



UNIVERSIDAD DE VALPARAÍSO
FACULTAD DE FARMACIA
ESCUELA DE QUÍMICA Y FARMACIA
LABORATORIO DE TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

DISEÑO DE UN INHALADOR DE POLVO SECO PARA TERAPIAS NEURODEGENERATIVAS

Unidad de Investigación II para optar al título de químico farmacéutico

Ivonne Elly Antiquera Castillo

Director: Daniel Moraga Espinoza

Julio, 2025

Agradecimientos

A mi familia, mi mamá, mi papá, mi hermana, mi hermano y mi prima, sin ellos no sería la persona que soy hoy, agradezco cada momento compartido.

A todos los profesores que se han detenido a mirarme y han caminado junto a mí.

Particularmente al profesor Daniel, por correr conmigo y detenerse cuando fue necesario. Por permitirme ser parte de su laboratorio, un lugar seguro para fallar, aprender y existir.

A mí, por hacerlo de todas formas y seguir cada meta que he querido.

“La conquista más grande fue que la universidad se llenó de hijos de obreros”.

Resumen

Las enfermedades neurodegenerativas más comunes, como el Parkinson y el Alzheimer, cursan con inflamación cerebral, causada por disfunción neuronal y la acumulación de proteínas mal plegadas o restos celulares. Este proceso es un factor clave en la progresión de ambas enfermedades. Los tratamientos actuales se centran en reducir los síntomas, pero dosificar al sistema nervioso central es altamente desafiante ya que conlleva superar la baja penetración de la barrera hematoencefálica, metabolismo de primer paso y efectos adversos sistémicos. Una alternativa para dosificar al sistema nervioso central es el uso de la vía nasal cerebral utilizando la región olfatoria, para llegar al cerebro. Sin embargo, la deposición de activos en esta zona no es trivial pues los dispositivos actuales suelen generar un aerosol que se deposita extensamente en la cavidad nasal.

En este trabajo se evaluó el diseño de un inhalador de polvo nasal, que pueda cambiar los ángulos de administración, utilizar diferentes rejillas en el inhalador y la administración asistida sin necesidad de inhalación. Doxíciclina monohidrato fue usada como droga modelo, formulada en una dispersión sólida amorfa con hidroxipropilmetilcelulosa, siendo esta una etapa preliminar a ensayos en animales. Este principio activo ha mostrado potencial como antineuroinflamatorio, lo que funcionará como un medio para permitir el reposicionamiento de un fármaco con efecto antibiótico.

La máxima deposición en la región olfatoria fue de un 14,54% con un ángulo de 15° y una malla cuadrada. Sin embargo, no se observaron diferencias estadísticas atribuibles a la malla o al ángulo de la boquilla. La fracción respirable disminuyó a causa del cambio en la dirección del ángulo de pluma del inhalador, que es dependiente del ángulo de la boquilla. Por otra parte, no se observaron cambios en la desagregación del polvo. La formulación y el dispositivo son seguros para la administración, por su baja fracción respirable (<10%) y alta dosis emitida (>70%).

Design of a dry powder inhaler for neurodegenerative therapies

Abstract

The most common neurodegenerative diseases, such as Parkinson's and Alzheimer's, involve brain inflammation caused by neuronal dysfunction and the accumulation of misfolded proteins or cellular debris. This process is a key factor in the progression of both diseases. Current treatments focus on reducing symptoms, but dosing the central nervous system is highly challenging as it involves overcoming low blood-brain barrier penetration, first-pass metabolism, and systemic adverse effects. An alternative for dosing the central nervous system is to use the nose to brain route, utilizing the olfactory region to reach the brain. However, the deposition of active ingredients in this area is not trivial, as current devices tend to generate an aerosol that is deposited extensively in the nasal cavity.

This study evaluated the design of a nasal powder inhaler that can change the angles of administration, use different grids in the inhaler, and provide assisted administration without the need for inhalation.

Doxycycline monohydrate was used as a model drug, formulated in an amorphous solid dispersion with hydroxypropyl methylcellulose, this being a preliminary stage to animal trials. This active ingredient has shown potential as an anti-neuroinflammatory, which will function as a means to allow the repositioning of a drug with an antibiotic effect.

The maximum deposition in the olfactory region was 14,54% with an angle of 15° and a square mesh. However, no statistical differences attributable to the mesh or the angle of the nozzle were observed. The respirable fraction decreased due to the change in the direction of the inhaler's plume angle, which is dependent on the angle of the nozzle. On the other hand, no changes were observed in powder disaggregation. The formulation and device are safe for administration due to their low respirable fraction (<10%) and high emitted dose (>70%).

Glosario

Administración: Proceso de introducir un fármaco en el organismo. En esta investigación, se refiere específicamente a la entrega a través de la vía nasal cerebral, fraccionada en dos aplicaciones.

Cavidad nasal: Sección anatómica que incluye, desde la entrada a la nariz, en las narinas, ambas fosas nasales, toda la zona turbinal y hasta la nasofaringe.

Deposición: Acción mediante la cual un fármaco se fija en una superficie tras impactar en ella.

Desagregación de polvo: Separación de aglomerados de partículas, en partes más pequeñas.

Difracción láser: Método analítico para determinar la distribución del tamaño de partículas, basado en el patrón de difracción que se produce al interactuar con un haz de luz láser infrarrojo.

Diseño o modelado 3D: Proceso de concebir y crear representaciones digitales de un objeto, considerando sus dimensiones, función y viabilidad para su posterior fabricación.

Dispositivo de inhalación: Aparato diseñado para la administración de un fármaco mediante un flujo de aire. En este estudio, se compone de una boquilla, para la pieza que da a la cavidad nasal, y cuerpo, sección que recibe el aire de una bomba.

Enfermedades neurodegenerativas: Patologías que afectan al sistema nervioso central, principalmente al cerebro, pudiendo causar daños en la memoria, la cognición y/o el movimiento y, por lo tanto, afectan la calidad de vida. Son de carácter progresivo y crónico.

Impresión 3D: Proceso de fabricación aditivo, que construye objetos tridimensionales a partir de un diseño digital, capa por capa, utilizando un equipo especializado (impresora 3D).

Región olfatoria: Zona anatómica, presente en la región turbinal superior, que conecta directamente al cerebro, sin presencia de la barrera hematoencefálica.

Tamaño aerodinámico: Valor característico de una partícula. Considera su forma, densidad y el medio en el que se dispersa.

Tamaño geométrico: Valor característico que solo considera las dimensiones físicas y proporciones, intrínsecas de una partícula.

Vía nasal cerebral: Ruta de administración de un medicamento desde la cavidad nasal directamente al sistema nervioso central.

Abreviaciones

α -Syn: Alfa-sinucleína.

A β : β -amiloide.

AIM: Impactador en cascada Andersen abreviado.

BHE: Barrera hematoencefálica.

COMT: Catecol-O-metiltransferasa.

D50: Diámetro medio.

DE: Dosis emitida.

DOXI-HPMC: Doxíciclina en hidroxipropilmetilcelulosa.

DSA: Dispersión sólida amorfa.

EA: Enfermedad de Alzheimer.

EE: Eficiencia de encapsulación.

EP: Enfermedad de Parkinson.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos.

FR: Fracción respirable.

HCl: Ácido clorhídrico.

HPMC: Hidroxipropilmetilcelulosa.

IMAO-B: Inhibidores de la monoaminoxidasa B.

LD: Difractor láser.

MC: Malla o mesh cuadrada.

MR: Malla o mesh redonda.

NMDA: Receptor N-metil-D-aspartato.

NO: Óxido nítrico.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

PAR2: Receptor activado por proteasa 2.

p-tau: Proteína tau fosforilada.

ROS: Especies reactivas de oxígeno.

SA: Sin ángulo

SD: Spray Dryer.

SNC: Sistema nervioso central.

σ : Desviación estándar.

$\bar{x}$: Promedio.

Índice

Introducción	1
Objetivo general.....	9
Objetivos específicos	9
Materiales y métodos.....	10
1. Manufactura de la dispersión sólida amorfa DOXI-HPMC por Spray Dryer	10
2. Eficiencia de encapsulación	10
3. Análisis mediante microscopía electrónica de barrido	11
4. Diseño e impresión 3D del inhalador para polvos nasal	11
5. Deposición en la región olfatoria: Cavidad nasal, Andersen y administración.....	12
Cavidad nasal.....	12
Evaluación de fracción respirable por Impactador Andersen	13
Administración	14
6. Recolección y cuantificación de la deposición en la región olfatoria	16
7. Análisis de la desagregación de partículas.....	16
8. Tratamiento estadístico.....	18
Resultados.....	19
1. Rendimiento, EE y SEM.	19
2. Deposición en la cavidad nasal, región olfatoria.	21
3. Dosis emitida y fracción respirable	23
4. Impacto del diseño del inhalador en la desagregación de partículas	23
Discusión	26
Deposición en la cavidad nasal, región olfatoria.....	26
Dosis emitida y fracción respirable	28
Impacto del diseño del inhalador en la desagregación de partículas	29
Rendimiento y EE	32
Conclusiones	33
Bibliografía.....	34

Índice de tablas

Tabla 1: Rendimiento y EE.	19
Tabla 2: Porcentaje de deposición en la cavidad nasal con mesh redonda.....	21
Tabla 3: Porcentaje de deposición en la cavidad nasal con mesh cuadrada.	22
Tabla 4: Presenta los valores de DE y FR para MR.	23
Tabla 5: Presenta los valores de DE y FR para MC.	23
Tabla 6: Distribución de tamaño geométrico de partículas (D10, D50 y D90).	24

Índice de figuras

Figura 1: Representación esquemática de la anatomía interna de la cavidad nasal.	5
Figura 2: Esquematización de las principales vías de transporte en la liberación nasal	6
Figura 3: Dispensador nasal para polvos cargados en cápsulas.	7
Figura 4: Diseño del inhalador	11
Figura 5: Representación de las partes del modelo de cavidad nasal	12
Figura 6: Imagen de la cavidad nasal, posterior a una administración	13
Figura 7: Impactador en cascada Andersen (ACI) y su versión abreviada (AIM)	13
Figura 8: Registro fotográfico de todos los aparatos conectados	15
Figura 9: Fotografía del ángulo generado por el soporte que une la manguera con el inhalador, calculado con la aplicación Protactor.....	15
Figura 10: Diagrama del proceso de evaluación de tamaño geométrico de partículas usando difracción láser.	17
Figura 11: Fotografía de la formulación en polvo atravesando el haz de luz del difractor láser.....	17
Figura 12: Imagen obtenida por medio de microscopía electrónica de barrido.....	20
Figura 13: Gráfico que muestra la deposición en la región olfatoria.	22
Figura 14: Porcentaje de partículas con un tamaño geométrico o aerodinámico $<5 \mu\text{m}$	25
Figura 15: Una representación de la pluma del inhalador.	26
Figura 16: Gráfico que muestra la distribución del tamaño de partículas, para la condición SA° MR.....	29
Figura 17: Gráfico que muestra la fracción respirable en cada ángulo, con ambas mallas	31

Introducción

Las enfermedades neurodegenerativas representan un desafío creciente asociado al envejecimiento. Se caracterizan por procesos inflamatorios que conducen a disfunción neuronal, afectando tanto al cerebro como al sistema nervioso periférico. Los tratamientos actuales son predominantemente orales y presentan diversas desventajas, destacándose la baja permeabilidad de la barrera hematoencefálica (BHE), pero también problemas relacionados con la farmacocinética, que limitan su efectividad terapéutica (National Institute of Environmental Health Sciences, 2022).

Por ello, emerge la estrategia de utilizar la cavidad nasal para acceder directamente al sistema nervioso central (SNC). Esta vía, a través de la región olfatoria, permite eludir la BHE. Por ello, se convierte en el pilar central de este trabajo administrar un fármaco antineuroinflamatorio a través de la región olfatoria. Para ello, se dirigirá la dispersión de la formulación en polvo a la cavidad nasal utilizando un inhalador diseñado para la administración asistida (no dependiente de la inhalación del paciente).

Las enfermedades neurodegenerativas más comunes, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), son la enfermedad de Alzheimer (EA) y la enfermedad de Parkinson (EP). La patogenia de ambas afecciones se caracteriza por la presencia de procesos inflamatorios crónicos. Los tratamientos actuales se enfocan en mitigar los síntomas y ralentizar la progresión, dado que aún no existe una cura definitiva. Sin embargo, una dosificación efectiva al órgano más protegido del cuerpo humano es un desafío notable.

Para la EA se han propuesto varias teorías sobre su causa, siendo dos las más aceptadas: la hipótesis colinérgica, que sugiere un deterioro en la función del sistema colinérgico; y la teoría amiloide, que postula una alteración en la producción y procesamiento del péptido β -amiloide ($A\beta$).

No obstante, ninguna teoría ha sido universalmente aceptada hasta el momento (Breijyeh et al., 2020). Las alteraciones en el metabolismo del péptido $A\beta$ conducen a su agregación, lo que contribuye a la neurotoxicidad y disfunción neuronal. Se ha identificado que la proteína β -amiloide desencadena la activación del inflamasoma NLRP3, presente en monocitos, microglía y astrocitos. Además, activa el inflamasoma NLRP1, inducido por la proteína β -amiloide y por un desequilibrio K^+/Ca^{2+} , en monocitos y neuronas (Bulté et al., 2023). La acumulación de placas densas de la proteína β -amiloide, en áreas clave como el

hipocampo, la amígdala y la corteza cerebral, provoca daño axonal y dendrítico, pérdida de sinapsis y deterioro cognitivo. Además, se han identificado, la disfunción de la proteína tau hiperfosforilada (p-tau), procesos inflamatorios, estrés oxidativo inducido por radicales libres y daño en la transmisión colinérgica (Perl, 2010).

En cuanto al tratamiento, las modificaciones en los hábitos de vida, como una dieta equilibrada y el ejercicio regular, mejoran la salud cerebral. Estas constituyen una intervención de primera línea para ralentizar la progresión de la EA. En el ámbito farmacológico, los tratamientos actuales incluyen inhibidores de la colinesterasa, que inhiben la degradación de acetilcolina, y antagonistas del receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), que previenen la excitotoxicidad bloqueando el exceso de calcio liberado por la sobreestimulación del receptor (Breijyeh et al., 2020). Aunque estos fármacos actúan sobre las principales vías implicadas en la manifestación de los síntomas, su acción se limita a las etapas finales de la señalización y no aborda la causa ni las etapas iniciales de estas vías. En conclusión, resulta imperativo continuar la búsqueda de fármacos capaces de ralentizar la progresión de esta patología.

De manera similar, en la enfermedad de Parkinson, la neuroinflamación desempeña un papel crucial, iniciándose tempranamente en su patogénesis. La agregación de alfa-sinucleína (α -Syn) en cuerpos de Lewy promueve la degeneración de neuronas dopaminérgicas (Atik et al., 2016). Esto conduce al déficit dopaminérgico característico de la EP y a la activación sostenida de la microglía y la astrogía (astrocitos).

La dopamina modula la respuesta inmune cerebral, influyendo en la actividad de células gliales. La microglía, como principal célula inmune residente del SNC, y la astrogía son esenciales para la homeostasis de este (Xia et al., 2019). Ambas células, al activarse ante agregados proteicos o daño neuronal, participan en la inflamación y procesos de reparación (Liu et al., 2020).

La inflamación en la EP se perpetúa mediante diversos mecanismos. Estos incluyen la activación persistente de la microglía y los astrocitos, junto con la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y óxido nítrico (NO) (Tansey & Romero-Ramos, 2019). Dichos procesos inducen un ciclo de retroalimentación positiva, amplificando la respuesta inflamatoria crónica (Dias et al., 2013). Esta contribución a la neurodegeneración y patogénesis de la enfermedad justifica una estrategia terapéutica antineuroinflamatoria.

Por lo tanto, abordar la neuroinflamación podría ofrecer beneficios terapéuticos significativos. Esto se lograría al intervenir en múltiples vías patológicas, proteger a las neuronas restantes y ralentizar la progresión de la EP.

El tratamiento farmacológico actual de la EP es sintomático, enfocado en mantener los niveles de dopamina. Esto se consigue con inhibidores de la monoaminoxidasa B (IMAO-B) y catecol-O-metiltransferasa (COMT). También se utiliza levodopa y agonistas dopaminérgicos. Dada la cronicidad de la EP, la terapia es prolongada, y suprimir la inflamación podría alterar la respuesta inmune cerebral.

La neuroinflamación es mediada por la microglía, célula clave en la inmunidad del SNC (Pajares et al., 2020). Por ello, es crucial que los tratamientos antineuroinflamatorios sean altamente selectivos. Esto podría requerir combinaciones farmacológicas para optimizar la eficacia y seguridad. En el futuro, las estrategias deberían priorizar la protección sistémica, además de la neuroprotección específica.

Debido a que estos procesos inflamatorios contribuyen a la patogenia de las enfermedades neurodegenerativas, la inflamación no resuelta se cronifica, promoviendo su progresión. Pese a los avances en la comprensión de estas afecciones, actualmente no existe una cura ni un tratamiento farmacológico definitivo. Por lo tanto, los esfuerzos se concentran en ralentizar su avance y mejorar la calidad de vida.

En este contexto, la vía nasal cerebral emerge como una opción prometedora al utilizar la región olfatoria para el acceso directo al cerebro mediante un dispositivo de inhalación.

La vía nasal cerebral presenta múltiples ventajas frente a la administración oral. Así, por ejemplo, la vía oral expone a los activos al metabolismo de primer paso, la baja biodisponibilidad, y efectos adversos sistémicos. Además, la limitada permeabilidad de la mayoría de los activos a la BHE exige dosis más elevadas (Mittal et al., 2014).

Por otro lado, aunque la vía intravenosa evita algunas complicaciones, no soluciona el desafío fundamental de atravesar la BHE, ventaja clave de la vía nasal. Adicionalmente, se han observado mayores concentraciones cerebrales con la administración nasal en comparación con las inyecciones intravenosas (Di Francesco et al., 2024). Si bien se han usado inyecciones intraparenquimatosas, intratecales e intracerebroventriculares para alcanzar altas concentraciones cerebrales, estos métodos son altamente invasivos. Consecuentemente, no resultan viables para terapias crónicas.

La vía nasal cerebral destaca por su rápido inicio de acción y el pequeño volumen requerido para la administración, lo que la hace idónea para tratamientos crónicos. No obstante, presenta desventajas. Aproximadamente solo el 5% de la dosis administrada llega al cerebro, el tiempo de retención es breve (< 20 minutos) debido al aclaramiento mucoso, lo que restringe la absorción. Además, el epitelio olfativo consta de una superficie reducida, lo que puede limitar la eficacia (Dhuria et al., 2010; Warnken et al., 2016).

En la terapia nasal, se destaca la interacción entre tres componentes fundamentales: el paciente, la formulación y el dispositivo. En primer lugar, el paciente presenta una gran variabilidad individual, tanto en las características anatómicas de la cavidad nasal como en la maniobra de inhalación. Factores como el flujo de inhalación, la posición del dispositivo y el ángulo de administración pueden variar en cada aplicación, incluso en un mismo paciente (Warnken et al., 2018). El problema es que estos factores no pueden ser controlados ni modificados directamente, sino que requieren educación para optimizar su manejo, lo que permite una variabilidad considerable debido al factor humano.

En segundo lugar, la formulación ofrece la mayor capacidad de intervención y control. En este trabajo se utilizará doxiciclina monohidrato, un polvo cristalino amarillo con un peso molecular de 462,5 g/mol. Presenta una solubilidad pH dependiente, siendo insoluble en buffer pH 7,4. Es un antibiótico bacteriostático de amplio espectro, perteneciente a las tetraciclinas de segunda generación. Su uso principal es para infecciones del tracto respiratorio superior (AHA Biochem. Doxycycline Monohydrate 2024; Doxycycline: Uses, Interactions, Mechanism of Action | DrugBank Online, 2024).

La formulación soluble de doxiciclina fue optimizada por Claudia Soza, quien desarrolló una dispersión sólida amorfa. Para ello, utilizó hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), un polímero mucoadhesivo aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos Estadounidense (FDA, por sus siglas en inglés), con capacidad de inhibir la recristalización del activo. Esta modificación incrementó la solubilidad y velocidad de disolución del fármaco, reduciendo el impacto del aclaramiento nasal al facilitar su absorción inmediata.

Las partículas resultantes presentaron un tamaño superior a 10 μm , impidiendo su paso al pulmón y facilitando su deposición en la cavidad nasal. En su estudio, se evaluaron administraciones utilizando un inhalador de polvos nasal posicionado a ángulos de 30° y

75°, lo que destacó la importancia del ángulo para la deposición nasal. Sin embargo, la fracción depositada en la región olfatoria no superó el 5%, en línea con la literatura existente.

En el presente trabajo, utilizaremos la formulación optimizada por Claudia Soza, pero reconfigurando su dispositivo para optimizarlo. Adicionalmente, ampliaremos el análisis de los ángulos de administración mediante el estudio del diseño del inhalador.

A pesar de que la doxiciclina es primariamente un antibiótico, este trabajo busca ser un medio para su reposicionamiento como antineuroinflamatorio.

Para comprender el mecanismo de transporte de la droga al SNC y la importancia de la vía de administración nasal cerebral, es necesario conocer la fisiología de la cavidad nasal. Esta consta de una superficie total aproximada de 150 cm² y un volumen de 15-20 mL compuesto por la mucosa nasal. Está dividida por un tabique central en dos fosas nasales, cada una comunicándose al exterior a través de una narina (Alabsi et al., 2022).

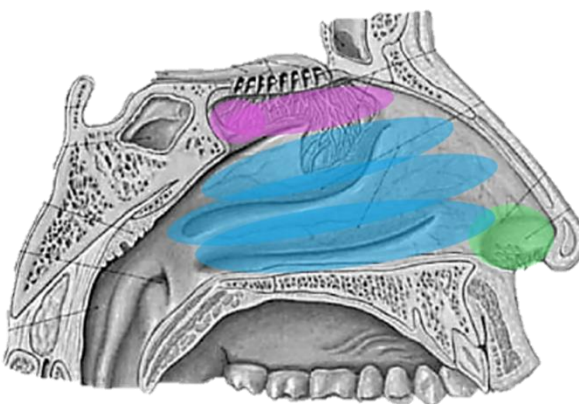


Figura 1: Representación esquemática de la anatomía interna de la cavidad nasal.

Se delinean las tres regiones principales: el vestíbulo nasal (sombreado en verde), la región respiratoria (sombreada en celeste) y la región olfatoria (sombreada en morado). Modificado de (Sobotta, 2007).

Anatómicamente, la cavidad nasal se compone de tres regiones principales (Figura 1): vestíbulo nasal, región respiratoria y región olfatoria. El vestíbulo, cercano a la entrada, es de menor tamaño y tiene poca capacidad de absorción. La región respiratoria, que constituye la mayor parte de la cavidad, está altamente vascularizada y es la principal zona de absorción para fármacos de acción sistémica. En cambio, la región olfatoria, ubicada en

el extremo superior, cubre solo el 3-5% de la superficie total. Esta área es crucial porque sus neuronas expuestas permiten una conexión directa con el SNC (Alberto et al., 2022).

El fármaco depositado en la región olfatoria puede alcanzar el SNC a través de diferentes rutas (Figura 2). Destacan dos mecanismos principales. Primero, la vía del nervio olfativo, donde el fármaco se absorbe en las neuronas mediante endocitosis o pinocitosis. Luego es transportado por flujo axonal intracelular al bulbo olfatorio, desde donde se distribuye al resto del cerebro y SNC.

Segundo, la vía del nervio trigémino, otra ruta posible, aunque menos comprendida. Esta permite el transporte directo al cerebro a través de las fibras trigeminales. Aún no se ha definido con certeza el mecanismo exacto de transporte.

Es posible que, según las propiedades de cada fármaco, algunos se transporten preferentemente por una ruta sobre otra o utilicen múltiples vías simultáneamente (Warnken et al., 2016; Xinchun et al., 2023).

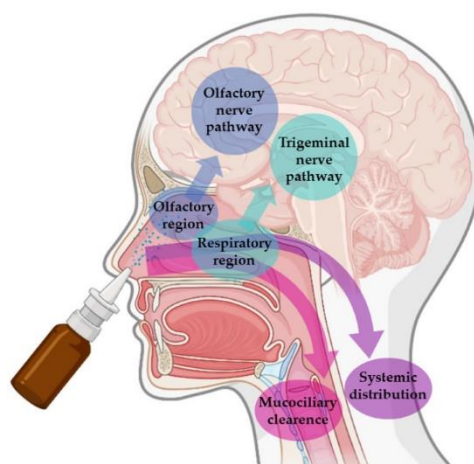


Figura 2: Esquematización de las principales vías de transporte en la liberación nasal (Alberto et al., 2022).

Particularmente, los efectos antineuroinflamatorios de la doxiciclina se han estudiado ampliamente, revelando la participación de múltiples mecanismos (Rahmani et al., 2022).

Entre ellos, se incluyen la inhibición de la inducción de ROS (Ferreira Junior et al., 2021). Asimismo, se observa la inhibición de la activación de PAR2 (receptor activado por proteasa

2), un receptor que estimula la producción de mediadores proinflamatorios. La doxiciclina también reduce la actividad de las metaloproteinasas de matriz in vitro (Navarro-Triviño et al., 2020) e in vivo (Choi et al., 2004), enzimas cuyas concentraciones se incrementan en procesos inflamatorios.

Adicionalmente, se ha reportado una reducción de la activación microglial (Ferreira Junior et al., 2021; Rahmani et al., 2022a). Incluso se ha demostrado la inhibición de la agregación in vitro del péptido A β 42 (una isoforma de la proteína β -amiloide, considerada más tóxica y prevalente en Alzheimer) (Costa et al., 2011; Rahmani et al., 2022a).

Aunque las modificaciones principales en las investigaciones se centran en la formulación, el dispositivo de inhalación es un factor crucial, ya que depende del flujo de inhalación, la capacidad respiratoria y el ángulo de administración, lo que en conjunto da direccionalidad al principio activo entregado.



Figura 3: Dispensor nasal para polvos cargados en cápsulas.
Prototipo desarrollado en el estudio de Claudia Soza.

El presente estudio utilizó un inhalador asistido que controla el flujo de aire, eliminando la variabilidad respiratoria.

El dispositivo inicial (Figura 3), fue probado previamente por Claudia Soza. Este prototipo utiliza una cápsula con polvo en su base, y un puerto de entrada de aire en la parte inferior. En la parte superior, posee una malla perforada que evita que la cápsula salga del inhalador, ayudando al polvo a dispersarse por impacto.

La literatura reporta una deposición máxima en la región olfatoria cercana al ~8%. Se ha observado que partículas con un tamaño superior a 10 μ m se depositan preferentemente

en la cavidad nasal, lo que coincide con estudios que sugieren que cercano a este tamaño se favorece la deposición en la región olfatoria.

Las tasas de flujo de aire probadas varían ampliamente, con valores de 7,5, 15 y 30 L/min. En términos de velocidad de pulverización, se han logrado buenos resultados con velocidades cercanas a 1 m/s (Sicard & Frank-Ito, 2024).

Para el ángulo de administración, ángulos desde 45° hasta ~60° han presentado deposición olfatoria, no obstante, existe una alta variabilidad interindividual en estos resultados, debido a las variaciones producidas por los diferentes modelos nasales, sus recubrimientos, formulaciones, principios activos y flujos de administración (Salade et al., 2018a; Warnken et al., 2018).

En el presente estudio, se utilizaron las variables presentes en la literatura que optimizan la liberación a la región olfatoria. Estas se combinaron con la tecnología de dispersión nasal asistida. El flujo de atomización se estableció en 15L/min, que permite una deposición eficiente en la cavidad nasal y evita el rebote de partículas. Adicionalmente, se cubrió una narina para centrar el flujo en la que recibe la administración. El principio de este diseño busca no generar incomodidad, desligando la variable humana de la liberación, mientras se usa la tecnología de impresión 3D para prototipar el dispositivo.

Objetivo general

Optimizar la deposición en la región olfatoria de una formulación de polvo de doxiciclina-hidroxipropilmetilcelulosa (DOXI-HPMC) en modelos de cavidades nasales 3D, mediante el diseño de un dispositivo de inhalación asistida.

Objetivos específicos

1. Producir una dispersión sólida amorfa de DOXI-HPMC mediante secado por atomización (Spray Dryer, SD).
2. Prototipar, mediante impresión 3D la pieza nasal del dispositivo, diseñando diferentes ángulos de administración y mallas.
3. Evaluar el desempeño de la pieza nasal en la deposición del polvo en la región olfatoria.
4. Evaluar el impacto del diseño de la pieza nasal en la desagregación del polvo, por medio de difracción láser.
5. Cuantificar y mapear la deposición de doxiciclina en la región olfatoria de la cavidad nasal mediante espectrofotometría UV.

Materiales y métodos

1. Manufactura de la dispersión sólida amorfa DOXI-HPMC por Spray Dryer

Se utilizó el equipo Mini Spray Dryer Büchi B-290, con una boquilla de atomización de 2mm, para obtener partículas de tamaño aerodinámico $>10\ \mu\text{m}$.

Se usó una solución de alimentación de DOXI-HPMC. Esta en una proporción de 32:68 al 1% p/p en solución ácida (pH 1,8). Se utilizó doxiciclina en su forma monohidratada (CAS 17086-28-1), la cual fue obtenida de AK scientific (EE.UU) e hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) de laboratorios Knop (Chile). Mientras que la solución ácida fue preparada a partir de ácido clorhídrico (HCl) en agua destilada.

Los parámetros que se utilizaron en el equipo fueron los estudiados previamente por Claudia Soza y que permiten entregar el mayor rendimiento. Estos son, una temperatura de entrada de 180°C , una velocidad de alimentación de 3 mL/min y un flujo de atomización de 742 L/h.

Una vez finalizado el proceso se esperó aproximadamente 1 h para permitir la disminución de la temperatura y energía en las partículas. Se recogió el polvo de DOXI-HPMC y se almacenó en frascos ámbar.

2. Eficiencia de encapsulación

La formulación fue sometida a la prueba de eficiencia de encapsulación (EE), la cual nos permite caracterizar el polvo y considerar en el análisis de datos pérdidas por el procedimiento y/o equipos. Esta prueba busca saber cuánto porcentaje de doxiciclina está siendo encapsulado, en comparación con lo que esperábamos obtener, el valor teórico. La formulación base tiene teóricamente 32% de doxiciclina y 68 % de HPMC.

Para esto se pesó una cantidad conocida y se disolvió en el solvente, hasta la disolución completa, posteriormente se midió su absorbancia por espectrofotometría UV, así obteniendo la cantidad de doxiciclina presente.

3. Análisis mediante microscopía electrónica de barrido

Se utilizó microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) para caracterizar morfológicamente la dispersión sólida amorfa de DOXI-HPMC obtenida mediante el secado por atomización.

Este análisis se realizó mediante el método de depósito en cinta de carbón, utilizando un detector Everhart-Thornley (ETD) de electrones secundarios. El equipo operó a un voltaje de aceleración de 30 kV, con un alto vacío de $1,12 \times 10^{-4}$ Pa. El microscopio empleado fue un Microscopio Electrónico de Barrido de Emisión de Campo (FESEM) Thermo Scientific modelo Quattro S.

4. Diseño e impresión 3D del inhalador para polvos nasal

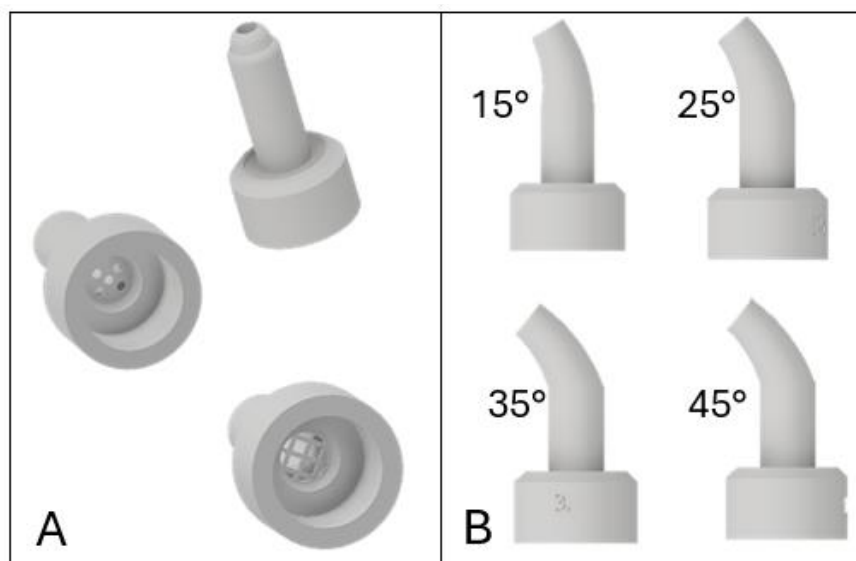


Figura 4: Diseño del inhalador

A) En la sección A, a la izquierda, se observan tres boquillas. Una boquilla se muestra desde una vista lateral, dejando ver una perspectiva general de esta. Las otras dos boquillas presentan la estructura interna de la malla, una con forma circular, la otra con un patrón cuadrado. B) En la sección B, a la derecha, se aprecian cuatro boquillas, con la parte final de la boquilla curvada en distintos ángulos 15°, 25°, 35° y 45°.

El inhalador utilizado fue diseñado en el programa Autodesk Inventor Professional 2025. Para estudiar cómo su diseño afecta a la deposición nasal, se realizaron modificaciones al ángulo de la boquilla en el plano vertical, generando un inhalador con boquilla recta sin ángulo (SA) y con ángulos de 15°, 25°, 35° y 45° (figura 4B). Adicionalmente, se modificó la malla o mesh, obteniendo dos, una con patrón redondo y una con patrón circular (figura 4A).

Se realizó la impresión 3D de todos los modelos en una impresora de resina Anycubic Photon M3, debido a que esta impresora tiene gran precisión en piezas pequeñas. Se utilizó resina fotosensible blanca, un material que permite imprimir con alta resolución, evitando zonas rugosas en los inhaladores.

5. Deposición en la región olfatoria: Cavidad nasal, Andersen y administración

Cavidad nasal

La cavidad nasal incluye cinco regiones anatómicas (representadas en partes) y posibilita la cuantificación del patrón de deposición (figura 5).

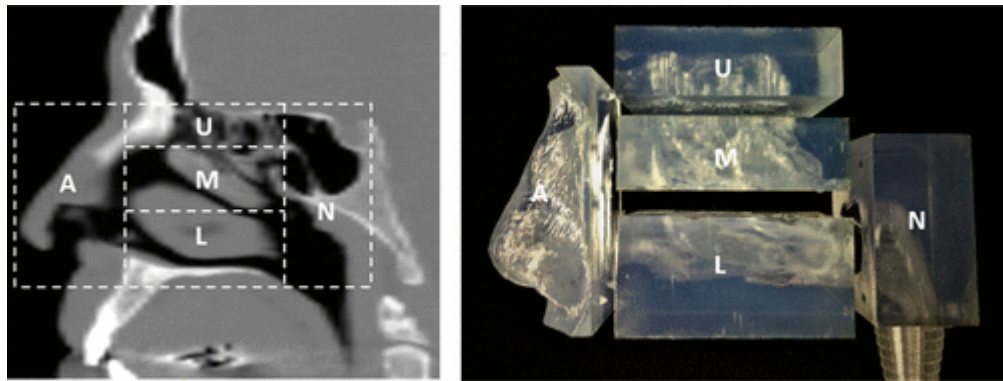


Figura 5: Representación de las partes del modelo de cavidad nasal

A la izquierda se muestra una imagen de tomografía computarizada utilizada para construir el modelo 3D, que se observa a la derecha. A: Anterior, U: región turbinal superior donde se encuentra la región olfatoria, M: región turbinal media, L: región turbinal inferior, N: nasofaringe. (Warnken et al., 2018).

La cavidad nasal se imprimió en una impresora Creality CR5 Pro H, con filamento de tipo PLA negro. Para cada administración, la cavidad nasal se recubrió con un gel de HPMC al

1%, aplicando 2 mL de dicho gel a cada sección de la cavidad, con el objetivo de imitar la mucosidad interna permitir la deposición del polvo y evitar el rebote de partículas. Adicionalmente, se usó parafilm para cubrir la cavidad nasal, evitando fugas del flujo de aire, de esta forma, también, se obstruyó la narina izquierda con el fin de dirigir el flujo “inspiratorio” hacia la administración, concordando con las indicaciones habituales para el uso de inhaladores de tapar una narina.



Figura 6: Imagen de la cavidad nasal, posterior a una administración

Evaluación de fracción respirable por Impactador Andersen

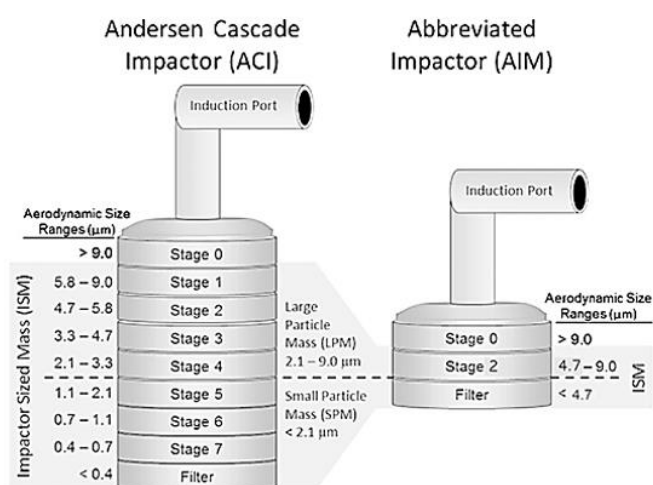


Figura 7: Impactador en cascada Andersen (ACI) y su versión abreviada (AIM)
Modificada de (David Christopher et al., 2017) con fines investigativos.

La cavidad nasal fue unida a una versión abreviada del impactador de cascada Andersen (AIM, por sus siglas en inglés), como se observa en la figura 7. Permitiendo cuantificar el tamaño aerodinámico del polvo de DOXI-HPMC. Esto es importante para caracterizar el polvo una vez que ha sido dispersado desde el inhalador y ha atravesado la cavidad nasal. El impactador consta de un preseparador donde quedan retenidas las partículas de mayor tamaño, al cual se le añadieron 10 mL de solución ácida (HCl 1M). Este conecta con los platillos, el platillo N°0 para partículas $>9\ \mu\text{m}$ y el platillo N°2 para partículas de 4,7 a $9\ \mu\text{m}$, cada uno se cubrió con 1 mL de una película de vaselina al 1% en hexano (ambos obtenidos de Vimaroni S.A). El platillo final corresponde al filtro (platillo F) para partículas $<4,7\ \mu\text{m}$, esto corresponde a la fracción respirable, es decir, las partículas capaces de llegar al pulmón profundo. En él se colocó un papel filtro que permitió atrapar las partículas restantes. El flujo usado para la administración fue de 28,3 L/min, que es el recomendado por el fabricante al usar la versión abreviada del impactador en cascada Andersen (*Andersen Cascade Impactor (ACI) | Copley Scientific, n.d.*)

Administración

En cada administración se cargó y dispersó 20 mg en total de la formulación. Se dividió en dos cápsulas de 10mg cada una, estas son de HPMC tamaño #3 y fueron obtenidas de Capsugel Lonza. Se administró a través de la narina derecha, con la izquierda obstruida, esto se repitió dos veces a través de la misma narina. Cada aplicación se completó en un lapso de 8,5 s, tiempo necesario para completar el volumen pulmonar, con un flujo de administración de 15 L/min, debido a que se observó que este permitía la deposición nasal y evitaba el rebote de partículas fuera de la cavidad.



Figura 8: Registro fotográfico de todos los aparatos conectados

Para facilitar la administración se conectaron todos los equipos (figura 8). Para ello se imprimió en 3D un soporte que conecta una bomba de aire con un regulador de flujo que, a su vez, se une al dispositivo de inhalación. Esto permitió regular el flujo, mientras se inyectaba aire directamente al inhalador posibilitando la administración asistida de la formulación.

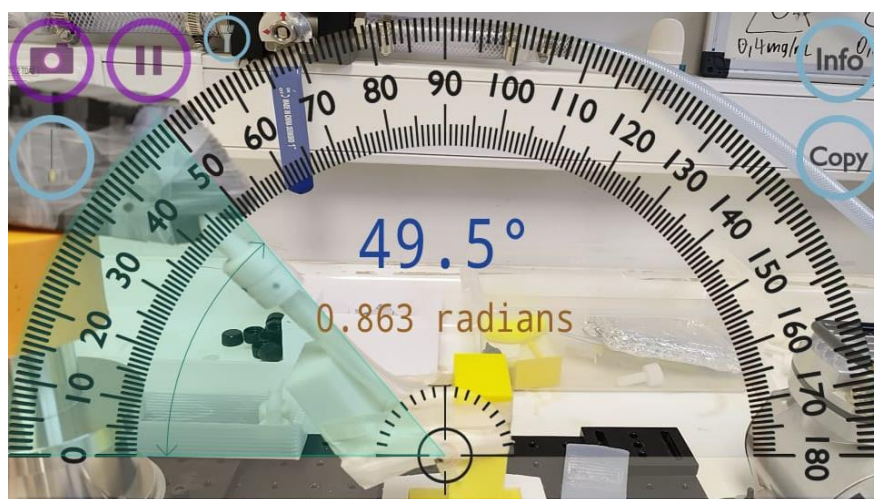


Figura 9: Fotografía del ángulo generado por el soporte que une la manguera con el inhalador, calculado con la aplicación Protactor.

Se debe considerar que el ángulo de administración considera adicionalmente, un ángulo de $\sim 50^\circ$ generado por la posición del soporte (figura 9). Tanto el ángulo de la boquilla, como el generado por el soporte, deben considerarse para la medición de ángulo final. En este trabajo se referirá exclusivamente al ángulo de la boquilla, para facilitar su estudio.

6. Recolección y cuantificación de la deposición en la región olfatoria

Para la recolección, se recuperó la droga depositada en el cuerpo y boquilla del inhalador, en las cápsulas, en cada una de las partes de la cavidad nasal al separarlas, y en todas las partes del impactador de cascada, en el preseparador, en los platillos N°2, N°0 y en el filtro. La recuperación se realizó mediante 3 mL de solución ácida (pH 1,8) para cada sección del inhalador, las cápsulas, la cavidad nasal, y cada platillo del impactador, mientras que para el preseparador se homogenizó y se tomaron 5 mL, siguiendo el método descrito por Claudia Soza.

La cuantificación de la droga se efectuó mediante espectrofotometría UV (Synergy H1M Biotek Instruments, Santa Clara, CA, US), a $\lambda = 400 \text{ nm}$, en placas de 96 pocillos de fondo plano obtenidos de Thermo scientific.

7. Análisis de la desagregación de partículas

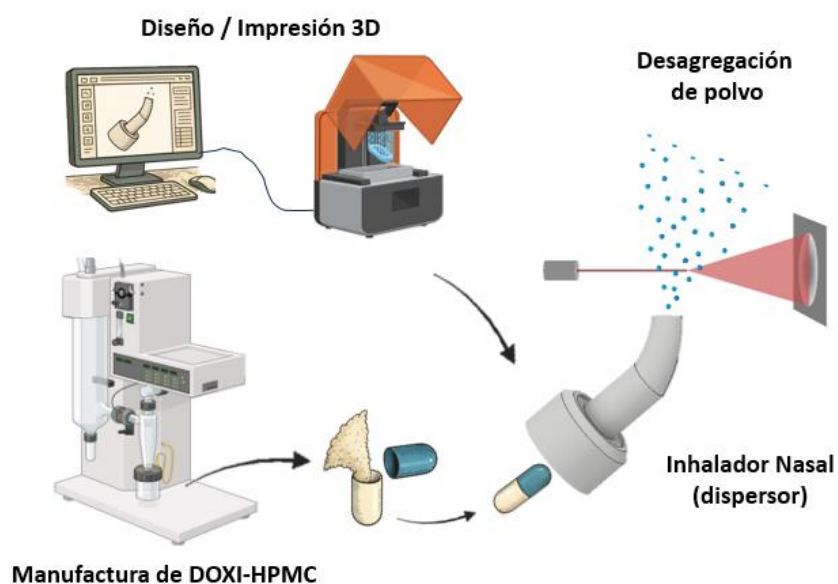


Figura 10: Diagrama del proceso de evaluación de tamaño geométrico de partículas usando difracción láser.

DOXI-HPMC: dispersión sólida amorfa de doxiciclina con hidroxipropilmetilcelulosa.

Se evaluó el efecto del diseño del inhalador en la capacidad de las partículas micronizadas de desagregarse. Las modificaciones estudiadas fueron el cambio en el ángulo de la boquilla y en el patrón de la malla, la cual permite el impacto y la desagregación de las partículas del polvo.

Se realizó mediante el estudio de la variación del tamaño geométrico de partículas por difracción láser (Helos BR, Sympatec GmbH), lo que nos permitió comparar con el tamaño aerodinámico y observar su influencia en la deposición nasal.

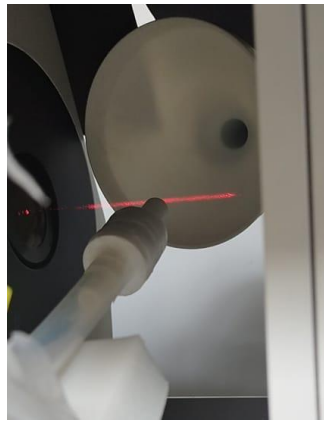


Figura 11: Fotografía de la formulación en polvo atravesando el haz de luz del difractor láser

Para ello se utilizó el difractor láser (LD, por sus siglas en inglés), el cual usa una configuración de soporte universal, donde permite el estudio de inhaladores. Su mecanismo funciona haciendo pasar un polvo a través de un láser (figura 11), permitiendo el análisis del tamaño de las partículas que obstruyen el láser, entregando un informe de distribución de tamaño geométrico de partículas.

Se evaluó el diámetro medio (D50), valor que nos indica el punto intermedio, es decir, donde el 50% de la población de partículas es menor a este número. Además, se incluye el D10 y D90, que en su conjunto permiten analizar la distribución del tamaño de partículas, por medio del valor Span, con la siguiente fórmula.

$$Span = \frac{D90 - D10}{D50}$$

Todos estos datos son de distribución acumulada y entregados en el informe generado por el difractor láser.

Para este estudio se mantuvieron las condiciones de los experimentos, un flujo de dispersión de 15 L/min y cápsulas #3 de HPMC, cargadas con 10 mg de la formulación de DOXI-HPMC, cada variable se estudió por duplicado. Para lograr esto se incluyó el soporte, la bomba, su regulador de flujo y el inhalador, de esta forma el resultado nos entrega información del polvo una vez que ha salido del inhalador y antes de pasar por la cavidad nasal 3D.

8. Tratamiento estadístico.

Los análisis estadísticos fueron realizados en el programa GraphPad Prism 8.0.

Se realizó la prueba ANOVA de dos vías, para la región olfatoria (se evaluó el efecto de las mallas, de los ángulos y entre ambos), para los tamaños geométrico (D50) y aerodinámico (FR), y para Span.

En los resultados donde se observó diferencias estadísticamente significativas, se realizó adicionalmente la prueba de Tukey, para identificarlas ($p < 0,05$).

Resultados

1. Rendimiento, EE y SEM.

Una vez realizado el proceso de manufactura de la dispersión sólida amorfa (DSA), se evaluó su rendimiento y su eficiencia de encapsulación. Cabe mencionar que el proceso de manufactura se realizó dos veces, con el objetivo de contar con suficiente formulación para la realización de los experimentos.

Tabla 1: Rendimiento y EE.

Presenta los resultados para el lote 1 (L1) y el lote 2 (L2) de la formulación de DOXI-HPMC. EE: Eficiencia de encapsulación.

	L1	L2
Rendimiento en secador por pulverización	63,00%	72,45%
EE	99,82%	100,00%

Para el rendimiento, se masó la cantidad de polvo recuperado al finalizar el proceso de atomización, y se comparó con el valor de sólidos utilizados para la preparación de la solución de alimentación, 1% p/p. Se utilizó la siguiente fórmula.

$$\text{Rendimiento} = \frac{\text{Cantidad de formulación obtenida}}{\text{Cantidad de sólidos usados}} \times 100$$

Mientras que para la eficiencia de encapsulación se pesaron 10 mg y se disolvieron en 10 mL del disolvente agua ácida, hasta la disolución completa, y se midió su absorbancia por espectrofotometría UV. Se comparó con el 32% de doxiciclina teórico, a través de la siguiente fórmula.

$$\text{Eficiencia de encapsulación} = \frac{\text{cantidad del activo obtenida}}{\text{cantidad del activo teórica}} \times 100$$

Adicionalmente para el análisis realizado mediante microscopía electrónica de barrido, en la figura 12 se ilustran sus resultados.

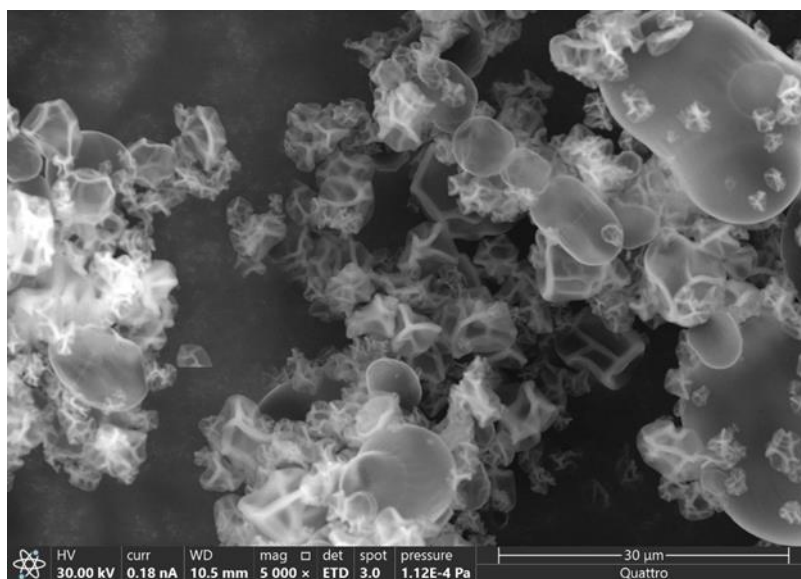


Figura 12: Imagen obtenida por medio de microscopía electrónica de barrido. Con un aumento de 5000x.

Se observan, partículas de gran tamaño con formas parcialmente esféricas u ovoides, y algunas de menor tamaño con formas colapsadas, irregulares y plegadas, resultado característico del secado por atomización y el uso de polímeros como la HPMC.

Otras partículas se encuentran aglomeradas y agregadas, generando estructuras más complejas, lo que puede deberse a la humedad residual o a la naturaleza adhesiva de la matriz polimérica.

Estas múltiples variaciones en las características morfológicas observadas producen una distribución heterogénea y una amplia dispersión de tamaños. Lo que a su vez refleja el proceso complejo del secado por atomización para la producción del polvo.

2. Deposición en la cavidad nasal, región olfatoria.

Para el estudio de la deposición cada variable se estudió por triplicado. A continuación, se muestran los resultados en porcentaje de la cantidad de doxiciclina depositada en cada sección de la cavidad nasal. Debido a que el estudio se realizó en triplicado se muestran sus promedios y desviaciones estándar (σ).

Los datos se observan en dos tablas, la tabla 2 para la mesh redonda (MR), y la tabla 3 para la mesh cuadrada (MC), en cada una se muestran los resultados para la boquilla del inhalador sin ángulo y con los respectivos ángulos, adicionalmente, se encuentran coloreados por cantidad depositada, siendo en rojo los valores altos, en amarillos los intermedios y en verdes los bajos.

Se destaca la región olfatoria, que se encuentra en la región turbinal superior (U), en amarillo en cada tabla, y graficada en la figura 13.

Tabla 2: Porcentaje de deposición en la cavidad nasal con mesh redonda.

Comparando cada ángulo (promedios del triplicado) y su desviación estándar. MR: Malla redonda, SA°: Sin ángulo.

MR					
	SA°	15°	25°	35°	45°
A (Anterior)	43,49±8,61	43,82±8,94	57,19±6,12	52,31±2,76	51,86±6,92
U (región turbinal superior)	8,88±2,44	12,45±2,04	12,29±3,85	12,94±1,10	9,16±1,47
M (región turbinal media)	19,41±4,40	21,29±5,92	16,69±4,14	20,17±0,98	20,54±1,64
L (región turbinal inferior)	17,54±13,26	8,97±1,80	6,66±2,86	7,18±1,19	8,95±4,58
N (nasofaringe)	10,68 ±0,84	13,47±5,23	7,16±2,75	7,41±1,71	9,49±3,51

Tabla 3: Porcentaje de deposición en la cavidad nasal con mesh cuadrada.

Comparando ángulos (promedios del triplicado) y su desviación estándar. MC: Malla cuadrada, SA°: Sin ángulo.

MC					
	SA°	15°	25°	35°	45°
A (Anterior)	47,33±7,56	44,26±7,00	55,04±12,02	55,20±7,02	59,22±6,53
U (región turbinal superior)	13,99±2,48	14,54±4,88	10,48±5,84	9,35±2,41	9,77±2,01
M (región turbinal media)	19,62±6,23	25,50±3,43	19,30±5,79	21,07±2,23	17,91±4,65
L (región turbinal inferior)	10,56±1,86	6,35±1,72	5,64±0,54	6,69±2,73	6,22±0,57
N (nasofaringe)	8,50±1,05	9,35±0,23	9,54±3,70	7,69±0,90	6,88±0,40

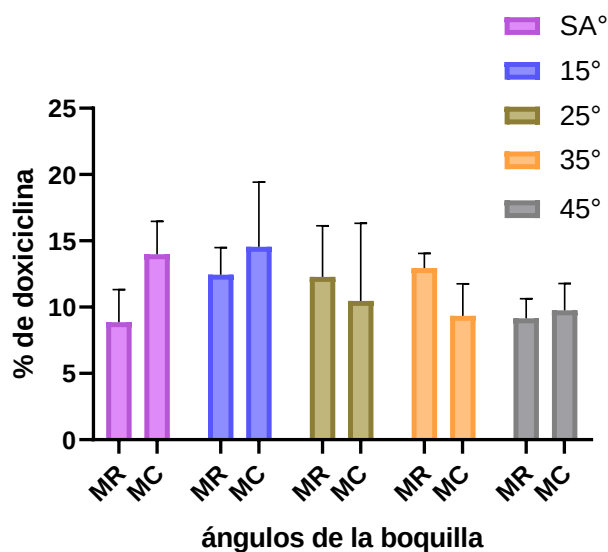


Figura 13: Gráfico que muestra la deposición en la región olfatoria.

Se muestra cada ángulo y ambas mallas. SA°: Sin ángulo, MR: Malla redonda, MC: Malla cuadrada.

3. Dosis emitida y fracción respirable

Dos conceptos importantes al momento de evaluar el desempeño de un inhalador son la dosis emitida (DE) y la fracción respirable (FR).

La DE es un valor que representa la cantidad total de formulación liberada, es decir, lo que sale desde el inhalador, sin incluir restos del polvo que pueden almacenarse en este, y es relevante porque entrega información sobre el desempeño del dispositivo para liberar el fármaco.

Mientras que la FR, es el porcentaje de partículas $<5\ \mu\text{m}$, que son las capaces de llegar al pulmón profundo, para formulaciones nasales, es decir, que no tienen como objetivo el pulmón, es ideal que este porcentaje sea el mínimo posible.

Tabla 4: Presenta los valores de DE y FR para MR.

MR: Malla redonda, SA°: Sin ángulo, DE: Dosis emitida, FR: Fracción respirable.

MR					
	SA	15°	25°	35°	45°
DE (mg)	14,47	14,69	12,37	14,03	11,81
DE (%)	72,81	73,46	61,85	75,37	75,25
FR (%)	12,78	9,75	4,79	5,05	6,32

Tabla 5: Presenta los valores de DE y FR para MC.

MC: Malla cuadrada, SA°: Sin ángulo, DE: Dosis emitida, FR: Fracción respirable.

MC					
	SA	15°	25°	35°	45°
DE (mg)	15,15	14,57	15,83	12,78	14,79
DE (%)	75,76	72,83	79,14	74,27	73,97
FR (%)	5,56	6,08	4,81	5,33	6,76

4. Impacto del diseño del inhalador en la desagregación de partículas

Las modificaciones estudiadas fueron el cambio en el ángulo de la boquilla y en el patrón de la malla, mediante variación del tamaño geométrico y la distribución de las partículas,

lo que nos permitió comparar con el tamaño aerodinámico y observar su influencia en la deposición nasal.

Se presentan en la Tabla 6, separados por tipo de mesh y ángulo, para cada uno se indica el promedio de los duplicados ($\bar{x}$) y la desviación estándar. Por otra parte, el resultado del cálculo de Span fue de aproximadamente 3 para todas las condiciones, independiente de la variación en la malla o ángulo.

Tabla 6: Distribución de tamaño geométrico de partículas (D10, D50 y D90).

D50: Diámetro medio, MR: Malla redonda, MC: Malla cuadrada, $\bar{x}$: Promedio, SA°: Sin ángulo.

	D10 (μm)		D50 (μm)		D90 (μm)	
	MR	MC	MR	MC	MR	MC
	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$	$\bar{x}$
SA°	6,98±1,73	6,16±0,40	43,89±5,41	35,83±1,57	163,70±17,79	131,09±6,82
15°	5,71±1,91	7,97±0,45	36,92±5,59	40,94±1,55	147,96±21,82	161,02±16,60
25°	7,31±0,64	7,50±1,49	44,90±0,88	39,84±5,18	174,74±20,46	142,83±9,53
35°	5,10±0,35	7,23±3,57	35,58±1,83	38,20±8,13	144,82±9,24	137,30±21,11
45°	5,18±0,27	5,26±1,17	35,48±1,12	34,26±5,81	129,50±7,95	126,47±14,24

Adicionalmente, se comparó el porcentaje que corresponde a las partículas con un tamaño geométrico menor a 5,50 μm estudiado por LD, con la fracción respirable, en base al filtro del impactador en cascada Andersen, es decir, con un tamaño aerodinámico menor a 4,70 μm .

Si bien ambos valores son de tamaño, geométrico y aerodinámico no son comparables, por lo tanto, esta representación es solo con el objetivo de evaluar el efecto del ángulo, tanto en la fracción respirable como en la desagregación de las partículas.

Como se observa en la figura 14, se muestran los datos por mesh, y su variación al aumentar el ángulo.

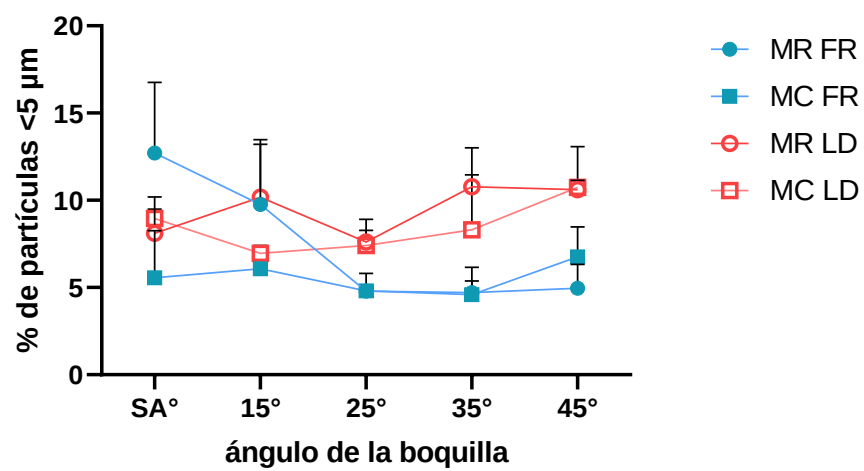


Figura 14: Porcentaje de partículas con un tamaño geométrico o aerodinámico $<5 \mu\text{m}$.

Se observa la tendencia al aumentar el ángulo y se comparan mallas. MR: Malla redonda, MC: Malla cuadrada, FR: Fracción respirable, LD: Difractor láser.

Discusión

Deposición en la cavidad nasal, región olfatoria

En el análisis de la deposición de doxiciclina en la región olfatoria (figura 13), se observó que la mesh cuadrada, al aumentar el ángulo de la boquilla del inhalador, muestra una ligera tendencia a la disminución (tabla 3).

La máxima deposición en la región olfatoria fue de un 14,54% con un ángulo de 15° y una malla cuadrada.

Si bien en la literatura se han reportado deposiciones en la región olfatoria de hasta un 52% (Salade et al., 2018b), esta es una excepción, por regla general las investigaciones en este campo no superan el 5% (Calmet et al., 2019; Jin et al., 2024; Maaz et al., 2021; Warnken et al., 2018), de esta forma el valor alcanzado en este estudio es un hallazgo destacable, con implicaciones prometedoras para futuras investigaciones.

Mientras que cuando se utilizó la mesh redonda entre los ángulos de 15° y 35°, los valores se encontraron alrededor del ~12%, sin superar esta cantidad, pero resaltando que la malla sí genera una diferencia en la deposición en la región olfatoria.

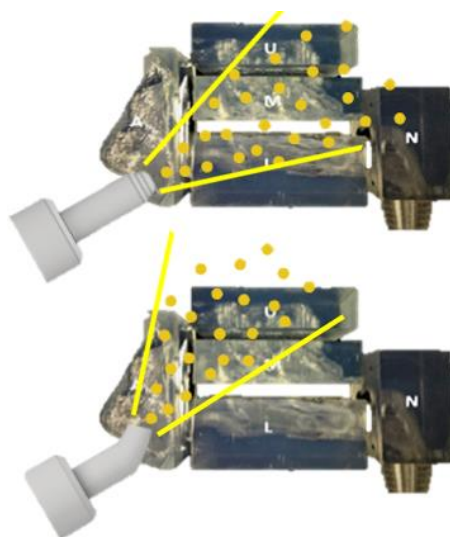


Figura 15: Una representación de la pluma del inhalador.

Sin ángulo en la parte superior y con un ángulo de 45° en la parte inferior.

A: Anterior, U: región turbinal superior, M: región turbinal media, L: región turbinal inferior, N: nasofaringe.

Por otra parte, la deposición en anterior aumentó, en la región turbinal media se mantuvo estable y disminuyó en la región turbinal inferior y en la zona nasofaríngea.

Lo que se corresponde con dirigir la pluma del inhalador en diferentes ángulos, como se observa en la figura 15.

Esto podría ser una ventaja ya que la zona respiratoria, que incluye las regiones turbinales, está altamente irrigada y permite el paso a la circulación sistémica, una menor deposición en esta zona representaría un menor paso a la circulación.

Sin embargo, la dosis experimental utilizada en el presente estudio es consistente con las descritas en la literatura como efectivas para producir su acción antineuroinflamatoria 20-40 mg/día, y menor a las usadas para su efecto antibiótico (200-400 mg/día) (Rahmani et al., 2022b). Por lo que su posible paso a la circulación sistémica representa un riesgo bajo.

A pesar de estos hallazgos que son consistentes con el cambio en la dirección de la pluma del inhalador.

Al realizar el análisis mediante la prueba ANOVA de dos vías, no se apreciaron diferencias estadísticamente significativas, ni en los ángulos, ni en las mallas, ni entre ambos.

Esto pudo deberse a múltiples factores, para observar diferencias estadísticas es posible que se requieran aún más réplicas, este estudio se realizó por triplicado.

Además, otras variables pudieron intervenir, como el material de la cavidad y del inhalador, el tamaño de partícula, su distribución, propiedades intrínsecas de la formulación o el flujo de administración.

Las investigaciones existentes presentan una alta variabilidad en cuanto a forma farmacéutica (nanopartículas, micropartículas, aerosoles, polvos), en dispositivos de inhalación, en métodos (cavidades nasales 3D, en plástico, en metal, simulaciones computacionales), así como en diferentes flujos de administración (Alberto et al., 2022; Calmet et al., 2019; Jin et al., 2024; Salade et al., 2018a; Warnken et al., 2018).

En este estudio se utilizó un flujo que permitió la deposición del polvo, y evitó el rebote de partículas, de forma de poder cuantificar, lo cual representa una limitación, debiesen

realizarse estudios de diferentes flujos de administración. De igual manera la administración se realizó solo a través de una narina, la intrincada estructura interna de la cavidad nasal podría mostrar variaciones si la aplicación fuese en la otra narina o en ambas.

Como se mencionó en un inicio para maximizar la entrega de la droga debe existir una combinación adecuada de todos los elementos, por lo tanto, se requieren más análisis que consideren otros factores.

Dosis emitida y fracción respirable

En cuanto a la dosis emitida (tabla 4 y tabla 5), para todos los tipos de ángulos y mallas, fue superior al 70%, lo que significa que el dispositivo fue capaz de dispersar y liberar la formulación. La diferencia restante fue a causa de la droga que quedó depositada, tanto en el dispositivo, como en las cápsulas, adicionalmente, deben considerarse pérdidas propias del proceso y el error humano.

Mientras que, para la fracción respirable, los resultados fueron entre 4-6%, con excepción de la boquilla sin ángulo y de 15° para la mesh redonda. El ángulo con menor FR fue el de 25° tanto para la malla redonda, como para la cuadrada.

Se recomienda que para formulaciones de la vía nasal la fracción respirable sea lo más bajo posible, estos resultados demostraron la seguridad del uso del dispositivo y la formulación, ya que el porcentaje que logra llegar al pulmón es mínimo (European Medicines Agency, 2012).

Se destaca nuevamente la diferencia entre las mallas, como se observa en la figura 14, la malla cuadrada es capaz de mantener bajos niveles de fracción respirable indistintamente para todos los ángulos, a diferencia de la malla redonda.

Sin embargo, también se debe considerar que al aumentar el ángulo es más probable que las partículas impacten y se depositen en la región anterior, tal como se observó. Produciendo que sea una menor cantidad de polvo la que llega al pulmón profundo, aun teniendo el tamaño aerodinámico para hacerlo.

Impacto del diseño del inhalador en la desagregación de partículas

Las modificaciones estudiadas fueron el cambio en el ángulo de la boquilla y en el patrón de la malla, mediante variación del tamaño geométrico de partículas, lo que permitió comparar con el tamaño aerodinámico y observar su influencia en la deposición nasal.

El tamaño de partícula geométrico sugerido para estudios de inhaladores de polvo seco en la vía nasal-cerebral es entre 20-50 μm (*Nasally Delivered Dry Powder Dosage Forms: Particle Size Analysis - Upperton Pharma Solutions*, n.d.), los D50 obtenidos por la formulación de DOXI-HPMC (tabla 6) para cada uno de los ángulos de la boquilla estuvieron dentro de ese rango.

En cuanto a la distribución del tamaño de partícula, un Span de alrededor de 3, es un valor alto, que indicó polidispersión (Govoreanu et al., 2009), es decir, que hay una gran diferencia entre las partículas de menor tamaño y las de mayor tamaño, como se observa en la figura 16, que presenta el gráfico entregado por el difractor láser, para el dispositivo sin ángulo, de mesh redonda.

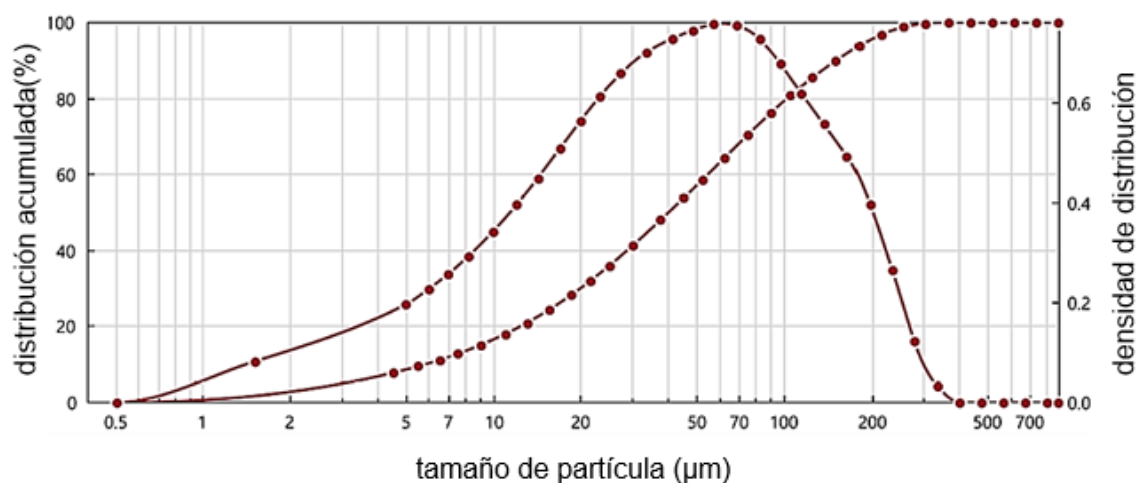


Figura 16: Gráfico que muestra la distribución del tamaño de partículas, para la condición SA° MR.

SA°: Sin ángulo, MR: Malla redonda.

Esto se corresponde con los resultados obtenidos mediante microscopía electrónica de barrido, donde se aprecia una amplia distribución de tamaño de partícula (figura 12). Sería interesante en un futuro acotar la distribución del tamaño de partícula para permitir que un mayor porcentaje de la formulación esté dentro del tamaño deseable de D50, y así observar el comportamiento del fármaco y su efecto en la deposición de forma más estricta.

Respecto al D90, valor donde se ubican las partículas de mayor tamaño, se observa al aumentar el ángulo de la boquilla una disminución del tamaño geométrico, en ambas mallas.

Adicionalmente, al comparar los valores sin ángulo, es decir, solo observando el efecto de la malla, se aprecia una diferencia de $\sim 30\ \mu\text{m}$, siendo la malla cuadrada la que produce un mayor impacto en el tamaño geométrico, es más eficiente para desagregar las partículas.

En cuanto a la comparación entre tamaño geométrico y aerodinámico, la fracción respirable disminuyó para la malla redonda, y se mantuvo constantemente baja para la malla cuadrada, a diferencia del tamaño geométrico que disminuyó para ambas mallas (figura 14).

Sin embargo, esto no se reflejó en los análisis estadísticos realizados.

Se realizó la prueba de Two ways ANOVA para cada tamaño geométrico y aerodinámico por separado. En el caso del tamaño geométrico no se observó ninguna diferencia estadística, ni para el D50, ni para el D90, ni para el Span, por otra parte, para la fracción respirable sí se observaron diferencias estadísticamente significativas, para los ángulos ($p < 0,01$), mallas ($p < 0,05$) y para la interacción ($p < 0,05$) entre ambos.

De esto se desprendió que la malla, y particularmente el ángulo de la boquilla, tienen un impacto en la fracción respirable. Se debe considerar que este resultado está íntimamente relacionado con el aumento en la deposición en anterior, que se desprende de la variación en el ángulo de la boquilla del inhalador.

Posterior al test de ANOVA, para analizar dónde se produjeron las principales diferencias, se realizó la prueba de Tukey, cuyos resultados se muestran en la figura 17.

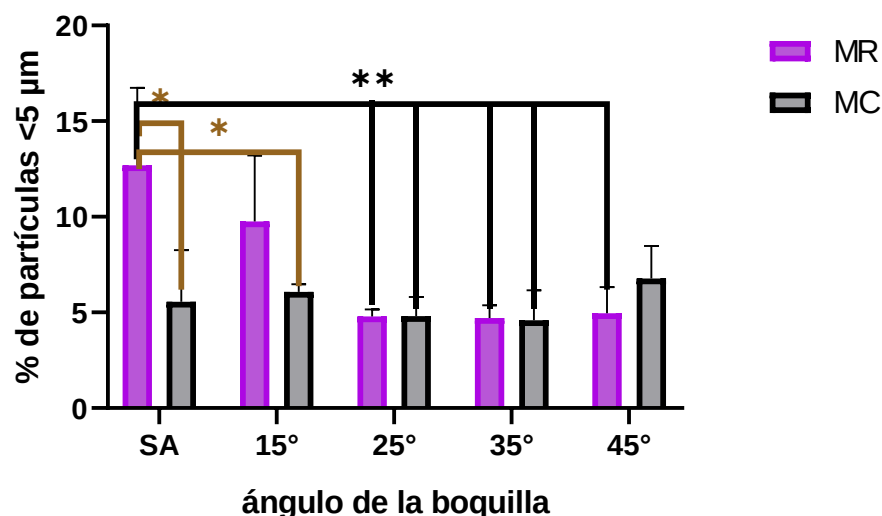


Figura 17: Gráfico que muestra la fracción respirable en cada ángulo, con ambas mallas. Se muestra además la diferencia estadísticamente significativa, con la malla redonda entre la boquilla sin ángulo y con los otros ángulos. Con $*p < 0,05$ y $**p < 0,01$. MR: Malla redonda, MC: Malla cuadrada.

Allí se observaron diferencias entre las boquillas sin ángulo de ambas mesh ($p < 0,05$), lo que indicó que el cambio en el diseño de la malla únicamente sí afecta la fracción respirable.

Otros hallazgos se observaron al comparar la boquilla sin ángulo de la mesh redonda y el ángulo de 15° de la MC, también con $p < 0,05$.

Mientras que las diferencias fueron aún más notables, con un valor de $p < 0,01$, al comparar la boquilla SA de la MR y los ángulos de 25°, 35° (de ambas mesh) y 45° (para este ángulo la diferencia solo se observó respecto a la mesh redonda).

Los resultados más notables son para los ángulos de 25°, 35° y 45°, esto se condice con el aumento en la deposición en la región olfatoria en este rango, el análisis de otros ángulos dentro de este intervalo podría ser útil. Debido a que es posible que los ángulos de los extremos presenten un menor impacto en la fracción respirable.

Rendimiento y EE

Se obtuvo la dispersión sólida amorfa, con buenos valores de rendimiento, el segundo lote presentó un rendimiento aún mayor, esto puede explicarse debido a que, si bien el equipo Spray Dryer controla múltiples variables, aún puede ser influenciado por factores externos como la humedad o cambios de temperatura. La eficiencia de encapsulación indicó que la droga está siendo encapsulada en su totalidad por el polímero.

Conclusiones

Esta investigación se centró en la importancia del diseño del dispositivo de inhalación, buscando con este maximizar la deposición en la región olfatoria, de forma segura y eficaz. Para ello se utilizó la formulación de DOXI-HPMC, con el fin de aprovechar su efecto antineuroinflamatorio.

Se produjo la dispersión sólida amorfa de la formulación, se diseñó e imprimió el modelo del inhalador y sus modificaciones.

Se realizó el análisis del desempeño del dispositivo, tanto en la deposición como en la desagregación del polvo.

Y se logró mapear la deposición de doxiciclina en toda la cavidad nasal y particularmente en la región olfatoria.

Lo que se obtuvo fue una máxima deposición en la región olfatoria de un 14,54%, destacando frente a otros estudios en este campo.

Que la malla cuadrada produjo una desagregación de las partículas más eficiente, entregó los mayores porcentajes de deposición en la región olfatoria, y a la vez mantuvo valores bajos de fracción respirable, comparada con la malla redonda.

De esta forma, el diseño del inhalador sí produce un impacto en la administración.

Se confirma que la formulación y el dispositivo, son eficaces para liberar el polvo y seguros, por su composición y por evitar el paso al pulmón, debido a su baja fracción respirable (<10%) y alta dosis emitida (>70%).

Bibliografía

- Alabsi, W., Eedara, B. B., Encinas-Basurto, D., Polt, R., & Mansour, H. M. (2022). Nose-to-Brain Delivery of Therapeutic Peptides as Nasal Aerosols. *Pharmaceutics*, 14(9), 1–32. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14091870>
- Alberto, M., Paiva-Santos, A. C., Veiga, F., & Pires, P. C. (2022). Lipid and Polymeric Nanoparticles: Successful Strategies for Nose-to-Brain Drug Delivery in the Treatment of Depression and Anxiety Disorders. *Pharmaceutics*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14122742>
- Andersen Cascade Impactor (ACI) | Copley Scientific. (n.d.). Retrieved July 2, 2025, from <https://www.copleyscientific.com/inhaler-testing/aerodynamic-particle-size-distribution-apsd/apsd-of-metered-dose-inhalers-mdis/spacers-vhcs/aci/>
- Atik, A., Stewart, T., & Zhang, J. (2016). Alpha-Synuclein as a Biomarker for Parkinson's Disease. *Brain Pathology*, 26(3), 410–418. <https://doi.org/10.1111/BPA.12370>
- Bulté, D., Rigamonti, C., Romano, A., & Mortellaro, A. (2023). Inflammasomes: Mechanisms of Action and Involvement in Human Diseases. *Cells* 2023, Vol. 12, Page 1766, 12(13), 1766. <https://doi.org/10.3390/CELLS12131766>
- Calmet, H., Inthavong, K., Eguzkitza, B., Lehmkuhl, O., Houzeaux, G., & Vázquez, M. (2019). Nasal sprayed particle deposition in a human nasal cavity under different inhalation conditions. *PLoS ONE*, 14(9). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0221330>,
- Choi, D. H., Moon, I. S., Choi, B. K., Paik, J. W., Kim, Y. S., Choi, S. H., & Kim, C. K. (2004). Effects of sub-antimicrobial dose doxycycline therapy on crevicular fluid MMP-8, and gingival tissue MMP-9, TIMP-1 and IL-6 levels in chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 39(1), 20–26. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0765.2004.00696.X>
- Costa, R., Speretta, E., Crowther, D. C., & Cardoso, I. (2011). Testing the therapeutic potential of doxycycline in a *Drosophila melanogaster* model of Alzheimer disease. *Journal of Biological Chemistry*, 286(48), 41647–41655. <https://doi.org/10.1074/JBC.M111.274548/ATTACHMENT/134D1280-1C96-480E-82D3-434D8AA7AC9C/MMC1.PDF>
- David Christopher, J., Patel, R. B., Mitchell, J. P., Tougas, T. P., Goodey, A. P., Quiroz, J., Andersson, P. U., & Lyapustina, S. (2017). Discriminating Ability of Abbreviated Impactor Measurement Approach (AIM) to Detect Changes in Mass Median Aerodynamic Diameter (MMAD) of an Albuterol/Salbutamol pMDI Aerosol. *AAPS PharmSciTech*, 18(8), 3296–3306. <https://doi.org/10.1208/S12249-017-0814-1/METRICS>
- Dhuria, S. V., Hanson, L. R., & Frey, W. H. (2010). Intranasal delivery to the central nervous system: Mechanisms and experimental considerations. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 99(4), 1654–1673. <https://doi.org/10.1002/JPS.21924>
- Di Francesco, V., Chua, A. J., Bleier, B. S., & Amiji, M. M. (2024). Effective Nose-to-Brain Delivery of Blood-Brain Barrier Impermeant Anti-IL-1 β Antibody via the Minimally Invasive Nasal Depot (MIND) Technique. *ACS Applied Materials and Interfaces*,

- 16(50), 69103–69113.
https://doi.org/10.1021/ACSAMI.4C18679/ASSET/IMAGES/LARGE/AM4C18679_0006.JPEG
- European Medicines Agency. (2012). *Guideline on the Pharmaceutical Quality of Inhalation and Nasal Products Draft*. 31(September), 1–15.
- Ferreira Junior, N. C., Dos Santos Pereira, M., Francis, N., Ramirez, P., Martorell, P., González-Lizarraga, F., Figadère, B., Chehin, R., Del Bel, E., Raisman-Vozari, R., & Michel, P. P. (2021). The Chemically-Modified Tetracycline COL-3 and Its Parent Compound Doxycycline Prevent Microglial Inflammatory Responses by Reducing Glucose-Mediated Oxidative Stress. *Cells* 2021, Vol. 10, Page 2163, 10(8), 2163.
<https://doi.org/10.3390/CELLS10082163>
- Govoreanu, R., Saveyn, H., Van Der Meeren, P., Nopens, I., & Vanrolleghem, P. A. (2009). A methodological approach for direct quantification of the activated sludge floc size distribution by using different techniques. *Water Science and Technology*, 60(7), 1857–1867. <https://doi.org/10.2166/WST.2009.535>
- Jin, Z., Guo, G., Yu, A., Qian, H., & Tong, Z. (2024). Comparative Analysis of Micrometer-Sized Particle Deposition in the Olfactory Regions of Adult and Pediatric Nasal Cavities: A Computational Study. *Pharmaceutics* 2024, Vol. 16, Page 722, 16(6), 722.
<https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS16060722>
- Liu, L. R., Liu, J. C., Bao, J. S., Bai, Q. Q., & Wang, G. Q. (2020). Interaction of Microglia and Astrocytes in the Neurovascular Unit. *Frontiers in Immunology*, 11(July), 1–11.
<https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.01024>
- Maaz, A., Blagbrough, I. S., & De Bank, P. A. (2021). In vitro evaluation of nasal aerosol depositions: An insight for direct nose to brain drug delivery. *Pharmaceutics*, 13(7).
<https://doi.org/10.3390/PHARMACEUTICS13071079>,
- Nasally Delivered Dry Powder Dosage Forms: Particle Size Analysis - Upperton Pharma Solutions*. (n.d.). Retrieved July 4, 2025, from <https://upperton.com/nasally-delivered-dry-powder-dosage-forms-particle-size-analysis/>
- National Institute of Environmental Health Sciences: Neurodegenerative Diseases*. (n.d.). Retrieved October 10, 2024, from <https://www.niehs.nih.gov/research/supported/health/neurodegenerative>
- Navarro-Triviño, F., Pérez-López, I., & Ruiz-Villaverde, R. (2020). Doxycycline, an antibiotic or an anti-inflammatory agent? The Most Common uses in dermatology. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 111(7), 561–566.
<https://doi.org/10.1016/J.ADENGL.2019.12.014>
- Pajares, M., I Rojo, A., Manda, G., Boscá, L., & Cuadrado, A. (2020). Inflammation in Parkinson's Disease: Mechanisms and Therapeutic Implications. *Cells*, 9(7).
<https://doi.org/10.3390/CELLS9071687>
- Rahmani, M., Negro Álvarez, S. E., & Hernández, E. B. (2022a). The potential use of tetracyclines in neurodegenerative diseases and the role of nano-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 175, 106237.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2022.106237>
- Rahmani, M., Negro Álvarez, S. E., & Hernández, E. B. (2022b). The potential use of tetracyclines in neurodegenerative diseases and the role of nano-based drug delivery systems. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 175, 106237.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2022.106237>
- Salade, L., Wauthoz, N., Vermeersch, M., Amighi, K., & Goole, J. (2018a). Chitosan-coated liposome dry-powder formulations loaded with ghrelin for nose-to-brain

- delivery. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 129, 257–266.
<https://doi.org/10.1016/J.EJPB.2018.06.011>
- Salade, L., Wauthoz, N., Vermeersch, M., Amighi, K., & Goole, J. (2018b). Corrigendum to “Chitosan-coated liposome dry-powder formulations loaded with ghrelin for nose-to-brain delivery” [Eur. J. Pharm. Biopharm. 129 (2018) 257–266] (S093964111830571X) (10.1016/j.ejpb.2018.06.011). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 131, 151.
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2018.08.005>
- Sicard, R. M., & Frank-Ito, D. O. (2024). Parameter characteristics in intranasal drug delivery: A key to targeting medications to the olfactory airspace. *Clinical Biomechanics*, 114(March), 106231. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiomech.2024.106231>
- Sobotta. (2007). *Atlas de anatomia humana. Tomo I: cabeza, cuello, miembro superior*. Medica Panamericana. <https://es.slideshare.net/slideshow/sobotta-atlas-de-anatomia-humana-volumen-1/62191777>
- Warnken, Z. N., Smyth, H. D. C., Davis, D. A., Weitman, S., Kuhn, J. G., & Williams, R. O. (2018). *Personalized medicine in nasal delivery: the use of patient-specific administration parameters to improve nasal drug targeting using 3D printed nasal replica casts*. <https://doi.org/10.1021/acs.molpharmaceut.7b00702>
- Warnken, Z. N., Smyth, H. D. C., Watts, A. B., Weitman, S., Kuhn, J. G., & Williams, R. O. (2016). Formulation and device design to increase nose to brain drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology, Complete* (35), 213–222.
<https://doi.org/10.1016/J.JDDST.2016.05.003>
- Xia, Q. P., Cheng, Z. Y., & He, L. (2019). The modulatory role of dopamine receptors in brain neuroinflammation. *International Immunopharmacology*, 76, 105908.
<https://doi.org/10.1016/J.INTIMP.2019.105908>
- Xinchen, Y., Jing, T., & Jiaoqiong, G. (2023). Lipid-based nanoparticles via nose-to-brain delivery: a mini review. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*, 11(August), 1–8.
<https://doi.org/10.3389/fcell.2023.1214450>