

Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos

MICROESFERAS BIODEGRADABLES DE LIBERACIÓN CONTROLADA PARA ADMINISTRACIÓN PARENTERAL

Diana Ramos Picos,¹ Martha Gómez Carril,² Dianelis Fernández Mena³ y Leopoldo Núñez de la Fuente⁴

RESUMEN

Se realiza una revisión bibliográfica sobre un nuevo sistema de administración de fármaco: sistemas biodegradables de acción controlada en forma de microesferas. Se describen las ventajas y desventajas, los métodos de obtención y variables que influyen en las características y comportamiento del producto final. También se hace referencia a los polímeros y principios activos más usados en la elaboración de estos sistemas y a los mecanismos de liberación del principio activo desde las microesferas.

Descriptores DeCS: POLIMEROS/metabolismo; MICROESFERAS; ADMINISTRACION FARMACEUTICA.

El interés de la liberación de drogas a través de portadores se ha incrementado considerablemente durante los últimos años. Las razones son obvias, si el portador tiene el potencial para dirigir la droga a su sitio de acción, un efecto farmacológico óptimo podría obtenerse y al mismo tiempo, los efectos adversos de la droga podrían disminuir.¹

Es un hecho conocido que la distribución del fármaco una vez administrado al organismo puede provocar

efectos secundarios en otras zonas de éste. Se debe establecer por tanto, un adecuado balance entre los efectos beneficiosos producidos por el medicamento y las reacciones adversas que pueden desencadenarse en diferentes órganos.²

Este deseo de dirigir las drogas a los órganos blancos específicos es un viejo sueño discutido desde comienzo del siglo.¹

La ciencia farmacológica actual encamina sus estudios hacia la búsqueda de un vehículo capaz de transportar el

¹ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Investigadora Aspirante.

² Master en Ciencias en Tecnología y Control de los Medicamentos. Investigadora Auxiliar.

³ Licenciada en Ciencias Farmacéuticas. Especialista.

⁴ Master en Ciencias en Técnicas. Investigador Aspirante.

fármaco hasta su lugar de acción (tejido diana), a fin de evitar, en lo posible, sus efectos adversos. De acuerdo con este criterio, se han desarrollado últimamente nuevos sistemas de administración de fármacos,² como los liposomas, nanopartículas y micropartículas, entre otros, siendo portadores coloidales particulares que se usan como sistemas de liberación de drogas.¹

Los sistemas de transporte a base de materiales sólidos poliméricos en forma de nanopartículas y micropartículas presentan mayores ventajas que los liposomas en cuanto a estabilidad y reproducibilidad, en un intento de favorecer la penetración de los fármacos en zonas corporales de difícil acceso (barreras hísticas, neoplasias, etc.).^{3,4} Por un lado deben evitarse concentraciones excesivas que provoquen mayor frecuencia y gravedad de efectos colaterales y por otro, concentraciones insuficientes que pueden originar la pérdida del efecto terapéutico.⁵

Los sistemas de liberación de fármacos consistentes de polímeros biodegradables permiten controlar la liberación de fármacos efectivamente dentro del rango terapéutico deseado, evitando las consecuencias de un exceso o un déficit, que podrían comprometer su eficacia antes de la administración de la siguiente dosis. Ellos consisten de una matriz polimérica o un dispositivo adecuado que contiene el principio activo y pueden administrarse fácilmente por la vía parenteral.

El objetivo del presente trabajo consistió en recopilar algunos datos referentes al desarrollo de sistemas de liberación controlada a base de polímeros biodegradables en forma de microesferas (ME), que servirán de base teórica para acometer un trabajo experimental en el

cual se pretende encapsular un fármaco para la terapia del cáncer.

Ventajas y desventajas

Ventajas

- Complacencia para el paciente, pues con una sola dosificación se logra un efecto terapéutico prolongado.⁶
- El sistema proporciona el grado de control necesario para lograr un orden de liberación del principio activo cercano a cero.⁷
- La velocidad y duración de la liberación del principio activo *in vivo* pueden ser determinadas mediante la selección del tamaño de las partículas.⁸
- Las partículas son lo suficientemente pequeñas para ser administradas por medio de una inyección y se biodegradan en el organismo sin causar ningún efecto indeseable en el sitio de inyección o implantación.⁷
- Se evita el efecto del primer paso.⁶
- Estabilidad física, química y microbiológica.
- Se reducen las concentraciones sistémicas de la droga y se promueve la concentración local en el órgano blanco, de manera que se obtiene la máxima actividad farmacológica con mínimos efectos adversos sistémicos.⁸
- Protección del principio activo frente a posibles inactivadores en el medio biológico antes de alcanzar el lugar de acción.²
- Fácil fabricación con buena reproducibilidad.

Desventajas

- En el caso que ocurra alguna reacción adversa o complicación no se podrá

retirar el sistema implantado; solamente se recuperará el estado inicial cuando el sistema se haya degradado totalmente y se libere y elimine completamente el principio activo.

Métodos de obtención

Los métodos de obtención comúnmente empleados, encontrados en la literatura son:

- Evaporación del solvente.^{7,8-31}
- Separación de fases.

La evaporación del solvente es el método ampliamente usado en la preparación de ME hechas de polímeros biodegradables. Primeramente se requiere la formación de una emulsión que puede ser: aceite en agua (o/w), aceite en aceite (o/o) y agua en aceite en agua (w/o/w). La elección de la naturaleza de la fase interna y externa depende de las propiedades hidrofílicas-hidrofóbicas del principio activo que se va a asociar con el transportador.^{2,32}

Para acelerar el proceso de formación de las ME, una presión reducida y/o calor se aplica frecuentemente a la emulsión formada, en tanto que se agita para evaporar el solvente. Las ME formadas son lavadas y recolectadas por filtración o centrifugación,⁹ y secadas por liofilización u otro proceso de secado.

La ME obtenidas pueden ser esterilizadas por irradiación o se puede trabajar bajo condiciones asépticas durante todo el proceso de preparación.

Aunque este método es conceptualmente simple, muchas variables pueden influir en el producto final, tanto en las propiedades físico-químicas, incluyendo la eficiencia de encapsulación,¹³ como en el

comportamiento de la liberación del principio activo desde las ME *in vitro* e *in vivo*. Estas variables son: la velocidad de agitación en la emulsificación, el tipo y concentración del tensioactivo, la relación de la fase dispersa-fase continua,¹⁸ las condiciones en las que el solvente es evaporado.¹⁵ También influye el tipo y porcentaje de principio activo, el tipo de solvente, la relación principio activo-polímero, los polímeros empleados, así como su concentración y masa molecular.¹³

Polímeros y principios activos empleados

La necesidad de biodegradabilidad en un sistema inyectable o implantable es evidente. Los poliésteres son particularmente atractivos para sistemas poliméricos inyectables de liberación controlada por su disponibilidad, biodegradabilidad, no toxicidad, biocompatibilidad y por ser fácilmente combinables con una amplia variedad de principios activos. Entre éstos, el uso de ácido poli-DL-láctico y/o ácido poli-D-láctico-co-glicólico ha prevalecido por la ausencia total de toxicidad de los productos de degradación y su modulable velocidad de degradación.^{16,33}

Otro poliéster, el poli-E-caprolactona, presenta una mayor vida media biológica en el cuerpo y mayor permeabilidad que el ácido poli-DL-láctico, y se ha usado en el diseño de sistemas biodegradables para encapsular esteroides contraceptivos y ciclosporina A.²⁷

Muchas combinaciones de drogas y materiales control/soporte se han desarrollado. En la tabla se muestran diversos ejemplos de principios activos y polímeros empleados para la preparación de ME biodegradables.

Los principios activos antes mencionados abarcan diferentes categorías farmacológicas, entre las que se encuentran: citostáticos, inmunosupresores, antiinflamatorios no esteroideos, antibióticos, analgésicos narcóticos, anticonceptivos, anestésicos, antagonistas narcóticos, proteínas y péptidos.³⁴⁻⁶⁰

TABLA. Ejemplos de principios activos y polímeros empleados para la preparación de ME biodegradables

Principio activo	Polímeros	Referencia
Doxorrubicina	L-PLA	(8),(10),(34-37)
Cisplatino	DL-PLA	(17),(21),(38-40)
5-fluorouracilo	L-PLA	(41)
	PLGA	(42)
Lomustina	DL-PLA	(14)
Carmustina	PLGA	(24)
Metotrexato	PLGA	(29)
Cefazolina sódica	PLGA	(43)
Ciprofloxacina	L-PLA	(44)
Indometacina	DL-PLA	(13)
	PLGA	(18)
Piroxicamo	DL-PLA	(12),(13)
Morfina	DL-PLA	(11)
	PLGA	(11)
Progesterona	DL-PLA	(14),(45)
Levonogestrel	PLGCLA	(16)
Nafarelin acetato	PLGA	(46),(47)
Noretisterona	PLGA	(48)
Prednisolona acetato	PGA	(48)
Bupivacaína	DL-PLA	(50)
	PLGA	(50)
Ciclosporina A	PCL	(27)
	DL-PLA	(51)
	PLGA	(27),(51),(52)
Tetosterona	PLGA	(53)
Albumina	DL-PLA	(6)
	PLGA	(9),(15),(28)
Lidocaína	L-PLA	(25)
	PLGA	(25)
Insulina	DL-PLA	(53)
Metadona	DL-PLA	(23)
Calcitonina	PLGA	(54)
Acetazolamida	PLGA	(55)
Timolol maleato	PLGA	(19)

Leyenda: L-PLA: ácido poli-L-láctico; DL-PLA: ácido poli-DL-láctico; PLGA: ácido poli-DL-co-glicólico; PGA: ácido poli-glicólico; PCL: poli-E-aprolactona; PLGCLA: ácido poli-DL-láctico-co-glicólico-co-E-caprolactona.

Mecanismos de liberación del principio activo desde las microesferas

La liberación de principios activos convencionales desde ME de ácido poliláctico/poliglicólico generalmente ocurre por difusión a través de la matriz del polímero, así como a través de los poros de la estructura del polímero. Sin embargo, la biodegradación de la matriz del polímero y disolución del polímero degradado continuamente cambia la geometría de la ME y la textura de la matriz del polímero. Como resultado, el modelo de liberación de principios activos es una combinación de difusión y degradación.⁶¹

Debido a que la biodegradación del polímero generalmente involucra la erosión de la masa, la ME toma agua antes de comenzar la degradación de la matriz y disolución. Después que la hidratación de la matriz del polímero ha ocurrido, la molécula de principio activo encapsulado comienza a disolverse en el medio acuoso y difunde fuera de la matriz del polímero, por lo tanto, el mecanismo de liberación de principios activos puede verse como en 3 etapas:

1. Una liberación inicial del principio activo enlazado a la superficie o embebida en la región superficial de la ME.
2. Liberación difusional del principio activo a través de la matriz del polímero y a través de los poros durante la degradación de la matriz.
3. Liberación erosional del principio activo por la desintegración de la matriz del polímero y disolución después que la matriz pierde su integridad y las cadenas del polímero son degradadas a un tamaño lo suficientemente pequeñas como para ser solubilizadas.

Todas estas etapas pueden desempeñar una parte importante en el proceso de liberación, lo que depende de la naturaleza del principio activo encapsulado, las propiedades físico-químicas del polímero y la estructura de la ME.

El perfil de liberación de un principio activo desde la ME depende en gran parte, de la distribución del principio activo. Si el principio activo está heterogéneamente distribuido en la matriz del polímero, la curva de liberación puede poseer un modelo trifásico. Si el principio activo está homogéneamente distribuido en la matriz del polímero la curva de liberación puede poseer un modelo bifásico, es decir, la primera fase no ocurre porque no existe principio activo enlazado a la superficie de la ME.⁶¹

En el caso de proteínas y péptidos no hay difusión a través de la matriz del polímero sólido porque los principios activos no son solubles en el polímero, solamente ocurre difusión a través de los poros o canales acuosos. Estos canales acuosos facilitan la liberación de principios activos solubles en agua. Luego

de este primer mecanismo ocurre la liberación por degradación del polímero que está asociado con la generación de porosidad, debido a la toma de agua y final desintegración de la matriz del polímero.

Existen varios factores que afectan la liberación del principio activo desde estos sistemas. Entre ellos se encuentran la composición y masa molecular del polímero, el contenido de principio activo y el tamaño y porosidad de la microesfera.⁶¹

CONCLUSIONES

Este trabajo ha mostrado la necesidad de hacer un diseño adecuado para la obtención de microesferas biodegradables, en el que se tengan presentes todos los factores que influyen en la calidad farmacéutica del sistema de liberación controlada para la administración parenteral de fármacos de alto riesgo al hombre y con el cual es necesario lograr el efecto terapéutico deseado.

SUMMARY

A bibliographic review is made on a new system of drug administration: biodegradable systems of controlled action in the form of microspheres. The advantages and disadvantages, as well as the methods of obtention and the variables influencing on the characteristics and behaviour of the finished product are described. Reference is made to polymers and to those active principles which were more used in the preparation of these systems and to the release mechanism of the active principle from the microspheres.

Subject headings: POLYMERS/metabolism; MICROSPHERES; PHARMACY ADMINISTRATION.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Edman P. Solid microspheres as drug delivery systems. En: Sartoreli AC, ed. Methods of drug delivery. New York: Pergamon Press; 1985:23.
2. Valero J, Egea MA, Alsina MA, García ML. Sistemas poliméricos de administración de fármacos. 1985; (sept-oct):93-100.

3. Alonso MJ, Blanco J, Vila Jato LL. Las nanopartículas como sistemas de liberación de medicamentos. A. E. H. IX 1985(4):205-18.
4. Benoit JP, Couvreur P, Devissaguet JP, Fessi H, Puisieux F, Roblot-Treup L. Les formes vectorisées ou a distribution modulée, nouveaux systèmes d'administration médicaments. J Pharm Belg 1986;41(5):319-29.
5. Beck LR, Pope VZ. Controlled-release delivery systems for hormones. A review of their properties and current therapeutic. Drugs 1984;(27):528.
6. Tice TR, Gilley RM. Preparation of injectable controlled release microcapsules by a solvent evaporation process. En: Advances in Drug Delivery Systems. New York: Ed Elsevier Science Publishers BV; 1986:343.
7. Rivera R, Alvarado G, Aldaba S, Flores C, Hernández A. Esteroides microencapsulados como una alternativa en anticoncepción de acción prolongada. En: Pérez Palacios G, ed. Avances recientes en la regulación de la fertilidad. México, DF: Piensa;1987:149-70.
8. Ike O, Shimizu Y, Ikada Y. Degradation and antitumor effect of adriamycin containing poly (L lactic acid) microspheres. Biomaterials 1991;(12):757-62.
9. Blanco Prieto MJ, Fattal E, Delie F, Dauge V, Roques BP, Couvreur P. Encapsulation of a peptide derived from Cholecystikinin in PLGA microspheres designed for intracranial administration 14 th Pharmaceutical Technology Conference, Barcelona, Proceedings, 1995;vol 1:469-76.
10. Wada R, Hyon S-H, Ike O, Watanabe S, Shimazu Y, Ikada Y. Preparation of lactic acid oligomer microspheres containing anticancer drug by o/o type solvent evaporation process. Polymeric Mater Sci Eng 1988;(59):803-6.
11. Polard E, Le Corre P, Chevanne F, Le Verge R. Morphine-loaded polylactide and poly-lactide-co-glycolide microspheres: *in vitro* and *in vivo* evaluation. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings, 1995;vol 1:32-42.
12. Armstrong DJ, Elliott PNC, Ford JL, Guiziou B, Mc. Carthy GP, Rostron C. Investigation of *in vitro* release of NSAID'S from PLA microspheres. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings, 1995;vol 1:43-51.
13. Armstrong DJ, Elliott PNC, Ford JL, et al. Preparation and characterization of PLA- NSAID microspheres using variations of a solvent evaporation Technique. 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona: Proceedings 1995;vol 1:477-81.
14. Benita S, Benoit JP, Puisieux F, Thies C. Characterization of drug-loaded poly (DL lactide) microspheres. J Pharm Sci 1984;73(12):1721-28.
15. Soriano I, Delgado A, Díaz RV, Evora C. Use of surfactans in polylactic acid protein microspheres. Drug Dev Ind Pharm 1995;(21):549-58.
16. Gu Z-W, Ye W, Yang J. Biodegradable block copolymer matrices for long acting contraceptive with constant release. J Controlled Release 1992;(22)(1):3-14.
17. Ike O, Shimizu Y, Wada R, Hyon S-H, Ikada Y. Controlled cisplatin delivery system using poly (DL lactic acid). Biomaterial 1992;(13):230-4.
18. Conti B, Genta I, Modena T, Pavanetto F. Investigation on process parameters involved in poly lactide-co-glycolide microspheres preparation. Drug Dev Ind Pharm 1995;(21):615-22.
19. Stureson C, Carlfors J, Edsman K, Andersson M. Preparation of biodegradable poly (lactic-co-glycolic) acid microspheres and their *in vitro* release of timolol maleate. Int J Pharm 1993;(89):235-44.
20. Julienne MC, Alonso Ma J, Gómez JL, Benoit JP. Preparation of poly (DL lactide/glycolide) nanoparticles of controlled particle size distribution: application of experimental designs. Drug Dev Ind Pharm 1992;(18):1063.
21. Sukukara Ch, Takahashi T, Hagiwara A. Controlled release of cisplatin from lactic acid oligomer microspheres incorporating cisplatin: *in vitro* studies. J Controlled Release 1992;(22):69-73.
22. Spenlehaver G, Vert M, Benoit JP, Chabot F, Veillard M. Biodegradable cisplatin microspheres prepared by the solvent evaporation method: morphology and release characteristic. J Controlled Release 1988;(7):217-29.
23. Delgado A, Evora CM, Llabrés M. Degradación de microesferas de DL-PLA- Metadona base. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España: Proceedings, 1995:61.
24. Ruz V, Gel ME, Bernabeu JA, Camacho MA, Torres AI. Oil-in-water and non-aqueous systems for the preparation of BCNU loaded microspheres by the solvent evaporation technique. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:57.
25. De las Rivas B, Molina C, Terreros A, López E. Estudio de micropartículas de polímeros de los ácidos láctico y glicólico preparadas por el método de evaporación del solvente. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:59.
26. Berges L, Chacón M, Molperez J. Encapsulation efficiency of cyclosporin A in poly DL-lactide-co-glycolide colloidal drug carriers. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:52.

27. García F, Guzmán M, Malperez J, Aberturas R, Chacón M, Berges L. *In vitro* and *in vivo* studies of cyclosporin A loaded microspheres. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:53.
28. Blanco MD, Alonso MJ. Factors affecting protein encapsulation and release from PLGA nanospheres. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:54.
29. Karunakar S, Wahi SP. Preparation and *in vitro* characterization of metotrexate loaded poly (DL-lactide-glycolide) microspheres. International Federation of Pharmacy (FIP), Sweden, 1995:138.
30. Gamisans F, Lacoulonche F, Chauvet A, Espina M, García ML, Egea MA. Flurbiprofen-loaded nanospheres: analysis of the matrix structure by thermal methods. *Int J Pharm* 1999;179(1):37-48.
31. Quintanar-Gerrero D, Allemann E, Fessi H, Doelker E. Preparation techniques and mechanisms of formation of biodegradable nonoparticles from preformed polymers. *Drug Dev Ind Pharm* 1998;24(12):1113-28.
32. Kawashina Y, Yamamoto H, Takeuchi H, Hino T, Niwa T. Properties of a peptide containing DL lactide/glycolide copolymer nanospheres prepared by novel emulsion solvent diffusion methods. *Eur J Pharm Biopharm* 1998;45(1):41-8.
33. Leroueil-Le Verger M, Fluckiger L, Kim YI, Hoffman M, Maicent P. Preparation and characterization of nanoparticles containing an antihypertensive agent. *Eur J Pharm Biopharm* 1998;56(1 3):197-208.
34. Ike O, Watanabe S, Nakamura T. Released and degradation characteristic and antitumor effect of adriamycincontaining poly-L-lactic acid microspheres: implant materiales in biofunction. En: Putter C, Langer GL, Graot K, Lee AJC, eds. *Advance in biomaterials*. Amsterdam: The Netherlands: Elsevier. 1988;vol 8:257-62.
35. Ike O, Hitomi S, Wada R. Clinical studies of adriamycin containing poly (L-lactic acid) microspheres into the pleural cavity of patients with pleuritis carcinomatosa. *Advance in Biomaterials* 1991;(9):627-32.
36. Ike O, Shimizu Y, Hitomi S, Wada R, Ykada Y. Treatment of malignant pleural effusions with doxorubicin hydrochloridecontaining poly (L-lactic acid) microspheres. *Chest* 1991;(99):911-5.
37. Ike O, Hitomi S, Wada R, Watanabe S. Administration of the adriamycin containing poly (L-lactic acid) microspheres into the pleural cavity of patients with malignant pleural effusions. *Drug Delivery Systems* 1990;5:23-7.
38. Ike O, Wada R, Kusanoi Y. Cis-diaminedichloro-platinum delivery systems using poly (lactic acid). *Drug Delivery Systems* 1990;(5):29-32.
39. Spenlehaver G, Veillard M, Benoit JP. Formation and characterization of poly (DL- lactide) microspheres for cemoemobilization. *J Pharm Sci* 1986;(75):750-5.
40. Verrijk R, Smolders IJH, Bosnie N, Begg AC. Reduction of systemic exposure and toxicity of cisplatin by encapsulation in poly-lactide-co-glycolide. *Cancer Res* 1992;(52):6653-6.
41. Hirano M. Studies on the new anticancer preparation, a fluorouracil polyglycolic acid-composite and its therapeutic evaluation. *J Jap Surg Soc* 1984;(85):1508-17.
42. Niwa T, Takeuchi H, Hino T, Kunou N, Kamashima Y. Preparation of biodegradable nanospheres of water soluble and insoluble drugs DL-lactide/glycolide copolymer by a novel spontaneous emulsification solvent diffusion method and the drug release beaviour. *J Controlled Release* 1993;(25):89-98.
43. Jacob E, Cierny G, Fallon MT, Neill JFMc, Siderys GS. Evaluation of biodegradable cefazolin sodium microspheres for the prevention of infection in rabbits with experimental opentibial fractures stabilized with internal fixation. *J Orthop Res* 1993;(11):404-11.
44. Teupe C, Meffert R, Winckler S, Ritterfeld W, Tormala P, Brug E. Ciprofloxacin impregnated poly L lactic acid drug carrier: new aspects of a resorbable drug delivery systems in local antimicrobial treatment of some infections. *Arch Orthop Trauma Surg* 1992;(112):33-5.
45. Benoit JP, Courteille F, Thies C. A physicochemical study of the morphology of progesterone-loaded pol (DL-lactide) microspheres. *Int J Pharm* 1986;(26):95-102.
46. Sanders LM, Kell BA, Rae GIMc, Whitehead GW. Prolonged controlled release of nafarelin, a luterizing hormone releasing hormone analogue from biodegradable polymeric implant: influence of composition and molecular weight of polymer. *J Pharm Sci* 1986;(75):356-60.
47. Sanders LM, Rae GIM, Vitale MK, Kell BA. Controlled delivery of an LHRH analogue from biodegradable injectable microspheres. En: Anderson JM, ed. *Advances in drug delivery systems*. Amsterdam: Elsevier. 1986:187-95.
48. Beck LR, Pope VZ, Flowers CE, et al. Poly (DL-lactide-co-glycolide) norethisterone microcapsules. *Biol Reprod* 1983;28:186-95.
49. Redmon MP, Hickey AJ, Luca PP de. Prednisolone-21-acetato poly (glycolic acid) microspheres: influence of matrix characteristic on release. *J Controlled Released* 1989;9:99-9.

50. Le Corre P, Le Guevello P, Gajan V, Chevanne F, Le Verge R. Preparation and characterization of bupivacain-loaded poly-lactide and polylactic-co-glycolic acid microspheres. *Int J Pharm* 1994;(107):41-9.
51. Harris E, Ramtoola Z, Kelly JG. Preparation and *in vitro* characterization of biodegradable cyclosporin-loaded micro- and nanoparticles 14 th Pharmaceutical Technology Conference. Barcelona. Proceedings 1995;vol 1:301-2.
52. Lamas MJ, Sánchez A, Villa Jato JL. Nanoparticules for the intravitreal administration of cyclosporin A: a tolerance study. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada de Medicamentos. Santiago de Compostela, España, 1995:104.
53. Soriano Torres I, Evora CM, Llabrés M. Liberación de insulina desde microesferas de DL-PLA. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:60.
54. Díaz RV, Llabrés M, Evora CM. Microesferas de PLGA/calcitonina. Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada, Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:79.
55. Pérez MJ, Coriat LA, Díaz F, Rabasco AM. Influencia de la fase orgánica y el tiempo de agitación en la elaboración de nanopartículas de PLGA cargadas con acetazolamida. I Congreso Hispano-Luso de Liberación Controlada. Santiago de Compostela, España, Proceedings, 1995:103.
56. Morlock M, Koll H, Winter G, Kissel T. Microencapsulation of rh erythropoietin, using biodegradable poly (DL-lactide-co-glicolide): protein stability and the effects of stabilizing excipients. *Eur J Pharm and Biopharm* 1997;(43):29-36.
57. García L, Abu-Izza K, Lu DR. Biodegradable cisplatin microsphere for direct brain injection, preparation, characterization. *Pharm Dev Technology* 1997;(2):53-65.
58. Salmore MD, Hernández PJ, Cerezo A. Encapsulation study of 6 methylprednisolone in lipid microsphere. *Drug Dev Ind Pharm* 1997;(27):133-6.
59. Rafler G, Johmann M. Controlled release systems of biodegradable polimer. Part 5. Microparticle preparation by a salting out process. *Pharm Ind Germany* 1997;(59):620-4.
60. Shauh D, Shan Y, Prudhan R. Development and evaluation of controlled-release diltiazem HCL microparticles using cross-linked poly (vinylalcohol). *Drug Dev Ind Pharm* 1997;(27):567-74.
61. Shen Wu X. Preparation, characterization, and drug delivery applications of microspheres based on biodegradable lactic/glycolic acid polymers. En: Wise LM, Trantolo DJ, Altobelli DE, Yaszemski MJ, Gresser JD, Schwartz, eds. *Encyclopedic handbook of biomaterials and bioengineering*. New York: Marcel Dekker;1995:1151-200.

Recibido: 7 de septiembre de 1999. Aprobado: 12 de octubre de 1999.

Lic. *Diana Ramos Picos*. Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos. Ave 26 No. 1605 entre Rancho Boyeros y Calzada del Cerro, municipio Plaza de la Revolución, Ciudad de La Habana, Cuba.