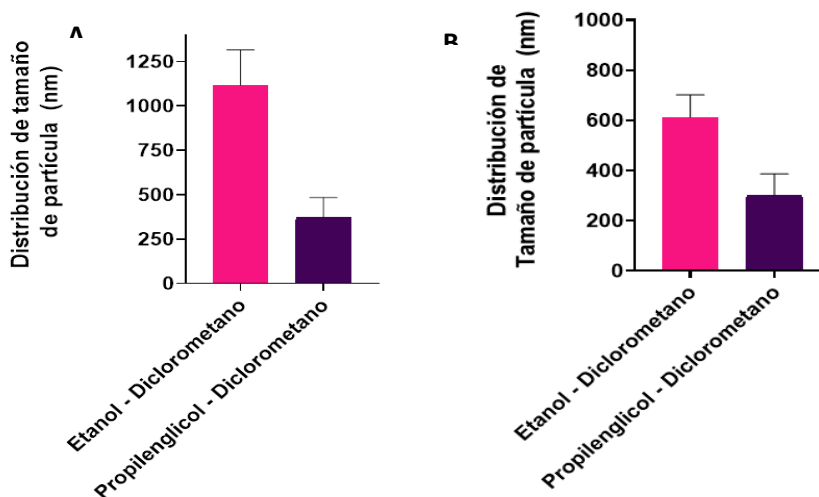


Figura 21 Distribución de tamaño de partícula con solvente diclorometano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.3.2 Porcentaje de eficiencia de encapsulacion

El porcentaje de eficiencia empleando diclorometano como solvente presento diferencias significativas en los ensayos realizados. La mezcla etanol - diclorometano con polimero de peso molecular 7-17 kDa y de 38 -54 kDa obtuvo los valores de $0,48 \pm 0,05\%$, $0,33 \pm 0,04\%$ respectivamente, siendo la eficiencia mas baja de los ensayos realizados, esto se lo podemos atribuir a la interacción del colorante con el solvente y no solvente el cual, es soluble en ambas fases y puede quedar el colorante en el sobrenadante en la fabricación durante el proceso de centrifuga para separar las partículas y este liquido es desechado sin conocer que cantidad de colorante queda en el sobrenadante. Obteniendo que la cantidad de oil red o adherida o encapsulada en la partícula sea minima.

Como se presenta en la Figura 22 la mezcla propilenglicol - diclorometano mejoro significativamente el porcentaje de eficiencia en comparación con el etanol, en ambos pesos moleculares estudiados,el peso molecular 7- 17 kDa se logra incrementar a $6,47 \pm 0,006\%$ y con peso molecular 38-54 kDa aumenta a $6,72 \pm 0,027\%$

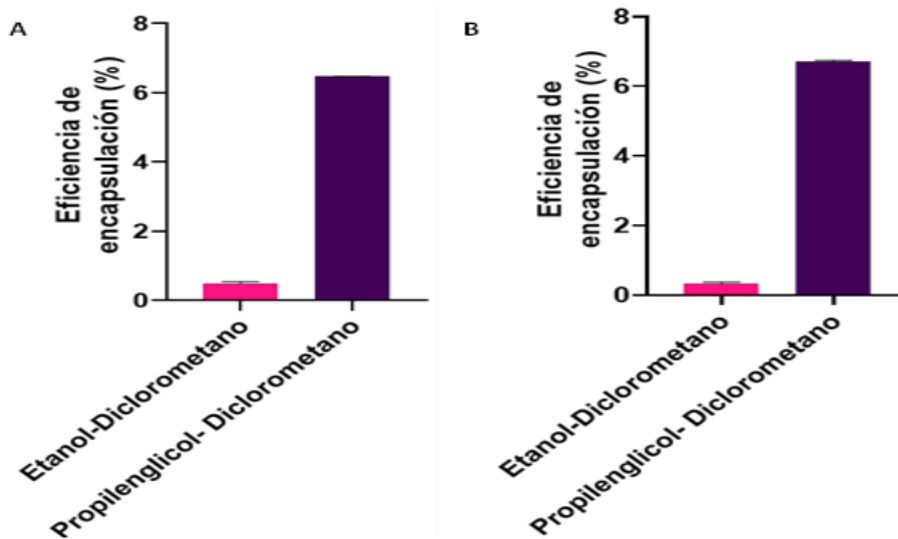


Figura 22

Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente diclorometano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.3.1 Perfil de liberación

La liberación que se presenta con el diclorometano como solvente, muestra una diferencia en la liberación con el cambio del no solvente, La liberación de la mezcla etanol -diclorometano con peso molecular 7-17 y peso molecular 38-54, no se da liberación de colorante en el medio oleoso, esto se puede adjudicarse a la baja eficiencia de encapsulación de colorante reafirmando que el colorante presente en las partículas no es representativo.

La Liberación de colorante con la mezcla Propilenglicol - Diclorometano obtuvieron mejores resultados como se evidencia en la Figura 23, con una velocidad de liberación inicial de 0,015 mg/ml*h en la primera hora, siendo la más rápida con respecto a las dadas en el transcurso del ensayo. Esto se debe a que en la primera etapa de perfil bifásico, es una liberación rápida, pasadas las 48 horas se da el proceso de estabilización con una velocidad de $3,5 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h .

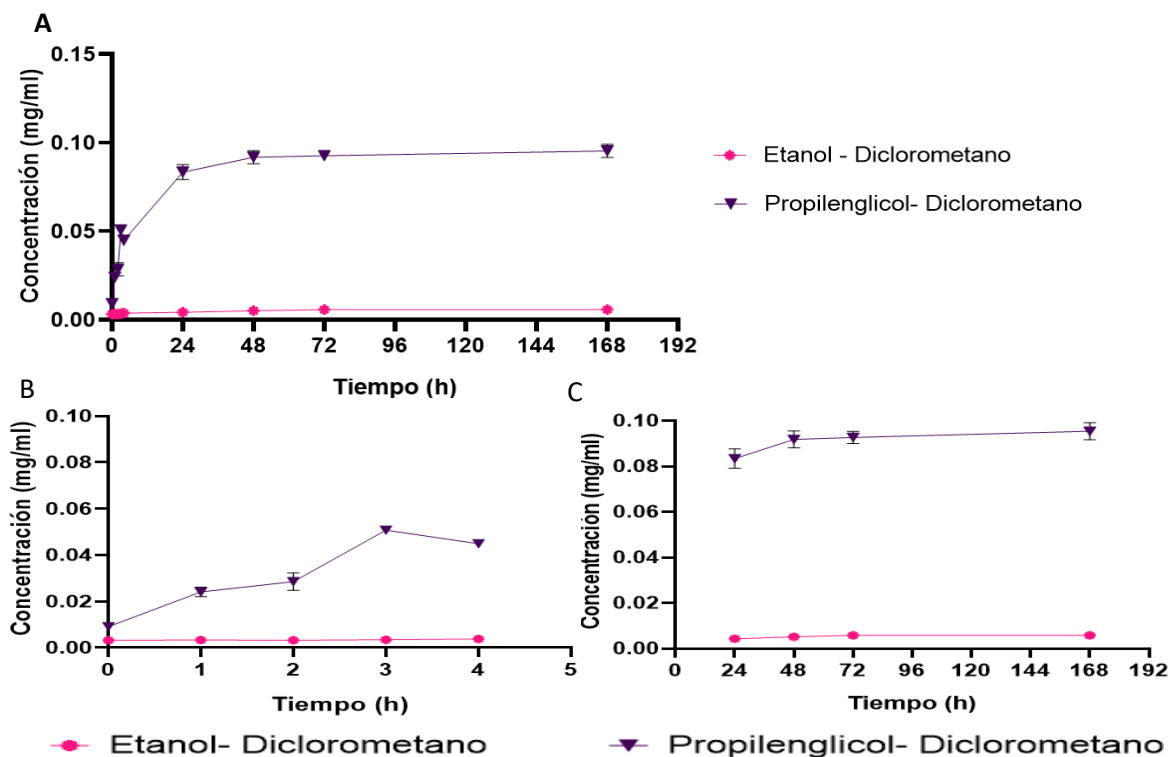


Figura 23 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

Se obtienen los perfiles de liberación con PLGA de peso molecular 38-54 kDa presentados en la Figura 24 donde, se observa que afectando el peso molecular no se incrementa la liberación en la mezcla etanol-diclorometano sin tener una liberación significativa en el medio oleoso. Por otra parte, la mezcla propilenglicol - diclorometano libera rápidamente en la primera hora con una velocidad de 0,0096 mg/ml*h posteriormente, la velocidad disminuye a 0,0065 mg/ml*h y entre la 3 y 4 hora vuelve a incrementar levemente a 0,0077 mg/ml*h y posteriormente se da la estabilización en el sistema.

Comparando los dos pesos moleculares estudiados se observa que pasadas las 24 horas con el peso molecular 7-17 kDa se ha liberado una menor concentración de colorante esto puede deberse a que se presentó una erosión del polímero más rápida

que con peso molecular 38-54 kDa.

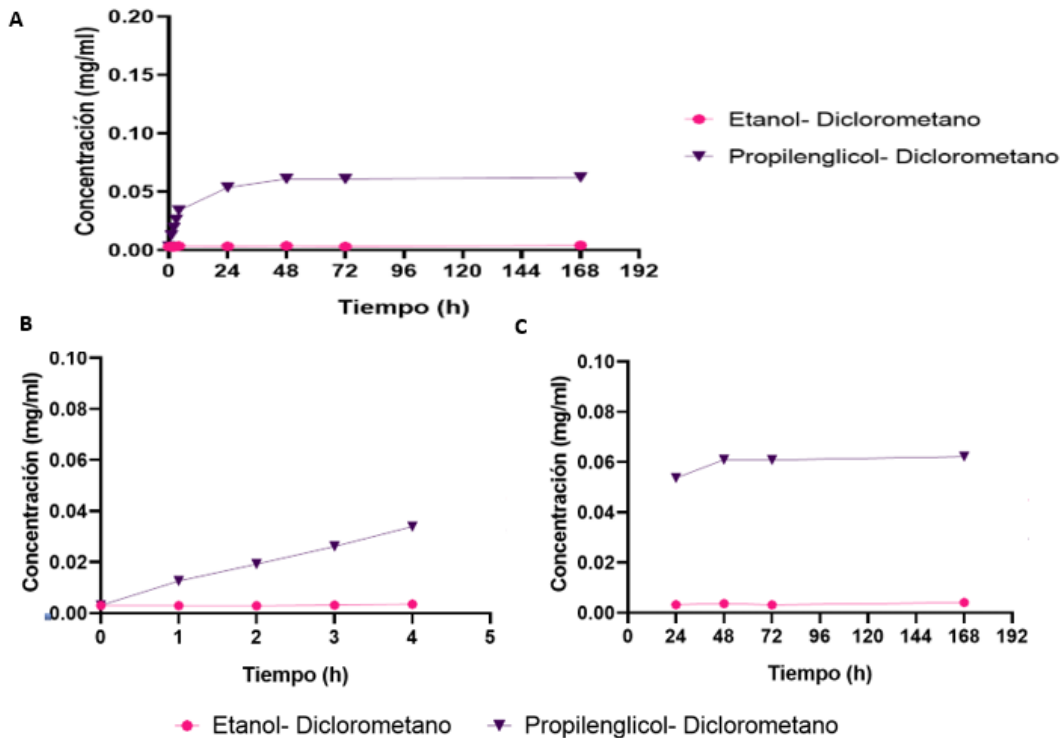


Figura 24 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-52 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

5.2.4 Dioxano

El dioxano es un solvente orgánico, incoloro, polar, miscible en etanol. Con usos en la industria de polímeros, surfactantes, poliésteres, resinas. Este compuesto está catalogado como cancerígeno en humanos [99]

5.2.4.1 Distribución de tamaño de partícula

Las partículas elaboradas con dioxano como solvente en el método de nanoprecipitación [100], obtuvieron variaciones en sus tamaños y polidispersidad dependiendo del no solvente y peso molecular del polímero.

Empleando PLGA de peso molecular 7-17 kDa, no presenta diferencias significativas ($p > 0,05$). La mezcla agua -dioxano obtuvo un tamaño promedio de $237,9 \pm 3.1$ nm con muestras monodispersas $PDI < 0,35$. La mezcla etanol - dioxano presento tamaños de partícula de $344,3 \pm 50,5$ nm con muestras polidispersas $PDI > 0,85$ lo cual, no es deseado para los fines de esta investigación, aunque, esta mezcla puede ser empleada para otras aplicaciones. Las partículas donde se empleo propilenglicol como no solvente, mejoro significativamente la dispersidad del tamaño de las partículas con $PDI < 0,3$ dando una muestra monodispersa con tamaños promedios de $225 \pm 131,5$ nm

Incrementando el peso molecular del polímero a 38-54 kDa, las diferencias que se presentan entre los diferentes ensayos realizados es significativa ($p < 0,05$), como se observa en la figura 25 La mezcla etanol – dioxano obtuvo el mayor tamaño de partícula $498,13 \pm 175,42$ nm con un índice de polidispersidad inferior a 0,4, mientras que la mezcla agua – dioxano disminuyo el tamaño de partícula a $279,43 \pm 8,52$ nm y el $PDI < 0,3$ por último, la mezcla propilenglicol - dioxano obtuvo el menor tamaño de partícula obtenido en todos los ensayos del presente estudio con alto peso molecular de polímero y baja polidispersidad con resultados de $152,7 \pm 38,5$ nm $PDI < 0,38$, otros autores han reportado tamaños inferiores a 100 nm empleando el dioxano como solvente en el método de nanoprecipitación [101]

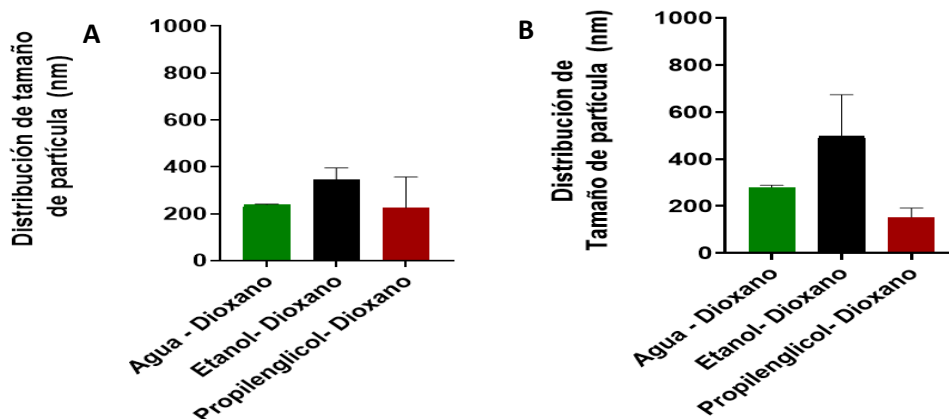


Figura 25 Distribución de tamaño de partícula con solvente dioxano A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.4.1 Porcentaje de eficiencia de encapsulación

El porcentaje de eficiencia de encapsulación con dioxano como solvente es bajo, pero con cambios significativos en la variación de no solvente y peso molecular ($p < 0,05$), la mezcla agua - dioxano presento los mejores resultados, como se observa en la Figura 26 encapsulando $4,46 \pm 0,58\%$ con peso molecular 7-17 kDa y con peso molecular 38-54 kDa un tamaño de $6,98 \pm 0,02 \%$.

La mezcla etanol- dioxano no encapsulo colorante en las partículas fabricadas con PLGA de peso molecular 7-17 kDa y peso molecular 38-54 kDa obteniendo valores de $0,236 \pm 0,02\%$ y $0,374 \pm 0,002\%$ respectivamente. Las partículas de propilenglicol – dioxano no superaron el 3% de eficiencia de encapsulación del colorante con ninguno de los pesos moleculares estudiados en este trabajo. Puede deberse a la interacción con el colorante oil red o con el polímero y el solvente, este colorante es soluble en solventes orgánicos lo que puede afectar la adhesión del colorante a las nanopartículas fabricadas, por esta razón las muestras con el colorante hidrófobo y agua en su fase acuosa tienen una mejor eficiencia de encapsulamiento.

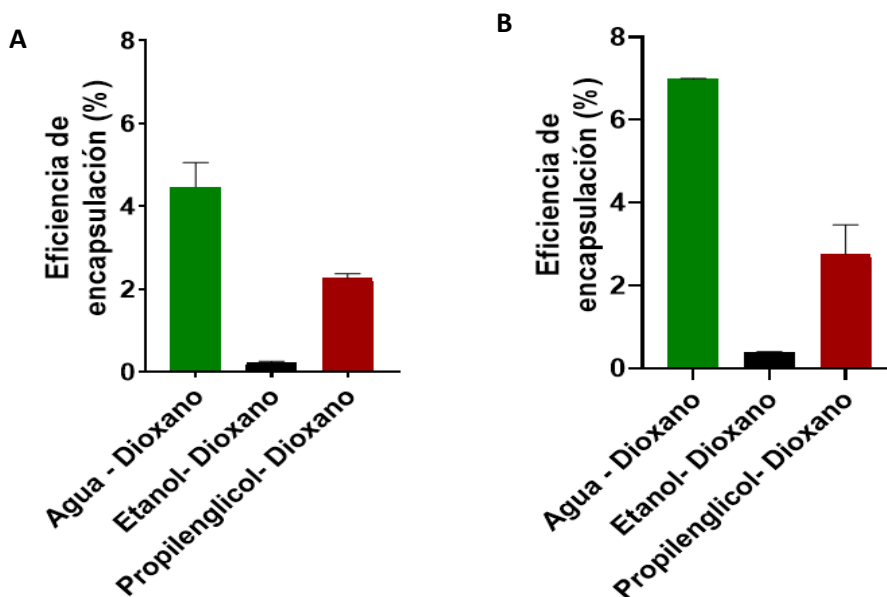


Figura 26 Porcentaje de eficiencia de encapsulación de oil red O con solvente dioxano
A) PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa B) PLGA 50:50 peso molecular 38- 54 kDa

5.2.4.1 Perfil de liberación

La liberación del colorante encapsulado por las partículas elaboradas con dioxano como solvente por el método de nanoprecipitación y PLGA con peso molecular 7 -17 kDa, se presentan en la Figura 27 con variaciones significativas ($p < 0,05$). La mezcla agua – dioxano en su primera hora no libera colorante sino, se da una pequeña disminución en su velocidad de liberación, pasado este tiempo su velocidad inicial incrementa a $0,0144 \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$ entre la 1 y 4 hora de liberación, aunque entre la hora 2 y 3 su velocidad es un poco mayor ($0,0192 \pm 5,44 \cdot 10^{-3} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$) se considera, que el colorante que libero fue por difusión a través de la matriz polimérica, pasado este tiempo la velocidad de liberación disminuye a $1,28 \cdot 10^{-4} \pm 4,09 \cdot 10^{-5} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$ a las 24h.

Las partículas de propilenglicol – dioxano, liberan una concentración muy baja de colorante al medio, esto puede asociarse a la baja eficiencia de encapsulamiento que presentan las muestras, durante la primera hora la velocidad de liberación del colorante fue de $5,42 \cdot 10^{-3} \pm 1,46 \cdot 10^{-3} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$ siendo la más rápida en el periodo de tiempo analizado, donde se pudo liberar el colorante adherido a la superficie de la partícula pasada las 24 horas no se presenta más liberación en el medio estabilizando la concentración en el mismo $7,46 \cdot 10^{-5} \pm 3,45 \cdot 10^{-5} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$.

Debido a que la mezcla propilenglicol – dioxano no encapsulo colorante en las partículas la liberación es casi nula, liberando las trazas adheridas, en su primera hora tuvo una velocidad de $0,001 \pm 3,02 \cdot 10^{-4} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$ para posteriormente tener velocidades de $3,82 \cdot 10^{-5} \pm 1,62 \cdot 10^{-5} \text{ mg/ml} \cdot \text{h}$.

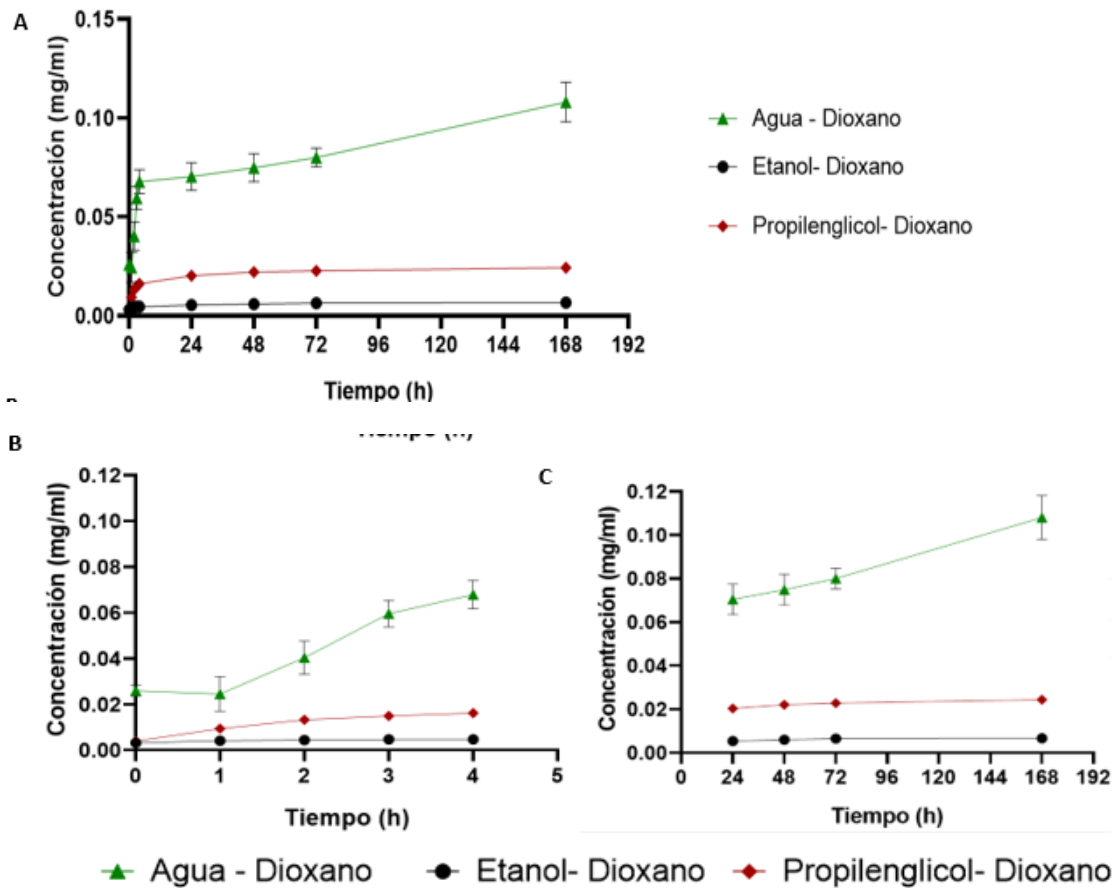
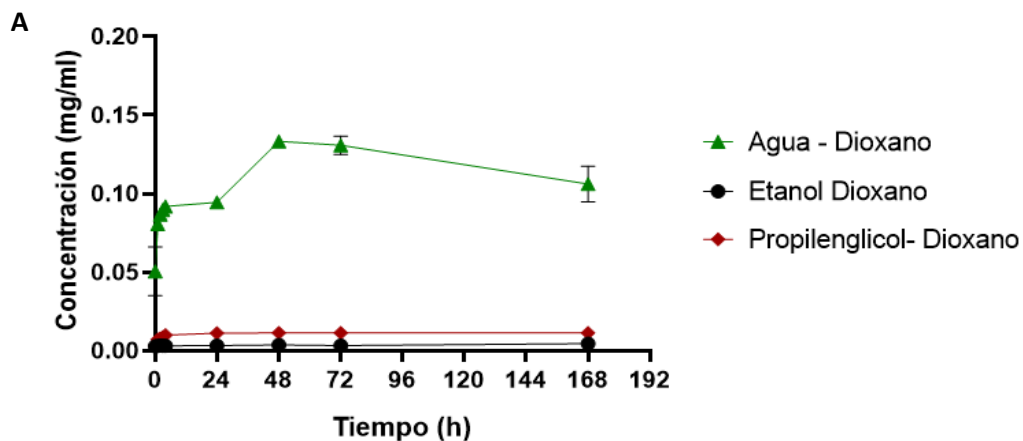


Figura 27 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 7-17 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

Los resultados obtenidos con PLGA de peso molecular 38 -54 kDa se muestran en la Figura 28 donde la mezcla agua – dioxano presenta un comportamiento trifásico, logrando una leve liberación pasada la primera etapa de estabilización, este comportamiento no fue habitual en los ensayos realizados en este trabajo, la primera hora de liberación se presenta el efecto burst, tiene una velocidad de liberación de $0,0301 \pm 0,0233$ mg/ml*h para una posterior estabilización desde la 3 hora hasta llegar a un velocidad de $1,32 \cdot 10^{-4} \pm 2,32 \cdot 10^{-5}$ mg/ml*h , a las 24 h y 48 h se presenta un leve aumento de velocidad de liberación, siendo representativo para la cantidad de concentración que se maneja en los ensayos $1,62 \cdot 10^{-3} \pm 1,74 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h.

Como respuesta a la baja eficiencia de encapsulación de colorante con la mezcla etanol-dioxano se obtienen los perfiles de liberación a bajas velocidades, en la primera hora la velocidad es de $1,47 \cdot 10^{-4} \pm 2,02 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h hasta obtener velocidades de $4,19 \cdot 10^{-6} \pm 5,69 \cdot 10^{-6}$ mg/ml*h valores no significativos en la liberación.

La mezcla propilenglicol – dioxano tiene un comportamiento similar cuando se emplea etanol como solvente en las primeras 4 horas con una velocidad inicial de $3,93 \cdot 10^{-3} \pm 4,41 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h hasta tener una velocidad de $7,07 \cdot 10^{-4} \pm 6,1 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h y ente la 3 y 4 hora se incrementa la velocidad a $1,40 \cdot 10^{-3} \pm 2,33 \cdot 10^{-4}$ mg/ml*h , esto puede darse a que en las primeras tres horas se libera el colorante adherido a la superficie hasta agotar esta concentración y posteriormente, se da la liberación del colorante encapsulado por medio difusivo, donde no se puede precisar si se presentó difusión a través de poros de la matriz polimérica o erosión de la misma.



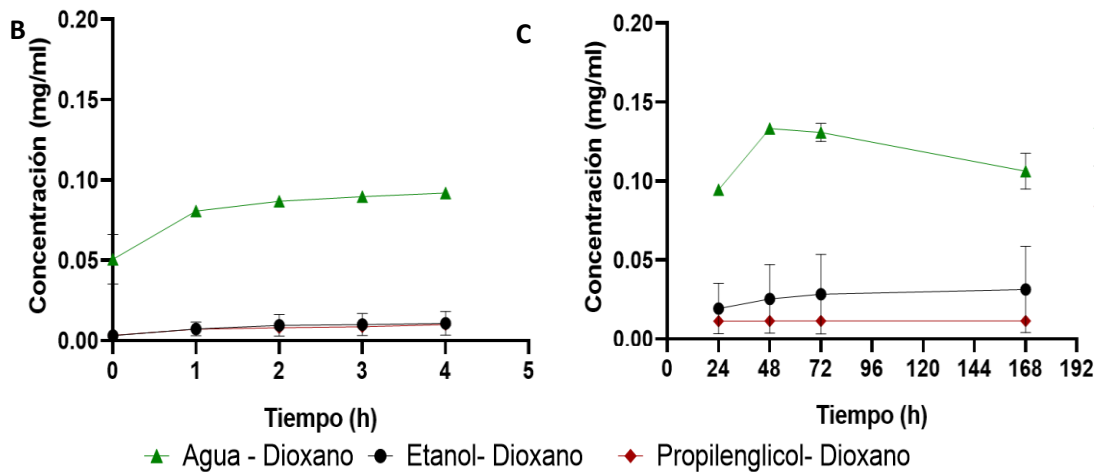


Figura 28 Perfil de liberación de oil red O con solvente diclorometano empleando PLGA 50:50 peso molecular 38-54 kDa A) en un tiempo de 0 – 168 h B) en un intervalo de 0 – 4 h C) en un intervalo de 24 -168h

5.3 Cinéticas de liberación

Para el modelamiento de la liberación del compuesto activo se han propuesto algunos modelos matemáticos como: orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell, Weibull y Korsmeyer-Peppas [85] que permiten describir la liberación del compuesto considerando algunos fenómenos involucrados en el proceso y usando hipótesis simplificadoras[102].

En la tabla 8 y Tabla 9 se presentan las ecuaciones obtenidas de las cinéticas de orden cero, primer orden, segundo orden, Higuchi y Korsmeyer -Peppas del peso molecular 7-17 kDa y 38-54 kDa respectivamente, estas ecuaciones permiten relacionar el tiempo de liberación, dentro de los rangos establecidos y la concentración de colorante Oil red O empleando los datos experimentales obtenidos, en un rango de tiempo de 0 – 168 h, obteniendo las ecuaciones de la liberación en tres lapsos de tiempo (de 0-168 h , 0-4 h y de 24-168h), las ecuaciones serán válidas en un medio de liberación oleoso y para sus respectivas combinaciones de solvente no solvente ya que cada ensayo presento diferencias entre sí.

La cinética de orden cero considera una idealidad de liberación constante en el tiempo, su modelo matemático está expresado como $Q_t = Kt + Q$ donde Q_t es la tasa de liberación en el tiempo, K la constante del modelo y t tiempo [102, 103] en los resultados obtenidos se considera el valor del coeficiente R^2 como parámetro para determinar el mejor modelo que aproxima el comportamiento de liberación en un periodo de tiempo determinado, entre más cercano sea este valor a 1 se considera que se ajustan los valores experimentales a los teóricos. Los datos obtenidos de la liberación con peso molecular de 7-17 kDa muestran que la mezcla agua-dioxano y propilenglicol - DMSO se adecuan al modelo de cinética de orden cero en los periodos de tiempo de 0-4 h con una mayor velocidad de liberación con una tendencia constante y de 24 – 168 h con valores de pendiente muy cercanos a cero indicando una liberación lenta en el transcurso del tiempo analizado, la mezcla etanol acetona presenta una liberación de colorante con tendencia constante durante las primeras 4 horas. Las partículas fabricadas con la mezcla etanol- diclorometano con peso molecular 38 -54 kDa de PLGA, ajusta a una cinética de orden cero en los tres análisis de tiempos realizados, mientras que la mezcla de etanol- dioxano se adapta a una cinética de orden cero en un análisis global de 0 – 168h y en el de 24- 168 h y la mezcla etanol – acetona y propilenglicol – DMSO tienen una liberación con tendencia constante durante las primeras 4 horas similar a lo obtenido con el peso molecular de 7-17 kDa.

El modelo cinético de primer orden presenta una dependencia de la concentración del compuesto activo encapsulado liberado de manera proporcional [104], en los resultados experimentales obtenidos ninguna de las combinaciones presenta una alta afinidad a este modelo matemático.

El modelo cinético de Higuchi expresa la liberación de compuestos activos de una matriz porosa [105] con las siguientes consideraciones: La concentración inicial del fármaco es mayor mucho mayor que la solubilidad de este, la difusión del fármaco se considera en una sola dimensión, se desprecia el hinchamiento de la matriz y su disolución, la difusividad del fármaco es constante [106] según los datos las mezclas agua – DMSO,

propilenglicol – acetona, propilenglicol -diclorometano, propilenglicol – dioxano con un peso molecular de 7 – 17 kDa en las primeras cuatro horas en el cual, se ajustan mejor al modelo de Higuchi, esta basado en un proceso de difusión en la ley de Fick dependiente del tiempo [105] ; con el peso molecular de 38-54 kDa se obtiene que la mezcla de propilenglicol – acetona su comportamiento de 0- 168h en una visión global se adapta a este modelo, igualmente la mezcla de propilenglicol-diclorometano en las primeras cuatro horas y propilenglicol -DMSO entre 24 -168h .

Korsmeyer -Peppas es el modelo se ajusta a la mayoría de los resultados experimentales que se obtuvieron al liberar el colorante de ambos pesos moleculares, exceptuando las mezclas mencionadas anteriormente, este modelo matemático simple conocido como ley de potencia considera: la difusión, hinchamiento de la matriz, la disolución de la matriz polimérica [107, 108], su estructura esféricas y un mecanismo principal de transporte como difusión fickiana teniendo en cuenta esto se emplea un exponente difusional (n) =0,43 [109], siendo el mejor ajuste a los datos experimentales dentro de los diferentes modelos analizados en la presente investigación, aunque se asumen y simplifican algunas características del procesos de liberación este modelo permite ajustar el comportamiento obtenido experimentalmente.

Tabla 8 Cinéticas de liberación en medio oleoso de colorante Oil red O encapsulado en partículas de PLGA con peso molecular 7-17

kDa

		Agua- Acetona	Agua - DMSO	Agua - Dioxano	Etanol-Acetona	Etanol-DMSO	Etanol-Diclorometano	Etanol- Dioxano	Propilenglicol-Acetona	Propilenglicol-DMSO	Propilenglicol-Diclorometano	Propilenglicol-Dioxano
Cinética orden cero	0-168h	$y = 8E-05x - 0,0104$ $R^2 = 0,6048$	$y = 0,0004x - 0,057$ $R^2 = 0,4456$	$y = 0,0004x - 0,0529$ $R^2 = 0,6249$	$y = 8E-05x - 0,0099$ $R^2 = 0,5221$	$y = 0,0005x - 0,0558$ $R^2 = 0,5037$	$y = 2E-05x - 0,0022$ $R^2 = 0,7374$	$y = 2E-05x - 0,0022$ $R^2 = 0,6556$	$y = 0,0002x - 0,0275$ $R^2 = 0,5031$	$y = 0,0004x - 0,0534$ $R^2 = 0,381$	$y = 0,0004x - 0,0516$ $R^2 = 0,5169$	$y = 9E-05x - 0,0111$ $R^2 = 0,5109$
	0-4 h	$y = 0,0017x - 0,0152$ $R^2 = 0,8944$	$y = 0,0178x - 0,0942$ $R^2 = 0,8068$	$y = 0,0119x - 0,0805$ $R^2 = 0,9236$	$y = 0,0026x - 0,0168$ $R^2 = 0,9573$	$y = 0,0104x - 0,0888$ $R^2 = 0,84$	$y = 0,0001x - 0,0026$ $R^2 = 0,7071$	$y = 0,0004x - 0,0032$ $R^2 = 0,8005$	$y = 0,0061x - 0,0454$ $R^2 = 0,9646$	$y = 0,0209x - 0,1067$ $R^2 = 0,9961$	$y = 0,0098x - 0,082$ $R^2 = 0,8657$	$y = 0,003x - 0,0188$ $R^2 = 0,9181$
	24-168h	$y = 3E-05x - 0,0046$ $R^2 = 0,333$	$y = 0,0003x - 0,0473$ $R^2 = 0,9654$	$y = 0,0002x - 0,0352$ $R^2 = 0,9996$	$y = 2E-05x - 0,0033$ $R^2 = 0,6177$	$y = 4E-05x - 0,0064$ $R^2 = 0,9049$	$y = 8E-06x - 0,0012$ $R^2 = 0,5573$	$y = 8E-06x - 0,0012$ $R^2 = 0,7111$	$y = 3E-05x - 0,004$ $R^2 = 0,7363$	$y = 3E-05x - 0,0059$ $R^2 = 0,8506$	$y = 5E-05x - 0,0075$ $R^2 = 0,4873$	$y = 2E-05x - 0,0039$ $R^2 = 0,8685$
Cinética primer orden	0-168h	$y = 0,0028x - 0,3401$ $R^2 = 0,5774$	$y = 0,0033x - 0,4953$ $R^2 = 0,3096$	$y = 0,0061x - 0,8229$ $R^2 = 0,4492$	$y = 0,0019x - 0,2375$ $R^2 = 0,4785$	$y = 0,0107x - 1,2547$ $R^2 = 0,3665$	$y = 0,0038x - 0,4801$ $R^2 = 0,7057$	$y = 0,0033x - 0,4193$ $R^2 = 0,5659$	$y = 0,0073x - 0,8599$ $R^2 = 0,3563$	$y = 0,0063x - 0,742$ $R^2 = 0,2595$	$y = 0,0087x - 1,0209$ $R^2 = 0,2595$	$y = 0,0059x - 0,7233$ $R^2 = 0,2595$
	0-4 h	$y = 0,0675x - 0,522$ $R^2 = 0,909$	$y = 0,215x - 0,9552$ $R^2 = 0,7812$	$y = 0,281x - 1,4791$ $R^2 = 0,9131$	$y = 0,0729x - 0,4227$ $R^2 = 0,9525$	$y = 0,481x - 2,5045$ $R^2 = 0,8704$	$y = 0,0346x - 0,6087$ $R^2 = 0,7097$	$y = 0,0916x - 0,6574$ $R^2 = 0,7666$	$y = 0,347x - 1,7436$ $R^2 = 0,8582$	$y = 0,4335x - 1,7749$ $R^2 = 0,9069$	$y = 0,3944x - 2,0367$ $R^2 = 0,8355$	$y = 0,3263x - 1,5062$ $R^2 = 0,8117$
	24-168h	$y = 0,001x - 0,1398$ $R^2 = 0,3322$	$y = 0,002x - 0,3453$ $R^2 = 0,9711$	$y = 0,0024x - 0,4088$ $R^2 = 0,9992$	$y = 0,0005x - 0,0712$ $R^2 = 0,6136$	$y = 0,481x - 2,5045$ $R^2 = 0,8704$	$y = 0,0016x - 0,2281$ $R^2 = 0,5405$	$y = 0,0012x - 0,1843$ $R^2 = 0,6941$	$y = 0,0005x - 0,0761$ $R^2 = 0,7248$	$y = 0,0003x - 0,0483$ $R^2 = 0,8491$	$y = 0,0006x - 0,0841$ $R^2 = 0,4788$	$y = 0,0011x - 0,1725$ $R^2 = 0,8472$
Cinética Segundo orden	0-168h	$y = -0,0929x + 11,336$ $R^2 = 0,5454$	$y = -0,034x + 4,7026$ $R^2 = 0,2085$	$y = -0,1164x + 14,825$ $R^2 = 0,3146$	$y = -0,0471x + 5,7485$ $R^2 = 0,4346$	$y = -0,3946x + 45,436$ $R^2 = 0,174$	$y = -0,8699x + 109,28$ $R^2 = 0,6698$	$y = -0,6466x + 81,294$ $R^2 = 0,466$	$y = -0,3018x + 34,969$ $R^2 = 0,1937$	$y = -0,1208x + 13,924$ $R^2 = 0,1455$	$y = -0,2474x + 28,547$ $R^2 = 0,1853$	$y = -0,4983x + 58,992$ $R^2 = 0,1756$
	0-4 h	$y = -2,6391x + 18,282$ $R^2 = 0,922$	$y = -2,7561x + 10,68$ $R^2 = 0,7395$	$y = -7,1587x + 31,478$ $R^2 = 0,8795$	$y = -2,0195x + 10,791$ $R^2 = 0,9458$	$y = -32,602x + 121,26$ $R^2 = 0,6941$	$y = -10,063x + 144,71$ $R^2 = 0,7116$	$y = -23,591x + 140,51$ $R^2 = 0,7325$	$y = -23,581x + 90,109$ $R^2 = 0,7226$	$y = -11,65x + 40,407$ $R^2 = 0,7329$	$y = -19,776x + 74,664$ $R^2 = 0,7088$	$y = -41,611x + 154,27$ $R^2 = 0,6927$
	24-168h	$y = -0,0318x + 4,2547$ $R^2 = 0,3315$	$y = -0,0147x + 2,5362$ $R^2 = 0,9765$	$y = -0,0289x + 4,7869$ $R^2 = 0,9946$	$y = -0,0106x + 1,5268$ $R^2 = 0,6093$	$y = -0,005x + 0,789$ $R^2 = 0,8919$	$y = -0,3204x + 45,112$ $R^2 = 0,5231$	$y = -0,2035x + 30,068$ $R^2 = 0,6768$	$y = -0,0095x + 1,4401$ $R^2 = 0,7134$	$y = -0,0022x + 0,3954$ $R^2 = 0,8476$	$y = -0,0067x + 0,9445$ $R^2 = 0,4706$	$y = -0,0489x + 7,6212$ $R^2 = 0,8248$
Cinética Higuchi	0-168h	$y = 0,0341x + 0,6511$ $R^2 = 0,8167$	$y = 0,0335x + 0,5698$ $R^2 = 0,5614$	$y = 0,0522x + 0,3739$ $R^2 = 0,7828$	$y = 0,0257x + 0,7411$ $R^2 = 0,7623$	$y = 0,0787x + 0,2342$ $R^2 = 0,7544$	$y = 0,0417x + 0,5459$ $R^2 = 0,9143$	$y = 0,0379x + 0,592$ $R^2 = 0,8736$	$y = 0,0662x + 0,3573$ $R^2 = 0,7646$	$y = 0,0586x + 0,4416$ $R^2 = 0,6212$	$y = 0,0725x + 0,297$ $R^2 = 0,7755$	$y = 0,0557x + 0,4277$ $R^2 = 0,7506$
	0-4 h	$y = 0,0838x + 0,5795$ $R^2 = 0,695$	$y = 0,2472x + 0,3197$ $R^2 = 0,9154$	$y = 0,2128x + 0,1734$ $R^2 = 0,7282$	$y = 0,1082x + 0,6292$ $R^2 = 0,9171$	$y = 0,2079x + 0,0144$ $R^2 = 0,707$	$y = 0,0358x + 0,54$ $R^2 = 0,5202$	$y = 0,1196x + 0,4818$ $R^2 = 0,9675$	$y = 0,2264x + 0,1151$ $R^2 = 0,9855$	$y = 0,3282x + 0,0752$ $R^2 = 0,9327$	$y = 0,2124x + 0,0742$ $R^2 = 0,8695$	$y = 0,2582x + 0,1569$ $R^2 = 0,9908$
	24-168h	$y = 0,02x + 0,7811$ $R^2 = 0,4514$	$y = 0,0313x + 0,5721$ $R^2 = 0,9079$	$y = 0,038x + 0,4956$ $R^2 = 0,9782$	$y = 0,0095x + 0,8891$ $R^2 = 0,7339$	$y = 0,0083x + 0,8957$ $R^2 = 0,966$	$y = 0,0289x + 0,6684$ $R^2 = 0,6826$	$y = 0,0224x + 0,733$ $R^2 = 0,8169$	$y = 0,0095x + 0,8852$ $R^2 = 0,8394$	$y = 0,0047x + 0,9345$ $R^2 = 0,7712$	$y = 0,0116x + 0,8675$ $R^2 = 0,6101$	$y = 0,0195x + 0,7566$ $R^2 = 0,9415$
Cinética Peppas	0-168h	$y = 0,0501x + 0,6317$ $R^2 = 0,843$	$y = 0,0499x + 0,5484$ $R^2 = 0,5956$	$y = 0,0766x + 0,3442$ $R^2 = 0,8084$	$y = 0,0383x + 0,7249$ $R^2 = 0,8061$	$y = 4,0347x - 0,4929$ $R^2 = 0,975$	$y = 0,0607x + 0,5241$ $R^2 = 0,9254$	$y = 0,0559x + 0,5697$ $R^2 = 0,9092$	$y = 0,0985x + 0,3151$ $R^2 = 0,811$	$y = 0,0882x + 0,4012$ $R^2 = 0,6724$	$y = 0,1077x + 0,2518$ $R^2 = 0,8185$	$y = 0,0831x + 0,3918$ $R^2 = 0,7985$
	0-4 h	$y = 0,0888x + 0,5801$ $R^2 = 0,6484$	$y = 0,2711x + 0,3109$ $R^2 = 0,915$	$y = 0,2251x + 0,1754$ $R^2 = 0,6773$	$y = 0,1169x + 0,6275$ $R^2 = 0,8888$	$y = 2,9659x - 0,3066$ $R^2 = 0,9565$	$y = 0,0378x + 0,5404$ $R^2 = 0,4822$	$y = 0,1322x + 0,4764$ $R^2 = 0,9818$	$y = 0,2462x + 0,1094$ $R^2 = 0,9695$	$y = 0,3542x + 0,0702$ $R^2 = 0,903$	$y = 0,2306x + 0,0694$ $R^2 = 0,8516$	$y = 0,2822x + 0,1488$ $R^2 = 0,984$
	24-168h	$y = 0,0323x + 0,7499$ $R^2 = 0,4706$	$y = 0,0491x + 0,5315$ $R^2 = 0,8965$	$y = 0,0597x + 0,4454$ $R^2 = 0,9719$	$y = 0,0152x + 0,8751$ $R^2 = 0,7505$	$y = 6,3298x - 1,2799$ $R^2 = 1$	$y = 0,0462x + 0,6254$ $R^2 = 0,7012$	$y = 0,0356x + 0,7007$ $R^2 = 0,8314$	$y = 0,0151x + 0,8715$ $R^2 = 0,8538$	$y = 0,0073x + 0,9286$ $R^2 = 0,7572$	$y = 0,0185x + 0,8501$ $R^2 = 0,6291$	$y = 0,0309x + 0,7293$ $R^2 = 0,9504$

Tabla 9 Cinéticas de liberación en medio oleoso de colorante Oil red O encapsulado en partículas de PLGA con peso molecular 38-54 kDa

		Agua- Acetona	Agua - DMSO	Agua - Dioxano	Etanol-Acetona	Etanol-DMSO	Etanol-Diclorometano	Etanol- Dioxano	Propilenglicol-Acetona	Propilenglicol-DMSO	Propilenglicol-Diclorometano	Propilenglicol-Dioxano
Cinética orden cero	0-168h	$y = 0,0004x - 0,0537$ $R^2 = 0,4163$	$y = 0,0002x - 0,0347$ $R^2 = 0,0754$	$y = 0,0002x - 0,0457$ $R^2 = 0,2716$	$y = 0,0004x - 0,0515$ $R^2 = 0,5886$	$y = 0,0005x - 0,0612$ $R^2 = 0,7271$	$y = 6E-06x - 0,001$ $R^2 = 0,6489$	$y = 9E-06x - 0,0015$ $R^2 = 0,8974$	$y = 0,0001x - 0,0237$ $R^2 = 0,9193$	$y = 0,0102x - 1,1803$ $R^2 = 0,2717$	$y = 0,0059x - 0,7091$ $R^2 = 0,3028$	$y = 3E-05x - 0,0032$ $R^2 = 0,3168$
	0-4 h	$y = 0,0124x - 0,091$ $R^2 = 0,8398$	$y = 0,025x - 0,0938$ $R^2 = 0,6485$	$y = 0,0091x - 0,0716$ $R^2 = 0,7309$	$y = 0,0073x - 0,0754$ $R^2 = 0,9734$	$y = 0,005x - 0,0785$ $R^2 = 0,8145$	$y = 1E-04x - 0,0012$ $R^2 = 0,5263$	$y = 6E-05x - 0,0016$ $R^2 = 0,6064$	$y = 0,0014x - 0,027$ $R^2 = 0,8294$	$y = 0,6537x - 2,7659$ $R^2 = 0,8892$	$y = -0,0367x - 0,7865$ $R^2 = 0,0101$	$y = 0,0015x - 0,007$ $R^2 = 0,8683$
	24-168h	$y = -2E-05x - 0,0036$ $R^2 = 0,0629$	$y = -0,0001x + 0,0031$ $R^2 = 0,7514$	$y = -3E-05x - 0,0149$ $R^2 = 0,0084$	$y = 9E-05x - 0,0128$ $R^2 = 0,5257$	$y = 0,0002x - 0,0303$ $R^2 = 0,7611$	$y = 5E-06x - 0,001$ $R^2 = 0,5872$	$y = 9E-06x - 0,0016$ $R^2 = 0,8632$	$y = 0,0001x - 0,0203$ $R^2 = 0,9491$	$y = 0,0001x - 0,0252$ $R^2 = 0,3343$	$y = 0,0102x - 1,1803$ $R^2 = 0,2717$	$y = 0,0007x - 0,1051$ $R^2 = 0,4657$
Cinética primer orden	0-168h	$y = 0,0048x - 0,6039$ $R^2 = 0,3269$	$y = 0,0023x - 0,3349$ $R^2 = 0,0695$	$y = 0,0026x - 0,4551$ $R^2 = 0,2557$	$y = 0,0113x - 1,343$ $R^2 = 0,3906$	$y = 0,012x - 1,4851$ $R^2 = 0,4546$	$y = 0,0016x - 0,2813$ $R^2 = 0,6192$	$y = 0,0022x - 0,3921$ $R^2 = 0,8858$	$y = 0,0099x - 1,4472$ $R^2 = 0,6642$	$y = 0,0102x - 1,1803$ $R^2 = 0,2717$	$y = 0,0101x - 1,1886$ $R^2 = 0,3196$	$y = 0,0035x - 0,4009$ $R^2 = 0,2287$
	0-4 h	$y = 0,2233x - 1,1915$ $R^2 = 0,7483$	$y = 0,2985x - 1,0175$ $R^2 = 0,5861$	$y = 0,1298x - 0,7928$ $R^2 = 0,6849$	$y = 0,488x - 2,6009$ $R^2 = 0,8567$	$y = 0,4122x - 2,5631$ $R^2 = 0,6896$	$y = 0,3070x - 0,3422$ $R^2 = 0,5162$	$y = 0,0201x - 0,4283$ $R^2 = 0,611$	$y = 0,2392x - 2,0502$ $R^2 = 0,7502$	$y = 0,6537x - 2,7659$ $R^2 = 0,8892$	$y = 0,5527x - 2,5547$ $R^2 = 0,8555$	$y = 0,2426x - 0,9792$ $R^2 = 0,7658$
	24-168h	$y = -0,0001x - 0,0275$ $R^2 = 0,0634$	$y = -0,0008x + 0,0204$ $R^2 = 0,7622$	$y = -0,0001x - 0,1358$ $R^2 = 0,0032$	$y = 0,0012x - 0,1761$ $R^2 = 0,5051$	$y = 0,0028x - 0,4231$ $R^2 = 0,7064$	$y = 0,0015x - 0,2695$ $R^2 = 0,5555$	$y = 0,0022x - 0,3888$ $R^2 = 0,85$	$y = 0,0052x - 0,8931$ $R^2 = 0,9591$	$y = 0,0001x - 0,0252$ $R^2 = 0,3343$	$y = 0,0007x - 0,1051$ $R^2 = 0,4657$	$y = 8E-05x - 0,0124$ $R^2 = 0,4746$
Cinética Segundo orden	0-168h	$y = -0,0645x + 7,7587$ $R^2 = 0,2152$	$y = -0,0315x + 4,0529$ $R^2 = 0,064$	$y = -0,0302x + 4,7825$ $R^2 = 0,2161$	$y = -0,5301x + 61,095$ $R^2 = 0,154$	$y = -0,5494x + 64,207$ $R^2 = 0,1554$	$y = -0,4526x + 79,117$ $R^2 = 0,5885$	$y = -0,5889x + 100,91$ $R^2 = 0,8657$	$y = -0,9098x + 118,22$ $R^2 = 0,3335$	$y = -0,4151x + 47,3$ $R^2 = 0,1098$	$y = -0,6296x + 72,124$ $R^2 = 0,1243$	$y = -0,4876x + 56,056$ $R^2 = 0,1531$
	0-4 h	$y = -4,3743x + 18,326$ $R^2 = 0,6646$	$y = -4,254x + 13,547$ $R^2 = 0,542$	$y = -1,8988x + 9,4344$ $R^2 = 0,6434$	$y = -46,88x + 168,71$ $R^2 = 0,6636$	$y = -45,562x + 169,04$ $R^2 = 0,5832$	$y = -9,5849x + 98,687$ $R^2 = 0,5048$	$y = -6,369x + 113,63$ $R^2 = 0,6152$	$y = -46,29x + 228,94$ $R^2 = 0,671$	$y = -45,196x + 148,7$ $R^2 = 0,6508$	$y = -63,133x + 214,89$ $R^2 = 0,6437$	$y = -43,333x + 155,73$ $R^2 = 0,6686$
	24-168h	$y = 0,001x + 0,2122$ $R^2 = 0,0638$	$y = 0,0054x - 0,1362$ $R^2 = 0,7726$	$y = 0,0004x + 1,2491$ $R^2 = 0,0003$	$y = -0,017x + 2,4298$ $R^2 = 0,4859$	$y = -0,0408x + 6,0248$ $R^2 = 0,6512$	$y = -0,4034x + 73,65$ $R^2 = 0,5239$	$y = -0,547x + 96,187$ $R^2 = 0,8344$	$y = -0,2372x + 40,802$ $R^2 = 0,9658$	$y = -0,0013x + 0,2297$ $R^2 = 0,3327$	$y = -0,0126x + 1,8042$ $R^2 = 0,456$	$y = -0,0071x + 1,0883$ $R^2 = 0,4739$
Cinética Higuchi	0-168h	$y = 0,0517x + 0,4808$ $R^2 = 0,6899$	$y = 0,0258x + 0,7217$ $R^2 = 0,2146$	$y = 0,0316x + 0,5824$ $R^2 = 0,5149$	$y = 0,0802x + 0,1961$ $R^2 = 0,8384$	$y = 0,1777x + 0,0256$ $R^2 = 0,9266$	$y = 0,0173x + 0,728$ $R^2 = 0,6197$	$y = 0,0226x + 0,6392$ $R^2 = 0,8189$	$y = 0,0613x + 0,1391$ $R^2 = 0,9553$	$y = 0,0746x + 0,2951$ $R^2 = 0,7004$	$y = 0,0757x + 0,2624$ $R^2 = 0,7815$	$y = 0,0412x + 0,6232$ $R^2 = 0,5493$
	0-4 h	$y = 0,2045x + 0,251$ $R^2 = 0,9858$	$y = 0,3545x + 0,3009$ $R^2 = 0,8884$	$y = 0,1573x + 0,4065$ $R^2 = 0,9378$	$y = 0,1777x + 0,0256$ $R^2 = 0,9266$	$y = 0,127x + 0,0538$ $R^2 = 0,967$	$y = 0,0353x + 0,7132$ $R^2 = 0,2775$	$y = 0,0302x + 0,6417$ $R^2 = 0,745$	$y = 0,0952x + 0,1045$ $R^2 = 0,9744$	$y = 0,2875x - 0,0233$ $R^2 = 0,8869$	$y = 0,2378x + 0,0131$ $R^2 = 0,9423$	$y = 0,283x + 0,3033$ $R^2 = 0,9821$
	24-168h	$y = -0,0011x + 0,9729$ $R^2 = 0,0152$	$y = -0,0139x + 1,0735$ $R^2 = 0,7015$	$y = 0,0014x + 0,8605$ $R^2 = 0,0011$	$y = 0,0225x + 0,7395$ $R^2 = 0,646$	$y = 0,0451x + 0,4544$ $R^2 = 0,862$	$y = 0,0235x + 0,6671$ $R^2 = 0,5384$	$y = 0,0339x + 0,5304$ $R^2 = 0,8036$	$y = 0,0661x + 0,0906$ $R^2 = 0,8774$	$y = 0,0027x + 0,9641$ $R^2 = 0,3436$	$y = 0,0141x + 0,8376$ $R^2 = 0,5927$	$y = 0,0016x + 0,9807$ $R^2 = 0,5564$
Cinética Peppas	0-168h	$y = 0,0776x + 0,4458$ $R^2 = 0,7433$	$y = 0,0412x + 0,6961$ $R^2 = 0,2613$	$y = 0,0479x + 0,5596$ $R^2 = 0,5648$	$y = 0,1185x + 0,1484$ $R^2 = 0,8745$	$y = 0,1144x + 0,1001$ $R^2 = 0,9551$	$y = 0,0247x + 0,7204$ $R^2 = 0,6066$	$y = 0,0322x + 0,6297$ $R^2 = 0,7965$	$y = 0,0884x + 0,1097$ $R^2 = 0,9506$	$y = 0,1114x + 0,2464$ $R^2 = 0,7477$	$y = 0,1125x + 0,2151$ $R^2 = 0,825$	$y = 0,0625x + 0,5929$ $R^2 = 0,606$
	0-4 h	$y = 0,2255x + 0,2424$ $R^2 = 0,9961$	$y = 0,396x + 0,28$ $R^2 = 0,9213$	$y = 0,1748x + 0,3983$ $R^2 = 0,9623$	$y = 0,1922x + 0,0225$ $R^2 = 0,9007$	$y = 0,14x + 0,0484$ $R^2 = 0,977$	$y = 0,0357x + 0,7154$ $R^2 = 0,2361$	$y = 0,0334x + 0,6403$ $R^2 = 0,7575$	$y = 0,1049x + 0,1006$ $R^2 = 0,9828$	$y = 0,3087x - 0,0259$ $R^2 = 0,8501$	$y = 0,2569x + 0,0092$ $R^2 = 0,9141$	$y = 0,3112x + 0,2923$ $R^2 = 0,9871$
	24-168h	$y = -0,0015x + 0,9726$ $R^2 = 0,0107$	$y = -0,0218x + 1,0915$ $R^2 = 0,6925$	$y = 0,0035x + 0,8507$ $R^2 = 0,0028$	$y = 0,036x + 0,706$ $R^2 = 0,6643$	$y = 0,0717x + 0,3898$ $R^2 = 0,8757$	$y = 0,0367x + 0,637$ $R^2 = 0,5302$	$y = 0,0531x + 0,4867$ $R^2 = 0,7926$	$y = 0,1033x + 0,0061$ $R^2 = 0,8637$	$y = 0,0042x + 0,9605$ $R^2 = 0,3428$	$y = 0,0226x + 0,8164$ $R^2 = 0,6108$	$y = 0,0025x + 0,9784$ $R^2 = 0,5688$

5.4 Morfología de las partículas

Se realizó la microscopia electronica de barrido (SEM) unicamente a las partículas que emplearon DMSO como solvente para observar la variación morfologica que se dan con el cambio de no solvente y peso molecular del polimero. En la Figura 29 se aprecia los diferentes aglomerados que se formaron. Las partículas con peso molecular de 38-54 KDa presentan una tendencia de generar estructuras con mayor partículas aglomeradas entre si, con morfología amorfa.

Las partículas de la mezcla agua – DMSO con peso molecular 7- 17 KDa (Figura 29A) se observan pequeños aglomerados con longitudes aproximadas desde 0,7 – 5,0 μm , las partículas con el peso molecular de 38- 54 KDa en la Figura 29B, se muestra que generan un aglomerado de mayor tamaño identificando diferentes estructuras esferas alargadas poco definidas con un tamaño aproximado entre 400 – 700nm similar a los valores obtenidos por DLS. su aumento en la aglomeración se puede deber a las condiciones en las que se expusos las muestras para su secado.

Las partículas fabricadas con etanol- DMSO con peso molecular de 7-17 KDa y 38-54 KDa (Figura 29C, Figura 29D) presentan una morfología amorfa, de gran tamaño en el peso molecular 7-17 KDa se presenta una mayor aglomeración mientras que la muestra de mayor peso molecular corrobora la información obtenida en el DLS donde, las partículas obtenidas tienen un tamaño mucho mayor al esperado. La morfología de las partículas con propilenglicol – DMSO tienen una forma ovalada, con una aglomeración significativa con respecto a las mezclas agua –DMSO y etanol –DMSO y un menor tamaño de las partículas adheridas a la macroestructura.

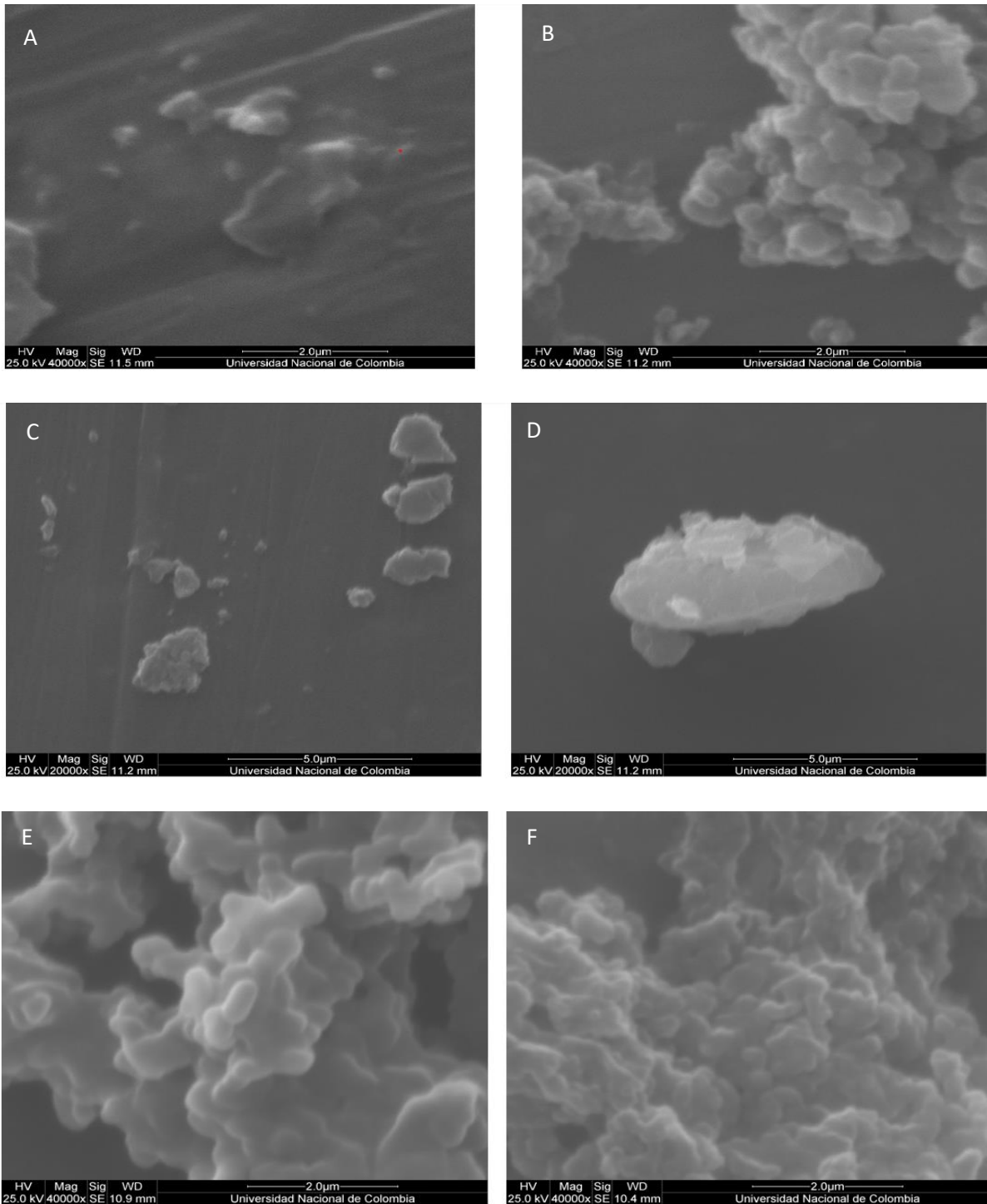


Figura 29 Micrografía SEM A) agua-DMSO peso molecular 7-17 KDa. B) agua – DMSO peso molecular 38- 54 KDa, C) etanol – DMSO peso molecular 7-17 KDa, D) etanol-DMSO peso molecular 38-54 KDa, E) propilenglicol -DMSO peso molecular 7-17 KDa, F) propilenglicol – DMSO peso molecular 38-54 KDa

Conclusiones

En el presente estudio se evaluaron los efectos del peso molecular del biopolímero y la selección solvente no solvente en el tamaño de partícula, eficiencia de encapsulación y perfiles de liberación, como resultado se obtuvo la confirmación que estos factores influyen en las variables respuestas como el incremento en el peso molecular aumenta la distribución de tamaño de partícula y se da una mayor polidispersidad en las muestras evaluadas ($PDI > 0,3$).

Para obtener resultados comparativos en el análisis de variación de solvente -no solvente y peso molecular de polímero, se empleó una concentración inicial fija de 1.0 mg/ml, la cual se seleccionó por obtener el menor tamaño de partícula y la mejor eficiencia de encapsulación entre los ensayos realizados a diferentes concentraciones de colorante, utilizando agua -acetona, la mezcla más usada en literatura para el método de nanoprecipitación.

Las propiedades de los solventes - no solventes como la constante dieléctrica influyen en el tamaño de la partícula e incrementan la eficiencia de encapsulamiento de igual forma las interacciones de estas permiten acelerar o disminuir un poco el efecto burst en la etapa inicial del perfil bifásico de liberación obtenidos en los diferentes ensayos.

La combinación no solvente -solvente que mayor concentración de oil red O libero en el aceite mineral fue la mezcla agua – DMSO, principalmente en la primera etapa rápida o efecto burst.

La cinética que mejor se adapta a la mayoría de las combinaciones estudiadas de solvente- no solvente y los dos pesos moleculares es la cinética de Korsmeyer-Peppas, considerando como mecanismo principal de transporte la difusión fickiana con estructura esférica.

La morfología observada de seis diferentes muestras que tienen en común el DMSO como solvente mostro aglomeración de partículas formando macroestructuras, influyendo el proceso de secado en incrementar la formación de estas estructuras

Los resultados obtenidos en estos estudios son viables para la aplicación en el área farmacéutica y cosmética donde de libere en medios oleosos un principio activo hidrófobo.

Recomendaciones

- Estudiar la afectación de la concentración del colorante en el tamaño de partícula y eficiencia de encapsulación con variación de solvente no solvente por el método de nano precipitación
- Analizar la porosidad presentada en las nanopartículas de PLGA formadas por nano precipitación con diferentes solventes no solventes
- Comparar el comportamiento obtenido en este estudio con otros principios activos lipofílicos de interés

Bibliografía

1. Sáez, V., E. Hernáez, and L. Sanz-Angulo, *Sistemas de liberación controlada de medicamentos*. Revista iberoamericana de polímeros, 2002. **3**(3): p. 1-17.
2. Strambeanu, N., et al., *Nanoparticles: Definition, classification and general physical properties*, in *Nanoparticles' Promises and Risks*. 2015, Springer. p. 3-8.
3. Lancheros Salas, R.J., *Producción de nanopartículas de PLGA para el transporte de medicamentos específico a tejido óseo*. Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá.
4. Acosta Turo, R., et al., *Implementación de Nanotecnología en fármacos*.
5. Kumari, A., et al., *Biodegradable polymeric nanoparticles based drug delivery systems*. 2010. **75**(1): p. 1-18.
6. Santa, C.F. and B.L. López Osorio, *Materiales poliméricos en nanomedicina: transporte y liberación controlada de fármacos*. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 2013. **37**(142): p. 115-124.
7. Mir, M., N. Ahmed, and A. ur Rehman, *Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2017. **159**: p. 217-231.
8. Zhou, J., et al., *Microfluidic preparation of PLGA composite microspheres with mesoporous silica nanoparticles for finely manipulated drug release*. International Journal of Pharmaceutics, 2021. **593**: p. 120173.
9. Cheraga, N., et al., *Optimized rapamycin-loaded PEGylated PLGA nanoparticles: Preparation, characterization and pharmacokinetics study*. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2021. **61**: p. 102144.

10. Seju, U., A. Kumar, and K. Sawant, *Development and evaluation of olanzapine-loaded PLGA nanoparticles for nose-to-brain delivery: in vitro and in vivo studies*. *Acta biomaterialia*, 2011. **7**(12): p. 4169-4176.
11. Prokop, A. and J.M. Davidson, *Nanovehicular intracellular delivery systems*. *Journal of pharmaceutical sciences*, 2008. **97**(9): p. 3518-3590.
12. Jeevanandam, J., et al., *Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations*. 2018. **9**(1): p. 1050-1074.
13. Faraji, A.H., P.J.B. Wipf, and m. chemistry, *Nanoparticles in cellular drug delivery*. 2009. **17**(8): p. 2950-2962.
14. Gomez-Gaete, C., *Nanopartículas poliméricas: tecnología y aplicaciones farmacéuticas*. *Rev. Farmacol. Chile*, 2014. **7**(2): p. 7-16.
15. Amoabediny, G., et al., *Overview of preparation methods of polymeric and lipid-based (niosome, solid lipid, liposome) nanoparticles: A comprehensive review*. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 2018. **67**(6): p. 383-400.
16. Sur, S., et al., *Recent developments in functionalized polymer nanoparticles for efficient drug delivery system*. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 2019. **20**: p. 100397.
17. Carter, P., B. Narasimhan, and Q.J.I.j.o.p. Wang, *Biocompatible nanoparticles and vesicular systems in transdermal drug delivery for various skin diseases*. 2019. **555**: p. 49-62.
18. Lancheros Salas, R.J., *Producción de nanopartículas de PLGA para el transporte de medicamentos específico a tejido óseo*. 2016, Universidad Nacional de Colombia-Sede Bogotá: Colombia.
19. Oropesa-Nuñez, R. and U.J. Jáuregui-Haza, *Las nanopartículas como portadores de fármacos: características y perspectivas*. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 2012. **43**(3).
20. Alves, M.P., *Formas farmacéuticas plásticas contendo nanocápsulas, nanoesferas e nanoemulsões de nimesulida: desenvolvimento, caracterização e avaliação da permeação cutânea in vitro*. 2006, Universidade federal do rio grande do sul Porto Alegre.
21. Dias, A.P., et al., *Dendrimers in the context of nanomedicine*. *International journal of pharmaceuticals*, 2020. **573**: p. 118814.

22. Yousefi, M., A. Narmani, and S.M. Jafari, *Dendrimers as efficient nanocarriers for the protection and delivery of bioactive phytochemicals*. *Advances in Colloid and Interface Science*, 2020: p. 102125.
23. Daraee, H., et al., *Application of liposomes in medicine and drug delivery*. *Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology*, 2016. **44**(1): p. 381-391.
24. Erođlu, İ. and M. İbrahim, *Liposome–ligand conjugates: a review on the current state of art*. *Journal of Drug Targeting*, 2020. **28**(3): p. 225-244.
25. Pradhan, B., et al., *Liposome: method of preparation, advantages, evaluation and its application*. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*, 2015. **3**(3): p. 01-08.
26. Beltrán, M.J.T.d.I.P., *Tema 1. Estructura y propiedades de los polímeros*. 2011.
27. Serrano, R. and M.J.G. Mendizábal, México: Universidad de Guadalajara, *Introducción a la ciencia de los polímeros. Primera Edición ed.* 2015.
28. Davidenko, N., R. Cameron, and S. Best, *Natural biopolymers for biomedical applications*. 2019.
29. Bilal, M. and H.M.J.I.j.o.b.m. Iqbal, *Naturally-derived biopolymers: Potential platforms for enzyme immobilization*. 2019. **130**: p. 462-482.
30. Raus, R.A., W.M.F.W. Nawawi, and R.R.J.A.J.o.P.S. Nasaruddin, *Alginate and Alginate Composites for Biomedical Applications*. 2020.
31. Varaprasad, K., et al., *Alginate-based composite materials for wound dressing application: A mini review*. 2020: p. 116025.
32. Zhang, Y., et al., *The Artificial Organ: Cell Encapsulation*. 2011.
33. de Vries, R., et al., *Bioengineering, biomaterials, and β -cell replacement therapy, in Transplantation, Bioengineering, and Regeneration of the Endocrine Pancreas*. 2020, Elsevier. p. 461-486.
34. Tong, X., et al., *Recent advances in natural polymer-based drug delivery systems*. 2020. **148**: p. 104501.
35. Das, B. and S. Patra, *Antimicrobials: Meeting the challenges of antibiotic resistance through nanotechnology, in Nanostructures for antimicrobial therapy*. 2017, Elsevier. p. 1-22.
36. Jiang, T., et al., *Chitosan as a biomaterial: structure, properties, and applications in tissue engineering and drug delivery, in Natural and synthetic biomedical polymers*. 2014, Elsevier. p. 91-113.

37. Gutierrez-Rojas, I., N. Moreno-Sarmiento, and D.J.R.i.d.m. Montoya, *Mechanisms and regulation of enzymatic hydrolysis of cellulose in filamentous fungi: Classical cases and new models*. 2014. **32**(1): p. 1-12.
38. DeStefano, V., S. Khan, and A.J.E.R. Tabada, *Applications of PLA in modern medicine*. 2020. **1**: p. 76-87.
39. ARDILA, L., et al., *Estudio De La Biodegradación Hidrolítica De Películas Delgadas De biopolimeros ceramico mediante EQCM*. 2010.
40. Yeo, T., et al., *Promoting bone regeneration by 3D-printed poly (glycolic acid)/hydroxyapatite composite scaffolds*. 2021. **94**: p. 343-351.
41. Miñano, J., J. Puiggalí, and L.J.T.A. Franco, *Effect of curcumin on thermal degradation of poly (glycolic acid) and poly (ϵ -caprolactone) blends*. 2020. **693**: p. 178764.
42. Khorramnezhad, M., et al., *Effect of surface modification on physical and cellular properties of PCL thin film*. 2021: p. 111582.
43. Asadian, M., et al., *A comparative study on pre-and post-production plasma treatments of PCL films and nanofibers for improved cell-material interactions*. 2019. **481**: p. 1554-1565.
44. Olmo Mora, A., *Cromatografía de exclusión por tamaño. Análisis del polietilenglicol*. 2017.
45. Contreras, J., D. Medina, and F.J.A.e.Q. López-Carrasquero, *Síntesis y polimerización de bismacromonómeros de polietilenglicol*. 2014. **9**(3): p. 107-114.
46. Okamoto, M. and B.J.P.i.P.S. John, *Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds*. 2013. **38**(10-11): p. 1487-1503.
47. Rafiei, P., A.J.M.S. Haddadi, and E. C, *A robust systematic design: Optimization and preparation of polymeric nanoparticles of PLGA for docetaxel intravenous delivery*. 2019. **104**: p. 109950.
48. Anderson, J.M. and M.S. Shive, *Biodegradation and biocompatibility of PLA and PLGA microspheres*. *Advanced drug delivery reviews*, 2012. **64**: p. 72-82.
49. Sharma, S., et al., *PLGA-based nanoparticles: a new paradigm in biomedical applications*. *TrAC trends in analytical chemistry*, 2016. **80**: p. 30-40.
50. Makadia, H.K. and S.J. Siegel, *Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier*. *Polymers*, 2011. **3**(3): p. 1377-1397.

51. Ghitman, J., et al., *Review of hybrid PLGA nanoparticles: Future of smart drug delivery and theranostics medicine*. *Materials & Design*, 2020. **193**: p. 108805.
52. Llabot, J.M., S.D. Palma, and D. Allemandi, *Nanopartículas poliméricas sólidas*. *Nuestra Farmacia*, 2008. **53**: p. 40-47.
53. Rivas, C.J.M., et al., *Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery*. *International journal of pharmaceutics*, 2017. **532**(1): p. 66-81.
54. Morales-Cruz, M., et al., *Two-step nanoprecipitation for the production of protein-loaded PLGA nanospheres*. *Results in pharma sciences*, 2012. **2**: p. 79-85.
55. Mora-Huertas, C.E., H. Fessi, and A. Elaissari, *Polymer-based nanocapsules for drug delivery*. *International journal of pharmaceutics*, 2010. **385**(1-2): p. 113-142.
56. Ding, D., Q.J.M.S. Zhu, and E. C, *Recent advances of PLGA micro/nanoparticles for the delivery of biomacromolecular therapeutics*. 2018. **92**: p. 1041-1060.
57. Swider, E., et al., *Customizing poly (lactic-co-glycolic acid) particles for biomedical applications*. 2018. **73**: p. 38-51.
58. Budhian, A., S.J. Siegel, and K.I.J.I.j.o.p. Winey, *Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug content*. 2007. **336**(2): p. 367-375.
59. Huang, W. and C.J.B.j. Zhang, *Tuning the size of poly (lactic-co-glycolic acid)(PLGA) nanoparticles fabricated by nanoprecipitation*. 2018. **13**(1): p. 1700203.
60. Miladi, K., et al., *Nanoprecipitation process: from particle preparation to in vivo applications*, in *Polymer nanoparticles for nanomedicines*. 2016, Springer. p. 17-53.
61. Rivas, C.J.M., et al., *Nanoprecipitation process: From encapsulation to drug delivery*. 2017. **532**(1): p. 66-81.
62. Fredenberg, S., et al., *The mechanisms of drug release in poly (lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems—a review*. *International journal of pharmaceutics*, 2011. **415**(1-2): p. 34-52.
63. Kang, J. and S.P. Schwendeman, *Determination of diffusion coefficient of a small hydrophobic probe in poly (lactide-co-glycolide) microparticles by laser scanning confocal microscopy*. *Macromolecules*, 2003. **36**(4): p. 1324-1330.
64. Chen, X., C. Ooi, and T. Lim, *Effect of ganciclovir on the hydrolytic degradation of poly (lactide-co-glycolide) microspheres*. *Journal of biomaterials applications*, 2006. **20**(3): p. 287-302.
65. Gaumet, M., et al., *Nanoparticles for drug delivery: the need for precision in reporting particle size parameters*. 2008. **69**(1): p. 1-9.

66. Jara González, M.O., *Análisis sistemático de variables determinantes en la producción de nanopartículas poliméricas de Eudragit® RS, RL y PCL por el método de nanoprecipitación*. 2016.
67. Rivera Parra, C.A., *Estudio del proceso de nanoencapsulación de quercetina por medio de nano precipitación*. 2017.
68. Legrand, P., et al., *Influence of polymer behaviour in organic solution on the production of polylactide nanoparticles by nanoprecipitation*. International journal of pharmaceutics, 2007. **344**(1-2): p. 33-43.
69. Barboza, A.G., et al., *Nanopartículas poliméricas no biodegradables cargadas con CoQ10 para su potencial administración oral*. Quimica Hoy, 2014. **4**(3): p. 1-5.
70. Pardo Fanlo, J.M. and S. Irusta Alderete, *Nanopartículas cargadas con aceites esenciales para aplicación en apósitos*, in *Ingeniería biomédica*. 2017, Universidad Zaragoza.
71. da Silva Feltrin, F., et al., *Curcumin encapsulation in functional PLGA nanoparticles: A promising strategy for cancer therapies*. Advances in Colloid and Interface Science, 2021: p. 102582.
72. Feczko, T., et al., *Influence of process conditions on the mean size of PLGA nanoparticles*. Chemical Engineering and Processing: Process Intensification, 2011. **50**(8): p. 846-853.
73. Song, X., et al., *Dual agents loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug entrapment efficiency*. European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics, 2008. **69**(2): p. 445-453.
74. Wang, F., et al., *Paeonol-loaded PLGA nanoparticles as an oral drug delivery system: Design, optimization and evaluation*. International journal of pharmaceutics, 2021. **602**: p. 120617.
75. Helmy, S.A., et al., *Novel Doxorubicin/Folate-Targeted Trans-Ferulic Acid-Loaded doxorubicin/folate-targeted trans-ferulic acid-loaded PLGA nanoparticles combination: In-vivo superiority over standard chemotherapeutic regimen for breast cancer treatment*. Biomedicine & pharmacotherapy= Biomedecine & pharmacotherapie, 2022. **145**: p. 112376.
76. Rocha, F., et al., *Nanosistemas a base de poliésteres*. 2009.
77. Pesquera, L., et al., *Síntesis y caracterización de microcápsulas de ácido poli(láctico-co-glicólico)*. Evaluación de sus propiedades como potencial agente de

- liberación controlada, en la quimioterapia contra la leishmaniasis cutánea. Revista Iberoamericana de Polímeros, 2019. 20(5): p. 196-206.*
78. Corrigan, O.I. and X. Li, *Quantifying drug release from PLGA nanoparticulates. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009. 37(3-4): p. 477-485.*
79. Martínez, R.A. and V.O. Alamar, *Dermatitis de contacto por dimetil sulfóxido. Enfermería Dermatológica, 2012. 6(16): p. 42-44.*
80. Piacentini, E., et al., *Membrane nanoprecipitation: From basics to technology development. Journal of Membrane Science, 2022: p. 120564.*
81. Vollmer, A., *DMSO: La guía completa de tratamientos seguros y naturales para controlar el dolor, la inflamación y otras dolencias crónicas con dimetilsulfóxido. 2022: EDITORIAL SIRIO SA.*
82. Lancheros, R., C.A. Guerrero, and R.D. Godoy-Silva, *Improvement of N-acetylcysteine loaded in PLGA nanoparticles by nanoprecipitation method. Journal of Nanotechnology, 2018. 2018.*
83. García Sala, X., *Aportación al estudio de nanopartículas de fármacos con actividad analgésica/anestésica. 2011.*
84. Yurtdaş-Kırımlioğlu, G., et al., *Nanoarchitectonics of PLGA based polymeric nanoparticles with oseltamivir phosphate for lung cancer therapy: In vitro-in vivo evaluation. Journal of Drug Delivery Science and Technology, 2022. 67: p. 102996.*
85. Muñoz Rubio, I., *Nanopartículas de PLGA: una aportación innovadora en el uso terapéutico de Cannabinoides. 2013.*
86. Rocha Formiga, F., *Nanosistemas a base de poliésteres. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia, 2009.*
87. Arellano Villaseñor, N., *Síntesis de nanopartículas de plga cargadas con leflunomida para su evaluación in-vitro como sistema de administración y liberación en el tratamiento de artritis reumatoide, in Maestría y doctorado en ciencias e ingeniería 2019, Universidad autonoma de baja California Mexico.*
88. Hasan, A.S., et al., *Effect of the microencapsulation of nanoparticles on the reduction of burst release. International journal of pharmaceutics, 2007. 344(1-2): p. 53-61.*
89. García Gómez, R., *Ingeniería básica de una planta de producción de acetona a partir de isopropanol. 2020.*
90. Beck-Broichsitter, M., *Solvent impact on polymer nanoparticles prepared nanoprecipitation. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects, 2021. 625: p. 126928.*

91. Almoustafa, H.A., M.A. Alshawsh, and Z. Chik, *Technical aspects of preparing PEG-PLGA nanoparticles as carrier for chemotherapeutic agents by nanoprecipitation method*. International journal of pharmaceutics, 2017. **533**(1): p. 275-284.
92. Budhian, A., S.J. Siegel, and K.I. Winey, *Haloperidol-loaded PLGA nanoparticles: systematic study of particle size and drug content*. International journal of pharmaceutics, 2007. **336**(2): p. 367-375.
93. INSST, I.N.d.S.y.s.e.e.t., *Documentación toxicológico para el establecimiento del limite de exposición profesional del cloruro de metileno*. 2018: España
94. Roldan Rodríguez, J.L. and L.A. Canahua Sosa, *Estudio del comportamiento reológico de soluciones de quitosano con TPP (Tripolifosfato de Sodio)*. 2015.
95. da Silva, A.T. and A.O. Ribeiro, *Synthesis of a copolymer of lactic and citric acid for use in obtaining of loaders nanoparticle of pharmacies*.
96. Fernández, K., *Formulation of poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles loaded with grape extracts and a study of its cytotoxicity on human kidney cells*. 2016, UNIVERSIDAD DE CONCEPCION.
97. Xu, J., et al., *Controllable microfluidic production of drug-loaded PLGA nanoparticles using partially water-miscible mixed solvent microdroplets as a precursor*. Scientific reports, 2017. **7**(1): p. 1-12.
98. Bilati, U., E. Allémann, and E. Doelker, *Development of a nanoprecipitation method intended for the entrapment of hydrophilic drugs into nanoparticles*. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 2005. **24**(1): p. 67-75.
99. Barndok, H., *Procesos de oxidación avanzada para el tratamiento de aguas residuales industriales contaminadas con 1, 4 dioxano*. 2016.
100. Carvalho, L.B.d., *Síntese e caracterização de nanocápsulas de capsaicina em óleo de alecrim*. 2015.
101. Jeong, Y.-I., et al., *All-trans retinoic acid release from surfactant-free nanoparticles of poly (DL-lactide-co-glycolide)*. Macromolecular Research, 2008. **16**(8): p. 717-724.
102. Heredia Ayala, N.S. and A.P.M.D. Debut, *Comparación de cuatro modelos matemáticos para el análisis de la cinética de liberación de fármacos a partir de nanopartículas basadas en ácido poli (láctico-co-glicólico) sintetizadas por el método de nanoprecipitación*, in *Ingeniería Biotecnología*. 2021, Universidad de las fuerzas armadas.

103. Gokhale, A., *Achieving zero-order release kinetics using multi-step diffusion-based drug delivery*. Pharmaceutical Technology Europe, 2014. **26**(5).
104. Heredia Ayala, N.S. and A.P.M.D. Debut, *Comparación de cuatro modelos matemáticos para el análisis de la cinética de liberación de fármacos a partir de nanopartículas basadas en ácido poli (láctico-co-glicólico) sintetizadas por el método de nanoprecipitación*.
105. Kalam, M.A., et al., *Release kinetics of modified pharmaceutical dosage forms: a review*. Cont J Pharm Sci, 2007. **1**(1): p. 30-5.
106. Dash, S., et al., *Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems*. Acta Pol Pharm, 2010. **67**(3): p. 217-223.
107. Singhvi, G. and M. Singh, *In-vitro drug release characterization models*. Int J Pharm Stud Res, 2011. **2**(1): p. 77-84.
108. Permanadewi, I., et al. *Modelling of controlled drug release in gastrointestinal tract simulation*. in *Journal of Physics: Conference Series*. 2019. IOP Publishing.
109. Expósito Harris, R., *Quitosano, un biopolímero con aplicaciones en sistemas de liberación controlada de fármacos*. 2010.

Anexos

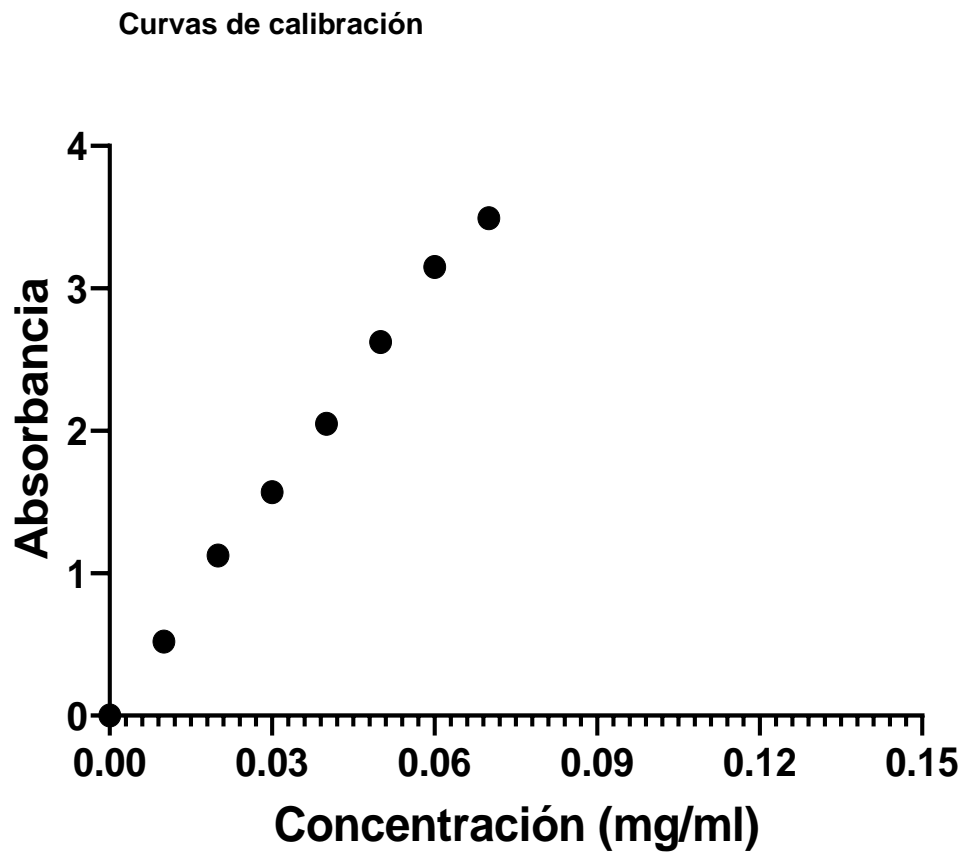


Figura 30 Curva de calibración colorante oil red o disuelto en DMSO

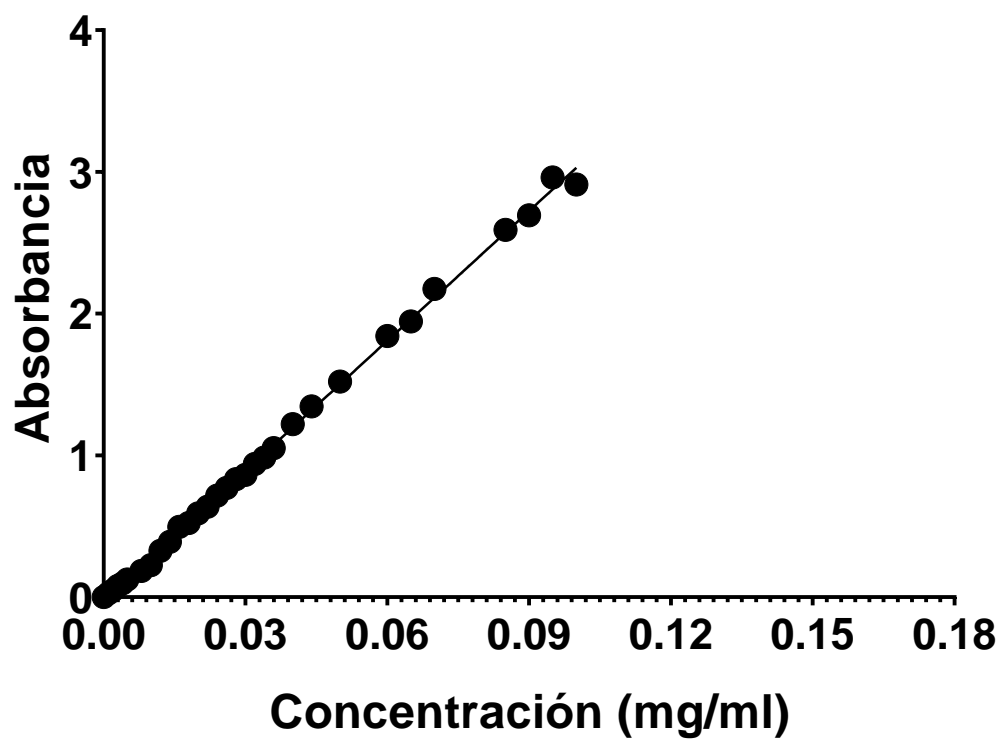


Figura 31 Curva de calibración Colorante oil red o disuelto en aceite mineral

Datos experimentales

Tabla 10 Datos de concentración experimental a diferentes concentraciones de colorante oil red O

Concentración de 1mg/ml

Tiempo (h)	Concentración 1 (mg/ml)	Concentración 2 (mg/ml)	Concentración 3 (mg/ml)	Promedio	Desviación estandar
0	0,0218	0,0209	0,0209	0,0212	0,0005
1	0,0228	0,0225	0,0225	0,0226	0,0002
2	0,0232	0,0226	0,0226	0,0228	0,0004
3	0,0244	0,0283	0,0283	0,0270	0,0023
4	0,0288	0,0305	0,0305	0,0299	0,0010
24	0,0281	0,0265	0,0265	0,0270	0,0009

Concentración 0,8 mg/ml

Tiempo (h)	Concentración 1 (mg/ml)	Concentración 2 (mg/ml)	Concentración 3 (mg/ml)	Promedio	Desviación estandar
0	0,0181	0,0158	0,0158	0,0166	0,0013
1	0,0206	0,0169	0,0169	0,0181	0,0021
2	0,0208	0,0197	0,0197	0,0201	0,0007
3	0,0227	0,0217	0,0217	0,0220	0,0006
4	0,0225	0,0222	0,0222	0,0223	0,0002
24	0,0237	0,0228	0,0228	0,0231	0,0005

Concentración 0,6 mg/ml

Tiempo (h)	Concentración 1 (mg/ml)	Concentración 2 (mg/ml)	Concentración 3 (mg/ml)	Promedio	Desviación estandar
0	0,0192	0,0184	0,0184	0,0187	0,0004
1	0,0220	0,0189	0,0189	0,0200	0,0018
2	0,0209	0,0200	0,0200	0,0203	0,0005
3	0,0233	0,0223	0,0223	0,0226	0,0006
4	0,0245	0,0214	0,0214	0,0224	0,0018
24	0,0274	0,0232	0,0232	0,0246	0,0024

Concentración 0,4 mg/ml

Tiempo (h)	Concentración 1 (mg/ml)	Concentración 2 (mg/ml)	Concentración 3 (mg/ml)	Promedio	Desviación estandar
0	0,0139	0,0143	0,0143	0,0142	0,0002
1	0,0152	0,0152	0,0152	0,0152	0,0000
2	0,0193	0,0197	0,0197	0,0196	0,0002
3	0,0211	0,0190	0,0190	0,0197	0,0012
4	0,0237	0,0233	0,0233	0,0234	0,0002
24	0,0252	0,0232	0,0232	0,0239	0,0012

Concentración de 0,2 mg/ml

Tiempo (h)	Concentración 1 (mg/ml)	Concentración 2 (mg/ml)	Concentración 3 (mg/ml)	Promedio	Desviación estandar
0	0,0236	0,0228	0,0228	0,0231	0,0005
1	0,0246	0,0236	0,0236	0,0240	0,0005
2	0,0254	0,0239	0,0239	0,0244	0,0009
3	0,0260	0,0258	0,0258	0,0259	0,0002
4	0,0267	0,0262	0,0262	0,0264	0,0003
24	0,0248	0,0244	0,0244	0,0246	0,0002

Tabla 11 Distribución de tamaño a diferentes concentraciones de colorante oil red O (datos experimentales)

Concentración (mg/ml)	Ensayo 1		Ensayo 2		Ensayo 3		Promedio Tamaño (nm)	Promedio PDI	Desv Tamaño	Desv PDI
	Tamaño (nm)	PDI	Tamaño (nm)	PDI	Tamaño (nm)	PDI				
0,2	363,80	0,46	340,70	0,42	389,80	0,47	364,77	0,45	24,56	0,03
0,4	311,80	0,27	293,70	0,24	311,50	0,31	305,67	0,27	10,36	0,03
0,6	345,40	0,40	276,00	0,23	275,00	0,23	298,80	0,29	40,36	0,09
0,8	333,60	0,28	333,90	0,33	297,20	0,22	321,57	0,27	21,10	0,06
1,0	289,20	0,26	285,50	0,27	320,00	0,35	298,23	0,29	18,94	0,05

Tabla 12 % de eficiencia de encapsulación de colorante Oil red O a diferentes concentraciones (datos experimentales)

Concentración (mg/ml)	% Eficiencia de encapsulación				Promedio	Desviación estandar
	1	2	3			
0,2	1,1897	1,2390	1,2183		1,2157	0,0248
0,4	1,5858	1,5819	1,5912		1,5863	0,0047
0,6	3,7152	3,7849	3,7944		3,7648	0,0433
0,8	5,2958	5,3010	5,2561		5,2843	0,0246
1	5,7559	5,6704	5,5355		5,6539	0,1111

Tabla 13 Distribución de tamaño de partícula con PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales)

Tamaño de partícula mw 7-17 kDa					
Mezcla	1	2	3	Promedio	Desviación Estandar
Agua- Acetona	289,2	285,5	320	298,2	18,9
PDI	0,259	0,267	0,354	0,293	0,053
Agua - DMSO	161,1	159,5	171	163,9	6,2
PDI	0,174	0,143	0,221	0,179	0,039
Agua - Dioxano	240,1	234,4	239,3	237,9	3,1
PDI	0,206	0,192	0,223	0,207	0,016
Etanol-Acetona	348	426,4	315,1	363,2	57,2
PDI	0,345	0,032	0,35	0,242	0,182
Etanol-DMSO	378,3	264,8	234,3	292,5	75,9
PDI	0,169	0,309	0,234	0,237	0,070
Etanol - Diclorometano	982,5	1024	1345	1117,2	198,398
PDI	0,265	0,288	0,019	0,191	0,149
Etanol- Dioxano	295	342	396	344,3	50,5
PDI	0,922	0,877	0,937	0,912	0,031
Propilenglicol- Acetona	111,1	188,9	128,8	142,9	40,8
PDI	0,915	0,596	1	0,837	0,213
Propilenglicol- DMSO	396,3	151,6	162,2	236,7	138,3
PDI	0,411	0,558	0,252	0,407	0,153
Propilenglicol - Diclorometano	245,0	420,5	452,6	372,7	111,750
PDI	0,435	0,109	0,415	0,320	0,183
Propilenglicol- Dioxano	362,1	99,85	212,9	225,0	131,5
PDI	0,32	0,041	0,517	0,293	0,239

Tabla 14 % de eficiencia de encapsulación PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales)

% de eficiencia de encapsulación 7-17 kDa					
Mezcla	1	2	3	Promedio	Desviación estandar
Agua- Acetona	5,7559	5,6704	5,5355	5,6539	0,1111
Agua - DMSO	5,2372	5,5680	5,5619	5,4557	0,1893
Agua - Dioxano	4,7845	3,7935	4,8264	4,4681	0,5846
Etanol-Acetona	5,3127	5,0783	5,0764	5,1558	0,1359
Etanol-DMSO	6,4800	6,4656	6,5441	6,4965	0,0418
Etanol - Diclorometano	0,4455	0,4607	0,5447	0,4837	0,0535
Etanol- Dioxano	0,2368	0,2149	0,2571	0,2362	0,0211
Propilenglicol- Acetona	6,3136	6,1720	6,1745	6,2200	0,0811
Propilenglicol- DMSO	6,4204	6,4306	6,4255	6,4255	0,0051
Propilenglicol - Diclorometano	6,4602	6,4727	6,4709	6,4679	0,0067
Propilenglicol- Dioxano	2,3291	2,3203	2,1411	2,2635	0,1061

Tabla 15 Perfil de liberación de colorante PLGA peso molecular 7-17(datos experimentales)

Tiempo (h)	Agua - Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Agua- DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Agua - Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0218	0,0209	0,0247	0,0225	0,0020	0,0759	0,0011	0,0726	0,0499	0,0423	0,0283	0,0260	0,0235	0,0260	0,0024
1	0,0228	0,0225	0,0251	0,0235	0,0014	0,0820	0,0773	0,0780	0,0791	0,0025	0,0332	0,0207	0,0197	0,0245	0,0075
2	0,0232	0,0226	0,0254	0,0237	0,0015	0,1191	0,1195	0,1161	0,1182	0,0019	0,0465	0,0420	0,0325	0,0403	0,0072
3	0,0244	0,0283	0,0273	0,0267	0,0020	0,1176	0,1167	0,1195	0,1179	0,0014	0,0662	0,0556	0,0569	0,0595	0,0058
4	0,0288	0,0305	0,0294	0,0296	0,0008	0,1207	0,1184	0,1199	0,1196	0,0012	0,0749	0,0633	0,0655	0,0679	0,0061
24	0,0281	0,0265	0,0334	0,0293	0,0036	0,1176	0,1171	0,1176	0,1174	0,0002	0,0784	0,0655	0,0675	0,0705	0,0069
48	0,0369	0,0367	0,0368	0,0368	0,0001	0,1218	0,1216	0,1222	0,1219	0,0003	0,0831	0,0716	0,0700	0,0749	0,0071
72	0,0369	0,0369	0,0369	0,0369	0,0000	0,1224	0,1232	0,1238	0,1231	0,0007	0,0854	0,0783	0,0764	0,0800	0,0047
168	0,0369	0,0369	0,0369	0,0369	0,0000	0,1548	0,1555	0,1561	0,1555	0,0007	0,1177	0,0977	0,1088	0,1081	0,0100

Tiempo (h)	Etanol-Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Etanol-DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Etanol - Diclorometano PLGA mw 7-17 kDa					Etanol- Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0316	0,0324	0,0300	0,0313	0,0012	0,0053	0,0055	0,0064	0,0057	0,0006	0,0032	0,0032	0,0032	0,0032	0,0000	0,0033	0,0032	0,0029	0,0031	0,0002
1	0,0329	0,0367	0,0317	0,0338	0,0026	0,0158	0,0251	0,0187	0,0199	0,0048	0,0034	0,0033	0,0032	0,0033	0,0001	0,0040	0,0045	0,0039	0,0042	0,0003
2	0,0398	0,0378	0,0348	0,0375	0,0025	0,0198	0,0212	0,0146	0,0185	0,0035	0,0033	0,0032	0,0031	0,0032	0,0001	0,0033	0,0059	0,0040	0,0044	0,0014
3	0,0443	0,0400	0,0378	0,0407	0,0033	0,0319	0,0312	0,0188	0,0273	0,0074	0,0035	0,0034	0,0033	0,0034	0,0001	0,0035	0,0059	0,0046	0,0047	0,0012
4	0,0443	0,0408	0,0382	0,0411	0,0030	0,0517	0,0629	0,0478	0,0541	0,0079	0,0039	0,0037	0,0036	0,0037	0,0001	0,0039	0,0056	0,0045	0,0047	0,0009
24	0,0468	0,0460	0,0406	0,0445	0,0033	0,0830	0,0900	0,0870	0,0867	0,0035	0,0043	0,0043	0,0042	0,0043	0,0001	0,0043	0,0064	0,0056	0,0054	0,0010
48	0,0482	0,0473	0,0435	0,0463	0,0025	0,0862	0,0895	0,0940	0,0899	0,0039	0,0055	0,0051	0,0049	0,0052	0,0003	0,0055	0,0064	0,0060	0,0060	0,0005
72	0,0488	0,0480	0,0479	0,0482	0,0005	0,0895	0,0900	0,1034	0,0943	0,0079	0,0057	0,0057	0,0058	0,0057	0,0000	0,0057	0,0070	0,0069	0,0065	0,0007
168	0,0485	0,0483	0,0483	0,0484	0,0001	0,0924	0,0943	0,1062	0,0976	0,0075	0,0058	0,0058	0,0057	0,0058	0,0001	0,0058	0,0075	0,0068	0,0067	0,0008

Tiempo (h)	Propilenglicol-Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Propilenglicol-DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Propilenglicol - Diclorometano PLGA mw 7-17 kDa					Propilenglicol- Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0063	0,0086	0,0070	0,0073	0,0012	0,0144	0,0167	0,0190	0,0167	0,0023	0,0096	0,0096	0,0079	0,0091	0,0010	0,0041	0,0035	0,0044	0,0040	0,0004
1	0,0188	0,0150	0,0167	0,0168	0,0019	0,0379	0,0454	0,0478	0,0437	0,0052	0,0230	0,0265	0,0227	0,0241	0,0021	0,0111	0,0088	0,0084	0,0094	0,0014
2	0,0252	0,0231	0,0227	0,0237	0,0013	0,0967	0,0364	0,0596	0,0642	0,0304	0,0245	0,0321	0,0290	0,0285	0,0038	0,0134	0,0140	0,0124	0,0133	0,0008
3	0,0280	0,0289	0,0267	0,0279	0,0011	0,0900	0,0676	0,0776	0,0784	0,0112	0,0491	0,0525	0,0505	0,0507	0,0017	0,0156	0,0147	0,0147	0,0150	0,0005
4	0,0314	0,0304	0,0344	0,0321	0,0021	0,0965	0,0910	0,0902	0,0926	0,0034	0,0461	0,0448	0,0437	0,0449	0,0012	0,0160	0,0163	0,0164	0,0162	0,0002
24	0,0495	0,0494	0,0517	0,0502	0,0013	0,1130	0,1048	0,1133	0,1104	0,0048	0,0786	0,0849	0,0866	0,0834	0,0043	0,0204	0,0199	0,0208	0,0203	0,0004
48	0,0504	0,0514	0,0566	0,0528	0,0033	0,1122	0,1089	0,1125	0,1112	0,0020	0,0885	0,0958	0,0911	0,0918	0,0037	0,0212	0,0223	0,0229	0,0221	0,0009
72	0,0506	0,0521	0,0579	0,0535	0,0039	0,1116	0,1077	0,1113	0,1102	0,0022	0,0903	0,0956	0,0921	0,0927	0,0027	0,0219	0,0232	0,0234	0,0228	0,0008
168	0,0518	0,0533	0,0592	0,0548	0,0039	0,1167	0,1124	0,1160	0,1150	0,0023	0,0936	0,0997	0,0929	0,0954	0,0037	0,0247	0,0239	0,0246	0,0244	0,0004

Tabla 16 Velocidades de liberación con PLGA peso molecular 7-17 kDa (datos experimentales)

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Agua - Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Agua- DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Agua - Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	1,00E-03	1,58E-03	3,46E-04	9,75E-04	6,17E-04	6,08E-03	7,62E-02	5,41E-03	2,92E-02	4,07E-02	4,86E-03	-5,37E-03	-3,84E-03	-1,45E-03	5,52E-03
1 - 2	4,00E-04	1,10E-04	3,27E-04	2,79E-04	1,51E-04	3,72E-02	4,22E-02	3,80E-02	3,92E-02	2,72E-03	1,34E-02	2,14E-02	1,28E-02	1,58E-02	4,81E-03
2 - 3	1,20E-03	5,68E-03	1,91E-03	2,93E-03	2,41E-03	-1,55E-03	-2,81E-03	3,43E-03	-3,13E-04	3,30E-03	1,96E-02	1,36E-02	2,44E-02	1,92E-02	5,44E-03
3 - 4	4,40E-03	2,18E-03	2,08E-03	2,89E-03	1,31E-03	3,07E-03	1,68E-03	3,88E-04	1,71E-03	1,34E-03	8,72E-03	7,72E-03	8,60E-03	8,35E-03	5,47E-04
4 - 24	-3,50E-05	-2,00E-04	2,00E-04	-1,19E-05	2,01E-04	-1,55E-04	-6,15E-05	-1,16E-04	-1,11E-04	4,71E-05	1,75E-04	1,09E-04	1,00E-04	1,28E-04	4,09E-05
24 - 48	3,67E-04	4,27E-04	1,42E-04	3,12E-04	1,50E-04	1,78E-04	1,85E-04	1,91E-04	1,85E-04	6,74E-06	1,95E-04	2,56E-04	1,05E-04	1,86E-04	7,60E-05
48 - 72	0,00E+00	7,14E-06	2,02E-06	3,06E-06	3,68E-06	2,56E-05	6,60E-05	6,74E-05	5,30E-05	2,37E-05	9,54E-05	2,77E-04	2,67E-04	2,13E-04	1,02E-04
72 - 168	0,00E+00	6,74E-08	3,71E-07	1,46E-07	1,97E-07	3,37E-04	3,37E-04	3,37E-04	3,37E-04	1,95E-07	3,37E-04	2,02E-04	3,37E-04	2,92E-04	7,78E-05

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Etanol-Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Etanol-DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Etanol - Diclorometano PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Etanol- Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	1,29E-03	4,32E-03	1,66E-03	2,42E-03	1,65E-03	1,06E-02	1,96E-02	1,23E-02	1,42E-02	4,83E-03	2,49E-04	1,07E-04	6,47E-06	1,21E-04	1,22E-04	7,00E-04	1,30E-03	1,01E-03	1,00E-03	3,02E-04
1 - 2	6,88E-03	1,07E-03	3,12E-03	3,69E-03	2,94E-03	3,98E-03	-3,96E-03	-4,07E-03	-1,35E-03	4,62E-03	-1,78E-04	-1,42E-04	-3,56E-05	-1,19E-04	7,41E-05	-7,70E-04	1,45E-03	6,15E-05	2,47E-04	1,12E-03
2 - 3	4,48E-03	2,24E-03	3,00E-03	3,24E-03	1,14E-03	1,21E-02	1,01E-02	4,18E-03	8,78E-03	4,11E-03	2,52E-04	2,72E-04	1,55E-04	2,26E-04	6,24E-05	2,60E-04	-1,29E-05	6,47E-04	2,98E-04	3,32E-04
3 - 4	-1,00E-05	7,63E-04	4,72E-04	4,09E-04	3,91E-04	1,98E-02	3,17E-02	2,90E-02	2,68E-02	6,20E-03	3,66E-04	2,43E-04	3,30E-04	3,13E-04	6,33E-05	3,60E-04	-2,86E-04	-1,36E-04	-2,02E-05	3,38E-04
4 - 24	1,25E-04	2,59E-04	1,20E-04	1,68E-04	7,89E-05	1,56E-03	1,35E-03	1,96E-03	1,63E-03	3,09E-04	2,22E-05	3,11E-05	3,07E-05	2,80E-05	5,05E-06	2,25E-05	3,74E-05	5,48E-05	3,82E-05	1,62E-05
24 - 48	5,83E-05	5,28E-05	1,18E-04	7,64E-05	3,62E-05	1,33E-04	-2,16E-05	2,91E-04	1,34E-04	1,56E-04	5,01E-05	3,25E-05	2,71E-05	3,66E-05	1,21E-05	5,00E-05	2,16E-06	1,56E-05	2,26E-05	2,47E-05
48 - 72	2,71E-05	3,02E-05	1,83E-04	7,99E-05	8,88E-05	1,39E-04	2,13E-05	3,94E-04	1,85E-04	1,90E-04	8,22E-06	2,66E-05	3,68E-05	2,39E-05	1,45E-05	8,33E-06	2,20E-05	3,64E-05	2,22E-05	1,40E-05
72 - 168	-2,87E-06	3,30E-06	4,38E-06	1,61E-06	3,91E-06	2,95E-05	4,49E-05	2,90E-05	3,45E-05	9,03E-06	7,41E-07	9,10E-07	-8,76E-07	2,58E-07	9,86E-07	7,29E-07	5,19E-06	-1,35E-07	1,93E-06	2,86E-06

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Propilenglicol-Acetona PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol-DMSO PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol - Diclorometano PLGA mw 7-17 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol- Dioxano PLGA mw 7-17 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	1,25E-02	6,45E-03	9,64E-03	9,53E-03	3,03E-03	2,34E-02	2,87E-02	2,88E-02	2,70E-02	3,08E-03	1,34E-02	1,68E-02	1,47E-02	1,50E-02	1,73E-03	6,94E-03	5,29E-03	4,03E-03	5,42E-03	1,46E-03
1 - 2	6,43E-03	8,10E-03	6,07E-03	6,87E-03	1,08E-03	5,88E-02	-8,96E-03	1,18E-02	2,06E-02	3,47E-02	1,48E-03	5,60E-03	6,31E-03	4,46E-03	2,61E-03	2,33E-03	5,17E-03	4,02E-03	3,84E-03	1,43E-03
2 - 3	2,79E-03	5,76E-03	3,97E-03	4,17E-03	1,49E-03	-6,69E-03	3,12E-02	1,80E-02	1,42E-02	1,92E-02	2,46E-02	2,05E-02	2,15E-02	2,22E-02	2,17E-03	2,17E-03	6,96E-04	2,28E-03	1,72E-03	8,85E-04
3 - 4	3,45E-03	1,51E-03	7,74E-03	4,23E-03	3,19E-03	6,49E-03	2,34E-02	1,26E-02	1,42E-02	8,58E-03	-3,03E-03	-7,71E-03	-6,79E-03	-5,84E-03	2,48E-03	4,00E-04	1,65E-03	1,67E-03	1,24E-03	7,29E-04
4 - 24	9,02E-04	9,49E-04	8,62E-04	9,04E-04	4,37E-05	8,29E-04	6,89E-04	1,15E-03	8,89E-04	2,37E-04	1,62E-03	2,00E-03	2,15E-03	1,92E-03	2,71E-04	2,20E-04	1,80E-04	2,20E-04	2,06E-04	2,30E-05
24 - 48	3,92E-05	8,32E-05	2,03E-04	1,09E-04	8,50E-05	-3,62E-05	1,71E-04	-3,23E-05	3,40E-05	1,18E-04	4,16E-04	4,55E-04	1,84E-04	3,51E-04	1,46E-04	3,50E-05	9,84E-05	9,03E-05	7,46E-05	3,45E-05
48 - 72	9,17E-06	2,86E-05	5,66E-05	3,15E-05	2,39E-05	-2,50E-05	-4,96E-05	-4,95E-05	-4,14E-05	1,42E-05	7,38E-05	-9,30E-06	4,42E-05	3,62E-05	4,21E-05	2,79E-05	3,86E-05	1,94E-05	2,86E-05	9,59E-06
72 - 168	1,18E-05	1,32E-05	1,38E-05	1,29E-05	1,06E-06	5,32E-05	4,87E-05	4,91E-05	5,03E-05	2,51E-06	3,48E-05	4,26E-05	8,36E-06	2,86E-05	1,80E-05	2,94E-05	7,72E-06	1,23E-05	1,65E-05	1,14E-05

Tabla 17 Distribución de tamaño de partículas con PLGA peso molecular 38-54 kDa

Tamaño de partícula mw 38-54 kDa					
Mezcla	1	2	3	Promedio	Desviación Estandar
Agua- Acetona	323,5	376,5	333,5	344,500	28,160
PDI	0,242	0,35	0,253	0,282	0,059
Agua - DMSO	646,8	793,5	205,9	548,733	305,829
PDI	0,571	0,58	0,223	0,458	0,204
Agua - Dioxano	282,1	269,9	286,3	279,433	8,519
PDI	0,304	0,222	0,298	0,275	0,046
Etanol-Acetona	1120	1447	621,7	1062,900	415,602
PDI	0,28	0,991	0,702	0,658	0,358
Etanol-DMSO	657,3	1342	936,2	978,500	344,304
PDI	0,395	0,186	0,404	0,328	0,123
Etanol - Diclorometano	511,8	673,7	653,1	612,867	88,130
PDI	0,571	0,359	0,196	0,375	0,188
Etanol- Dioxano	668,9	507,1	318,4	498,133	175,422
PDI	0,465	0,332	0,411	0,403	0,067
Propilenglicol- Acetona	426,3	290,6	111,5	276,133	157,898
PDI	0,433	0,542	0,148	0,374	0,203
Propilenglicol- DMSO	122	358,6	136,8	205,800	132,535
PDI	0,498	0,546	0,542	0,529	0,027
Propilenglicol - Diclorometano	608,8	275,6	233,3	372,567	205,674
PDI	0,354	0,034	0,006	0,131	0,193
Propilenglicol- Dioxano	127,3	133,8	197	152,700	38,502
PDI	0,123	0,363	0,657	0,381	0,267

Tabla 18 Porcentaje de eficiencia de encapsulación con PLGA peso molecular 38-54 kDa

Mezcla	% de eficiencia de encapsulación 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación estandar
Agua- Acetona	6,7353	6,6939	6,6513	6,6935	0,0420
Agua - DMSO	6,9661	7,1032	7,0439	7,0377	0,0688
Agua - Dioxano	6,9926	6,9552	6,9949	6,9809	0,0223
Etanol-Acetona	5,7819	5,4105	5,7819	5,6581	0,2144
Etanol-DMSO	5,4756	6,6468	6,6499	6,2574	0,6771
Etanol - Diclorometano	0,3107	0,2946	0,3739	0,3264	0,0419
Etanol- Dioxano	0,3805	0,3490	0,3920	0,3738	0,0223
Propilenglicol- Acetona	6,2216	6,6437	6,2159	6,3604	0,2453
Propilenglicol- DMSO	6,7931	6,8041	6,8133	6,8035	0,0101
Propilenglicol - Diclorometano	6,7507	6,6989	6,7087	6,7194	0,0275
Propilenglicol- Dioxano	3,5290	2,1223	2,6012	2,7509	0,7152

Tabla 19 Perfil de liberación de colorante oil red O con PLGA peso molecular 38-54kDa

Tiempo (h)	Agua - Acetona PLGA mw 38 -54 kDa					Agua - DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Agua - Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0309	0,0311	0,0316	0,0312	0,00034	0,0389	0,0389	0,0326	0,0368	0,00363	0,0810	0,0404	0,0304	0,0506	0,0268
1	0,0627	0,0637	0,0663	0,0642	0,00183	0,1228	0,1228	0,1328	0,1262	0,00577	0,0857	0,0755	0,0809	0,0807	0,0051
2	0,0730	0,0726	0,0739	0,0732	0,00068	0,1460	0,1460	0,1476	0,1465	0,00095	0,0881	0,0860	0,0864	0,0868	0,0011
3	0,0802	0,0793	0,0805	0,0800	0,00066	0,1509	0,1509	0,1524	0,1514	0,00086	0,0917	0,0885	0,0889	0,0897	0,0018
	0,0853	0,0855	0,0854	0,0854	0,00010	0,1469	0,1469	0,1503	0,1480	0,00194	0,0933	0,0910	0,0913	0,0919	0,0012
	0,1266	0,1238	0,1232	0,1245	0,00182	0,1565	0,1565	0,1587	0,1572	0,00131	0,0954	0,0940	0,0941	0,0945	0,0008
	0,1299	0,1305	0,1301	0,1302	0,00030	0,1588	0,1588	0,1597	0,1591	0,00054	0,1311	0,1375	0,1311	0,1333	0,0037
72	0,1303	0,1346	0,1340	0,1330	0,00233	0,1690	0,1690	0,1670	0,1683	0,00116	0,1245	0,1425	0,1255	0,1308	0,0101
168	0,1236	0,1247	0,1247	0,1243	0,00064	0,1495	0,1495	0,1401	0,1464	0,00542	0,0948	0,1289	0,0949	0,1062	0,0197

Tiempo (h)	Etanol-Acetona PLGA mw 38-54 kDa					Etanol-DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Etanol - Diclorometano PLGA mw 38-54 kDa					Etanol- Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0040	0,0042	0,0039	0,0040	0,0001	0,0040	0,0042	0,0035	0,0039	0,0004	0,0031	0,0031	0,0030	0,0030	0,0001	0,0031	0,0031	0,0028	0,0030	0,0002
1	0,0135	0,0139	0,0145	0,0140	0,0005	0,0144	0,0171	0,0158	0,0158	0,0013	0,0030	0,0030	0,0029	0,0030	0,0000	0,0031	0,0034	0,0029	0,0032	0,0003
2	0,0209	0,0206	0,0214	0,0210	0,0004	0,0219	0,0235	0,0230	0,0228	0,0008	0,0030	0,0030	0,0027	0,0029	0,0001	0,0032	0,0035	0,0033	0,0033	0,0002
3	0,0240	0,0236	0,0247	0,0241	0,0006	0,0229	0,0240	0,0237	0,0236	0,0006	0,0032	0,0032	0,0032	0,0032	0,0000	0,0032	0,0032	0,0032	0,0032	0,0000
4	0,0356	0,0314	0,0387	0,0352	0,0037	0,0240	0,0253	0,0256	0,0249	0,0008	0,0036	0,0036	0,0034	0,0035	0,0001	0,0033	0,0033	0,0033	0,0033	0,0000
24	0,0619	0,0617	0,0663	0,0633	0,0026	0,0509	0,0573	0,0513	0,0532	0,0036	0,0033	0,0033	0,0031	0,0032	0,0001	0,0034	0,0032	0,0035	0,0034	0,0001
48	0,0741	0,0748	0,0814	0,0768	0,0041	0,0712	0,0671	0,0688	0,0691	0,0021	0,0036	0,0036	0,0037	0,0037	0,0000	0,0039	0,0037	0,0037	0,0038	0,0001
72	0,0752	0,0756	0,0831	0,0780	0,0044	0,0787	0,0789	0,0788	0,0788	0,0001	0,0031	0,0031	0,0033	0,0031	0,0001	0,0036	0,0033	0,0034	0,0034	0,0001
168	0,0771	0,0763	0,0883	0,0806	0,0067	0,0865	0,0875	0,0860	0,0867	0,0007	0,0042	0,0042	0,0040	0,0041	0,0001	0,0047	0,0047	0,0048	0,0047	0,0000

Tiempo (h)	Propilenglicol-Acetona PLGA mw 38-54 kDa					Propilenglicol-DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Propilenglicol - Diclorometano PLGA mw 38-54 kDa					Propilenglicol- Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0	0,0030	0,0034	0,0028	0,0031	0,0003	0,0044	0,0042	0,0048	0,0045	0,0003	0,0033	0,0030	0,0030	0,0031	0,0002	0,0034	0,0032	0,0033	0,0033	0,0001
1	0,0084	0,0075	0,0070	0,0076	0,0007	0,0198	0,0188	0,0187	0,0191	0,0006	0,0126	0,0126	0,0128	0,0126	0,0001	0,0076	0,0073	0,0067	0,0072	0,0005
2	0,0101	0,0109	0,0092	0,0101	0,0008	0,0376	0,0371	0,0373	0,0373	0,0003	0,0191	0,0193	0,0192	0,0192	0,0001	0,0083	0,0081	0,0075	0,0080	0,0004
3	0,0106	0,0112	0,0102	0,0107	0,0005	0,0487	0,0523	0,0491	0,0500	0,0020	0,0255	0,0260	0,0270	0,0262	0,0008	0,0086	0,0086	0,0089	0,0087	0,0002
4	0,0115	0,0116	0,0116	0,0116	0,0001	0,0720	0,0757	0,0701	0,0726	0,0028	0,0348	0,0332	0,0338	0,0339	0,0008	0,0102	0,0098	0,0102	0,0101	0,0002
24	0,0235	0,0201	0,0202	0,0213	0,0019	0,1091	0,1111	0,1076	0,1093	0,0017	0,0533	0,0537	0,0540	0,0536	0,0004	0,0114	0,0106	0,0117	0,0113	0,0006
48	0,0227	0,0202	0,0202	0,0210	0,0014	0,1073	0,1073	0,1076	0,1074	0,0002	0,0609	0,0605	0,0615	0,0610	0,0005	0,0117	0,0106	0,0119	0,0114	0,0007
72	0,0250	0,0241	0,0260	0,0250	0,0010	0,1112	0,1113	0,1111	0,1112	0,0001	0,0611	0,0600	0,0614	0,0608	0,0007	0,0115	0,0106	0,0120	0,0114	0,0007
168	0,0452	0,0437	0,0459	0,0449	0,0011	0,1115	0,1097	0,1115	0,1109	0,0010	0,0615	0,0615	0,0637	0,0622	0,0013	0,0121	0,0110	0,0112	0,0114	0,0006

Tabla 20 Velocidades de liberación de colorante oil red O con PLGA peso molecular 38-54 kDa

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Agua - Acetona PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Agua- DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Agua - Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	3,18E-02	3,26E-02	3,47E-02	3,30E-02	1,49E-03	8,39E-02	1,00E-01	9,45E-02	9,29E-02	8,26E-03	4,65E-03	3,51E-02	5,05E-02	3,01E-02	2,33E-02
1 - 2	1,03E-02	8,90E-03	7,69E-03	8,96E-03	1,31E-03	2,32E-02	1,48E-02	1,07E-02	1,62E-02	6,33E-03	2,39E-03	1,05E-02	5,52E-03	6,13E-03	4,08E-03
2 - 3	7,20E-03	6,63E-03	6,57E-03	6,80E-03	3,48E-04	4,95E-03	4,79E-03	9,32E-03	6,35E-03	2,57E-03	3,66E-03	2,54E-03	2,41E-03	2,87E-03	6,87E-04
3 - 4	5,10E-03	6,25E-03	4,87E-03	5,41E-03	7,41E-04	-4,04E-03	-2,17E-03	1,94E-04	-2,01E-03	2,12E-03	1,57E-03	2,49E-03	2,43E-03	2,16E-03	5,15E-04
4 - 24	2,07E-03	1,91E-03	1,89E-03	1,96E-03	9,50E-05	1,98E-03	3,06E-04	2,14E-04	8,32E-04	9,93E-04	1,06E-04	1,49E-04	1,41E-04	1,32E-04	2,32E-05
24 - 48	1,38E-04	2,80E-04	2,90E-04	2,36E-04	8,53E-05	-1,15E-03	1,40E-04	-2,83E-05	-3,47E-04	7,03E-04	1,49E-03	1,81E-03	1,54E-03	1,62E-03	1,74E-04
48 - 72	1,67E-05	1,73E-04	1,59E-04	1,16E-04	8,64E-05	4,23E-04	3,01E-04	3,10E-04	3,45E-04	6,83E-05	-2,75E-04	2,06E-04	-2,36E-04	-1,02E-04	2,67E-04
72 - 168	-6,98E-05	-1,03E-04	-9,64E-05	-8,99E-05	1,77E-05	-2,05E-04	-1,77E-04	-2,44E-04	-2,09E-04	3,33E-05	-3,10E-04	-1,42E-04	-3,19E-04	-2,57E-04	9,98E-05

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Etanol-Acetona PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Etanol-DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Etanol - Diclorometano PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Etanol- Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	9,49E-03	9,69E-03	1,06E-02	9,92E-03	5,89E-04	1,04E-02	1,29E-02	1,23E-02	1,19E-02	1,31E-03	-1,23E-04	-1,23E-04	-1,94E-05	-8,84E-05	5,98E-05	1,00E-05	3,78E-04	5,18E-05	1,47E-04	2,02E-04
1 - 2	7,43E-03	6,73E-03	6,91E-03	7,02E-03	3,63E-04	7,46E-03	6,41E-03	7,18E-03	7,02E-03	5,40E-04	1,94E-05	1,94E-05	-2,04E-04	-5,50E-05	1,29E-04	4,00E-05	1,10E-04	3,62E-04	1,71E-04	1,70E-04
2 - 3	3,10E-03	3,00E-03	3,29E-03	3,13E-03	1,51E-04	1,04E-03	5,56E-04	7,57E-04	7,84E-04	2,43E-04	1,97E-04	1,97E-04	4,11E-04	2,69E-04	1,23E-04	-3,00E-05	-3,56E-04	-2,91E-05	-1,38E-04	1,88E-04
3 - 4	1,16E-02	7,81E-03	1,40E-02	1,11E-02	3,13E-03	1,12E-03	1,22E-03	1,83E-03	1,39E-03	3,88E-04	3,95E-04	3,95E-04	2,01E-04	3,30E-04	1,12E-04	1,80E-04	8,09E-05	1,00E-04	1,20E-04	5,25E-05
4 - 24	1,32E-03	1,51E-03	1,38E-03	1,40E-03	1,00E-04	1,34E-03	1,60E-03	1,29E-03	1,41E-03	1,69E-04	-1,37E-05	-1,37E-05	-1,41E-05	-1,39E-05	1,87E-07	3,50E-06	-1,13E-06	1,02E-05	4,19E-06	5,69E-06
24 - 48	5,07E-04	5,46E-04	6,31E-04	5,61E-04	6,35E-05	8,48E-04	4,09E-04	7,31E-04	6,63E-04	2,27E-04	1,43E-05	1,43E-05	2,55E-05	1,80E-05	6,46E-06	2,17E-05	1,79E-05	5,93E-06	1,52E-05	8,22E-06
48 - 72	4,75E-05	3,19E-05	6,83E-05	4,93E-05	1,83E-05	3,13E-04	4,92E-04	4,14E-04	4,06E-04	8,97E-05	-2,35E-05	-2,35E-05	-1,75E-05	-2,15E-05	3,42E-06	-1,33E-05	-1,48E-05	-1,01E-05	-1,28E-05	2,41E-06
72 - 168	1,93E-05	7,25E-06	5,47E-05	2,71E-05	2,47E-05	8,13E-05	8,89E-05	7,52E-05	8,18E-05	6,84E-06	1,13E-05	1,13E-05	7,82E-06	1,02E-05	2,02E-06	1,11E-05	1,44E-05	1,38E-05	1,31E-05	1,73E-06

Intervalo de tiempo (h)	Velocidades de liberación Propilenglicol-Acetona PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol-DMSO PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol - Diclorometano PLGA mw 38-54 kDa					Velocidades de liberación Propilenglicol- Dioxano PLGA mw 38-54 kDa				
	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación	1	2	3	Promedio	Desviación
0-1	5,37E-03	4,10E-03	4,17E-03	4,55E-03	7,14E-04	1,53E-02	1,46E-02	1,40E-02	1,46E-02	6,79E-04	9,30E-03	9,63E-03	9,77E-03	9,57E-03	2,43E-04	4,25E-03	4,11E-03	3,43E-03	3,93E-03	4,41E-04
1 - 2	1,64E-03	3,45E-03	2,25E-03	2,45E-03	9,18E-04	1,78E-02	1,82E-02	1,85E-02	1,82E-02	3,64E-04	6,54E-03	6,75E-03	6,45E-03	6,58E-03	1,54E-04	7,10E-04	7,80E-04	8,06E-04	7,65E-04	4,94E-05
2 - 3	5,80E-04	3,40E-04	9,41E-04	6,20E-04	3,03E-04	1,11E-02	1,53E-02	1,18E-02	1,27E-02	2,23E-03	6,45E-03	6,61E-03	7,75E-03	6,94E-03	7,10E-04	2,20E-04	5,01E-04	1,39E-03	7,04E-04	6,11E-04
3 - 4	8,80E-04	3,17E-04	1,47E-03	8,87E-04	5,74E-04	2,34E-02	2,34E-02	2,11E-02	2,26E-02	1,33E-03	9,29E-03	7,28E-03	6,77E-03	7,78E-03	1,33E-03	1,66E-03	1,22E-03	1,31E-03	1,40E-03	2,33E-04
4 - 24	6,00E-04	4,25E-04	4,30E-04	4,85E-04	9,93E-05	1,86E-03	1,77E-03	1,87E-03	1,83E-03	5,58E-05	9,22E-04	1,02E-03	1,01E-03	9,85E-04	5,55E-05	6,10E-05	3,78E-05	7,73E-05	5,87E-05	1,98E-05
24 - 48	-3,50E-05	5,26E-06	-4,04E-07	-1,00E-05	2,18E-05	-7,50E-05	-1,57E-04	5,39E-07	-7,70E-05	7,86E-05	3,19E-04	2,84E-04	3,14E-04	3,06E-04	1,86E-05	1,04E-05	2,56E-06	7,95E-06	6,98E-06	4,02E-06
48 - 72	9,75E-05	1,63E-04	2,41E-04	1,67E-04	7,20E-05	1,62E-04	1,67E-04	1,45E-04	1,58E-04	1,14E-05	6,67E-06	-2,05E-05	-3,64E-06	-5,82E-06	1,37E-05	-1,00E-05	-1,35E-06	4,04E-06	-2,43E-06	7,08E-06
72 - 168	2,10E-04	2,04E-04	2,07E-04	2,07E-04	3,03E-06	2,60E-06	-1,66E-05	4,45E-06	-3,19E-06	1,17E-05	4,27E-06	1,55E-05	2,38E-05	1,45E-05	9,81E-06	6,98E-06	3,64E-06	-8,19E-06	8,10E-07	7,97E-06