



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología



Trabajo Fin de Grado

Grado en Química

Fármacos microencapsulados para el tratamiento del glaucoma

Autor:

Garbiñe de Arriba

Directora:

Rosa María Alonso

Codirectora

María Luz Alonso

Departamento:

Química Analítica





Índice

1. Introducción.....	3
1.1 Glaucoma	3
1.2 Humor acuoso.....	4
1.3 Diagnostico clinico.....	5
1.4 Terapias para su tratamiento.....	5
1.4.1 Tratamiento farmacológico.....	6
1.4.2 Tratamiento quirúrgico.....	7
1.4.3 Terapia con laser.....	8
1.5 Formas de administracion.....	8
1.6 Microencapsulacion.....	9
1.6.1 Materiales utilizados en microencapsulación.....	11
1.6.2 Agentes encapsulantes utilizados en microencapsulación.....	11
1.6.3 Ciclodextrinas.....	13
1.6.4 Procesos de microencapsulación.....	16
1.6.5 Técnicas de verificación de la encapsulación.....	19
2. Objetivo.....	22
3. Procedimiento experimental.....	23
3.1 Reactivos y disoluciones.....	23
3.2 Instrumentación.....	23
3.3 Preparación de la mezcla física.....	24
3.4 Procedimiento de encapsulación.....	24
3.4.1 Verificación de la encapsulación (Timolol : HP- β -CD).....	24
3.4.2 Caracterización de los complejos de inclusión (Timolol : HP- β -CD).....	24
3.4.3 Estabilidad del complejo de inclusión en agua.....	25
3.5 Resultados.....	26
3.5.1 Verificación de la encapsulación (Timolol : HP- β -CD).....	26
3.5.2 Caracterización de los complejos de inclusión (Timolol : HP- β -CD).....	27
3.5.3 Estabilidad del complejo de inclusión en agua.....	35
4. Conclusiones.....	38
Bibliografía.....	39

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GLAUCOMA

El glaucoma es una enfermedad que afecta actualmente a más de 60 millones de personas en todo el mundo. Se trata de la segunda causa de ceguera después de la catarata, y mientras que ésta última es posible tratarla quirúrgicamente, el glaucoma llega a provocar un daño en el nervio óptico que hasta el momento es irreversible.¹

En el ojo humano, tal y como se observa en la Figura 1, existe un pequeño espacio que se le llama “cámara anterior”. El humor acuoso entra y sale del ojo por este espacio para humedecer y nutrir los tejidos. Cuando una persona presenta esta enfermedad, el humor acuoso sale muy lentamente del ojo, lo que hace que se acumule y aumente la presión del ojo. Esta presión sino se controla puede llegar a dañar el nervio óptico y hacer que disminuya el flujo sanguíneo de sus fibras nerviosas, llegando a provocar una pérdida de presión e incluso pérdida de visión.²

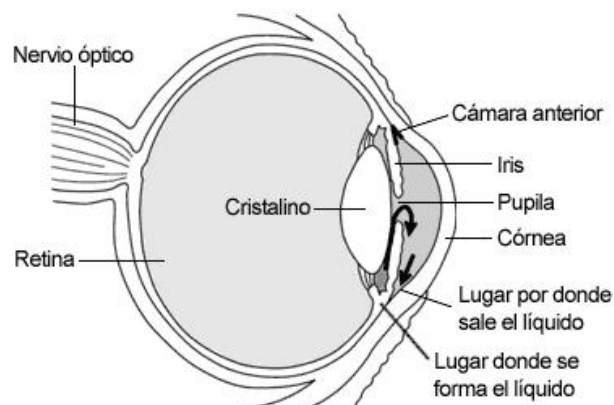


Figura 1. Diagrama del corte transversal del globo ocular

1.2. HUMOR ACUOSO

El humor acuoso es un líquido transparente que, como se puede apreciar en la Figura 2, baña a las estructuras internas de la cámara anterior y posterior del ojo.³

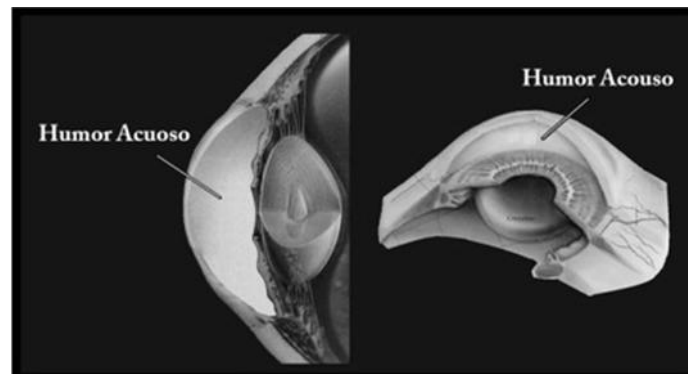


Figura 2. Situación del humor acuoso en la cámara anterior y posterior del ojo

Entre sus funciones podemos señalar sus propiedades ópticas, la determinación de la presión intraocular, la conservación de su propia transparencia y el intercambio de metabolitos con cornea, cristalino y vítreo.

La composición del humor acuoso depende de su generación y de los cambios metabólicos que se producen a lo largo de su recorrido intraocular. Tiene un pH de 7,2 y presenta un exceso de ácido ascórbico, con una concentración 15 veces superior a la del nivel plasmático, y con ausencia casi total de proteínas y exceso de Cl^- , Na^+ , ácido láctico y déficit de glucosa, urea y ácido carbónico. ⁴

1.3. DIAGNÓSTICO CLÍNICO

Existen dos tipos de glaucoma, de ángulo abierto (el más frecuente que afecta a aproximadamente el 95% de los individuos) y de ángulo cerrado.

- El glaucoma de ángulo abierto, es la forma más común de la enfermedad, es progresivo y se caracteriza por el daño al nervio óptico. Por lo general no presenta síntomas, pero tal y como se observa en la Figura 3, la tensión del ojo crece gradualmente llegando a provocar un aumento de la producción del humor acuoso o disminución del drenaje, haciendo que el nervio óptico se deteriore y se pierda la visión periférica. Para poder prevenirla hay que someterse a una serie de revisiones completas de los ojos, y reduciendo la presión de éstos, en las primeras etapas del glaucoma, se puede detener el progreso de la enfermedad y ayudar a proteger la visión. ⁵
- El glaucoma de ángulo cerrado puede ser agudo o crónico. En este tipo de glaucoma como se observa en la Figura 3, el humor acuoso entre el iris y el cristalino se bloquea de repente, es decir, permanece cerrado o reducido. En este caso pueden aparecer síntomas

como dolor severo, nauseas, vómitos, visión borrosa... Y debe ser tratado inmediatamente o podría aparecer la ceguera en uno o dos días.⁶

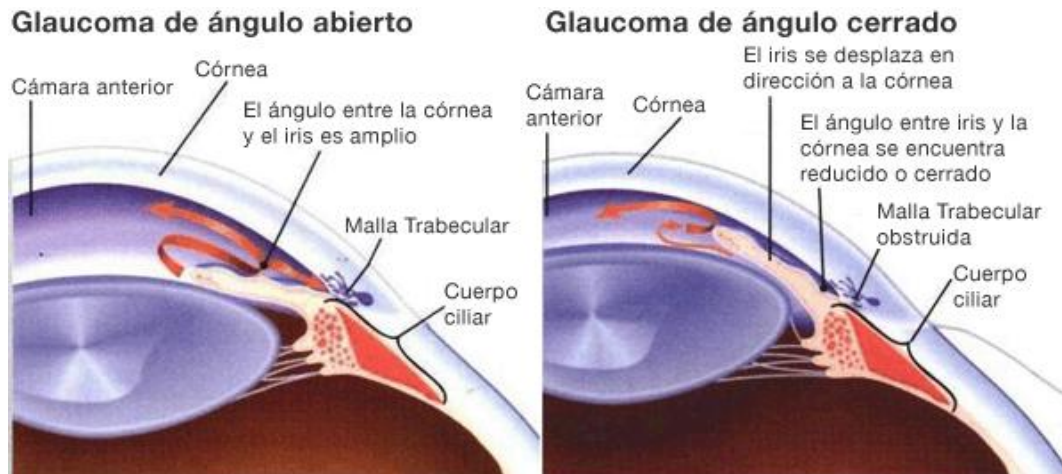


Figura 3. Descripción gráfica del glaucoma de ángulo abierto y de ángulo cerrado.

El riesgo de padecer glaucoma es mayor en aquellas personas cuyos familiares hayan sufrido esta enfermedad, aunque también cabe la posibilidad de que aparezca como consecuencia de algunos trastornos de la salud como la diabetes, miopía, hipermetropía, enfermedades cardiovasculares y migrañas, entre otras. También podría aparecer como consecuencia de la edad, de la raza y del tratamiento con corticoides.

1.4.TERAPIAS PARA SU TRATAMIENTO

El tratamiento del glaucoma tiene como principal objetivo la disminución de la presión intraocular, lo cual se consigue con la contracción de la pupila; inhibiendo la formación del humor acuoso y creando una diferencia de presión entre el ojo y la sangre para provocar la salida del humor acuoso o por el contrario corregir el bloqueo del ángulo. Otro de los objetivos del tratamiento es la disminución del dolor, haciendo uso de analgésicos.⁶

Las distintas terapias para el tratamiento del glaucoma se clasifican principalmente en tres bloques: farmacológico, quirúrgico y laser.

1.4.1. Tratamientos farmacológicos

Inicialmente, el tratamiento de los enfermos glaucomatosos es de tipo médico con fármacos hipotensores de administración local, es decir, normalmente se trata de gotas o colirios que son utilizados ya sea para la disminución de la cantidad de humor acuoso en el ojo o para mejorar el flujo hacia el exterior, tal y como se ha explicado anteriormente. Este tratamiento suele ser costoso, incómodo de administrar y con numerosos efectos colaterales indeseados. Además, existe otra manera de administración de estos fármacos vía oral, pero presenta poca disponibilidad en el ojo. Se utilizan en terapias de corto plazo o cuando la presión intraocular llega a ser muy alta.

Los medicamentos de uso tópico actúan de forma eficaz cuando son colocados sobre la superficie del globo un número adecuado de veces al día y en un intervalo de horas correcto, cuando se trata de dosis múltiples⁷. En cambio en la actualidad se están utilizando geles, formados por polímeros solubles en agua, que aumentan la viscosidad de la disolución, disminuyendo el número de dosis.

En este trabajo nos centraremos en este grupo de tratamientos farmacológicos, por lo que se detalla a continuación los cinco grandes grupos terapéuticos utilizados para el tratamiento del glaucoma^{2, 8, 9}:

- Los beta-bloqueantes. Constituyen el grupo de fármacos utilizados en el tratamiento como primera opción. El objetivo de su utilización es bajar la presión intraocular del ojo, mediante la disminución de la secreción del humor acuoso en aproximadamente el 16-47%. Entre sus efectos secundarios destacan el latido irregular del corazón, visión doble y problemas respiratorios para aquellos pacientes que presentan asma. Entre los fármacos más empleados en este grupo se encuentran el metipranolol, betatoxol y el timolol (fármaco en el que se centrará este estudio y cuya molécula se muestra en la Figura 4).

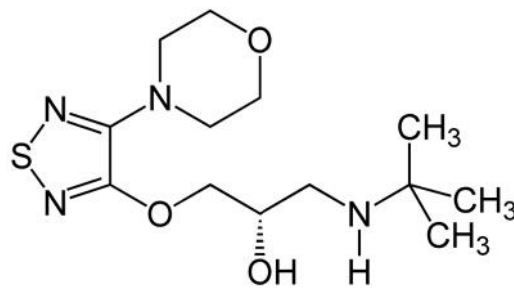


Figura 4. Estructura química del timolol

- Los alfa agonistas adrenérgicos. Actúan reduciendo la producción del humor acuoso y aumentando su salida. Su utilización presenta el problema de producir con facilidad reacciones alérgicas. Entre sus efectos secundarios destaca el dolor de cabeza, aumento de la frecuencia cardiaca, visión borrosa o enrojecimiento dentro o alrededor del ojo. Los fármacos más empleados de este grupo son la brimonidina y apraclonidina.
- Análogos de prostaglandina. Reducen la presión en el ojo al aumentar el flujo del líquido hacia fuera del ojo. Entre los efectos secundarios destacan el cambio de color de los ojos, el aumento del grosor y número de pestañas o síntomas gripales. Se encuentran en este grupo fármacos como el latanoprost y el bimatoprost.
- Los inhibidores de la anhidrasa carbónica. Aquellos que están indicados para pacientes que no pueden utilizar los beta- bloqueantes o prostaglandinas. Se administran en forma de píldoras o gotas, que se emplean para reducir la producción de humor acuoso aproximadamente en un 40%. Algunos de los efectos secundarios del uso de este grupo de fármacos son los ojos rojos o irritación, erupción en la piel o visión borrosa. Dentro del grupo de los fármacos administrados vía oral destaca la acetazolamida y dentro del grupo de los fármacos de tratamiento tópico destacan la dorzolamida y la brinzolamida.
- Los agentes colinérgicos, también llamados mióticos. Ayudan a aumentar el nivel de drenaje del humor acuoso en el ojo. Entre sus efectos secundarios se encuentran los ojos rojos o la visión turbia o borrosa. En este grupo el principio activo más empleado es la pilocarpina.

1.4.2. Tratamientos quirúrgicos

En el caso de que otros tratamientos fracasasen en la reducción de la presión ocular, la cirugía puede ser necesaria con el fin de crear un nuevo canal de drenaje. . Estas cirugías están

diseñadas para aliviar la presión ocular, e insertando implantes en el ojo, o mediante la combinación de ambas técnicas.

Los implantes quirúrgicos tienen la ventaja de ser capaces de suministrar los fármacos durante un periodo largo de tiempo, siendo el sistema ideal para conseguir una liberación sostenida de unos tres o cuatro meses de duración.¹⁰

1.4.3. Terapia con láser

Entre estas terapias destaca la técnica Trabeculoplastia Selectiva con Laser (SLT), que no se basa en el uso de fármacos, sino que en su lugar, usa un sistema avanzado de laser dirigido solamente a células específicas del ojo (que contienen melanina). Este método permite impactar únicamente en estas células, dejando el tejido circundante intacto. Como resultado, la propia respuesta de curación del cuerpo responde disminuyendo la presión del ojo, llegando a reducir rápidamente la presión ocular después de un día.⁵

Para algunos individuos estos tratamientos no disminuyen suficientemente la presión ocular o provocan efectos secundarios inaceptables, por lo que se buscan terapias alternativas.

Una de las terapias alternativas más frecuentes es el tratamiento con cannabinoides, donde se ha llegado a demostrar que se ha llegado a reducir la presión ocular en un 24%. Estas reducciones son de corta duración y por lo tanto no mantenidas.¹¹ Esta terapia presenta la dificultad de su uso terapéutico, debido a su efecto psicotrópico y a su escasa duración de acción. El efecto de disminución de la presión ocular dura aproximadamente 3 o 4 horas, por lo que para producir una reducción ocular diaria se debería de fumar alrededor de 6 u 8 veces al día.¹²

1.5. FORMAS DE ADMINISTRACIÓN

Los fármacos utilizados para el tratamiento del glaucoma pueden ser administrados de diversas formas, entre las que se incluyen:

- Fármacos orales. Utilizados en terapias de corto plazo cuando la presión intraocular es muy alta.⁷
- Gotas oculares y geles. Las gotas son aplicadas tópicamente en la retina, pero presentan una biodisponibilidad baja (menos de un 1% del actúa en el humor acuoso) dado que el

transporte de éste a la córnea, a través de los tejidos oculares depende de las propiedades químicas del fármaco. Debido a estos problemas se deben aplicar en dosis múltiples.⁷ En cambio los geles se han introducido para poder disminuir el número de dosis diarias, llegando a usarlo tan solo una vez al día.

- Lentes de contacto. Lentes blandas formadas por hidrogeles, solubles en agua, que consisten en polímeros como N,N-dietilacrilamida y ácido metacrilico. Se ha demostrado que pueden llegar a entregar el fármaco durante periodos largos de tiempo (aproximadamente 24 horas) siendo en un futuro un método atractivo alternativo al de las gotas oculares. La única limitación que presenta en el sistema de suministro es que el paciente debe llevar al lente en todo momento.⁷

1.6. MICROENCAPSULACIÓN

El desarrollo de la microencapsulación ha permitido sintetizar partículas cargadas de fármacos, lo que hace posible incrementar la dosis del fármaco sin afectar a su tolerancia, así como poder realizar una liberación controlada del fármaco en el medio con una duración de acción programada y a su vez disminuir de forma eficaz los efectos secundarios.¹³

Este tipo de partículas tienen la ventaja de presentar menor tamaño que los implantes, lo cual las capacita para ser inyectadas o formar parte de implantes mediante su compresión. La encapsulación en función de las dimensiones de las partículas que produce se denomina microencapsulación cuando dichas partículas son de un tamaño menor de 1 mm y nanoencapsulación con dimensiones de 1 μm .¹⁴

En la microencapsulación el fármaco se encuentra encerrado en una cápsula, y su vía de administración, como ya se ha comentado anteriormente, es a través de las mucosas. Estas cápsulas son tan pequeñas que son capaces de atravesar las mucosas y pasar rápidamente al torrente sanguíneo, es decir, cuando los fármacos encerrados en estas micro/nano-cápsulas inciden en tejidos del organismo, se liberan las moléculas llegando a incidir sobre los microorganismos patógenos o virus, destruyéndolos.

Entre las ventajas de la microencapsulación podemos citar: ¹⁵

- El fármaco pasa directamente de las mucosas al torrente sanguíneo y por lo tanto el efecto terapéutico es inmediato.

- Evita la degradación del fármaco durante su distribución y por lo tanto, su dosis formulada es transferida a la sangre en su totalidad.
- Comodidad para el paciente, ya que evita la aplicación de inyecciones o la ingesta de tabletas, cápsulas o grageas.

Existen varios tipos de microcápsulas, que dependiendo de su estructura se clasifican como: microcápsulas de sistema reservorio o capsular y microcápsulas en sistema matricial:

- Microcápsulas de sistema reservorio o capsular: el principio activo se encuentra incluido en una especie de reservorio, que puede ser de naturaleza líquida o sólida, el cual se haya envuelto por una fina película de material de recubrimiento. En la Figura 5 se puede observar la partícula con el interior lleno (Figura 5 a) y con el interior prácticamente vacío creando una microcápsula vacía (Figura 5 b).
- Microcápsulas en sistema matricial: el principio activo se encuentra disperso en la matriz polimérica. Puede presentar el principio activo repartido en toda la microcápsula con una estructura en forma de espuma (Figura 5 c) o en cambio en una estructura en forma de red (Figura 5 d). Es posible también encontrar el principio activo disperso en la matriz que lo envuelve, como si fuera la esfera llena (Figura 5 e) o en la periferia (Figura 5 f) ^{17, 18}.

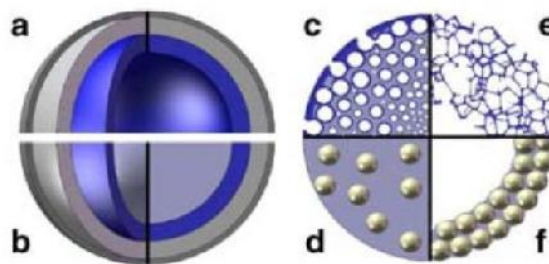


Figura 5. Morfología de los diferentes tipos de microcápsula.

La obtención de un tipo u otro de estructura depende de las características físico-químicas del principio activo y de la composición del revestimiento y, en especial, de la técnica de microencapsulación utilizada.

La encapsulación presenta una serie de ventajas para la industria farmacéutica, que han motivado que ese proceso cobre importancia en este sector¹⁸. Entre estas ventajas se encuentran: la reducción de los efectos irritantes causados por algunos medicamentos en la

mucosa gástrica; la protección de los fármacos frente a factores como el calor, humedad, microorganismos bacteriófagos y los ambientes adversos, como la congelación y las soluciones gástricas. Por otra parte, facilita la manufacturación de productos fermentados, ya que proporcionan unas condiciones que permiten mantener su estabilidad y viabilidad. Así mismo posibilita una liberación controlada del fármaco, lo que proporciona una absorción máxima de los principios activos con un mínimo de reacciones adversas.¹⁹

1.6.1 Materiales utilizados en microencapsulación

Existe una gran variedad de materiales que pueden aplicarse en la microencapsulación¹⁷, entre los que cabe citar:

- Encapsulantes: materiales inorgánicos, lípidos, proteínas, gomas, carbohidratos y polímeros.
- Disolventes: acetona, metanol, diclorometano. Deben ser capaces de disolver las sustancias activas y ser relativamente miscibles en agua.
- Emulsionantes: coloides poliméricos hidrofóbicos, surfactantes no iónicos...
- Conservantes. Los más utilizados son los nitritos sódicos o benzoatos sódicos.
- Otros: como disoluciones tampón (ácidos débiles y sus sales como por ejemplo tampón fosfato, tampón carbonado, citrato...).

1.6.2 Agentes encapsulantes utilizados en microencapsulación

En la Tabla 1 se recogen los tipos de encapsulantes más frecuentes^{20, 21} y a continuación se explican cada uno de los grupos:

Tabla 1. Tipos de agentes encapsulantes

<u>TIPO DE COBERTURA</u>	<u>COBERTURA ESPECÍFICA</u>
<i>Materiales inorgánicos</i>	Sulfato de calcio, silicatos
<i>Proteínas</i>	Gluten, caseína, albumina, gelatina
<i>Lípidos</i>	Ceras, parafinas, diglicéridos, monoglicéridos, aceites, grasas, ácido esteárico, trisetearina
<i>Celulosas</i>	Etilcelulosa, metilcelulosa, acetilcelulosa, nitrocelulosa, carboximetil-celulosa
<i>Gomas</i>	Agar, alginato de sodio, carragenina, goma arábica
<i>Carbohidratos</i>	Almidón, dextrinas, sacarosa, jarabes de maíz

- Materiales inorgánicos. Dentro de este grupo se encuentran los silicatos como el silicato de calcio que es un poderoso encapsulante de materiales peligrosos, convirtiendo productos solubles en insolubles y volátiles en no volátiles. Normalmente, los compuestos orgánicos quedarán recubiertos por el silicato, reduciendo su riesgo de contaminación. Estos componentes encapsulados cambian sus propiedades físico-químicas, haciéndolos resistentes al calor, agua y ataques ácidos.
- Proteínas. Estos agentes encapsulantes, como el gluten, caseína, albúmina o gelatina, poseen una gran capacidad encapsulante, llegando a generar microcápsulas inferiores a 2 μm , aunque presentan algunos inconvenientes como su baja solubilidad en agua, bajo potencial para reaccionar con grupos carbonilos y su alto coste.
- Lípidos. Ceras, parafinas, aceites o grasas se utilizan en la mayoría de los casos en la formación de liposomas. Destacan los aceites hidrogenados como el aceite de palma, que

es un excelente agente encapsulante para la formación de películas capaces de cubrir partículas individuales.

- Celulosas. Los polisacáridos de glucosa son muy abundantes y por ello muy utilizados para la microencapsulación. Son agentes encapsulantes rígidos, insolubles en agua y biodegradables^{14, 15}.
- Gomas. Son generalmente polímeros naturales, solubles, de baja viscosidad, biodegradables, favorecen la formación de una emulsión y son muy versátiles para la mayoría de los métodos de encapsulación. En este grupo se encuentran el alginato de sodio y la goma arábiga.¹⁹
- Carbohidratos. Son muy empleados en encapsulación debido a su alta solubilidad acuosa, su larga vida a temperatura ambiente y su bajo coste. Dentro de este grupo de agentes encapsulantes, destacan el almidón, la sacarosa y las dextrinas. Las dextrinas son polímeros de alto grado de ramificación, que se forman por el proceso de calentamiento del almidón en presencia de ácido o base y mejoran la solubilidad y viscosidad del almidón modificado. Dentro del grupo de las dextrinas, destacan las ciclodextrinas, dextrinas cíclicas que se han obtenido a partir de una hidrólisis parcial del almidón de maíz por vía ácida o enzimática.

1.6.3 Ciclodextrinas

Las ciclodextrinas (CD) son azúcares cíclicos naturales de seis (α -CDs), siete (β -CDs) u ocho (γ -CDs) unidades de glucosa unidas por enlaces α (1-4). Todos los tipos de CDs presentan estructura troncocónica, debido a la conformación en forma de silla de las unidades de glucopiranosas. Como se observa en la Figura 6, se orientan hacia la boca ancha de la estructura los grupos $-OH$ secundarios de los carbonos C2 y C3 de cada unidad de glucosa, mientras que todos los grupos hidrofílicos se ubican alrededor de las aberturas de la cavidad y orientadas hacia afuera. De esta forma, la ciclodextrina presenta un revestimiento externo de naturaleza altamente hidrofílica.^{17, 23, 24}

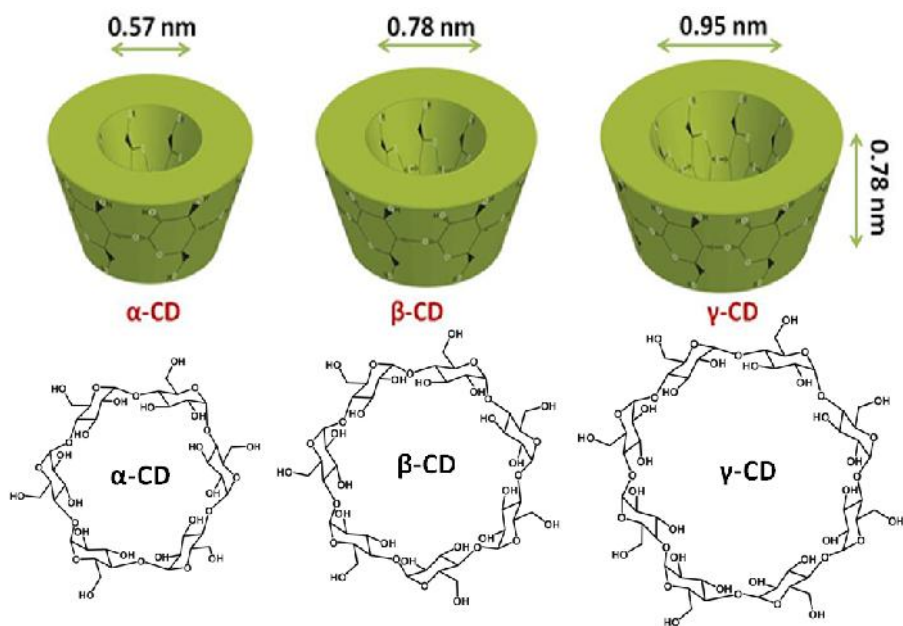


Figura 6. Tipos de ciclodextrinas

Las propiedades de cada tipo de ciclodextrina se recogen en la Tabla 2.

Tabla 2. Propiedades de la CDs

	<u>α-CD</u>	<u>β-CD</u>	<u>γ-CD</u>
Diámetro externo (nm)	1,52	1,66	1,77
Diámetro cavidad interna (nm)	0,45-0,53	0,60-0,65	0,75-0,85
Solubilidad H₂O (g/100mL)	129,5	18,4	249,2

A partir de estas ciclodextrinas naturales, se han sintetizado otros tipos de CDs, llamadas CDs modificadas. Entre ellas se encuentra la HP- β -CD (hidroxipropil- β -CD), la HPE- β -CD (hidroxietil- β -CD), DIME- β -CD ((2,6-dimetil)- β -CD) y la TIME- β -CD ((2,3,6-trimetil)- β -CD), como se puede observar en la Figura 7.

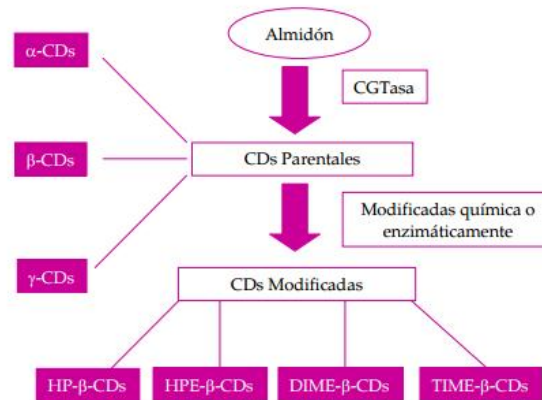


Figura 7. Esquema de formación de las CDs modificadas

Estas CDs modificadas se obtienen por acilaciones, esterificaciones o eterificaciones de los grupos OH de los carbonos primarios y secundarios de las CDs naturales. Dependiendo del sustituyente adicionado, varía su solubilidad respecto a las naturales debido a la variación del volumen de su cavidad hidrofóbica. Las CDs que más han sido modificadas son las β -CDs, con mas de 20 sustituyentes diferentes.

Los estudios de toxicidad han demostrado que las CDs no son tóxicas, debido a su escasa o nula absorcion en el tracto gastrointestinal, pero las α -CDs son bastante irritantes, debido a que se unen a algunos lipidos produciendo irritacion ocular. Las β -CDs son menos irritantes que las anteriores cuando se administran intramuscularmente. En la actualidad son las CDs más empleadas para la producción de formulaciones farmacéuticas, dado que poseen una disponibilidad grande para formar complejos, tanto las CDs naturales como las modificadas, destacando la HP- β -CD, que se trata de una de las mas utilizadas para la encapsulacion de farmacos, debido ademças a su baja toxicidad.²⁵ Las γ -CDs son las que menos efectos adversos presentan, pero poseen una menor disposición para formar complejos.

La característica más destacada de las CDs, es la formación de complejos de inclusión con numerosos compuestos orgánicos e inorgánicos, siempre que el compuesto a incluir presente las dimensiones requeridas para que entre en la cavidad, tal y como se explicará más detalladamente más adelante en la técnica de encapsulamiento por inclusión molecular.^{23, 24}

1.6.4 Procesos de microencapsulación

Los procesos de encapsulación se clasifican en tres grupos que incluyen aquellos que implican fenómenos físicos, otros que emplean reacciones químicas de polimerización para producir la pared de la cápsula y por último los que combinan los métodos físicos y químicos.¹⁸

- Procesos físicos: secado por aspersion, extrusión y recubrimiento por aspersion.
- Procesos químicos: polimerización interfacial e inclusion molecular.
- Procesos fisicoquímicos: coacervación simple o compleja y atrapamiento en liposomas.

La selección del proceso se basa en considerar el tamaño medio de partícula requerida, las propiedades fisicoquímicas del agente encapsulante y la sustancia a encapsular, las aplicaciones del material encapsulado, el mecanismo de liberación deseado y el coste.

A continuación se detallan los procesos de microencapsulación citados.

- Secado por aspersion

La finalidad de este sistema es la obtención de un producto en polvo a partir de un material líquido concentrado, que se pulveriza finalmente formando una niebla que entra en contacto con una corriente de aire caliente (entre 200-300°C) que actúa como medio calefactor y fluido de transporte. El material líquido se evapora instantáneamente permitiendo que el material activo presente en la emulsión quede atrapado dentro de una película de material encapsulante. Una de las ventajas de este proceso, además de ser un proceso simple, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto (de 5 a 30 segundos).

Los principales agentes encapsulantes utilizados en este tipo de proceso son los carbohidratos (almidón y derivados, maltodextrinas, jarabes de maíz, ciclodextrinas...), gomas (arábica...), lípidos y proteínas. Estos agentes encapsulantes deben tener la capacidad de proporcionar una emulsión estable durante el proceso de secado por aspersion y tener muy buenas propiedades de formación de película para proveer una capa que proteja al material activo de la oxidación: ^{17, 20, 26}



Figura 8. Atomización

- Aspersión por enfriamiento o calentamiento

Este proceso es muy similar al de secado por aspersión. La diferencia es que en este caso se utiliza la sustancia de recubrimiento fundida y tras ser sometida a atomización se produce un enfriamiento que provoca su solidificación, produciendo la micro encapsulación de la sustancia que se encuentra dispersa.¹⁸

- Extrusión

Este proceso es el segundo más utilizado. Consiste en una la formación de una emulsión con el agente activo y el agente encapsulante, la cual se hace pasar por un tornillo extrusor a alta presión.¹⁷

- Coacervación

Es un fenómeno que está asociado a sustancias coloidales. Está constituido por dos fases, una líquida continua y otra muy dispersa en un líquido, llegando a formar partículas de un tamaño entre 1-1000 μ m. Este proceso se introdujo en la química de coloides para describir la floculación o separación de líquidos desde una solución, en la cual al menos uno de los líquidos contenía el soluto coloidal. Existen dos tipos; la simple y la compleja²⁷:

- Coacervación simple: se produce cuando al sistema coloidal se le adicionan sustancias fuertemente hidrofílicas, lo que provoca la separación de dos fases, una con alta cantidad de sustancia coloidal y otra con baja proporción de la misma.
- Coacervación compleja: se produce cuando reaccionan dos sustancias de tipo coloidal, produciendo un complejo con una solubilidad menor que la de los coloides en forma separada.

- Atrapamiento en liposomas

Consiste en una única o una multicapa de fosfolípidos que contienen cualquier componente lipofílico. Son selectivamente permeables a iones y se pueden formar cuando una solución acuosa de sustancia activa es mezclada con la película del lípido. Materiales hidrofóbicos e hidrofílicos se pueden atrapar en liposomas que también pueden ser utilizados para la liberación de vacunas, enzimas y vitaminas del cuerpo.²²

- Polimerización interfacial

Este método involucra la disolución de un monómero hidrofóbico polimerizable en un material activo hidrofóbico. La mezcla se dispersa en una fase polar y un catalizador provoca la polimerización del monómero. El polímero es insoluble en la sustancia activa hidrofóbica y se deposita como pared alrededor de la sustancia activa.^{17, 19, 20}

- Inclusión molecular

Esta técnica también es conocida como encapsulación molecular. Es definida como el resultado de interacciones entre una molécula que se ajusta dentro de otra.²² Los materiales encapsulantes más utilizados son carbohidratos como las ciclodextrinas. Como ya hemos indicado anteriormente, el interior de éstas es hidrofóbico mientras que la superficie es hidrofílica. Su principal mecanismo es la formación de complejos tipo huésped-anfitrión, los cuales se producen por inclusión de analitos en su cavidad, generándose un equilibrio dinámico en el cual el agua u otro compuesto se reemplazan en la cavidad de la molécula de CD. Su estabilidad depende de su estructura, hidrofobicidad de la molécula, pH, disolvente orgánico, temperatura y concentración de la CD.¹⁷

La formación de complejos se realiza mediante dos métodos: en el primero la molécula huésped y la CD se cristalizan. Para ello, un disolvente menos hidrofóbico que la molécula huésped se mezcla con los componentes dando una complejación de la molécula huésped hacia el centro de la CD. La CD y la molécula huésped se mezclan en agua durante un tiempo hasta conseguir el equilibrio. El segundo método involucra la mezcla de la forma gaseosa de la molécula huésped en una solución de CD. Los complejos de inclusión obtenidos son sólidos cristalinos.²⁰

La unión resultante entre la CD y la molécula huésped no es definitiva, debido a que es un equilibrio, cuya fuerza depende del tamaño relativo de la molécula complejada y de las interacciones entre la CD y ésta (Figura 9).

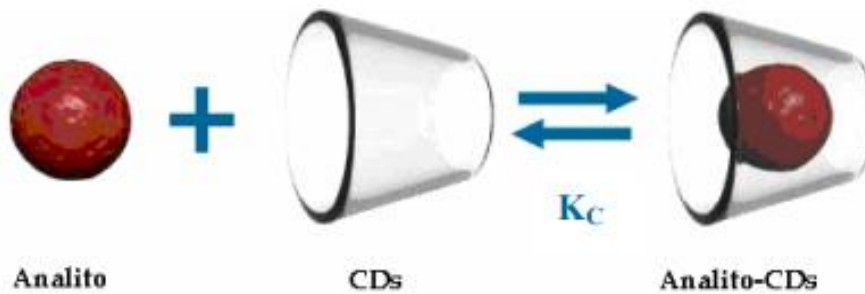


Figura 9. Formación del complejo huésped: CD

1.6.5 Técnicas de verificación de la encapsulación

Para llevar a cabo la caracterización de los complejos de inclusión se han encontrado en bibliografía gran variedad de técnicas analíticas. Destacan por un lado las que se realizan en estado sólido, como son: difracción de rayos X, espectroscopia Raman e infrarroja con transformada de Fourier (FTIR); los métodos térmicos, como la calorimetría diferencial de barrido (DSC) o el análisis termogravimétrico (TGA) y la microscopía electrónica de Barrido (SEM). Por otra parte, para el análisis en líquido se emplean la espectrofotometría de absorción UV/Vis, espectroscopía de luminiscencia, dicroísmo circular, espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN), métodos voltamétricos y conductimetría.^{24, 26}

Estas técnicas analíticas tienen dos objetivos, por un lado la **verificación de la formación del complejo de inclusión** y por otro la obtención **de información estructural del complejo de inclusión**.

Para la **verificación de la formación del complejo de inclusión de timolol** con la HP- β -CD se empleará la Calorimetría diferencial de barrido (DSC).

Esta técnica nos permite determinar la cantidad de calor que absorbe o libera una sustancia, cuando se mantiene a temperatura constante, durante un periodo de tiempo determinado o cuando se calienta o enfría a velocidad constante, en un intervalo determinado de temperaturas.

El equipo dispone de dos cápsulas donde una de ellas contiene la muestra a analizar y la otra denominada capsula de referencia. Está generalmente vacía. Se usan calefactores individuales para cada cápsula y un sistema de control comprueba si se producen diferencias de temperaturas entre la muestra y la capsula. Si se detectan diferencias, estos calefactores lo corregirán de tal manera que la temperatura se mantiene igual en ambas capsulas, es decir, cuando tiene lugar un proceso exotérmico o endotérmico, el instrumento compensa la energía necesaria para mantener la misma temperatura en ambas capsulas.²⁹

Para obtener información estructural del complejo de inclusión (timolol: HP- β -CD) se han utilizado las técnicas de microscopía electrónica de barrido (SEM), la espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y la espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (H^1 -RMN).

- Microscopia electrónica de Barrido

Esta técnica utiliza un haz de electrones para formar una imagen y nos aporta información estructural del complejo de inclusión.³⁰ Presenta una gran profundidad de campo, lo que permite el enfoque simultáneo de la mayor parte de la superficie de la muestra. Tiene una gran resolución, pudiendo llegar a estudiar partículas de un tamaño de 100 Å y obteniendo una imagen tridimensional.³¹

- Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

Esta técnica es una de las más utilizadas para la obtención de información estructural, por lo que nos ayuda también a demostrar la formación del complejo de inclusión.

La espectroscopía infrarroja es una técnica de absorción de radiación electromagnética, donde la interacción de la radiación infrarroja con la materia provoca en ésta alguna alteración, la cual guarda relación con cambios en el estado vibracional de las moléculas, obteniéndose un espectro electromagnético. Los enlaces químicos presentan frecuencias de vibración específicas, las cuales dependen de la forma, la geometría molecular y de las masas atómicas.³²

- Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protón (H^1 -RMN)

Es una de las técnicas de mayor utilidad para la determinación de estructuras moleculares. Proporciona información muy valiosa acerca de los complejos de inclusión con las CDs, debido a que permite esclarecer las relaciones geométricas y la disposición de la molécula huésped en el interior de la cavidad de las CDs, así como las características dinámicas de los complejos en disolución a partir de las variaciones en el valor del desplazamiento químico y de las constantes de acoplamiento. En resumen, la detección de complejos mediante esta técnica, se basa en las variaciones del valor del desplazamiento químico de los protones (δ) de las CDs o de la molécula complejada.^{33, 34}

- Por último, la espectrofotometría de absorción UV/Vis

Es una de las técnicas más utilizadas para la detección de complejos de inclusión con CDs, así como para el estudio de su estabilidad. Las variaciones en las longitudes de onda de los La máximos de absorción (cualitativas) o del valor del coeficiente de absorción molar (cuantitativas) sirven de base para verificar y cuantificar la formación del complejo con las HP- β -CDs.²⁶

2. OBJETIVO

Sobre la base de la problemática de los tratamientos terapéuticos del glaucoma, en especial cuando se administran en forma de gotas oculares y dado el empleo de los beta-bloqueantes como el grupo de fármacos utilizados como primera opción de tratamiento; y teniendo en cuenta las ventajas que ofrece la microencapsulación de fármacos en el sector farmacéutico y el uso de las ciclodextrinas como agentes encapsulantes, el objetivo de este trabajo se centra en:

“La microencapsulación del fármaco beta-bloqueante (timolol) con HP- β -CD en agua para el tratamiento del glaucoma”.

Para la consecución de este objetivo se ha seleccionado en base a los métodos de encapsulación y agentes encapsulantes descritos en la bibliografía las CDs como agentes encapsulantes, concretamente la HP- β -CD por su mayor facilidad para formar complejos de inclusión y por su baja toxicidad y se ha elegido el método de encapsulación por inclusión, debido a las características mencionadas y a que las propiedades de los principios activos son potenciadas por este método. Se realizará la verificación de la encapsulación mediante calorimétrica de DSC y se emplearán las técnicas SEM, FTIR y RMN para su caracterización estructural. Por último se llevará a cabo un estudio de estabilidad del producto microencapsulado en agua, mediante espectrofotometría de absorción UV/Vis.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. REACTIVOS Y DISOLUCIONES

Como agente encapsulante se utilizó la β -ciclodextrina hidroxipropilada (Cavasol W7 HP) suministrada por Wacker Chemie AG (Munich, Alemania) y como principio activo el maleato de timolol suministrado por Sigma-Aldrich Química, S.L (Italia).

Para la preparación de pastillas de infrarrojo se empleó el compuesto químico bromuro potásico (KBr) suministrado por Sigma-Aldrich.

Se utilizó agua deuterada (D_2O) Euriso-Top (Gif sur Yvette Cedex, Francia) como disolvente en RMN- H^1 .

A lo largo de toda la experimentación se empleó agua de calidad Mili Q, obtenida del sistema Millipore Modelo 185 (Bedford, MA, EEUU)

3.2. INSTRUMENTACIÓN

Las pesadas se realizaron en una balanza analítica Sartorius CP224S (Goettingen Alemania) con una precisión de $\pm 0.0001g$.

Se empleó un baño de ultrasonidos Selecta (Barcelona, España) para facilitar la disolución de algunas muestras.

Se utilizó un espectrofotómetro UV-Visible Cary 5000, Varian Inc (California, USA) para llevar a cabo el estudio de estabilidad del complejo de inclusión.

Para la caracterización del producto microencapsulado se usó un espectrofotómetro MATTSON FT-IR 1000, con una celda para sólidos.

Se empleó un microscopio electrónico de barrido Philips 500 scanning. Las muestras se recubrieron de oro, usando una sputter Coater E 5100, Bio-Rad (Muchen, Germany).

Los espectros de H^1 -RMN se recogieron en MHz a $25^\circ C$ en un espectrómetro Brouker AV500 (Bremen, Alemania) dotado de una sonda BBI.

El análisis de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizó con un modelo Mettler Toledo DSD 822[®] (Barcelona, España).

3.3. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA FÍSICA

Se preparó mezcla física en relación 1:1 y 1:2 (timolol: HP- β -CD) realizando una simple homogeneización de ambas sustancias en estado sólido en un mortero de ágata.

Esta mezcla física se preparó con la finalidad de comparar su respuesta con la del producto encapsulado, con el fin de establecer las diferencias y características que presentan.

3.4. PROCEDIMIENTO DE ENCAPSULACIÓN

Para llevar a cabo el procedimiento de encapsulación se parte previamente de una disolución acuosa de HP- β -CD (con las mismas cantidades que se ha realizado la mezcla física, es decir, de relación estequiométrica 1:1 y 1:2). Se procede a la agitación de la misma, mientras se añade gota a gota una disolución acuosa de maleato de timolol (preparada con la mínima cantidad de agua posible). Se deja agitando durante 15 minutos. Una vez transcurrido este tiempo se lleva a sequedad y finalmente el sólido obtenido se homogeneiza en un mortero de ágata.

3.4.1. Verificación de la encapsulación (Timolol: HP- β -CD)

La verificación de la formación de los compuestos encapsulados se llevó a cabo mediante la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC). Para ello, se comparó el comportamiento termogravimétrico del complejo de inclusión en estado sólido, del principio activo, de la HP- β -CD y de la mezcla física, en las mismas condiciones de temperatura. Se tomó una pequeña cantidad (aproximadamente 6mg) de cada una de las muestras y se introdujeron en unas cápsulas de aluminio, de 50 μ L de capacidad, que se colocaron en la termobalanza. Todo ello se analizó mediante un programa en modo dinámico a una velocidad de calentamiento de 10°C/min de 0 a 300°C en atmosfera de nitrógeno (80 cm³/min).

3.4.2. Caracterización de los complejos de inclusión (Timolol : HP- β -CD)

- Microscopia electrónica de barrido (SEM)

La obtención de imágenes de alta resolución mediante esta técnica se realizó con un nivel de voltaje de excitación de 5 KV para cada una de las muestras.

- Espectroscopia infrarroja (FTIR)

Para obtener los espectros infrarrojos cogiéndose tomó una pequeña cantidad de cada una de las muestras y se trituraron finamente con la ayuda de un mortero de ágata, para posteriormente añadir 0.016 g de KBr. Esta mezcla en polvo se comprimió en una prensa de troquel mecánica para formar la pastilla translúcida a través de la cual pasará el rayo de luz del espectrómetro.

- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (H^1 -RMN)

La determinación estructural mediante esta técnica en disolución se realiza utilizando como disolvente el D_2O , debido a que asegura la estabilidad de los complejos de inclusión formados. Las muestras se prepararon disolviéndolas con ayuda de un baño de ultrasonidos y se introdujeron en tubos de RMN de 5mm de diámetro. La adquisición de datos y el procesado de los mismos se llevó a cabo con el software Mestrec Nova.

3.4.3. Estabilidad del complejo de inclusión

El estudio de la estabilidad se realiza mediante la técnica de espectrofotometría de absorción UV/Visible. Se prepararon por triplicado las disoluciones de la mezcla física y del producto encapsulado en agua en unos viales topáceos a una concentración de 40 mg/L, debido a que esta concentración se obtenía una absorbancia de aproximadamente 0,80. Previamente a la medida se debe realizar una agitación de la disolución del producto encapsulado y finalmente se realiza las medidas a diferentes tiempos.

3.5. RESULTADOS

3.5.1. Verificación de la encapsulación (Timolol: CD)

- Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Se muestran en la Figura 10 los termogramas de la mezcla física, en la relación 1:1 y 1:2, y el termograma del complejo de inclusión con las mismas relaciones estequiométricas. No se observan diferencias entre los termogramas obtenidos a las dos relaciones estequiométricas por lo que se opta por la relación estequiométrica 1:1 para este estudio.

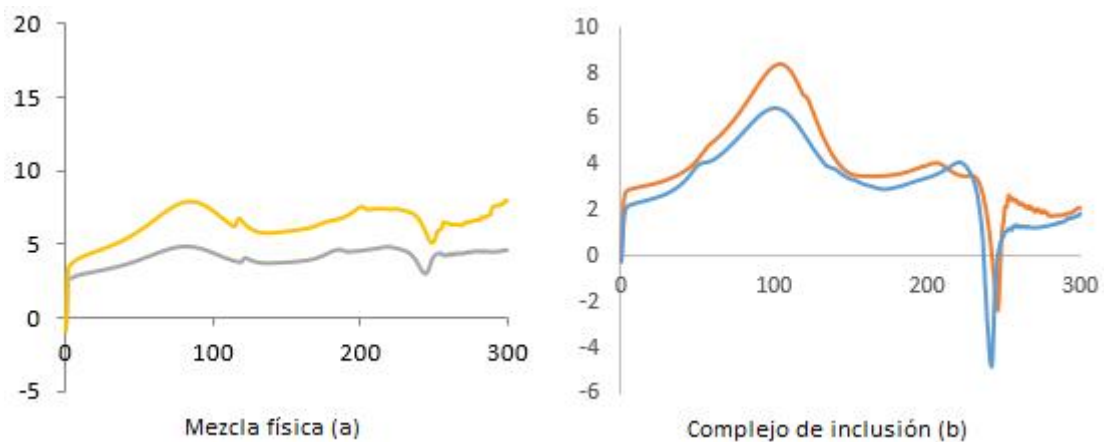


Figura 10. Termograma de (a) mezcla física 1:1 (verde) y 1:2 (amarillo)
(b) Complejo de inclusión 1:1 (azul) y 1:2 (naranja)

En la Figura 11 se muestran las curvas DSC obtenidas para el timolol, HP- β -CD, la mezcla física y el complejo de inclusión obtenidas a distintas temperaturas.

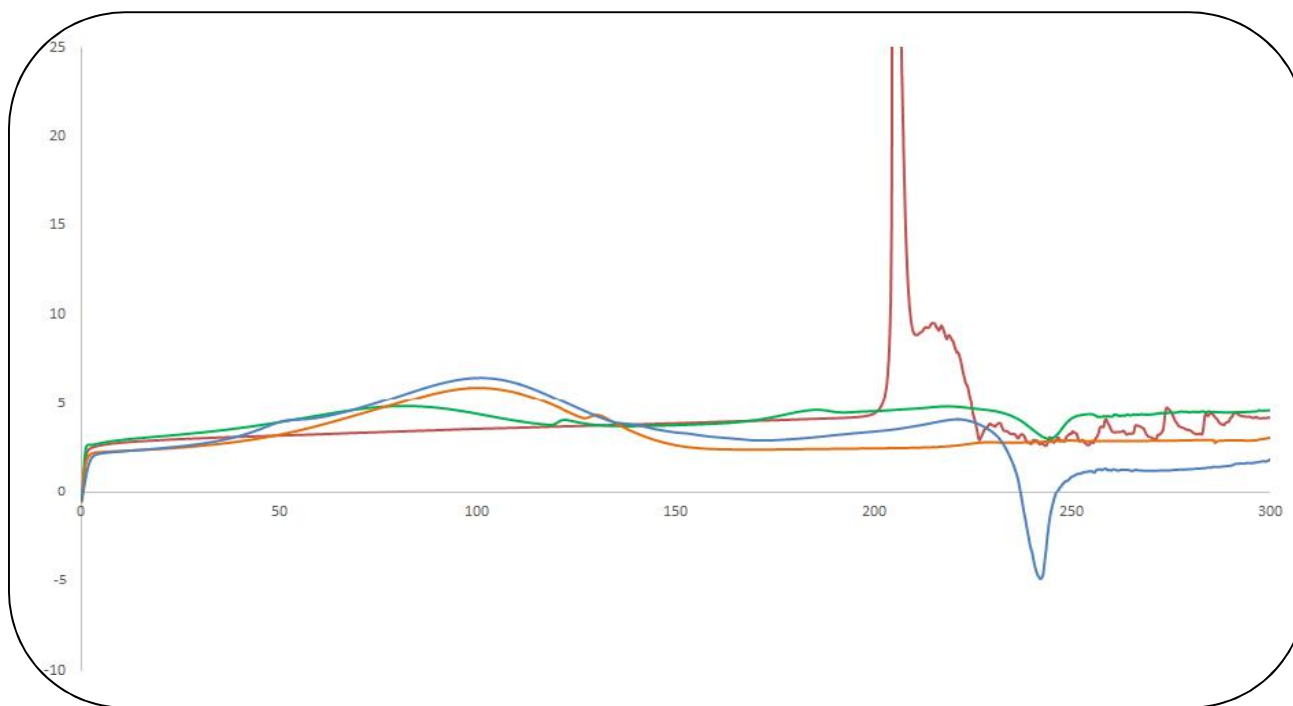


Figura 11. Termograma de Timolol (rojo), HP- β -CD (naranja), mezcla física 1:1 (verde) y complejo de inclusión 1:1 (azul)

En la curva del timolol destaca un único pico característico a 206 °C, siendo una transición endotérmica. La HP- β -CD presenta un pico ancho característico de una transición endotérmica entre 65-140 °C, asociado a la deshidratación de moléculas de agua de su interior. En cambio, la curva correspondiente al complejo de inclusión, difiere de las anteriores y de la mezcla física, observando la desaparición del pico característico del timolol, lo que indica la formación del complejo de inclusión entre el timolol y la HP- β -CD.

3.5.2. Caracterización de los complejos de inclusión (Timolol : HP- β -CD)

- Microscopia electrónica de barrido (SEM)

Las imágenes obtenidas por microscopia electrónica de barrido muestran la morfología general del timolol, HP- β -CD, de la mezcla física y del complejo de inclusión (Figura 12).

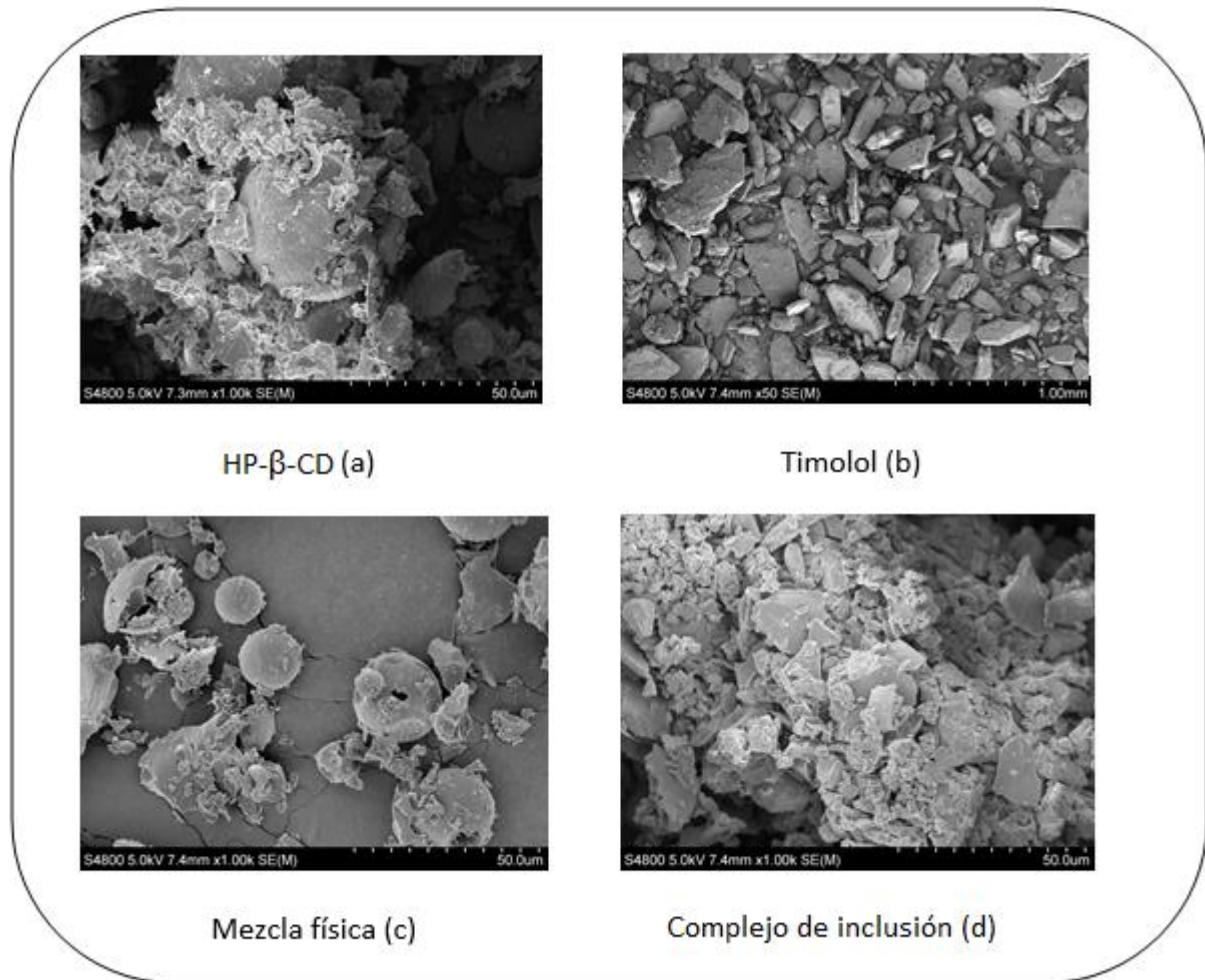


Figura 12. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de a) HP-β-CD b) Timolol c) mezcla física y d) complejo de inclusión

Se puede observar que la morfología de la mezcla física (Figura 12c) es una combinación de la de la HP-β-CD y de la del timolol. En cambio en la del producto encapsulado o también llamado complejo de inclusión (Figura 12d) se observa una morfología diferente.

La HP-β-CD (Figura 12a) presenta una estructura esférica, totalmente distinta a la del timolol, que es irregular (Figura 12b).

- Espectroscopia infrarroja (FTIR)

En la Figuras 13-15 se recogen los espectros de infrarrojo de la ciclodextrina HP-β-CD, del timolol y del sistema timolol: HP-CD.

En primer lugar cabe destacar la dificultad de obtener información estructural completa^{35, 36, 37} del complejo timolol: HP-β-CD como se observa en la Figura 13, debido al solapamiento de

algunas bandas del timolol con la banda de la HP- β -CD correspondiente a los OH stretching (st) que aparece alrededor de 3400 cm^{-1} (Figura 15).

Se asignarán a continuación las bandas características de cada compuesto por separado y finalmente, se propone una estructura del complejo de inclusión timolol: HP- β -CD, haciendo especial hincapié en aquellas bandas del timolol que no se observan en el complejo, o explicado de otra forma cuando la mezcla física sea diferente del complejo. De este modo, se podrá determinar por qué parte de la molécula de timolol se encuentra enlazada a la HP- β -CD.

Observando la Figura 13, se asignan las bandas características de la HP- β -CD. La banda mencionada de los OH aparece alrededor de 3400 cm^{-1} , los CH alifáticos a 2900 cm^{-1} , los CH del anillo a 1600 cm^{-1} y la banda característica del C-O-C a 1100 cm^{-1} .

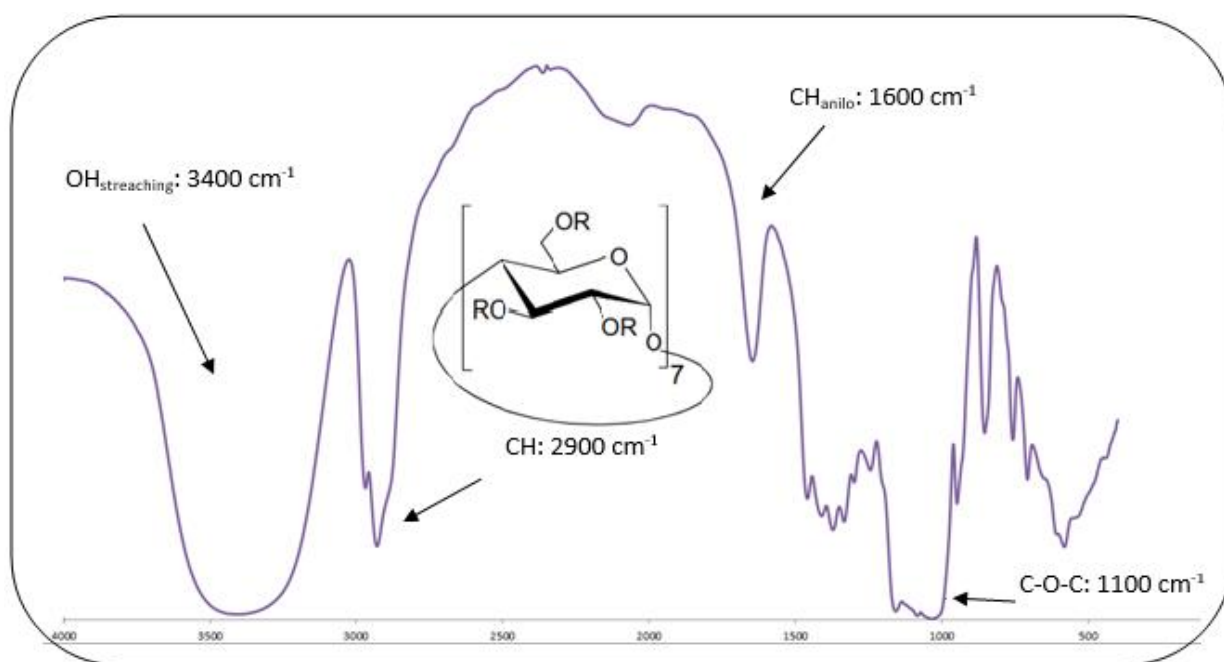


Figura 13. Espectro infrarrojo de la CD

En la Figura 14, que recoge el espectro infrarrojo del timolol, aparece la banda correspondiente al amonio cuaternario (N-H) a 3328 cm^{-1} . La presencia de un grupo OH se observa a $3041,2\text{ cm}^{-1}$; y la unión C-O-C st (1704 cm^{-1}) y el enlace C=C del anillo aromático (alrededor de 1500 cm^{-1}) también son visibles. Además, las bandas que aparecen a $1351,8\text{ cm}^{-1}$ y $2875,4\text{ cm}^{-1}$ pertenecen al CH del anillo y los CH alifáticos, respectivamente. La vibración st del C=N aparece alrededor de 1600 cm^{-1} . Por último, las bandas a 1228 y 1074 cm^{-1} corresponden a =C-O-C y las vibraciones st del anillo morfolino -C-O-C-.

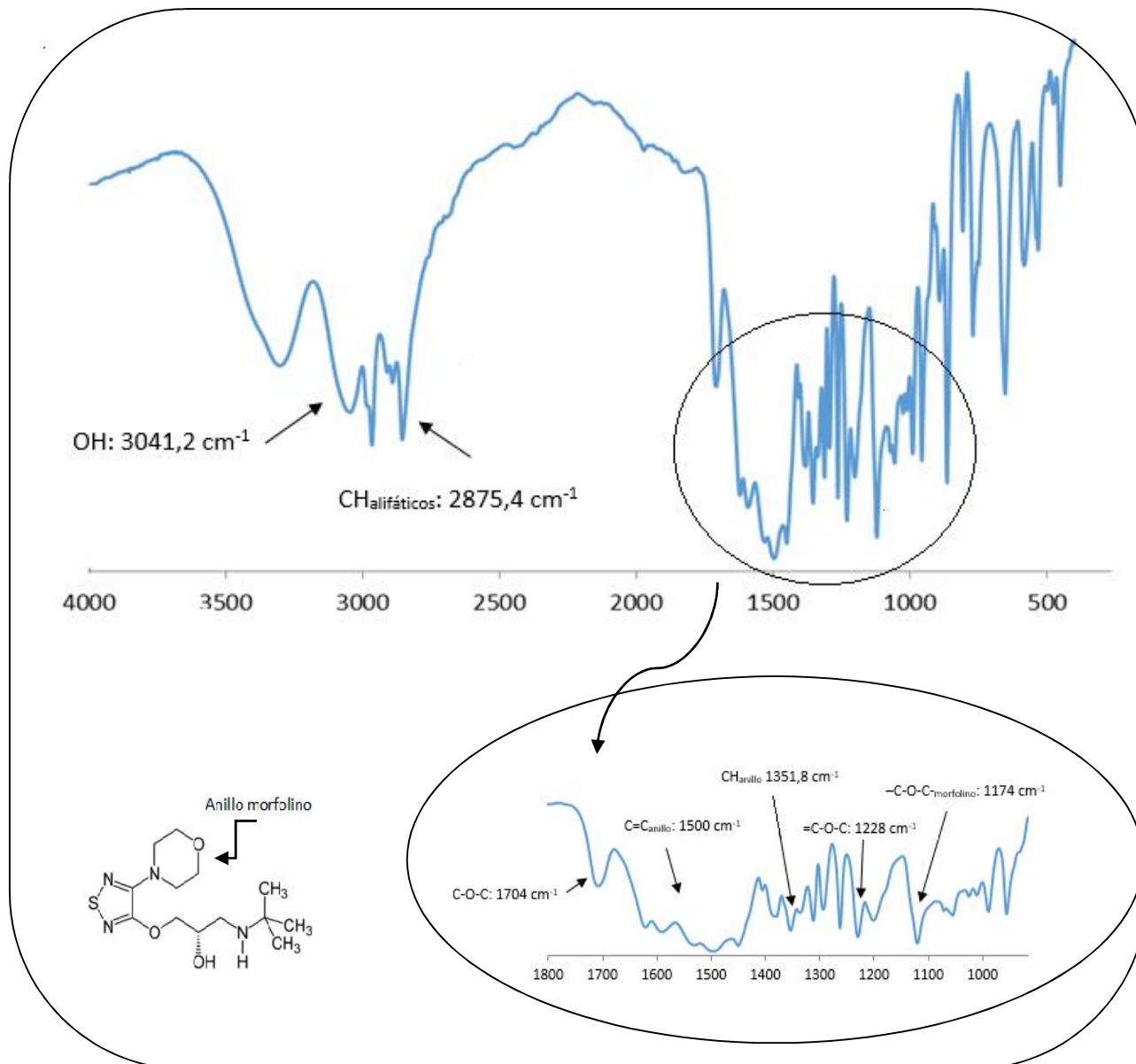


Figura 14. Espectro infrarrojo del beta bloqueante timolol

Teniendo en cuenta las bandas características del timolol y de la HP- β -CD, se estudian las bandas que aparecen en el espectro infrarrojo del complejo de inclusión (Figura 15).

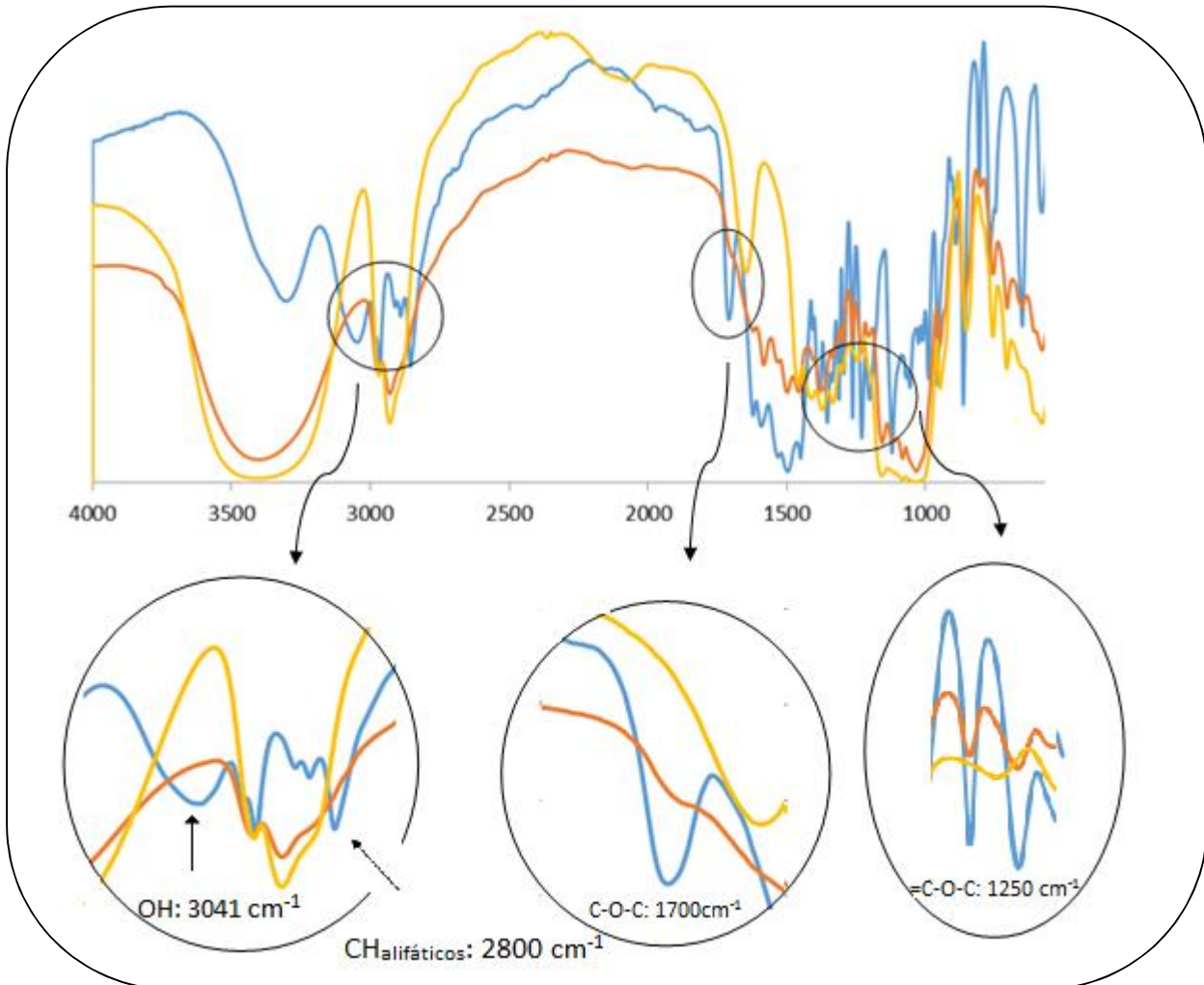


Figura 15. Espectro infrarrojo del timolol (azul), CD (amarillo) y complejo de inclusión (naranja)

Podemos decir que el grupo OH a 3041 cm^{-1} y los CH alifáticos a 2800 cm^{-1} del timolol no se observan en el espectro del producto encapsulado, por lo que se puede suponer que esa parte de la molécula se encuentra en el interior de la HP- β -CD. En cambio las bandas del =C-O-C y del anillo morfolino se siguen apreciando en el espectro del producto encapsulado, por lo que el timolol no se encontraría incluido en la HP- β -CD por esa parte de la molécula.

- Espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protón (^1H -RMN)

En primer lugar se muestran los espectros de ^1H -RMN de HP- β -CD (Figura 16) y del timolol (Figura 17). Por último, se recoge en la Figura 18 la superposición del complejo de inclusión con el de la HP- β -CD y del timolol.

Para llevar a cabo la interpretación del espectro de HP- β -CD, se considera que los protones H3 y H5 son los protones que se encuentran orientados hacia el interior de la HP- β -CD y los protones exteriores corresponden a los protones H1, H2, H4 y H6.

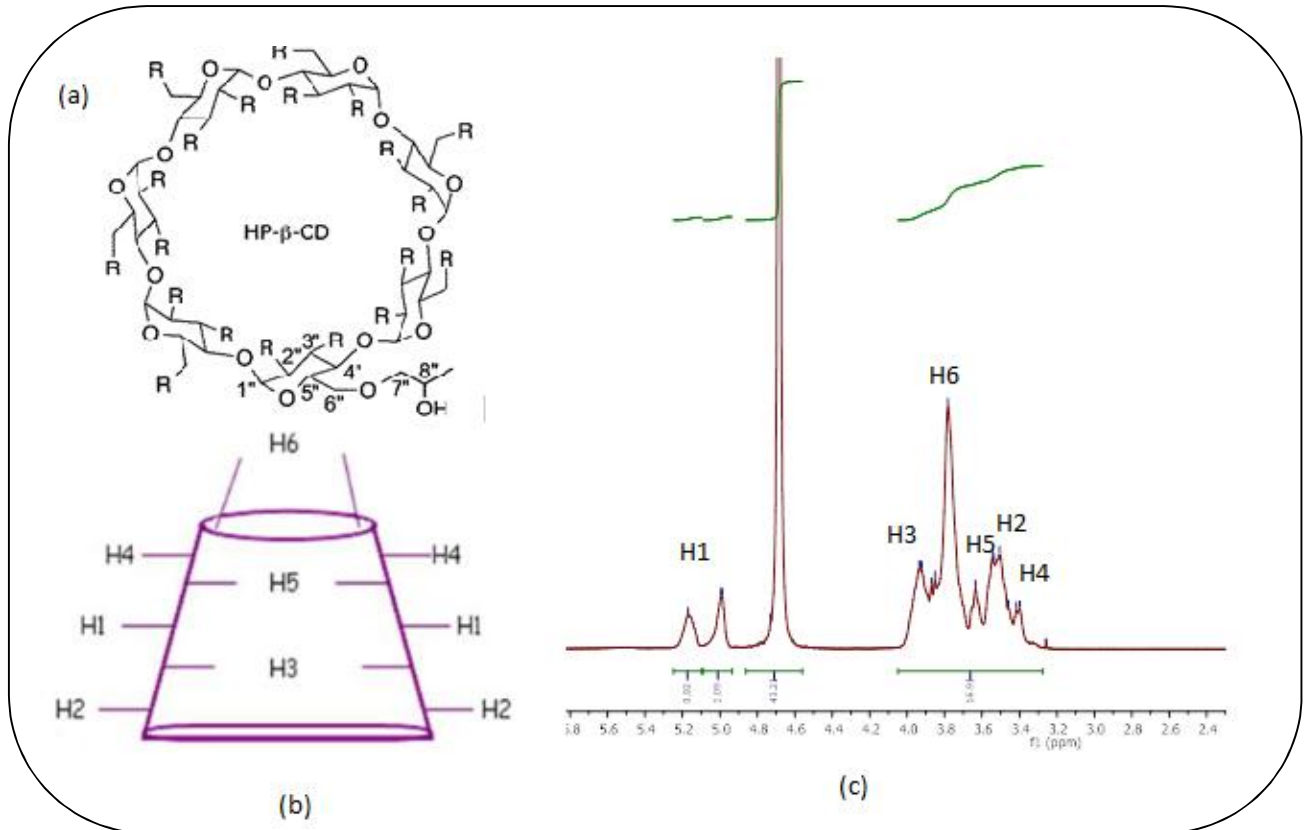


Figura 16. (a) Estructura (b) Estructura en forma de toroide y (c) espectro de $^1\text{H-RMN}$ de la HP- β -CD

Para llevar a cabo la interpretación del espectro del timolol, se considera que el producto comercial se encuentra en forma de maleato de timolol.

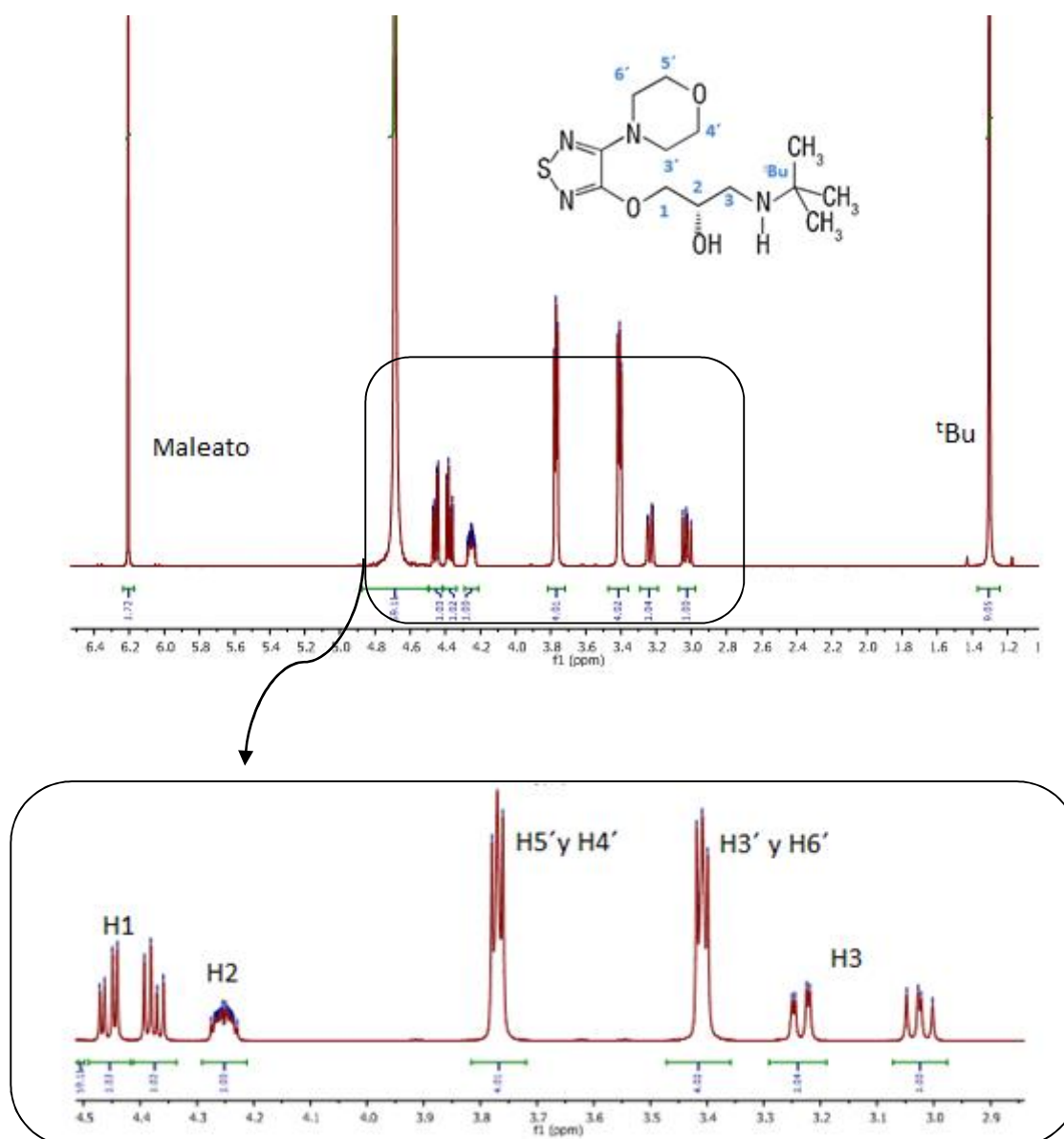


Figura 17. Estructura y espectro de H^1 -RMN del timolol

Observando el espectro del complejo de inclusión (Figura18) se observan desplazamientos en algunas de las señales. Aquellas que se han desplazado corresponde al singlete del maleato de timolol que aparece a 6.21 ppm, la señal correspondiente al protón H1 y H2 del timolol aparecen a 4.44 y 4.27 ppm respectivamente, el multiplete de los protones del anillo que corresponden al H5' y H4' a 3.79 ppm y del H3' y H6' a 3.79 ppm.

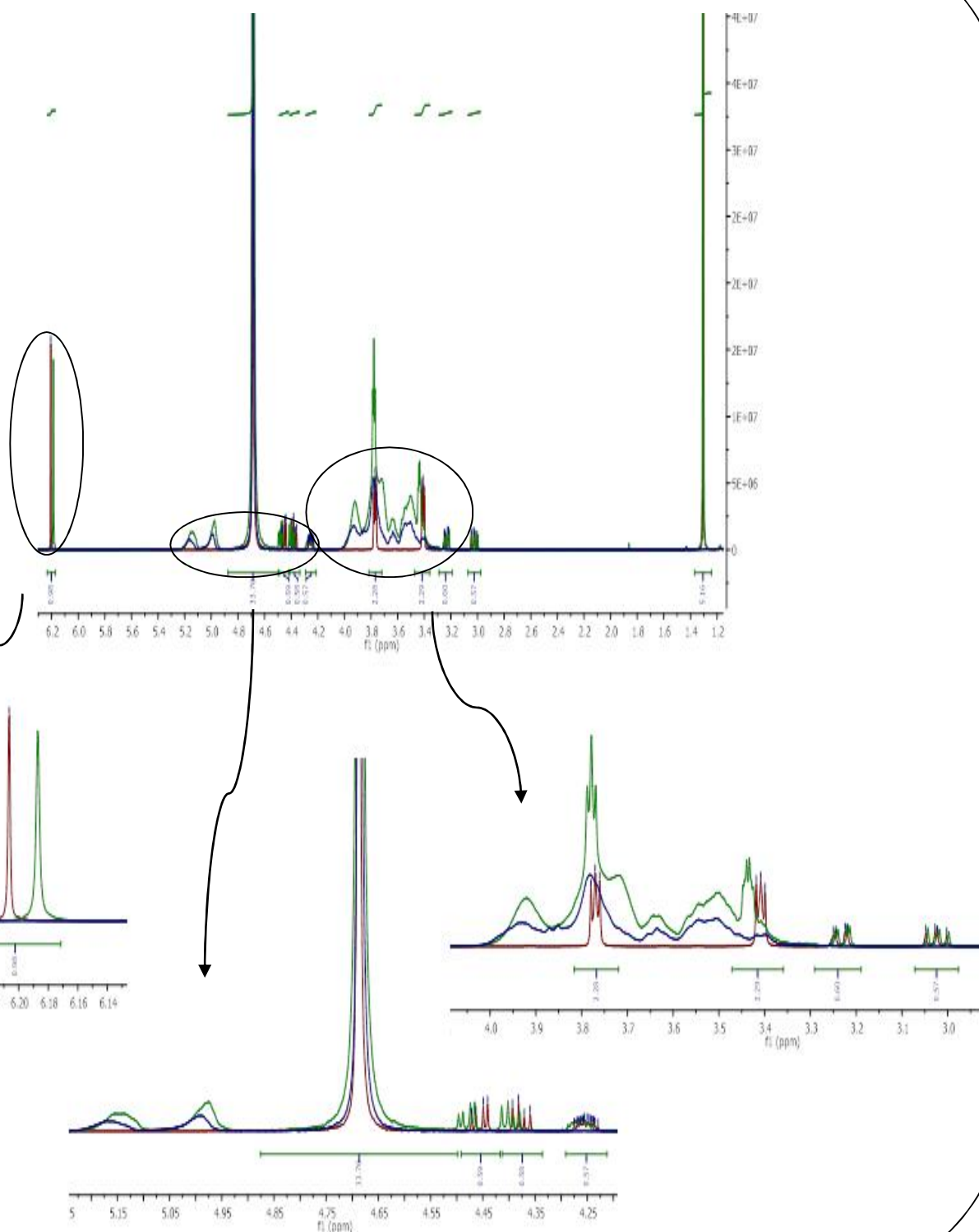


Figura 18. Espectros de $\text{H}^1\text{-RMN}$ del sistema timolol: HP- β -CD, timolol (rojo), HP- β -CD (azul) y complejo de inclusión (verde)

En la Tabla 3 se recogen las asignaciones de los protones^{38, 39}, junto a las variaciones significativas de los desplazamientos de las señales de protón ($\Delta\delta$) del complejo de inclusión, comparándolo con cada uno de los espectros del timolol y la HP- β -CD. Estas variaciones se deben a los cambios estructurales que sufren debido a la formación del complejo de inclusión timolol: HP- β -CD.

En los espectros de RMN-¹H para el complejo de inclusión, Figura 18, se observan desplazamientos significativos, recogidos en la Tabla 3, de donde se puede deducir que el timolol se enlaza con los hidrógenos 3 y 5 de la CD que corresponden a los protones interiores de la HP- β -CD y un mayor desplazamiento del protón H6 que corresponde al de la parte superior de la estructura toroide (Figura 16b), llegando a la conclusión de que es por este lado por donde se introduce el timolol.

Tabla 3. Desplazamientos de protón $\Delta\delta$ (ppm) del complejo de inclusión timolol: HP- β -CD (en) en comparación con las señales de las sustancias puras.

<i>Timolol</i>	δ_{tim}	δ_{en}	$\Delta\delta$
<i>H1</i>	4.41	4.44	+0.03
<i>H2</i>	4.26	4.28	+0.02
<i>H3</i>	3.12	3.12	-
<i>H4' y H5'</i>	3.77	3.79	+0.02
<i>H3' y H6'</i>	3.41	3.44	+0.03
<i>tBu</i>	1.30	1.30	-
HP-β-CD	δ_{HP-CD}	δ_{en}	$\Delta\delta$
<i>H1</i>	5.08	5.06	-0.02
<i>H3</i>	3.94	3.92	-0.02
<i>H5</i>	3.64	3.63	-0.01
<i>H6</i>	3.78	3.72	-0.06

3.5.3. Estabilidad del complejo de inclusión

Una de las características esenciales del producto farmacéutico encapsulado es su estabilidad para poder plantear futuros estudios de liberación del fármaco en humor acuoso o lágrima. Los estudios de estabilidad se realizaron utilizando la técnica de espectrofotometría de ultravioleta visible midiendo a diferentes tiempos la absorbancia a 294 nm, longitud máxima del timolol libre y del complejo de inclusión (Figura 20).

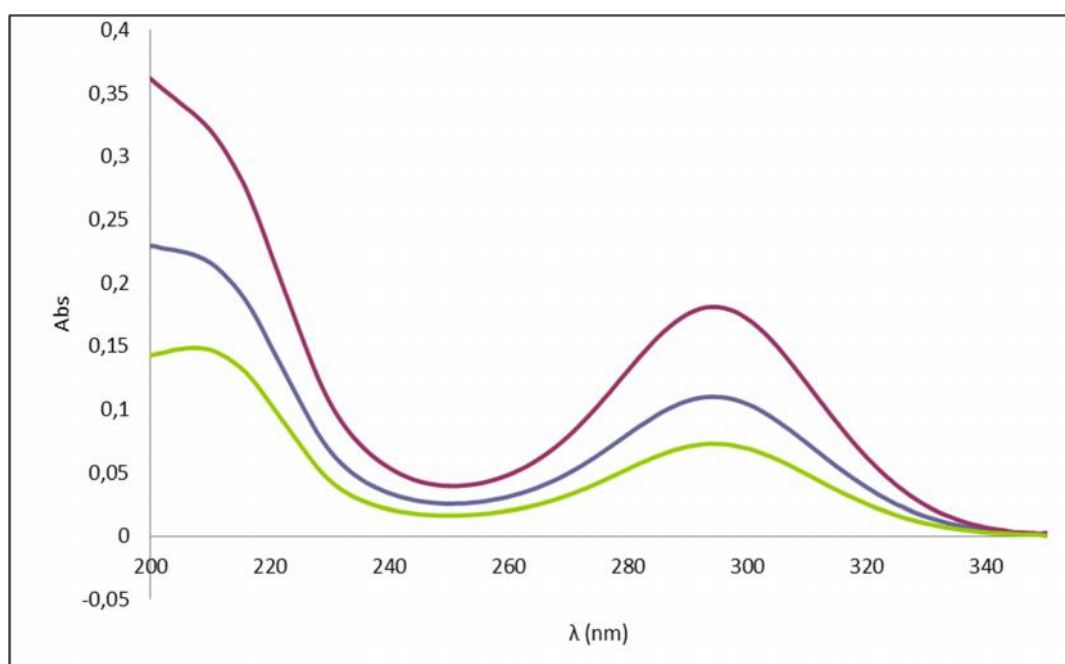


Figura 20. Espectro de UV/Vis del timolol (morado), mezcla física 1:1 (azul) y complejo de inclusión (verde).

Se observa en la Figura 21 que tanto la absorbancia de la mezcla física como del producto encapsulado permanecen constantes con el tiempo. Los valores de absorbancia de la mezcla física son superiores a los del complejo de inclusión. De este comportamiento se deduce la estabilidad del complejo de inclusión en agua.

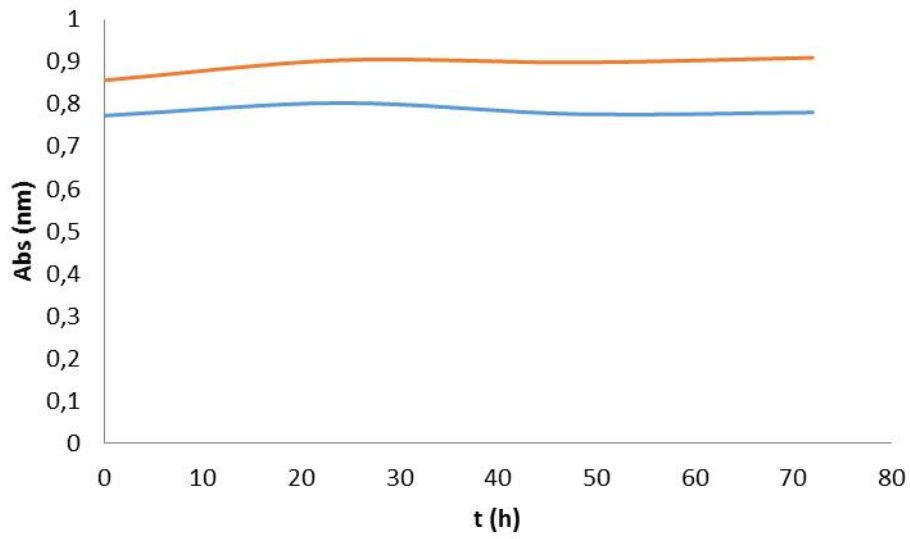


Figura 31. Variación de la absorbancia con el tiempo para la mezcla física (roja) y el complejo de inclusión (azul) en agua

BIBLIOGRAFÍA

1. Barton, K.; Hitchings, R. A. Medical Management of Glaucoma; Springer Healthare, 2013.
2. Rieger-Reyes, C.; Rubio-Galán, F.J. Journal Semergen. 2013; 39(1): 16-33.
3. Insausti, A. Oftalmología online <http://oftalmologia-online.es/anatomía-del-globo-ocular/humor-acuoso/>, última consulta Junio 2015.
4. Martín, P. B. Estudio de la dinámica del humor acuoso mediante fluorofotometría en el glaucoma de ángulo abierto. Tesis doctoral, Departamento de Oftalmología. Facultad de Medicina, Universidad Complutense de Madrid, Madrid, 1991.
5. Glaucoma SLT therapy, http://glaucomaslt.com/about_glaucoma, part of Terapia para el glaucoma; ampliando sus horizontes, http://glaucomaslt.com/pdf/SLT_PBro.Spanish.pdf, última consulta Junio 2015.
6. BrightFocus Foundation <http://brightfocus.org/espanol/tiposglaucoma.html>, última consulta Junio 2015.
7. Lavik, E.; Kuehn, M, H.; Kwon, Y, H. Eye. 2011 25, 578-586
8. Benitez-Collantes, C.; Benitez-Collantes, L.M.; Arigossi, C.R. Revista de postgrado de la Via Catedra de Medicina. 2005, 141. 1-3.
9. BrightFocus Foundation <http://brightfocus.org/espanol/medicamentosglaucoma.html>, última consulta Junio 2015
10. Lavik, E.; Kuehn, M, H.; Kwon, Y, H. Eye .2011, 25, 578-586.
11. Merrit, J. C.; Crawford, W. J.; Alexander, P. C.; Anduce, A. L.; Gelbart, S. S. Effect of Marijuana on intraocular and blood pressure in glaucoma. Ophthalmology. 1980; 87. 222-228.
12. Pilar-Sueiro, S.; Rodríguez-Puertas, R.; Vecino, E. Arch. Soc. Esp. Oftalmol. 2011. 86(1). 16-23.
13. Rodríguez, I.; Estudio de la trabeculectomía experimental mediante implante de PLGA como dispositivo de liberación controlada de fármacos. Tesis doctoral, Universidad del País Vasco, Leioa, 2012.
14. Rodríguez, I.; Martínez, D.; Modulación de la cicatrización tras cirugía filtrante en el glaucoma. Nuevas perspectivas. Laboratorios Thea. 2011. 40.

15. Segovia, E.; Bionanotechnology, Lessons from Nature. Razón y palabra. Wiley-Liss. 2004, 68.
16. Vademecum http://vademecum.es/medicamento-latanoprost%2Ftimolol+ratiopharm_ficha_39216.html
17. Alonso Alonso; M. L.; Microencapsulación de biocidas. Tesis doctoral, Universidad del País Vasco, Leioa. 2011.
18. Lozano Berna, M; Obtención de microencapsulados funcionales de zumo de opuntia stricta mediante secado por atomización. Proyecto Fin de Carrera, Ingeniería Técnica Industrial, especialidad en Química Industrial, Cartagena, 2009,
19. Martin Villena, M, J; Morales Hernandez, M, E; Gallardo Lara, V; Ruiz Martinez, M, A; Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. Ars. Pharm, 2009, 50 (1); 43-50.
20. Yáñez Fernández, J.; Salazar Montoya, J. A.; Chaires Martínez, L.; Jiménez Fernández, J.; Márquez Robles, M.; Ramos Ramírez, E. G.; Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Avance y perspectiva, 2005, 21, 313-319
21. García-Ceja, A.; Lopez Malo, A.; Biopolímeros utilizados en la encapsulación. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos. 2012, 6 (1) ,84-97.
22. Parra Huertas, R. A.; Microencapsulación de alimentos. Rev. Fac. Nal. Agr. Medellín. 2010, 63(2), 5669-5684.
23. Martinez, G.; Gómez, M. A.; Ciclodextrinas: complejos de inclusión con polímeros. Rev. Iberoam. Polim. 2007, 8(4), 300-312.
24. Lucas, C.; Estudio de la complejación del resveratrol por diferentes tipos de ciclodextrinas. Tesis doctoral. Universidad católica San Antonio, Murcia. 2009
25. Gould, S.; Scott, R. C. 2-Hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD): A toxicology review. Food and chemical Toxicology. 2015, 43 (10),1451–1459
26. Zhang, W.; Li, X.; Yu, T.; Yvan, L.; Rao, G.; Li, D.; Mu, C.; Preparation, physicochemical characterization and release behavior of the inclusion complex of *trans*-anethole and β -cyclodextrin. Food Research International. 2015, 74, 55-62
27. <http://quiminet.com/articulos/el-secado-por-aspersion-y-su-uso-en-la-encapsulacion-10261.html>, última consulta Junio 2015



28. http://www.geocities.ws/tecno_farma/microcapsulas.htm, última consulta Junio 2015
29. Suriñach, S.; Baro, M. D.; Bordas, S.; Clavaguera, N.; Clavaguera-Mora, M. T.; La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales. *Bol. Soc. Esp. Ceram. Vidr.* 1992, 31 (1), 11-17
30. He, Y.; Fu, P.; Shen, X.; Gao, H.; Cyclodextrin-based aggregates and characterization by microscopy. Y. He et al. *Micron.* 2008, 39, 495–516.
31. Gámiz, E.; Soriano, M.; Delgado, G.; Párraga, J.; Delgado, R.; Estudio morfológico de talcos con microscópio electrónico de barrido (sem). *Aplicaciones farmacéuticas. Ars Pharmaceutica*, 2002, 43 (1-2), 173-185.
32. Serrano, J. L. Curso: instrumentación y métodos de análisis químico. Espectroscopía infrarroja 1-Fundamentos. Postgrado en ingeniería del agua y del terreno.
33. Rico, M.; Espectroscopía de Resonancia magnética Nuclear de alta resolución: Una herramienta fundamental en Química y Biología Estructural. *An. Quím.* 2011, 107(1), 46–57
34. Mercader-Ros, M. T.; Encapsulación de flavonoles en ciclodextrinas. Efecto en su actividad antioxidante. Tesis doctoral, UCAM, Murcia, 2010.
35. Joshi, G. V.; Kevddiya, B. D.; Patel, H. A.; Bajaj, H. C.; Jasra, R. V. Montmorillonite as a drug delivery system: Intercalation and in vitro reléase of timolol maleate. *International journal of Pharmaceutics.* 2009, 374 (1-2), 53-57.
36. Moosa, R. M.; Choonara, Y. E.; Toit, L. C.; Tomar, L. K.; Tyagi, C.; Kumar, P.; Carmichael, T. R; Pillay, V.; *International Journal of Pharmaceutics*, 2014, 466 (1-2), 296-306.
37. Agnihotry, S. A.; Aminabhavi, T. M.; Chitosan nanoparticles from prolonged delivery of timolol maleate. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 2007, 33, 1254-1262.
38. Higashiyama, M.; Inada, K.; Ohtori, A.; Kakehi, K. NMR analysis of ion pair formation between timolol and sorbic acid in ophthalmic preparations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 2007, 43, 1335-1342.
39. Moloney, G.P.; Craik, D. J.; Iskander, M. N.; Nero, T. L. Synthesis, NMR studies and conformational analysis of oxazolidine derivatives of the β -adrenoreceptor antagonists metoprolol, atenolol and timolol. *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1998, 2, 199-206.

erronak zabalaz



Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea



ZTF-FCT
Zientzia eta Teknologia Fakultatea
Facultad de Ciencia y Tecnología

