



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA



Proyecto de Trabajo de Titulación, modalidad proyecto de investigación, previa la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Microencapsulación de secnidazol mediante secado por aspersion.

Autor: Juan Carlos Córdova Solís

Tutor: Orestes Darío López Hernández Ph.D.

Ambato- Ecuador

Noviembre 2016

APROBACIÓN DEL TUTOR

Orestes Darío López Hernández Ph.D

CERTIFICA:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad.

Ambato, 25 de Agosto de 2016



Ing. Orestes Darío López Hernández Ph.D

C.I. 1754784864

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Juan Carlos Córdova Solís, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Proyecto de Investigación, previo la obtención del título de Ingeniero Bioquímica son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas.



Sr. Juan Carlos Córdova Solís

C.I. 180462788-1

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DE TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de Titulación modalidad Proyecto de Investigación, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Presidente del Tribunal



Mg. Araceli Alexandra Pilamala Rosales
C.I. 180415529-7



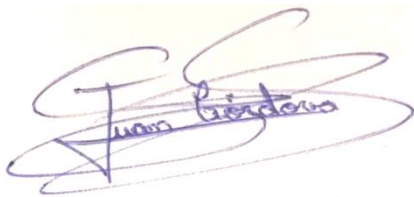
Dra. Dayana Cristina Morales Acosta
C.I. 180413557-0

Ambato, 07 de Noviembre del 2016

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Proyecto de Investigación o parte de él, un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los Derechos en línea patrimoniales de mi Proyecto, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este Proyecto dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



Sr. Juan Carlos Córdova Solís

C.I. 180462788-1

AUTOR

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado para mis padres quienes han sido mi ejemplo, mi guía y mi pilar fundamental en cada uno de los pasos y metas alcanzadas.

A la memoria de mi hermano Diego quien fue, sigue siendo y será mi mayor orgullo, ejemplo de fortaleza, bondad y humildad.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar agradezco a Dios por haberme dado la oportunidad de tener una familia maravillosa y además haberme permitido culminar una meta más en mi vida

Agradezco a mis padres por todo el esfuerzo y los valores inculcados desde pequeño, valores que me permitieron salir adelante y convertirme en un hombre de bien y luchador de la verdad.

A mi querido hermano por haber formado parte indispensable de mi vida, por darme las fuerzas para salir adelante, por compartir tantos momentos de felicidad que quedarán por siempre grabados en mi mente y en mi corazón.

Agradezco a María José por ser esa compañera de vida que ha estado junto a mí en los momentos de alegría pero sobre todo en los momentos de debilidad y tristeza, por ser mi fuerza, mi paz y mi alegría.

Al doctor Orestes López por ser un excelente profesional, un gran ser humano y un verdadero maestro. Gracias por brindarme sus conocimientos, amistad y haber sido mi guía durante el desarrollo de este proyecto.

A cada unos de mis amigos que han estado junto a mí durante esta difícil pero maravillosa etapa de la vida, con quienes he compartido momentos buenos y malos que permitirán desarrollarnos como profesionales.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

PÁGINAS PRELIMINARES

Portada	I
Aprobación del tutor	II
Declaración de Autenticidad	III
Aprobación de los miembros del tribunal	IV
Derechos de Autor	V
Dedicatoria.....	VI
Agradecimiento	VII
Resumen.....	XIII
Abstract.....	XIV
Introducción	1

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema de la investigación	3
1.2. Justificación	3
1.3. Objetivos.....	4
1.3.1. Objetivo general.....	4
1.3.2. Objetivos específicos	5

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos	6
2.2. Hipótesis	8
2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis.....	9
2.3.1 Variables Dependientes.....	9
2.3.2 Variables Independientes	9

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.	Materiales	10
3.2.	Métodos	10
3.2.1.	Microencapsulación de secnidazol	10
3.2.2.	Rendimiento de la microencapsulación	10
3.2.3.	Eficiencia de microencapsulación	11
3.2.3.1.	Difractometría de rayos X (DRX) (Método Cualitativo)	11
3.2.3.2.	Calorimetría diferencial de barrido (Método Cuantitativo).....	11
3.2.4.	Caracterización de secnidazol microencapsulado	12
3.2.5.	Determinación del tamaño de partícula por Difractometría de luz láser.....	12
3.2.6.	Cuantificación de secnidazol por RP-HPLC.....	12
3.3.	Diseño Experimental.....	14

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1.	Rendimiento del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersion	15
4.1.2.	Eficiencia de microencapsulación	16
4.1.2.1.	Difractometría de rayos X (DRX)	16
4.1.2.2.	Calorimetría diferencial de barrido.....	19
4.1.3.	Cuantificación de secnidazol por RP-HPLC.....	23
4.1.4.	Caracterización de secnidazol microencapsulado	24
4.1.5.	Determinación del tamaño de partícula por Difractometría de luz láser.....	25
4.2.	Análisis Estadístico	25
4.3.	Verificación de hipótesis	27

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones	28
5.2. Recomendaciones	29
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	30
ANEXOS	34

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Propiedades de los polímeros Eudragit®.....	8
Tabla 2: Rendimientos de los microencapsulados	15
Tabla 3: Eficiencia de enmascaramiento, de encapsulación y rendimiento .	22
Tabla 4: Contenido del principio activo en el microencapsulado	23
Tabla 5: Eficiencia de microencapsulación.	23

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Difractogramas de rayos X	17
Figura 2: Difractogramas de rayos X	18
Figura 3: Difractogramas de rayos X	18
Figura 4: Termograma de Secnidazol puro.....	20
Figura 5: Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit S-100.	21
Figura 6: Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit L-100.	21
Figura 7: Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit L100- 55.....	22
Figura 8: Secnidazol microencapsulado en Eudragit L-100.....	24
Figura 9: Test de rangos múltiples	26

RESUMEN

El Secnidazol es un derivado sintético de la serie de los nitroimidazoles, con actividad antiparasitaria, dos veces más activo que el metronidazol. Se utiliza para el tratamiento de parasitosis por *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Gardnerella vaginalis* y *Trichomonas vaginalis*. Posee una baja aceptación en su presentación de polvo para suspensión oral que es la forma de administración de mayor eficiencia, debido a su sabor desagradable referido como sabor metálico. Además al ser degradable en el estómago el secnidazol no es absorbido en un 100% en el tracto intestinal, lugar donde se alojan los parásitos, por lo que este estudio tuvo como finalidad la microencapsulación de secnidazol mediante secado por aspersion como una solución.

Para el trabajo se emplearon polímeros Eudragit® S-100, L-100 y L-100-55, se prepararon dispersiones del fármaco en los diferentes polímeros, empleando una relación fármaco polímero de 40:60, las muestras se secaron en un minispray dryer Büchi B-191 empleando un flujo de aire de atomización de 600 L/h y temperaturas de entrada y salida de 150 y 85°C respectivamente. Con las muestras colectadas se determinó el rendimiento del proceso, la eficiencia de microencapsulación mediante calorimetría diferencial de barrido y se compararon por difracción de rayos X (DRX) para seleccionar el mejor polímero. El mejor rendimiento obtenido fue de $72,3 \pm 0,8\%$ con Eudragit® L-100, con una eficiencia de microencapsulación de 98,96%, superior a la alcanzada con otros métodos estudiados, coincidiendo con los resultados de la DRX.

Palabras clave: Secnidazol, microencapsulación, secado por aspersion, polímeros Eudragit®.

ABSTRACT

Secnidazole is a synthetic derivative of the nitroimidazoles series that has antiparasitic activity, it is two times more active than metronidazole. This drug is used for the treatment of the parasitosis by *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Gardnerella vaginalis* and *Trichomonas vaginalis*. It has a low acceptance of powder for oral suspension that is the conventional way of administration for children and that has a greater efficiency, due to its shows an unpleasant taste referred as a metallic taste. Moreover, the current drug is degradable in the stomach and for this reason it is not absorbed at 100% in the intestinal tract, place where parasites often stay, so the main aim of this investigation was to microencapsulate secnidazole by spray drying method.

For this work, polymers Eudragit® S-100, L-100 and L-100-55 were used from EVONIK INDUSTRIES, dispersions of drug were prepared in the different polymers, using a drug-polymer ratio of 40:60. The samples were dried in a mini-spraydryer Büchi B-191 using an atomization air flow of 600 L/h and temperatures of input and output of 150 and 85 °C respectively. With the collected samples, the process yield and the microencapsulation efficiency were determined using differential scanning calorimetry and comparing by diffraction (XRD) to select the best polymer. The best yield obtained was $72.3 \pm 0.8\%$ with Eudragit® L-100, and a microencapsulation efficiency of 98.96%, that seems to be greater than the ones achieved by other methods studied, coinciding with the XRD results. The results showed a high efficiency of the Eudragit® L-100 in the microencapsulation of the secnidazole.

Keywords: Secnidazole, microencapsulation, spray drying, Eudragit® polymers

INTRODUCCIÓN

La microencapsulación consiste en brindarle un revestimiento a pequeñas partículas sólidas, líquidas o gaseosas, dando lugar a una microcápsula o microesfera, mismas que se encuentran formadas por una pared uniforme o matriz de origen proteico y por un núcleo o relleno conformado por el principio activo. Las micropartículas pueden alcanzar tamaños muy pequeños que van desde unos cuantos micrómetros hasta unos pocos milímetros (**Umer *et al.*, 2011; Jyothi *et al.*, 2012**).

La técnica de microencapsulación depende de las propiedades físicas y químicas del material a encapsular y aunque este procedimiento resulta ser novedoso no es nada nuevo ya que inicialmente fue utilizado con pigmentos en 1930 y se conoce que su último avance se dio en el año de 1950 con el desarrollo de cápsulas de gelatina que contenían colorantes los mismos que eran liberados al aplicarles algún tipo de fuerza sobre ellas (**Jyothi *et al.*, 2012; Venkatesan *et al.*, 2009**).

El tamaño de partícula y su forma están determinados por los polímeros utilizados y por el método aplicado para la microencapsulación, los mismos que están relacionados directamente con la eficiencia del procedimiento (**Pérez *et al.*, 2013**). Esta tecnología presenta un sin número de ventajas como la de ofrecer una protección ante condiciones ambientales adversas como el calor y la humedad, permitiendo de esta manera mantener la estabilidad y prolongar el tiempo de vida útil del principio activo, entre otras ventajas a destacar están la capacidad para enmascarar propiedades no deseadas, incremento en la biodisponibilidad, gastroresistencia, separación de componentes incompatibles y control en la liberación de fármacos (**Villena *et al.*, 2009; Umer *et al.*, 2011**).

Para el proceso de microencapsulación existen diferentes técnicas o métodos que se pueden utilizar, su selección va a depender de las propiedades físicas y químicas de los materiales, también dependerá del tamaño de partícula que se requiere y de la aplicación que se le dará, por lo que los métodos se dividen en químicos y físicos (**Parra, 2010; Pérez et al., 2013**). Dentro de estos últimos se encuentra el secado por aspersión, técnica más utilizada en la industria alimenticia y farmacéutica por la disponibilidad de los equipos y los bajos costos de producción (**Mondragón et al., 2013**).

El método consiste en convertir una solución, suspensión o emulsión a un material particulado y seco, esto con la utilización de un secador por aspersión, y a pesar de que durante el procedimiento se manejan temperaturas de entrada altas, este es un método ideal para trabajar con principios activos sensibles al calor debido a que los mismos llegan a estar en contacto con estas temperaturas por unos pocos segundos haciendo imposible su degradación o desnaturalización (**Mondragón et al., 2013; Wisniewski, 2015**).

Tomando en cuenta todas las características y ventajas que nos ofrece este procedimiento, la presente investigación tiene como objetivo la microencapsulación de secnidazol por el método de secado por aspersión, mediante la utilización de polímeros entéricos (EUDRAGIT®) para, conservar todas sus características originales y brindarle una nueva como lo es la gastroresistencia.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1. Tema de la investigación

Microencapsulación de secnidazol mediante secado por aspersión.

1.2. Justificación

En la actualidad son muy comunes las enfermedades causadas por un sin número de parásitos, pero la de mayor incidencia en la población mundial es la Giardiasis, un tipo de enfermedad gastrointestinal provocada por *Giardia lamblia* un parásito cosmopolita, cualidad que lo hace muy fácil de adquirirlo.

Razón por la cual se ha vuelto indispensable hallar un fármaco de amplio espectro capaz de combatir a los parásitos causantes de muchas enfermedades en las personas, encontrando así una solución en el secnidazol. Fármaco que tiene una baja aceptación en su presentación de polvo para suspensión oral que es la forma convencional de administración para niños y la de mayor eficiencia, esto debido a que una de sus características es el sabor desagradable referido como sabor metálico. Además al ser degradable en el estómago el secnidazol no es absorbido en un 100% en el tracto intestinal, lugar donde se alojan los parásitos, por lo que se plantea como una solución viable la microencapsulación del secnidazol mediante secado por aspersión.

Este procedimiento ofrecerá al fármaco una resistencia al pH de los jugos gástricos, permitiendo orientar la liberación del fármaco hacia un sitio específico que en este caso será el tracto intestinal, evitando que el principio activo sea liberado en el estómago aumentando así, la eficiencia de la acción antiparasitaria.

La tecnología de secado por aspersion es capaz de encerrar el fármaco en unas microesferas compuestas por una pared polimérica, la misma que es degradable a un pH superior al que se encuentra en el interior del estómago, es decir le brinda gastroresistencia al secnidazol, además, ayuda a conservar las características originales del principio activo por mayor tiempo.

Los polímeros Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55 son los más apropiados para microencapsular el secnidazol y otros fármacos similares, debido a que dentro de sus propiedades se encuentran el enmascaramiento de sabores desagradables gracias a una interacción reversible que forman con el principio activo, y la gastroresistencia que permite la liberación del fármaco en el tracto intestinal.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

Microencapsular el secnidazol mediante secado por aspersion empleando polímeros entéricos (Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55).

1.3.2. Objetivos específicos

- Comparar de forma cualitativa la eficiencia de la microencapsulación de los tres polímeros entéricos empleando difracción de rayos x.
- Comparar de forma cuantitativa la eficiencia de la microencapsulación de los tres polímeros utilizados, empleando calorimetría diferencial de barrido.
- Caracterizar el producto microencapsulado mediante eficiencia de encapsulación, microscopía electrónica de barrido, difracción de luz láser y cuantificación.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

El Secnidazol ($\alpha,2$ -dimetil-5-nitro-1H-imidazol-1-etanol) es un fármaco de origen sintético perteneciente a la familia de los nitroimidazoles con actividad antiparasitaria, dos veces más activo que el metronidazol y con un mayor tiempo de vida media en plasma (cerca a las 25 horas), este compuesto es sumamente efectivo en el tratamiento de enfermedades producidas por parásitos como *Giardia lamblia*, *Entamoeba histolytica*, *Gardnerella vaginalis* y *Trichomonas vaginalis*; según varios autores esto se logra gracias a su actividad citolítica, es decir que es capaz de destruir la células del parásito causante de la enfermedad **(Moya et al., 2003)**.

En la actualidad *Giardia lamblia* un parásito cosmopolita, responsable de la Giardiasis, una de las enfermedades gastrointestinales más comunes que ataca a la población mundial, ha sido controlada con la ayuda del secnidazol pero al ser degradable en el estómago se pierde una cierta cantidad, disminuyendo su acción antiparasitaria. Además posee como efecto secundario un sabor desagradable referido como “sabor metálico” provocando una baja aceptación del polvo para suspensión oral que es la vía de administración en niños más eficaz para obtener el éxito esperado al final del tratamiento **(Díaz, 2005)**.

Una solución con resultados prometedores es la microencapsulación, tecnología que consiste en el recubrimiento a escala microscópica de un compuesto, el mismo que puede encontrarse en estado líquido, sólido o gaseoso y en donde el material que actúa como pared protectora generalmente es de naturaleza proteica. Esta microcápsula le brinda una protección en contra de influencias deletéreas y condiciones ambientales,

permitiendo mantener la estabilidad y viabilidad del compuesto por mayor tiempo **(Villena et al., 2009)**.

En el caso de la industria alimenticia y farmacéutica la microencapsulación es capaz de actuar como barrera contra malos olores y sabores desagradables, pero sin duda alguna un aspecto muy importante de esta tecnología es la de actuar como un envase protector de fármacos y sustancias bioactivas, las mismas que pueden ser liberadas bajo condiciones controladas y actuar sobre una región o sitio específicos **(Pedroza, 2002)**.

El método más utilizado para realizar una microencapsulación es el secado por aspersión debido a la disponibilidad de los equipos, a los bajos costos de producción y sobre todo a la alta estabilidad del producto final. Además si se compara con el resto de métodos existentes el secado por aspersión ofrece una eficiencia de encapsulación de entre el 96 y 100%, valores sumamente altos **(Parra, 2010)**.

Este método consiste en la obtención de un producto en forma de polvo seco a partir de la atomización de una emulsión o suspensión del material a microencapsular. Durante este proceso el disolvente utilizado se evapora de forma inmediata ya que la corriente de aire en el interior del equipo se encuentra a una temperatura de entre 150 a 200 °C pero, gracias a que el tiempo de exposición a estas temperaturas es muy corto (5 a 30 s) el método puede ser utilizado con materiales sensibles al calor sin afectar su estructura y estabilidad y al final del proceso el producto puede alcanzar tamaños que van de 1 hasta 1000 μm **(Alonso, 2011)**.

Los polímeros Eudragit® son poli(met)acrilatos distribuidos por EVONIK INDUSTRIES, en la actualidad son los de mayor aceptación al momento de microencapsular un fármaco, debido a un sin número de características que estos ofrecen. Entre las principales propiedades de los polímeros Eudragit®

tenemos la protección contra influencias externas, el enmascaramiento de sabor/olor, para aumentar la aceptabilidad por parte del paciente y la gastroresistencia, para protección del estómago u orientación de liberación del fármaco (Yoshi, 2013).

Los polímeros Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55 (Tabla 1) son los más utilizados para una orientación de liberación del fármaco, ya que al poseer la cualidad de gastroresistentes liberan el principio activo en el tracto intestinal. Además forman una interacción reversible de tipo aniónico-catiónico a nivel molecular con fármacos o ingredientes activos, lo que impide la reacción de los receptores del gusto de la lengua, haciendo posible el enmascaramiento de sabores desagradables (Evonik, 2009).

Tabla 1: Propiedades de los polímeros EUDRAGIT®

Polímero Entérico	Solubilidad	Lugar de Liberación
Eudragit® S-100	≥ pH 7.0	Íleon/colon
Eudragit® L-100	≥ pH 6.0	yeyuno
Eudragit® L-100-55	≥ pH 5.5	duodeno

(Evonik, 2009).

2.2. Hipótesis

Influencia de los polímeros Eudragit® sobre el rendimiento y la eficiencia de microencapsulación de Secnidazol mediante secado por aspersión.

Hipótesis Nula (H₀): El uso de los polímeros Eudragit® S-100, L-100 y L-100-55 no altera el rendimiento y eficiencia de la microencapsulación de Secnidazol mediante secado por aspersión.

Hipótesis Alternativa (H_a): El uso de los polímeros Eudragit[®] S-100, L-100 y L-100-55 altera el rendimiento y eficiencia de la microencapsulación de Secnidazol mediante secado por aspersión.

2.3. Señalamiento de variables de la hipótesis

2.3.1. Variables dependientes:

- Rendimiento de microencapsulación de Secnidazol
- Eficiencia de microencapsulación de Secnidazol

2.3.2. Variables independientes:

- Polímeros Eudragit[®]

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

Secnidazol (Merck, USA), Polímeros Eudragit® S-100, Eudragit®L-100 y Eudragit® L-100-55 (Evonik, Alemania), Hidróxido de Sodio

3.2. Métodos

3.2.1. Microencapsulación de Secnidazol

En el proceso de microencapsulación se mezcló el fármaco con cada uno de los polímeros entéricos Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55, en una proporción 1:1.5 (40:60). Se prepararon soluciones de NaOH 0.1M para lo cual se pesó 0,65g de NaOH p.a y se aforó a 142ml. Se agregaron las mezclas de fármaco y polímeros (3,33g y 5g respectivamente) formando suspensiones. Las muestras se secaron en un minispray dryer (Büchi B-191, Alemania) empleando un flujo de aire de atomización de 600 L/h y temperaturas de entrada y salida de 150°C y 85°C respectivamente **(Soliman *et al.*, 2015)**.

3.2.2. Rendimiento de la microencapsulación

El rendimiento de la microencapsulación se determinó por la relación entre la masa de polvo obtenido y la de líquido alimentado al secador, expresándola en porcentaje. Quedando de la siguiente forma:

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{masa de polvo obtenido (g)}}{\text{masa de sólidos en la alimentación (g)}} * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

3.2.3. Eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación del fármaco se determinó mediante difracción de rayos X (DRX), el cual consiste en un método cualitativo y mediante calorimetría diferencial de barrido, método cuantitativo.

3.2.3.1. Difracción de rayos X (DRX) (Método Cualitativo)

Se prepararon muestras de los polímeros, los microencapsulados y de la sustancia a microencapsular, colocando una pequeña cantidad en discos porta muestras para luego ser ingresados en un difractor automático (PANalytical Empyrean, España). Con la ayuda del software Spectra Analysis se procesaron los resultados para así obtener los máximos de difracción de cada una de las muestras y compararlos entre sí. Los análisis fueron realizados en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Exactas de la Escuela Superior Politécnica del Ejército (Sede Quito).

3.2.3.2. Calorimetría diferencial de barrido (Método Cuantitativo)

El procedimiento se lo realizó en un calorímetro diferencial (60 Shimadzu, España) en colaboración con el Instituto nacional de tecnología industrial de Buenos Aires Argentina. Para el análisis se utilizaron de 2 a 3mg de cada una de las muestras, cantidad que se encerró en crisoles de aluminio para ser colocados en el equipo. Una vez dentro se realizó el barrido a un intervalo de temperatura de 0 a 350°C en una atmósfera de nitrógeno y manteniendo una velocidad de calentamiento de 2 °C/min.

3.2.4. Caracterización de secnidazol microencapsulado

En placas porta muestras se fijaron pequeñas cantidades de cada una de las muestras a ser analizadas, luego se procedió a cubrirlas de oro en un metalizador al vacío (Q150R, United Kingdom) formando una fina capa de aproximadamente 20nm de espesor, finalmente las muestras se observaron en un microscopio electrónico de barrido (TESCAN, Alemania) perteneciente al Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Exactas de la Escuela Superior Politécnica del Ejército (Sede Quito).

3.2.5. Determinación del tamaño de partícula por Difractometría de luz láser

El procedimiento se lo realizó en el Laboratorio de Biotecnología de la Facultad de Ciencias Exactas de la Escuela Superior Politécnica del Ejército (Sede Quito), aquí se preparó una suspensión con un líquido no reactivo y una pequeña cantidad de la muestra a analizar, una vez lista, esta suspensión se la colocó dentro del difractómetro de luz laser y se procedió al análisis.

3.2.6. Cuantificación de secnidazol por RP-HPLC

Se preparó una solución con una concentración de 10 µg/mL del microencapsulado en una solución de Metanol al 50% esto, con el objetivo de liberar el fármaco encerrado en las microesferas.

Para la determinación del principio activo se utilizó un sistema cromatográfico compuesto por una bomba Smartline-1000 conectada a un detector de Arreglo de Fotodiodos 2600 (Knauer, Alemania.), con un volumen de inyección de 20-µL y la señal fue procesada por el software

ClarityChrom. La fase móvil óptima para la materia prima de Secnidazol fue una mezcla desgasificada de Acetonitrilo: Buffer Fosfato de Potasio monobásico 0.05M (15:85) (v/v). Para la separación cromatográfica se utilizó una columna de Luna, 5µm RP C18, 250 x 4,0 mm.

La detección del fármaco se realizó a 310 nm debido a que el Secnidazol es visible a esta longitud de onda. La elución se llevó a cabo isocráticamente con un flujo de 0.8ml/min y una temperatura de 25°C (**Farooqui et al., 2010**).

El análisis se realizó con la ayuda y asesoramiento del laboratorio de control de calidad de la empresa Andes Kinkuna S.A.

Para la cuantificación de secnidazol presente en las microesferas se realizó una curva estándar con disoluciones del fármaco puro en concentraciones del 30% al 40% debido a que teóricamente la concentración en el microencapsulado es del 40%.

En el equipo de cromatografía líquida de alta resolución se inyectó un volumen igual de cada una de las disoluciones, obteniendo así, los cromatogramas, en los cuales se presenciaron las áreas correspondientes a cada una de las concentraciones del fármaco. Luego se elaboró una tabla con cada una de las concentraciones y sus respectivas áreas, que sirvieron para la construcción de la recta de calibración.

Finalmente se determinó la ecuación de la recta, en la cual se reemplazó el área bajo la curva obtenida con la muestra de microencapsulado, determinando así su concentración.

Con los datos obtenidos se determinó la eficiencia de microencapsulación mediante una relación entre el porcentaje real de principio activo microencapsulado y el porcentaje teórico de principio activo quedando la ecuación de la siguiente manera:

$$ME = \frac{\% \text{ Real Principio activo microencapsulado}}{\% \text{ Teórico Principio activo microencapsulado}} * 100 \text{ Ec. (2)}$$

3.3. Diseño Experimental

Mediante un test de rangos múltiples se analizaron los rendimientos de los microencapsulados, los mismos que se obtuvieron por triplicado. Los resultados se compararon entre sí mediante un análisis de varianza de sus medias (ANOVA) a un nivel de significancia $p < 0.05$.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Análisis y discusión de los resultados

4.1.1. Rendimiento del proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión

Para la determinación de los rendimientos en el proceso de microencapsulación se realizaron tres réplicas con cada uno de los polímeros manteniendo las mismas condiciones de secado, estos resultados se encuentran detallados en la Tabla 2.

Tabla 2. Rendimientos de los microencapsulados

Tratamientos	Mezcla fármaco+polímero	Temperatura de entrada (°C)	Temperatura de salida (°C)	Rendimiento %
SE1	Secnidazol+S100	150	85	65,666 ± 1,35
SE2	Secnidazol+L100	150	85	72,300 ± 0,8
SE3	Secnidazol+L100- 55	150	85	52,000 ± 2,6

*El rendimiento corresponde a un valor promedio de tres réplicas.

Los valores de rendimientos fueron obtenidos considerándose como peso final teórico la suma de los pesos independientes de cada uno de los componentes de la dispersión (fármaco, polímero, NaOH), es importante mencionar que el peso del agua no fue tomado en cuenta debido a que este componente se evaporó durante el procedimiento de secado por aspersión, razón por la cual no interviene en el peso final del producto. Los rendimientos difieren unos de otros como se lo puede observar el SE1 presentó un rendimiento de 65,666 ± 1,35%, por su parte el SE3 presentó

un valor de $52,000 \pm 2,6\%$. Estos porcentajes resultan ser bajos al compararlos con el mejor tratamiento obtenido que en este caso resultó ser el SE2 en donde se presentó un rendimiento del $72,300 \pm 0,8\%$, estos valores se asemejan a los obtenidos en un estudio de microencapsulación por emulsión/evaporación de solvente, en donde se evaluaron el polímero Eudragit® y la etilcelulosa obteniendo valores de rendimientos de 79,68% y 62,24% respectivamente (**González et al., 2005**). Quedando claro que el secado por aspersion es una técnica eficiente y que los polímeros Eudragit® superan a otro tipo de polímeros

4.1.2. Eficiencia de microencapsulación

4.1.2.1. Difractometría de rayos X (DRX)

Mediante este método se comprobó la característica cristalina que presenta el fármaco en su estado puro, al presentar un máximo de difracción muy pronunciado, indicativo de su alta cristalinidad (Figuras 1, 2, 3). Por su parte al someter los polímeros entéricos a este análisis no se observaron máximos de difracción debido a que estos poseen una estructura amorfa (**Qandil, 2013**), esto se aprecia en las Figuras 1, 2, 3.

Al comparar estos resultados con los difractogramas obtenidos en el análisis con cada uno de los microencapsulados se identificó una disminución de sus máximos de difracción asemejándose a los presentados por los polímeros solos, indicando así que el procedimiento de microencapsulación mediante secado por aspersion fue eficaz y que el fármaco quedó encerrado en las microesferas.

De forma cualitativa comparando los difractogramas, se determinó que el tratamiento con mayor eficiencia de encapsulación fue la mezcla del fármaco con el polímero Eudragit[®] L100 (figura 2), debido a que su difractograma presentó una tendencia amorfa semejante a la del polímero solo, apreciándose una disminución más notoria de los máximos de difracción en comparación a las otras formulaciones, indicativo de un recubrimiento eficiente del secnidazol por parte del polímero.

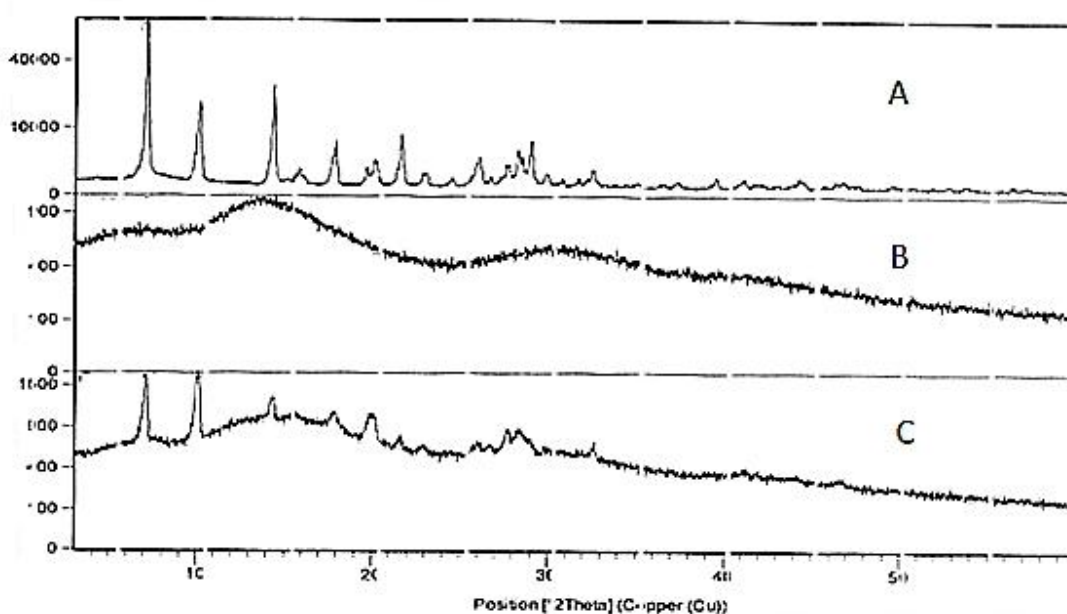


Figura 1. Difractogramas de rayos X: A) Secnidazol puro, B) Eudragit[®] S-100 y C) microencapsulado en Eudragit[®] S-100.

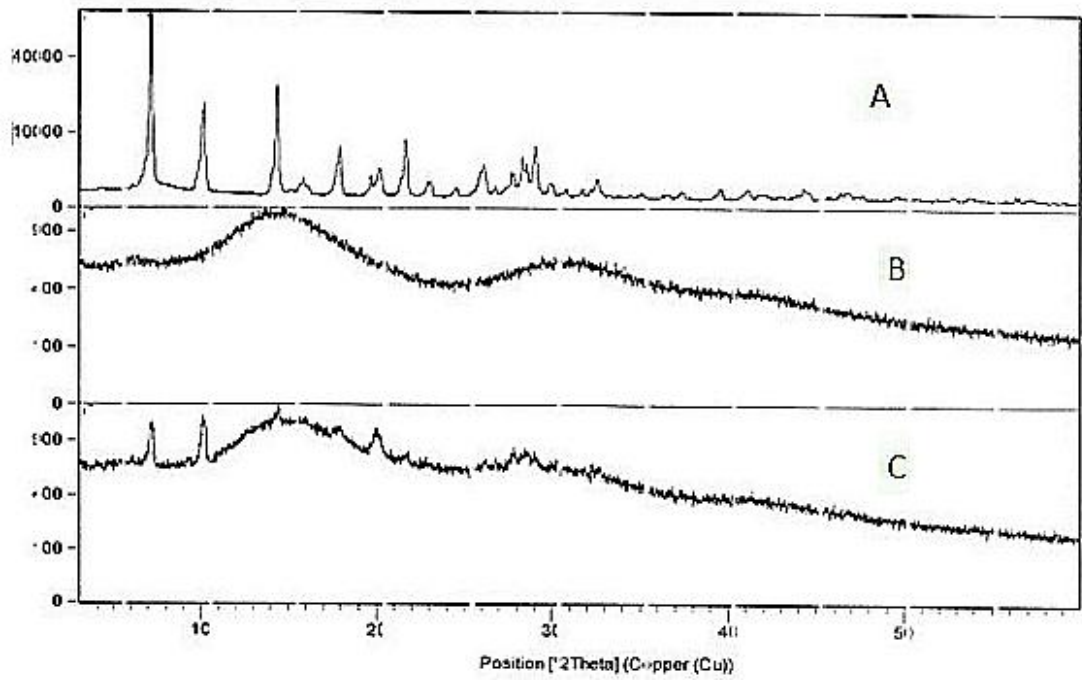


Figura 2. Difractogramas de rayos X: A) Secnidazol puro, B) Eudragit[®] L100 y C) microencapsulado en Eudragit[®] L100.

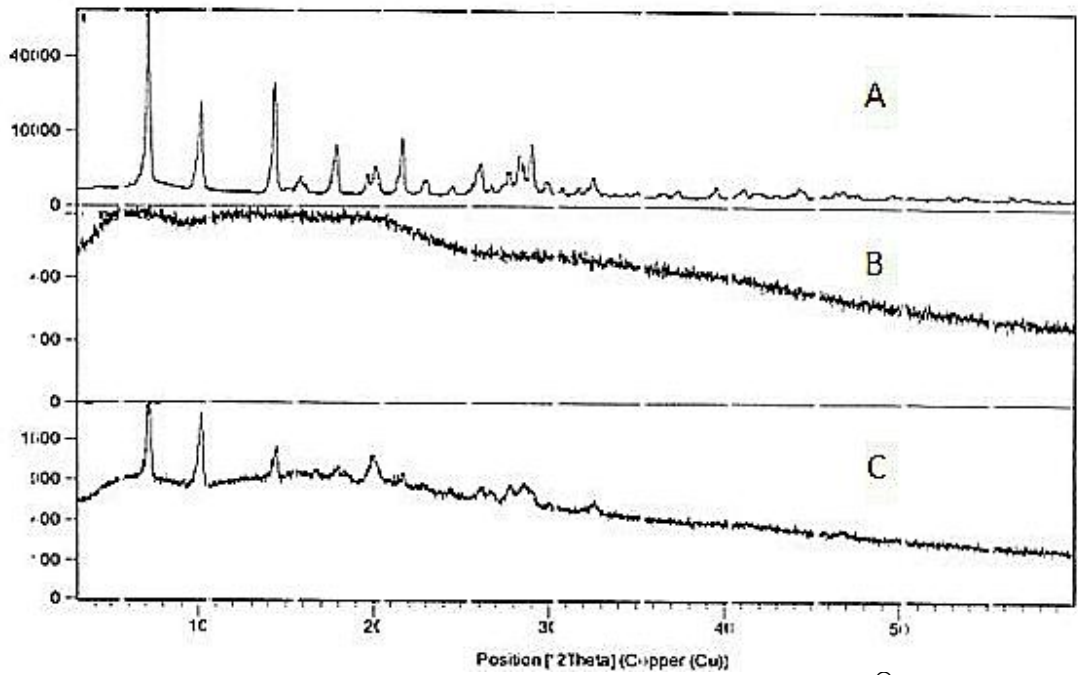


Figura 3. Difractogramas de rayos X: A) Secnidazol puro, B) Eudragit[®] L100-55 y C) microencapsulado en Eudragit[®] L100-55.

4.1.2.2. Calorimetría diferencial de barrido

En el termograma del secnidazol puro (Figura 4) se obtuvo como resultado que este presentaba una temperatura de fusión de 70,29°C, encontrándose dentro del rango de 69 a 79°C reportado por **LGC (2015)** y un calor de fusión de -191,02 J/g, esto se comprobó al observar que presentaba un pico de fusión prominente.

Al observar el resto de termogramas (Figuras 5, 6, 7) pertenecientes a los microencapsulados se determinó una disminución de este pico, además la temperatura de fusión aumentó al igual que el calor de fusión, resultados que indican la encapsulación del fármaco en la matriz polimérica.

De forma cuantitativa mediante el análisis de termogramas tanto del fármaco en su estado puro como de los diferentes microencapsulados con cada uno de los polímeros entéricos, se determinó que el tratamiento más eficaz para el proceso de microencapsulación fue el que se realizó con el polímero Eudragit® L100 ya que presentó una mayor reducción del pico de fusión lo cual hace referencia a que existe una gran compatibilidad entre el polímero y el fármaco pero sin la existencia de una reacción entre ellos que pueda alterar el producto final (**Suriñach et al., 1998**), además presentó un valor de 98,96% (Tabla 3) de eficiencia de enmascaramiento, resultando superior al resto de tratamientos.

Las temperaturas de fusión obtenidas en los termogramas para los microencapsulados con Eudragit® S 100, L 100 y L 100-55 fueron de 71,40 °C, 75,47 °C y 76,43 °C respectivamente, mientras que los puntos de fusión reportados bibliográficamente para los polímeros puros presentan valores de: 285 °C para Eudragit® L 100-55, 230,01 °C para Eudragit® L 100 y un rango de 200 a 250°C para el polímero S 100. Al comparar estos valores se observa una diferencia muy notoria, esto debido a que tanto el principio activo como los polímeros en su estado puro presentan temperaturas de

fusión diferentes entre sí, razón por la cual al formular mezclas entre estos compuestos se obtienen como resultado valores totalmente distintos a los originales (Chawla *et al.*, 2012; Schilling *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2011).

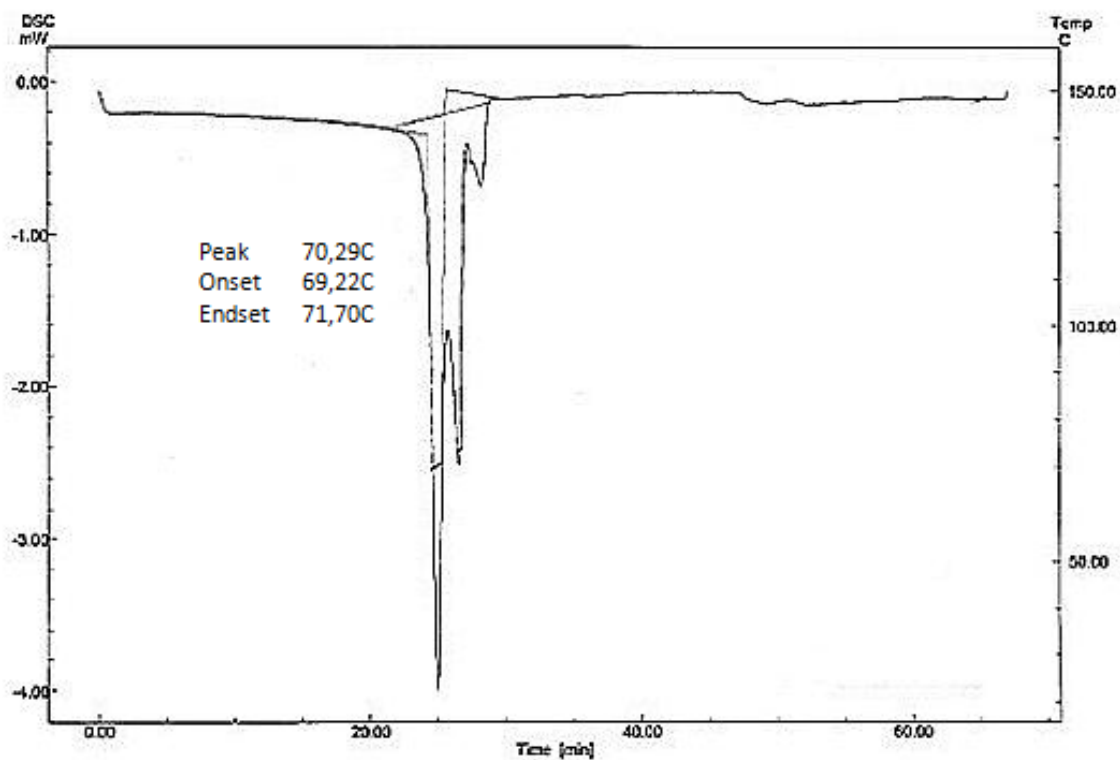


Figura 4. Termograma de Secnidazol puro.

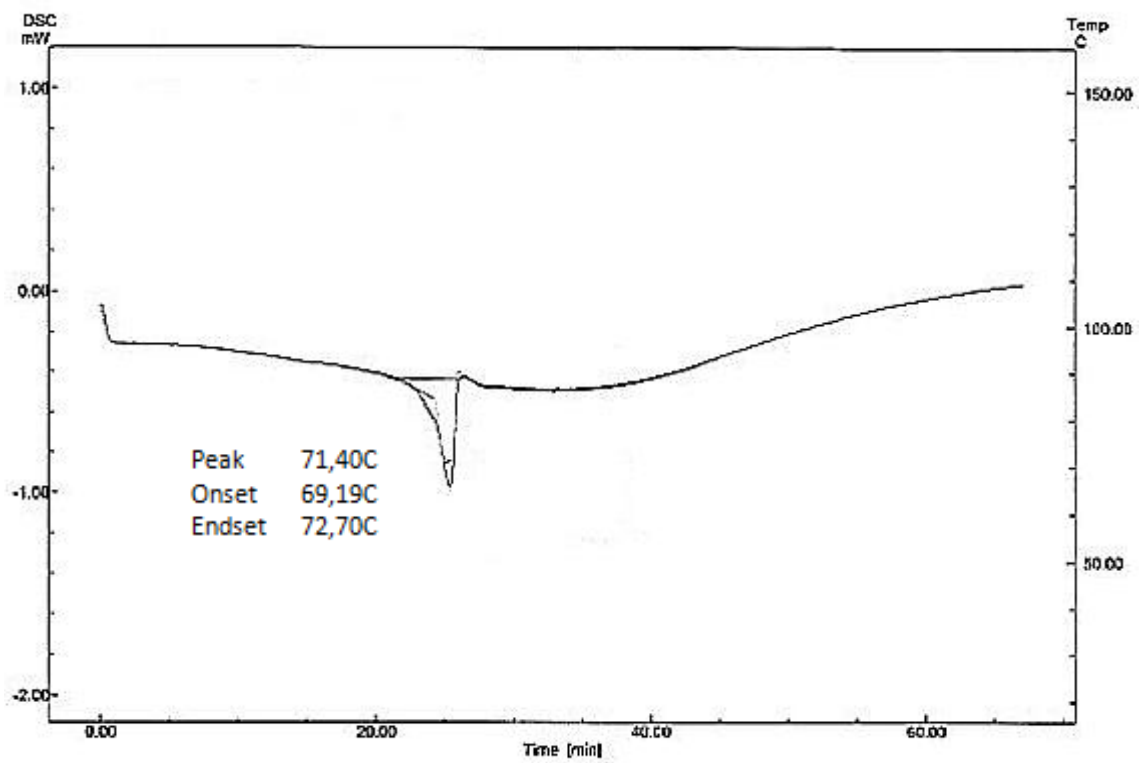


Figura 5. Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit S-100.

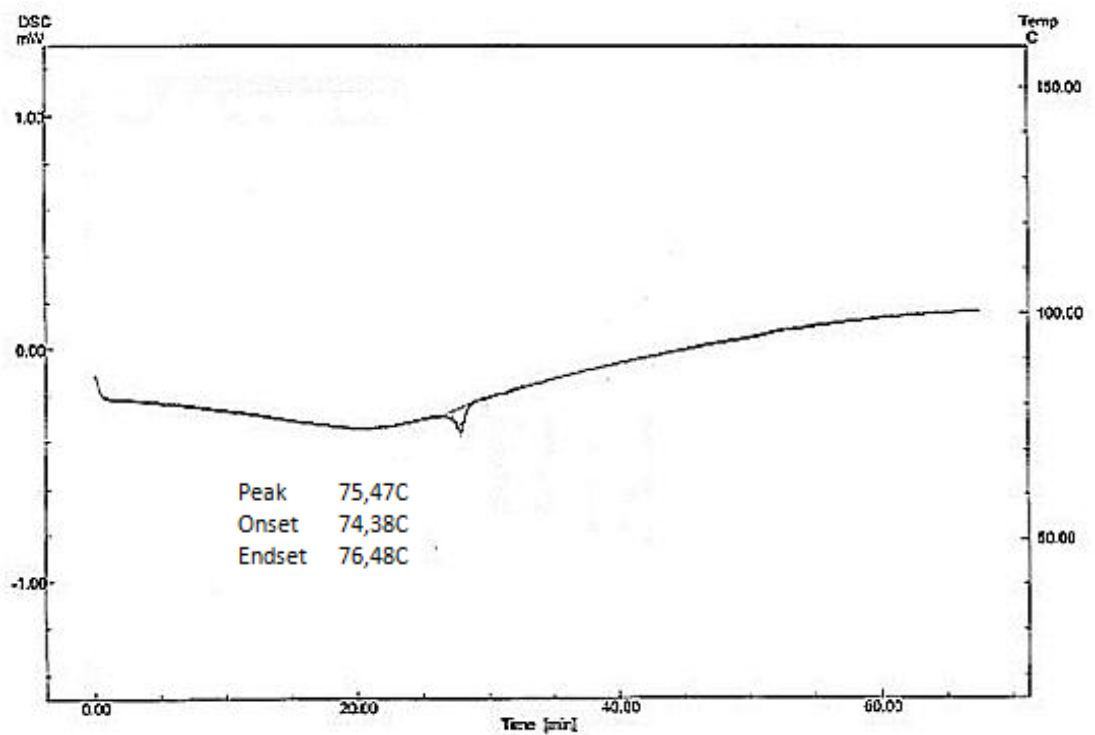


Figura 6. Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit L-100.

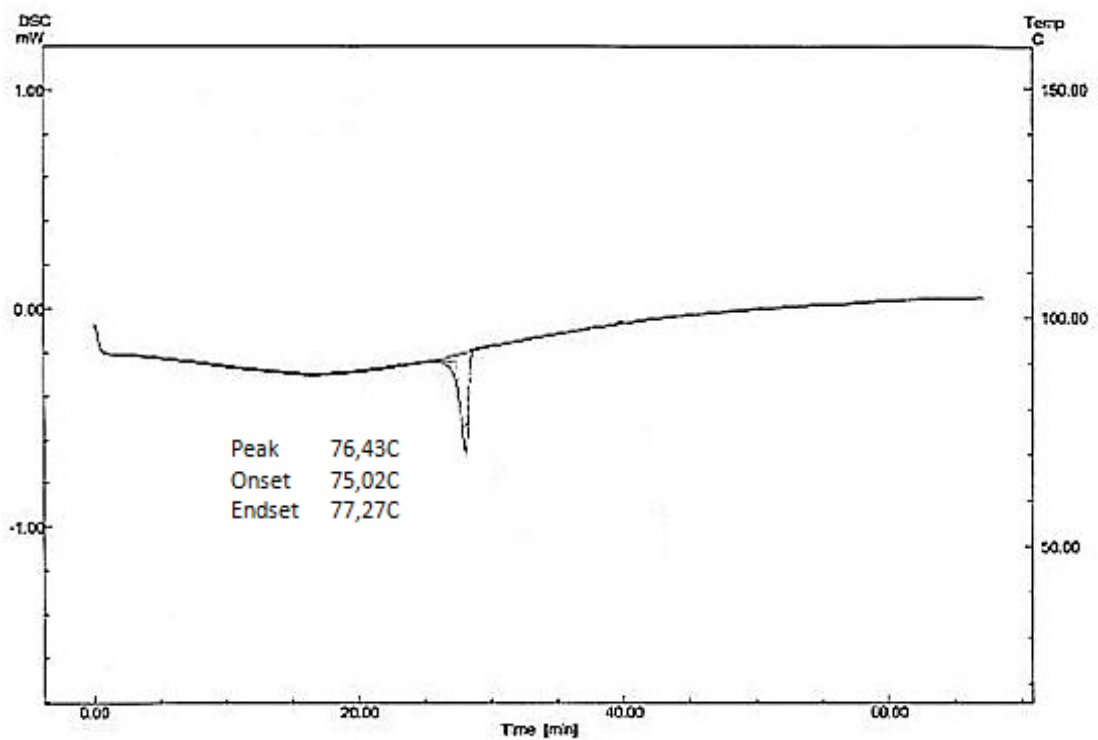


Figura 7. Termograma de Secnidazol microencapsulado en Eudragit L100-55.

Tabla 3. Eficiencia de enmascaramiento, de encapsulación y rendimiento

Indicador	Secnidazol	Eudragit S-100 + Secnidazol	Eudragit L-100 + Secnidazol	Eudragit L-100-55 + Secnidazol
Calor de Fusión (J/g)	- 191,02	- 16,49	- 1,98	- 11,09
% Cristalinidad (C_f Microencapsulado / C_f Fármaco) • 100	100	8,63	1,04	5,81
Eficiencia de encapsulación (%) 100 - % Cristalinidad	0	91,37	98,96	94,19
Temperatura de Fusión (°C)	70,29	71,40	75,47	76,43

4.1.3. Cuantificación de secnidazol por RP-HPLC

La técnica de cromatografía líquida de alta resolución de fase inversa ayudó a la separación del fármaco en el producto microencapsulado, permitiendo cuantificar la cantidad real que se microencapsuló en cada uno de los tratamientos (Tabla 4).

Tabla 4. Contenido del principio activo en el microencapsulado

Tratamientos	Cpa %
SE1	32,320 ± 0,546
SE2	33,943 ± 0,044
SE3	32,697 ± 0,566

*Los valores Cpa representan un promedio de tres réplicas por tratamiento.

Estos resultados fueron comparados con el valor teórico de 40% de principio activo, siendo el mejor tratamiento el SE2 ya que se obtuvo un valor de 33,943 ± 0,044% resultando ser el valor más cercano al teórico.

Además mediante la *Ec. (2)* se determinó la eficiencia de encapsulación en cada uno de los tratamientos con los diferentes polímeros entéricos y al igual que en los análisis anteriores el porcentaje más alto se obtuvo con el tratamiento SE2 (Tabla 5) comprobando una vez más que el mejor polímero para la microencapsulación del fármaco secnidazol resultó ser Eudragit® L-100.

Tabla 5. Eficiencia de microencapsulación

Tratamientos	Eficiencia (ME %)
SE1	80,800 ± 1,365
SE2	84,858 ± 0,110
SE3	81,742 ± 1,416

*Los porcentajes de ME representan un promedio de tres réplicas por tratamiento.

González et al. (2005) en su ensayo de microencapsulación por emulsión/evaporación de solvente reporta valores de eficiencia para Eudragit® de 76,49%, mientras que para etilcelulosa un valor de 64,36%. Notándose que las eficiencias obtenidas por el método de secado por aspersion son mucho más altas, esto quiere decir que el procedimiento es eficiente y apto para la microencapsulación de fármacos.

4.1.4. Caracterización de secnidazol microencapsulado

Se caracterizó el microencapsulado de mayor rendimiento y eficiencia (secnidazol con EUDRAGIT® L-100) mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido, en donde se observaron que las micropartículas presentaban una forma esférica con una superficie lisa, además estas se encontraban unidas a unas microesferas de menor tamaño indicativo de la eficiencia del procedimiento de secado por aspersion (**Huh et al., 2010**).

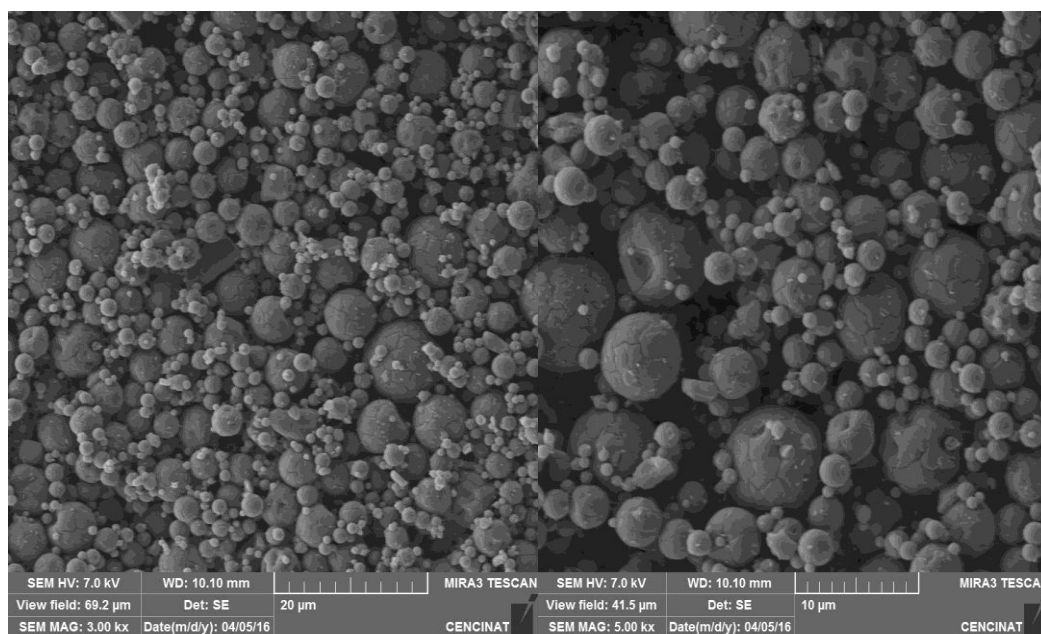


Figura 8. Secnidazol microencapsulado en Eudragit L-100. Imágenes de microscopía electrónica del mejor microencapsulado

4.1.5. Determinación del tamaño de partícula por Difractometría de luz láser

El microencapsulado de mayor rendimiento y eficiencia fue analizado en un difractómetro de luz láser para la determinación del tamaño de las microesferas que lo compone, obteniendo un tamaño promedio con un valor de $2,87 \pm 1,57 \mu\text{m}$. Este resultado se obtuvo luego de hacer pasar un rayo monocromático expandido a través de la muestra lo cual ayudó a obtener la distribución granulométrica o tamaño de partícula. Según **Alonso (2011)** el tamaño de las partículas para ser consideradas microesferas deben poseer un tamaño de 1 hasta $1000 \mu\text{m}$, por lo cual los tamaños de partículas obtenidos están dentro de los límites reportados bibliográficamente.

4.2. Análisis Estadístico

Los polímeros entéricos (Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55) ejercieron gran influencia en el procedimiento de microencapsulación mediante secado por aspersion, la misma tuvo lugar tanto en el rendimiento como en la eficiencia de microencapsulación, esto se pudo comprobar estadísticamente mediante un test de rangos múltiples.

ANOVA Table

Analysis of Variance

Source	Sum of Squares	Df	Mean Square	F-Ratio	P-Value
Between groups	642,869	2	321,434	104,55	0,0000
Within groups	18,4467	6	3,07444		
Total (Corr.)	661,316	8			

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	Mean	Homogeneous Groups
L10055	3	52,0	X
S100	3	65,6667	X
L100	3	72,3	X

Contrast	Difference	+/- Limits
S100 - L100	*-6,63333	3,50314
S100 - L10055	*13,6667	3,50314
L100 - L10055	*20,3	3,50314

* denotes a statistically significant difference.

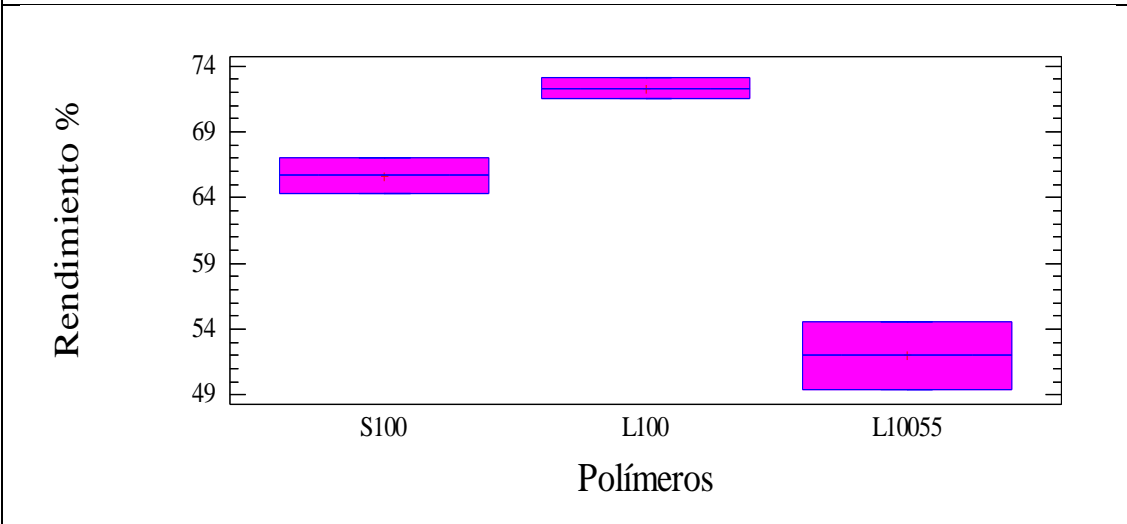


Figura 9. Test de rangos múltiples. El valor de P menor a 0,05 indica diferencia significativa

Los resultados del análisis estadístico indicaron que a un nivel de confianza del 95% existe una diferencia significativa en la utilización de los diferentes polímeros entéricos para el procedimiento de microencapsulación. Además se observó que el tratamiento con un mayor porcentaje de rendimiento fue en el cual se utilizó el polímero Eudragit® L-100 (Figura 9).

En el gráfico de promedios de rendimientos se hizo más notoria la diferencia que existía entre los diferentes tratamientos, sobresaliendo la mezcla con el polímero Eudragit® L-100 como la más apta para el proceso de secado por aspersión.

4.3. Verificación de hipótesis

Después de analizar los resultados obtenidos durante el proceso de microencapsulación del Secnidazol mediante secado por aspersión, se acepta la hipótesis alternativa (H_a), ya que la utilización de los polímeros entéricos alteran el rendimiento y eficiencia del proceso de microencapsulación. Notándose diferencias para cada serie de polímero y evidenciando a Eudragit® L-100 como el mejor para este proceso.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

Se microencapsuló el fármaco secnidazol mediante la técnica de secado por aspersión utilizando polímeros entéricos, manteniendo las mismas condiciones de relación fármaco-polímero (40:60), temperatura de entrada (85°C) y temperatura de salida (150°C) en cada uno de los ensayos. Obteniendo como resultados para los polímeros Eudragit® S-100, Eudragit® L-100 y Eudragit® L-100-55, tanto en rendimiento como en eficiencia de encapsulación valores de $65,666 \pm 1,35\%$, $72,300 \pm 0,8\%$, $52,000 \pm 2,6\%$ y $80,800 \pm 1,365\%$, $84,858 \pm 0,110\%$, $81,742 \pm 1,416 \%$ respectivamente.

Mediante difracción de rayos X se comparó la eficiencia de microencapsulación de forma cualitativa de los tres polímeros entéricos utilizados. Para ello se analizó la disminución de los máximos de difracción en cada uno de los ensayos, haciéndose más evidente esta disminución al utilizar Eudragit® L-100 por lo cual resultó ser el de mayor eficiencia.

Utilizando calorimetría diferencial de barrido se comparó la disminución de los picos de fusión en cada uno de los microencapsulados con respecto al del secnidazol puro, resultando ser el mejor ensayo el realizado con Eudragit® L-100, ya que además se observó un aumento en la temperatura de fusión al igual que el calor de fusión, y de manera cuantitativa se comprobó estos resultados al determinar la eficiencia de encapsulación mediante el cálculo del porcentaje de cristalinidad de cada uno de los productos, obteniendo valores de 91,37% para Eudragit® S-100, 98,96% para Eudragit® L-100 y finalmente un valor de 94,19% para Eudragit® L-100-55, comprobando una vez más la superioridad del polímero entérico L-100.

Al analizar el mejor microencapsulado en un microscopio electrónico de barrido se logró observar que las micropartículas presentaban una forma esférica con una superficie lisa, mientras que los resultados de la difracción de luz láser indicaron que las microesferas poseían un diámetro promedio de $2,87 \pm 1,57 \mu\text{m}$. Finalmente por RP-HPLC se determinó la cantidad de principio activo retenido en cada uno de los microencapsulados (Tabla 4) en donde al igual que en los análisis anteriores el tratamiento con EUDRAGIT® L-100 resultó ser el más óptimo.

5.2. Recomendaciones

Realizar un estudio de las condiciones adecuadas en un proceso de escalado para hacer posible la reproducibilidad de la microencapsulación del secnidazol a nivel industrial.

Ampliar la investigación mediante análisis de estabilidad del principio activo y pruebas de la efectividad antiparasitaria del fármaco microencapsulado.

Incentivar el uso de la tecnología de secado por aspersion en la industria farmacéutica para la formulación y reformulación de fármacos, con un mayor nivel de eficiencia y un aumento de la biodisponibilidad de los mismos.

Referencias Bibliográficas

- Alonso M. (2011). Microencapsulación de biocidas. Universidad del País Vasco. España. Recuperado de [https://addi.ehu.es/bitstream/10810/6944/8/2-%20Cap.II%20\(Tesis-Alonso\).pdf](https://addi.ehu.es/bitstream/10810/6944/8/2-%20Cap.II%20(Tesis-Alonso).pdf)
- Chawla A., Sharma P., Pawar P. (2012). Eudragit S-100 coated sodium alginate microspheres of naproxen sodium: formulation, optimization and in vitro evaluation. *Acta Pharm.* Vol. 62; 529-545. India
- Díaz I. (2005). Generalización de un medicamento eficaz en el tratamiento de la Giardiasis, Secnidazol 500 mg. Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba. Recuperado de <http://www.forumcyt.cu/UserFiles/forum/Textos/0303008.pdf>
- Evonik Industries. (2009). EUDRAGIT: Application Guidelines. 11th Edition. Recuperado de www.eudragit.com/guidelines
- Farooqui N., Smith A., Sharma H., Manavalan R. (2010). Analytical Method Development and Validation of Secnidazole Tablets by RP-HPLC. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* Vol.2 N°7; 412-416. India
- González N., Fernández D., Gómez M., Núñez L., Lafita O. (2005). Efecto del Eudragit y la Etilcelulosa como Agentes Retardantes de la Liberación sobre las Características Físico-Químicas y la Liberación In Vitro de Microesferas Cargadas con Zidovudina. *Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM).* Vol. 24 N°3; 350-355. Cuba
- Huh Y., Cho J., Yoon I., Choi K., Kim J., Oh E., Kim D. (2010). Preparation and evaluation of spray-dried hyaluronic acid microspheres for intranasal delivery of fexofenadine hydrochloride. *European Journal of Pharmaceutical Sciences,* Vol. 40 N°1; 9–15.

- Joshi M. (2013). Role of eudragit in targeted drug delivery. International Journal of Current Pharmaceutical Research. Vol. 5 N°2; 58-62. India
- Jyothi S., Seethadevi A., Suria K., Muthuprasanna P., Pavitra P. (2012). Microencapsulation: a review. International Journal of Pharma and Bio Sciences Vol. 3 N° 1; 509-531. India
- LGC Standard. (2015). Secnidazole. Recuperado de <http://www.lgcstandards.com/MX/es/Secnidazole/p/MM0119.00#>
- Mondragón R., Julia J., Barba A., Jarque J. (2013). El proceso de secado por atomización: formación de gránulos y cinética de secado de gotas. Boletín de la Sociedad Española de Cerámica y Vidrio Vol. 52 N° 4; 159-168. España
- Moya A., Rodríguez E., Márquez T., López B., Díaz I. (2003). Estudio de estabilidad de tabletas recubiertas de secnidazol (500 mg). Centro de Investigaciones y Desarrollo de Medicamentos (CIDEM). La Habana, Cuba. Recuperado de http://www.latamjpharm.org/trabajos/22/3/LAJOP_22_3_1_5_J139LKA FG2.pdf
- Parra R. (2010). Microencapsulación de Alimentos. Revista Facultad Nacional de Agronomía. Vol. 62 N°2; 5669-5684. Colombia
- Pedroza R. (2002). Alimentos microencapsulados: particularidades de los procesos para la microencapsulación de alimentos para larvas de especies acuícolas. Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrición Acuícola. Cancún, México: Recuperado de http://www.uanl.mx/utillerias/nutricion_acuicola/VI/archivos/A26.pdf
- Pérez H., Bueno G., Brizuela M., Tortoló K., Gastón C. (2013). Microencapsulación: una vía de protección para microorganismos probióticos. Red de Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal Vol. 47 N° 1; 14-25. Cuba

- Qandil, A. M., Assaf, S. M., Al Ani, E. A., Yassin, A. E., & Obaidat, A. A. (2013). Sustained-release diclofenac potassium orally disintegrating tablet incorporating eudragit ERL/ERS: Possibility of specific diclofenac-polymer interaction. *Journal of Pharmaceutical Investigation*, 43(3), 171–183. <http://doi.org/10.1007/s40005-013-0065-4>
- Schilling S., Lirola H., Shah N., Waseem A., McGinity J. (2010). Influence of plasticizer type and level on the properties of Eudragit S100 matrix pellets prepared by hot-melt extrusion. *Journal of Microencapsulation*. Vol. 27 N° 6; 521-532. USA
- Shen X., Yu D., Zhu L., Branford C., White K., Chatterton N. (2011). Electrospun diclofenac sodium loaded Eudragit® L 100-55 nanofibers for colon-targeted drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*. Vol. 408; 200-2007. España
- Soliman M., Elmowafy E., Almogerbi A., Holayel S., ElShamy A. (2015). Dual Buoyant/Mucoadhesive Macroporous Polypropylene Microparticles For Gastric Delivery Of Repaglinide. *International Journal of Drug Delivery*. Vol 7 N°4. India
- Suriñach S., Baro D., Bordas S., Clavaguera N., Clavaguera M. (1998). La calorimetría diferencial de barrido y su aplicación a la Ciencia de Materiales. Departamento de Física de la Universidad Autónoma de Barcelona. Vol 31 N° 1. España
- Villena M, Hernández M, Lara G, Martínez R. (2009). Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos. *Revista ARS Pharmaceutica* Vol. 50 N°1; 43-50. España
- Umer H., Nigam H., Tamboli A., Moorthi S. (2011). Microencapsulation: process, techniques and applications. *International Journal of Research in Pharmaceutical and Biomedical Sciences* Vol. 2 N° 2; 474-481. India

Venkatesan P., Manavalan R., Valliappan K. (2009). Microencapsulation: a vital technique in novel drug delivery system Vol. 1 N° 4; 26-35. India

Wisniewski R. (2015). Spray drying technology review. 45th International Conference on Environmental Systems. Recuperada de https://ttu-ir.tdl.org/ttu-ir/bitstream/handle/2346/64598/ICES_2015_submission_68.pdf?sequence=1

ANEXOS

Anexo A: microencapsulación de secnidazol

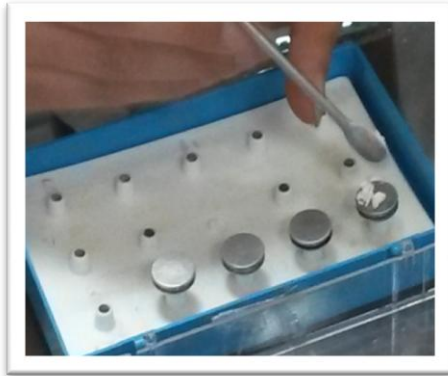


Anexo B: Difractometría de rayos X (DRX)





Anexo C: Microscopía electrónica de barrido



Anexo D: Cuantificación del fármaco por RP-HPLC

