



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DEL JICARERO

**ESTUDIO DE PERMEACIÓN EN MEMBRANA ARTIFICIAL Y
EN PIEL PORCINA DE UNA FORMULACIÓN
NANOESTRUCTURADA DE METIL DODONATO A**

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN BIOLOGIA

P R E S E N T A:

BETSY VALENTE VELÁZQUEZ

CODIRECTORES

Dra. Valeri Domínguez Villegas

Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez

JOJUTLA, MORELOS

JUNIO, 2021



El presente trabajo se realiza en el Laboratorio 325: Química de Productos Naturales Básica y Aplicada del Centro de Investigaciones Químicas a cargo de la Dra. María Luisa del Carmen Garduño Ramírez y en el Laboratorio de Investigación: Investigación en Productos Naturales y Desarrollo de Fármacos del Jicarero a cargo de la Dra. Valeri Domínguez Villegas de la Escuela de Estudios Superiores del Jicarero, ambas unidades académicas dependientes de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

AGRADECIMIENTOS

A todos los que con su valiosa asesoría, dedicación y apoyo contribuyeron a la realización de este trabajo.

Quiero expresar mi agradecimiento a mis asesoras de tesis, la Dra. María Luisa del Carmen Garduño por abrir las puertas del laboratorio que dirige y darme la oportunidad de llevar a cabo el presente proyecto de investigación, a la Dra. Valeri Domínguez por sus valiosas asesorías y orientaciones durante este proceso. Les agradezco por haberme dado las pautas para mi formación profesional y su tiempo dedicado.

A la Mtra. María de los Ángeles Núñez, M. en M. Isaura Quintana, Dra. Ma. Ventura Rosas y a la Mtra. Tatiana Itzel Catalán, por sus asesorías que contribuyeron en este trabajo.

A mi mamá por su ayuda y apoyo incondicional.

DEDICATORIAS

Este trabajo está dedicado a mis asesoras de tesis, que por su arduo trabajo y asesorías en el laboratorio se logró culminar.

A mi mamá y a mi hermana por acompañarme a pesar de la distancia y tener confianza en mí.

ÍNDICE GENERAL

| | Página |
|---|--------|
| 1. INTRODUCCIÓN | 14 |
| 2. ANTECEDENTES | 17 |
| 2.1. Inflamación | 17 |
| 2.1.1. Inflamación aguda y crónica | 18 |
| 2.1.2. Fármacos antiinflamatorios comerciales | 20 |
| 2.1.2.1. Antiinflamatorios esteroides o glucocorticoides | 21 |
| 2.1.2.2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) | 23 |
| 2.1.2.3. Diclofenaco | 24 |
| 2.1.2.4. Voltaren 24 horas parche | 25 |
| 2.2. Desarrollo farmacéutico de medicamentos | 26 |
| 2.2.1. Presentaciones comerciales de fármacos | 28 |
| 2.2.1.1. Sistemas de liberación controlada | 29 |
| 2.2.1.1.1. Emulsiones | 32 |
| 2.2.1.1.1.1. Nanoemulsiones | 33 |
| 2.3. Desarrollo de sistemas terapéuticos transdérmicos (STT) | 36 |
| 2.3.1. Sistemas de reservorio o sistema controlado de permeación con membrana | 36 |
| 2.3.2. Sistemas matriciales | 37 |
| 2.3.3. Sistema de difusión controlada vía matriz | 37 |
| 2.3.4. Sistema de difusión controlada mediante microreservorios | 38 |
| 2.4. Clasificación según su difusión | 39 |
| 2.4.1. Parches pasivos | 39 |
| 2.4.2. Parches activos | 40 |
| 2.5. Componentes de los sistemas STT | 40 |
| 2.5.1. Membranas artificiales (polisulfona y nylon) | 42 |
| 2.5.1.1. Tipos de membranas | 44 |
| 2.5.1.1.1. Nylon | 44 |
| 2.5.1.1.2. Polisulfona | 45 |
| 2.5.1.2. Correlaciones entre la permeación transdérmica | 46 |
| 2.6. Piel | 46 |
| 2.6.1. Estructura de la piel | 47 |
| 2.6.1.1. Epidermis | 48 |
| 2.6.1.2. Dermis | 50 |
| 2.6.1.3. Subcutis (o hipodermis) | 50 |
| 2.6.1.4. Estudios de permeación en piel | 51 |
| 2.6.1.5. Aspecto anatómico y fisiológico de la piel | 52 |
| 2.6.2. Absorción percutánea | 52 |
| 2.7. Plantas medicinales | 54 |
| 2.7.1. Plantas con actividad antiinflamatoria | 54 |

| | |
|---|-----------|
| 2.7.2. Compuestos antiinflamatorios de origen natural | 55 |
| 2.8. <i>Dodonaea viscosa</i> L. Jacq. | 56 |
| 2.8.1. Habitat..... | 57 |
| 2.8.1.1. Requerimientos ambientales (CONAFOR, 2019)..... | 57 |
| 2.8.2. Usos tradicionales..... | 58 |
| 2.8.3. Distribución geográfica..... | 59 |
| 2.8.3.1. Distribución en México | 59 |
| 2.8.4. Antecedentes químicos de <i>Dodonaea viscosa</i> | 60 |
| 2.8.4.1. Síntesis de nanopartículas verdes de <i>Dodonaea viscosa</i> | 60 |
| 2.8.4.2. Actividad antibiofilm en las hojas de <i>Wrightia tinctoria</i> y <i>Dodonaea viscosa</i> | 60 |
| 2.8.4.3. <i>Dodonaea viscosa</i> sus actividades antioxidantes y anti-colinesterasas..... | 60 |
| 2.8.5. Antecedentes farmacológicos | 61 |
| 2.8.5.1. Actividades antibacterianas y antioxidantes de <i>Dodonaea viscosa</i> | 61 |
| 2.8.5.2. Propiedades antiinflamatorias de <i>Dodonaea viscosa</i> | 61 |
| 2.8.6. Antecedentes en aplicaciones nanoestructuradas | 62 |
| 2.8.6.1. Síntesis asistida por extracto de hoja de <i>Dodonaea viscosa</i> | 62 |
| 2.8.6.2. Biosíntesis de nanopartículas de Cu, ZVI y Ag utilizando extracto de <i>Dodonaea viscosa</i> | 62 |
| 2.8.7. Dodonatos, su aislamiento y biosíntesis | 63 |
| 2.8.7.1. Metil Dodonato A..... | 64 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 65 |
| 4. PREGUNTA | 66 |
| 5. HIPOTESIS | 66 |
| 6. OBJETIVOS | 66 |
| 6.1. Objetivo general | 66 |
| 6.2. Objetivos particulares | 66 |
| 7. MATERIALES Y METODOS | 67 |
| 7.1. Preparación de las nanoemulsiones (NEs)..... | 67 |
| 7.2. Medición del tamaño de partícula | 68 |
| 7.3. Caracterización visual de las NEs..... | 68 |
| 7.4. Caracterización morfométrica de las NEs | 68 |
| 7.5. Estudios de liberación | 69 |
| 7.6. Análisis HPLC | 71 |
| 7.7. Análisis estadístico | 73 |
| 7.8. Estudios de permeación <i>ex vivo</i> con piel porcina..... | 74 |
| 8. RESULTADOS | 75 |
| 8.1. Preparación de Nanoemulsiones | 75 |
| 8.2. Caracterización visual de las NEs..... | 76 |
| 8.3. Medición de tamaño de gotícula | 76 |
| 8.4. Caracterización morfométrica de las NEs | 77 |
| 8.5. Estudios de liberación | 82 |

| | |
|--|----|
| 8.6. Estudios de permeación <i>ex vivo</i> con piel porcina..... | 85 |
| 9. CONCLUSIONES | 87 |
| 10. PRESPECTIVAS | 88 |
| 11. LITERAURA CITADA..... | 91 |

INDICE DE FIGURAS

| | Pag. |
|--|------|
| 1. La inflamación representada en un proceso universal encaminado a restaurar la homeostasis (Barreno, P. 2008) | 17 |
| 2. Cascada del ácido araquidónico (Robbins, S. 2001) | 20 |
| 3. Estructura química del diclofenaco (Química Alkano, 27/04/19) | 25 |
| 4. Ejemplos de acarreadores (Acalá-Acalá, S. 2014) | 30 |
| 5. Esquema del parche transdérmico (Allevato, M. 2007) | 36 |
| 6. Sistemas de reservorio (Allevato, M. 2007) | 37 |
| 7. Sistema matricial (Allevato, M. 2007) | 37 |
| 8. Sistema de liberación controlada vía matriz (Allevato, M. 2007) | 38 |
| 9. Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios (Allevato, M. 2007) | 38 |
| 10. Capacidad de penetración transdérmica (Allevato, M. 2007)..... | 41 |
| 11. Estructura del nylon (Tecnología de los plásticos, 25/03/19) | 44 |
| 12. Estructura del nylon (Tecnología de los plásticos, 25/03/19) | 45 |
| 13. Propiedades físicas y químicas de la polisulfona (Alamy, 2019) | 46 |
| 14. Esquema de las capas de la piel (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011) | 48 |
| 15. Estratos de la piel (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011) | 49 |
| 16. <i>Dodonaea viscosa</i> L. Jacq. (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad(CONABIO), 23/03/19) | 58 |
| 17. <i>Dodonaea viscosa</i> L. Jacq. (Sánchez, J. M. 2016) | 58 |
| 18. Distribución de <i>Dodonaea viscosa</i> en México (Mapa extraído de Naturalista, 11/03/19) | 59 |
| 19. Estructura del Metil Dodonato A y B (Ortega, A. et al., 2001) | 63 |
| 20. Estructura del Metil Dodonato C (Ortega, A. et al., 2001) | 63 |
| 21. Estructura del Metil Dodonato A (Ortega, A. et al., 2001) | 64 |
| 22. Células de Franz (Debandi, V. 2011) | 74 |
| 23. Filtración de las muestras para su congelación y posterior análisis | 75 |
| 24. Caracterización visual de las nanoemulsiones NEB (derecha) y NECHAP-2 (izquierda) | 76 |
| 25. Equipo utilizado para determinar el tamaño de gotícula de las NEs formuladas | 77 |
| 26. Colocación de muestras en la celda para su posterior medición en el equipo Zetasizer HSA 3000 | 77 |
| 27. Célula de difusión de Franz acondicionada con una solución receptora de Etanol: Agua (70:30) | 83 |
| 28. Muestras colectadas del compartimiento receptor (cada muestra cuenta con un volumen de 300 µl)..... | 84 |

| | |
|--|-----------|
| 29. Corte de la piel con grasa obtenidos | 85 |
| 30. Corte longitudinal de la piel porcina a un grosor de 5 mm | 85 |
| 31. Toma de muestra a los diferentes tiempos del estudio | 86 |
| 32. Desarrollo del tránsito de un medicamento y sus parámetros farmacocinéticos | 88 |
| 33. Proceso de liberación de un p.a. desde una nanoemulsión | 89 |

INDICE DE TABLAS

| | Pag. |
|---|------|
| 1. Antiinflamatorios comerciales (Arthritis Foundation, 27/04/19) | 21 |
| 2. Presentaciones comerciales de parches de diferentes fármacos (Allevato, M. 2007). | 28 |
| 3. Componentes de las nanoemulsiones (Gattefosé) patented technology. "Microemulsions: Formulation Guide". Saint-Priest Cédex FRANCE | 35 |
| 4. Excipientes que se utilizaron para vehiculizar los compuestos..... | 67 |
| 5. Ecuaciones lineales para cada uno de los modelos cinéticos de la liberación de fármacos | 69 |
| 6. Análisis morfométrico de las formulaciones en estudio | 82 |
| 7. Volumen de las células de Franz en membrana de polisulfona | 83 |
| 8. Volumen de las células de Franz en membrana de nylon | 84 |
| 9. Volumen de las células de Franz en piel porcina | 86 |

ABREVIATURAS

| | |
|----------------|--|
| ASS | Ácido acetilsalicílico |
| AINES | Antiinflamatorios no esteroideos |
| APP | Agentes promotores de la permeación |
| AUC | Área bajo la curva |
| COX | Ciclooxigenasa |
| COX-1 | Ciclooxigenasa 1 |
| COX-2 | Ciclooxigenasa 2 |
| FARME | Fármacos anti-reumatoides modificadores de la enfermedad |
| FDA | Agencia de los Estados Unidos de la Administración de Alimentos y Medicamentos (<i>Food and Drug Administration</i>) |
| HLB | Balance hidro-lipofílico |
| HPLC | Cromatografía líquida de alta eficacia (<i>High-Performance Liquid Chromatography</i>) |
| IUPAC | Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (<i>International Union of Pure and Applied Chemistry</i>) |
| IRB | Juntas de Revisión Institucional de la FDA (<i>Institutional Review Boards</i>) |
| J | Flujo transdérmico |
| K _p | Constante de permeabilidad |
| NEs | Nanoemulsiones |
| o/w | Emulsión aceite en agua (oil/water) |
| p.a. | Principio activo |

| | |
|------|-------------------------------------|
| PLA2 | Fosfolipasas A2 |
| SD | Desviación estándar |
| STT | Sistemas terapéuticos transdérmicos |
| TI | Periodo de latencia |
| w/o | Emulsión agua en aceite (water/oil) |

RESUMEN

El conocimiento de los componentes químicos individuales de una planta medicinal es esencial para la optimización de los procedimientos de extracción, la comprensión de la actividad farmacológica, así como la toxicidad potencial y la interacción con fármacos. Con la obtención de principios activos a partir de plantas medicinales se han descubierto compuestos con actividad importante, en este caso se presenta el compuesto Metil Dodonato A, extraído de la especie vegetal *Dodonanea viscosa*, como un buen candidato para desarrollar una formulación nanoestructurada de aplicación transdérmica para el tratamiento antiinflamatorio. El uso de vehículos como las nanoemulsiones se presenta como una alternativa a las formas farmacéuticas tradicionales que frecuentemente tienen escasa penetración y/o retención a nivel dérmico aunado que es una administración no invasiva e indolora.

Se enuncia un objetivo particular que fue la caracterización morfométrica de las formulaciones de ensayo y el objetivo general que fue realizar el estudio de permeación en membrana artificial y piel porcina de la formulación nanoestructurada de Metil Dodonato A empleando el modelo de las células de Franz. De manera que en los resultados de la caracterización visual se obtuvieron nanoemulsiones monofásicas, transparentes bimodales. Posteriormente se realizaron estudios preliminares de permeación en piel de cerdo en el modelo ex vivo y en membranas artificiales empleando la NEB y NECHAP-2 en el modelo de células de Franz para la cuantificación de la cantidad permeada por HPLC.

Teniendo en cuenta los resultados que se obtuvieron con la caracterización de la formulación de las nanoemulsiones monofásicas con dos tamaños de poblaciones de gotícula son viables para los estudios de permeación en piel porcina y en las membranas artificiales, con lo anterior se expone que el principio activo no se libera de manera inmediata, sino que, lleva acabo una liberación modificada a lo largo del tiempo.

Palabras clave: Metil Dodonato A, Nanoemulsiones, Permeación.

1. INTRODUCCIÓN

La aplicación de medicamentos sobre la piel tiene como finalidad la obtención de efectos terapéuticos que pueden ser locales o sistémicos. En el primer caso se busca que el fármaco quede en la superficie o acceda a la profundidad deseada para ejercer su acción terapéutica, mientras que, en el segundo caso, se busca que los fármacos sean capaces de atravesar todas las capas de la piel. Las administraciones transdérmicas son una alternativa terapéutica benéfica ya que se evita el efecto de primer paso (hepático e intestinal), evita la degradación en el tracto gastrointestinal, puede proporcionar niveles terapéuticos constantes, y es una vía cómoda para el paciente.

Las emulsiones son mezclas de fluidos inmiscibles, existen diferentes tipos de estabilización para las emulsiones, los cuales son:

- Surfactantes, se da con moléculas que tienen un lado con afinidad mayor a una de las fases, mientras que el otro tiene mayor afinidad al otro líquido. Esto permite conservar las dos fases si el surfactante se ubica en la interfase.
- Polímeros y cristales, se generan si se “engruesa” la fase dispersa agregando algún soluto que ocupe la polaridad de esta.
- Proteínas, tienen su función como los polímeros por la gran afinidad que tienen algunos aminoácidos con el agua (Tadros, T. *et al.*, 2004; Boom, R. 2008; Wulff-Pérez, M. *et al.*, 2009).

Usualmente un fluido está presente en otra fase a manera de pequeñas gotas, llamándose a éstas la fase dispersa (Boom, R. 2008). Las propiedades de una emulsión dependen del tamaño de las gotas que formen a ésta y la distribución es una propiedad importante que se puede diferenciar. Las nanoemulsiones tienen

un tamaño de gota entre 20 y 500 nm, son sistemas cinéticamente estables que pueden ser transparentes (< 200 nm) o cremosas (\approx 500 nm) (Izquierdo, P. et al., 2005; Tadros, T. et al., 2004). Este pequeño tamaño de gota hace que la nanoemulsión posea una elevada estabilidad cinética frente a la sedimentación, floculación y coalescencia (Bechner, P. 2001).

Algunas ventajas de las nanoemulsiones de acuerdo con Bechner, P. 2001 son:

1. Las nanoemulsiones tienen una mayor área de superficie y energía libre por lo cual se convierten en un sistema de transporte eficaz.
2. No muestran problemas de formación de crema inherente, floculación, coalescencia y sedimentación.
3. Se pueden hacer en una variedad de formulaciones, tales como espumas, cremas, líquidos y aerosoles.
4. No son tóxicas ni irritantes por lo tanto pueden ser fácilmente aplicadas a la piel y a las membranas mucosas.
5. Se pueden administrar por vía oral si la formulación contiene agentes tensioactivos que son biocompatibles.
6. No dañan a las células sanas de humanos y animales, por lo tanto, son adecuadas para fines terapéuticos humanos y veterinarios.

Dodonaea viscosa L. Jacq, es un arbusto resinoso, perennifolio, de 1 a 5 m de alto, es una especie cosmopolita se distribuye en casi todo el país (Estado de México, Hidalgo, Morelos y Distrito Federal, entre otros). El conocimiento de los componentes químicos individuales de una planta medicinal es esencial para la optimización de los procedimientos de extracción, la comprensión de la actividad farmacológica, así como la toxicidad potencial y la interacción con fármacos. La

especie en cuestión ha sido objeto de estudios químicos, analíticos y farmacológicos. En general la especie contiene di- y triterpenos, saponinas, flavonoides y una mezcla compleja de otros compuestos fenólicos. Particularmente se han aislado diterpenos entre ellos los dodonatos (Anandan, M. 2019; Ortega, A. *et al.*, 2001).

Por lo que en el presente trabajo se tienen como objetivo llevar a cabo los estudios de permeación del Metil Dodonato A, un metabolito secundario de la especie vegetal *Dodonaea viscosa*. Estos estudios de permeación se llevarán a cabo empleando las membranas artificiales de nylon y polisulfona, además de piel porcina.

2. ANTECEDENTES

2.1. Inflamación

La inflamación cubre una compleja serie de respuestas de reparación y protección a lesiones de tejidos, ya sean causadas por infección o lesiones mecánicas (Figura 1). Por lo tanto, la inflamación se determina como un conjunto de daños exógenos o endógenos al actuar sobre el tejido vascularizado produciendo una reacción compleja derivada del ácido araquidónico en las membranas lipídicas de las células. Los aspectos básicos que se destacan en el proceso inflamatorio son, en primer lugar, la focalización de la respuesta, que tiende a circunscribir la zona de lucha contra el agente agresor. En segundo lugar, la respuesta inflamatoria es inmediata, de urgencia y, por lo tanto, preponderadamente inespecífica, aunque puede favorecer el desarrollo posterior de una respuesta específica. En tercer lugar, el foco inflamatorio atrae a las células inmunes de los tejidos cercanos (Delgado, A. *et al.*, 2004).

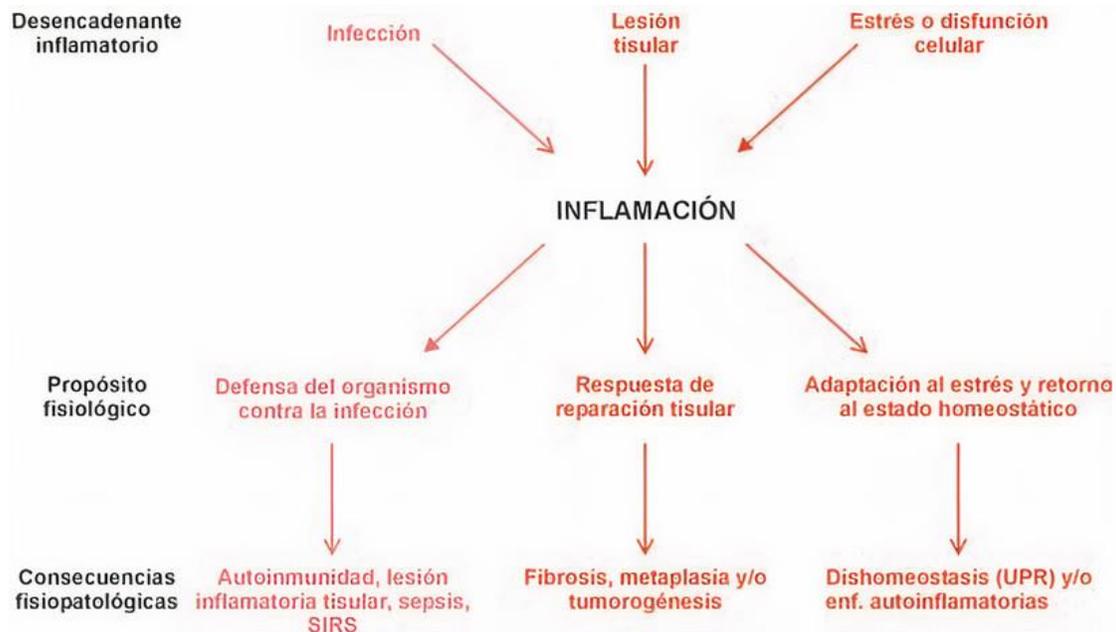


Figura 1. La inflamación representada en un proceso universal encaminado a restaurar la homeostasis (Barreno, P. 2008)

De forma esquemática de acuerdo con Bordés, R. *et al.*, 2010, es posible dividir la inflamación en cinco etapas:

1. Liberación de mediadores. Son moléculas la mayor parte de ellas, de estructura elemental que son liberadas o sintetizadas por los mastocitos bajo la acción de determinados estímulos, por ejemplo, la histamina y el óxido nítrico.

2. Efecto de los mediadores. Una vez liberadas, estas moléculas producen alteraciones vasculares y efectos quimiotácticos que favorecen la llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio.

3. Llegada de moléculas y células inmunes al foco inflamatorio. Proceden en su mayor parte de la sangre, pero también de las zonas circundantes al foco.

4. Regulación del proceso inflamatorio. Como la mayor parte de las respuestas inmunes, el fenómeno inflamatorio también integra una serie de mecanismos inhibidores tendentes a finalizar o equilibrar el proceso.

5. Reparación. Fase constituida por fenómenos que van a determinar la reparación total o parcial de los tejidos dañados por el agente agresor o por la propia respuesta inflamatoria.

2.1.1. Inflamación aguda y crónica

La inflamación es un proceso fisiológico, defensivo natural del organismo ante agresiones del medio, presentando signos como el dolor, calor, rubor y edema, además de pérdida de funcionalidad. Este proceso puede presentarse en forma

aguda con reacción inmediata al agente agresor en la cual los fagocitos al encontrarse con un agente lesivo intentan destruirlo secretando sustancias mediadoras que actúan sobre las células endoteliales provocando cambios en la permeabilidad vascular, posibilitando la migración de los leucocitos al foco inflamatorio para la fagocitosis de los agentes patógenos, retornando a la normalidad cuando se restaura la lesión (Villalba, E. 2014).

De igual manera la inflamación presenta una evolución, todo el proceso iniciado por la cascada del ácido araquidónico (Figura 2), y como resultado de infecciones persistentes, autoinmunidad, o continuación de una inflamación aguda por la persistencia del agente lesivo, dando lugar a una inflamación crónica, en este nivel se presenta la infiltración de células mononucleares, destrucción tisular, e intentos de curación del tejido dañado por angiogénesis o fibrosis (Villalba, E. 2014).

a) Aguda: Este tipo de inflamación es una respuesta inmediata al agente agresor cuya finalidad es liberar mediadores de defensa del organismo en el área de la lesión cuyo comienzo es rápido y cursa una duración corta.

b) Crónica: Es un proceso prolongado, existiendo en ese tiempo destrucción tisular, inflamación activa y un repetitivo intento de reparación.

En la figura 2 se puede observar el proceso de la cascada del ácido araquidónico.

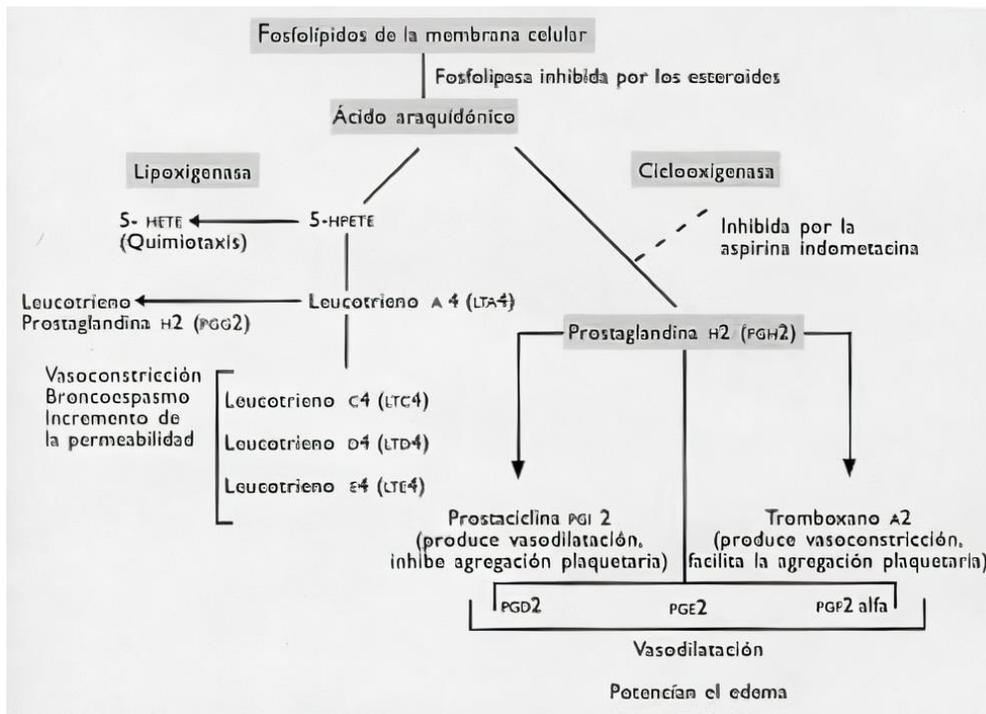


Figura 2. Cascada del ácido araquidónico (Robbins, S. 2001)

2.1.2. Fármacos antiinflamatorios comerciales

Entre los fármacos antiinflamatorios existen dos grandes grupos de fármacos: esteroideos y no esteroideos (AINES). También existe el grupo de fármacos anti-reumatoides modificadores de la enfermedad (FARME) y algunos otros fármacos con propiedades antiinflamatorias mínimas como ciertos antihistamínicos (Rang, H. 2008).

Las aplicaciones médicas de este último grupo (FARME) de compuestos puede ir desde disminuir la inflamación especialmente en enfermedades crónicas tales como la artritis reumatoide y algunas alergias graves, pero también tiene propiedades antipiréticas o ayudan en aliviar el dolor (En la tabla 1 se muestran ejemplos de medicamentos antiinflamatorios comerciales).

Los antiinflamatorios esteroideos o corticoides que son derivados del cortisol y cortisona pueden ser de efecto corto: incluyendo prednisona, prednisolona, metilprednisolona, de efecto intermedio o prolongado: betametasona o dexametasona, entre otros. Son medicamentos muy potentes, sin embargo, pueden tener severos efectos adversos (Rang, H. 2008).

| NOMBRE GENÉRICO | NOMBRE COMERCIAL |
|-------------------------------------|--|
| Diclofenac de potasio | Cataflam |
| Diclofenac de sodio | Voltaren, Voltaren XR |
| Diclofenac de sodio con misoprostol | Artrotec |
| Diflunisal | Dolobid |
| Etodolac | Lodine, Lodine XL |
| Fenoprofen de calcio | Nalfon |
| Flurbiprofeno | Aine |
| Ibuprofeno | Receta: Motrin Sin receta: Advil, Motrin IB, Nuprin |
| Indometacina | Indocin, Indocin SR |
| Ketoprofeno | Receta: Orudis, Oruvail Sin receta: Actron, Orudis KT |
| Meclofenamato de sodio | Meclomen |
| Mefenamic ácido | Ponstel |
| Meloxicam | Mobic |
| Nabumetone | Relafen |
| Naproxeno | Naprosyn, Naprelan |
| Naproxeno de sodio | Receta: Anaprox Sin receta: Aleve |
| Oxaprozin | Daypro |
| Piroxicam | Feldene |
| Sulindac | Clinoril |
| Tolmetin de sodio | Tolectin |

Tabla 1. Antiinflamatorios comerciales (*Arthritis Foundation, 27/04/19*)

2.1.2.1. Antiinflamatorios esteroides o glucocorticoides

Los glucocorticoides son otro grupo de fármacos que cuentan con propiedades antiinflamatorias e inmunosupresoras más potentes, actúan sobre la inflamación por diversos caminos; por ejemplo, reducen el número y la activación

de eosinófilos, desencadenando la apoptosis de los mismos y disminuyendo algunos de sus factores quimiotácticos, reducen la proliferación de los linfocitos T e inducen apoptosis, disminuyen la cantidad de monocitos, células dendríticas, mastocitos, inhiben la enzima PLA₂, a través de la síntesis de una proteína denominada lipocortina, que es la encargada de inhibir la PLA₂, además inhiben la producción y secreción de citocinas proinflamatorias, acumulación de macrófagos y neutrófilos en focos inflamatorios, como también la síntesis de enzimas lisosomales en las reacciones de fase aguda. Los glucocorticoides suprimen la expresión de COX-2 y por consiguiente, la producción de prostaglandinas mediadas por dicha ciclooxigenasa. El efecto en cuestión quizás contribuya parcialmente a las acciones antiinflamatorias de los glucocorticoides. Por ello, además de fungir como antiinflamatorios, tienen actividad antialérgica e inmunosupresora, son derivados del cortisol o hidrocortisona, hormona producida por la corteza adrenal esencial para la adaptación al estrés físico o emocional son los antiinflamatorios más eficaces, son las únicas moléculas activas, en todas las etapas y en todo tipo de reacción alérgica, siendo efectivos inmunosupresores. Sin embargo, también favorecen la diseminación de infecciones, así como, efectos endocrinos y metabólicos, por ello deben reservarse para aquellos casos en que otros fármacos son probadamente ineficaces o están contraindicados. En este grupo de fármacos se encuentran la dexametasona, prednisona, prednisolona, cortisona, hidrocortisona, entre otros (Gómez, H. *et al.*, 2011).

Los fármacos antiinflamatorios de este grupo son muy eficaces, pero producen efectos secundarios conforme lo reportado por Gómez, H. *et al.*, 2011.

- Efectos sobre la piel (la piel se deteriora o aparece el acné, por ejemplo).
- Aumento de peso y síndrome de Cushing.
- Un mayor riesgo de infecciones, debido a la disminución de la inmunidad.
- Trastornos de la visión (cataratas después de tratamientos largos y tomados durante varios meses o años).
- Aparición o complicación de diabetes.
- Problemas digestivos (incluyendo úlceras).

- Aparición o aumento de la hipertensión.
- Debilitación de los huesos (osteoporosis).
- Descompensación psiquiátrica (hiperexcitación y depresión).

2.1.2.2. Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs)

Los agentes antiinflamatorios, más utilizados en la actualidad son los fármacos “antiinflamatorios no esteroideos” (AINEs), al inhibir las ciclooxigenasas (COX’s) y por consiguiente la síntesis de prostaglandinas, pero no suprimen las vías de la lipooxigenasa ni la formación de leucotrienos (Williamson, E. 1996).

Estos fármacos también tienen actividad antipirética, a partir de que las prostaglandinas están implicadas en la fiebre. Los agentes atrapadores de radicales libres también juegan un papel en la inflamación, debido a que la liberación de radicales libres ocasiona daño en los tejidos durante el proceso inflamatorio (Williamson, E. 1996).

Este grupo de fármacos son ampliamente utilizados para tratar el dolor, la inflamación y la fiebre. En este grupo se incluyen medicamentos tan conocidos y utilizados como el ácido acetilsalicílico (AAS) (Aspirina), ibuprofeno, indometacina, diclofenaco, piroxicam, entre otros. Se trata de fármacos que se han utilizado para aliviar síntomas como el dolor, la inflamación aguda y crónica, así han contribuido de forma muy importante a mejorar la calidad de vida del ser humano puesto que son de gran utilidad para controlar enfermedades incapacitantes (Williamson, E. 1996).

Estos medicamentos por su mecanismo de acción pueden producir efectos no deseables en el organismo. Uno de los órganos diana donde pueden asentar estos efectos adversos es en el aparato digestivo que se relacionan con la irritación directa o indirecta del tracto gastrointestinal. La mayoría de las veces es moderada y no se presentan síntomas, pero pueden ser muy graves. Se estima su incidencia hasta el 10% de los usuarios, cifra que asciende aún más en los ancianos. Este

efecto adverso depende de la inhibición de las prostaglandinas, unas moléculas que juegan un papel importante en la protección de la mucosa gástrica, ya que limitan la secreción ácido-gástrica y estimulan la formación de mucus. Los AINE's dificultan el funcionamiento de las defensas en la mucosa del tubo digestivo siendo los efectos secundarios gastrointestinales más frecuentes la esofagitis, úlceras (siendo sus complicaciones más frecuentes: hemorragia y perforación), lesiones tóxicas, y diarrea (Williamson, E. 1996).

Partiendo que el daño celular asociado a la inflamación inicia en las membranas celulares en donde por acción de fosfolipasas celulares PLA₂, sobre los fosfolípidos de membrana se lleva a cabo la liberación del ácido araquidónico el cual es metabolizado en forma rápida hasta obtener productos oxigenados, denominados eicosanoides, por acción de diferentes sistemas enzimáticos, principalmente por la vía de las ciclooxigenasas (COX's) y por la vía de las lipooxigenasas. De ahí la importancia de la búsqueda de mejores agentes que puedan inhibir las rutas de las ciclooxigenasas y/o 5-lipooxigenasa del metabolismo de la cascada del ácido araquidónico (Williamson, E. 1996).

2.1.2.3. Diclofenaco

El diclofenaco (Figura 3) es un fármaco inhibidor relativamente no selectivo de la ciclooxigenasa y miembro de la familia de los antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Esta indicado para reducir inflamaciones y como analgésico. Además, se puede usar para reducir los cólicos menstruales (Bertram, G. 2007).

El mecanismo de acción consiste en evitar la síntesis de prostaglandinas mediante la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX). La inhibición del COX-1 también disminuye la producción de prostaglandinas en el epitelio del estómago, haciéndolo mucho más vulnerable a la corrosión por los ácidos gástricos, por lo que este es el principal efecto secundario del diclofenaco (Bertram, G. 2007).

El diclofenaco posee una preferencia baja a moderada (aproximadamente diez veces) a bloquear la isoenzima COX-2, y se cree que por eso posee una baja incidencia de efectos negativos gastrointestinales, en comparación con los mostrados por la indometacina y el ácido acetilsalicílico (Bertram, G. 2007).

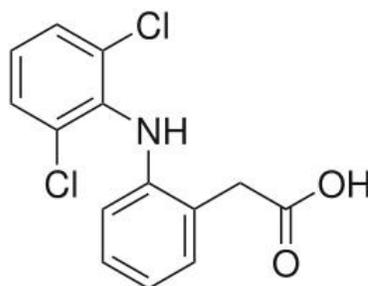


Figura 3. Estructura química del diclofenaco (Química Alkano, 27/04/19)

2.1.2.4. Voltaren 24 horas parche

El parche VOLTAREN® 24 horas es un parche de matriz que contiene la sustancia activa antiinflamatoria y analgésica, diclofenaco. El parche tópico está diseñado para tener una acción analgésica y antiinflamatoria local en el sitio de aplicación (Novartis, F. 2019).

Farmacodinamia: Productos tópicos para las articulaciones y el dolor muscular. Preparaciones antiinflamatorias no esteroideas para uso tópico. El diclofenaco es un antiinflamatorio no esteroideo con amplias propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. Su mecanismo de acción primordial es la inhibición de la síntesis de prostaglandinas (Novartis, F. 2019).

La cantidad de diclofenaco absorbida sistemáticamente del parche de VOLTAREN® 24 horas es similar a la absorbida cuando se aplica una cantidad

equivalente de VOLTAREN® Emulgel 99.7 % del diclofenaco, está unido a proteínas plasmáticas, principalmente a la albúmina (99.4 %) (Novartis, F. 2019).

Metabolismo: La biotransformación del diclofenaco involucra parcialmente la glucuronidación de la molécula intacta, pero especialmente hidroxilaciones simples y múltiples lo que resulta en abundantes metabolitos fenólicos, muchos de los cuales son convertidos a glucurónidos conjugados. Dos de los metabolitos fenólicos son biológicamente activos, aunque en mucho menor grado que el diclofenaco (Novartis, F. 2019).

2.2. Desarrollo farmacéutico de medicamentos

El descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos es un proceso largo, normalmente transcurren entre diez y quince años desde la investigación inicial hasta el lanzamiento de un medicamento al mercado, incluidos los entre seis y ocho años que transcurren entre los ensayos clínicos de Fase 1 y el lanzamiento al mercado (Novartis, F. 2019).

Durante el desarrollo temprano, los compuestos potencialmente útiles se estudian en animales para comprobar si producen los efectos deseados y si ocasionan toxicidad. Los compuestos eficaces y seguros se convierten en candidatos para estudios en seres humanos. La junta de revisión institucional (IRB) y la Agencia de los Estados Unidos de la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) deben aprobar entonces un protocolo en el que se describa el ensayo clínico y, a continuación, emitir este último organismo un permiso para la utilización del nuevo fármaco. Es en este momento cuando se inicia el período de patente para ese compuesto, que por lo general proporciona al propietario los derechos de explotación durante 20 años, sin embargo, el fármaco no puede comercializarse hasta la aprobación definitiva por parte de la FDA (Lynch, S. 2016).

- Durante la fase 1, se evalúan la seguridad y la toxicidad en seres humanos. Para ello se administran diferentes cantidades del fármaco a un pequeño número (a menudo 20 a 80) de voluntarios sanos, jóvenes y habitualmente varones, para determinar la dosis a partir de la cual aparecen los primeros efectos tóxicos.
- En la fase 2, se comprueba si el fármaco es eficaz para el tratamiento de la enfermedad para la que está destinado. Se administra el fármaco a aproximadamente 100 pacientes con el objetivo de tratar o prevenir dicha enfermedad y, en forma adicional, para establecer el rango óptimo de dosis-respuesta.
- En la fase 3, se evalúa el efecto del fármaco en poblaciones más numerosas (generalmente entre 100 y 1000 pacientes) y heterogéneas, con el objetivo de comprobar su eficacia para la aplicación clínica pretendida. En esta fase también se compara el fármaco con otros tratamientos preexistentes. En estos ensayos clínicos, pueden participar muchos médicos y pueden llevarse a cabo en muchos centros de investigación. Se trata de verificar la eficacia, detectar efectos, beneficiosos y perjudiciales, que no se manifestaron durante las fases 1 y 2.
- La fase 4 (vigilancia poscomercialización, farmacovigilancia), se produce después de que el medicamento está aprobado y comercializado, puede incluir estudios formales de investigación, junto con la presentación de informes en curso de efectos adversos. La fase 4 típicamente involucra poblaciones más grandes y períodos de tiempo más largos que las fases 1 a 3, y ayuda a detectar los efectos adversos poco comunes o de desarrollo lento.

2.2.1. Presentaciones comerciales de fármacos

A continuación, en la tabla 2 se muestran algunas de las presentaciones comerciales en parche de diferentes fármacos.

| FÁRMACO | INDICACIÓN | |
|--|--|---|
| Clonidina 0,1, 0,2 y 0,3 mg/día x 7 días consecutivos. | Hipertensión. | Parche pasivo |
| Escopolamina, 0,5 mg al día. | Prevención de náuseas y vómitos del mareo cinético en adultos. | Parche pasivo |
| Estradiol por 3,5 días o 7 días; dosis 25, 37.5, 50, 75 y 100 microgramos diarios. | Reemplazo estrogénico en menopausia. | Parche pasivo |
| Lidocaína 5%. | Dolor por osteoartritis, neuralgia posherpética. | Parche pasivo |
| Metilfenidato 10, 15, 20 y 30 mg/día. | Trastorno por Déficit de Atención e Hiperactividad (ADHD). | Parche pasivo |
| Nitroglicerina. | Preventivo de la angina de pecho. | Parche pasivo |
| Nicotina. | Alivio de los síntomas de abstinencia durante el tratamiento para dejar de fumar. | Parche pasivo |
| Noretisterona acetato y estradiol. | Terapia hormonal sustitutiva. | Parche pasivo |
| Norelgestromina / etinilestradiol. | Anticonceptivo semanal. | Parche pasivo |
| Oxibutinina. | Vejiga hiperactiva. | Parche pasivo |
| Peróxido de hidrógeno. | Blanqueamiento de los dientes. | Parche adhesivo que se adhiere a los dientes |
| Rivastigmina. | Alzheimer. | Parche pasivo |
| Rotigotina. | Estimulación dopaminérgica para Parkinson avanzado; monoterapia para el Parkinson inicial. | Parche pasivo |
| Selegilina 6, 9, o 12 mg por 24 horas. | Depresión mayor. | Parche pasivo |
| Fentanilo base 2,5 mg, 5 mg, 7,5 mg y 10 mg. | Analgesia opiácea para aliviar el dolor crónico por cáncer y el dolor intratable. | Parche pasivo |
| Fentanilo por 40 microgramos en 10'. | Dolor posoperatorio agudo. | Sistema iontoforético controlado por el paciente |
| Fentanilo. | Cirugía odontológica. | Parche mucoso oral |

Tabla 2. Presentaciones comerciales de parches de diferentes fármacos
(Allevato, M. 2007)

2.2.1.1. Sistemas de liberación controlada

De forma simultánea a la investigación de nuevas moléculas de fármacos o de su mejora, la investigación y desarrollo galénico lleva a cabo trabajos dirigidos a la búsqueda de novedosas formas de administración. Estas nuevas formas de administración son las llamadas formas farmacéuticas de liberación modificada que son aquellas diseñadas de tal manera que se modifica la velocidad o el lugar de liberación del principio activo respecto a las formas farmacéuticas de liberación inmediata del mismo principio activo. Los sistemas de liberación modificada incluyen todas aquellas formulaciones en su diseño intervienen, de una u otra forma, modificaciones en el proceso tecnológico que son determinantes del lugar de liberación, formas o sistemas de liberación. En este sentido se encuentran los sistemas de liberación controlada, es decir, aquellos que permiten la prolongación del tiempo de cesión del principio activo del medicamento a partir de la forma de dosificación, además, controlan su liberación para que ésta se realice de acuerdo con una cinética preestablecida y reproducible con lo que se consigue una mayor duración de los niveles plasmáticos eficaces y una liberación del principio activo definida (Domínguez-Gil, H. *et al.*, 2009).

En estos sistemas de liberación, el principio activo (p.a.) se encapsula o se incorpora en un sistema para obtener su liberación a una velocidad conocida que puede implicar prolongar su acción, conseguir la liberación del p.a. directamente en el lugar de acción de manera constante a una concentración adecuada y finalmente, conseguir la protección del p.a. frente a la degradación enzimática. El objetivo del encapsulamiento es el control del principio activo liberado, obteniéndose así una mayor efectividad y eficiencia en la administración de esta. Los soportes usados en estos procesos de encapsulación pueden ser polímeros, hidrogeles, emulsiones, liposomas y materiales orgánicos (Domínguez-Gil, H. *et al.*, 2009).

Los acarreadores a veces también llamados vectores (Figura 4) son estructuras formadas a partir de materiales de tamaño micrométrico o nanométrico

que ofrecen la capacidad de proteger a los fármacos de su degradación hidrolítica y/o enzimática en el tracto gastrointestinal (Acalá-Acalá, S. 2014).

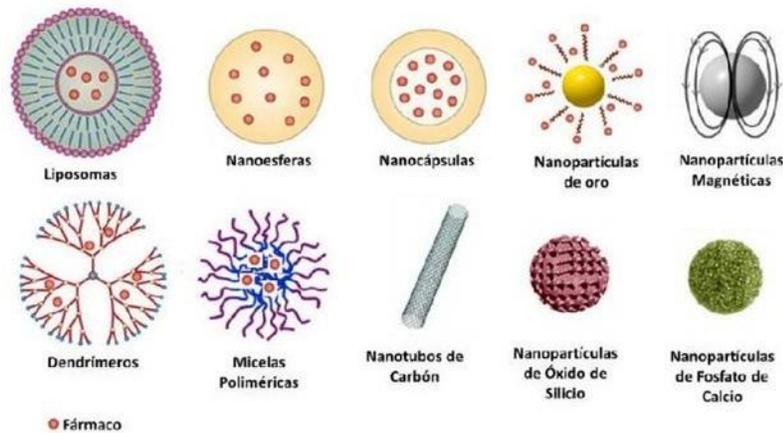


Figura 4. Ejemplos de acarreadores (Acalá-Acalá, S. 2014)

Con el desarrollo de la nanotecnología, el uso de diversas sustancias de escala nanométrica que actúan como nanoacarreadores, pueden controlar la liberación, suministrar fármacos a través de otras rutas diferentes a la oral (Goldberg, M. *et al.*, 2007).

Los primeros nanoacarreadores que se utilizaron para el tratamiento de enfermedades fueron los liposomas, estas estructuras están compuestas de fosfolípidos y tienen un tamaño de 50 y 100 nm (Goldberg, M. *et al.*, 2007; Acalá-Acalá, S. 2014).

Las nanopartículas poliméricas son estructuras solidas con un tamaño de 10 a 100 nm, donde el fármaco se encuentra distribuido a través de toda la matriz y pueden ofrecer una liberación sostenida hasta meses (Goldberg, M. *et al.*, 2007; Acalá-Acalá, S. 2014).

Las nanocápsulas, aunque también son partículas poliméricas, estas no son completamente sólidas; poseen un núcleo líquido el cual está rodeado por una pared polimérica, su tamaño se encuentra entre 100 y 500 nm (Goldberg, M. *et al.*, 2007; Acalá-Acalá, S. 2014).

Los dendrimeros son estructuras ramificadas con un núcleo interno, poseen ventajas como un bajo índice de polidispersidad, múltiples sitios de unión, tamaño controlable y una estructura fácil de modificar (Goldberg, M. *et al.*, 2007; Acalá-Acalá, S. 2014).

Los liposomas son vesículas microscópicas esféricas, de 20 a 30 nanómetros de diámetro. Están rodeadas por una membrana compuesta de un fosfolípido y un colesterol bicapa, que envuelve a una sustancia acuosa de tal manera que sirven para transportar esta sustancia. Como su membrana es similar a las membranas celulares, los liposomas pueden incorporarse a células vivientes y depositar en ellas su contenido, al tener una capa externa de tipo graso, son absorbidos con facilidad por la piel, con lo que la distribución del p.a. que contienen es mucho más eficaz y se necesita en menores cantidades que si se vertiera directamente sobre la piel (Domínguez-Gil, H. *et al.*, 2009).

Un hidrogel es una red tridimensional conformada de cadenas flexibles de polímeros que absorben cantidades considerables de agua. Estos polímeros tienden a ser hidrófilos, blandos, elásticos e insolubles en agua además de que se hinchan en presencia de ella, aumentando apreciablemente su volumen mientras mantienen la forma hasta alcanzar el equilibrio fisicoquímico. Adicionalmente, pueden tener gran resistencia mecánica de acuerdo con el método utilizado para su obtención (Domínguez-Gil, H. *et al.*, 2009).

2.2.1.1.1. Emulsiones

Las emulsiones son mezclas de fluidos inmiscibles. Usualmente un fluido está presente en otra fase a manera de pequeñas gotas, llamándose a éstas la fase dispersa (Boom, R. 2008).

La tensión o energía interfacial es característica de la superficie entre dos fluidos inmiscibles y es causada por la diferencia de fuerzas de cohesión entre las moléculas de ambas fases. El generar dicha interfase requiere un costo energético proporcional a la cantidad de interfase generada. La energía libre que se necesita para crear área interfacial es la tensión o energía interfacial. Esta tensión superficial siempre es positiva con la excepción de aquella presentada en las microemulsiones; esto significa que ΔG es siempre positiva puesto que hacer pequeñas gotas requiere energía. El sistema intentará reducir la cantidad de interfase generando así, una fuerza que lleva a la coalescencia (Cheong, J. *et al.*, 2008).

Como la tendencia natural de todas las emulsiones es la de coalescer se requiere de una fuerza que estabilice a la emulsión y hay tres diferentes formas de conseguir dicha estabilización. La estabilización con surfactantes se da con moléculas que tienen un lado con afinidad mayor a una de las fases mientras que el otro tiene mayor afinidad al otro líquido. Esto permite conservar las dos fases si el surfactante se ubica en la interfase. La estabilización con polímeros y cristales se genera si se “engruesa” la fase dispersa agregando algún soluto que ocupe la polaridad de ésta. La estabilización con proteínas funciona como la de los polímeros por la gran afinidad que tienen algunos aminoácidos con el agua (Tadros, T. *et al.*, 2004; Boom, R. 2008; Wulff-Pérez, M. *et al.*, 2009).

Las propiedades de una emulsión dependen del tamaño de las gotas que formen a esta. La apariencia de la emulsión depende del tamaño, según esto, las emulsiones se pueden dividir en nano, micro y macro- emulsiones (Windhaba, E. *et al.*, 2005).

2.2.1.1.1.1. Nanoemulsiones

Las nanoemulsiones son dispersiones coloidales translucidas de dos líquidos inmiscibles estabilizadas por un tensioactivo, que pueden ser transparentes (< 200 nm) o cremosas (≈ 500 nm) (Izquierdo, P. *et al.*, 2005; Tadros, T. *et al.*, 2004), con un tamaño de gota comprendido entre los 20 y 200 nm, en donde uno de los dos líquidos es disperso en forma de pequeñas gotas en el otro (Bechner, P. 2001). Este pequeño tamaño de gota hace que la nanoemulsión posea una elevada estabilidad cinética, frente a la sedimentación, floculación y coalescencia. Sin embargo, a pesar de su elevada estabilidad cinética, son termodinámicamente inestables, siendo necesaria la aportación de energía para su formación (Solans, C. *et al.*, 2005).

Las emulsiones pueden ser convenientemente clasificadas de acuerdo con la distribución del espacio relativo del aceite y la fase acuosa. Un sistema que consiste en gotas de aceite dispersas en una fase acuosa es llamado emulsión aceite-en-agua (o/w), mientras el sistema que consiste en gotas de agua dispersas en una fase oleosa es llamado emulsión agua-en-aceite (w/o) y también existen las bi-continuas (Bhatt, P. *et al.*, 2011).

Ventajas de las nanoemulsiones de acuerdo con Bechner, P. 2001 son:

1. Las nanoemulsiones tienen una mayor área de superficie y energía libre por lo cual se convierten en un sistema de transporte eficaz.
2. No muestran los problemas de formación de crema inherente, floculación, coalescencia y sedimentación.
3. Pueden ser formuladas en una variedad de formulaciones, tales como espumas, cremas, líquidos y aerosoles.
4. No son tóxicas ni irritantes por lo tanto pueden ser fácilmente aplicadas a la piel y a las membranas mucosas.
5. Se pueden administrar por vía oral si la formulación contiene agentes tensioactivos que son biocompatibles.
6. No dañan a las células sanas de humanos y animales, por lo tanto, son adecuadas para fines terapéuticos humanos y veterinarios.

7. Se pueden aplicar como sustituto de liposomas y vesículas, y es posible construir fases laminares cristalinas líquidas alrededor de las gotitas de nanoemulsión.
8. Debido a su pequeño tamaño, las nanoemulsiones pueden penetrar a través de la superficie "rugosa" de la piel y esto mejora la penetración de los principios activos.

Los excipientes utilizados para la preparación de las nanoemulsiones deben ser seguros, no tóxicos y no irritantes. Un punto crítico es la elección del tensioactivo ya que suelen ser irritantes y se encuentran en altas concentraciones en la formulación para poder estabilizar el sistema coloidal (Devarajan, V. y Ravichandran, V. 2011).

Para la elaboración de las nanoemulsiones, en primer lugar, se selecciona la fase oleosa que es la responsable de la solubilización de fármacos hidrófobos. En este caso es conveniente seleccionar el aceite en el cual el fármaco presente una mayor solubilidad. Así pues, para la selección de esta fase, se realiza un *screening* de aceites. Posteriormente se selecciona el tensioactivo apropiado (Devarajan, V. y Ravichandran, V. 2011).

Con el fin de racionalizar el comportamiento de los tensioactivos se determina su balance hidro-lipofílico (HBL). Este tiene en cuenta la contribución relativa del fragmento hidrófilo e hidrófobo en la molécula del tensioactivo. Los tensioactivos con HBL altos (8-18) se consideran solubles en agua, favorecen la formación de emulsión de fase externa acuosa. Los tensioactivos de bajo HBL (3-6) se consideran lipófilos y favorecen la formación de emulsiones de fase externa oleosa. Los co-tensioactivos son generalmente alcoholes o esteres alcohólico de cadena corta, que se añaden con el fin de reducir aún más la tensión interfacial, facilitando la emulsificación del sistema (Devarajan, V. y Ravichandran, V. 2011). La adición de un co-tensioactivo generalmente aumenta la estabilidad del sistema y la solubilidad del compuesto en el mismo (Fernández, F. 2012).

En general, se eligen tensioactivos no iónicos (ésteres de glicerol, ésteres de ácidos grasos, alcoholes grasos), por su buena tolerabilidad biológica, así como por su habilidad para formar nanoemulsiones independientemente del pH y a la concentración de electrolitos en la formula. Normalmente las nanoemulsiones contienen grandes cantidades de tensioactivos. Esto hace que posean una muy baja tensión interfacial, facilitando la obtención de tamaños de gota nanométricos que asegura una excelente superficie de contacto entre la piel y el vehículo (Kreilgaard, M. 2002).

En la tabla 3 se muestran ejemplos de los componentes de las nanoemulsiones.

| Componentes de las nanoemulsiones | |
|--|---|
| Aceite | Ejemplos |
| Emulsionantes | Aceite de ricino, aceite de maíz, aceite de coco, aceite de onagra, aceite de linaza, aceite mineral, aceite de oliva, aceite de cacahuete. |
| Aditivos | Lecitinas naturales de origen vegetal o animal, fosfolípidos, derivados de aceite de ricino, polisorbatos, estearilamina. |
| Antioxidantes | Propilenglicol, 1, 3-glicol de butileno, glicol de butileno, azúcares tales como glucosa, sacarosa, fructosa y maltosa. |
| Surfactante | Ácido ascórbico, α -tocoferol. |
| Co-surfactante | Polisorbato 20, Polisorbato 80, polioxi 60, aceite de ricino, monooleato de sorbitán, PEG300, glicérido caprílico. |
| Modificadores de la tonicidad | Etanol, glicerina, PEG300, PEG400, polieno glicol, poloxámero. |
| Agente de ajuste del pH | Glicerol, Sorbitol and xilitol. |
| Conservantes | Hidróxido de sodio o cloruro de hidrógeno. |

Tabla 3. Componentes de las nanoemulsiones (Gattefosé) patented technology. “Microemulsions: Formulation Guide”. Saint-Priest Cédex FRANCE

2.3. Desarrollo de sistemas terapéuticos transdérmicos (STT)

Los parches adhesivos son la forma de presentación de los sistemas transdérmicos conocida desde hace 20 años para el tratamiento de enfermedades sistémicas (Allevato, M. 2007).

Un parche transdérmico es un sistema multicapa consistente en tres partes fundamentales: adhesivo, principio activo, potenciadores (Figura 5). Se reconocen varios sistemas de diseño:

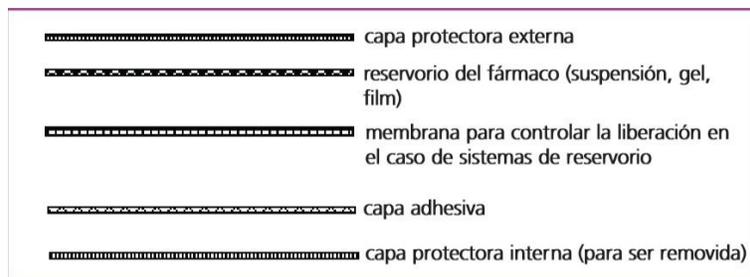


Figura 5. Esquema de parche transdérmico (Allevato, M. 2007)

2.3.1. Sistemas de reservorio o sistema controlado de permeación con membrana

El fármaco está contenido en un reservorio y se libera a través de una membrana polimérica porosa de permeabilidad selectiva que crea un sistema de liberación controlada (Figura 6). La capa de polímero asegura un buen contacto del parche con la piel.

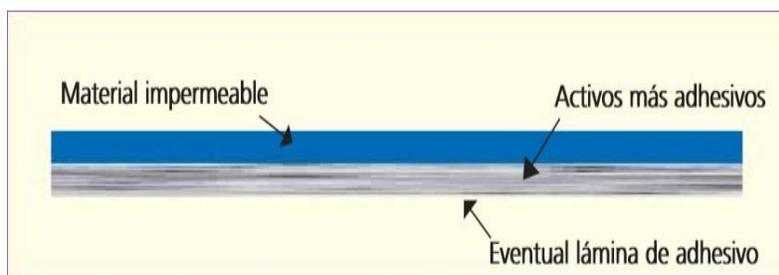


Figura 6. Sistema de reservorio (Allevato, M. 2007)

2.3.2. Sistemas matriciales

Están constituidos por un disco polimérico hidrofílico o hidrofóbico, de grosor y área definidas, en el cual está uniformemente dispersado el fármaco (Figura 7). El entramado del polímero controla la liberación de acuerdo con los excipientes involucrados en la formulación.

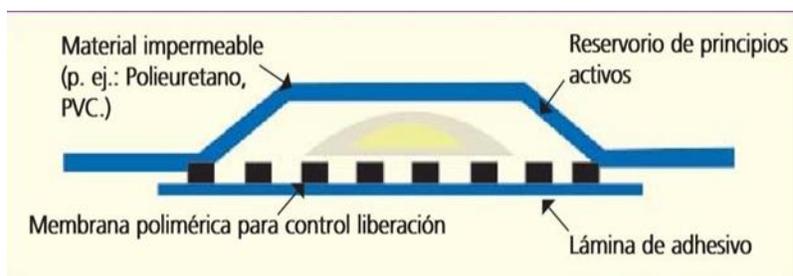


Figura 7. Sistema matricial (Allevato, M.2007)

2.3.3. Sistema de difusión controlada vía matriz

Los principios activos están dispersos en la matriz del polímero y después situados bajo un disco de material impermeable y oclusivo (Figura 8). La liberación de los principios activos es regulada por la matriz polimérica.

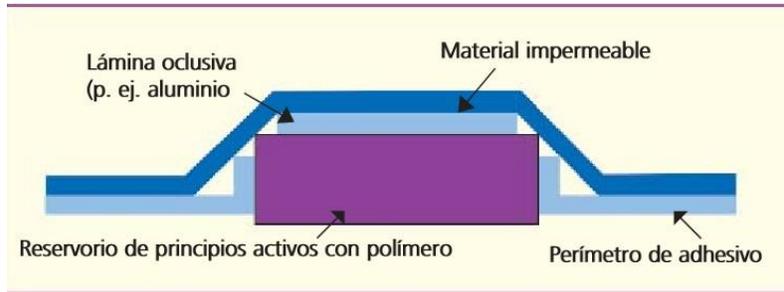


Figura 8. Sistema de liberación controlada vía matriz (Allevato, M. 2007)

2.3.4. Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios

El principio activo está suspendido en una solución soluble en agua, la cual es homogeneizada en un polímero lipofílico que forma microesferas. El mismo se aplica bajo una lamina oclusiva e impermeable (Figura 9). La liberación de los principios activos está controlada por los compartimentos del fluido y del polímero.

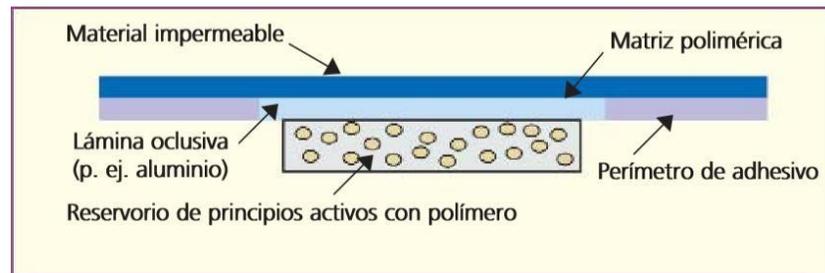


Figura 9. Sistema de difusión controlada mediante microreservorios (Allevato, M. 2007)

2.4. Clasificación según su difusión

Un parche transdérmico se define, además, mediante la cantidad del principio activo liberado por cm^2 por 24 horas. Este parámetro permite comparar diferentes parches. Todos los STT comercializados hasta ahora proporcionan mayor dosis a medida que aumenta la superficie del parche. En la práctica clínica estas correlaciones no se suelen tener en cuenta, y las dosis se ajustan básicamente en función del efecto farmacológico. El lugar de aplicación depende de la sensibilidad de la piel al fármaco y de la permeabilidad, es decir, siempre se busca la zona más permeable al medicamento y la más resistente (Allevato, M. 2007). Existen dos tipos de parches: pasivos y activos.

2.4.1. Parches pasivos

El transporte pasivo de medicamentos a través de la piel se efectúa mediante una difusión por los tortuosos espacios intercelulares y en función de una gradiente de concentración. Los fármacos penetran por difusión pasiva, dependiendo de la interacción entre el fármaco, la piel y los excipientes. La piel tiene una función de barrera representada estructuralmente por la dinámica de la capa córnea; las propiedades fisicoquímicas del fármaco (principio activo + excipientes); la estructura y composición del estrato córneo son los principales parámetros capaces de modificar la difusión y la penetración. El paso limitante de la absorción percutánea es la transferencia del principio activo desde la superficie cutánea a través del estrato córneo. Este proceso ocurre bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación. La penetración molecular a través de las diferentes regiones de la piel está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas y la oposición que ofrece la microvasculatura a la liberación sistémica del principio activo. Otro factor que controla la penetración o velocidad de permeación es la densidad del medio de difusión (Allevato, M. 2007).

2.4.2. Parches activos

Las innovaciones en el área de sistemas incluyen la incorporación de métodos físicos (corriente eléctrica, voltaje, calor, radiofrecuencia, campos magnéticos, ultrasonido) para incrementar el flujo de fármacos a través de la piel a la vez que permiten liberación a demanda o controlada. La mayoría de estos métodos se basa en la aplicación de corrientes y/o campos eléctricos para facilitar el pasaje, a través de la piel, de macromoléculas biológicamente activas (ADN, proteínas y péptidos). Con estas nuevas tecnologías se amplía la lista de principios activos adaptables a la administración transdérmica y se reducen las limitaciones relacionadas con peso y tamaño molecular, dosis, pH, entre otros. Estos métodos pueden combinarse. Se ha descubierto que los ultrasonidos de muy baja frecuencia permiten la penetración a través de la piel de moléculas de gran tamaño como las de la insulina, el interferón gamma, entre otros. Los pulsos de ondas ultrasónicas producen burbujas "cavitarias" en las capas lipídicas, permeabilizando temporalmente la piel, facilitando el paso de grandes moléculas de principios activos, abriendo canales a través de la capa externa de las células cutáneas. Cuando cesa la acción de los pulsos del ultrasonido, los lípidos se reordenan rápidamente y la piel recobra su impermeabilidad normal (Allevato, M. 2007).

2.5. Componentes de los sistemas STT

Los Sistemas Terapéuticos Transdérmicos (STT) propiamente dichos son sistemas de liberación sostenida, y, por lo tanto, su objetivo es el de suministrar el medicamento a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante (Allevato, M. 2007).

Se ha planteado que el éxito de todo Sistema Terapéutico Transdérmico (STT) depende de la capacidad de la sustancia de difundirse a través de la piel en cantidades suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado (Allevato, M. 2007).

En la figura 10 se muestran ejemplos de grados de penetración.

| Grado de penetración | Características |
|----------------------|--|
| Pobre | Polímeros de alto peso molecular y macromoléculas (proteínas o polisacáridos). |
| Pobre | Electrolitos solubles en agua (sodio, cloro). |
| Pobre | Sustancias solubles en agua (glucosa, urea). |
| Buena | Sustancias lipo e hidrosolubles. |
| Excelente | Sustancias liposolubles, no polares, bajo peso molecular. |

Figura 10. Capacidad de penetración transdérmica (Allevato, M.2007)

Desde el punto de vista galénico, los parches transdérmicos son formas farmacéuticas complejas, integradas básicamente por una capa externa de recubrimiento impermeable que protege la formulación; un reservorio o matriz de principio activo y sustancias promotoras facilitadoras de la absorción del fármaco, incluidas en un entorno que facilite y controle su liberación; una lámina adhesiva que permita su fijación a la piel y otra capa protectora desprendible que deba retirarse antes de su aplicación (Boneta, R. y Garrote, A. 2015).

Los promotores de la permeación tienen como principal objetivo reducir la resistencia difusional de la piel. Su naturaleza y características será variable y estará en función de la naturaleza del principio activo que ayudan a penetrar (lipofilia y grado de ionización) (Boneta, R. y Garrote, A. 2015).

Los adhesivos sensibles a la presión utilizados deben dotar al parche de una fuerza cohesiva adecuada, sin mermar por ello su estabilidad, seguridad, compatibilidad con el principio activo que administran y su tolerabilidad con los otros elementos incorporados para mejorar la difusión y permeación (Boneta, R. y Garrote, A. 2015).

En su totalidad, estos sistemas complejos deben presentar una excelente adaptabilidad a las condiciones de la piel, del momento y situación de empleo, y del tiempo de aplicación. Sus características estéticas (tamaño, forma, color, textura)

ayudan a la aceptación por parte del paciente de estas formas farmacéuticas (Boneta, R. y Garrote, A. 2015). Teniendo en cuenta lo que se mencionó con anterioridad se requieren membranas para su liberación entre ellas se encuentran las membranas artificiales (polisulfona y nylon).

2.5.1. Membranas artificiales (polisulfona y nylon)

Las diferentes categorías de membranas son consecuencia de numerosos factores ligados a los tipos de materiales utilizados, a su modo de preparación, su estructura y al modo de transporte de la materia en la membrana. Los materiales utilizados en la preparación de las membranas pueden ser de naturaleza orgánica, inorgánica o mixta inorgánica-orgánica. La selección y síntesis del material de la membrana se hace en función de su aplicación futura. Cada proceso a membrana necesita de membranas que presentan propiedades particulares. Por ejemplo, la micro o ultrafiltración necesitan de materiales porosos mientras que los materiales densos se adaptan a las membranas de ósmosis inversa o de separación de gases. En cuanto a las condiciones de operación, las membranas inorgánicas se prefieren sobre las orgánicas en los procesos que ocurren a altas temperaturas, en presencia de solventes orgánicos o cuando se requieren condiciones de limpieza muy drásticas (Guizard, C. 1999).

Las membranas deben responder a las exigencias siguientes:

- Ser eficaces en la separación: Tener un umbral de separación bien definido y relacionado con el tamaño de los poros y la estructura química de la membrana.
- Flujo: Una permeabilidad intrínseca alta, relacionada con la estructura porosa o densa, así como con el espesor de la capa activa.

- Resistencia mecánica, química y térmica: Depende de la naturaleza química del material utilizado y se debe adaptar al proceso de filtración seleccionado.

Los métodos de preparación de las membranas difieren en función del material seleccionado y de la técnica utilizada para obtener una geometría determinada de la membrana: plana, tubular o fibra hueca (Guizard, C. 1999).

En cuanto a la estructura porosa de las membranas existen tres grandes grupos según el tamaño de los poros:

- Los macroporos de diámetro superior a 50 nm.
- Los mesoporos de diámetro entre 2 y 50 nm.
- Los microporos con un diámetro inferior a 2 nm.

Esta clasificación sigue las recomendaciones de la IUPAC. Estos tres grandes grupos corresponden bien a los diferentes procesos utilizados en las separaciones en medio líquido. La microfiltración usa membranas macroporosas, la ultrafiltración las membranas mesoporosas y la nanofiltración a las membranas microporosas (Guizard, C. 1999).

Los materiales de las membranas a base de polímeros se han beneficiado de los progresos realizados en el campo de los polímeros sintéticos en los últimos treinta años. Las primeras membranas artificiales se prepararon a partir de la celulosa y de sus derivados. Estas membranas se utilizan todavía, pero presentan una resistencia limitada a los productos químicos y a la temperatura. Por el contrario, los polímeros sintéticos más recientes tienen una resistencia química y térmica más elevada que la de la celulosa (Guizard, C. 1999).

unirse entre sí mediante enlaces por puente de hidrógeno. Debido a esto y a que la cadena de nylon es tan regular y simétrica, los nylon son a menudo cristalinos, y forman excelentes fibras (García, N. *et al.*, 2012).

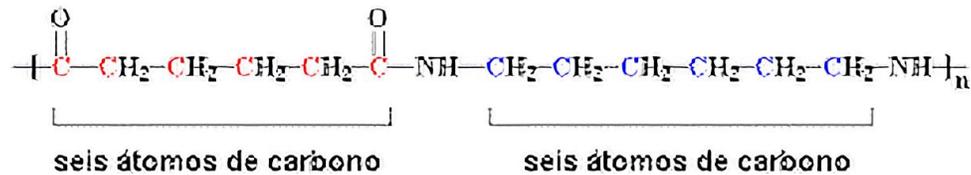


Figura 12. Estructura del nylon (Tecnología de los Plásticos, 25/03/19)

El nylon se llama nylon 6.6, porque cada unidad repetitiva de la cadena polimérica tiene dos extensiones de átomos de carbono, cada una con una longitud de seis átomos de carbono (Figura 12). Otros tipos de nylon pueden tener diversos números de átomos de carbono en estas extensiones. Los nylon se pueden sintetizar a partir de las diaminas y los cloruros de diácido (García, N. *et al.*, 2012).

2.5.1.1.2. Polisulfona

Las polisulfonas son polímeros termoplásticos duros, rígidos y transparentes (Figura 13), con temperaturas de transición vítrea (T_g) que van de 180 a 250°C, entre las polisulfonas comerciales que presentan excelentes propiedades de resistencia química, térmica y mecánica se encuentra la polisulfona Udel y la polifenilsulfona Radel, las cuales poseen temperaturas de transición vítrea (T_g) de 190 y 217 °C respectivamente (Stevens, M. *et al.*, 2014; Eren, E. *et al.*, 2015).

Además, poseen alta estabilidad oxidativa, estas propiedades hacen que los polímeros sean fuertes candidatos para la elaboración de membranas asimétricas y como materiales de soporte para otras membranas (Stevens, M. *et al.*, 2014; Eren, E. *et al.*, 2015).



Figura 13. Propiedades físicas y químicas de la polisulfona (Alamy,2019)

2.5.1.2. Correlaciones entre la permeación transdérmica

En el campo de la permeación transdérmica, cuando se llevan a cabo estudios con series farmacológicas, además de obtener información de la permeabilidad transdérmica intrínseca de los fármacos de la serie es importante intentar obtener correlaciones entre parámetros fisicoquímicos y moleculares de los fármacos y de sus parámetros transdérmicos (Patel, H. y Cronin, M. 2001).

2.6. Piel

La administración de medicamentos vía tópica es el procedimiento mediante el cual se proporciona el fármaco al organismo a través de la piel o las mucosas de determinados órganos con el objetivo de conseguir un efecto a nivel local, únicamente en el lugar donde se aplica. Los fármacos de aplicación tópica son absorbidos por los vasos sanguíneos de la piel o de las mucosas. La absorción del medicamento puede verse afectada por la naturaleza de la piel o el estado de las mucosas y el producto que se va a administrar. Los posibles efectos secundarios del principio activo pueden evitarse o reducirse al mínimo mediante la aplicación tópica en el área de la lesión para que el efecto sea local (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

La vía tópica incluye la administración del medicamento a través de la piel (vía cutánea o transdérmica), del ojo (vía oftálmica), la nariz (vía intranasal), o a través del oído (vía ótica). Estas vías se utilizan cuando se pretende disminuir el

picor de la piel o la inflamación en un lugar concreto (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

Vía cutánea

Generalmente, el término de vía tópica propiamente dicho se utiliza cuando se aplican medicamentos para ser absorbidos a través de la piel sin necesidad de ser inyectados. La piel hace de barrera e impide que el medicamento alcance la sangre (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

2.6.1. Estructura de la piel

La piel es la cubierta externa del cuerpo humano y uno de los órganos más importantes del mismo tanto por tamaño como por sus funciones, separa al organismo del medio ambiente externo y, al mismo tiempo, permite su comunicación con él mismo. La piel sana es una barrera contra agresiones mecánicas, químicas, tóxicas, calor, frío, radiaciones ultravioletas y microorganismos patógenos. Además, la piel es esencial para el mantenimiento del equilibrio de fluidos corporales actuando como barrera ante la posible pérdida de agua (pérdida transcutánea de agua), el mantenimiento del equilibrio térmico y la transmisión de una gran cantidad de información externa que accede al organismo por el tacto, la presión, temperatura y receptores del dolor (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011), como se observa en la figura 14. La piel es un órgano de gran tamaño, el mayor del organismo, ya que tiene una superficie de alrededor de $2m^2$ (depende de la altura y peso de la persona) y un peso de 4 kg, lo que supone aproximadamente el 6% del peso corporal total (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

Desde afuera hacia adentro, se distinguen tres capas de tejido, cuyo origen embriológico es totalmente distinto, perteneciendo cada capa a una capa embriológica diferente:

- La epidermis.
- La dermis o corion.
- El tejido subcutáneo o también denominado hipodermis o subcutis.

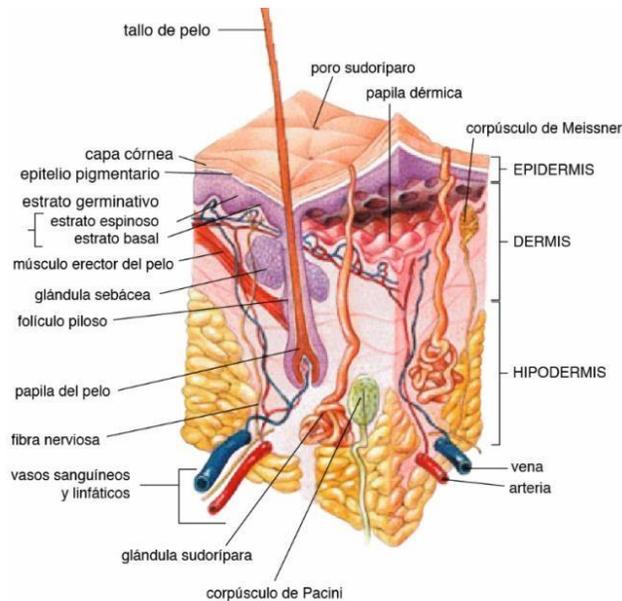


Figura 14. Esquema de las capas de la piel (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011)

2.6.1.1. Epidermis

La epidermis es un epitelio plano poliestratificado y queratinizado que cubre la totalidad de la superficie corporal. Es la capa de la piel con mayor número de células y con una dinámica de recambio extraordinariamente grande. Presenta un espesor variable, con un valor medio de 0.1 mm, pudiendo alcanzar en zonas como las plantas de los pies y las palmas de las manos espesores de hasta 1 o 2 mm (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

Está normalmente compuesta por cinco estratos o capas diferentes (Figura 15) que desde el exterior hacia el interior son:

- Capa córnea (o estrato corneo): Es la capa más externa de la epidermis y comprende, en promedio, unas 20 subcapas de células muertas, aplanadas, en función de la parte del cuerpo que recubre la piel. Estas células muertas se desprenden regularmente en un proceso conocido por descamación. La capa córnea es también asiento de los poros de las glándulas sudoríparas y las aberturas de las glándulas sebáceas.
- Capa clara (estrato lúcido): Las células están densamente comprimidas, aplanadas y no pueden distinguirse unas de otras.
- Capa granular (estrato granuloso): Comienza la queratinización: las células producen gránulos duros y, a medida que éstos empujan hacia arriba, cambian a queratina y lípidos epidérmicos.
- Capa espinosa (o estrato espinoso): Los queratinocitos producen queratina (fibras de proteína) y llegan a adoptar forma de huso.
- Capa basal (o estrato basal): Es la capa más interna, donde se producen los queratinocitos.

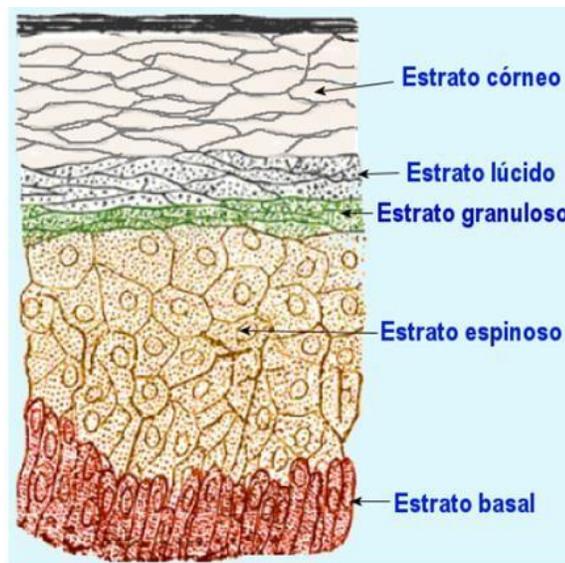


Figura 15. Estratos de la piel (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011)

2.6.1.2. Dermis

La dermis es la estructura de soporte de la piel, le proporciona resistencia y elasticidad. Está formada básicamente de tejido conectivo fibroelástico. La matriz extracelular contiene una elevada proporción de fibras, no muy compactadas, de colágeno (>75%), elastina y reticulina. Es un tejido vascularizado que sirve de soporte y alimento a la epidermis. Constituye la mayor masa de la piel y su grosor máximo es de unos 5 mm (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

Histológicamente, se divide en dos capas, que desde el exterior al interior son:

- La capa papilar (stratum papillare).
- La capa reticular (stratum reticulare).

La capa papilar recibe ese nombre por la presencia de proyecciones hacia el interior de la epidermis, estas proyecciones se denominan papilas dérmicas y se alternan con los procesos interpapilares de la epidermis. En las papilas se encuentran las asas capilares (sistema circulatorio) que proporcionan los nutrientes a la epidermis avascular. La capa papilar también contiene numerosas terminaciones nerviosas, receptores sensoriales y vasos linfáticos. La capa reticular es más gruesa que la papilar, y recibe ese nombre por el entramado o retícula de las fibras colágenas que forman gruesos haces entrelazados con haces de fibras elásticas. Esta estructura es la que proporciona elasticidad y capacidad de adaptación a movimientos y cambios de volumen (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

2.6.1.3. Subcutis (o hipodermis)

La capa más interna de la piel almacena energía mientras sirve de almohadilla y aislante del cuerpo. Se compone principalmente de:

- Células adiposas (adipocitos): Agregadas entre sí en grupos de tipo almohadilla.

- Fibras especiales de colágeno (llamado septos tisulares o límites): Son el tejido conectivo suelto y esponjoso que mantiene juntas a las células de grasa.
- Vasos sanguíneos.

El número de células adiposas que contiene el subcutis difiere en las distintas partes del cuerpo. Por otra parte, la distribución de las células adiposas también difiere entre hombres y mujeres, lo mismo que la estructura de otras partes de la piel (Merino, J. y Noriega, M. J. 2011).

2.6.1.4. Estudios de permeación en piel

Se ha planteado que el éxito de todo Sistema Terapéutico Transdérmico (STT) depende de la capacidad de la sustancia de difundirse a través de la piel en cantidades suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado. Todos los sistemas de este tipo, que se encuentran actualmente en el mercado, contienen principios activos con un coeficiente de difusión dependiente de la naturaleza del polímero y del tamaño molecular del principio activo, donde la cinética de liberación debe ser de orden cero para obtener niveles constantes de sustancia activa en el plasma; otra de las características que deben cumplir estos compuestos es que se requieren bajos niveles plasmáticos para lograr su efectividad terapéutica. Algunas de las sustancias activas que se encuentran en investigación no poseen la capacidad intrínseca de atravesar la piel de manera eficiente, por lo que ha sido necesaria la búsqueda de vías para modificar esta barrera difusional. Una de las formas que ha sido estudiada con mayor rigor es la del uso de agentes promotores de la permeación (APP), que son sustancias químicas capaces de disminuir la resistencia difusional que ofrece la piel. Esta opción puede ser la solución para aquellas sustancias con dificultad para atravesar el estrato córneo; sin embargo, no podemos olvidar las reacciones adversas, en cuanto a irritación se refiere, que estos agentes ocasionan por su naturaleza oclusiva, conduciendo a la acumulación del sudor e incrementando el crecimiento microbiano (Rodríguez, I. 1998).

2.6.1.5. Aspecto anatómico y fisiológico de la piel

De forma general la piel humana se presenta como un órgano estratificado con tres capas de tejidos diferentes: la epidermis, la dermis y la capa grasa subcutánea. La epidermis, capa más externa de la piel, comprende células escamosas epiteliales estratificadas, restos de estas células queratinizadas y aplanadas se dividen activamente para formar el estrato córneo. El estrato córneo es más higroscópico que otros materiales queratinosos. Funciona como barrera protectora química y física, retarda la pérdida de agua desde los tejidos más profundos, minimiza la penetración de los rayos ultravioletas y limita la entrada de microorganismos, medicamentos y sustancias tóxicas del medio exterior. Cuando se encuentra hidratado tiene afinidad por compuestos lipofílicos e hidrofílicos. Esta solubilidad bifuncional se deriva de la ultraestructura filamento-matriz de la queratina (Rodríguez, I. 1998).

2.6.2. Absorción percutánea

La absorción percutánea está relacionada con la transferencia de principio activo desde la superficie de la piel a través del estrato córneo, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación. La penetración molecular a través de las diferentes regiones de la piel está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas (Rodríguez, I. 1998).

El paso limitante en la absorción percutánea tiende a ser la difusión a través del estrato córneo. Para la determinación del flujo del soluto en el estado de equilibrio y del coeficiente de permeabilidad, se utiliza la fórmula integrada de la primera ley de Fick:

$$J_s = K_m * D * C_s/d$$

donde:

J_s : flujo del soluto en el estado de equilibrio.

K_m : coeficiente de partición del soluto (solución/piel).

El flujo del soluto en estado de equilibrio es de gran importancia debido a la información que brinda en cuanto a la efectividad del uso de un promotor de la permeación (PP):

$$K_p = K_m * D/d$$

donde:

K_p : coeficiente de permeabilidad.

C_s : diferencia de concentración del soluto a través de la membrana.

D : promedio del coeficiente de difusión a través de la membrana para el soluto.

d : grosor de la membrana.

Se ha podido observar los desarrollos terapéuticos que se han establecido para principios activos comerciales; sin embargo, sabemos que existe una fuente importante de obtención de nuevos principios activos a partir de fuentes naturales como son las plantas medicinales.

2.7. Plantas medicinales

La obtención de principios activos a partir de plantas medicinales ha permitido descubrir compuestos con actividad importante, en este caso se presenta el compuesto Metil Dodonato A, como un buen candidato para desarrollar una formulación nanoestructurada de aplicación transdérmica para el tratamiento antiinflamatorio. Esta formulación se presenta como una alternativa a las formas farmacéuticas tradicionales que frecuentemente tienen una escasa penetración y/o retención del fármaco a nivel dérmico, para ello los vehículos como las nanoemulsiones reducirían considerablemente estos efectos aunado a que es una administración no invasiva e indolora (Vila-Jato, J. 2001).

El comportamiento de varias plantas, de las cuales se conoce su acción antiinflamatoria por experiencias realizadas, ya sea con modelos de inflamación aguda o crónica. Estas plantas, a las cuales se les conoce su composición fitoquímica, se busca la relación de sus componentes con sustancias que presentan actividad antioxidante. También se relacionan plantas que en la medicina popular se reportan sus usos como antiinflamatorias (García, L. *et al.*, 2002).

2.7.1. Plantas con actividad antiinflamatoria

La incorporación y utilización de las plantas medicinales en el tratamiento de diversas reacciones inflamatorias son prácticas comunes en la medicina tradicional, hoy en día es evidente el interés de las sustancias antiinflamatorias de origen vegetal, que va en aumento porque ejercen algunos casos de ventajas con relación a la inflamación. Algunos de estos ejemplos son:

Un extracto fluido de caisimón (*Piper auritum*) fue evaluado con el método del edema de la pata de la rata inducido por carragenina. Se obtuvo que una dosis de 816.09 mg/kg provoca una inhibición en la formación del edema en 50%. En estudios químico-farmacéuticos realizados a la planta se encontró la presencia de

aceites, alcaloides, aminos, azúcares reductores, taninos, flavonoides, saponinas, triterpenos-esteroides en las hojas y el fruto (García, L. *et al.*, 2002).

Se ha comprobado la existencia de propiedades antiinflamatorias de la tintura de salvia de playa (*Pluchea carolinensis Jacq*) en el proceso agudo y en la fase crónica. Estudios fitoquímicos de la planta aportaron la presencia de glucósidos, triterpenos, aceites esenciales, taninos y flavonoides (García, L. *et al.*, 2002).

Las hojas de eucalipto (*Eucalyptus globulus Labill*) presenta en su composición aceites esenciales cuyo principal constituyente es el cineol o eucaliptol (éter óxido terpénico) contiene también terpenol, carburos terpénicos, alcoholes alifáticos, taninos, pigmentos flavónicos, entre otros, y se ha demostrado que extractos acuosos de esta planta presentan propiedades antiinflamatorias (García, L. *et al.*, 2002).

Se reporta que la presencia de flavonoides y los componentes fenólicos les confieren a los extractos de tomillo (*Thymus vulgaris*) su acción antiinflamatoria entre otras (García, L. *et al.*, 2002).

La pulmonaria (*Pulmonaria officinalis L.*) que en su composición se reportan taninos también; es muy utilizada por sus propiedades antiinflamatorias (García, L. *et al.*, 2002).

2.7.2. Compuestos antiinflamatorios de origen natural

Actualmente, se carece de terapias analgésicas y antiinflamatorias con perfiles ideales desde el punto de vista de seguridad y costos, lo cual estimula la búsqueda de nuevos agentes más potentes, con menos efectos adversos y accesibles para los pacientes (Newman, D. y Cragg, G. 2012).

La búsqueda de compuestos de origen vegetal con actividad analgésica y antiinflamatoria constituye una línea de investigación para la caracterización e identificación de nuevas moléculas con potencial terapéutico a partir del uso racional

de la biodiversidad con la que cuenta nuestro planeta. Prueba de ello, es importante mencionar que de los fármacos antiinflamatorios que se encuentran en el mercado hoy en día y que han sido aprobados por la FDA desde el año 1981 al 2010, el 26% de ellos han sido derivados de productos naturales. De ahí la importancia de la búsqueda de principios activos obtenidos a partir de productos naturales (Newman, D. y Cragg, G. 2012).

Los productos naturales, o también conocidos como metabolitos secundarios son producto de una serie de reacciones químicas que aparentemente no tienen una función directa en procesos esenciales, sin embargo, se han demostrado que tienen actividad antimicrobiana, antiinflamatoria, antidiabética, anticancerígena, entre otros. Se pueden agrupar en cuatro clases principales: Terpenos, entre los que se encuentran hormonas, pigmentos o aceites esenciales, compuestos fenólicos como las cumarinas, flavonoides, lignina y taninos, glicósidos que comprenden las saponinas, glicósidos cardiacos, glicósidos cianogénicos, glucosinolatos; y el grupo de los alcaloides

2.8. *Dodonaea viscosa* L. Jacq.

Es un arbusto perennifolio pegajoso con hojas brillantes, llega a medir de 1 a 5 m; nativo de América, crece asociado con las comunidades secundarias o etapas sesiónales de los bosques perturbados, especialmente encinares, claros forestales, pastizales deteriorados, terrenos erosionados y matorrales.

Dodonaea viscosa pertenece al orden sapindales, predomina en bosques tropicales caducifolios y perennifolios, asociado con vegetación mesófila, matorrales y bosques de encinos, pero también en comunidades secundarias (etapas sucesionales de bosques y matorrales, pastizales, campos abandonados y espacios ruderales), e incluso en condiciones extremas de deterioro; bordes de corrientes, barrancos, espacios expuestos al sol, lomeríos, laderas, espacios de

sobrepastoreo, suelos erosionados y áreas impactadas por incendios (Rzedowski, J. y Huerta, M. 1978; Rzedowski, J. y Rzedowski, G. C. 1985; Villaseñor, L. y Espinosa, J.1998; Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. 2001; Vibrans, 2009; Ramírez, J. y Juan, J. 2008).

2.8.1. Habitat

Especie cosmopolita que se distribuye en zonas tropicales y subtropicales se encuentra en regiones de Australia, África del Este, Sur de Asia y América. Las condiciones geográficas no son determinantes para su distribución espacial, pues se encuentra a diferentes altitudes; desde el nivel del mar y hasta los 2600 m. En comunidades secundarias, etapas sucesionales de bosque perturbados (especialmente encinares y matorrales xerófilos) y tipos de vegetación mesófila, bordes de arroyos, barrancos y taludes, claros de bosque, lugares expuestos, pastizales deteriorados, terrenos erosionados y matorrales (Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. 2001).

2.8.1.1. Requerimientos ambientales (CONAFOR, 2019)

Crece desde una altitud de 300 a los 2,400 msnm, aunque hay reportes que mencionan una distribución desde el nivel del mar.

- Es capaz de crecer en suelos muy erosionados y con fuertes pendientes.
- Es tolerante a suelos arcillosos y susceptible a suelos muy salinos y compactados.
- Es una especie demandante de luz, tolerante a las sequías, sombra, inundaciones, viento y heladas; susceptible al ramoneo y al fuego. Crece en climas templados y semicálidos tanto secos como húmedos, necesita una estación seca definida.

2.8.2. Usos tradicionales

Es una especie medicinal, que es utilizada en las comunidades contra las torceduras, reumas, dolor e infecciones del riñón. Útil como tutor para cultivos hortícolas; Se recomienda en el control de la erosión, como cortina rompevientos y como restaurador de suelos. Se pueden plantar setos de esta especie como cortinas de viveros en zonas secas, y como ornamental en áreas con temporal limitado y sin riego. En algunas partes se utiliza como leña, carbón y mangos de herramienta, en construcciones rústicas. En subsecuentes apartados se describirá lo reportado en la literatura (CONABIO, 2019).



Figura 16. *Dodonaea viscosa* L. Jacq. (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), 23/03/19)



Figura 17. *Dodonaea viscosa* L. Jacq. (Sánchez, J. M. 2016)

2.8.3. Distribución geográfica

Su área de origen es América, distribuido desde el sur de Estados Unidos hasta el sur de Sudamérica. En cuanto a su asociación vegetal son los bosques de quercus, bosques tropicales caducifolios, bosque de coníferas (Conafor, 2019).

2.8.3.1. Distribución en México

Se ha registrado en Aguascalientes, Baja California Norte, Baja California Sur, Chiapas, Chihuahua, Coahuila, Distrito Federal, Durango, Guanajuato, Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Morelos, Nayarit, Nuevo León, Oaxaca, Puebla, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas, Veracruz (Villaseñor, L. y Espinosa, J. 1998), como se muestra en la figura 18.

En el estado de Morelos se distribuye en Hueyapan, Amatlán, Huautla, Ajuchitlán, Chimalcatlan, Huaxtla, Valle de Vázquez, Xochipala, Cuernavaca, Tepoztlán, Xoxocotla, el Limón de Cuauchichinola (Castillo, P. 2000).

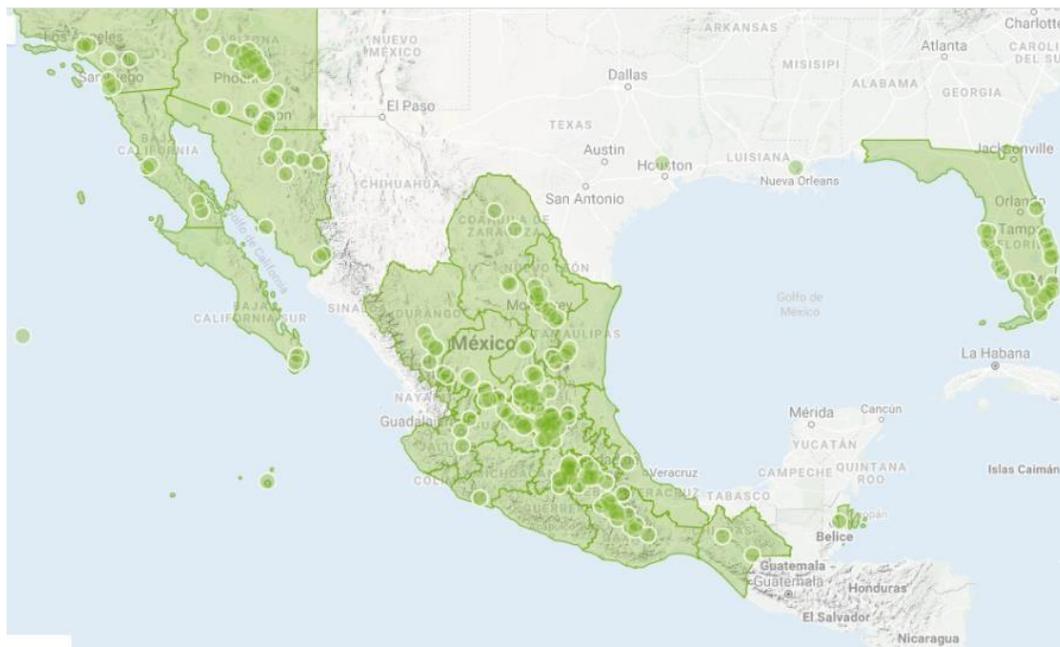


Figura 18. Distribución de *Dodonaea viscosa* en México (Mapa extraído de Naturalista, 11/03/19)

2.8.4. Antecedentes químicos de *Dodonaea viscosa*

2.8.4.1. Síntesis de nanopartículas verdes de *Dodonaea viscosa*

Las nanopartículas de plata se sintetizaron utilizando las hojas de *Dodonaea viscosa*. Utilizando diferentes disolventes polares y no polares. Para la extinción se utilizaron éter de petróleo, metanol, acetona, acetonitrilo y agua de ingredientes activos de las hojas de *Dodonaea viscosa* que se atribuyen a la obtención de nanopartículas con diferentes propiedades físicas, químicas, antibacterianas y citotóxicas. Las nanopartículas sintetizadas se caracterizaron por UV-VIS, FT-IR, XRD, HR-SEM con EDX y HR-TEM con patrones SAED. Los resultados revelaron que los AgNPs sintetizados fueron eficaces para inhibir el crecimiento de las células NSCLC A549 (Anandan, M. *et al.*, 2019).

2.8.4.2. Actividad antibiofilm en las hojas de *Wrightia tinctoria* y *Dodonaea viscosa*

Las actividades antibiofilm de las hojas de *Wrightia tinctoria* y *Dodonaea viscosa* en diferentes concentraciones sucesivas. Fueron probados contra *E.coli*. El extracto de hojas de *Dodonaea viscosa* mostró el espectro más amplio de actividad antibiofilm en comparación con *Wrightia tinctoria*. Sin embargo, *Wrightia tinctoria* es una planta medicinal muy utilizada (Kalaivani, S. y Padmavathy 2016).

2.8.4.3. *Dodonaea viscosa* sus actividades antioxidantes y anti-colinesterasas

Dodonaea viscosa L. Jacq. se ha utilizado en la medicina tradicional como agente antimalárico, antidiabético y antibacteriano, pero se necesitan más investigaciones. Este estudió las actividades antioxidantes y anti-colinesterasas de seis compuestos 1-6 y dos cristales (1A y 3A), y aislados de *Dodonaea viscosa*, se analizaron sus relaciones estructura-actividad. La actividad antioxidante se evaluó utilizando seis pruebas complementarias (Muhammad, A. *et al.*, 2016).

2.8.5. Antecedentes farmacológicos

2.8.5.1. Actividades antibacterianas y antioxidantes de *Dodonaea viscosa*

La actividad antibacteriana de las hojas de *Dodonaea viscosa* contra la disentería de *Shigilla*, *Salmonella typhi* y *Bacillus cereus* utilizando el método de difusión en agar-agar. Las altas concentraciones de extractos metanólico y acetónico (30 y 40 mg/ml) tienen efectos inhibitorios contra los microorganismos utilizados. Además de evaluar las actividades de eliminación de antioxidantes y radicales libres. Los valores de EC₅₀ de extracto metanólico (8 µg / mL) mostró que posee actividad de captación de radicales DPPH en comparación con las sustancias BHT y vitamina C como referencia (EC₅₀ = 4 y 4.2 µg / mL), respectivamente (Al-Azawi, H. 2016).

2.8.5.2. Propiedades antiinflamatorias de *Dodonaea viscosa*

Los extractos acuosos y etanólicos de *Dodonaea viscosa* tienen actividad antiinflamatoria, al evaluar el edema de la pata de las ratas cuando recibieron 600 y 800 mg/kg, respectivamente, inhibiendo el edema en 83.56 % después de 30 minutos y 55.98 % después de una hora. El extracto de etanol de las hojas de *Dodonaea viscosa*, administrado por vía oral, inhibió la formación de tejido de granuloma en ratas, lo que confirma la actividad antiinflamatoria. El efecto antiinflamatorio del extracto de diclorometano de *Dodonaea viscosa* se probó a dosis de 3 mg/kg, en el oído de un modelo de edema inducido por TPA, donde mostró una inhibición significativa del 97.8% del edema (Lawal, D. y Yunusa, I. 2013).

2.8.6. Antecedentes en aplicaciones nanoestructuradas

2.8.6.1. Síntesis asistida por extracto de hoja de *Dodonaea viscosa*

Las nanopartículas de oro con distintas morfologías se sintetizaron usando la hoja de *Dodonaea viscosa* (extracto). En diferentes disolventes polares / no polares. Los disolventes tales como el metanol, acetona, acetonitrilo, y agua se usaron en la síntesis de nanopartículas que se atribuyen a la obtención de nanopartículas con diferentes propiedades físicas, químicas y citotóxicas. Los resultados de FT-IR evidenciaron la presencia de grupos funcionales responsables de la reducción efectiva (Au^{3+} a Au^0) y actividad de capping (Anandan, M. y Gurumallesh, H. 2018).

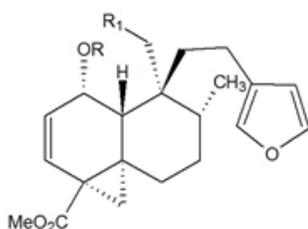
2.8.6.2. Biosíntesis de nanopartículas de Cu, ZVI y Ag utilizando extracto de *Dodonaea viscosa*

Biosíntesis de cobre, hierro de valencia cero (ZVI) y nanopartículas de plata usando el extracto de la hoja de *Dodonaea viscosa* ha sido investigado. No se utilizan tensioactivos/polímeros como agentes limitadores o reductores para estas síntesis. Las nanopartículas sintetizadas se caracterizaron por espectroscopia UV-Vis, de difracción de rayos X, microscopia de fuerza y alta resolución, microscopio de transmisión por electrones. Se realizó utilizando el área de difracción de electrones seleccionada. La dependencia del pH de la resonancia de plasmón de superficie y la variación de tamaño subsiguiente fue determinada. Las nanopartículas sintetizadas mostraron morfología esférica y tamaño de 29, 27 y 16 nm para las nanopartículas de Cu ZVI y Ag. Finalmente, se analizaron las nanopartículas biosintetizadas de Cu ZVI y Ag. contra patógenos humanos (Gram-negativas), *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas fluorescens* y (Gram-positivas) *Staphylococcus aureus* y *Bacillus subtilis*; y mostraron una buena actividad antimicrobiana (Kiruba, S. *et al.*, 2013).

2.8.7. Dodonatos, su aislamiento y biosíntesis

Clerodanos cuyo núcleo decalino ha sido modificado a biciclo (5.4.0) undecano o piosaline a biciclo (5.3.0), decano, ha sido aislado de varias especies de *Portulaca* y también de varias especies de *Asteraceae*. Varias vías biogénicas han sido postuladas para explicar la formación de sus únicas estructuras. La mayoría de ellos propone al ciclo-propil clerodano, diterpenoide es la llave inmediata en el proceso. Estos tipos de componentes no se han encontrado en la naturaleza, pero han sido sintetizados del ácido hidroxílico (Ortega, A. *et al.*, 2001).

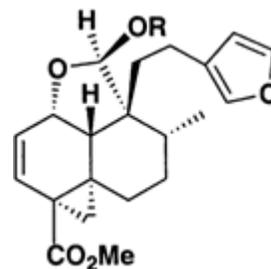
En la continua búsqueda de nuevos metabolitos se han aislado los Metil Dodonatos A, B y C de *Dodonaea viscosa* como se observa en las figuras 19 y 20. Estos nuevos clerodanos derivados contienen un triciclo (5.4.0.0) undecano en el núcleo



A. R = R1 = H

B. R = H, R1 = OH

Figura 19. Estructura del Metil Dodonato A y B (Ortega, A. *et al.*, 2001)



C. R = H

Figura 20. Estructura del Metil Dodonato C (Ortega, A. *et al.*, 2001)

2.8.7.1. Metil Dodonato A

Este compuesto es un diterpeno con un esqueleto modificado del clerodano extraído de *Dodonaea viscosa* que fue identificado a través de espectro en masa con un ion molecular a m/z 344 de acuerdo con la fórmula molecular $C_{21}H_{28}O_4$ reportado en el artículo de Ortega, A. *et al.*, 2001. Su estructura se muestra en la figura 21.

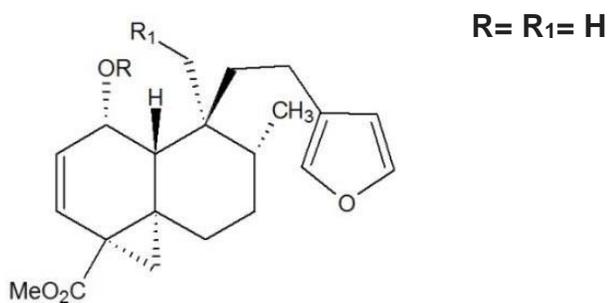


Figura 21. Estructura del Metil Dodonato A (Ortega, A. *et al.*, 2001)

3. JUSTIFICACIÓN

La obtención de principios activos a partir de plantas medicinales ha permitido descubrir compuestos con actividad importante, muchos fármacos de uso común hoy en día son de origen vegetal, de hecho, los medicamentos de venta con receta contienen al menos un ingrediente activo derivado de material vegetal, están hechos de extractos de plantas; otros son sintetizados para imitar un compuesto de la planta natural. Las plantas medicinales tienen una gran importancia en el mantenimiento de la salud, reconociendo que tienen un menor efecto secundario en el organismo, en este caso se presenta el compuesto Metil Dodonato A, como un buen candidato para desarrollar una formulación estructurada de aplicación transdérmica para el tratamiento antiinflamatorio.

La piel constituye una de las primeras barreras de defensa de nuestro organismo y, como tal, puede sufrir la agresión de numerosos microorganismos, lesiones originadas por causas mecánicas o químicas y con frecuencia sufre de procesos inflamatorios derivado de numerosas causas y padecimientos que lo originan y pueden tratarse con una variedad de fármacos presentados bajo diferentes formas farmacéuticas diseñadas para las vías de administración correspondientes, siendo las vías más habituales la cutánea, oral y parenteral. Para estos padecimientos de la piel (vía cutánea), es de elección más utilizada, sin embargo, en algunos casos no aporta los resultados terapéuticos esperados, frecuentemente debido a una escasa penetración y/o retención del fármaco a nivel dérmico. Esta falta de eficacia podría mejorarse con el uso de vehículos tales como las nanoemulsiones e hidrogeles termorreversibles, dando lugar a nuevas formulaciones que podrían usarse como alternativa a los medicamentos de administración oral o parenteral para el tratamiento de patologías cutáneas. Si estas nuevas formulaciones fueran viables, supondrían una buena alternativa, dado que en principio se reducirían considerablemente los posibles efectos indeseables del fármaco. Además, comparado con los inyectables, presentarían el beneficio de una administración no invasiva e indolora.

4. PREGUNTA

¿La formulación nanoestructurada obtenida del Metil Dodonato A será viable para el estudio de permeación en membrana artificial y en piel porcina? y con ello, ¿se podrá emplear para el desarrollo de un parche transdérmico?

5. HIPOTESIS

La vehiculización del Metil Dodonato A permitirá el paso a través de la piel porcina y la membrana artificial con lo que se logrará tener buenos parámetros de permeación. Los métodos *ex vivo*, aplicados al estudio de la penetración de principios activos representan las técnicas más difundidas. En estos métodos se utilizan tanto piel animal o humana como membranas artificiales (piel artificial). La celda de difusión de Franz es el principal método utilizado para evaluar la penetración *ex vivo* de fármacos, es un sistema compuesto por dos cámaras, una donante y otra receptora, separadas por piel o por membrana artificial (Domínguez-Villegas, V. *et al.*, 2014).

6. OBJETIVOS

6.1. Objetivo general

Realizar el estudio de permeación en membrana artificial y en piel porcina de la formulación nanoestructurada de Metil Dodonato A empleando el modelo de las células de Franz.

6.2. Objetivos particulares

1. Preparar la nanoemulsión.
2. Caracterización morfométrica de las formulaciones de ensayo.
3. Realizar el estudio de permeación en membrana artificial.
4. Realizar el estudio de permeación en piel porcina.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Preparación de las nanoemulsiones (NEs)

Las nanoemulsiones se preparan por disolución de los componentes obtenidos por Gattefosé y el Metil Dodonato A al 2% y formulación blanca (NEB). La selección y proporción óptima de cada uno de los componentes de la nanoemulsión fue determinada previamente (Ministerio de Ciencias *et al.*, 2011). Los datos, las cantidades y los excipientes utilizados en este proyecto de investigación no pueden ser difundidos en su totalidad con respecto a la preparación de las nanoemulsiones por la confidencialidad de la información compartida (convenio UAEM-Universidad de Barcelona). Sin embargo, se muestran las características de cada uno de los componentes de la nanoemulsión en la tabla 4.

| Excipiente | Característica |
|--------------|--|
| Componente 1 | Tensoactivo no iónico de cadena larga y baja toxicidad |
| Componente 2 | Co-tensoactivo para microemulsiones y nanoemulsiones |
| Componente 3 | Emoliente fluido para microemulsiones y nanoemulsiones |
| Componente 4 | Humectante |

Tabla 4. Excipientes que se utilizaron para vehiculizar los compuestos

La preparación de las nanoemulsiones se realizó mediante el pesado directo de cada uno de los componentes.

El procedimiento es el siguiente:

1. Se peso la cantidad exacta de los diferentes componentes en un vial de vidrio.
2. Se sometieron a ultrasonidos por 10 minutos.
3. Una vez preparadas las NEs, se colocaron en un baño ultrasónico durante 10 minutos.

4. Posteriormente, se colocaron en un baño de agua a 32°C durante 15 minutos seguidos de un periodo de 5 minutos en el baño ultrasónico.
5. La nanoemulsión resultante se congeló a -20°C durante un periodo de 24 h.
6. Transcurridas las 24 h la nanoemulsión se descongeló, y se llevó a cabo la inspección visual.

7.2. Medición del tamaño de partícula

El análisis del tamaño de las partículas de las emulsiones se realizó mediante una espectroscopía de correlación fotónica con el equipo Zetasizer HSA 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). Como fuente de luz se utilizó un láser de estado sólido. Las mediciones de la espectroscopía de correlación fotónica se realizaron con un ángulo de dispersión de 90°, a una temperatura de 25 °C. Las muestras se colocaron en cubetas de poliestireno de 10 mm de camino óptico. Se prepararon tres experimentos distintos con la emulsión y los datos se expresan como la media \pm la desviación estándar (SD).

7.3. Caracterización visual de las NEs

En la realización de la inspección visual para distinguir las composiciones homogéneas transparentes de las heterogéneas o turbias, si las NEs se encuentran en una zona monofásica, se observa una única fase. Por lo contrario, si no se encuentra en esta zona, se distinguen dos fases o turbidez.

7.4. Caracterización morfométrica de las NEs

Para la caracterización morfométrica de las NEs, se utilizó el instrumento de medición Z-sizer Malvern, que tiene como función determinar el tamaño de gotícula, la polidispersión, el porcentaje de gotículas de diferente tamaño y el diámetro de las

partículas. El tamaño de la fase dispersa de una formulación se midió mediante la técnica “*Light Scattering*”, que mide las fluctuaciones de la intensidad de la luz que incide en las partículas dispersas en la formulación a ensayar. Las partículas que forman parte de una nanoemulsión se mueven mediante un movimiento Browniano, y la intensidad de la luz incidente ($I(t)$) fluctúa rápidamente con el tiempo.

7.5. Estudios de liberación

El uso de membranas artificiales tiene un interés en los ensayos de cesión de principios activos desde sus formulaciones semisólidas o fluidas durante la fase inicial del desarrollo de nuevas formulaciones farmacéuticas. Se debe trabajar con un tipo de membranas que minimice al máximo la resistencia de paso del principio activo con el objetivo de determinar con confianza la influencia de las emulsiones a la cesión del principio activo.

Para determinar la cinética que mejor explica el proceso de cesión en la piel en cada formulación, se ajustan los datos experimentales a modelos matemáticos que intentan describir el curso evolutivo del proceso de difusión. Las más adecuadas son las funciones de orden cero, orden uno, Higuchi con base fisicoquímica y Weibull sin base fisicoquímica y Korsmeyer-Peppas (Costa, P. 2001).

En la tabla 5 se observan las expresiones matemáticas de estas funciones.

| MODELO | ECUACIÓN |
|------------------|---|
| ORDEN CERO | $Q = K_0 t$ |
| ORDEN UNO | $\text{Ln}(Q_\infty - Q) = -K_d t + \text{Ln} Q_\infty$ |
| WEIBULL | $\text{Ln}\left(\text{Ln}\left(\frac{Q_\infty}{Q_\infty - Q}\right)\right) = \beta \text{Ln} T - \beta \text{Ln} t_d$ |
| HIGUCHI | $Q_t = A + K_H t^{0.5}$ $A = \frac{1}{t_d}$ |
| KORSMEYER-PEPPAS | $\text{Ln} Q = \text{Ln} A + n \text{Ln} t$ |

Tabla 5. Ecuaciones lineales para cada uno de los modelos cinéticos de la liberación de fármacos

Tanto el estudio de cesión como el de permeación de Metil Dodonato A, se llevó a cabo usando la célula de difusión de Franz con una consola de agitación Hanson Research modelo 57 CD (superficie receptora del líquido 2.54 cm² y 0.6 cm²) y un baño termostatizador Tectron S-473.100 mantenido a 32 °C. Como líquido receptor una disolución de Etanol: Agua (70:30). Se introdujo un pequeño magneto y se puso a girar a una velocidad constante para homogeneizar la solución receptora. Los filtros de membrana empleados en los ensayos de liberación eran de polisulfona 0.45 mm, Pall corporation referencia HT-450 P7N 66-23. La membrana fue hidratada previamente por 24 h en metanol a 4°C. Se tomaron precauciones para evitar la formación de burbujas de aire entre la membrana y el medio. El compartimiento donador contenía 300 y 80 ml de la nanoemulsión para los estudios de cesión y de permeación respectivamente. Del compartimiento receptor se colectaron las muestras de 300 mL cada 4 h aproximadamente para determinar la cantidad de Metil Dodonato A cedida y permeada. Después de cada colecta de muestra se repuso un volumen de 30 ml de la misma naturaleza que la disolución receptora.

Para la extracción del Metil Dodonato A de la piel al término del ensayo de permeación, la piel se lavó sin tallar con agua y una disolución de laurel sulfato de sodio al 0.2 %. Se recortó la superficie que estuvo en contacto con la nanoemulsión y se pesó. Posteriormente se colocó en un frasco que contenía la misma disolución que el medio receptor y se sónico por 20 minutos a una temperatura controlada, el sobrenadante fue cuantificado por HPLC.

Para la obtención del porcentaje de recobro se cortaron 4 trozos de la piel que se usaron para el ensayo de 2.54 cm² aproximadamente. Se pesaron los trozos en tubos eppendorf y se sembraron en tres de ellos 1 ml de la nanoemulsión a 100 mg/ml de EPIGB-II. En el cuarto tubo sólo se colocó el medio receptor. Se sónico por 5 min y se puso en un baño de agua a 32°C durante 30 h. El líquido resultante se cuantifica por HPLC, la piel se lavó con agua y se colocó en tubos eppendorf limpios, se pesó la piel y se siguió el mismo procedimiento de extracción que se describió anteriormente.

7.6. Análisis HPLC

Las concentraciones permeadas y retenidas en piel se determinaron a través del análisis de las muestras mediante HPLC con un método desarrollado por Alvarado, J.Z., 2020. Para lo cual se empleó un HPLC marca Perkin Elmer modelo Altus con controlador de bombas e inyector automático con detector UV y una columna Machery Nagel EC 250/4.6 NUCLEOSIL 100-5 C18. Una disolución de Acetonitrilo: Agua que se utilizó como fase móvil. El agua grado HPLC se filtra con una membrana de nylon 0.45 mm y desgasificada por sonicación. El volumen de inyección es de 10 ml con un flujo de 1 ml/min. NOTA: Por cuestiones de confidencialidad de la información no es posible proporcionar más detalles porque comprenden los resultados de otra investigación.

Se utiliza una técnica validada previamente por el grupo de investigación. Se define validación como la obtención de pruebas convenientemente documentadas, demostrativas de que un método analítico es suficiente fiable como para obtener resultados realistas de concentraciones de fármaco en las muestras de trabajo dentro de intervalos definidos. Como principales criterios de validación de los métodos analíticos utilizados: linealidad, precisión y exactitud. En este caso también han sido incluidos los límites de detección y cuantificación (AEFI. 2001).

- **Linealidad:** Representa la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta, de intervalo de concentraciones de producto utilizadas por las que el método es satisfactorio. Una de las metodologías para estudiar la linealidad de las respuestas, es comparar los valores medios de las relaciones entre la respuesta y su correspondiente concentración. Si no se presentan diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) entre los valores medios comparados, la técnica analítica utilizada es lineal entre el margen de concentraciones estudiado.
- **Precisión:** Es una medida del grado de reproducibilidad de un método analítico cuando se trabaja en condiciones normales y se expresa como la

desviación estándar (DE) o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación, CV). Estos son unos de los criterios más importantes, junto con la exactitud, para tener en cuenta a fin de comprobar la validez de una metodología analítica. Una de las medidas de precisión es el coeficiente de variación porcentual que se estima a partir de la variabilidad de los valores predichos.

$$CV (\%) = \frac{D.E.}{C_{\text{exp}}}$$

Donde C^{exp} es el valor interpolado medio encontrado por diferentes replicados de cada nivel de concentración y DE es la desviación estándar de los interpolados de cada concentración. Tanto exactitud como precisión se han evaluado a partir de los valores de las concentraciones predichas para cada una de las concentraciones utilizadas en las mismas rectas de calibración utilizadas para estudiar la linealidad.

- Exactitud: La exactitud representa el grado de concordancia entre el valor medido y su valor verdadero. Las diferencias entre los valores predichos (C) y los valores teóricos o de referencia (C) constituyen una estimación absoluta de la cuantificación a cada concentración, se ha expresado como valor relativo calculando el error relativo porcentual.

$$E_r (\%) = \frac{C_{\text{exp}} - C_{\text{teor}}}{C_{\text{teor}}} \cdot 100$$

Donde C^{exp} es la concentración interpolada media encontrada en cada nivel de concentración y C es la concentración de cada punto de la recta utilizada. Se expresa concretando el valor más alto y más bajo encontrado entre las concentraciones de fármaco utilizadas en la validación metodológica.

- Límite de cuantificación: Es la cantidad mínima de un fármaco que puede ser cuantificada por el procedimiento analítico con una precisión y una exactitud aceptables. Es el punto más bajo de la recta de calibrado. El límite de

cuantificación caracteriza la habilidad de un procedimiento analítico para cuantificar adecuadamente un analito.

$$LQ = \frac{10s}{p}$$

Donde:

s: desviación estándar de la ordenada en el origen.

p: pendiente de la recta.

- Límite de detección: Es la cantidad mínima de fármaco que puede ser detectada pero no cuantificada bajo las condiciones del procedimiento analítico. El límite de detección se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$LD = \frac{3,3s}{p}$$

Donde:

s: desviación estándar de la ordenada en el origen.

p: pendiente de la recta.

7.7. Análisis estadístico

El área bajo la curva (AUC) en el gráfico de concentración-tiempo del estudio de cesión del Metil Dodonato A se cuantificó usando el modo de 2-compartimentos del software WinNonlin. El software usado para la construcción de los gráficos y análisis de regresión es el GraphPad Prism. Se estimaron los valores de los parámetros de permeación: constante de permeabilidad (K_p), flujo transdérmico (J) y periodo de latencia (TI).

7.8. Estudios de permeación *ex vivo* con piel porcina

Para el estudio *ex vivo*, se tomó en cuenta la metodología descrita por Parra, *et al.*, 2016, se obtuvo una cantidad adecuada de piel de cerdo adquirida en un establecimiento autorizado con registro federal de contribuyente y con registro sanitario para venta de carne para consumo humano; dicha piel conto con los sellos sanitarios del Rastro Municipal lo que garantizo su certificación sanitaria; la piel fue cortada a un grosor de 5 mm con un equipo especializado (rebanadora industrial con cuchilla de acero inoxidable) y se acondiciono en congelación para su posterior uso; se colocó en las células de Franz (Figura 22) en la cámara donante y en la cámara receptora se colocó una mezcla de etanol: agua 3:7 como solución receptora, el experimento se realizó por triplicado con agitación constante y a 32°C. La cámara donante se llenó con 300 µl de la nanoemulsión del Metil Dodonato A, de la nanoemulsión de diclofenaco sódico y la nanoemulsión blanca. Se determino la concentración del Metil Dodonato A y de diclofenaco sódico permeados a través de la piel de cerdo en función del tiempo, obteniendo muestreos de 300 µl de la solución receptora; posteriormente.

Una vez acondicionadas las células de Franz con la formulación colocada en la cámara donadora se procedió a tomar el muestreo a los siguientes tiempos: 30, 60, 90, 120, 150, 180, 300, 600, 1200, 1440 y 2880 minutos (Parra, *et al.*, 2016).

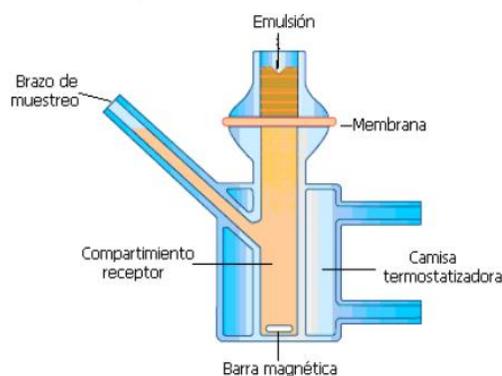


Figura 22. Células de Franz (Debandi, V. 2011)

8. RESULTADOS

8.1. Preparación de Nanoemulsiones

Para la preparación de las nanoemulsiones (**NEs**) se siguió lo dispuesto en la metodología de la presente tesis.

Se pesaron cada uno de los componentes en un vial de vidrio de acuerdo con la formulación base a partir del Convenio UAEM-UB. Se prepararon tanto la nanoemulsión blanca libre de compuestos (**NEB**) como la nanoemulsión con el compuesto Metil Dodonato A (**NECHAP-2**) a una concentración del 2%. Una vez preparadas las **NEs** se sometieron al proceso descrito en la metodología. Como resultado se obtuvieron 2 formulaciones de cada una para contar con la reproducibilidad de la experimentación realizada.

Una vez obtenidas las formulaciones fueron filtradas empleando filtros de disco de 0.45 μM de poro y depositándolas en las celdas correspondientes para su congelación a -20°C y posterior análisis en el equipo Z-sizer (Figura 23).

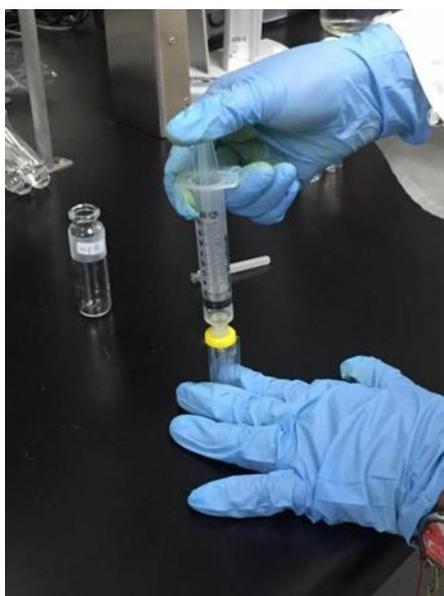


Figura 23. Filtración de las muestras para su congelación y posterior análisis

8.2. Caracterización visual de las NEs

La caracterización visual permite identificar si las composiciones obtenidas al formular son sistemas monofásicos o bifásicos, (Salager, J. *et al.*, 2001) en el caso particular de las nanoemulsiones (**NEB**) y (**NECHAP-2**) ambas resultaron monofásicas y homogéneas transparentes sin ningún grado de turbidez cómo es posible observar en la figura 24.

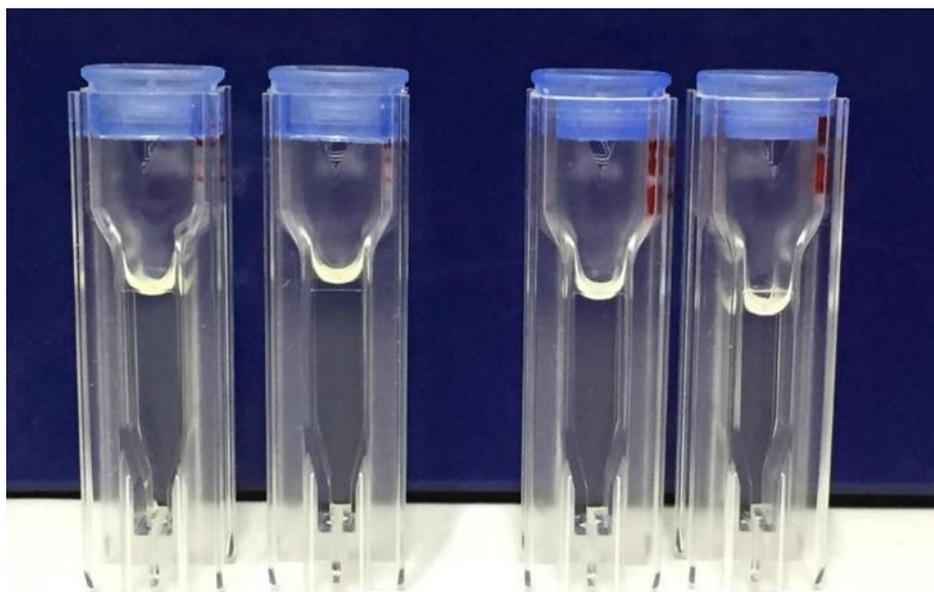


Figura 24. Caracterización visual de las nanoemulsiones **NEB** (derecha) y **NECHAP-2** (izquierda)

8.3. Medición de tamaño de gotícula

El análisis del tamaño de gotícula de las nanoemulsiones preparadas, se realizó mediante una espectroscopía de correlación fotónica empleando el equipo Zetasizer HSA 3000 (Malvern Instruments Ltd., Malvern, Reino Unido). Como se muestra en las figuras 25 y 26.



Figura 25. Equipo utilizado para determinar el tamaño de gotícula de las **NEs** formuladas

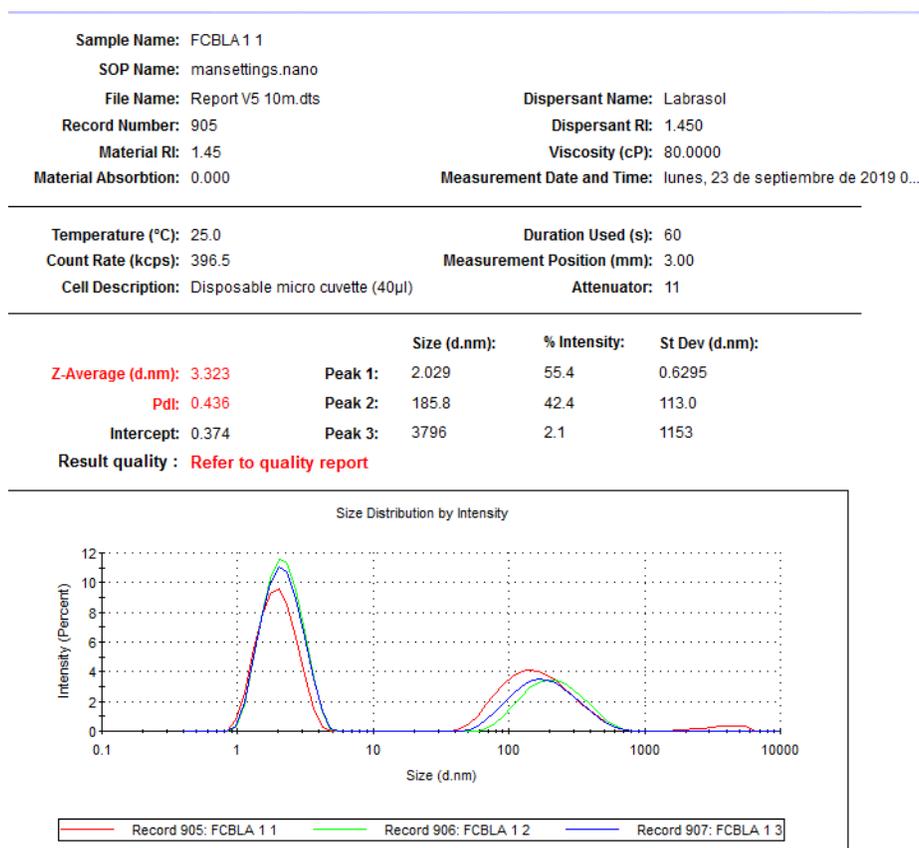


Figura 26. Se colocaron cada una de las muestras en la celda para su posterior medición en el equipo Zetasizer HSA 3000

8.4. Caracterización morfométrica de las NEs

Para la caracterización morfométrica, las formulaciones **NEB** y **NECHAP-2**, fueron analizadas mediante el equipo Z-sizer permitiendo la obtención de las gráficas 1-4, en donde se muestra la superposición del promedio de tres replicados por cada análisis realizándose dos análisis para cada formulación.

Como de observa en la gráfica 1 (primer análisis de la formulación de la nanoemulsión blanca (**NEB**)) los tamaños de gotícula se presentan en dos poblaciones: la primera población con un promedio de tamaño de gotícula de 2.029 ± 0.6295 nm y la segunda población con un tamaño de gotícula de 185.8 ± 113.0 nm, con un índice de polidispersión de 0.436. Para la gráfica 2 (segundo análisis) se observan dos poblaciones con un tamaño de gotícula de 1.956 ± 0.4772 nm y la segunda población con 157.6 ± 61.93 nm y un índice de polidispersión de 0.578.



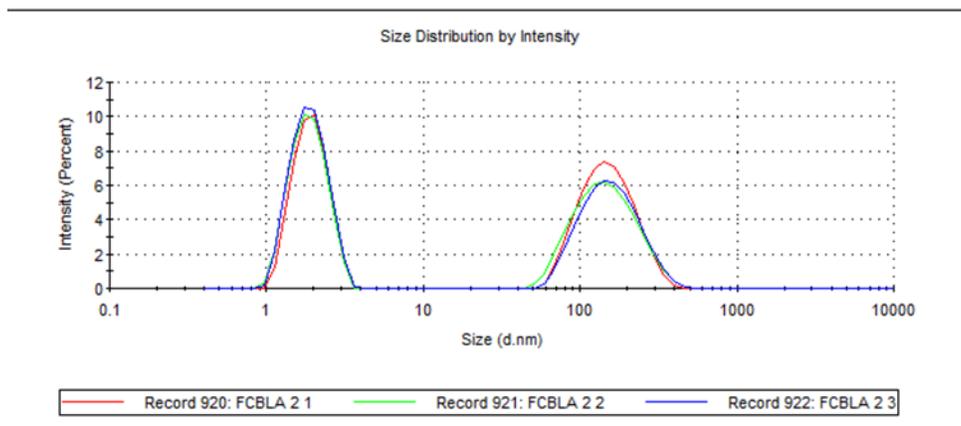
Grafica 1. Tamaño de gotícula de la formulación **NEB**, primer análisis

Sample Name: FCBLA 2 1
SOP Name: mansettings.nano
File Name: Report V5 10m.dts
Record Number: 920
Material RI: 1.45
Material Absorbion: 0.000
Dispersant Name: Labrasol
Dispersant RI: 1.450
Viscosity (cP): 80.0000
Measurement Date and Time: lunes, 23 de septiembre de 2019 0...

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 333.2
Cell Description: Disposable micro cuvette (40µl)
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 3.00
Attenuator: 11

| | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): |
|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 3.074 | Peak 1: 157.6 | 52.9 | 61.93 |
| Pdi: 0.578 | Peak 2: 1.956 | 47.1 | 0.4772 |
| Intercept: 0.435 | Peak 3: 0.000 | 0.0 | 0.000 |

Result quality : Refer to quality report



Grafica 2. Tamaño de gotícula de la formulación **NEB**, segundo análisis

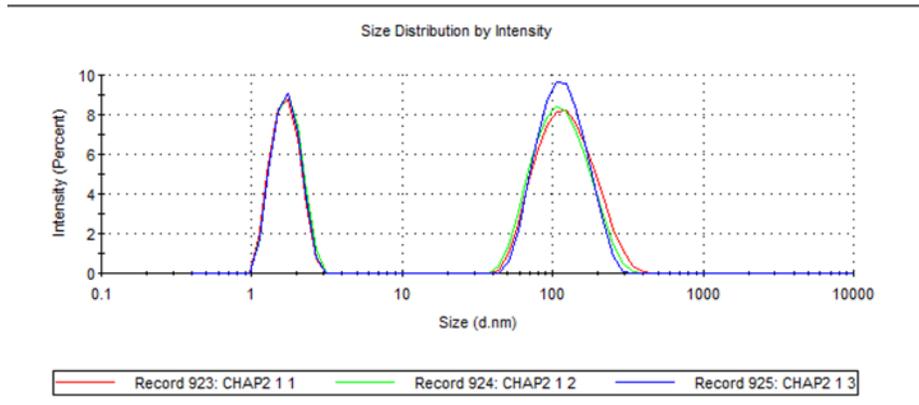
Por su parte el análisis de las formulaciones con el compuesto Metil Dodonato A (**NECHAP-2**), presente en la gráfica 3 de su primer análisis con dos poblaciones, la primera con un tamaño de gotícula de 1.706 ± 0.3621 nm y la segunda población de 131.7 ± 57.49 nm con un índice de polidispersión de 0.740. En su segundo análisis (Grafica 4) se observan dos poblaciones de gotículas con 1.783 ± 0.3715 nm y 129.0 ± 42.75 nm con un índice de polidispersión de 0.762.

Sample Name: CHAP2 1 1
SOP Name: mansettings.nano
File Name: Report V5 10m.dts
Record Number: 923
Material RI: 1.45
Material Absorbtion: 0.000
Dispersant Name: Labrasol
Dispersant RI: 1.450
Viscosity (cP): 80.0000
Measurement Date and Time: lunes, 23 de septiembre de 2019 0...

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 262.1
Cell Description: Disposable micro cuvette (40µl)
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 3.00
Attenuator: 11

| | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): |
|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 3.871 | Peak 1: 131.7 | 64.5 | 57.40 |
| Pdl: 0.740 | Peak 2: 1.706 | 35.5 | 0.3621 |
| Intercept: 0.539 | Peak 3: 0.000 | 0.0 | 0.000 |

Result quality : Refer to quality report



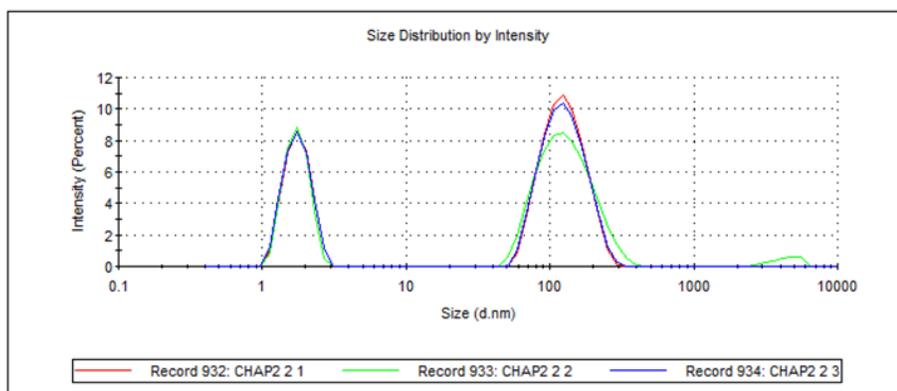
Grafica 3. Tamaño de gotícula de la formulación **NECHAP-2**, primer análisis

Sample Name: CHAP2 2 1
SOP Name: mansettings.nano
File Name: Report V5 10m.dts
Record Number: 932
Material RI: 1.45
Material Absorbtion: 0.000
Dispersant Name: Labrasol
Dispersant RI: 1.450
Viscosity (cP): 80.0000
Measurement Date and Time: lunes, 23 de septiembre de 2019 0...

Temperature (°C): 25.0
Count Rate (kcps): 321.9
Cell Description: Disposable micro cuvette (40µl)
Duration Used (s): 60
Measurement Position (mm): 3.00
Attenuator: 11

| | Size (d.nm): | % Intensity: | St Dev (d.nm): |
|--------------------------------|----------------------|--------------|----------------|
| Z-Average (d.nm): 6.063 | Peak 1: 129.0 | 66.5 | 42.75 |
| Pdl: 0.762 | Peak 2: 1.783 | 33.5 | 0.3715 |
| Intercept: 0.574 | Peak 3: 0.000 | 0.0 | 0.000 |

Result quality : Refer to quality report



Grafica 4. Tamaño de gotícula de la formulación **NECHAP-2**, segundo análisis

Con los resultados obtenidos es posible encontrar una diferencia en el tamaño de gotícula que se observa para las formulaciones **NEB** y **NECHAP-2**. La incorporación del compuesto en la matriz de los componentes de la formulación permite interacciones moleculares con mayor afinidad, muy probablemente por la formación de puentes de hidrogeno (fuerzas de cohesión atractivas) lo que conduce a que esta formulación tenga menor tamaño de gotícula (Araberri, I. *et al.*, 2006).

El hecho de contar con una distribución bimodal indica que probablemente se formen miscelo de dos poblaciones esto puede ser resultado de la energía aplicada al sistema de elaboración, o bien, a una concentración superior del surfactante que no logra acoplarse al sistema; sin embargo, esta formulación bimodal puede considerarse aplicable a un proceso terapéutico preclínico para dar continuidad a la investigación (Izquierdo, P. *et al.*, 2005).

| MUESTRA | TAMAÑO DE GOTÍCULA (nm) | | INDICE DE POLIDISPESIÓN |
|----------|----------------------------|---------------|----------------------------|
| | POBLACION 1 | POBLACION 2 | |
| NEB | 2.029 ± 0.6295 | 185.8 ± 113.0 | 0.436 |
| | 1.956 ± 0.4772 | 157.6 ± 61.93 | 0.578 |
| NECHAP-2 | 1.706 ± 0.3621 | 131.7 ± 57.49 | 0.740 |
| | 1.783 ± 0.3715 | 129.0 ± 42.75 | 0.762 |

Tabla 6. Análisis morfométrico de las formulaciones de estudio

8.5. Estudios de liberación

Tanto en los estudios de cesión como en los de permeación de Metil Dodonato A, se llevaron a cabo usando la célula de difusión de Franz (Figura 27) con una consola de agitación Hanson Research modelo 57 CD (superficie receptora del líquido 2.54 cm² y 0.6 cm²) y un baño termostatizador Tectron S-473.100 mantenido a 32 °C.



Figura 27. Célula de difusión de Franz acondicionada con una solución receptora de Etanol:Agua (70:30)

Las membranas artificiales que se utilizaron fueron hidratadas previamente por 24 h en metanol a 4°C. Se tomaron precauciones para evitar la formación de burbujas de aire entre la membrana y el medio, los estudios de liberación en membranas artificiales se siguieron según lo dispuesto en la metodología de la presente tesis. En las siguientes tablas (7 y 8) se muestran los datos pertenecientes a cada una de las membranas artificiales y posteriormente se llevó a cabo la toma de muestras como se observa en la figura 28.

| Células | Volumen |
|---------|---------|
| C1 | 41 mL |
| C2 | 39 mL |
| C3 | 40.6 mL |
| C4 | 39.2 mL |

Tabla 7. Volumen de las Células de Franz en membrana de polisulfona

- Membrana: Polisulfona
- Volumen de siembra: NECHAP-2 = 300 µL
NEB = 300 µL

- Temperatura: 32°C
- Volumen de muestreo y reposición: 300 μ L
- Solución receptora: EtOH: H₂O (70:30)

| Células | Volumen |
|---------|---------|
| C1 | 41 mL |
| C2 | 39 mL |
| C3 | 40.6 mL |
| C4 | 39.2 mL |

Tabla 8. Volumen de las Células de Franz en membrana de nylon

- Membrana: Nylon
- Volumen de siembra: NECHAP-2 = 300 μ L
NEB = 300 μ L
- Temperatura: 32 °C
- Volumen de muestreo y reposición: 300 μ L
- Solución receptora: EtOH: H₂O (70:30)

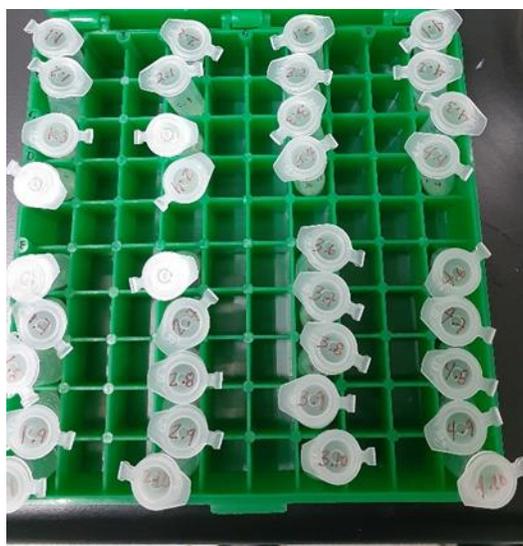


Figura 28. Muestras colectadas del compartimiento receptor (cada muestra cuenta con un volumen de 300 μ L)

8.6. Estudios de permeación *ex vivo* con piel porcina

Para los estudios de permeación se tomó en cuenta la metodología descrita en la presente tesis donde se obtuvo una cantidad adecuada de piel de cerdo (dicha piel conto con los sellos sanitarios del Rastro Municipal lo que garantizó su certificación sanitaria), en la figura 29 se muestra uno de los cortes de piel con grasa obtenidos.



Figura 29. Corte de la piel con grasa obtenidos

Para la preparación de piel porcina, los cortes de piel con grasa se cortaron a su vez de manera longitudinal con el dermatomo para lograr un grosor de 5 mm, (Figura 30) y se acondicionó en congelación por 24 horas para su posterior uso donde se colocaron en las Células de Franz.



Figura 30. Corte longitudinal de la piel porcina a un grosor de 5 mm

Cada Célula de Franz contó con los siguientes volúmenes:

| Célula | Volumen |
|--------|---------|
| C1 | 41 mL |
| C2 | 39 mL |
| C4 | 39.2 mL |

Tabla 9. Volumen de las Células de Franz en piel porcina

- Membrana: Piel porcina
- Volumen de siembra: NECHAP-2 = 300 μ L
NEB = 300 μ L
- Temperatura: 32 °C
- Volumen de muestreo y reposición: 300 μ L
- Solución receptora: EtOH: H₂O (70:30)

Las muestras se tomaron de acuerdo con el procedimiento descrito en la parte experimental, dichas muestras se almacenaron en refrigeración a 4°C para su posterior análisis y tratamiento de datos para obtener los parámetros de permeación correspondientes, así como también cuantificar la cantidad retenida en piel. Tanto las muestras de permeación como de retención en piel se analizarán por HPLC (Figura 31).



Figura 31. Toma de muestras a los diferentes tiempos del estudio

9. CONCLUSIONES

Con la caracterización visual se identificaron nanoemulsiones monofásicas, transparentes bimodales. De acuerdo con su caracterización morfométrica; en la nanoemulsión blanca (NEB) los tamaños de gotícula se presentan en dos poblaciones: la primera población con un promedio de tamaño de gotícula de 2.029 ± 0.6295 nm y la segunda población con un tamaño de gotícula de 185.8 ± 113.0 nm, con un índice de polidispersión de 0.436. Para el segundo análisis de esta misma formulación se observan dos poblaciones con tamaño de gotícula de 1.956 ± 0.4772 nm y la segunda población con 157.6 ± 61.93 nm con un índice de polidispersión de 0.578, lo cual permite establecer que la composición de la formulación es reproducible. Por su parte el análisis de las formulaciones con el compuesto Metil Dodonato A (NECHAP-2), presentan en su primer análisis dos poblaciones, la primera con un tamaño de gotícula de 1.706 ± 0.3621 nm y la segunda población de 131.7 ± 57.49 nm con un índice de polidispersión de 0.740. En su segundo caso se observan dos poblaciones de gotículas con 1.783 ± 0.3715 nm y 129.0 ± 42.75 nm con índice de polidispersión de 0.762, con estos resultados al comparar las formulaciones NEB Y NECHAP-2, se puede explicar la reducción de tamaño de gotícula por las interacciones moleculares entre el Metil Dodonato A y los componentes de la formulación.

Para los estudios de permeación en membranas artificiales (nylon y polisulfona) y piel porcina se realizaron los experimentos, y se obtuvieron las muestras a los diferentes tiempos de acuerdo con el procedimiento. El realizar la permeación *ex vivo* permitió obtener las muestras necesarias para su cuantificación y posterior tratamiento de los datos experimentales, y establecer parámetros de permeación; las muestras se conservaron en refrigeración a -4 °C para su posterior análisis por HPLC.

10. PERSPECTIVAS

Una vez que se logre la cuantificación de la cantidad de Metil Dodonato A cedida a través de las membranas de nylon y polisulfona, y la cantidad permeada a través de la piel porcina, se graficarán para establecer como fue su cinética de liberación y lograr establecer también los parámetros de permeación.

La figura 32, muestra cómo se desarrolla el proceso de absorción, distribución y eliminación de un medicamento convencional, evidenciando los parámetros farmacocinéticos básicos, como son: Concentración máxima (C_{max}), área bajo la curva (ABC), tiempo de vida media ($t_{1/2}$) y concentración mínima (C_{min}).

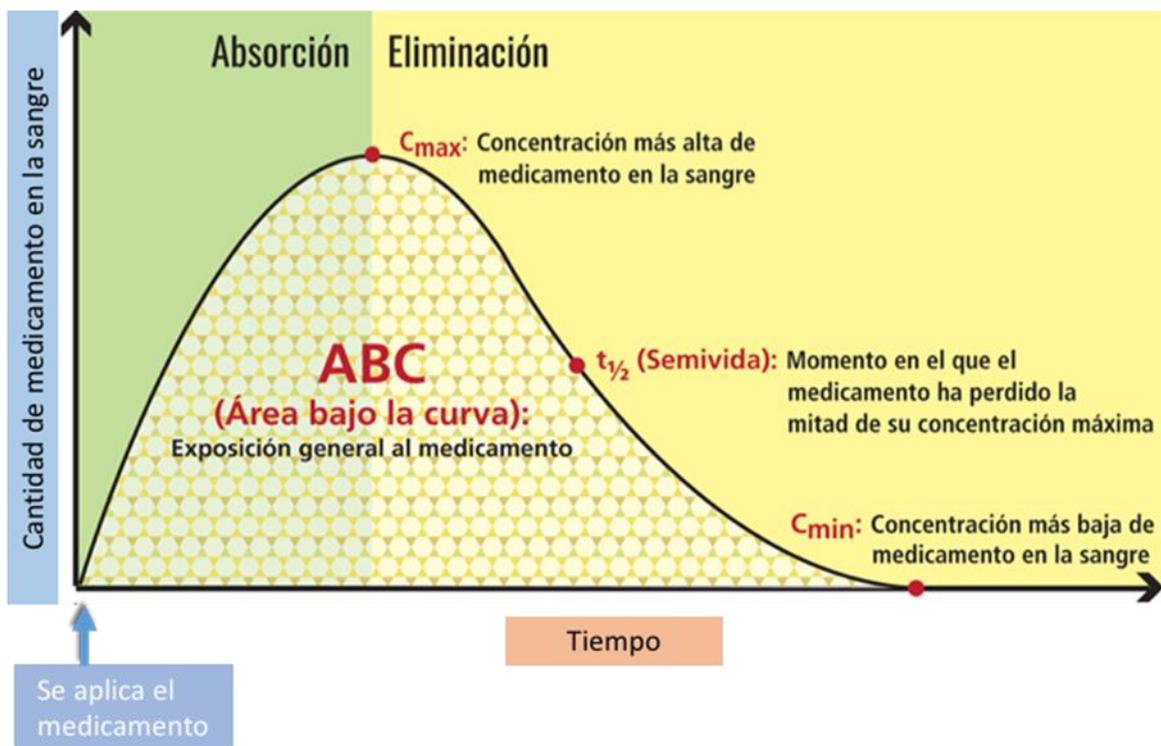


Figura 32. Desarrollo del tránsito de un medicamento y sus parámetros farmacocinéticos

Para el caso de la liberación controlada de una formulación nanoestructurada aplicada vía tópica, se espera lo siguiente:

Una vez que se cuenta con la nanoemulsión, esta se dosifica a partir de un Sistema Terapéutico Transdérmico (STT), mismo que se adhiere a la piel a través de un gel adhesivo para que se libere el principio activo a través de las células de la piel, y como se muestra en la figura 33, la difusión de las gotículas de la nanoemulsión puede liberar al p.a. en las capas de la piel o bien, llegar a torrente sanguíneo estableciendo si la liberación es tópica o transdérmica.

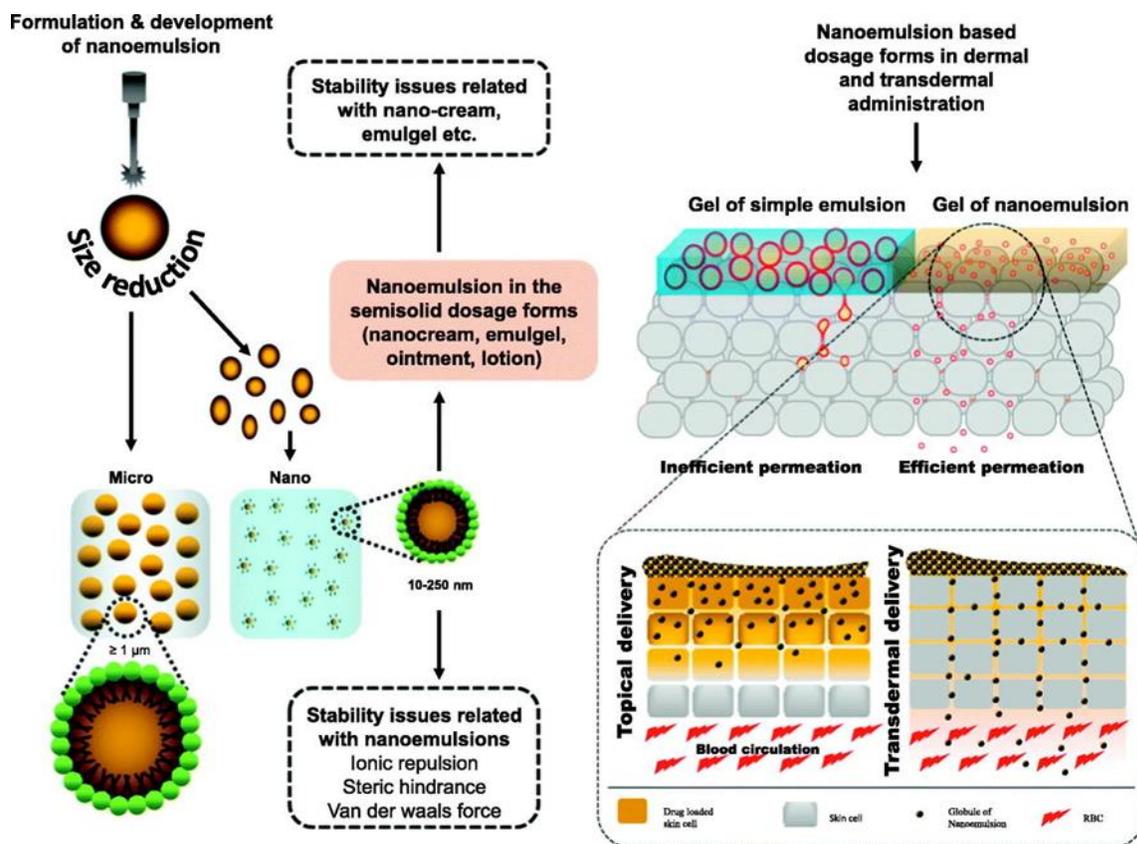


Figura 33. Proceso de liberación de un p.a. desde una nanoemulsión

La aplicación de la ley de Fick al análisis, la curva de disposición de un fármaco después de la administración en la piel permite determinar los parámetros que reflejan la penetración como son: flujo del fármaco (J) y coeficiente de penetrabilidad. El desarrollo de modelos matemáticos para describir y estimar la

permeabilidad de la piel es un área de crecimiento constante, especialmente para predecir la penetrabilidad de sustancias hidrofóbicas a través del estrato córneo. Estos modelos pueden ser categorizados de acuerdo con: (1) la relación de penetrabilidad/estructura cuantitativa (QSPRs), (2) a expresiones basadas en mecanismos de difusión o (3) combinación de ambos.

Con todo lo anterior, al contar con las gráficas del comportamiento de liberación de la nanoemulsión de Metil Dodonato A, será posible identificar si la nanoemulsión cuenta con una cinética de orden cero u orden uno conforme a los modelos matemáticos establecidos para esta determinación como son: Modelo Higuchi, Peppas y Weibull, entre otros.

11. LITERATURA CITADA

A

Acalá-Acalá, S. (2014). D Quintanar-Guerrero. La terapia a nanoescala ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. *Mundo Nano*, 32-48 pp.

AEFI. Validación de métodos analíticos. (2001). Barcelona. 120-122 pp.

Al-Azawi, A. H. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of *Dodonaea viscosa* L. Jacq. extracts cultivated in Iraq. *World Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(3), 529-534 pp.

Allevato, M. (2007). Sistemas terapéuticos transdérmicos. Educación continua, *Act Terap Dermatol* 30, 154-165 pp.

Alvarado, J. Z. (2020) Tesis de Licenciatura de Química Industrial en proceso de titulación. Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, UAEM.

Anandan, M., Gurumallesh Prabu, H. (2018). *Dodonaea viscosa* Leaf Extract Assisted Synthesis of Gold Nanoparticles: Characterization and Cytotoxicity Against A549 NSCLC Cancer Cells. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 28(3), 932-941 pp.

Anandan, M., Poorani, G, Boomi, P., Varunkumar, K., Anand, K., Chuturgoon, A. A., Saravanan, M., Gurumallesh P. H. (2019). Green synthesis of anisotropic silver nanoparticles from the aqueous leaf extract of *Dodonaea viscosa* with their antibacterial and anticancer activities. marzo 18, de *Process Biochemistry* (Oxford, United Kingdom).

Aranberri, I., Binks, B.P., Clint, J.H., Fletcher, P.D.I. (2006). Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos, *Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen* 7(3).

B

Barreno, P. (2008). Inflamación. Rev. R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp), Vol. 102, 91-159 pp.

Bechner, P. (2001). Emulsions: Theory and practice; Reinhold Publishing: New York; 1957; 3 Rd ed.; Oxford University Press: New York.

Bertram, G. (2007). Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs, Disease-Modifying Antirheumatic Drugs, Nonopioid Analgesics, & Drugs Used in Gout. Abril 28, 2019, de Basic & Clinical Pharmacology.

Bhatt, P. y Madhav S. (2011). A detailed review on nanoemulsion drug delivery system IJPSR; 2(9): 2292-2298 pp.

Boneta, R. y Garrote, A. (2015). Parches Medicamentosos. Elsevier, 29. 25-50 pp.

Boom, R.M. (2008). Emulsions: Principles and Preparation. En Food Materials Science (J.M. Aguilera and P.J. Lillford, eds.). New York.: Springer. 305-339 pp.

Bordés González, R., Martínez Beltrán, M., García Olivares, E. y Guisado Barrilao, R. (2010). El proceso inflamatorio Departamento de Enfermería y Fisioterapia Escuela Universitaria de Ciencias de la Salud, Universidad de Granada.

C

Castillo, P. (2000). Plantas medicinales utilizadas en el estado de Morelos. México: Columba Monroy-Ortiz.

Cheong, J. N., Tan, C.P., CheMan, Y.B., Misran, M. (2008). Alpha-Tocopherol nanodispersions: Preparation, characterization and stability evaluation. Journal of Food Engineering, 89, 204–209 pp.

CONABIO. Sapindaceae *Dodonaea viscosa* (L.) Jacq. Chapulixtle. Consultado en: <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/sapindaceae/dodonaeaviscosa/fichas/ficha.htm>. Fecha de consulta 16/03/2019.

CONAFOR. *Dodonaea viscosa* L. Jacq. Consultado en: <http://www.conafor.gob.mx:8080/documentos/docs/13/918Dodonaea%20viscosa%20.pdf>. Fecha de consulta 16/03/2019.

Costa, P. (2001). An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *International journal of pharmaceutics*, 220(1), 77-83 pp.

D

Debandi, M. V.; François, N. J.; Daraio, M. E. (2011) Evaluación de distintas membranas para liberación *in vitro* de principios activos anticelulíticos. *Avances en Ciencias e Ingeniería*, vol.02 (2), 97-105 pp.

Delgado, A, Minguillón, C y Joglar J. (2004). *Introducción a la Química Terapéutica*, Díaz de Santos, Madrid, España.

Devarajan V. y Ravichandran, V. (2011). Nanoemulsions: as modified drug delivery tool *Pharmacie Globale IJCP*;4(01).

Domínguez-Gil H. A., y Martín Suárez, A. (2009). *Avances en tecnología farmacéutica*. Monografías de la Real Academia Nacional de Farmacia.

Domínguez-Villegas V., García M., Calpena A., Clares-Naveros B., Garduño-Ramírez M.L. (2013). Anti-inflammatory, Antioxidant and Cytotoxicity Activities of Methanolic Extract and Prenylated Flavanones Isolated from Leaves of *Eysenhardtia platycarpa*. *Natural Product Communications*. 2, 177-180 pp.

Domínguez-Villegas,V, Clares-Naveros, B, García-López, M. L., Calpena-Campmany, A.C., Bustos-Zagal, P., Garduño-Ramírez, M. L. (2014). Development and characterization of two nano-structured systems for topical application of flavanones isolated from *Eysenhardtia platycarpa*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. Volumen 116, 183-192 pp.

E

Eren, E., Sarihan, A., Eren, B., Gumus, H., Kocak, F.O. (2015). Preparation, characterization and performance enhancement of polysulfone ultrafiltration membrane using PBI as hydrophilic modifier, *J.Memb. Sci.* 1-8 pp.

F

Fernández, F. (2012). Nanoemulsiones de nistatina para el tratamiento de candidiasis muco-cutánea, Facultad de Farmacia de la Universidad de Barcelona. Tesis Doctoral.

G

García, L., Mercedes, D., García, L.V., Hernández, M. (2002). Plantas con propiedades antiinflamatorias. *Rev Cubana Invest. Biomed.*, 21(3), 214-216 pp.

García, P. (2008). Inflamación. *R. Acad. Cienc. Exact. Fís. Nat. (Esp)*, 102, 91-159 pp.

Goldberg, M., Langer, R., Jia, X. (2007). Nanostructured materials for applications in drug delivery and tissue engineering. *Journal of Biomaterials Science*, 18, 241-268 pp.

Gómez, H.A., González, K.N, Medina J.D. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10, (3): 182-217 pp.

Guizard, C. (1999). Clasificación de las membranas y de los procesos que las utilizan. Universidad de los Andes, Venezuela, <http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S452B.pdf> (Fecha de consulta mayo 2019).

I

Izquierdo, P.; Feng, J.; Esquena, J.; Tadros, T.; Dederen, J.; García, MJ.; Azemar, N.; Solans, C. (2005). The influence of surfactant mixing ratio on nano-emulsion

formation by the pit method. Journal of Colloid and Interface science 285, 388- 394 pp.

K

Kalaivani, S.y Padmavathy. (2016). Comparative anti bioflim activity studies on the leaves of *Wrightia tinctoria* and *Dodonaea viscosa*. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences, 3, 88-90 pp.

Kiruba, S. C. G., Vinothini, G., Subramanian, N., Nehru, K., Sivakumar, M. (2013). Biosynthesis of Cu, ZVI, and Ag nanoparticles using *Dodonaea viscosa* extract for antibacterial activity against human pathogens. Journal of Nanoparticle Research, 15(1), 1319-1329 pp

Kreilgaard, M. (2002). Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. Advanced drug delivery reviews;54 Suppl 1: S77-98 pp.

L

Lawal, D.y Yunusa, I. (2013). *Dodonaea viscosa* Linn: Its Medicinal, Pharmacological and Phytochemical Properties. International Journal of Innovation and Applied Studies, Vol. 2, 477-483 pp.

Lynch, S. (2016). Desarrollo de Fármacos <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/farmacolog%C3%ADacl%C3%ADnica/conceptosfarmacoterap%C3%A9uticos/desarrollo-de-f%C3%A1rmacos> (Fecha de consulta mayo 2019).

M

Merino, J. y Noriega, M. J. (2011). Fisiología General, La piel: estructura y funciones.<https://ocw.unican.es/pluginfile.php/879/course/section/967/Tema%252011-Bloque%2520II-La%2520Piel.%2520Estructura%2520y%2520Funciones.pdf> (Fecha de consulta mayo 2019).

Muhammad, A., Tel-Cayan, G., Ozturk, M., Duru, M. E., Nadeem, S., Anis, I., Ng, S. W., Shah, M. R. (2016). Phytochemicals from *Dodonaea viscosa* and their

antioxidant and anticholinesterase activities with structure-activity relationships. *Pharmaceutical Biology* (Abingdon, United Kingdom), 54(9), 1649-1655 pp.

N

Newman, D.J.y Cragg, G.M. (2012). Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *Journal of Natural Products*, 75(3), 311-335 pp.

Novartis (2019). Proceso de desarrollo de fármacos <https://www.novartis.es/nuestro-trabajo/innovacion/proceso-de-desarrollo-de-farmacos> (Fecha de consulta mayo 2019).

Novartis farmacéutica S.A. de C.V. (2019). <https://www.medicamentos.com.mx/DocHTM/30316.htm> (Fecha de consulta mayo 2019).

O

Ortega, A., García, P.E., Cárdenas, J., Mancera, C., Marquina, S., Garduño., M. L.C. y Maldonado, E. (2001). Methyl dodonates, a new type of diterpenes with a modified clerodane skeleton from *Dodonaea viscosa* *Tetrahedron* Volume 57, 2981- 2989 pp.

P

Patel, H. y Cronin, M. (2001). Determination of the optimal physico-chemical parameters to use QSAR-approach to predict skin permeation rate. Liverpool. John Mores University.

R

Ramírez, J. y Juan, J. (2008). Utilización del Chapulixtle (*Dodonaea viscosa*) en los procesos agrícolas de la comunidad de Progreso Hidalgo, Estado de México. *Revista de Geografía Agrícola*, núm. 40. Universidad Autónoma Chapingo, México,19-25 pp.

Rang, H.P. (2008). Absorción y distribución de los fármacos. En *Farmacología* (830). Barcelona: Elsevier España.

Robbins, Ramzi S, Cotran M.D, Vinay Kumar, M D F RC, Path. Tucker Collins M D Ph D. (2001). Patología Estructural y Funcional. Metabolismo del Ácido Araquidónico (AA) prostaglandinas, Leucotrienos y Lipoxinas. Ed, Mc.Graw-Hill. InterAmericana.; 74-77 pp.

Rodríguez, I. (1998). Agentes promotores de la permeación percutánea. Rev Cubana Farm, 32(1), 68-75 pp.

Rzedowski, G. C. y Rzedowski, J. (2001). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, Pátzcuaro, Michoacán, México.

Rzedowski, J., y G. Rzedowski. (1985). Vegetación fanerogámica del Valle de México. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México.

Rzedowski, J., y Huerta, M. (1978). Vegetación de México. Editorial Limusa.

S

Salager, J., Antón, R., Anderez, J., Aubry, J.M., (2001). Formulation des microémulsions par la méthode du HLD. Techniques de l'Ingenieur, Vol. Génie des Procédés, Volume 42489210. Editions T.I.

Sánchez, J. M. (2016). *Dodonaea viscosa* L. Jacq. <https://www.arbolesornamentales.es/Dodonaea%20viscosa.pdf> (Fecha de consulta mayo 2019).

Solans, C., Izquierdo, P., Nolla, J., Azemar, N., Garcia-Celma, M. J. (2005). Nanoemulsions. Current Opinion in Colloid & Interface Science, 10(3), 102-110 pp.

Stevens, M., Mickols, B., Funk, C. (2014). Asymmetric reverse osmosis sulfonated poly(arylene ether sulfone) copolymer membranes Journal of Membrane Science. 452: 193-202 pp.

T

Tadros, T., Izquierdo, P., Esquena, J., Solans C. (2004). Formation and stability of nano-emulsions. *Emulsions, From Fundamentals to Practical Applications*, 108–109, 303-318 pp.

V

Vibrans, H. (2009). Malezas de México. <http://www.conabio.gob.mx/malezasdeMéxico/sapindaceae/dodonaea-viscosa/fichas/ficha>. (Fecha de consulta mayo de 2019).

Vila Jato, J.L. (2001). *Tecnología farmacéutica, volumen II formas farmacéuticas*, Editorial síntesis S. A., Valiehermoso, 34. 28015 Madrid

Villalba, E, W. (2014). Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica*, 43, 2261-2265 pp.

Villaseñor, L., y J. Espinosa. (1998). *Catálogo de malezas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México, Consejo Nacional Consultivo Fitosanitario y Fondo de Cultura Económica, México, D.F.

W

Williamson, EM. (1996). *Selection, preparation and pharmacological evaluation of plant material*, vol. I, edit. John Wiley & Sons.

Windhaba, E.J., Dresslera, M., Feigl, K., Fischera, P., Megias-Alguacil, D. (2005). Emulsion processing—from single-drop deformation to design of complex processes and products. *Chemical Engineering Science*, 60, 2101-2113 pp.

Wulff-Pérez M., Torcello-Gómez, A., Gálvez-Ruíz, M.J., Martín-Rodríguez, A. (2009). Stability of emulsions for parenteral feeding: Preparation and characterization of o/w nanoemulsions with natural oils and Pluronic f68 as surfactant. *En Food Hydrocolloids*, 1096-1102 pp.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MARIA LUISA DEL CARMEN GARDUÑO RAMIREZ | Fecha:2021-05-27 11:14:51 | Firmante

qJWYpPnA/n2jaLinIjCYCHWY5nmKf1dBk67fO6oub8Q1b5MNBXQo50iIQdMPLlsvHrk0d7GRmPWJsdYreadcj5CbLP2F8Bowjprg5JowVVWU+bgo3cxNVIPLTNu2OOxPk2QgK9F
u2mBzI0CJxZIS+tGVN2/1Lp1oNYX10/yQt8iC1BQpx3faZdqXNzrULdFpwHJmchi4YRIXtmyq7VvQ4D+O7XJDr2k2MiyDsPog8CJkQ5IAJVqywbUdcFFgAbUkPJ81ULT51R2zgp+v
xLPqVpJYK4eS+OcpITsaNSQK470IBwTSK8o1d9IAi2f411MrWE/RSKvtGoGB9xb+RSNg==

ISAURA QUINTANA PADILLA | Fecha:2021-05-27 12:27:28 | Firmante

Mg3BsTX28jh4feB+G0KTMaFE5H2peoUfyzJPGiFXSVPFtyBrPabaVvUJSCdw8DjbOzWTLluEfhIK5eb86o8WMvYswmXk+7cbo2avsrH+ZcHABgiVskBihQH+YzaEHkThrgSVI5
TIBC Y6redoA/TLnT9SLV/rUJ9VEKUAAsH9bLWrkjzslXX5Zb8H4iH3o6gNvwW0Cy9Z4103YWOHA2fawUCQGebClNfgntQ790OtlcX3QNo4+1kjhRPUePIPO0hfGIO3VyP3c9e
YceOv8nGwxsCUeaT3F4vc7KC/2MOXncPPhKnn0c2kMy1gferjEgTcS8yYpRjT9HgN+L1EQ==

TATIANA ITZEL CATALAN RAMIREZ | Fecha:2021-05-27 12:42:58 | Firmante

XzBmGCKqFKs/TUDUKQ4ChQ0E1PPbl+mc5GcwsdWx5gACwU4yu5RFpJ/3OdE6gCEohkoBD56FpB0GnZGS2COZedchcqAG3O/0Ea2NLBcTB37teIt/BUquU+N53ergoAuNL/w
Zeza2dmdFllunEzzihOMUpKdwSk1qOUgsKs4d/Nj6oI8ml3e4CE0f1V5ACc+071F0Fi2qrTOXwIMCgOLno8AuMfrrGDDVHjpoXp772RAV2X29Xpla7zjP9SomITcWkeatOddOiv8
CftX5Z0rD192ugnYhDhrzZ9vnjkeEhPZfIPZQc8cKGfhUpJfBnpFR9Qa3MvadOyCjR4hu57Q==

MA VENTURA ROSAS ECHEVERRIA | Fecha:2021-05-27 20:27:41 | Firmante

HVr8qusEsAI/D/Y3P3cJcmX5fO4KfbmxA90gkPozmVGzbDhjNPNyW8HwMBukGA5aV4//Afy2ooqtV+MlrafXGWz7dnEqNf53/MnVlj9tTLdJxWORVdaAPW1JGMNg+oS57LzUt0i
QBplqn1LcCm8JZHqIM+jhpY3ewOhz8OCsVkpMZdkT3sctXGHQj+1Q2eb4P57GL6QfHDr1GJ/MojGmjsVvHWVLYIdPNX3Q63O+YwCMDpAtYtNLCJzPO0dqJIVSEGNcbxdh/h+
U8vgaffKGYA/rugEbPFy0aUvY8VsvJOVfK62Y2leSXNn8p9HUq/EgF0e5xRmjUPLNz0acFQcg==

MARIA DE LOS ANGELES NUÑEZ PUENTE | Fecha:2021-06-01 10:56:44 | Firmante

oXVgpmQC+31VfplEzSQstYpsNivEqlesWIPq1HmVWNHqwsfYQ9e2JOp0hf8kVLd1aCFChrRoATumE79qTpnnr3y/1Ddu5gSdpqXjU5o38jXfW3NOGZZ+FMbS230q6VXW0mul
mCplSpjnhZxu/DJ/DevHBRmVswP84TxA9ijR34RTmZZWRwxbjrWfNuZ1Oo4ED9W4TOue5NhjEsJXTWiqJF9KReWkfO+juEC23avdbqxjGZA5yL9lvGfsQ8nD8169Xi2C89p1luqk
8ZwbRaBm0VfFd5FsgJL+EXA+M8yDyNotl6q2ZavUepmo2lvq7yXclqzpgDLNKFtTETXnpSIQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



1kXNQC

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/wlvuHOWs04FEXyYhla9X17vCFLJTBgm>

