

# MÁSTER UNIVERSITARIO EN INGENIERÍA DE MATERIALES AVANZADOS

## TRABAJO FIN DE MÁSTER

### ***ESTUDIO DE MISCIBILIDAD DE SISTEMAS FÁRMACO/POLÍMERO***

<b>Estudiante</b>	<i>Martín, Marcianes, Mireia</i>
<b>Director/Directora</b>	<i>Lejardi, Meabebasterretxea, Ainhoa</i>
<b>Departamento</b>	<i>Departamento de Ingeniería Minera y Metalúrgica y Ciencia de los Materiales</i>
<b>Curso académico</b>	<i>2020/2021</i>

*Bilbao, 1 de marzo de 2021*

## RESUMEN

El propósito de este trabajo es estudiar la miscibilidad entre el poli (DL-láctico) (PDLLA) y diversos fármacos con el fin de mejorar la biodisponibilidad oral derivado de la baja solubilidad acuosa. La técnica empleada para fabricar las mezclas se ha realizado mediante el método de disolución-evaporación conocido como "solvent casting". Asimismo, se ha utilizado la calorimetría diferencial de barrido (DSC) para determinar la posible miscibilidad mediante el criterio de una única temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) de cada una de las muestras.

*Palabras clave:* PDLLA, fármacos, miscibilidad, calorimetría diferencial de barrido, temperatura de transición vítrea.

## ABSTRACT

The purpose of this work is to study the miscibility between poly (DL-lactic acid) (PDLLA) and various drugs in order to improve oral bioavailability derived from low aqueous solubility. The technique used to manufacture the mixtures has been carried out using the solvent casting method. Likewise, differential scanning calorimetry (DSC) was also used to determine the possible miscibility using the criterion of a single glass transition temperature ( $T_g$ ) for each of the samples.

*Key words:* PDLLA, drugs, miscibility, differential scanning calorimetry, glass transition temperature.

## LABURPENA

Lan honen helburua poli (DL-laktida) (PDLLA) eta hainbat farmakoren arteko nahaskortasuna aztertzea da, ur-disolbagarritasun txikiaren ondoriozko ahoko bioerabilgarritasuna hobetzeko. Nahasketak egiteko erabilitako teknika "solvent casting" izenez ezagutzen den disoluzio-lurrunketa metodoaren bidez egin da. Era berean, analisi termiko diferentziala (DSC) erabili da balizko nahaskortasuna zehazteko, beira-transizio bakarren ( $T_g$ ) irizpidea kontutan izanik.

*Hitz gakoak:* PDLLA, farmakoak, nahaskortasuna, analisi termiko diferentziala, beira-transizioa.

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b> .....	I
<b>ABSTRACT</b> .....	I
<b>LABURPENA</b> .....	I
LISTA DE FIGURAS .....	IV
LISTA DE TABLAS .....	VIII
ACRÓNIMOS .....	IX
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>1.1. CONTEXTO</b> .....	1
<b>1.2. OBJETIVOS</b> .....	2
<b>1.3. BENEFICIOS</b> .....	2
<b>2. ANÁLISIS DEL ESTADO DEL ARTE</b> .....	3
<b>2.1. ESTADO AMORFO</b> .....	3
2.1.1. Estado amorfo en polímeros .....	4
2.1.2. Sistemas moleculares .....	4
2.1.3. Mezclas binarias .....	5
<b>2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS</b> .....	5
<b>2.3. DISPERSIONES SÓLIDAS AMORFAS Y SU CLASIFICACIÓN</b> .....	6
2.3.1. Dispersiones sólidas de primera generación .....	7
2.3.2. Dispersiones sólidas de segunda generación .....	7
2.3.3. Dispersiones sólidas de tercera generación .....	8
2.3.4. Ventajas .....	8
2.3.5. Desventajas .....	8
2.3.6. Estrategias de formulación para evitar la recristalización .....	9
<b>2.4. PROCESOS DE FABRICACIÓN</b> .....	10
2.4.1. Método de fusión .....	10
2.4.2. Método de evaporación de solvente .....	11
<b>3. SECCIÓN EXPERIMENTAL</b> .....	12
<b>3.1. MATERIALES UTILIZADOS</b> .....	12
3.1.1. Políácido láctico .....	13
3.1.2. Fármacos .....	14
<b>3.2. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA</b> .....	24
<b>4. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN</b> .....	26
<b>4.1. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)</b> .....	26
4.1.1. Condiciones de ensayo .....	27

<b>5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	28
<b>5.1. MEZCLAS INMISCIBLES</b> .....	30
<b>5.2. MEZCLAS PARCIALMENTE MISCIBLES</b> .....	51
<b>6. METODOLOGÍA Y PLANIFICACIÓN</b> .....	60
<b>7. PRESUPUESTO</b> .....	61
<b>8. CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS</b> .....	63
<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	64

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Una comparación del perfil de liberación de fármaco convencional .....	2
<b>Figura 2.</b> Gráfica volumen específico-temperatura .....	3
<b>Figura 3.</b> Clasificación de las dispersiones sólidas .....	6
<b>Figura 4.</b> Procesos de fabricación utilizados para producir dispersiones sólidas .....	10
<b>Figura 5.</b> Forma estructural del PLLA, PDLA y PDLLA .....	14
<b>Figura 6.</b> Estructura química de 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona .....	14
<b>Figura 7.</b> Estructura química del ácido cinámico .....	15
<b>Figura 8.</b> Estructura química de Esclareol .....	15
<b>Figura 9.</b> Estructura química del ácido salicílico .....	15
<b>Figura 10.</b> Estructura química de Borneol .....	16
<b>Figura 11.</b> Estructura química de $\beta$ -tuyaplicina .....	16
<b>Figura 12.</b> Estructura química de 8-hidroxiquinoleína .....	16
<b>Figura 13.</b> Estructura química del ácido valílico .....	17
<b>Figura 14.</b> Estructura química del ácido p-cumárico .....	17
<b>Figura 15.</b> Estructura química del ácido ferúlico .....	17
<b>Figura 16.</b> Estructura química del ácido succínico .....	18
<b>Figura 17.</b> Estructura química del ácido gálico .....	18
<b>Figura 18.</b> Estructura química del ácido cafeico .....	18
<b>Figura 19.</b> Estructura química del ácido cólico .....	19
<b>Figura 20.</b> Estructura química del ácido tánico .....	19
<b>Figura 21.</b> Estructura química del ácido 3,4-dihydroxibenzoico .....	20
<b>Figura 22.</b> Estructura química del galato de metilo .....	20
<b>Figura 23.</b> Estructura química del ácido dihidroxibenzoico .....	20
<b>Figura 24.</b> Estructura química de isoliquiritigenina .....	21
<b>Figura 25.</b> Estructura química de dihidromiricetina .....	21
<b>Figura 26.</b> Estructura química del metronidazol .....	21
<b>Figura 27.</b> Estructura química de la doxiciclina .....	22
<b>Figura 28.</b> Estructura química de la sulfanilamida .....	22
<b>Figura 29.</b> Estructura química de la pirazinamida .....	22
<b>Figura 30.</b> Estructura química de (+) - catequina .....	23
<b>Figura 31.</b> Estructura química de la metilhidroquinona .....	23
<b>Figura 32.</b> Estructura química del ácido elágico .....	23
<b>Figura 33.</b> Método de disolución-evaporación .....	25
<b>Figura 34.</b> Termograma de DSC .....	26
<b>Figura 35.</b> Equipo DSC Q200 Modulado de TA Instruments .....	27
<b>Figura 36.</b> Segundo barrido PDLLA .....	29
<b>Figura 37.</b> Termograma ácido 2,5-dihydroxibenzoico, dos barridos (izquierda) .....	30
<b>Figura 38.</b> Termograma de la mezcla ácido 2,5-dihydroxibenzoico/PDLLA, dos barridos (izquierda) .....	30
<b>Figura 39.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido 2,5-dihydroxibenzoico/PDLLA .....	30
<b>Figura 40.</b> Termograma 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	31
<b>Figura 41.</b> Termograma 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	31
<b>Figura 42.</b> Filme obtenido de la mezcla 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona/PDLLA .....	31
<b>Figura 43.</b> Termograma ácido cafeico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) ...	32

<b>Figura 44.</b> Termograma ácido cafeico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	32
<b>Figura 45.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido cafeico/PDLLA.....	32
<b>Figura 46.</b> Termograma (+) - catequina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .	33
<b>Figura 47.</b> Termograma (+) - catequina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	33
<b>Figura 48.</b> Filme obtenido de la mezcla (+) - catequina/PDLLA .....	33
<b>Figura 49.</b> Termograma ácido cólico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha).....	34
<b>Figura 50.</b> Termograma ácido cólico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	34
<b>Figura 51.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido cólico/PDLLA.....	34
<b>Figura 52.</b> Termograma ácido p-cumárico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	35
<b>Figura 53.</b> Termograma ácido p-cumárico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	35
<b>Figura 54.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido p-cumárico/PDLLA.....	35
<b>Figura 55.</b> Termograma dihidromiricetina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	36
<b>Figura 56.</b> Termograma dihidromiricetina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	36
<b>Figura 57.</b> Filme obtenido de la mezcla dihidromiricetina/PDLLA.....	36
<b>Figura 58.</b> Termograma doxiciclina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha).....	37
<b>Figura 59.</b> Termograma doxiciclina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	37
<b>Figura 60.</b> Filme obtenido de la mezcla doxiciclina/PDLLA.....	37
<b>Figura 61.</b> Termograma ácido elágico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)....	38
<b>Figura 62.</b> Termograma ácido elágico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	38
<b>Figura 63.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido elágico/PDLLA.....	38
<b>Figura 64.</b> Termograma ácido gálico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha).....	39
<b>Figura 65.</b> Termograma ácido gálico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	39
<b>Figura 66.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido gálico/PDLLA.....	39
<b>Figura 67.</b> Termograma (+/-)-Isoborneol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)40	
<b>Figura 68.</b> Termograma (+/-)-Isoborneol/PDLLA, dos barridos (izquierda) y segundo barrido (derecha) .....	40
<b>Figura 69.</b> Filme obtenido de la mezcla (+/-)-Isoborneol/PDLLA .....	40
<b>Figura 70.</b> Termograma 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	41
<b>Figura 71.</b> Termograma 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo/PDLLA, dos barridos (izquierda), .	41
<b>Figura 72.</b> Filme obtenido de la mezcla 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo/PDLLA.....	41
<b>Figura 73.</b> Termograma metronidazol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) ...	42
<b>Figura 74.</b> Termograma metronidazol/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	42
<b>Figura 75.</b> Filme obtenido de la mezcla metronidazol/PDLLA .....	42
<b>Figura 76.</b> Termograma pirazinamida, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)....	43
<b>Figura 77.</b> Termograma pirazinamida/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	43

<b>Figura 78.</b> Filme obtenido de la mezcla pirazinamida/PDLLA.....	43
<b>Figura 79.</b> Termograma ácido succínico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)	44
<b>Figura 80.</b> Termograma ácido succínico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	44
<b>Figura 81.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido succínico/PDLLA .....	44
<b>Figura 82.</b> Termograma sulfanilamida, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) ...	45
<b>Figura 83.</b> Termograma sulfanilamida/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	45
<b>Figura 84.</b> Filme obtenido de la mezcla sulfanilamida/PDLLA .....	45
<b>Figura 85.</b> Termograma ácido tánico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	46
<b>Figura 86.</b> Termograma ácido tánico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	46
<b>Figura 87.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido tánico/PDLLA .....	46
<b>Figura 88.</b> Termograma ácido trans-cinámico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	47
<b>Figura 89.</b> Termograma ácido trans-cinámico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	47
<b>Figura 90.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido trans-cinámico/PDLLA .....	47
<b>Figura 91.</b> Termograma ácido trans-ferúlico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	48
<b>Figura 92.</b> Termograma ácido trans-ferúlico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	48
<b>Figura 93.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido trans-ferúlico/PDLLA .....	48
<b>Figura 94.</b> Termograma isoliquiritigenina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	49
<b>Figura 95.</b> Termograma isoliquiritigenina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	49
<b>Figura 96.</b> Filme obtenido de la mezcla isoliquiritigenina/PDLLA.....	49
<b>Figura 97.</b> Termograma esclareol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	50
<b>Figura 98.</b> Termograma esclareol/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	50
<b>Figura 99.</b> Filme obtenido de la mezcla esclareol/PDLLA .....	50
<b>Figura 100.</b> Termograma metilhidroquinona, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	52
<b>Figura 101.</b> Termograma metilhidroquinona/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	52
<b>Figura 102.</b> Filme obtenido de la mezcla metilhidroquinona/PDLLA .....	52
<b>Figura 103.</b> Termograma ácido salicílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)	53
<b>Figura 104.</b> Termograma ácido salicílico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	53
<b>Figura 105.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido salicílico/PDLLA.....	53
<b>Figura 106.</b> Termograma $\beta$ -Tuyaplicina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha).	54
<b>Figura 107.</b> Termograma $\beta$ -Tuyaplicina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	54
<b>Figura 108.</b> Filme obtenido de la mezcla $\beta$ -Tuyaplicina/PDLLA .....	55
<b>Figura 109.</b> Termograma 8-Hidroxiquinoleína, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	55

<b>Figura 110.</b> Termograma 8-Hidroxiquinoleína/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	56
<b>Figura 111.</b> Filme obtenido de la mezcla 8-Hidroxiquinoleína/PDLLA.....	56
<b>Figura 112.</b> Termograma ácido valílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) ..	57
<b>Figura 113.</b> Termograma ácido valílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) ..	57
<b>Figura 114.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido valílico/PDLLA.....	57
<b>Figura 115.</b> Termograma ácido 3,4-dihidroxibenzoico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha) .....	58
<b>Figura 116.</b> Termograma de la mezcla ácido 3,4-dihidroxibenzoico/PDLLA, dos barridos (izquierda), .....	58
<b>Figura 117.</b> Filme obtenido de la mezcla ácido 3,4-dihidroxibenzoico /PDLLA .....	59
<b>Figura 118.</b> Diagrama Gantt.....	60



## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clasificación de los fármacos según el SCB .....	6
<b>Tabla 2.</b> Número de referencia de los fármacos empleados .....	12
<b>Tabla 3.</b> Disolventes empleados por cada fármaco .....	24
<b>Tabla 4.</b> Valores teóricos y experimentales de los respectivos fármacos .....	28
<b>Tabla 5.</b> Valores teóricos y experimentales de las respectivas mezclas PDLLA/API .....	29
<b>Tabla 6.</b> Horas internas .....	61
<b>Tabla 7.</b> Tasa horaria.....	61
<b>Tabla 8.</b> Amortizaciones.....	61
<b>Tabla 9.</b> Gastos .....	62
<b>Tabla 10.</b> Desglose del presupuesto total.....	62

## ACRÓNIMOS

**PDLLA:** Ácido poli(D,L)láctico

**PLA:** Ácido poliláctico

**DSC:** Calorimetría diferencial de barrido

**T<sub>g</sub>:** Temperatura de transición vítrea

**T<sub>c</sub>:** Temperatura de cristalización

**T<sub>m</sub>:** Temperatura de fusión

**SCB:** Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

**C<sub>p</sub>:** Capacidad calorífica

**DS:** Dispersiones Sólidas

**IFA:** Ingredientes Farmacéuticos Activos

**PVP:** Polivinilpirrolidona

**PEG:** Polietilenglicol

**DCM:** Diclorometano

**THF:** Tetrahidrofurano

**TFE:** Tetrafluoretileno

## **1. INTRODUCCIÓN**

Los biopolímeros han sido ampliamente estudiados en aplicaciones farmacéuticas, por ello, las aplicaciones médicas y farmacéuticas de los biopolímeros constituyen actualmente uno de los campos de mayor interés.

Los medicamentos normalmente presentan dos grupos diferenciados de sustancias: los principios activos, sustancia compuesta por el fármaco, y los excipientes, la sustancia inactiva usada como vehículo, que a su vez permite estabilizar, conservar y administrar el principio activo.

En la industria farmacéutica se plantean nuevos desafíos con el desarrollo de nuevos fármacos, esto plantea nuevas dificultades que hay que resolver. Por ejemplo, la escasa biodisponibilidad oral derivada de la escasa solubilidad acuosa dificulta la investigación y el desarrollo de medicamentos. Se han elaborado diversos enfoques centrados en aumentar la solubilidad, la tasa de disolución y la biodisponibilidad oral de los medicamentos poco solubles en agua. Una de las estrategias que mejoran la solubilidad en agua de los fármacos está relacionada con el uso de los polímeros, estos han sido utilizados cada vez más como soporte en la liberación de medicamentos.

Los polímeros fueron incluidos oficialmente en el campo farmacéutico en 1980 y desde ese momento se han empleado como auxiliares en la formulación en medicamentos. Para que la aplicación del material sea eficaz en el campo biomédico es imprescindible que el polímero sea biocompatible con el sistema biológico, además de ser inerte en relación con el fármaco y el medio. Los polímeros biocompatibles se pueden obtener por medio de dos vías, natural o sintéticas, que al ser introducidos en el organismo se consideran biomateriales poliméricos o biopolímeros [1].

En el presente trabajo se parte del ácido poli(DL-láctico) para estudiar si el polímero puede ser miscible con los fármacos propuestos, de esta forma es posible mejorar considerablemente la solubilidad de los principios activos.

Con el objetivo de encontrar una mezcla que sea miscible se han ensayado un total de 28 fármacos, de esta forma se pretende realizar un cribado de los distintos compuestos. Para realizar el estudio experimental de las distintas mezclas se emplea la técnica de calorimetría diferencial de barrido (DSC), que permite observar, en función de la proporción en masa de sus componentes, la variación de la transición vítrea de una mezcla. Para ello, previamente se realizan diversas muestras de polímero y fármaco mediante la técnica de disolución-evaporación conocida como "solvent casting".

### **1.1. CONTEXTO**

El Trabajo Fin de Máster (TFM) presentado a continuación se ha realizado en la Universidad del País Vasco (UPV/EHU) en la Escuela de Ingeniería de Bilbao. Ha sido necesario emplear las instalaciones del laboratorio de polímeros, ubicado en el bloque B del edificio 1, para realizar toda la parte experimental.

## 1.2. OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo es analizar la miscibilidad de distintos fármacos en ácido poli(DL-láctico), polímero biocompatible y biodegradable que ha adquirido gran interés en las últimas décadas. Como se ha explicado anteriormente, la investigación consiste en distinguir los fármacos miscibles o parcialmente miscibles de aquellos que no lo son por medio de la calorimetría diferencial de barrido (DSC). Asimismo, se pone en contexto el trabajo, explicando en qué consisten las dispersiones sólidas amorfas, su clasificación y la correspondiente clasificación de los fármacos, basada en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB).

## 1.3. BENEFICIOS

Este trabajo se encuentra dentro de proyectos más amplios llevados a cabo por la universidad. El beneficio principal consiste en identificar cuáles de todos los fármacos propuestos son miscibles con el PDLLA. Por lo tanto, aunque no genera beneficios a corto plazo, forma parte del proceso de investigación y a largo plazo tiene beneficios económicos y sociales.

Se debe considerar que los medicamentos administrados por vía oral se liberan y eliminan rápidamente del cuerpo, mientras que pueden liberarse gradualmente en el cuerpo mediante el uso de implantes con un tiempo de absorción prolongado. Esto significa que se necesitan menos dosis para alcanzar la misma concentración en sangre, evitando periodos de toxicidad e ineficiencia [2].

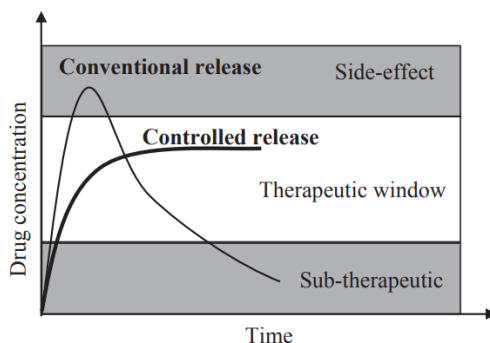


Figura 1. Una comparación del perfil de liberación de fármaco convencional

A nivel ambiental, el uso de implantes biodegradables también supone un beneficio. En circunstancias normales, los implantes extraídos forman parte de los denominados residuos peligrosos, siendo el principal contaminante biológico, además, su gestión y eliminación son muy complicadas. En este caso, al ser reabsorbido por el cuerpo humano, se elimina este impacto ambiental. Por otro lado, no necesitan ser retirados después de terminar su servicio [3].

## 2. ANÁLISIS DEL ESTADO DEL ARTE

### 2.1. ESTADO AMORFO

El estado amorfo, también conocido como “vítreo”, hace referencia a la disposición desordenada o aleatoria de las moléculas. Un ejemplo muy común es el vidrio, material caracterizado por presentar un grado de desorden propio al estado líquido, pero siendo un sólido. En la siguiente figura se muestra cómo al subenfriar un líquido rápidamente por debajo de su temperatura de fusión ( $T_m$ ) se alcanza el estado vítreo. Este proceso es muy utilizado a la hora de obtener vidrios.

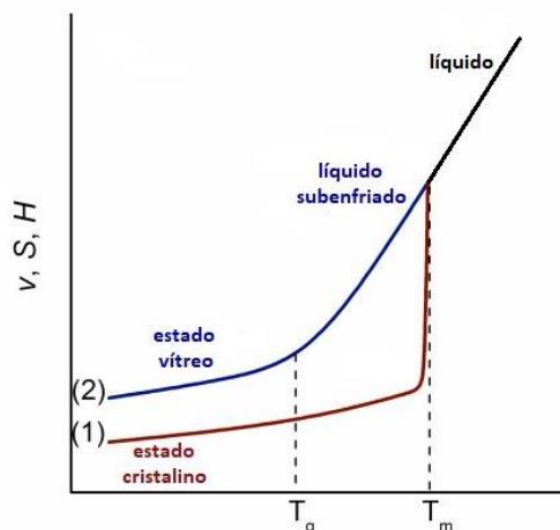


Figura 2. Gráfica volumen específico-temperatura

La cinética molecular disminuye cuando la muestra es enfriada por debajo de la temperatura de fusión. Si la velocidad de enfriamiento empleada no es elevada, como el primero de los casos (1) representado con una línea roja, el líquido pasará a un estado sólido cristalino, lo que provoca una disminución de volumen, entropía y entalpía.

Por el contrario, si la velocidad de enfriamiento, una vez alcanzado la  $T_m$ , es rápida, las partículas no tienen tiempo suficiente para ordenarse y cristalizar, obteniendo un líquido subenfriado. Como se observa en el proceso (2), si la temperatura sigue disminuyendo por debajo de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) las partículas pierden movilidad traslacional, por ello se puede apreciar el cambio de pendiente, lo que indica que propiedades como la capacidad calorífica o el coeficiente de expansión térmica no son iguales en el estado vítreo respecto al líquido subenfriado. En este caso, se produce un aumento tanto en la densidad como en la viscosidad, ya que las cadenas se ordenan y se compactan disminuyendo el volumen de la cadena polimérica.

La temperatura nos puede aportar gran información sobre un polímero, lo que hace que un análisis térmico sea de gran interés para determinar ciertos comportamientos de los polímeros. Si se conoce la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), la capacidad de recristalización del polímero y la temperatura de fusión ( $T_m$ ), es posible conocer que propiedades presenta el polímero. Se puede comprobar como la temperatura afecta en el grado de ordenamiento de las cadenas. En un estado líquido, las cadenas cuentan con cierto desorden, sin embargo, el enfriamiento da lugar a dos posibles situaciones, o se ordenan las cadenas obteniendo un sólido cristalino, o mantienen ese desorden formando un sólido amorfo. En un estado intermedio entre ambos se encontraría

el polímero semicristalino. El estado vítreo se encuentra por debajo de la  $T_g$ , en el cual la movilidad de las cadenas está tan limitada que el material se vuelve rígido y frágil, aunque solo es posible si el polímero cuenta con carácter amorfo o semicristalino, siendo este último el más habitual en polímeros.

La temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) se define como la temperatura en la que la movilidad traslacional se reduce hasta ser prácticamente nula. Es una transición isofásica, no conlleva ningún cambio de fase y variables como la velocidad de enfriamiento pueden influir en la determinación de este valor [2].

### 2.1.1. Estado amorfo en polímeros

Según la estructura que presente el polímero, este tenderá a ser amorfo o semicristalino. Si las cadenas están entrecruzadas o reticuladas el ordenamiento de estas se dificulta, por lo tanto, los polímeros que cuentan con esta estructura suelen ser amorfos. En cambio, los polímeros lineales, mediante cambios de temperatura o pequeños esfuerzos, pueden alcanzar cierto grado de ordenamiento en algunas regiones, siendo este un polímero semicristalino. Asimismo, la simetría que presenta la cadena es otro de los factores que afectan al ordenamiento, es decir, si los grupos funcionales de la cadena son muy voluminosos resultará más complejo conseguir una disposición atómica ordenada. Por otro lado, la homogeneización de los enlaces secundarios también afecta, junto con la flexibilidad de la cadena principal, a mayor rigidez de la cadena más facilidad para formar zonas cristalinas. Por último, la velocidad de enfriamiento es algo a tener en cuenta, ya que se obtiene mayor fase amorfa si el polímero solidifica antes de tiempo.

Los polímeros, debido a sus largas y complejas cadenas las moléculas no llegan a ordenarse por completo, sino que se obtienen regiones cristalinas separadas por regiones amorfas debido a pliegues, torsiones o dobleces producidas en la cadena.

La temperatura de transición vítrea es la temperatura vinculada a la parte amorfa del polímero. Por encima de esta, las regiones amorfas pasan de un estado vítreo (rígido y frágil) a un estado viscoelástico, disminuyendo su rigidez. El movimiento vibratorio en algunos segmentos de las cadenas aumenta, aumentando el volumen libre y obteniendo un material más blando con características mecánicas intermedias entre el estado líquido y el estado sólido. Por todo lo mencionado anteriormente, se produce un cambio en la capacidad calorífica ( $C_p$ ), siendo esta diferente a la del estado vítreo [2].

### 2.1.2 Sistemas moleculares

Al contrario que en los polímeros, en los cuales la cristalización total es prácticamente imposible, algunos sistemas moleculares, como muchos de los fármacos estudiados en este trabajo, se encuentran en un estado completamente cristalino. Cuando un líquido comienza a enfriarse desde la  $T_m$  empieza a cristalizar desde los puntos de nucleación, estos crecen hasta alcanzar el volumen total. Por ello, si la temperatura desciende rápidamente, disminuye la cinética molecular y se evita proceso de nucleación y crecimiento de cristales obteniendo un material sólido amorfo.

En cambio, si lo que se tiene es un sólido amorfo, las moléculas no presentan una unión tan fuerte entre ellas, sino que al estar dispuestas de manera aleatoria se necesita menor energía que en un sólido cristalino para producirse la separación y por consiguiente la disolución. Por ello, el

estudio del aumento de la biodisponibilidad de una estructura amorfa en fármacos es interesante. Sin embargo, existen ciertas limitaciones que se comentarán más adelante [2].

### 2.1.3. Mezclas binarias

Cuando dos materiales son miscibles, se esperan propiedades macroscópicas de materiales monofásicos para la mezcla, como una única temperatura de transición vítrea intermedia entre las de los componentes puros. Esta  $T_g$  intermedia suele obedecer a la ecuación de Fox:

$$\frac{1}{T_{gmezcla}} = \frac{w_1}{T_{g1}} + \frac{w_2}{T_{g2}} \quad (1)$$

Donde  $w_1$  y  $w_2$  son las fracciones en peso de los componentes 1 y 2 respectivamente,  $T_{g1}$  y  $T_{g2}$  son las temperaturas de transición vítrea de los componentes puros y la  $T_{gmezcla}$  es la temperatura de transición vítrea de la mezcla (valores en Kelvin) [3]. Es decir, en este caso, para una mezcla 50/50 de polímero y fármaco, la  $T_g$  se aproximaría a un valor intermedio entre la  $T_g$  del polímero y la del fármaco.

## 2.2. CLASIFICACIÓN DE LOS FÁRMACOS

Para un correcto desarrollo de productos farmacéuticos es indispensable comprender las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas de los medicamentos. El Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (SCB) es una herramienta que permite una correcta toma de decisiones en el desarrollo de nuevas formulaciones, no solo se ha utilizado para la biodisponibilidad, sino también para el diseño de la formulación desde las etapas iniciales hasta las clínicas. El SCB clasifica las sustancias en cuatro categorías basadas en su solubilidad y permeabilidad intestinal.

Los fármacos que se encuentran dentro de la SCB de clase I se definen como altamente solubles y permeables. Ejemplos: Metoprolol, Propanolol y Teofilina. En este caso ningún paso limita la tasa de absorción oral, se absorbe bien por lo que las formulaciones convencionales de cápsulas son perfectamente válidas para una disolución rápida en el tracto gastrointestinal.

La clase II es altamente permeable, pero presenta una baja solubilidad. Por ejemplo, la Ciclosporina y el Itraconazol. Debido a su baja solubilidad, la biodisponibilidad está limitada por su disolución. Por consiguiente, el aumento de la tasa de disolución supone un aumento de la biodisponibilidad. La tasa de disolución de los fármacos puede ser controlada por varios factores fisicoquímicos, como son el área de superficie efectiva, el coeficiente de difusión, el espesor de la capa de difusión, la solubilidad de saturación, la cantidad de droga disuelta y el volumen del medio de disolución. Asimismo, se considera que la modificación de los cristales, la reducción del tamaño de las partículas, la autoemulsificación, la modificación del pH y la amortización son eficaces para mejorar la biodisponibilidad gracias a una mejora en la disolución.

Al contrario que la clase II, dentro de la clase III se encuentran los fármacos con alta solubilidad y baja permeabilidad. Ejemplos: Atenolol, Cimetidine y Metformin. Para los principios activos de la clase III, la permeabilidad de la membrana en el tracto gastrointestinal es el paso limitante para la absorción. Los potenciadores de la permeación, como los ácidos grasos, las sales biliares, los surfactantes y los polisacáridos, pueden mejorar la permeabilidad de los fármacos, sin embargo, algunos tienen efectos perjudiciales para la membrana.

Por último, los fármacos con baja solubilidad y permeabilidad se clasifican como SCB de clase IV. Ejemplos: Hidroclorotiazida y Furosemida. La solubilidad y la permeabilidad son etapas que limitan la velocidad de absorción, por lo que presentan pobre biodisponibilidad. Las soluciones aplicadas en los fármacos de clase II son viables en la mejora del comportamiento de disolución, aun así, las opciones de formulación para la mejora de la permeabilidad se encuentran en una etapa temprana de investigación. Por ello, aunque el fármaco consiga disolverse tras aplicarle enfoques de formulación similares a los de la clase II, exhibiría permeabilidad limitada a través de la mucosa gastrointestinal.

Tabla 1. Clasificación de los fármacos según el SCB

Clase	Solubilidad	Permeabilidad
I	Alta	Alta
II	Baja	Alta
III	Alta	Baja
IV	Baja	Baja

Debido a la problemática generada por la baja solubilidad acuosa de algunos fármacos, se han investigado distintos enfoques, una de las estrategias más exitosas son las Dispersiones Sólidas (DS) [4].

### 2.3. DISPERSIONES SÓLIDAS AMORFAS Y SU CLASIFICACIÓN

Las dispersiones sólidas son una de las estrategias empleadas para mejorar las propiedades de disolución de fármacos poco solubles en agua, mejorando así la biodisponibilidad del propio fármaco ya que más del 40% de los principios activos que se encuentran en vías de desarrollo son fármacos poco solubles en agua. De hecho, entre los Ingredientes Farmacéuticos Activos (IFAs) contenidos en la Farmacopea de los EE. UU., más de un tercio se sitúan dentro de la categoría poco solubles o insolubles en agua.

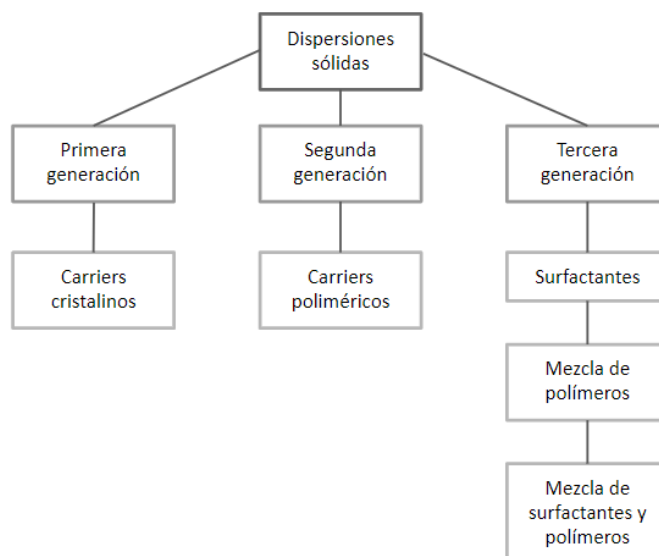


Figura 3. Clasificación de las dispersiones sólidas



Una de las formas más común, simple y fácil de administración de fármacos es por vía oral, sin embargo, si se trata de drogas poco solubles en agua estas no se absorberán bien tras su ingesta oral, perjudicando directamente en la eficacia del fármaco. Por lo tanto, tendrán una baja biodisponibilidad si estos no se liberan completamente en la zona gastrointestinal. Supondría un aumento en la biodisponibilidad y una reducción de los efectos secundarios si se consiguen mejorar estas limitaciones.

Las dispersiones sólidas son una de las estrategias más exitosas, se pueden definir como mezclas moleculares de fármacos poco solubles en agua en portadores hidrófilos, que presentan un perfil de liberación de fármacos impulsado por las propiedades de los polímeros [5].

### **2.3.1. Dispersiones sólidas de primera generación**

La primera descripción que hizo referencia a las dispersiones sólidas fue realizada por Sekiguchi y Obi en el año 1961 tras observar que la tasa de liberación de la droga mejoraba en mezclas eutécticas y por lo tanto la biodisponibilidad también. Este descubrimiento derivó en muchos otros, donde, utilizando la urea como portador soluble se investigaron medicamentos poco solubles en agua como el sulfatiazol y el cloranfenicol. Se comprobó como estas dispersiones sólidas permitían una liberación más rápida en comparación con los medicamentos convencionales debido al pequeño tamaño de las partículas y la mejora en la humectabilidad.

Viendo el éxito, Levy y Kaning trabajaron en los sistemas de dispersión, esta vez con manitol como portador. Realizaron soluciones sólidas mediante dispersiones moleculares en lugar de utilizar mezclas eutécticas. A estas dispersiones sólidas se les conoce como dispersiones sólidas de primera generación. Los primeros portadores utilizados en dispersiones sólidas fueron cristalinos (la urea y los azúcares). Al tratarse de dispersiones sólidas cristalinas la liberación de droga no es tan rápida como en las amorfas, ya que se encuentran en un estado de equilibrio termodinámico [5].

### **2.3.2. Dispersiones sólidas de segunda generación**

Tras el descubrimiento de las dispersiones sólidas cristalinas, a finales de la década de los sesenta se descubrió que las dispersiones sólidas amorfas presentaban mayor eficacia que en las que la droga se encontraba en estado cristalino. Por consiguiente, se empezaron a emplear portadores amorfos, dando lugar a la segunda generación, en las que el fármaco se dispersa molecularmente de forma irregular dentro de un portador amorfo, normalmente polimérico.

Los portadores poliméricos han sido los más éxitos hasta la fecha, los cuales se dividen en dos grupos: polímeros totalmente sintéticos y polímeros basados en productos naturales. A su vez, las dispersiones sólidas amorfas se clasifican en base a la interacción molecular del fármaco y los portadores en tres grupos: soluciones sólidas, suspensiones sólidas o una mezcla de ambas.

Las soluciones sólidas amorfas se caracterizan por ser totalmente miscibles y solubles, se obtiene una estructura homogénea entre ellos y por lo tanto, solo una fase está presente dando como resultado una energía de interacción elevada.

Por el contrario, cuando están presentes dos fases se trata de una suspensión sólida amorfa. En este caso el fármaco cuenta con una solubilidad limitada. Normalmente los fármacos con un alto

punto de fusión suelen encontrarse dentro de esta clasificación. La dispersión no será homogénea, sino que las pequeñas partículas de fármaco están dispersas dentro del portador polimérico, aunque es posible conseguir un producto final amorfo.

Por último, si el fármaco se disuelve y se queda suspendido en el portador, la estructura será heterogénea, proporcionando propiedades intermedias entre la solución sólida amorfa y la suspensión sólida amorfa [5].

### **2.3.3. Dispersiones sólidas de tercera generación**

Si el portador tiene actividad superficial o propiedades autoemulsionantes, como un surfactante o una mezcla de polímeros amorfos y surfactantes, el perfil de disolución mejora. Las dispersiones sólidas de tercera generación tienen como objetivo lograr el mayor grado de biodisponibilidad en medicamentos poco solubles y a su vez, estabilizar la dispersión sólida evitando la cristalización del medicamento.

Recientemente se ha demostrado que se consigue una alta pureza polimórfica y una mayor disponibilidad utilizando agentes tensioactivos, como la insulina, como portadores. Por lo tanto, el uso de agentes tensioactivos en la formulación con un portador polimérico puede ayudar a prevenir la precipitación [5].

### **2.3.4. Ventajas**

Gracias a los enfoques químicos se ha logrado mejorar la biodisponibilidad de las drogas por medio de la modificación de su solubilidad. Esto puede lograrse mediante la formación de sales o la incorporación de grupos polares o ionizables en la estructura principal del fármaco, creando un pro-fármaco sin modificar el principio activo.

Las dispersiones sólidas, en cambio, son más fáciles de producir y parecen ser un mejor enfoque para mejorar esta problemática. Asimismo, son más aceptables para los pacientes que los productos de solubilización porque ofrecen formas de dosificación oral sólidas en lugar de líquidas. Además de la mejora en la liberación del fármaco, ya que, al utilizar el fármaco en estado amorfo no se necesita energía para romper la red cristalina durante el proceso de disolución.

Si se controlan con éxito parámetros como el peso y la composición molecular del portador, la cristalinidad del fármaco y la porosidad y la humectabilidad de las partículas, se producen mejoras en la biodisponibilidad. Para que los resultados sean óptimos e incrementar la velocidad de disolución, la matriz, normalmente polimérica, debe reunir los siguientes requisitos: ser soluble en agua y en una gran variedad de solventes, no tóxica y farmacológicamente inerte, ser químicamente compatible con el fármaco y formar solamente complejos débilmente unidos con el fármaco [5].

### **2.3.5. Desventajas**

Como se ha mencionado anteriormente, las dispersiones sólidas presentan numerosas ventajas, sin embargo, no se utilizan en productos comerciales por un motivo concreto: la posibilidad de que el estado amorfo pueda sufrir una cristalización durante el procesamiento, debido a un estrés

mecánico, o durante el almacenamiento por la temperatura o la humedad que pueda haber en el ambiente.

La mayoría de los polímeros empleados en las dispersiones sólidas pueden absorber humedad, lo cual puede resultar en separación de fases, crecimiento de cristales o la conversión del estado amorfo al cristalino o de una forma cristalina metaestable a una estructura más estable durante el tiempo que este almacenado. Si sucede, se pierde todo el valor que aportan las dispersiones sólidas, ya que se disminuye la solubilidad y la velocidad de disolución.

La temperatura también es un factor clave, un aumento de la temperatura favorecería el movimiento molecular, pudiendo recrystalizar el fármaco. Lo más importante es conseguir estabilizar los sólidos amorfos durante todo el proceso, desde su producción hasta su actuación [4].

Otro de los factores que limitan su uso de forma comercial está relacionado con la preparación, la reproducibilidad, la formulación y el salto a gran escala. La investigación se centra en la identificación de excipientes que eviten o retarden la cristalización de los fármacos, o aditivos (surfactantes nuevos, superdesintegrantes o modificadores de pH) para mejorar la solubilidad de los fármacos en las DS [6].

### **2.3.6. Estrategias de formulación para evitar la recrystalización**

Como se ha mencionado, la recrystalización es la mayor desventaja de las dispersiones sólidas. Al tratarse de sistemas amorfos, estos son termodinámicamente inestables y tienden a cambiar a un estado termodinámico más estable bajo la recrystalización.

Aunque presente una muy alta viscosidad, por debajo de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ) hay suficiente movilidad molecular para que un sistema amorfo pueda cristalizar en escalas de tiempo relevantes desde el punto de vista farmacéutico. La movilidad molecular del sistema amorfo depende tanto de su composición como del proceso de fabricación.

Los polímeros mejoran la estabilidad física de las dispersiones sólidas amorfas al aumentar la  $T_g$  de la mezcla miscible, reduciendo la movilidad molecular a temperaturas de almacenamiento regulares. Para aumentar la eficacia de un polímero en la prevención de la cristalización es necesario que sea miscible con el fármaco, y para una completa miscibilidad, se requieren interacciones entre los dos componentes. Normalmente, las interacciones se suelen dar mediante la unión intermolecular de hidrógeno entre el fármaco y el polímero o mediante interacciones ión-dipolo. Esto permite una mayor estabilidad física y miscibilidad de las DS.

Estas interacciones específicas fueron observadas por Teberekidis y otros, se demostró que las velocidades de disolución mejoraban variando el polímero. En el estudio, las energías de interacción, la densidad electrónica y los datos vibratorios revelaron un vínculo de hidrógeno más fuerte del Felodipino con polivinilpirrolidona (PVP) que con polietilenglicol (PEG), concordando con las velocidades de disolución de ambas mezclas. Otros estudios han demostrado que debido a la química del sistema no es posible que surjan interacciones mediante la unión intermolecular de hidrógeno. En cambio, hay polímeros que afectan a la cinética de nucleación, inhibiendo la cristalización.

Por todo ello, las estrategias para estabilizar las dispersiones sólidas y evitar así que recrystalicen dependen en gran parte de las propiedades del fármaco, del polímero empleado y de la combinación de diferentes enfoques [5].

## 2.4. PROCESOS DE FABRICACIÓN

Los métodos de fusión y vaporación de solventes son los dos procesos principales para preparar las dispersiones sólidas.

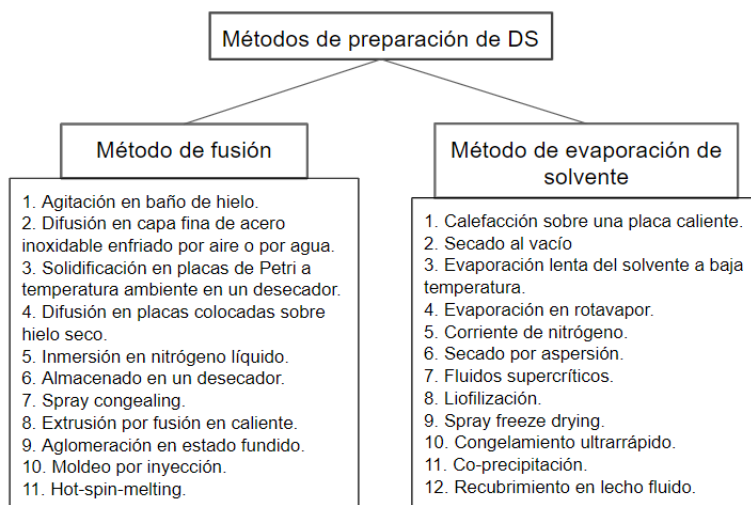


Figura 4. Procesos de fabricación utilizados para producir dispersiones sólidas

### 2.4.1. Método de fusión

El método de fusión se utilizó en las primeras DS realizadas para aplicaciones farmacéuticas. Se-kiguchi y Obi, en 1961, fueron los primeros en utilizar el proceso. Consiste en fundir el fármaco en el vehículo, posteriormente se enfría, se tritura, se tamiza y se pulveriza para reducir el tamaño de partícula o se realiza el moldeo por inyección sin ser sometido a molienda. Sin embargo, para reducir la temperatura del proceso se adaptó el método, en vez de fundir el fármaco, se funde el vehículo, que presenta temperaturas de fusión más bajas, y posteriormente se deposita el fármaco.

En la temperatura de fusión se encuentra la mayor desventaja o limitación de este método, ya que varios fármacos corren el riesgo de degradarse. Asimismo, la alta viscosidad del vehículo polimérico en estado fundido puede provocar una incompleta miscibilidad entre el fármaco y el polímero. Para evitar las limitaciones del método, se introdujeron más modificaciones en el método original, como la extrusión en etapa caliente, Meltrex™<sup>®</sup> o la aglomeración por fusión.

En cuanto a las ventajas, es un proceso simple, de menor coste que el método por evaporación de solvente y, además, no requiere el uso de ningún solvente.

No obstante, para que este método sea efectivo se deben cumplir ciertos requisitos, como la miscibilidad y por lo tanto la compatibilidad del fármaco y el vehículo en estado fundido, de lo contrario la mezcla podría no ser homogénea. Cuando esto ocurre, se puede apreciar dos fases líquidas, para prevenir, se añade a la mezcla surfactantes. Aun así, los problemas pueden darse durante el enfriamiento, cuando la miscibilidad cambia, provocando la separación de fases [5].

### **2.4.2. Método de evaporación de solvente**

El método de evaporación del solvente consiste en la disolver el fármaco y el portador polimérico en un disolvente volátil (etanol, cloroformo, diclorometano, etc.) que luego se evapora. Normalmente, las películas resultantes se pulverizan y muelen.

Los primeros en emplear este método para la preparación de DS fueron Tachibana y Nakamura en 1965. Con este descubrimiento, se consiguió evitar problemas como la descomposición térmica tanto del fármaco como del vehículo, ya que la evaporación del disolvente orgánico se produce a baja temperatura. Además, permite utilizar un mayor rango de polímeros, puesto que algunos, debido a su elevado punto de fusión, son poco utilizados en el método de fusión.

Existen diferentes procesos dentro del método de evaporación de solvente, aunque la diferencia entre ellos está relacionada con el procedimiento de evaporación del disolvente, que generalmente incluye secado al vacío, calentamiento de la mezcla en una placa caliente, evaporación lenta del solvente a baja temperatura, el uso de un evaporador rotatorio, una corriente de nitrógeno, secado por pulverización, liofilización y el uso de fluidos supercríticos.

En este caso, lo importante es encontrar un disolvente no tóxico que sea compatible con el fármaco y con el polímero correspondiente. Algunas veces encontrarlo resulta difícil debido a la hidrofobicidad de los fármacos. Por esta razón y para mejorar la solubilidad del fármaco, se suelen añadir surfactantes. Sin embargo, en ocasiones pueden no ser tolerados por el organismo, incluso provocar un cambio significativo en la estructura de la matriz.

Las desventajas principales de este método están relacionadas con el uso de disolventes orgánicos, el alto coste de preparación y la dificultad que supone eliminar completamente el disolvente utilizado [5].

### 3. SECCIÓN EXPERIMENTAL

#### 3.1. MATERIALES UTILIZADOS

Para este estudio se ha empleado el poliácido láctico como polímero y a su vez, se han utilizado un total de 28 fármacos para el estudio de la miscibilidad.

El ácido poli(D,L-láctico) fue suministrado por Corbion (Purasorb® DL). Para realizar las mezclas se usaron distintos disolventes según el fármaco empleado, tanto el diclorometano (DCM) como el tetrahidrofurano (THF) y el tetrafluoroetileno (TFE) han sido suministrados por LABKEM. Por último, todos los fármacos naturales utilizados en este trabajo han sido proporcionados por SigmaAldrich, en la siguiente tabla se muestran los números de referencia de cada uno de ellos:

**Tabla 2.** Número de referencia de los fármacos empleados

Fármaco natural	Número de referencia
5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona	H47003-1G
Ácido trans-cinámico	C80857-5G
Esclareol	357995-1G
Ácido salicílico	S5922-100G
(+/-)-Isoborneol	I13901-25G
$\beta$ -Tuyaplicina	469521-5G
8-Hidroxiquinoleína	252565-50G
Ácido valílico	94770-10G
Ácido $p$ -cumárico	C9008-5G
Ácido trans-ferúlico	128708-5G
Ácido succínico	S3674-100G
Ácido gálico	G7384-100G
Ácido cafeico	C0625-5G
Ácido cólico	C1129-25G
Ácido tánico	403040-50G
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	37580-25G-F
3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo	274194-5G
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	149357-10G
Isoliquiritigenina	961295-1G
Dihidromiricetina	PC-A20190321
Metronidazol	M3761-5G
Doxiciclina	D1822-500G
Sulfanilamida	S9251-100G
Pirazinamida	P7136-10G
(+)-Catequina	22110-1G
Metilhidroquinona	112968-250G
Ácido elágico	E2250-1G

En los siguientes apartados se pretende conocer más acerca de este polímero y los fármacos propuestos.

### 3.1.1. Poliláctico

El poliláctico (PLA) es un polímero sintético muy estudiado actualmente, tanto por investigadores como por la industria química por ser biocompatible y biodegradable para aplicaciones tales como sistemas de administración de fármacos, materiales de implantes para la fijación ósea y sutura quirúrgica. Su falta de toxicidad, además de otras características como su fácil procesabilidad, sus características mecánicas y sus diversas opciones de síntesis hacen que este material haya adquirido gran interés en las últimas décadas.

Los polímeros biodegradables son aquellos hidrolizables a temperaturas por encima de los 50°C en un periodo entre unos meses y un año, degradándose por sí mismos sin necesidad de ninguna enzima para catalizar la hidrólisis y sin producir tóxicos que dañan a los organismos vivos. El PLA es uno de ellos, y se ha convertido en el polímero biodegradable más atractivo. Se obtiene del ácido láctico, el cual es obtenido fácilmente mediante procesos biotecnológicos de materias primas de bajo coste, como la sacarosa del azúcar de caña, la remolacha azucarera, el almidón de patata hidrolizado o las cortezas de la semilla de algodón entre muchos otros posibles sustratos. Este polímero proporciona alta resistencia mecánica y alto módulo elástico, además de poseer cierta estabilidad térmica para no degradarse con excesiva facilidad y mantener así su peso molecular y sus propiedades. Esa degradación dependerá del tiempo, la temperatura, las impurezas y la concentración del catalizador utilizado. Asimismo, este material puede ser procesado fácilmente por moldeo por inyección, extrusión de láminas, moldeo por soplado de extrusión, termoconformado, moldeo por soplado y estirado, moldeo por soplado y estirado por inyección e hilado de fibra.

En cuanto a la materia prima, el monómero (ácido láctico), puede ser sintetizado de dos formas, tanto biológicamente, como químicamente. Habitualmente suele ser preferible utilizar métodos biológicos como la fermentación bacteriana. Consiste en la fermentación de almidón u otros polisacáridos que podemos encontrar en productos naturales como la remolacha, el maíz, la caña de azúcar, la patata u otras biomásas. Es importante controlar el pH, la temperatura y la atmósfera durante el proceso de fermentación, también es recomendable controlar la agitación, para lograr el material más puro posible. La polimerización del poliláctico produce una molécula de agua, la cual ocasiona, debido a la degradación de la cadena polimérica, que el peso molecular de la cadena sea muy bajo. Por ese motivo se realiza la polimerización de anillo abierto, de manera que las terminaciones de las cadenas actúan como reactivos para conectar más monómeros que conlleva a un aumento del peso molecular.

Es importante saber que se puede obtener un amplio rango de propiedades fisicoquímicas, mecánicas y tasas de degradación, ya que del ácido láctico es posible obtener isómeros L, D y DL. Esto hace que varíe el peso y la composición del copolímero. Por ejemplo, el PLLA es cristalino, mientras que el PDLLA es un polímero amorfo. Este último es el que se ha empleado para realizar este estudio y cuenta con una  $T_g$  que se encuentra entorno a los 35-40°C [7].

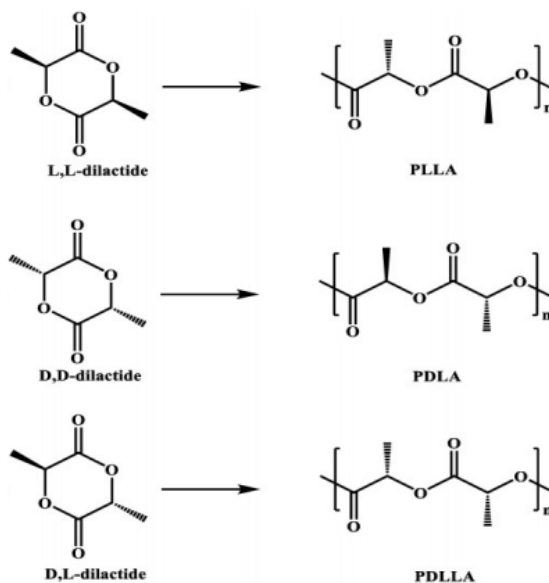


Figura 5. Forma estructural del PLLA, PDLA y PDLLA

Las propiedades mecánicas, reológicas, térmicas y biológicas del PDLLA pueden variar según la proporción entre isómeros D y L. Para la aplicación que se está buscando, en la que se pretende mejorar la solubilidad del fármaco en agua, es más interesante que el PDLLA cuente con una mayor cantidad de isómero D, ya que es menos cristalino que el isómero L. Asimismo, la  $T_g$  será mayor siempre que la proporción del isómero L aumenta. De la misma manera, el PLLA, al ser cristalino, ofrece mejores propiedades mecánicas y mayor durabilidad que el PDLLA. Aun así, el grado de cristalinidad de esta dependerá de varios factores, como el peso molecular, la temperatura y el procesamiento que ha sufrido el material [8].

### 3.1.2. Fármacos

#### ○ 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona

5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona ( $C_{10}H_6O_3$ ), también conocida como Juglone, es un compuesto orgánico ligeramente soluble en agua y su temperatura de fusión es de 161-163°C. Se encuentra en cáscaras, hojas, raíces, frutos y corteza de las plantas Juglandaceae [9].

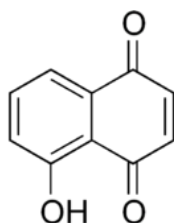


Figura 6. Estructura química de 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona

Se puede encontrar en plantas como las nueces de forma incolora, con ambos grupos O reemplazados por grupos OH. Al estar expuesto al aire, se oxida y se degrada, produciendo un cambio de color en la cáscara de nuez [10].

Tiene varias aplicaciones, tradicionalmente se utilizaba como tinte natural en tejidos y posteriormente como tintes para el cabello. También se emplea ocasionalmente como herbicida y actualmente se está estudiando por sus propiedades anticancerígenas [11].



○ **Ácido trans-cinámico**

El ácido cinámico ( $C_9H_8O_2$ ) es un ácido orgánico cristalino, es ligeramente soluble en agua, pero soluble en muchos disolventes orgánicos. Su temperatura de fusión es de 132-135°C.

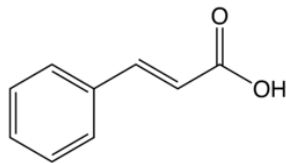


Figura 7. Estructura química del ácido cinámico

Normalmente, se obtiene del aceite de canela (en inglés: cinnamon), aunque es posible obtenerlo de bálsamos. Su uso principal es en la industria de la perfumería, para la fabricación de los ésteres metílico, etílico y bencílico, aunque también es usado en condimentos, índigo sintético y ciertos fármacos [12].

○ **Esclareol**

Esclareol ( $C_{20}H_{36}O_2$ ) es un compuesto químico aromático de color ámbar, se extrae de la Salvia sclarea, de la cual deriva su nombre. Presenta una temperatura de fusión de 95-100°C.

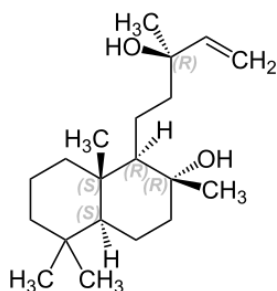


Figura 8. Estructura química de Esclareol

Se utiliza mucho como fragancia en cosméticos y perfumes por su aroma dulce, también como aromatizante en los alimentos. Además, es capaz de matar células humanas leucémicas y células de cáncer de colon [13].

○ **Ácido salicílico**

El ácido salicílico ( $C_7H_6O_3$ ) se aisló por primera vez de la corteza de sauce (*salix* en latín), aunque industrialmente se obtiene a partir de dióxido de carbono y fenóxido de sodio. Es un sólido incoloro que funde a los 159°C y que suele cristalizar en forma de agujas [14].

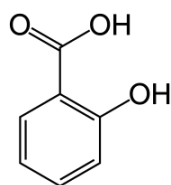


Figura 9. Estructura química del ácido salicílico

Sirve como materia prima para obtener ácido acetilsalicílico (comercialmente conocido como Aspirina). Asimismo, es un aditivo muy utilizado en productos diseñados para tratar el acné, psoriasis, callosidades y las verrugas. También se utiliza como ingrediente activo en champús anticaspas, debido a sus propiedades exfoliantes [15].

- **(+/-) - Isoborneol**

Borneol ( $C_{10}H_{18}O$ ) es un compuesto orgánico y un terpeno. Existe con dos enantiómeros, aunque D-(+)-borneol es ópticamente activo. Su punto de fusión y ebullición es de  $208^{\circ}C$  y  $212^{\circ}C$  respectivamente.

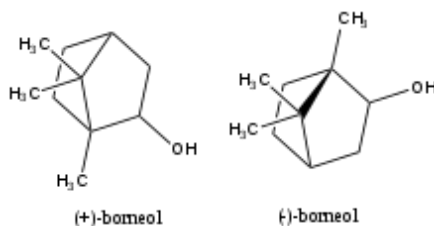


Figura 10. Estructura química de Borneol

Es posible encontrarlo en varias especies de Artemisia, Dipterocarpaceae, Blumea balsamífera y Kaempferia galanga. Se añade en muchos aceites esenciales y también sirve como producto natural para repeler insectos [16].

- **$\beta$ -Tuyaplicina**

Las tuyaplicinas son sustancias aisladas de las maderas duras de los árboles de la familia Cupresaceae, además fueron las primeras tropolonas naturales fabricadas sintéticamente. Se descubrieron en la década de 1930, aunque no fue hasta el 2000 cuando comenzó un mayor interés científico por  $\beta$ -tuyaplicina ( $C_{10}H_{12}O_2$ ), la cual funde a  $52^{\circ}C$  [17].

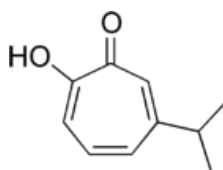


Figura 11. Estructura química de  $\beta$ -tuyaplicina

Estos compuestos son utilizados en distintos sectores debido a sus propiedades antibacterianas, antifúngicas y antioxidantes [18]. Se emplea en productos para el cuidado de la piel y el crecimiento del cabello, también en productos para el cuidado bucal [19] y en formulaciones de gotas para los oídos [20]. En la agricultura se emplea para controlar la descomposición de postcosecha [21]. Por último, también es utilizado como agente de prolongación de la vida útil en el envasado de alimentos [22].

- **8-Hidroxiquinoleína**

La 8-hidroxiquinoleína ( $C_9H_7NO$ ) es un compuesto orgánico de color amarillo que funde a  $73^{\circ}C$  [23]. Es ampliamente utilizado comercialmente como antisépticos, desinfectantes y en tratamientos contra el cáncer. Su solución en alcohol se utiliza como “venda líquida” [24].

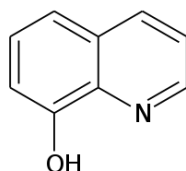


Figura 12. Estructura química de 8-hidroxiquinoleína

○ **Ácido valílico**

El ácido valílico (4-hidroxi-3-ácido metoxibenzoico,  $C_8H_8O_4$ ) es usado como agente aromatizante y se trata de una forma oxidada de vainillina. Su punto de fusión es de  $210^{\circ}C$  [25].

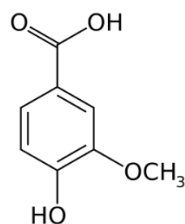


Figura 13. Estructura química del ácido valílico

Se utiliza mucho en la medicina tradicional china, ya que es una hierba autóctona de China y se extrae de la raíz de *Angelica sinensis* [26]. Sin embargo, existen otras sustancias ricas en ácido vanílico, como el aceite de azaí, obtenido del fruto de la palma açaí [27], también se encuentra en el vino y el vinagre. Además, es uno de los principales fenoles naturales en el aceite de argán [28].

○ **Ácido p-cumárico**

El ácido p-cumárico ( $C_9H_8O_3$ ) es un compuesto orgánico derivado de ácido cinámico, además, es un componente importante de la lignina. Cuenta con tres isómeros, aunque el ácido p-cumárico es el más abundante. Es un sólido cristalino con una temperatura de fusión de  $214^{\circ}C$ . Se disuelve ligeramente en agua [31].

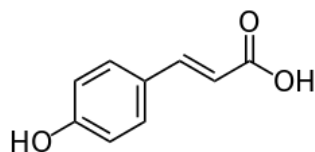


Figura 14. Estructura química del ácido p-cumárico

Se puede encontrar en una variedad de plantas comestibles, como tomates, zanahorias y ajo. También se puede encontrar en el vino, en el vinagre de vino o en los granos de cebada [32]. Asimismo, el ácido p-cumárico es un componente del polen de la miel [33].

○ **Ácido trans-ferúlico**

El ácido ferúlico ( $C_{10}H_{10}O_4$ ) es un compuesto muy abundante en la pared celular vegetal. La función del ácido ferúlico en las plantas es proporcionar rigidez estructural y resistencia a la degradación microbiana. Su temperatura de fusión es de  $172^{\circ}C$ .

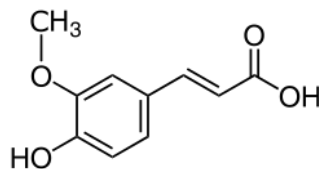


Figura 15. Estructura química del ácido ferúlico

El ácido ferúlico es un compuesto muy rico que puede usarse como precursor para la producción a escala industrial de vainillina, que es un agente aromatizante ampliamente utilizado y de alto valor comercial. También es utilizado como matriz de proteínas en espectrometría de masas. El ácido ferúlico tiene efecto antioxidante, por lo que se utiliza como ingrediente en los filtros solares para proteger la piel de las radiaciones ultravioleta.

Es utilizado en la industria farmacéutica debido a sus propiedades antiinflamatorias [34]. Además, está en estudio para su uso y tratamiento en pacientes con cáncer que necesitan estimular la producción de anticuerpos [35].

○ **Ácido succínico**

El ácido succínico es un ácido dicarboxílico con una fórmula molecular de  $C_4H_6O_4$  y una temperatura de fusión de  $186^{\circ}C$ . Es un sólido cristalino blanco. Su nombre proviene de la palabra latina succinum, que significa ámbar, de donde puede extraerse [36].

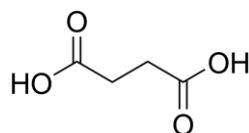


Figura 16. Estructura química del ácido succínico

Se utiliza para fabricar pinturas, colorantes, fragancias, medicamentos, aditivos alimentarios (E-363) y reactivos para la fabricación de plásticos biodegradables, que son de interés en aplicaciones de ingeniería de tejidos [37].

○ **Ácido gálico**

El ácido gálico es un ácido orgánico, también conocido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, que se encuentra en la miel, el té, la corteza de roble y otras plantas. La fórmula química es  $C_6H_2(OH)_3COOH$  y su temperatura de fusión es de  $251^{\circ}C$ .

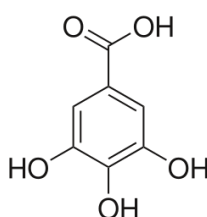


Figura 17. Estructura química del ácido gálico

Se ha utilizado en la industria farmacéutica como estándar para determinar el contenido de fenol de varios analitos. También se puede utilizar para sintetizar el alcaloide alucinógeno mescalina o 3,4,5-trimetoxifenetilamina.

El ácido gálico es una de las sustancias utilizadas por Angelo Mai y otros investigadores de palimpsestos para borrar la capa superior del texto y revelar manuscritos ocultos [38].

○ **Ácido cafeico**

El ácido cafeico ( $C_9H_8O_4$ ) es un compuesto orgánico clasificado como ácido hidroxicinámico. Es un sólido amarillo que contiene grupos funcionales fenólicos y acrílicos. Se encuentra en todas las plantas porque es un intermedio clave en la biosíntesis de lignina. Su temperatura de fusión es de  $213^{\circ}C$  [39].

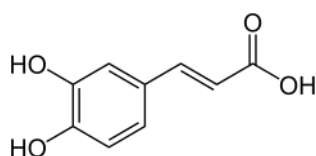


Figura 18. Estructura química del ácido cafeico

El ácido cafeico es uno de los principales fenoles naturales del aceite de argán [40]. Además, tiene una variedad de efectos farmacológicos potenciales en estudios in vitro y modelos animales, pero sus efectos clínicos no han sido probados en humanos. También muestra actividad inmunomoduladora, antiinflamatoria y antioxidante.

Los resultados de los estudios sobre la carcinogenicidad del ácido cafeico son mixtos. Algunos estudios han demostrado que puede inhibir la carcinogénesis, mientras que otros experimentos han demostrado que tiene efectos cancerígenos [41].

#### ○ Ácido cólico

El ácido cólico ( $C_{24}H_{40}O_5$ ) es una sustancia cristalina, blanca e insoluble en agua, con un punto de fusión de 200-201°C. El ácido cólico es uno de los dos principales ácidos biliares sintetizados a partir del colesterol en el hígado humano. Es soluble en etanol y en ácido acético [42].

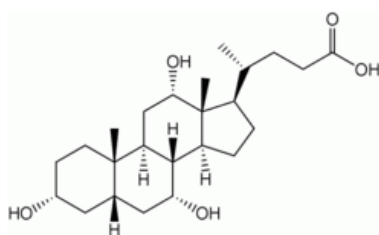


Figura 19. Estructura química del ácido cólico

#### ○ Ácido tánico

El ácido tánico es un ácido compuesto de glucosa y ácido fenólico, y su fórmula molecular es  $C_{76}H_{52}O_{46}$ . Este compuesto puede fabricarse artificialmente, aunque en la antigüedad se extraía de su acumulación en la corteza y raíces de frutas y plantas. Tiene una temperatura de fusión de 218°C y se encuentra principalmente en vino tinto, café, té, espinaca, pasas negras y guayaba.

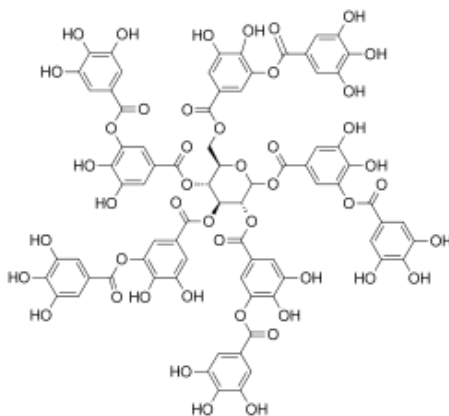


Figura 20. Estructura química del ácido tánico

Se le atribuyen propiedades antioxidantes y astringentes. Por el contrario, un consumo excesivo puede dificultar la absorción de hierro y proteínas. Además, el ácido tánico puede mejorar la citotoxicidad de los fármacos de quimioterapia.

Utilizado mayormente en el curtido de cueros. En dermatología se utiliza como agente astringente y antiinflamatorio. Se utiliza en procedimientos cutáneos y para el tratamiento de quemaduras. También se ha utilizado para tratar hemorroides en forma de supositorios [43].

○ **Ácido 3,4-dihidrobenzoico**

La protocatequina ( $C_7H_6O_4$ ) es un ácido dihidrobenzoico, un tipo de ácido fenólico con una temperatura de fusión de  $200^{\circ}C$ . Es un metabolito importante de los polifenoles antioxidantes del té verde. El ácido protocatechico se puede aislar de la corteza de *Boswellia dalzielii* y de las hojas de *Diospyros melanoxylon* [44].

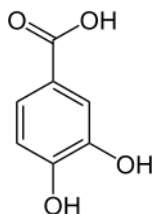


Figura 21. Estructura química del ácido 3,4-dihidrobenzoico

El ácido 3,4-dihidrobenzoico tiene efectos antioxidantes y antiinflamatorios. Además, se ha informado que puede inducir la apoptosis en las células de leucemia humana [45].

○ **3,4,5-trihidrobenzoato de metilo**

El galato de metilo, o 3,4,5-trihidrobenzoato de metilo ( $C_8H_8O_5$ ), es un compuesto fenólico que se encuentra en *Terminalia myriocarpa* y *Geranium niveum*, y también se encuentra en el vino. Tiene una temperatura de fusión de  $203^{\circ}C$  [46].

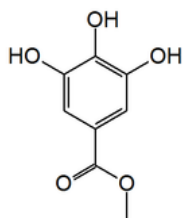


Figura 22. Estructura química del galato de metilo

○ **Ácido 2,5-dihidrobenzoico**

El ácido genticónico, con fórmula química  $C_7H_6O_4$ , es un ácido dihidrobenzoico. Se encuentra en el árbol africano *Alchornea cordifolia* y en el vino. Tiene una temperatura de fusión de  $208^{\circ}C$  [47].

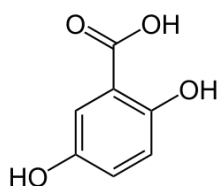


Figura 23. Estructura química del ácido dihidrobenzoico

El ácido genticónico se oxida fácilmente y se utiliza como antioxidante en determinadas preparaciones farmacéuticas. En el laboratorio, se utiliza como matriz de muestra en espectrometría de masas [48].

○ **Isoliquiritigenina**

Isoliquiritigenina ( $C_{15}H_{12}O_4$ ) es un fenol natural con un punto de fusión de 210°C. Se está probando experimentalmente para combatir el cáncer y tratar la adicción a la cocaína [49].

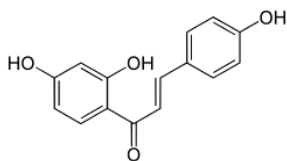


Figura 24. Estructura química de isoliquiritigenina

○ **Dihidromiricetina**

La ampelopsina ( $C_{15}H_{12}O_8$ ), también conocida como dihidromiricetina, es un flavanol, que cuenta con una temperatura de fusión de 246°C. Se puede encontrar en *Cedrus deodara* o *Hovenia dulcis*, y también en *Erythrophleum africanum*. Se ha observado en roedores el efecto hepatoprotector de este compuesto [50].

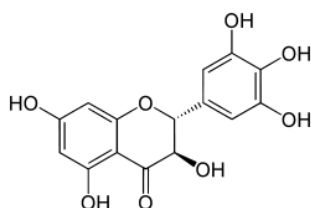


Figura 25. Estructura química de dihidromiricetina

○ **Metronidazol**

El metronidazol ( $C_6H_9N_3O_3$ ) es un fármaco antiparasitario de la clase de nitroimidazol, tiene una temperatura de fusión de 161°C. Inhibe la síntesis de ácidos nucleicos y se usa para tratar infecciones causadas por protozoos y bacterias anaerobias. El metronidazol también se designa como una formulación en gel para el tratamiento de enfermedades de la piel, como el acné y la rosácea.

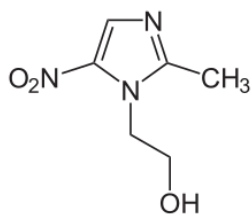


Figura 26. Estructura química del metronidazol

El metronidazol sistémico se puede usar para tratar: vaginitis, enfermedad inflamatoria pélvica, enfermedades parasitarias, infecciones bacterianas por anaerobios, colitis pseudomembranosa, infecciones bucales, enfermedad de Crohn y gastroenteritis, entre otras [51].

○ **Doxiciclina**

La doxiciclina ( $C_{22}H_{24}N_2O_8$ ) es un antibiótico ligeramente soluble en agua que se usa para tratar infecciones causadas por bacterias y ciertos parásitos. Su temperatura de fusión es de 168°C.

La doxiciclina se patentó en 1957 y se usó comercialmente en 1967. Está en la Lista de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la Salud. La doxiciclina está disponible como medicamento genérico.

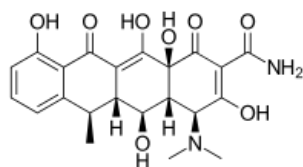


Figura 27. Estructura química de la doxiciclina

Se utiliza para tratar neumonía bacteriana, acné, infección por clamidia, enfermedad de Lyme, cólera, tifus y sífilis. También se puede usar para prevenir la malaria y en combinación con quinina para tratar la malaria [52].

#### o Sulfanilamida

La sulfanilamida ( $C_6H_8N_2O_2S$ ), con un punto de fusión de  $166^{\circ}C$ , es un compuesto de azufre orgánico antibacteriano [53]. En 1932, el especialista alemán Pat Gerger Domagk señaló que esta sustancia podría proteger a los ratones de prueba del *Streptococcus pyogenes* [54].

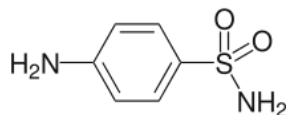


Figura 28. Estructura química de la sulfanilamida

Se utiliza para tratar infecciones bacterianas de la piel y candidiasis vaginal. Además, también sirve para la difteria en terneros y en pododermatitis de las vacas [55].

#### o Pirazinamida

La pirazinamida ( $C_5H_5N_3O$ ) es un antibiótico con un punto de fusión de  $191^{\circ}C$ . La pirazinamida se descubrió y patentó por primera vez en 1936, pero no se usó para tratar la tuberculosis hasta 1952. Aunque también puede actuar como fungicida, principalmente tiene efectos antibacterianos. Se utiliza en combinación con otros fármacos, como isoniazida, rifampicina y etambutol, entre otros [56].

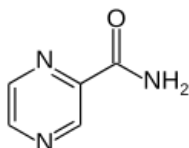


Figura 29. Estructura química de la pirazinamida

#### o (+) - Catequina

La catequina ( $C_{15}H_{14}O_6$ ) es un fenol natural y un antioxidante, con una temperatura de fusión de  $177^{\circ}C$ . Pertenece a los flavan-3-oles, parte de la familia química de los flavonoides. El nombre de la familia química de las catequinas se deriva de la catequina, que es un extracto hervido de la *Mimosa catechu*.

La catequina tiene dos anillos de benceno (llamados anillos A y B) y un anillo heterocíclico de dihidropirano (anillo C) con un grupo hidroxilo en el carbono 3. Por tanto, tiene cuatro diastereoisómeros. Dos isómeros están en la configuración trans y se denominan catequinas, y los otros dos isómeros están en la configuración cis y se denominan epicatequinas. El isómero más común de las catequinas es (+) – catequina [57].



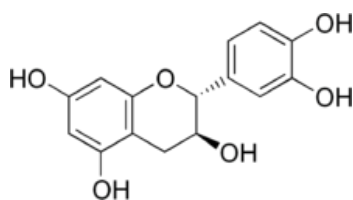


Figura 30. Estructura química de (+) - catequina

En Europa y Estados Unidos, las principales fuentes dietéticas de catequinas son el té y las frutas de pepitas. Los métodos de nanopartículas están siendo investigados preliminarmente como un posible sistema de administración de catequinas. Las catequinas del cacao afectan el riesgo de enfermedades cardiovasculares y actualmente se encuentran bajo investigación preliminar. Un metanálisis limitado mostró que aumentar la ingesta de té verde y sus catequinas a 7 tazas por día puede reducir la incidencia de cáncer de próstata. Las catequinas del té verde pueden mejorar la presión arterial y pueden tener un efecto beneficioso sobre el colesterol [57].

#### o Metilhidroquinona

La metilhidroquinona ( $C_7H_8O_2$ ) es un miembro de la clase de hidroquinonas en la que uno de los hidrógenos de benceno ha sido reemplazado por un grupo metilo. Tiene una temperatura de fusión de 130°C.

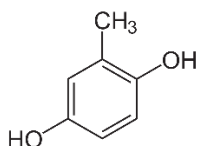


Figura 31. Estructura química de la metilhidroquinona

Tiene efectos inhibidores de la angiogénesis y agentes antiinflamatorios. La metilhidroquinona inhibe el crecimiento de células endoteliales y células tumorales en cultivo en el rango micromolar y es un fármaco candidato prometedor para el tratamiento del cáncer y otras patologías relacionadas con la angiogénesis [59].

#### o Ácido elágico

El ácido elágico ( $C_{14}H_6O_8$ ) es un polifenol que protege a muchas plantas de los rayos ultravioleta, virus, bacterias y parásitos. El ácido elágico existe en las plantas como elagitanino, que se activa en ácido elágico bajo estrés. Tiene una temperatura de fusión de 360°C.

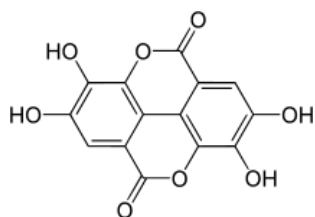


Figura 32. Estructura química del ácido elágico

Según investigaciones en Japón, Alemania y Norteamérica, cuando son consumidos por mamíferos y humanos, los elagitaninos vegetales activan sus propiedades protectoras en el organismo, combatiendo la inflamación crónica (reumatismo, artritis) y el colesterol.

El ácido elágico se encuentra en numerosas frutas y verduras, especialmente en muchas frutas rojas, en algunos frutos secos y también en kiwis y uvas [59].

### 3.2. PREPARACIÓN DE LA MEZCLA

Se utilizará el método de disolución-evaporación conocido como “solvent casting” para realizar las películas que se analizarán posteriormente. El método consiste en disolver el polímero junto con el producto activo mediante un disolvente común, concretamente se han utilizado diclorometano (DCM), tetrahidrofurano (THF) y tetrafluoretileno (TFE), dependiendo del fármaco como se especifica en la en la *Tabla 3*, ya que no todos se disuelven en el mismo disolvente. Estos disolventes son cancerígenos, por ello es importante tomar todas las medidas necesarias para su correcta manipulación.

*Tabla 3. Disolventes empleados por cada fármaco*

Fármaco	Disolvente
5-Hidroxi-1,4-Naphthoquinone	DCM
Ácido trans-cinámico	DCM
Esclareol	DCM
Ácido salicílico	DCM
(+/-) - Isoborneol	DCM
$\beta$ -Tuyaplicina	DCM
8-Hidroxiquinoleína	DCM
Ácido cálfico	THF
Ácido p-cumárico	THF
Ácido trans-ferúlico	THF
Ácido succínico	THF
Ácido gálico	THF
Ácido cafeico	THF
Ácido cólico	THF
Ácido tánico	THF
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	THF
3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo	THF
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	THF
Isoliquiritigenina	THF
Dihidromiricetina	THF
Metronidazol	THF
Doxiciclina	TFE
Sulfanilamida	THF
Pirazinamida	THF
(+) - Catequina	THF
Metilhidroquinona	THF
Ácido elágico	THF

El primer paso consiste en introducir 50 mg de polímero y 50 mg del fármaco correspondiente en un vial. Una vez finalizado, se añaden 4 ml del disolvente adecuado. Para completar la disolución, se utiliza un agitador magnético que removerá la mezcla durante 1 hora aproximadamente. Es importante cerrar bien el vial para impedir que el disolvente, que es un líquido volátil, se evapore antes de tiempo.

Una vez realizada la disolución se vierte la mezcla en una placa Petri, de unos 3 cm de diámetro. Se deja evaporando el disolvente durante un día a temperatura ambiente. Cuando se haya evaporado se asegura que no quede ningún resto de disolvente introduciendo los petris en una estufa de vacío a 50 mbar y temperatura ambiente durante tres semanas aproximadamente.

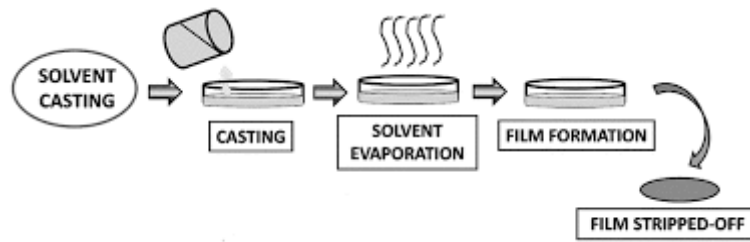


Figura 33. Método de disolución-evaporación

## 4. TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN

### 4.1. CALORIMETRÍA DIFERENCIAL DE BARRIDO (DSC)

La calorimetría diferencial de barrido (Differential Scanning Calorimetry o DSC) consiste en realizar un análisis térmico de alta sensibilidad con el propósito de conocer cómo se comporta el material cuando es sometido a cambios de temperatura. Al realizar esta técnica de caracterización se consigue una curva que determina, mediante sus picos o cambios de pendiente, propiedades físicas del material por medio de la capacidad calorífica ( $C_p$ ). En la curva que se obtiene tras realizar el análisis de DSC se pueden encontrar diversas transiciones en la muestra analizada, como el de la temperatura de transición vítrea ( $T_g$ ), la temperatura de cristalización ( $T_c$ ) y la temperatura de fusión ( $T_m$ ).

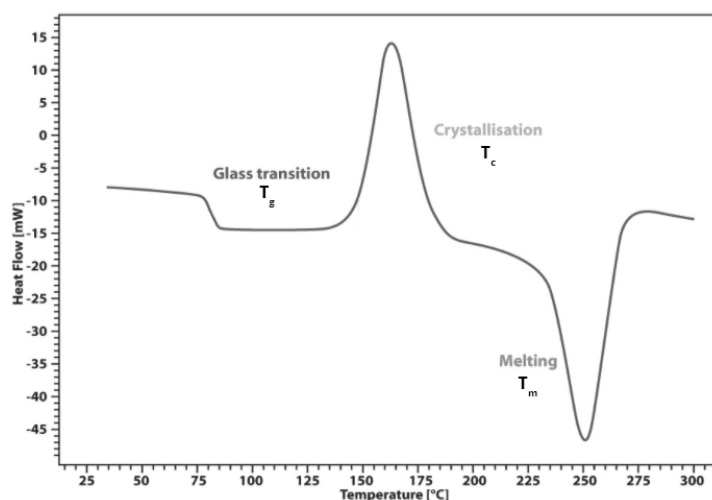


Figura 34. Termograma de DSC

La máquina que se utiliza para realizar el estudio de calorimetría está compuesta por dos capsulas muy pequeñas, en una se introduce una muestra del material a analizar y la otra se queda vacía. Para evitar la degradación temprana del material, el análisis se realiza con nitrógeno, un gas inerte. De la misma forma, el gas mejora la transmisión de calor en el interior del horno, consigue eliminar la humedad y el oxígeno, evitando que la máquina se dañe, y se obtiene mayor rapidez en las velocidades de enfriamiento. El proceso consiste en ir aumentando la temperatura de tal forma que las dos capsulas mantengan un equilibrio térmico. Cuando el polímero presenta un cambio de fase, para mantener ese equilibrio es necesario que la máquina suministre más calor (si se trata de un proceso endotérmico) o menos calor (si es exotérmico). Esa diferencia de flujo de calor que va necesitando la muestra para mantener el equilibrio térmico respecto a la capsula vacía es lo que registra la máquina para obtener posteriormente el termograma que muestra el flujo de calor frente a la temperatura [9].

En el presente estudio se va a analizar por medio de calorimetría diferencial de barrido si las mezclas realizadas entre el polímero y el fármaco presentan o no miscibilidad.

#### 4.1.1. Condiciones de ensayo

Los análisis térmicos se realizaron en un DSC Q200 Modulado de TA Instruments. Éste se complementa con el programa de adquisición de datos TA Instrument Explorer y el sistema de refrigeración. Todas las exploraciones se realizaron en recipientes herméticos de aluminio bajo atmósfera de nitrógeno con pesos de muestra entre 4 y 5 mg. Para estudiar las temperaturas de transición vítrea, se realizaron dos barridos consecutivos con una velocidad de 20°C/min, asegurando la fusión completa de la muestra. El rango de temperatura varía según las mezclas analizadas y las correspondientes  $T_g$  y  $T_m$  de los fármacos. Las temperaturas de transición vítrea ( $T_g$ ) se midieron en el segundo barrido como el punto medio del incremento de calor específico [9].



Figura 35. Equipo DSC Q200 Modulado de TA Instruments

## 5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación, se muestran los termogramas obtenidos tras realizar el DSC y fotos de los filmes de cada una de las mezclas. Se pueden observar en una de las gráficas los dos barridos tanto para las mezclas PDLLA/API como para los fármacos, y en otra de las gráficas únicamente el segundo barrido. Asimismo, en las siguientes tablas se resumen los datos obtenidos tras en el ensayo. En la *Tabla 4* se puede observar los datos teóricos de los respectivos fármacos y los obtenidos experimentalmente. De la misma manera, en la *Tabla 5* se muestran las  $T_g$  que se deberían obtener en el caso de que las mezclas fuesen miscibles, calculadas mediante la ecuación de Fox, y los datos obtenidos en el ensayo. En algunos casos no se han especificado algunas  $T_m$  experimentales (marcadas mediante una "X"), ya que hay fármacos, como la catequina o la dihidromiricetina, muy susceptibles a la degradación.

*Tabla 4. Valores teóricos y experimentales de los respectivos fármacos*

Fármaco	$T_{g \text{ teo}}$ (°C)	$T_{g \text{ exp}}$ (°C)	$T_{m \text{ teo API}}$ (°C)	$T_{m \text{ exp API}}$ (°C)
5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona	17,70	-	163,00	X
Ácido trans-cinámico	-1,00	-	135,00	136,33
Esclareol	-24,30	36,60	100,00	104,47
Ácido salicílico	15,00	10,64	159,00	129,57
(+/-) - Isoborneol	51,67	-	214,00	214,00
$\beta$ -Tuyaplicina	56,33	-61,10	52,00	52,00
8-Hidroxiquinoleína	42,33	-	73,00	73,00
Ácido valílico	49,00	-	210,00	213,81
Ácido p-cumárico	51,70	57,95	214,00	226,57
Ácido trans-ferúlico	23,70	-	172,00	175,44
Ácido succínico	33,00	-	186,00	191,73
Ácido gálico	76,30	-	251,00	X
Ácido cafeico	51,00	85,24	213,00	X
Ácido cólico	43,00	112,74	201,00	174,17
Ácido tánico	54,30	165,60	218,00	198,65
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	42,30	-	200,00	206,21
3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo	44,30	-	203,00	206,16
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	47,67	-	208,00	206,97
Isoliquiritigenina	49,00	42,67	210,00	187,82
Dihidromiricetina	73,00	19,51	246,00	X
Metronidazol	16,33	-	161,00	163,60
Doxiciclina	21,00	79,20	168,00	X
Sulfanilamida	19,67	-	166,00	166,67
Pirazinamida	36,33	-	191,00	193,61
(+) - Catequina	27,00	62,92	177,00	X
Metilhidroquinona	4,33	-	130,00	131,27
Ácido elágico	149,00	90,14	360,00	X

Tabla 5. Valores teóricos y experimentales de las respectivas mezclas PDLLA/API

MEZCLA PDLLA/API	T <sub>g</sub> teo (°C)	T <sub>g</sub> exp (°C)	T <sub>m</sub> exp API (°C)
5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona	27,85	28,84	137,80
Ácido trans-cinámico	15,56	29,36	130,83
Esclareol	36,18	18,82 – 37,71	98,33
Ácido salicílico	22,66	24,20	-
(+/-) - Isoborneol	43,20	37,13	-
β-Tuyaplicina	-22,87	20,28	-
8-Hidroxiquinoleína	39,80	11,14	68,31
Ácido valílico	41,30	28,56	195,74
Ácido p-cumárico	45,54	30,66	X
Ácido trans-ferúlico	28,43	26,12	167,63
Ácido succínico	34,05	-	184,80
Ácido gálico	53,48	41,16	X
Ácido cafeico	57,85	37,69	X
Ácido cólico	71,55	30,24	-
Ácido tánico	88,93	35,09	-
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	39,95	28,17	191,43
3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo	38,89	-	194,28
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	40,85	-	192,14
Isoliquiritigenina	39,49	44,69	-
Dihidromiricetina	26,11	38,85	X
Metronidazol	23,88	28,12	159,27
Doxiciclina	56,32	20,47	130,66
Sulfanilamida	26,53	34,87	161,21
Pirazinamida	36,35	-	188,25
(+) - Catequina	49,33	33,58	X
Metilhidroquinona	19,02	-14,64	111,05
Ácido elágico	61,16	30,90	187,59

En la *Figura 36* se puede apreciar que la T<sub>g</sub> obtenida del PDLLA es de 37°C, dato que debe ser conocido, como se ha mencionado anteriormente, para calcular mediante la ecuación de Fox el valor teórico de la T<sub>g</sub> en el caso de que las mezclas fuesen miscibles.

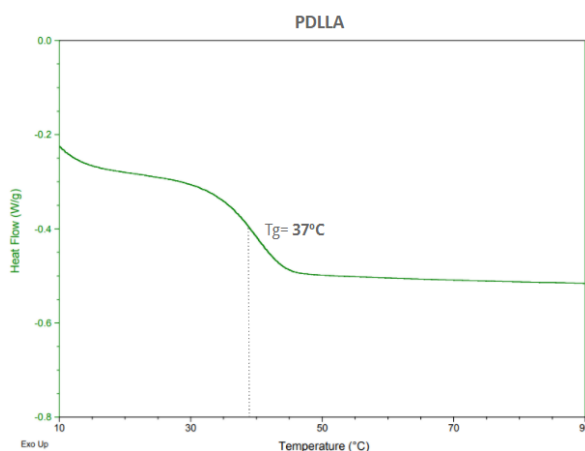


Figura 36. Segundo barrido PDLLA

## 5.1. MEZCLAS INMISCIBLES

De los 28 fármacos estudiados únicamente 6 han mostrado miscibilidad parcial. Primero de todo se analizarán de forma general aquellos fármacos descartados por no mostrar miscibilidad.

En las siguientes imágenes se muestran los termogramas correspondientes a los sistemas inmiscibles y sus correspondientes fármacos:

- **Ácido 2,5-dihidroxibenzoico**

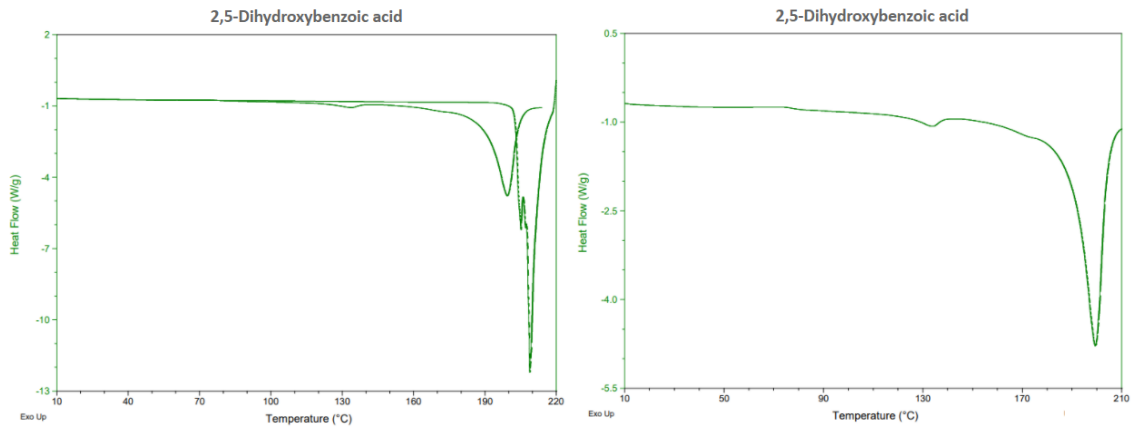


Figura 37. Termograma ácido 2,5-dihidroxibenzoico, dos barridos (izquierda)

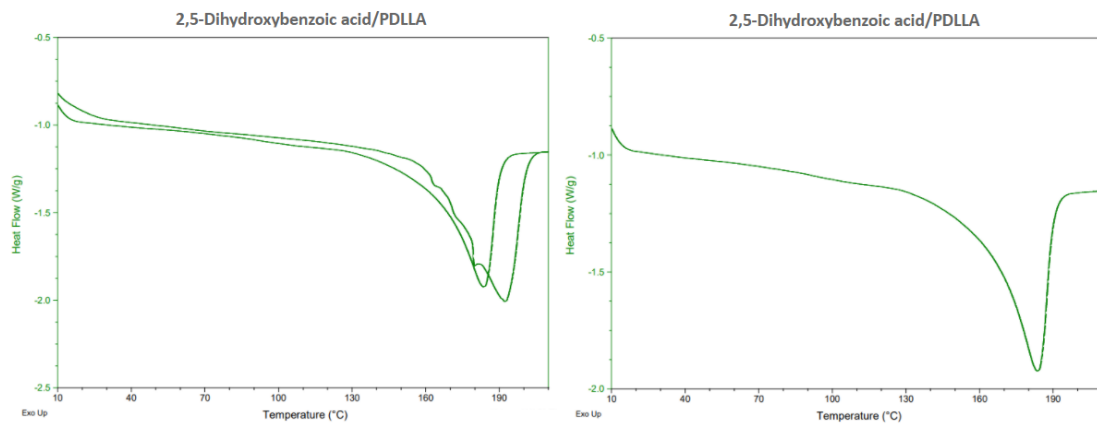


Figura 38. Termograma de la mezcla ácido 2,5-dihidroxibenzoico/PDLLA, dos barridos (izquierda)



Figura 39. Filme obtenido de la mezcla ácido 2,5-dihidroxibenzoico/PDLLA



○ 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona

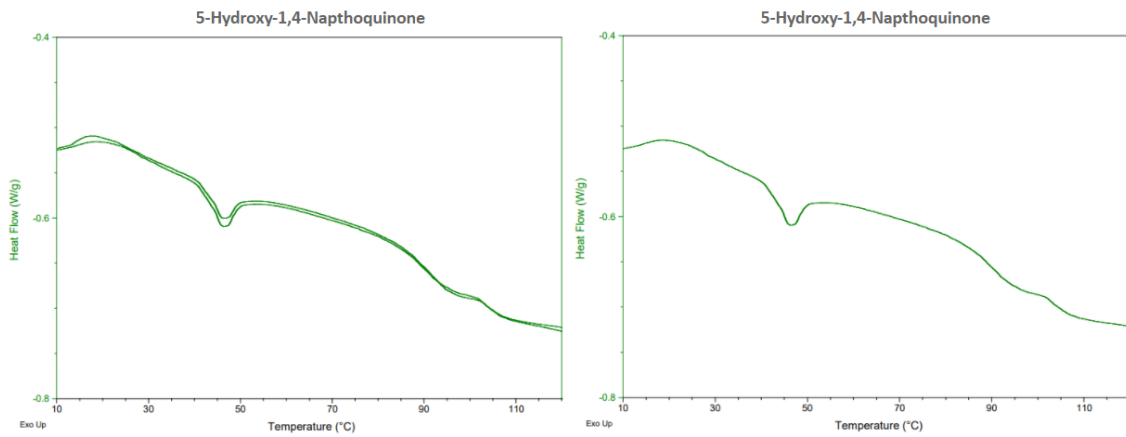


Figura 40. Termograma 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

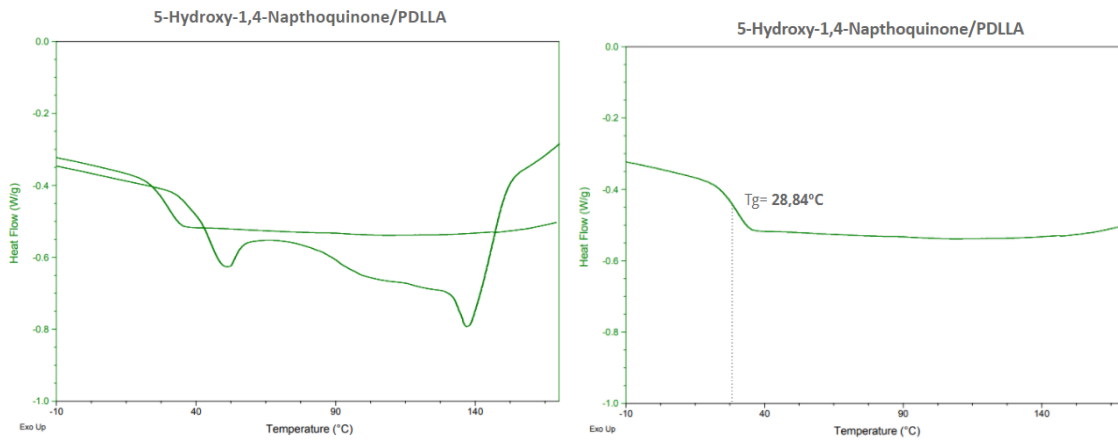
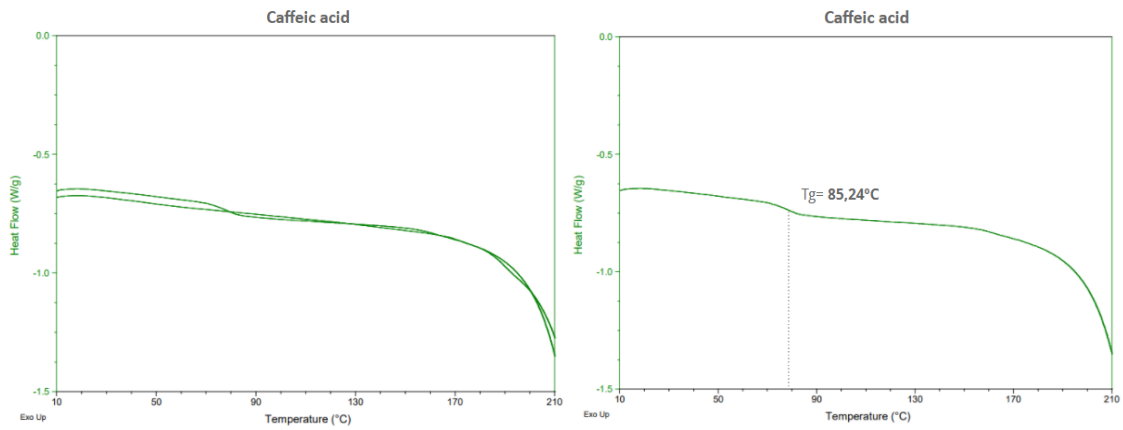


Figura 41. Termograma 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

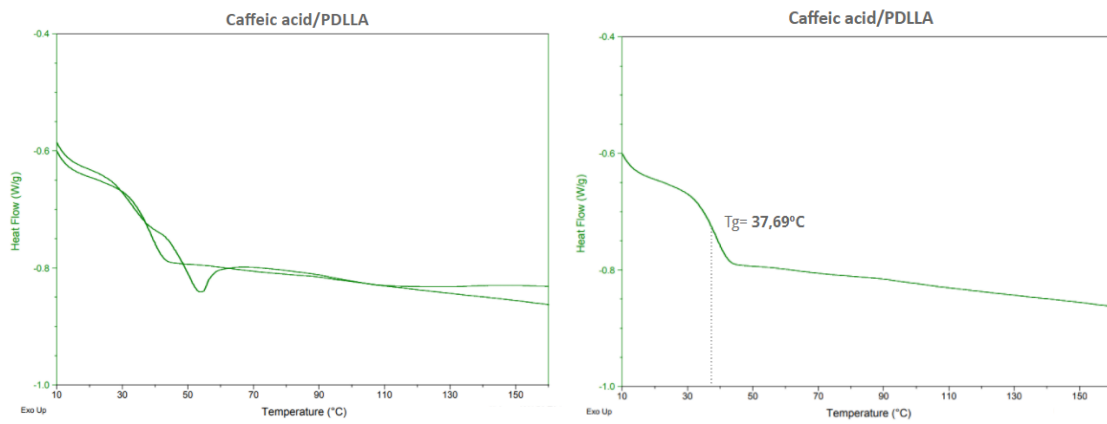


Figura 42. Filme obtenido de la mezcla 5-Hidroxi-1,4-Naftoquinona/PDLLA

○ **Ácido cafeico**



**Figura 43.** Termograma ácido cafeico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



**Figura 44.** Termograma ácido cafeico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



**Figura 45.** Filme obtenido de la mezcla ácido cafeico/PDLLA

○ (+) - Catequina

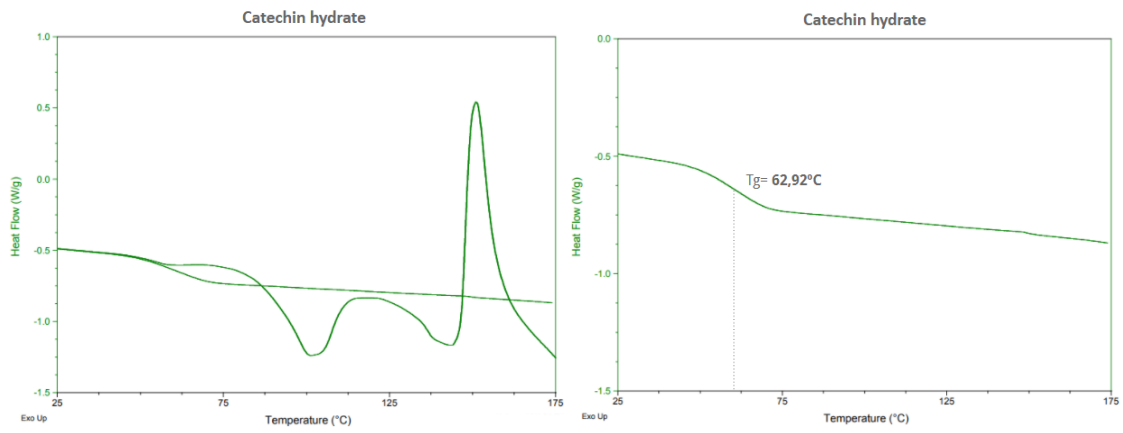


Figura 46. Termograma (+) - catequina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

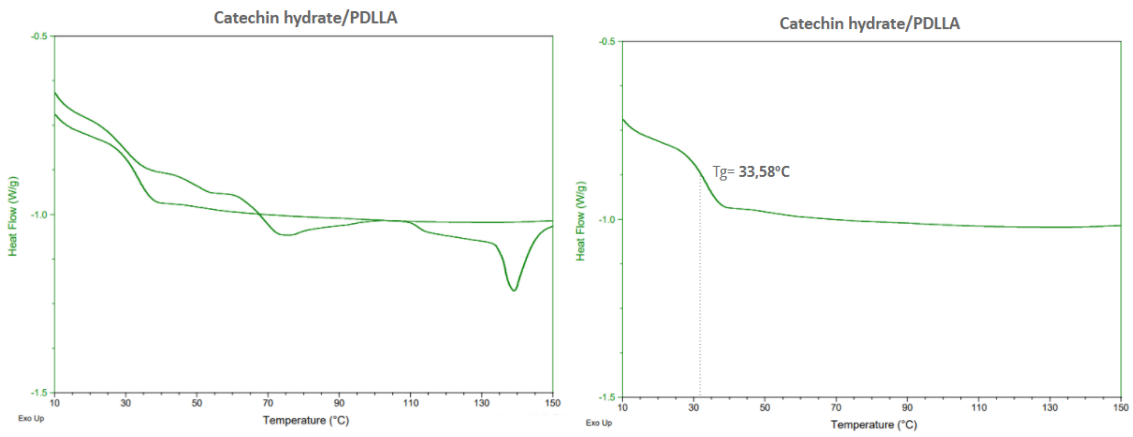


Figura 47. Termograma (+) - catequina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 48. Filme obtenido de la mezcla (+) - catequina/PDLLA

○ Ácido cólico

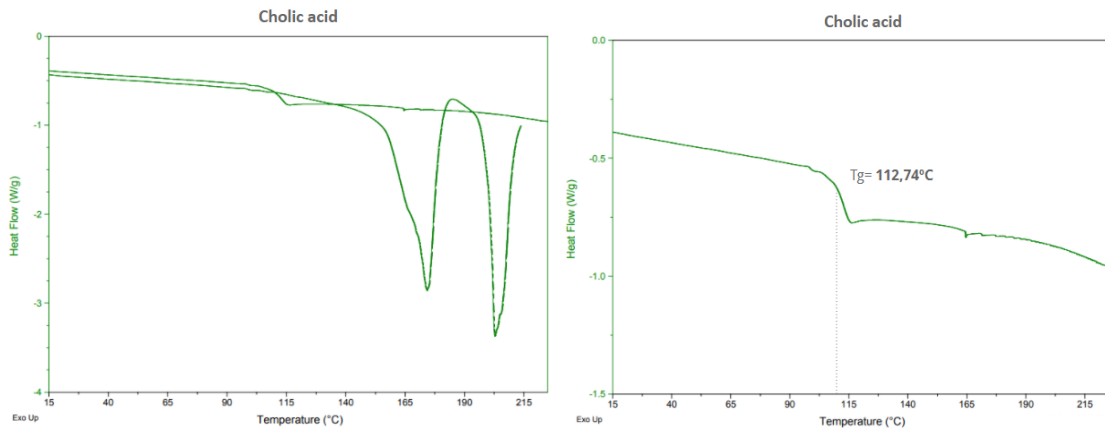


Figura 49. Termograma ácido cólico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

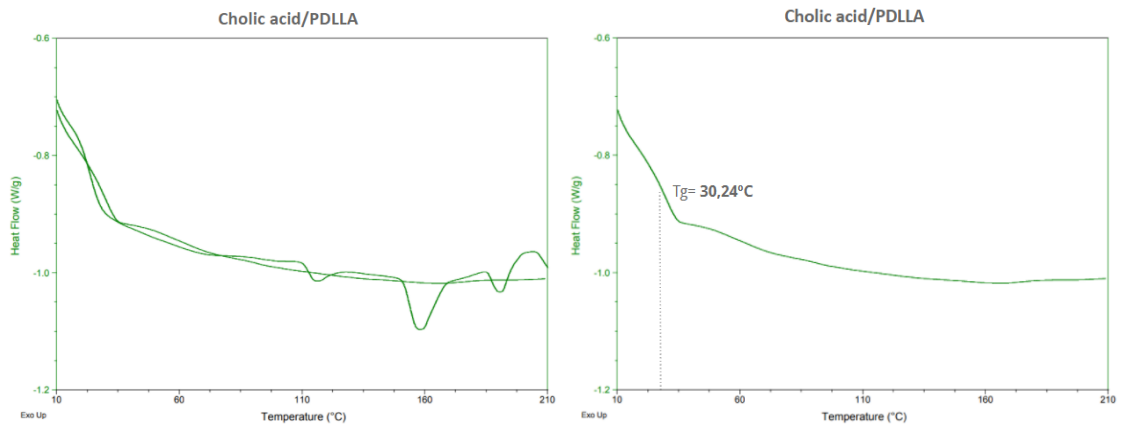


Figura 50. Termograma ácido cólico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

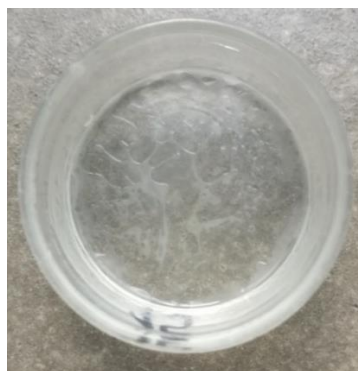


Figura 51. Filme obtenido de la mezcla ácido cólico/PDLLA

○ Ácido *p*-cumárico

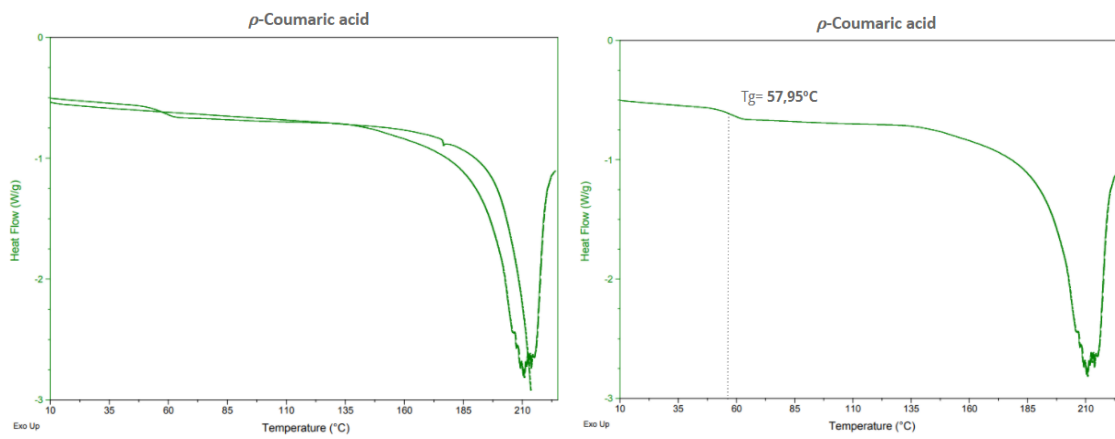


Figura 52. Termograma ácido *p*-cumárico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

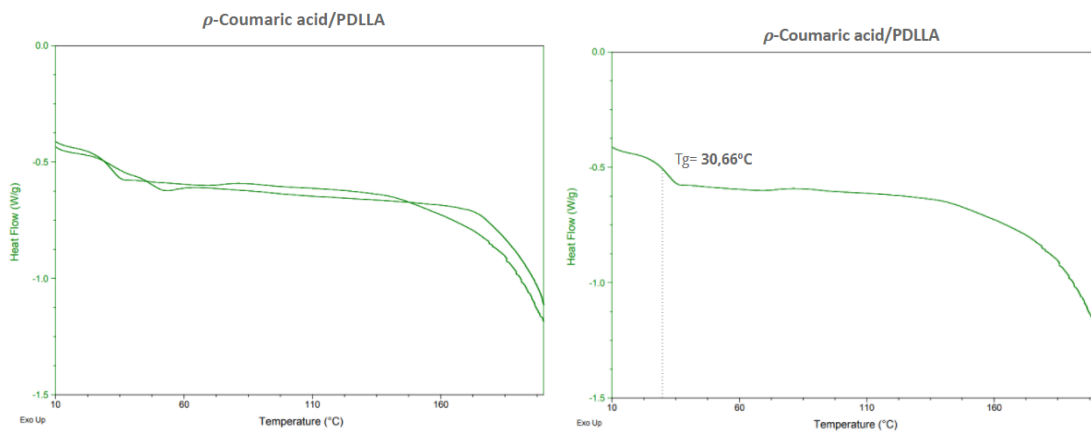


Figura 53. Termograma ácido *p*-cumárico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 54. Filme obtenido de la mezcla ácido *p*-cumárico/PDLLA

○ Dihidromiricetina

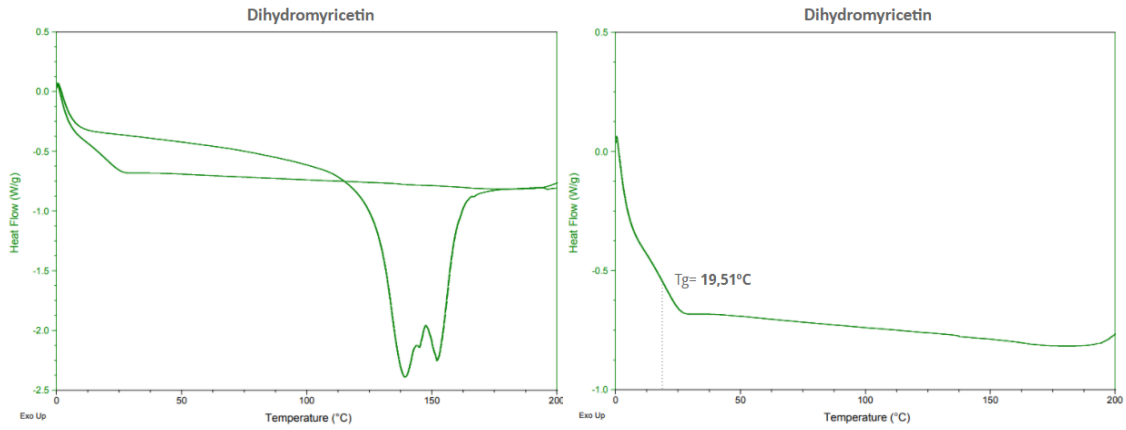


Figura 55. Termograma dihidromiricetina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

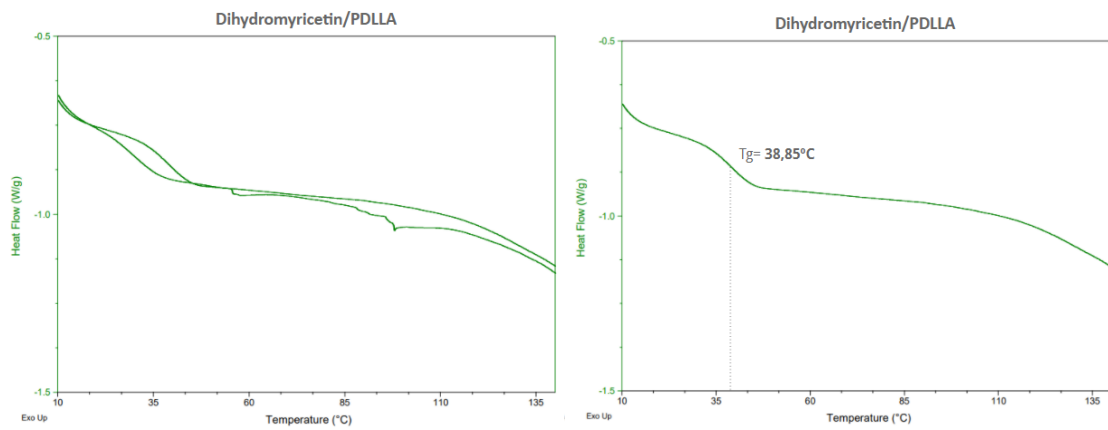


Figura 56. Termograma dihidromiricetina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

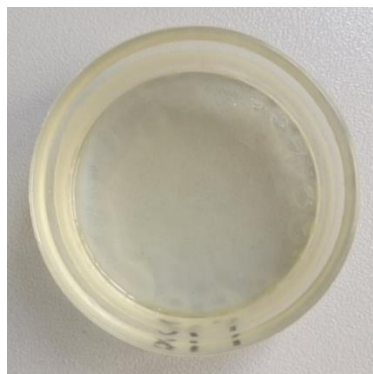


Figura 57. Filme obtenido de la mezcla dihidromiricetina/PDLLA

○ Doxiciclina

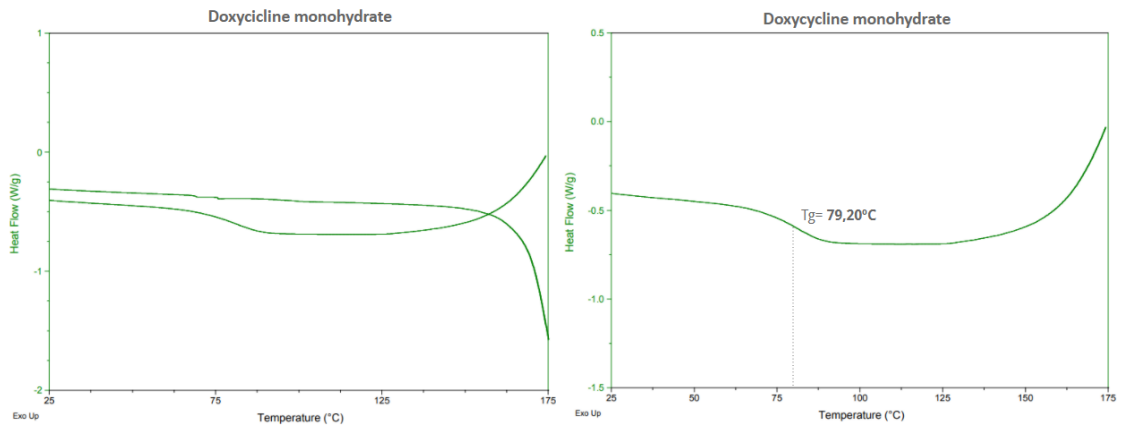


Figura 58. Termograma doxiciclina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

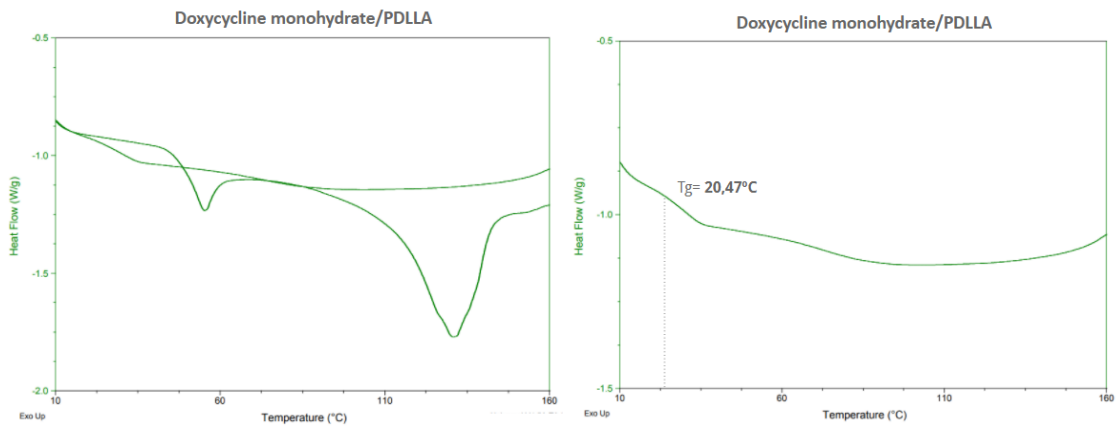


Figura 59. Termograma doxiciclina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

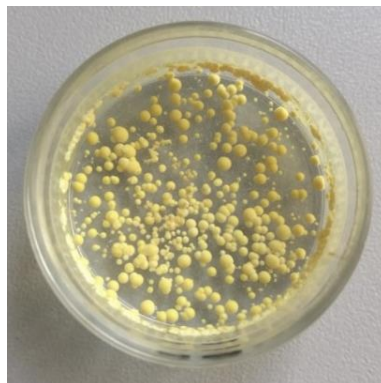


Figura 60. Filme obtenido de la mezcla doxiciclina/PDLLA

○ Ácido elágico

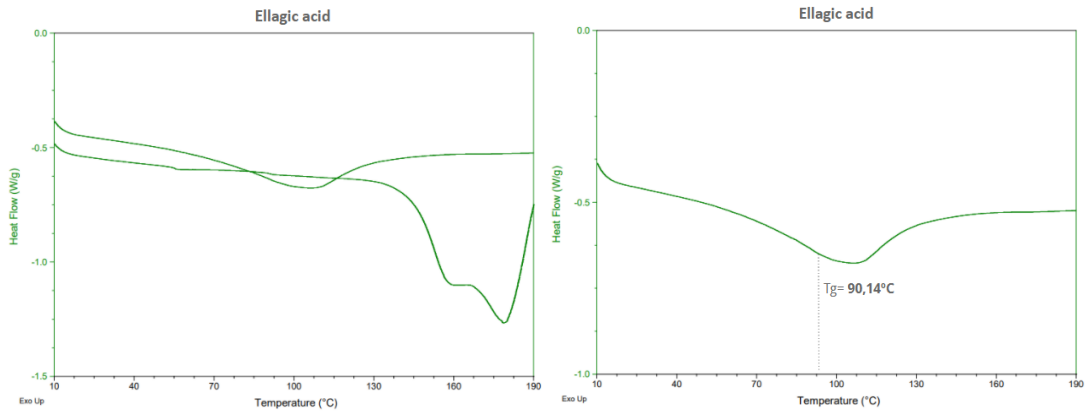


Figura 61. Termograma ácido elágico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

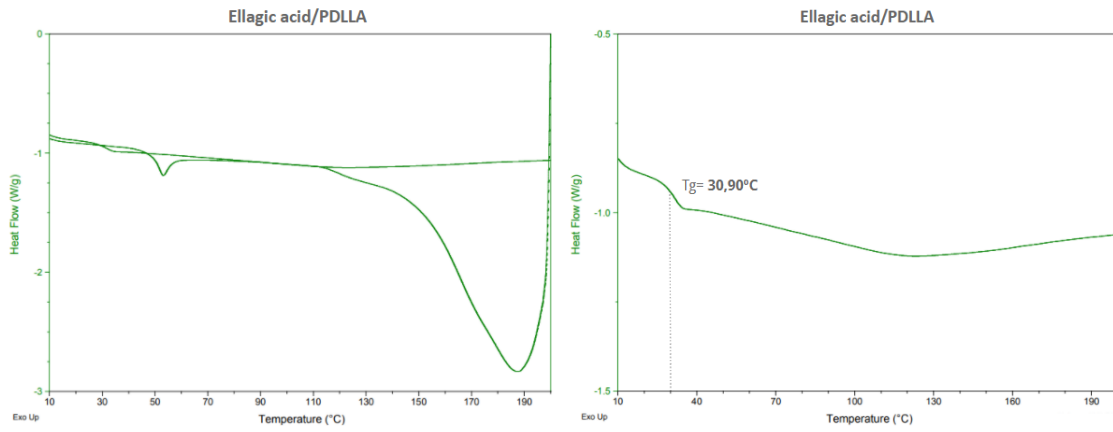


Figura 62. Termograma ácido elágico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 63. Filme obtenido de la mezcla ácido elágico/PDLLA



○ Ácido gálico

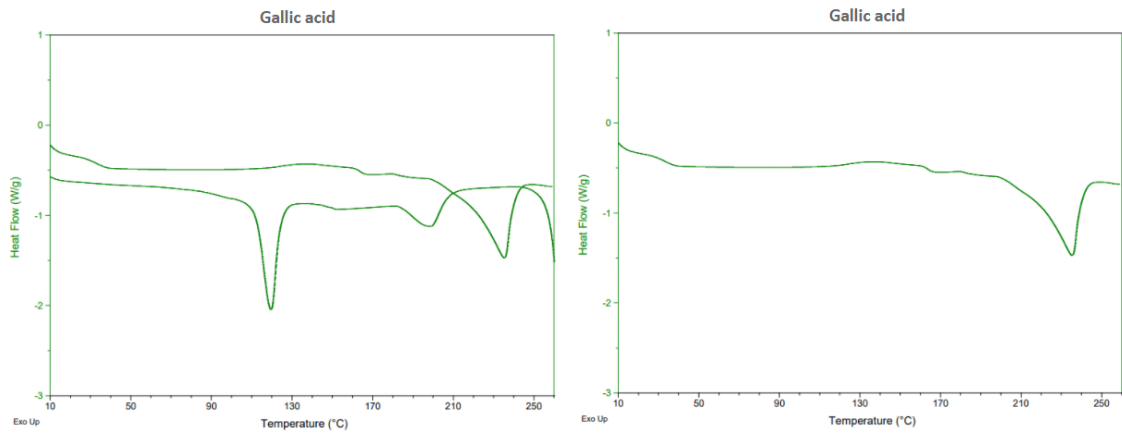


Figura 64. Termograma ácido gálico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

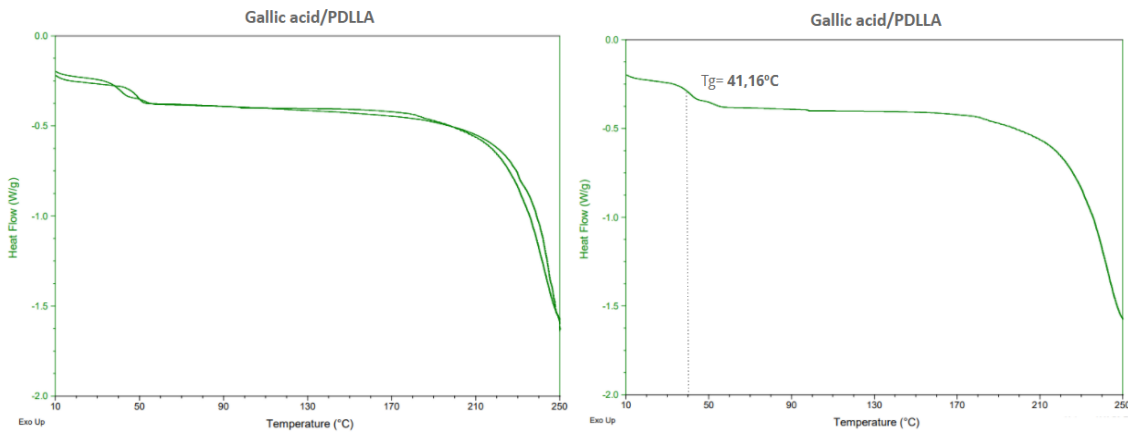


Figura 65. Termograma ácido gálico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 66. Filme obtenido de la mezcla ácido gálico/PDLLA

○ (+/-)-Isoborneol

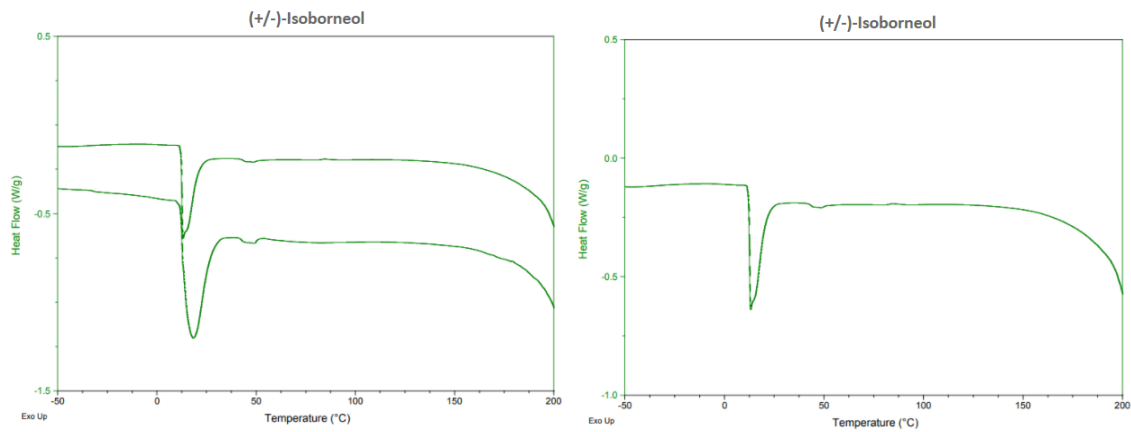


Figura 67. Termograma (+/-)-Isoborneol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

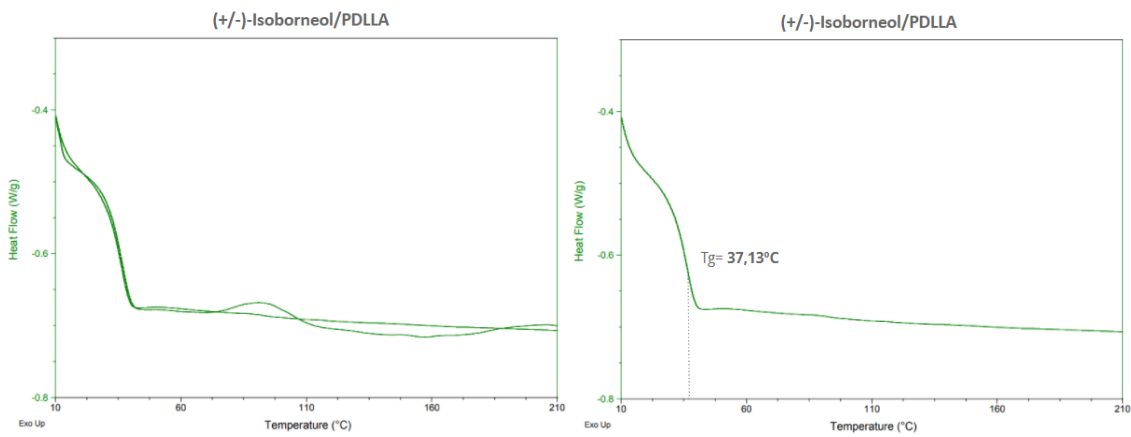


Figura 68. Termograma (+/-)-Isoborneol/PDLLA, dos barridos (izquierda) y segundo barrido (derecha)



Figura 69. Filme obtenido de la mezcla (+/-)-Isoborneol/PDLLA

○ 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo

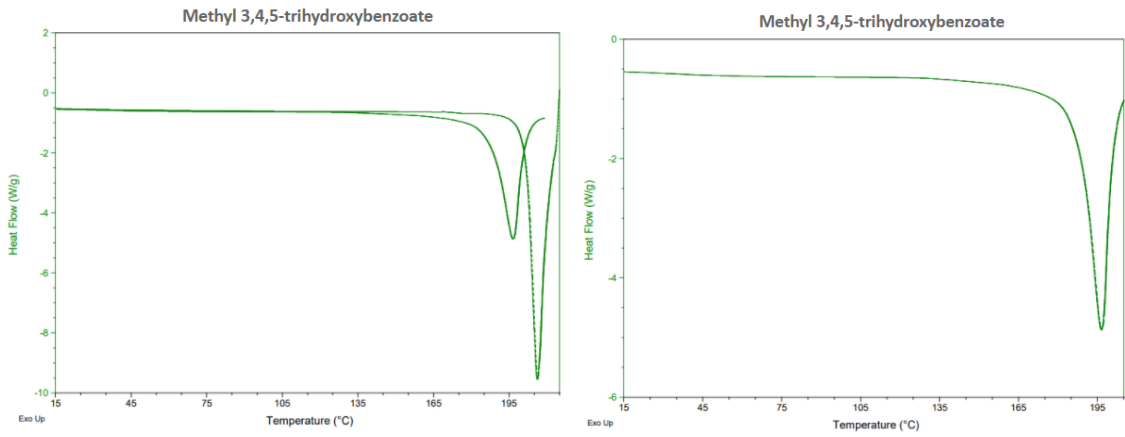


Figura 70. Termograma 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

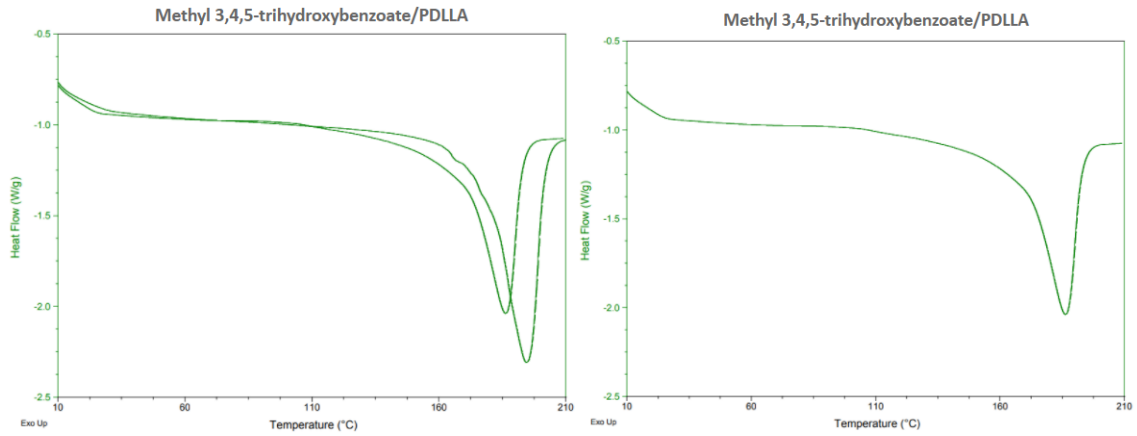


Figura 71. Termograma 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 72. Filme obtenido de la mezcla 3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo/PDLLA

○ Metronidazol

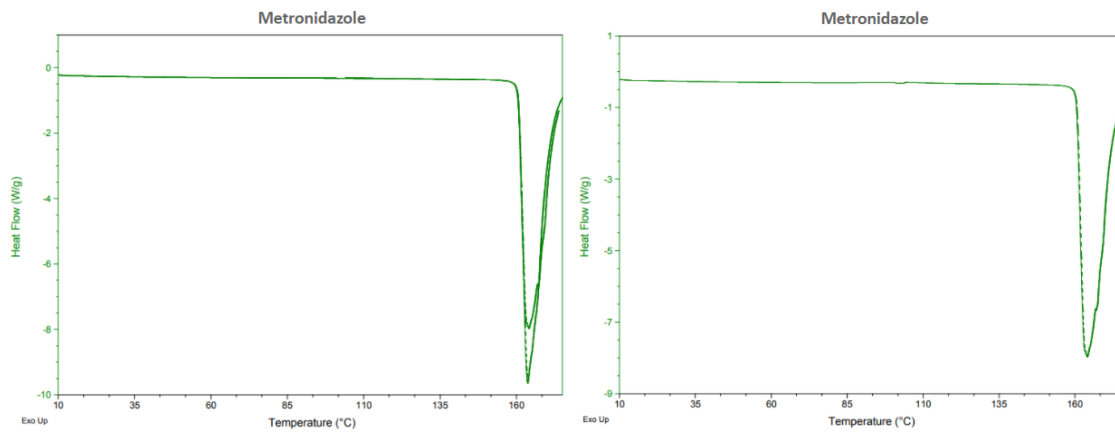


Figura 73. Termograma metronidazol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

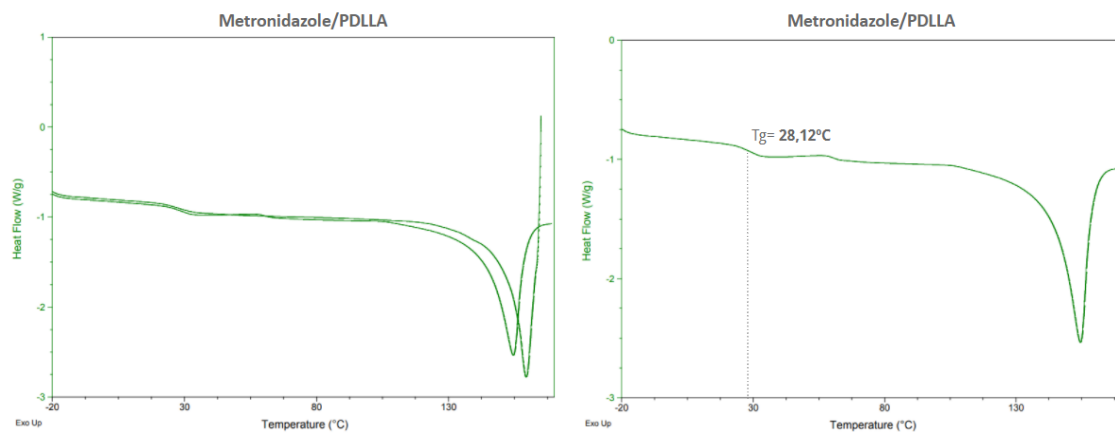


Figura 74. Termograma metronidazol/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 75. Filme obtenido de la mezcla metronidazol/PDLLA

○ Pirazinamida

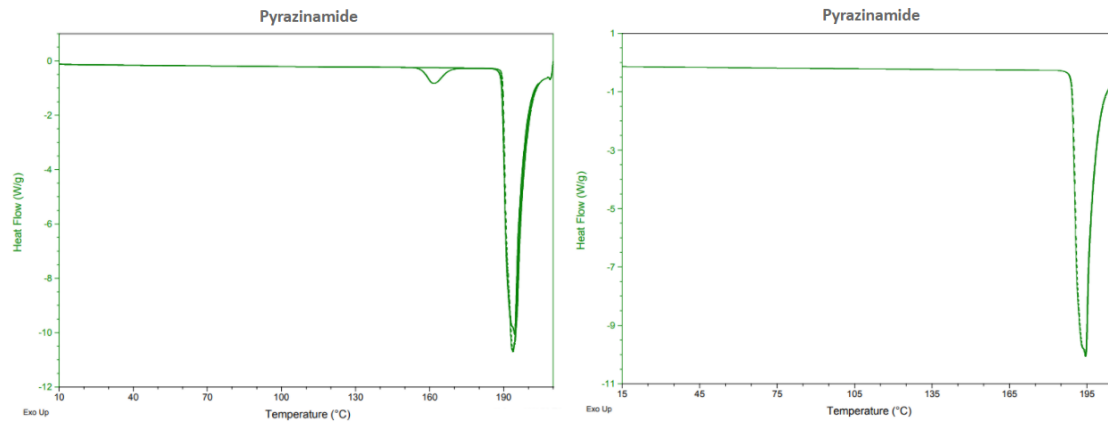


Figura 76. Termograma pirazinamida, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

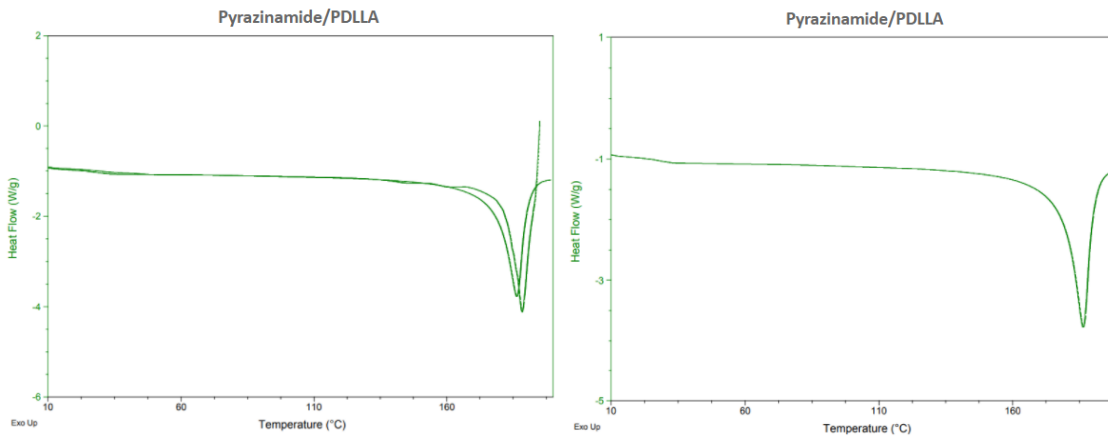


Figura 77. Termograma pirazinamida/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 78. Filme obtenido de la mezcla pirazinamida/PDLLA

○ Ácido succínico

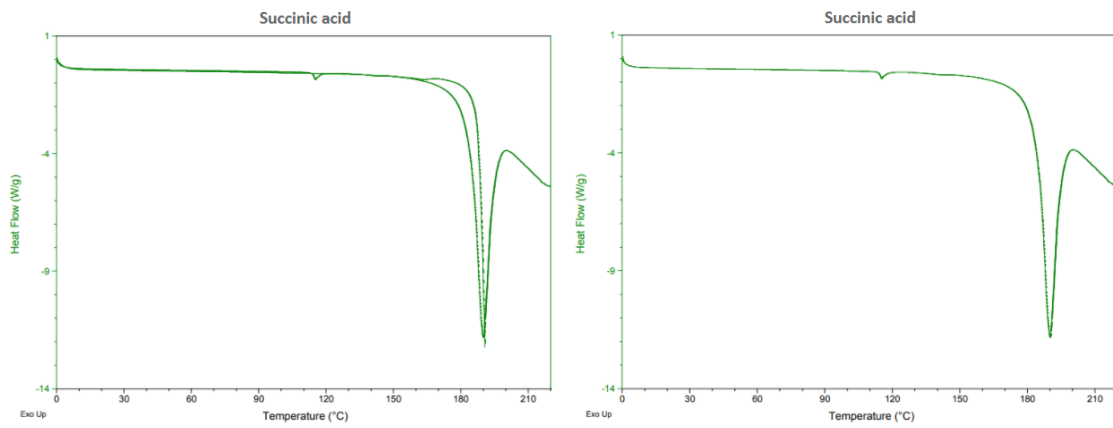


Figura 79. Termograma ácido succínico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

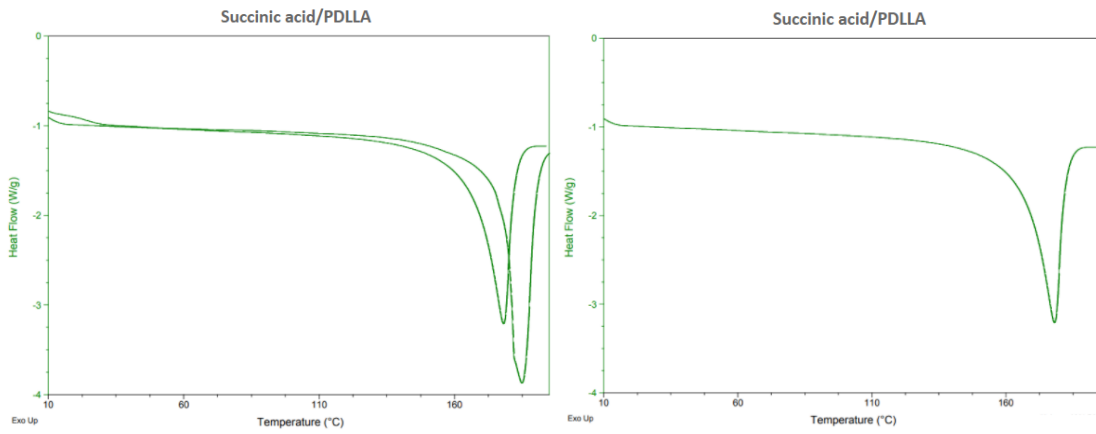


Figura 80. Termograma ácido succínico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 81. Filme obtenido de la mezcla ácido succínico/PDLLA

○ Sulfanilamida

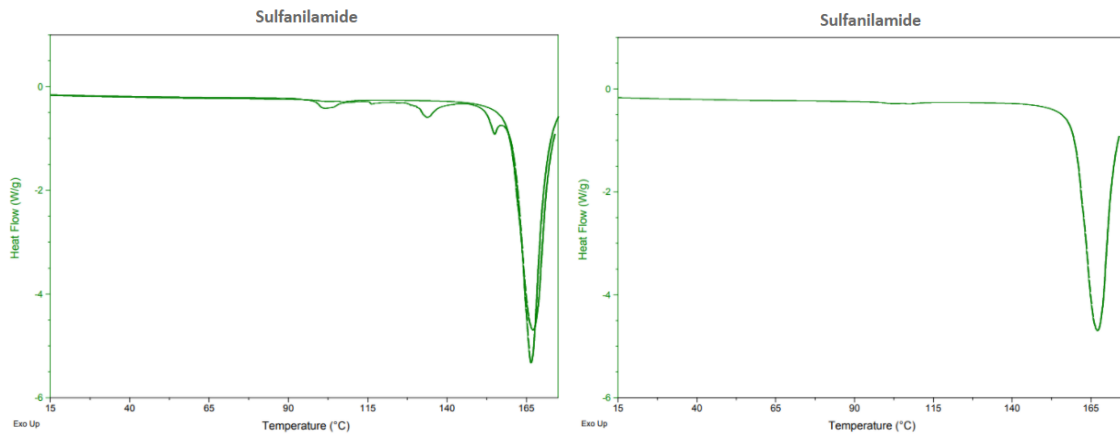


Figura 82. Termograma sulfanilamida, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

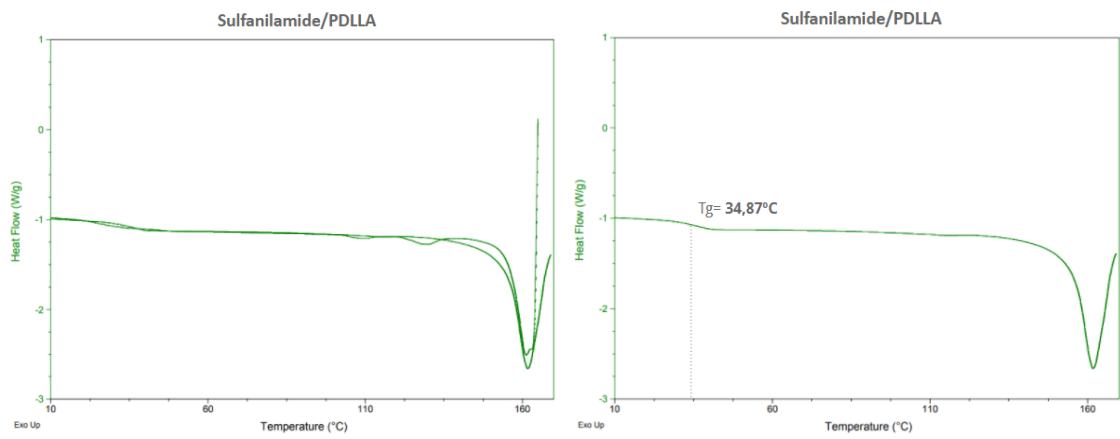


Figura 83. Termograma sulfanilamida/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 84. Filme obtenido de la mezcla sulfanilamida/PDLLA

○ Ácido tánico

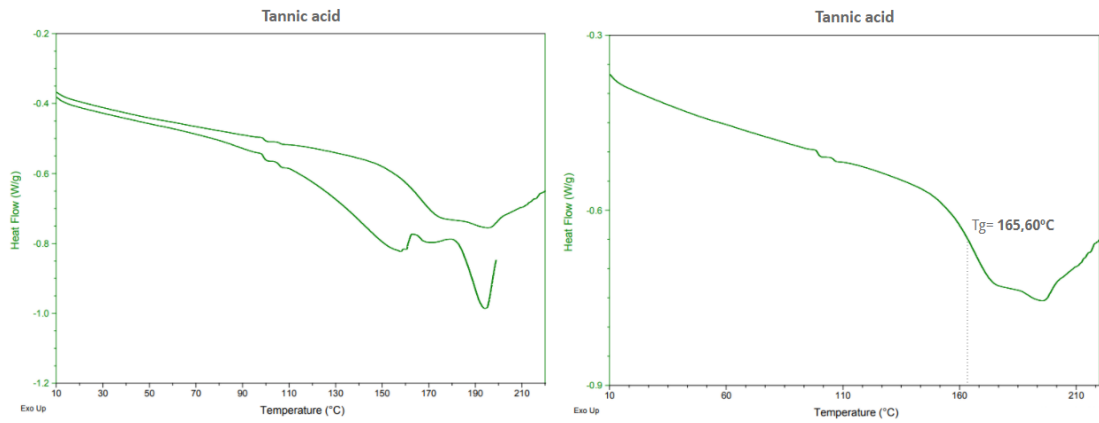


Figura 85. Termograma ácido tánico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

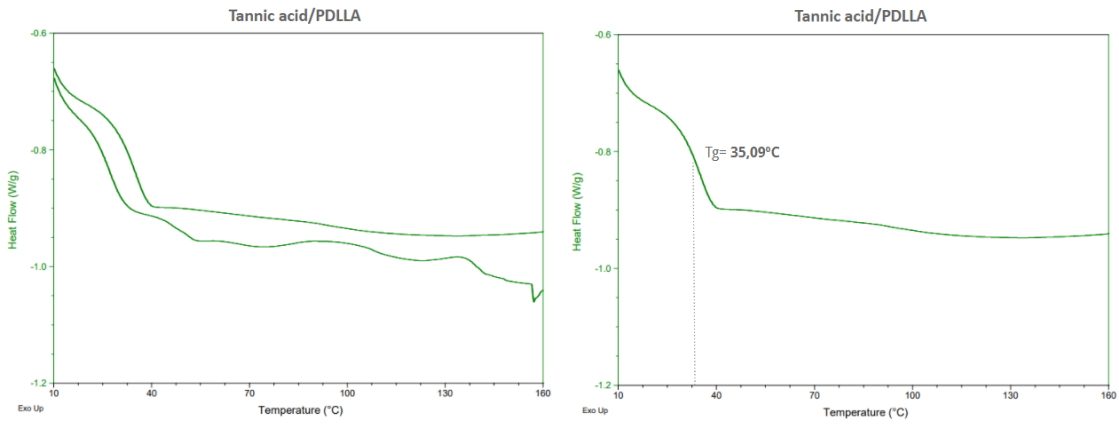


Figura 86. Termograma ácido tánico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 87. Filme obtenido de la mezcla ácido tánico/PDLLA



○ Ácido trans-cinámico

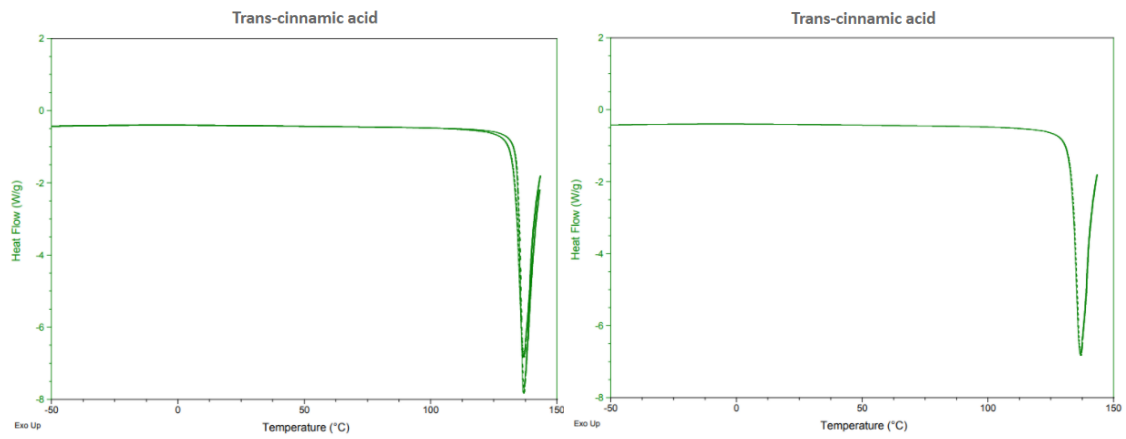


Figura 88. Termograma ácido trans-cinámico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

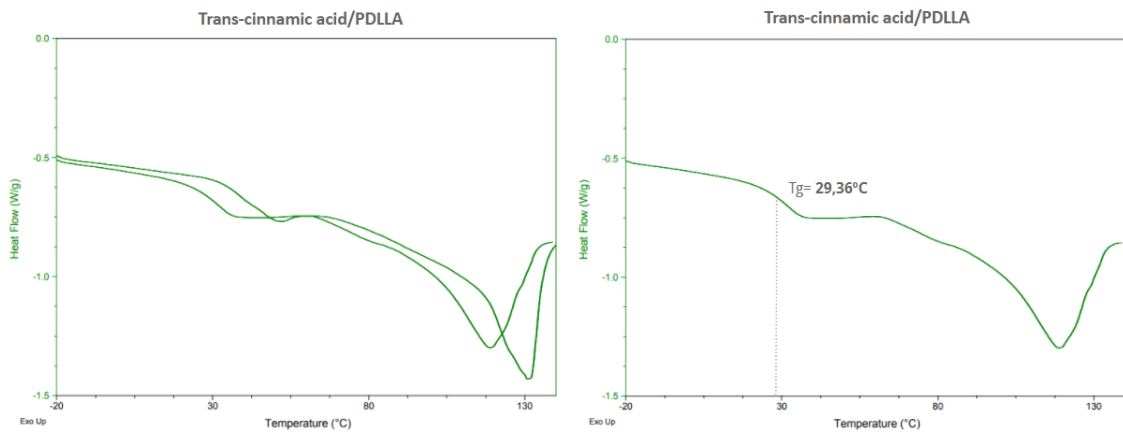


Figura 89. Termograma ácido trans-cinámico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 90. Filme obtenido de la mezcla ácido trans-cinámico/PDLLA

○ Ácido trans-ferúlico

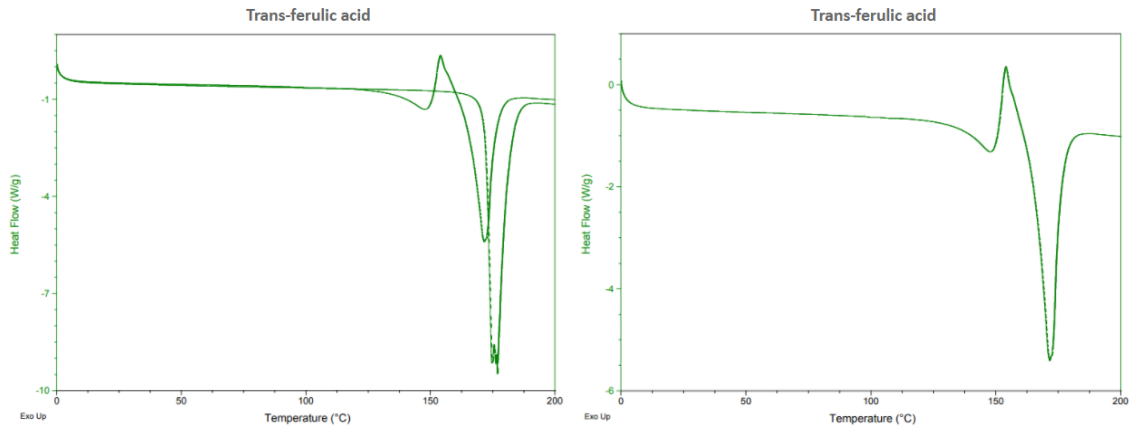


Figura 91. Termograma ácido trans-ferúlico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

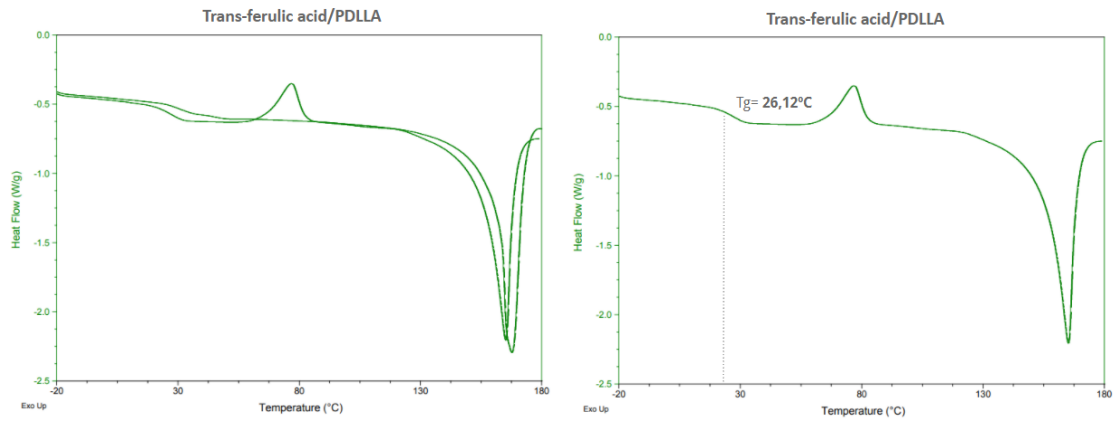


Figura 92. Termograma ácido trans-ferúlico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 93. Filme obtenido de la mezcla ácido trans-ferúlico/PDLLA

○ Isoliquiritigenina

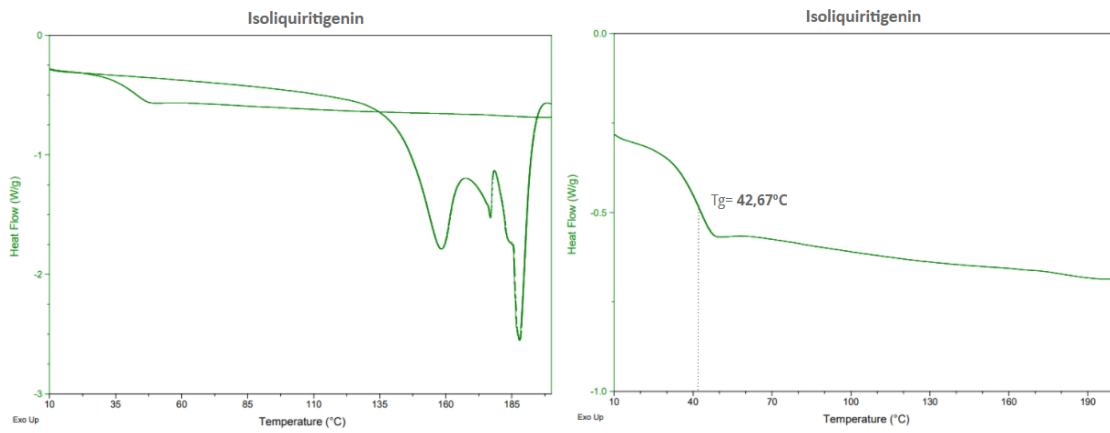


Figura 94. Termograma isoliquiritigenina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

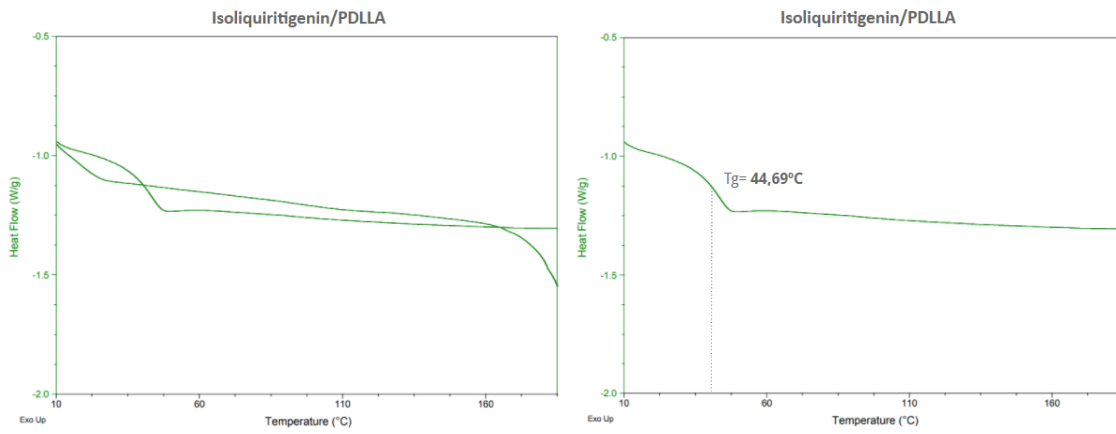


Figura 95. Termograma isoliquiritigenina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 96. Filme obtenido de la mezcla isoliquiritigenina/PDLLA

○ Esclareol

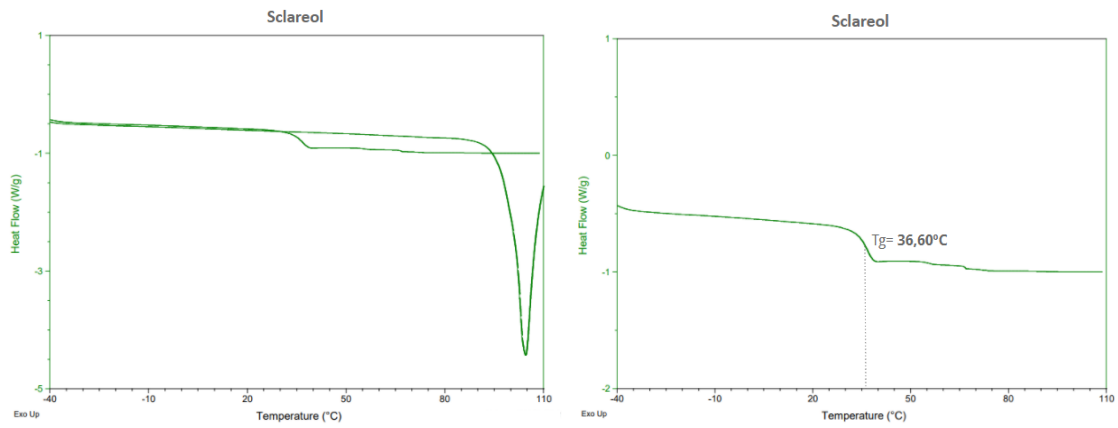


Figura 97. Termograma esclareol, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

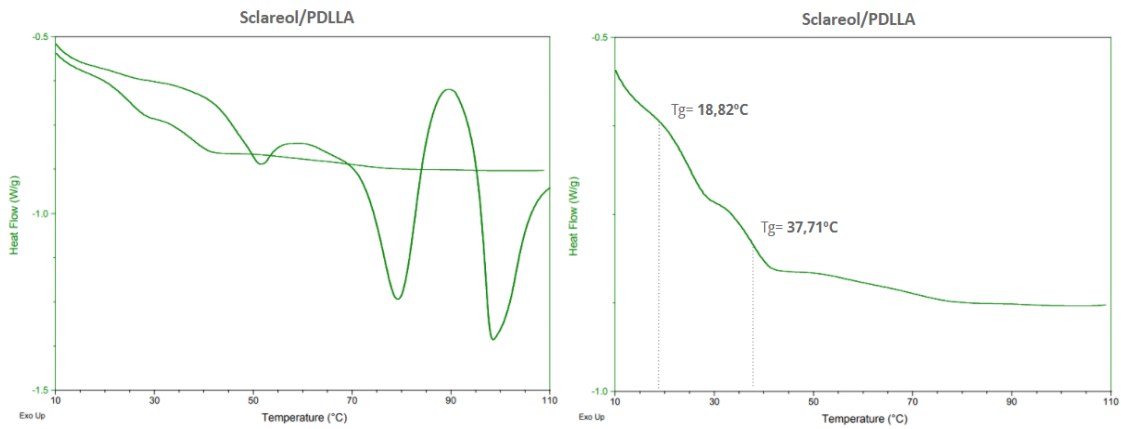


Figura 98. Termograma esclareol/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 99. Filme obtenido de la mezcla esclareol/PDLLA

Estas mezclas se han descartado por varios motivos. En alguno de los casos debido a no haber ningún movimiento de  $T_g$  y la  $T_m$  se mantiene constante, como en el caso de la pirazinamida (*Figura 76 Y Figura 77*), la cual tiene una  $T_m$  de 193°C y la mezcla 188°C. En el caso de la sulfanilamida (*Figura 82 y Figura 83*), la mezcla tiene una  $T_m$  de 161°C y el fármaco puro de 166°C.

Por otro lado, el filme macroscópicamente también aporta información, incluso en alguno de las muestras es muy clara y evidente la separación de fases, como en el ácido cinámico (*Figura 90*), en la doxiciclina (*Figura 60*) o en el ácido cafeico (*Figura 45*), entre muchos otros.

Se debe remarcar que muchas  $T_g$  de los principios activos son similares a la del PDLLA, por lo que en algunos casos es difícil deducir mediante DSC si hay o no miscibilidad, ya que pueden haberse solapado ambas  $T_g$  por ser muy cercanas.

Por otra parte, algunos compuestos han podido degradarse durante el calentamiento del primer barrido. Por lo tanto, los resultados obtenidos en el segundo barrido no son muy fiables, ya que no se permite una comparación adecuada entre el fármaco y la mezcla. Un ejemplo podría ser la isoliquiritigenina, el barrido realizado en el compuesto puro (*Figura 94*) muestra una serie de picos muy característicos que podrían indicar que se ha producido una degradación térmica. Sin embargo, podría tratarse de un compuesto parcialmente miscible debido a la homogeneidad del filme y los resultados obtenidos en el termograma referente a la mezcla, ya que se observa  $T_g$  a 44°C y la  $T_g$  teórica si se tratase de una mezcla miscible debería ser cercana a 39°C. También es el caso de la dihidromiricetina, la cual muestra otro pico de fusión muy característico en torno a los 150°C (*Figura 55*) a una temperatura inferior a la que debería producirse (256°C). Al igual que la isoliquiritigenina, el filme obtenido de la mezcla dihidromiricetina + PDLLA (*Figura 56*) es aparentemente homogéneo, sin embargo, esta vez no está tan clara la posible miscibilidad parcial, ya que la  $T_g$  obtenida en la mezcla (38°C) podría tratarse de la  $T_g$  del PDLLA (*Figura 36*).

En otros compuestos, como en el esclareol (*Figura 97 y Figura 98*), a pesar de que el filme es homogéneo (*Figura 99*), no es tan clara la evidencia en los termogramas como para catalogar la mezcla como parcialmente miscible. La  $T_g$  del fármaco puro es 36°C, la del PDLLA es muy cercana, 37°C, con lo cual, la  $T_g$  de la mezcla debería estar entre los 36-37°C. Sin embargo, en el termograma se pueden apreciar dos pendientes, una a los 18°C y otra a los 37°C. Además, los picos del primer barrido podrían indicar una posible degradación, por lo que el análisis de la temperatura de transición vítrea por DSC no es concluyente con respecto al comportamiento de miscibilidad de las mezclas.

Como se puede observar, muchos de los fármacos son susceptibles a la degradación térmica, como puede ser el caso de la doxiciclina (*Figura 58*), la cual degrada al fundir, por lo que es importante no alcanzar la fusión al menos durante el primer barrido. La catequina (*Figura 46*), a pesar de que tiene el punto de fusión a 177°C, a partir de los 160°C se degrada. O la dihidromiricetina (*Figura 55*), que funde a 246°C, pero a partir de 210°C se produce la degradación del compuesto.

## 5.2. MEZCLAS PARCIALMENTE MISCIBLES

Las siguientes gráficas pertenecen a aquellos fármacos catalogados como parcialmente miscibles, los cuales habría que seguir investigando, utilizando diferentes técnicas o cambiando las proporciones fármaco/polímero con el fin de comprender mejor cuál es el comportamiento de estas mezclas. A continuación, se van a analizar los resultados obtenidos fármaco a fármaco.

○ Metilhidroquinona

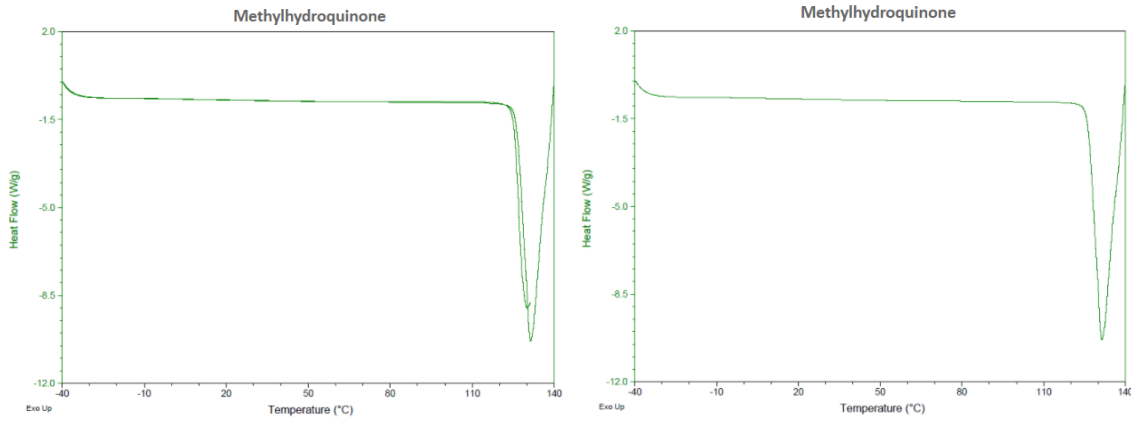


Figura 100. Termograma metilhidroquinona, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

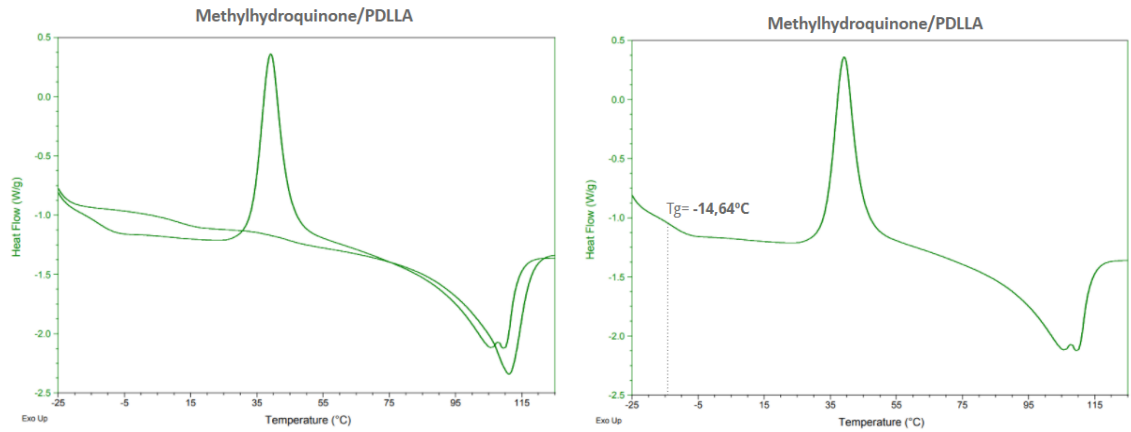


Figura 101. Termograma metilhidroquinona/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

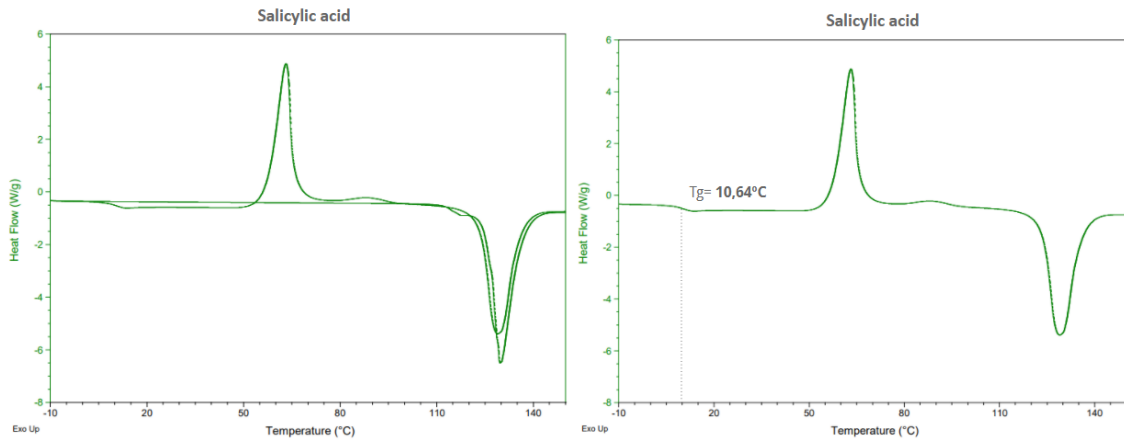


Figura 102. Filme obtenido de la mezcla metilhidroquinona/PDLLA

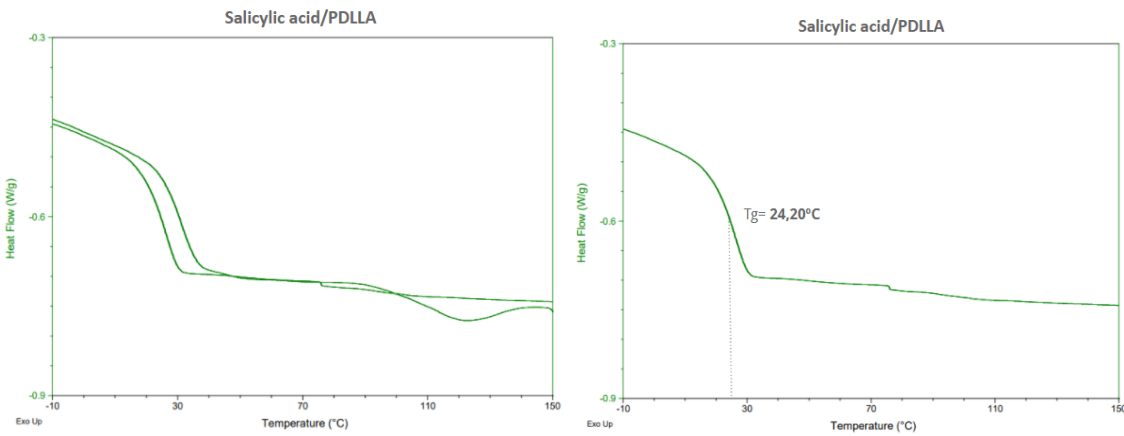
En el caso de la mezcla de metilhidroquinona + PDLLA, el termograma (Figura 101) muestra una  $T_g$  a  $-16,64^\circ\text{C}$ , la cual no es la esperada según la ecuación de Fox ( $19^\circ\text{C}$ ), teniendo en cuenta que la  $T_g$  teórica del fármaco es  $4^\circ\text{C}$  a pesar de que en el termograma (Figura 100) no se observa ninguna.

Sin embargo, la  $T_m$  se desplaza 20°C, desde 131°C en el fármaco hasta 111°C en la mezcla, lo que puede indicar miscibilidad parcial en el sistema. No obstante, se puede apreciar un claro pico de cristalización, por lo que parece, el PDLLA puede haber disuelto parte del fármaco, pero el exceso cristaliza durante el segundo barrido entre 30-50°C.

○ **Ácido salicílico**



**Figura 103.** Termograma ácido salicílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



**Figura 104.** Termograma ácido salicílico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



**Figura 105.** Filme obtenido de la mezcla ácido salicílico/PDLLA

El compuesto puro de ácido salicílico (*Figura 103*) muestra un claro pico de cristalización a los 60°C en el segundo barrido, lo que indica cierta tendencia del fármaco a cristalizar. Sin embargo, en las gráficas correspondientes a la mezcla (*Figura 104*) no se observa ningún pico de cristalización, por lo que se puede suponer que el polímero está impidiendo el reordenamiento.

Asimismo, el ácido salicílico funde a una temperatura de 129°C, no obstante, en el termograma referente a la mezcla no se observa ningún pico referente a la fusión, por lo que se concluye que la mezcla se encuentra en estado amorfo.

Por último, según la ecuación de Fox, si la mezcla fármaco/polímero fuese miscible esta debería tener una  $T_g$  cercana a los 22°C, ya que la  $T_g$  del PDLLA y del fármaco es 37°C y 10°C respectivamente. El sistema muestra una  $T_g$  a 24°C, muy cercana a la  $T_g$  teórica esperada, por lo que parece indicar que puede existir miscibilidad parcial en la mezcla.

○  $\beta$ -Tuyaplicina

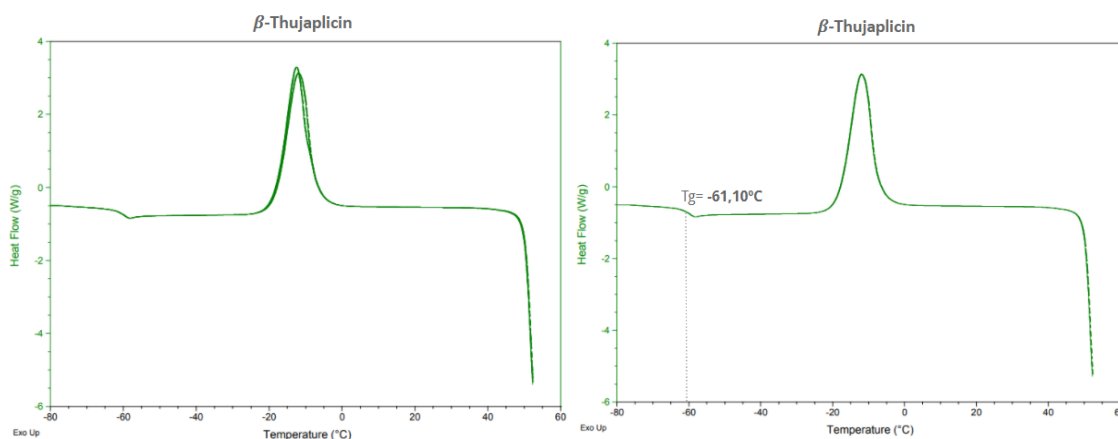


Figura 106. Termograma  $\beta$ -Tuyaplicina, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

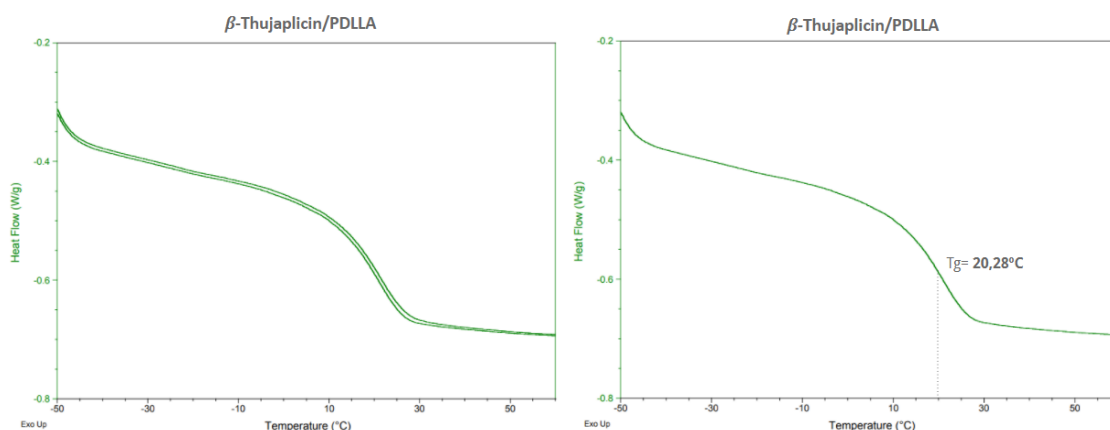
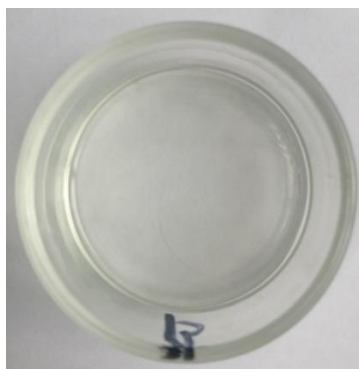


Figura 107. Termograma  $\beta$ -Tuyaplicina/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)





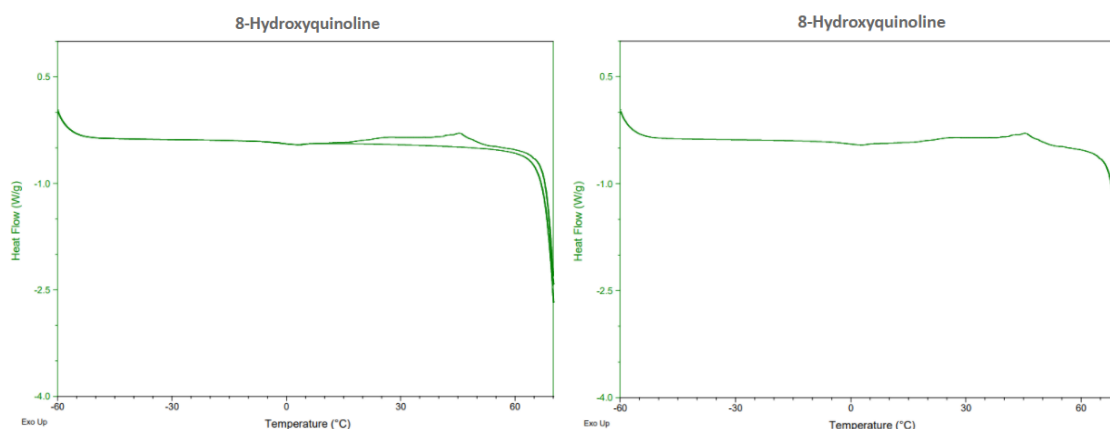
**Figura 108.** Filme obtenido de la mezcla  $\beta$ -Tuyaplicina/PDLLA

Al igual que el ácido salicílico, en el termograma correspondiente a la tuyaplicina pura (*Figura 106*) se observa un pico de cristalización tanto en el primero como en el segundo barrido a unos  $-12^{\circ}\text{C}$ . Ese pico no se observa en la gráfica referente al sistema fármaco/polímero (*Figura 107*) lo que indica que la miscibilidad suprime la cristalización del compuesto puro.

Además, la tuyaplicina funde a  $52^{\circ}\text{C}$ , por lo que se intuye que la bajada que se observa en el termograma corresponde a la fusión del fármaco. Sin embargo, tampoco se observa ningún pico de fusión en el termograma de la mezcla, aumentando la posibilidad de que corresponda a un sistema miscible.

Por otro lado, la  $T_g$  del sistema tuyaplicina + PDLLA ronda los  $20^{\circ}\text{C}$ , por lo tanto, hay un claro desplazamiento de la  $T_g$ , ya que esta no es cercana ni a la del polímero ( $37^{\circ}\text{C}$ ) ni a la del fármaco ( $-61^{\circ}\text{C}$ ). Sin embargo, la  $T_g$  teórica no corresponde a la obtenida experimentalmente, la cual debería ser cercana a  $-22^{\circ}\text{C}$ . No obstante, una pendiente prolongada puede indicar miscibilidad parcial. Además, el filme macroscópicamente es homogéneo (*Figura 108*), no se observa separación de fases.

### o 8-Hidroxiquinoleína



**Figura 109.** Termograma 8-Hidroxiquinoleína, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

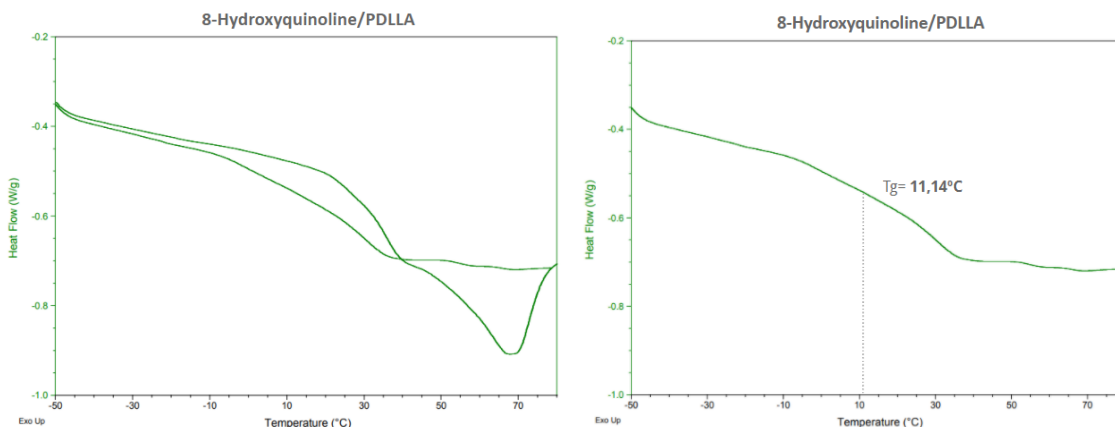


Figura 110. Termograma 8-Hidroxiquinoleína/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



Figura 111. Filme obtenido de la mezcla 8-Hidroxiquinoleína/PDLLA

En el caso de la hidroxiquinoleína, este compuesto tiene una  $T_g$  teórica de 42°C, a pesar de no verse ninguna en el termograma correspondiente a la *Figura 109*. Esta temperatura podría suponer un problema ya que es muy cercana a la  $T_g$  del polímero y podría dificultar, al menos por medio de esta técnica, concluir que la  $T_g$  de la mezcla se debe a una miscibilidad entre fármaco y polímero. Sin embargo, en la *Figura 110*, termograma correspondiente a la mezcla, se puede apreciar una pendiente prolongada desde los -50°C hasta los 35°C. Al igual que en el caso de la tuyaplicina, la pendiente podría indicar miscibilidad parcial.

El fármaco puro funde a 75°C, por lo que se puede suponer que la bajada que se aprecia a los 70°C corresponde a la  $T_m$  del fármaco. Sin embargo, en el sistema 8-hidroxiquinoleína + PDLLA no se observa ningún pico de fusión durante el segundo barrido, por lo que puede ser que exista miscibilidad parcial.

○ Ácido valílico

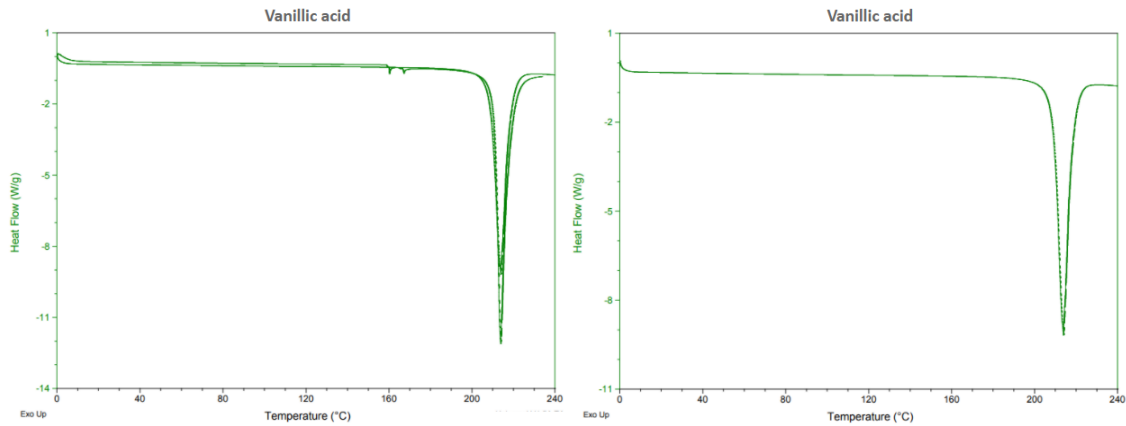


Figura 112. Termograma ácido valílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

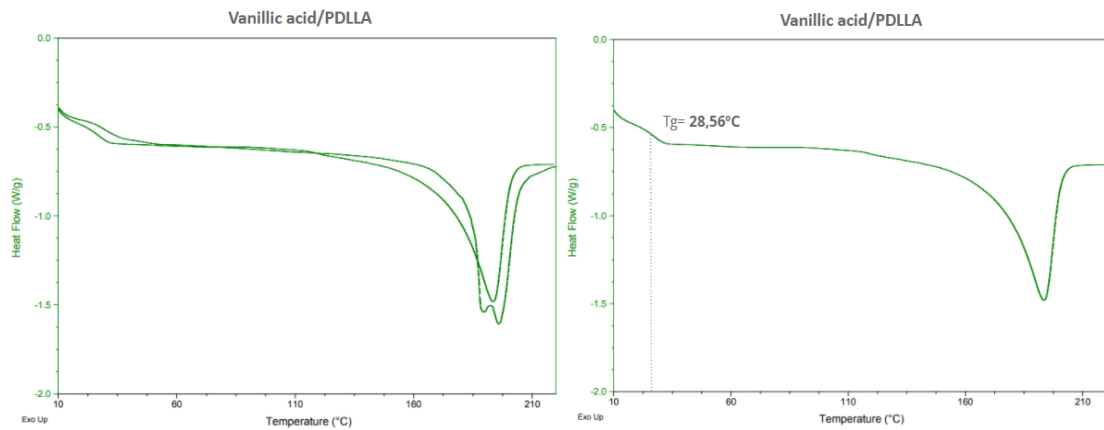


Figura 113. Termograma ácido valílico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

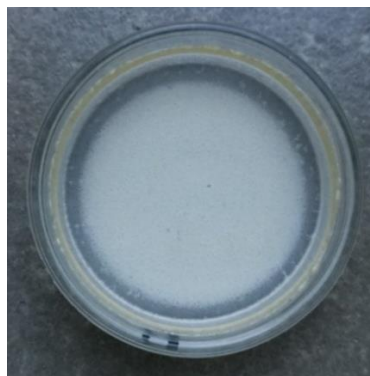


Figura 114. Filme obtenido de la mezcla ácido valílico/PDLLA

En el caso del ácido valílico, la *Figura 112* muestra los termogramas correspondientes al fármaco. Concretamente, en el segundo termograma se observa el segundo barrido, tras una fusión completa en el primero, sin que aparezca ninguna  $T_g$ .

Teniendo en cuenta que la  $T_g$  teórica del fármaco es  $49^\circ\text{C}$ , se ha calculado que la  $T_g$  en un sistema miscible debería ser cercana a  $41^\circ\text{C}$ . Sin embargo, la  $T_g$  obtenida ( $28,56^\circ\text{C}$ ) (*Figura 113*) es inferior

a la de los componentes por separado, por lo que existe un desplazamiento de la  $T_g$ , a pesar de no coincidir con la  $T_g$  teórica.

No obstante, se ha catalogado como parcialmente miscible por la aparente homogeneidad (Figura 114) del filme y por el desplazamiento del pico de fusión a menores temperaturas. El fármaco muestra un pico de fusión a 212°C, sin embargo, en la mezcla desciende hasta los 195°C. Por otra parte, la elevada intensidad del pico de fusión del fármaco puro podría indicar una posible degradación, por lo que la señal combinada de ambos procesos es muy intensa. Pese a ello, el pico de fusión en el segundo barrido coincide con el primero, por lo que parece no haber degradación.

○ **Ácido 3,4-dihidroxibenzoico**

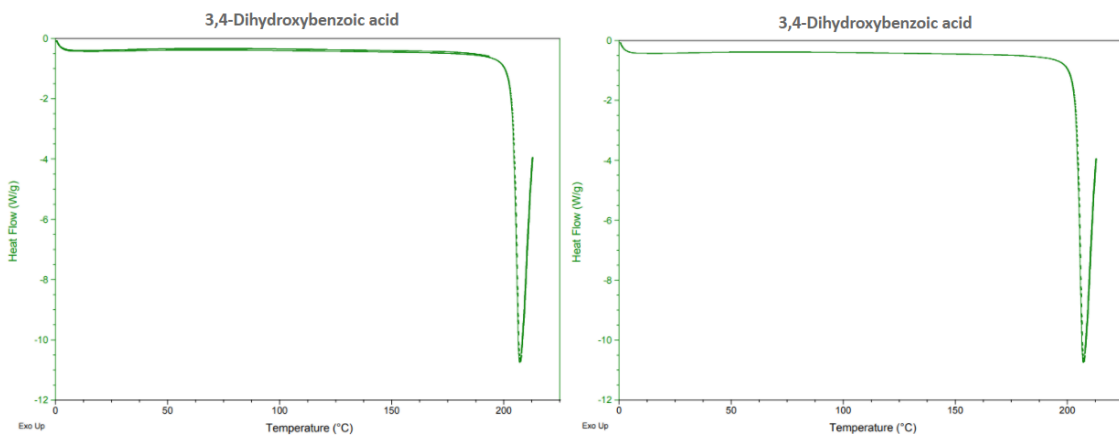


Figura 115. Termograma ácido 3,4-dihidroxibenzoico, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)

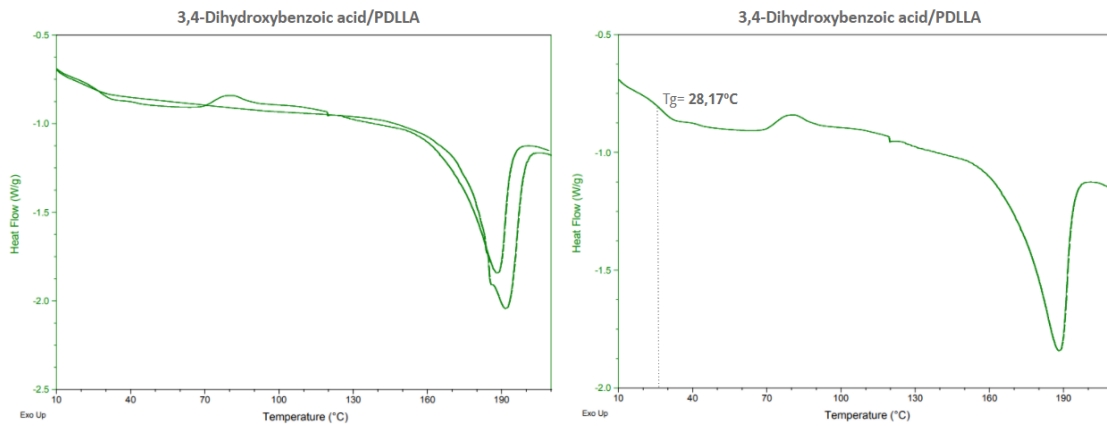


Figura 116. Termograma de la mezcla ácido 3,4-dihidroxibenzoico/PDLLA, dos barridos (izquierda), segundo barrido (derecha)



**Figura 117.** Filme obtenido de la mezcla ácido 3,4-dihidroxibenzoico /PDLLA

En el caso del ácido 3,4-dihidroxibenzoico, al igual que en el ácido valílico, no se observa ninguna  $T_g$  en el termograma correspondiente al fármaco puro (*Figura 115*). No obstante, aunque en este caso la señal del pico también es muy intensa, no se alcanzó la fusión en el primer barrido con el fin de evitar una posible degradación.

Teniendo como referencia la  $T_g$  teórica del fármaco (43°C), esta es cercana a la del polímero (37°C), con lo cual podría ser difícil asegurar si la  $T_g$  obtenida es únicamente la del polímero o si se han solapado ambas  $T_g$ . Sin embargo, la temperatura de transición obtenida en el termograma de la mezcla (*Figura 116*) es 28°C, prácticamente 10°C inferior a la esperada. Asimismo, se puede apreciar un ligero pico de cristalización a los 79°C, el cual puede deberse a una parte no disuelta del ácido 3,4-dihidroxibenzoico.

Además, no solo se observa movimiento en la  $T_g$ , el punto de fusión del ácido 3,4-dihidroxibenzoico también cambia a temperaturas más bajas cuando se mezclan, lo que puede indicar la miscibilidad parcial del sistema.

## 6. METODOLOGÍA Y PLANIFICACIÓN

El presente proyecto se ha desarrollado dentro de los límites previstos, a pesar de contar con ciertos inconvenientes que se van a detallar a continuación en el plan de trabajo seguido.

- **Plan y alcance de trabajo**

Lo primero de todo es entender cuál es el objetivo principal del proyecto y organizar los siguientes pasos para asegurar una entrega a tiempo. Para ello, es necesario adquirir ciertos conocimientos sobre el tema, información referente a los principios activos, sobre las disoluciones sólidas amorfas o cómo se catalogan los distintos fármacos. La búsqueda de información se alargó prácticamente durante todo el trabajo.

- **Trabajo de laboratorio**

El trabajo de laboratorio consiste en realizar un total de 28 filmes de las mezclas fármaco/polímero, en una proporción 50/50. Uno de los principales problemas se centra en el uso del PDLLA. El PDLLA es un polímero higroscópico y antes de realizar los DSC las mezclas tenían que estar aproximadamente 3 semanas en la estufa. Para asegurar que las mezclas estaban secas, se ha realizado un filme de PDLLA como referencia, del cual semanalmente se comprobaba su  $T_g$  mediante DSC hasta que esta fuese cercana a 40°C. Otro de los inconvenientes fue la contaminación de la primera ronda de filmes debido a un fármaco que estaba en la estufa, lo que restó tiempo de trabajo experimental.

- **Documentación**

El proyecto conlleva una entrega de memoria que reúne toda la información adquirida para la realización de este, tanto los resultados obtenidos por medio de gráficos y tablas, como las conclusiones sacadas de estos.

A continuación, se presenta un diagrama Gantt que relaciona todas las tareas llevadas a cabo y el tiempo que ha supuesto realizar cada una de ellas:

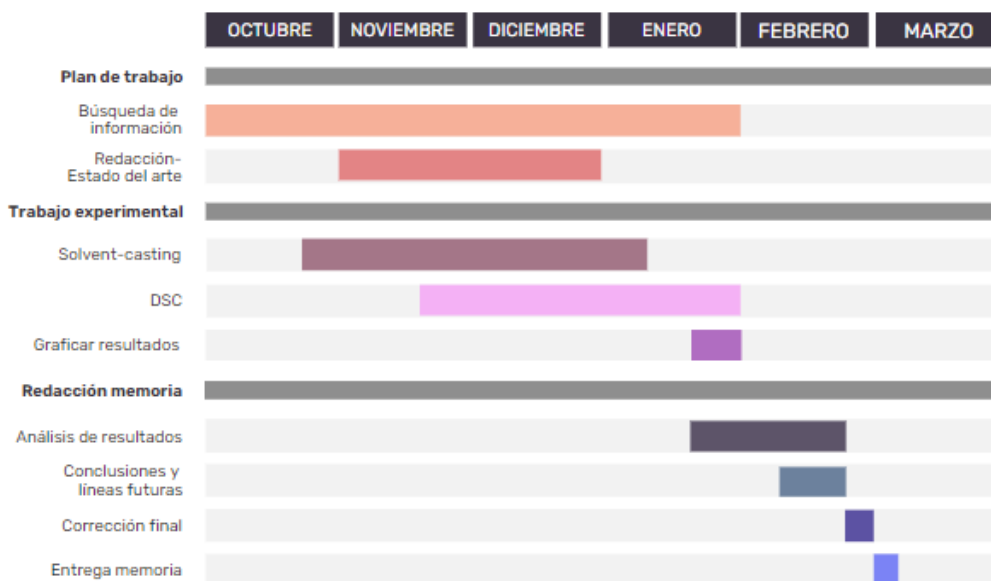


Figura 118. Diagrama Gantt

## 7. PRESUPUESTO

A continuación, se muestra la estimación del coste por llevar a cabo el proyecto en cuestión. Se incluyen las horas internas, amortizaciones y gastos como costes directos, y aquellos que no forman parte del proyecto, como los servicios de limpieza, técnicos de laboratorio y costes generales de agua y electricidad, como costes indirectos. Estos se consideran el 10% de los costes directos.

- **Horas internas**

En este apartado se recoge el tiempo invertido por el estudiante y el tutor responsable del proyecto. El salario por hora establecido para el estudiante es una estimación del salario de los investigadores junior.

**Tabla 6.** Horas internas

Trabajador	Tasa unitaria €/h	N.º de horas h	Coste €
Alumno	15	610	9.300,0
Tutora	35	200	7.000,0
<b>TOTAL</b>			<b>16.300,0 €</b>

- **Amortizaciones**

La *Tabla 6* muestra las amortizaciones (pérdida de valor en uso de activos fijos) de todo el equipo utilizado para realizar el proyecto. Los activos fijos incluyen herramientas y maquinaria de prueba.

**Tabla 7.** Tasa horaria

Nombre equipo	Precio de compra €	Vida útil Año	Tasa unitaria* €/h
Estufa de vacío	2.000,0€	15	0,05
DSC	30.000,0€	15	0,8
Otros**	2.200,0€	15	0,06

\* Se ha considerado que un año tiene un total de 2400 horas útiles.

\*\* En "Otros" entran todos los elementos necesarios para realizar el proyecto, como son la balanza Analítica, el agitador magnético o la prensa Tzero.

**Tabla 8.** Amortizaciones

Amortizaciones	Tasa unitaria €/h	N.º de horas h	Coste €
Estufa de vacío	0,05	504	25,2
DSC	0,8	50	40,0
Otros	0,06	10	0,6
<b>TOTAL</b>			<b>65,6 €</b>

- **Gastos**

En las partidas de gastos, se considerarán todos los materiales utilizados para ejecutar el proyecto, y una vez finalizados, ya no se podrán utilizar. Básicamente, se ha tenido en cuenta los fármacos, el PDLLA, los disolventes, todo el material de vidrio y las cápsulas empleadas en el DSC.

Tabla 9. Gastos

Concepto	Tasa unitaria	N.º de unidades	Coste
<b>Fármacos / PDLLA</b>	<b>€/g</b>	<b>g</b>	<b>€</b>
5-Hidroxi-1,4-Naphthoquinone	51,1	0,06	3,0
Ácido trans-cinámico	7,2	0,06	0,4
Esclareol	63,3	0,06	3,8
Ácido salicílico	1,1	0,06	0,1
(+/-) - Isoborneol	1,4	0,06	0,1
β-Tuyaplicina	18,2	0,06	1,1
8-Hidroxiquinoleína	1,3	0,06	0,1
Ácido valílico	2,6	0,06	0,2
Ácido p-cumárico	5,1	0,06	0,3
Ácido trans-ferúlico	4,4	0,06	0,2
Ácido succínico	0,6	0,06	0,1
Ácido gálico	0,8	0,06	0,1
Ácido cafeico	5,0	0,06	0,3
Ácido cólico	2,1	0,06	0,1
Ácido tánico	0,6	0,06	0,1
Ácido 3,4-dihidroxibenzoico	1,9	0,06	0,1
3,4,5-trihidroxibenzoato de metilo	7,8	0,06	0,4
Ácido 2,5-dihidroxibenzoico	3,3	0,06	0,2
Isoliquiritigenina	4,4	0,06	0,2
Dihidromiricetina	72,1	0,06	4,3
Metronidazol	10,3	0,06	0,6
Doxiciclina	118,0	0,06	7,1
Sulfanilamida	0,5	0,06	0,1
Pirazinamida	4,0	0,06	0,2
(+) - Catequina	25,9	0,06	1,5
Metilhidroquinona	0,2	0,06	0,1
Ácido elágico	94,9	0,06	5,7
PDLLA	66,2	1,5	99,3
<b>Disolventes</b>	<b>€/L</b>	<b>L</b>	<b>€</b>
DCM	52,8	0,02	1,05
THF	72,5	0,08	5,8
<b>Otros</b>	<b>€/ud.</b>	<b>Cantidad</b>	<b>€</b>
Material de vidrio	1,5	20	30
Cápsulas DSC	4	80	320
<b>TOTAL</b>			<b>486,6 €</b>

Finalmente, el presupuesto total se resume en la *Tabla 10*, siendo el coste total 18.537,4 €.

Tabla 10. Desglose del presupuesto total

Concepto	Coste (€)
Horas internas	16.300,0
Amortizaciones	65,6
Gastos	486,6
Costes indirectos	1685,2
<b>TOTAL</b>	<b>18.537,4 €</b>



## 8. CONCLUSIONES Y LÍNEAS FUTURAS

Es evidente el gran avance científico y tecnológico que ha traído consigo la inclusión de los biopolímeros en el área de la salud al permitir una mejora sobre los sistemas terapéuticos convencionales.

En la actualidad, las dispersiones sólidas se consideran uno de los métodos más eficaces para solucionar el problema de la baja biodisponibilidad de los fármacos poco solubles en agua. La correcta selección del polímero y el método de preparación puede ayudar a formular un sistema amorfo estable. Sin embargo, desafíos como la mala estabilidad debido a la higroscopicidad, el comportamiento de disolución o la mala procesabilidad pueden limitar su uso como estrategia de formulación viable. El control cuidadoso de estos parámetros puede ayudar a aprovechar los beneficios del estado amorfo al convertirlos en productos comercialmente exitosos.

Concretamente, este proyecto consiste en realizar un proceso de cribado, en el cual se analiza la miscibilidad entre diversos fármacos y PDLLA. Para empezar, los procesos de cribado suelen requerir una cantidad relativamente grande de tiempo y de ciclos DSC, concretamente el PDLLA es especialmente higroscópico y necesita aproximadamente 3 semanas para asegurar un completo secado. Por otro lado, dado que solo 6 de las 28 mezclas posibles (ácido 3,4-dihidroxibenzoico, ácido valílico,  $\beta$ -Tuyaplicina, 8-Hidroxiquinolina, ácido salicílico, metilhidroquinona) mostraron miscibilidad parcial, la mayor parte del trabajo realizado se basa en descartar compuestos inmiscibles. En el caso de las mezclas parcialmente miscibles, sería interesante seguir investigándolas, modificando las proporciones fármaco/polímero. En cuanto a las inmiscibles, sería interesante conocer su comportamiento con otro de muchos polímeros biodegradables.

En algunos casos, los fármacos son muy sensibles a la degradación, por lo que muchos de los compuestos no han podido analizarse con precisión. Por ello, sería interesante contar con otras técnicas de caracterización además del DSC, que sin duda es una buena técnica para comenzar con el proceso de descarte.

Asimismo, otro de los inconvenientes ha sido la  $T_g$  de muchos de los fármacos, ya que esta era muy similar a la  $T_g$  del propio polímero, lo que ha dificultado en muchas de las mezclas concretar si hay o no miscibilidad. Por este motivo también sería interesante recurrir a otras técnicas.

Por último, aún existe una gran cantidad de trabajo de investigación por realizar en este campo y que este trabajo es solo el primero de muchos pasos para obtener una mezcla de polímero-fármaco disponible comercialmente. En el caso de encontrar fármacos cuya solubilidad en estos polímeros sea apreciable, este trabajo puede ser el origen de una investigación más amplia que analice las cinéticas de liberación del fármaco mediante espectroscopia de Ultravioleta-Visible (UV-Vis), así como ensayos que permitan determinar las propiedades mecánicas de la mezcla. Todo ello con vistas a una futura aplicación médica a medio-largo plazo.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] M. G. Rojas Cortés, B. M. Vallejo Díaz y J. Ernesto Perilla, «Los biopolímeros como materiales para el desarrollo de productos en aplicaciones farmacéuticas y de uso biomédico,» *Revista ingeniería e investigación*, vol. 28, nº 1, pp. 57-71, 2008.
- [2] E. M. J. I. J. L. T.-H. S. N. M. R. J.-R. S. Eva Sanchez-Rexacha, «Miscibility, interactions and antimicrobial activity of poly( $\epsilon$ -caprolactone),» *European Polymer Journal*, nº 102, pp. 30-37, 2018.
- [3] I. M. d. A. J.-R. S. E. M. Eva Sanchez-Rexach, «Antimicrobial poly( $\epsilon$ -caprolactone)/thymol blends: Phase behavior, interactions and drug release kinetics,» *European Polymer Journal*, nº 83, p. 288–299, 2016.
- [4] L. González Alonso y R. Macovez, «Estudio experimental de la transición vítrea y de la dinámica macromolecular en dispersiones sólidas amorfas del antibiótico cloranfenicol en ácido poliláctico,» *Universitat Politècnica de Catalunya*, 2018.
- [5] E. Sanchez-Rexacha, E. Meaurio, J. Iturri, J. L. Toca-Herrera, S. Nir, M. Reches y J. R. Sarasua, «Miscibility, interactions and antimicrobial activity of poly( $\epsilon$ -caprolactone),» *European Polymer Journal*, nº 102, pp. 30-37, 2018.
- [6] Y. Kawabata, K. Wada, M. Nakatani, S. Yamada y S. Onoue, «Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics,» *International Journal of Pharmaceutics*, nº 420, pp. 1-10, 2011.
- [7] T. Vasconcelos, B. Sarmento y P. Costa, «Solid dispersions as strategy to improve,» *Drug Discovery Today*, vol. 12, nº 23/24, pp. 1068-1075, 2007.
- [8] A. Simonazzi, J. M. Bermúdez y S. D. Palma, «Dispersiones sólidas: Una estrategia tecnológica para aumentar,» *Pharmaceutical Technology*, nº 137, pp. 64-70, 2015.
- [9] A. Gupta y V. Kumar, «New emerging trends in synthetic biodegradable polymers - Polylactide: A critique,» *European Polymer Journal*, nº 43, pp. 4054-4055, 2007.
- [10] M. Annunziata, L. Nastro, G. Cecoro y L. Guida, «The Use of Poly-D,L-lactic Acid (PDLLA) Devices for Bone Augmentation Techniques: A Systematic Review,» *Molecules*, vol. 22, nº 12, 2017.
- [11] J. t. A. 2.-0.-1. a. t. W. Machine.
- [12] G. Gries, «Juglone - the active agent in walnut toxicity,» *Northern Nut Growers Association Annual Report*, p. 34: 52–55., 1943.
- [13] L. Chen, B. Y. Na-Shun, J. Zhang, J. Yu y W. W. Gu, «Effect of juglone on the ultrastructure of human liver cancer BEL-7402 cells,» *Nan Fang Yi Ke da Xue Xue Bao*, p. 29 (6): 1208–11, 2009.
- [14] S. e. Budavari, *The Merck Index: An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*, vol. 12a ed., nº ISBN 0911910123, 1996.
- [15] K. Dimas, D. Kokkinopoulos, C. Demetzos, B. Vaos, M. Marselos, M. Malamas y T. Tzavaras, «The effect of sclareol on growth and cell cycle progression of human leukemic cell lines,» *Leukemia Research*, nº 23, pp. 217-234, 1999.

- [16] K. P. C. Vollhardt y N. E. Schore, «Química orgánica. Estructura y función.,» Barcelona, Omega, 2005, pp. 1005-1008.
- [17] Ácido salicílico, Consultado el 4 de enero de 2021.
- [18] K. C. Wong, K. S. Ong y C. L. Lim, «Composition of the essential oil of rhizomes of *Kaempferia Galanga* L.,» *Flavour and Fragrance Journal*, nº 7, pp. 263-266, 2006.
- [19] H. Erdtman y J. Gripenberg, «Sustancias antibióticas del corazón de *Thuja plicata* Don,» *Naturaleza*, nº 161, p. 719, 1948.
- [20] R. Chedgy, *Metabolitos secundarios del cedro rojo occidental (Thuja plicata)*, Publicaciones académicas de Lambert, 2010.
- [21] J. Suzuki, T. Tokiwa, M. Mochizuki, M. Ebisawa, T. Nagano, M. Yuasa, M. Kanazashi, K. Gomi y T. Arai, «Effects of a newly designed toothbrush for the application of periodontal disease treatment medicine (Hinoporon™) on the plaque removal and the improvement of gingivitis,» *Nihon Shishubyo Gakkai Kaishi (Journal of the Japanese Society of Periodontology)*, nº 50, pp. 30-38, 2008.
- [22] Y. NAKANO, M. WADA, H. TANI, K. SASAI y E. BABA, «Effects of  $\beta$ -Thujaplicin on Anti-Malassezia pachydermatis Remedy for Canine Otitis Externa,» *Journal of Veterinary Medical Science*, nº 67, p. 1243-1247, 2005.
- [23] Y. Aharoni, A. Copel y E. Fallik, «Hinokitiol ( $\beta$ -thujaplicin), for postharvest decay control on 'Galia' melons,» *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science*, vol. II, nº 21, p. 165-169, 1993.
- [24] T. Vanitha, M. Thammawong, H. Umehara, N. Nakamura y T. Shiina, «Effect of hinokitiol impregnated sheets on shelf life and quality of "KEK-1" tomatoes during storage,» *Packaging Technology and Science*, vol. XII, nº 32, p. 641-648, 2019.
- [25] 8-Hydroxyquinoline Safety Data, Oxford University.
- [26] A. Y. Shen, S. N. Wu y C. T. Chiu, «Synthesis and Cytotoxicity Evaluation of some 8-Hydroxyquinoline Derivatives,» *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, vol. V, nº 51, pp. 543-548, 1999.
- [27] D. M. H. M. T. J. C. B. B. P. A. M. Lesage-Meessen L, «A two-step bioconversion process for vanillin production from ferulic acid combining *Aspergillus niger* and *Pycnoporus cinnabarinus*,» *J. Biotechnol*, Vols. %1 de %2II-III, nº 107-113, p. 50, 1996.
- [28] J. Duke, *Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants*, CRC Press, 999 edition, 1992.
- [29] M.-T. S. T. S. Pacheco-Palencia LA, «Chemical composition, antioxidant properties, and thermal stability of a phytochemical enriched oil from Acai (*Euterpe oleracea* Mart.),» *J Agric Food Chem*, vol. XII, nº 56, pp. 4631-4636, 2008.
- [30] A. s. Z. C. a. D. Guillaume, «Phenols and Polyphenols,» *American Journal of Food Technology*, 2007, p. 679-683.
- [31] L. M. L. X. W. Y. Yao CS, «Stilbene derivatives from *Gnetum cleistostachyum*,» *Journal of Asian Natural Products Research*, vol. II, nº 7, p. 131-7, 2005.

- [32] M. C. Gálvez, C. G. Barroso y J. A. Pérez-Bustamante, «Analysis of polyphenolic compounds of different vinegar samples,» *Zeitschrift für Lebensmittel-Untersuchung und -Forschung*, nº 199, p. 29, 1994.
- [33] S. M. A. B. M. R. Mao W, «Honey constituents up-regulate detoxification and immunity genes in the western honey bee *Apis mellifera*,» *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, nº 110, p. 8842, 2013.
- [34] R. R. J. a. G. J. Hatfield, «Cell wall cross-linking by ferulates and diferulates in grasses,» *J. Sci. Food. Agric.*, nº 79, pp. 403-407, 1999.
- [35] A. Santiago, «Castilla y León diseña un 'superalimento' para recuperar la salud del enfermo de leucemia,» *El Norte de Castilla*, 4 Junio 2018.
- [36] V. Chikhalia, R. Forbes, R. Storey y M. Ticehurst, «The effect of crystal morphology and mill type on milling induced crystal disorder,» *European Journal of Pharmaceutical Sciences.*, vol. I, nº 27, p. 19–26, 2006.
- [37] D. G. Barrett y M. N. Yousaf, «Design and Applications of Biodegradable Polyester Tissue Scaffolds Based on Endogenous Monomers Found in Human Metabolism,» *Molecules*, vol. X, nº 14, p. 4022–4050, 2009.
- [38] S. M. Fiuza, Phenolic acid derivatives with potential anticancer properties—a structure–activity relationship study. Part 1: Methyl, propyl and octyl esters of caffeic and gallic acids, Elsevier.
- [39] W. Boerjan, J. Ralph y M. Baucher, «Ligninbiosynthesis,» *Annual Review of Plant Biology*, nº 54, pp. 519-46, 2003.
- [40] Z. Charrouf y D. G. ., «Phenols and Polyphenols from *Argania spinosa*,» *American Journal of Food Technology*, vol. VII, nº 2, p. 679, 2007.
- [41] Y. T. H. T. S. T. T. K. a. T. S. M Hirose, «Carcinogenicity of antioxidants BHA, caffeic acid, sesamol, 4-methoxyphenol and catechol at low doses, either alone or in combination, and modulation of their effects in a rat medium-term multi-organ carcinogenesis model,» *Carcinogenesis*, vol. I, nº 19, pp. 207-212, 1998.
- [42] C. JY, «Bile acids: regulation of synthesis,» *Journal of Lipid Research*, vol. X, nº 50, pp. 1955-66, 2009.
- [43] C. Pettinga, «Darvon safety,» *Science*, nº 204, p. 6, 1979.
- [44] H.-H. .. Lin, J.-H. .. Chen, C.-C. .. Huang y C.-J. Wang, «Efecto apoptótico del ácido 3,4-dihidroxibenzoico en las células de carcinoma gástrico humano que implican la activación de señalización de JNK / p38 MAPK,» *Revista Internacional de Cáncer*, vol. XI, nº 120, p. 2306–2316, 2007.
- [45] C.-L. .. Liu, J.-M. .. Wang, C.-Y. .. Chu, M.-T. .. Cheng y T.-H. Tseng, «Efecto protector in vivo del ácido protocatechico sobre la hepatotoxicidad de rata inducida por hidroperóxido de terc-butilo,» *Toxicología alimentaria y química*, vol. V, nº 40, p. 635–41, 2002.
- [46] F. Calzada, C. Cerda-García-Rojas, M. Meckes, R. Cedillo-Rivera, R. Adiós y R. Mata, «Geraninas y B, nuevas proantocianidinas antiprotozoarias tipo A de *Geranium niveum*,» *Revista de productos naturales*, vol. V, nº 705–9, p. 62, 1999.

- [47] Q.-H. P. J.-C. Z. J.-M. L. S.-B. W. Q.-H. Z. a. W.-D. H. Rong-Rong Tian, «Comparison of Phenolic Acids and Flavan-3-ols During Wine Fermentation of Grapes with Different Harvest Times,» *Molecules*, nº 14, pp. 827-838, 2009.
- [48] K. M. H. F. Strupat K, «2,5-Dihidroxybenzoic acid: a new matrix for laser desorption-ionization mass spectrometry,» *Int. J. Mass Spectrom. Ion Processes*, vol. 111, nº 72, pp. 89-102, 1991.
- [49] O. Nerya, J. Vaya, R. Musa, S. Izrael, R. Ben-Arie y S. Tamir, «Glabrene and Isoliquiritigenin as Tyrosinase Inhibitors from Licorice Roots,» *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. V, nº 51, p. 1201–1207, 2003.
- [50] Y. Shen, A. K. Lindemeyer, C. Gonzalez, X. M. Shao, I. Spigelman, R. W. Olsen y J. Liang, «Dihydromyricetin As a Novel Anti-Alcohol Intoxication Medication,» *Journal of Neuroscience*, vol. I, nº 32, p. 390–401, 2012.
- [51] R. S., Australian Medicines Handbook Pty Ltd, Adelaide, 2006.
- [52] M. Nelson y S. Levy, «The history of the tetracyclines,» *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. I, nº 1241, pp. 17-32, 2011.
- [53] S. C. Sweetman, «Martindale: The Complete Drug Reference,» Pharmaceutical Press., 2009, p. 343.
- [54] V. A. Drill y J. R. DiPalma, *Farmacología Médica de Drill*, México: La Prensa Médica Mexicana, 1974.
- [55] SULFONAMIDES (Veterinary—Systemic), The United States Pharmacopeial Convention, 2007.
- [56] K. M. H. S. Stuart MC, « Organización Mundial de la Salud,» de *Formulario modelo de la OMS*, 2009, pp. 136, 140, 594, 608.
- [57] B. J. R. J. e. a. Rinaldo D, «Determination of catechin diastereomers from the leaves of *Byrsonima* species using chiral HPLC-PAD-CD,» *Chirality*, vol. VIII, nº 22, p. 726–33, 2010.
- [58] J. H. Ye y M. A. Augustin, «Nano- and micro-particles for delivery of catechins: Physical and biological performance,» *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. X, nº 59, p. 1563–1579, 2018.
- [59] Y. F. A. B. W. E. & W. T. K. Tao, «Altering toluene 4-monooxygenase by active-site engineering for the synthesis of 3-methoxycatechol, methoxyhydroquinone, and methylhydroquinone,» *Journal of bacteriology*, vol. 14, nº 186, pp. 4705-4713., 2004.
- [60] D. A. Vatter y K. Shetty, «Biological Function of Ellagic Acid: A Review,» *Journal of Food Biochemistry*, vol. III, nº 29, p. 234–266, 2005.
- [61] E. Pungor, *A Practical Guide to Instrumental Analysis*, Florida: Boca Raton, 1995.
- [62] M. Labet y W. Thielemans, «Synthesis of polycaprolactone,» *Chemical Society Reviews*, nº 38, p. 3484–3504, 2009.