



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS.  
Facultad de Farmacia.



# **“Encapsulación de duloxetina clorhidrato en nanoacarreadores poliméricos de chitosán y alginato”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**LICENCIADO EN FARMACIA**

P R E S E N T A:

**Uriel González Millán**

DIRECTOR DE TESIS:

**Dr. SERGIO ALCALÁ ALCALÁ**

CUERNAVACA, MORELOS

2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD DE FARMACIA  
SECRETARIA DE DOCENCIA  
JEFATURA DE LA LICENCIATURA

Fecha: 12 de octubre de 2021  
Asunto: VOTOS APROBATORIOS  
Medio de Notificación: Electrónica  
Folio: FF/D/SD/JLF/0123/2021

**DRA. DULCE MARIA ARIAS ATAIDE**  
**DIRECTORA DE SERVICIOS ESCOLARES**  
**U.A.E.M**  
**PRESENTE**

Los suscritos catedráticos de la Facultad de Farmacia, dependiente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, se dirigen a Usted con el fin de comunicarle que, después de haber revisado el trabajo de tesis **“Encapsulación de duloxetine clorhidrato en nanoacarreadores poliméricos de chitosán y alginato”** presentada por el pasante de la carrera de Licenciado en Farmacia. **C. Uriel González Millán, (20161003938)**, consideramos que reúne todos los requisitos que exige un trabajo de esta especie, por lo que hacemos saber nuestro **VOTO APROBATORIO**.

**Jurado**

**Firma**

L. en F. Nancy Moreno Linares

\_\_\_\_\_

Dra. Mariana Ortiz Reynoso

\_\_\_\_\_

Dra. Adriana Valladares Méndez

\_\_\_\_\_

M. en F. Edgar Barrera Bautista

\_\_\_\_\_

Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

\_\_\_\_\_



**ATENTAMENTE**  
**“POR UNA HUMANIDAD CULTA”**

**M.P.D. Reyna América Serrano López**  
**Secretaria de Docencia**

Cp Archivo  
Cp. Bdm

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México.  
C.P. 62210 Tel. 777 329 7000 Ext. 336



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

REYNA AMERICA SERRANO LOPEZ | Fecha:2021-10-12 19:18:12 | Firmante

zZPFW3c1PvGD9nkEc6DxK+RQEAIWP3AksytocutsqUgfupBzvUEYto7EZDZsOZbjNhneCMVgesEO4LOLsjgNoBe3FJADV4BtXMMH  
ekj7bSNYBSZPijlznG6XzbcUzUdN1DVx7  
QCfoU+3iVPRFRgpivvVTU1jalpRBL6vb0JZayGM5yqFL3/4oXCwcd30/X2F4f+iB9auSTvnhrfETN3mEZfZzX8hnMqwC7EHVWtq7w76G  
RhaLkE19rr8nA8xlb0m49xRZo0732maMI  
Z+LOP0Xz+KJ+NT8LFCcQflUy62itUPPf+EGh7WSAqZaZtkTfT1MwjpBLxaN6DoMNFns7oXQ==

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



[hBGejdm9v](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/XzTG5ARegZulBjnAoHOyIIIEGJNln7a0>

UA  
EM

Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



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

**EDGAR BARRERA BAUTISTA | Fecha:2021-10-18 11:33:47 | Firmante**

x5EZT7CFGuFks3RqTnoHG53BmpBlqvflK5LDCZ8NhAS++BUr3/wzWyniza5Cmg19nltNsfFpvd9aKqHPykvTVkYSUyNbcKyOiyF/q8pf  
pKMqYD5/t3Rk34Z+5BkLYm+jSIH6wOu1  
bNN+OJwJG/CUGcMghbTVDRnq94Y2HKADDfh07v5QSZRCgLNHW1M6uj5ndR6F6akuvkxq0gHDzZJRzzyVdmh5ShmA9onLOEqr8km  
1YREFUOIdonFgc8oxPlkRWZZRILtb3Tg  
ccAo8b97WUfQ9fputU6mJqBtpTG7uDh0C5UWWTDoMKwY+amFxDruL+52Ce297b93oE1Svw5kWA==

**JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR | Fecha:2021-10-18 13:11:32 | Firmante**

H7k++QfvoqqEgfhgcXB5RAZIIorOmnzwJ74UWgBLukpv2aYxcoYpTS/XL3Rg4BPpxfAylPypuLDu9AE02gXqfzkzmjv3Xv3bGPu1QDNd1  
dEH15xyBVQR8Npoh0E5rr18WIRD+SqH  
bZ8HU9HEy4BRJvTCbQpH8x3aYEKp3W9WQkpDI7P3foHWxkyWZXcac7covxwq21+FMrSo6158esb6uWJqBjI0PX5WUWFUCt3xC5j  
FQyPRBV0b7JXTgWk4usF+oW1WIRiDeY  
fp37BOrAowZTOR3qy+494S1pIXO+kDCxD5Rr2Y6ndIMkKyBUZx8qb+9vpmwMtcuqFCLZ83qewNpQ==

**MARIANA ORTIZ REYNOSO | Fecha:2021-10-20 13:55:38 | Firmante**

D9ew24ZAEDngUeEBsEKBQ+SI0IV9I8Hvr96GV+MpnUx6i87BErSq7vzfn9QQ3nusi5s0XqBV4G3Oe9H5eXykNci4crNh/AsG6liqdiHvxV  
T0CtAY5XjvKBZd4IVf3CWu4DmkFwFAV  
dfEsajLg8GdT38q6MrT7Lwlztk+D/T7yojtc7Bn0WuT9Li/daZ31pLbswXOthgMDCgy95bRpPc/eH16VTmXBI/E3L3PyndI+XI9eBk2VicKi7t  
zTpKUokP8Ctt20JLYza2TS2MY5Fxa8vP p/XBsfgy3XuujAy1geDRV6Bo9gMOTeI2OGOMJRakk0Rpsc6b0w2URJchg1lg==

**ADRIANA VALLADARES MENDEZ | Fecha:2021-10-20 14:59:36 | Firmante**

BygoUAOXiPzNQ+m/TCg/NggNWaOEGsMbKas+YK0bWVPDUpWRSTg/Q6ZPSZmnmX1xheJ1TTr2vXICL4PhFDEMoblfidDypIbgQHY  
ggD/tcmucDsr4Rw/RVA1ROhXUF/lxaSq  
urVvcpT1D7Pgroq5CfLNW1isDp7ji+AbjWHLAmwPdNPRMdfQfUdzqJqOFLI+Wq6C61A32QbEzaKP9ifukeP8lXrQxNeiH3sr/8FhgeZcx8  
dW02h4xXGe65Zis2ItNb4L3Mx/VVotjQv  
qplFw3YHQDRY5aSZCGxsOVHppNHf2LJLHnm62yuWEN9vNnKCPq7Wh5aqsSrVdiAbByVMw==

**NANCY MORENO LINARES | Fecha:2021-10-20 15:53:18 | Firmante**

EmZjntdArGIVOfDmtULDLLhBW3cg+8JBYLJWyerwaHKED7GBDp9nF+p6N48oHfuuwFu1E5pXi9PpOryxh6E//85hyNEV7k+d9lg2lz/Xts  
rNcofZQRBumFVL3DUIO4X8KN0A8BiH  
fEvH7EPPnMuKKB0Y8VoLdC81/s12EQghi4c0WDVj1xDlzt1qXaWtHboA1ZMnxk+Kb/F0Ln2FIEAI+OfDm5EYoJmD2jyVJsBlqzcnPpHhY  
aXkLA81ZliwLaNGhauki/6dzDT14LAPVU exxmDXrCtdzKsR4nCNMC5wyq9e9d0lRQT9TqMaxzXhuffcaw4oosrFpnpPgGqrZydow==

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



CHRBVKIsz

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/C6BbvTre8i5lxWjNhTIX01k2j5aT7mdt>



## **Agradecimientos y dedicatorias**

Por el esfuerzo, dedicación, paciencia, por su confianza y por todo lo que me ha dado a lo largo de mi carrera y de mi vida, este proyecto de titulación va dedicado a todos mis seres queridos.

## Índice General

### Tabla de contenido

Resumen.....	8
1.Introducción .....	10
2. Marco teórico y antecedentes.....	12
2.1 Depresión y sus retos en la terapia .....	12
2.2 Tratamientos actuales.....	12
2.3 Duloxetina.....	14
2.3.1 Propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas .....	14
2.3.2 Farmacocinética y farmacodinamia .....	15
2.4 Estrategias para mejorar el paso de fármacos al snc .....	16
2.5 Nanoacarreadores .....	20
2.5.1 Métodos de obtención.....	22
2.5.2 Nanopartículas poliméricas bioadhesivas.....	25
2.6 Chitosán y alginato, usos en la nanotecnología farmacéutica .....	27
3. Justificación .....	30
4. Hipótesis .....	31
5. Objetivos.....	31
5.1 Objetivo General.....	31
5.2 Objetivos Específicos.....	31
6. Materiales y equipos .....	32
6.1 Materiales .....	32
6.2 Equipo.....	32
7. Metodología.....	33
7.1 Pruebas de solubilidad aparente .....	33
7.2 Validación de un método analítico por UV para cuantificar duloxetina .....	33
7.2.1 Determinación de la longitud máxima de absorción ( $\lambda$ ) .....	33
7.2.2 Curva de calibración .....	34
7.3 Obtención de Nanoplexos de alginato .....	34
7.3.1 Diseño experimental .....	35
7.3.2 Producción de nanoplexos de alginato por nanoprecipitación iónica.....	35
7.3.3 Optimización de los nanoplexos de alginato.....	36
7.4. Obtención de nanopartículas de chitosán.....	36
7.4.1 Diseño experimental .....	36
7.4.2 Preparación de las nanopartículas de chitosán por gelación iónica .....	36

7.4.3 Optimización de las nanopartículas de chitosán .....	37
7.5 Determinación del tamaño promedio de partícula .....	37
7.6 Determinación del potencial Z .....	37
7.7 Determinación de la Eficiencia de Encapsulación de duloxetina en los nanoacarreadores.....	38
8. Resultados y discusión .....	38
8.1 Pruebas de solubilidad.....	38
8.2 Optimización de los nanoacarreadores.....	47
9. Conclusiones .....	48
10. Bibliografía.....	49
11. Anexos.....	52
12. Características promedio de nanoplexos de alginato (experimentales).....	52
12.1. Características promedio de nanopartículas de chitosán (experimentales).....	53

## Índice de figuras

Figura 1. Presentación de duloxetina HCL, 30 mg y 60 mg capsulas de liberación retardada ( Eli Lilly and Company: Cymbalta, Pisa, AMSA, Medimart) ....	14
Figura 2: diferentes formas de atravesar la BBB .....	17
Figura 3: Endocitosis clatrina-dependiente para el transporte de nanopartículas hacia el SNC desde la vía nasal.....	18
Figura 4: Cruce de nanopartículas hacia el SNC empleando la ruta del nervio trigémino / nervio olfatorio.....	19
Figura 5: Representación de nanoestructuras orgánicas (Yareli Rojas 2016) .....	21
Figura 6. Representación de nanoestructuras inorgánicas (Yareli Rojas 2016) .....	22
Figura 7: Enfoques “bottom-up” y “top-down” (Lynn Margulis 2021).....	23
Figura 8: Interacción iónica y entrecruzamiento del quitosano y tripolifosfato de sodio .....	24
Figura 9. Estructura química y efecto de desacetilación de la quitina para obtener chitosán .....	27
Figura 10. Estructura química del Alginato de sodio.....	29
Figura 11. Esquema de caja de huevo .....	29
Figura 12. Espectro UV de duloxetina / longitud de onda de máxima de absorción ( $\lambda$ ) .....	39
Figura 13. Barrido UV Duloxetina (D. Anderson 2006) .....	39
Figura 14: Diagrama de Pareto de nanoparticulas de chitosan. ....	42
Figura 15: Superficie de respuesta de nanoparticulas de chitosan.....	43
Figura 16: Diagrama de Pareto Nanoplexos de Alginato. ....	45
Figura 17: Superficie de respuesta de nanoplexos de alginato .....	46

## Índice de Tablas

Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas y biofarmaceuticas .....	15
Tabla 2: Clasificación y ejemplos de polímeros mucoadhesivos .....	26
Tabla 3. Solubilidad aparente de duloxetina .....	38
Tabla 4. Resultados de la validación analítica .....	40
Tabla 5. Matriz de Diseño $2^3$ con punto central para la obtención de nanopartículas de chitosán, y resultados obtenidos .....	41
Tabla 6. Matriz de Diseño $2^2$ con punto central y una réplica para la obtención de nanoplexos de alginato, y resultados obtenidos .....	44
Tabla 7. Optimización y verificación de los nanoplexos de alginato .....	47
Tabla 8. Optimización y verificación de las nanopartículas de chitosán .....	47

## Abreviaturas

Abs	Absorción
DM	Depresión Mayor
DLX	Duloxetina
Tpp	Tripolifosfato
IFAs	Ingredientes Farmacéuticos Activos
pZ	Potencial Z
nm	Nanometro
mL	Mililitro
H	Hora
µg	Microgramos
UV-VIS	Ultravioleta-Visible
MDD	Trastorno Depresivo mayor (por sus siglas en ingles)
mg	Miligramo
CV	Coeficiente de variación
rpm	Revoluciones por minuto
BBB	Barrera Hematoencefalica
SNC	Sistema Nervioso Central
pp	Precipitado
Acc	Ácido Acético Glacial
DE	Desviación estándar

## Resumen

Uno de los trastornos mentales más comunes en el mundo que afecta a adolescentes y adultos jóvenes es la depresión. Los tratamientos actuales constan de psicoterapia y medicamentos. En estos últimos se incluye la duloxetina, una molécula que presenta una baja solubilidad y por ende una baja biodisponibilidad oral, incluso se han reportado diversos efectos adversos derivados de la administración oral, por tiempos prolongados de administración y altas dosis que se administra para mostrar mejoría, lo que lleva a la falta de apego al tratamiento por parte del paciente. Recientemente se ha visto que los nanoacarreadores farmacéuticos mucoadhesivos son una excelente estrategia prometedora para reducir o evitar estos problemas, y que más aún se pueden administrar por otras vías, como la nasal, la cual sería beneficiosa para este fármaco ya que se ha reportado que se tiene un acceso más directo a la absorción en la barrera hematoencefálica.

Por lo anterior, en el presente trabajo se buscó encapsular duloxetina clorhidrato en nanopáticas poliméricas de alginato y quitosán, que son materiales mucoadhesivos biodegradables que tiene alto potencial para ser formulados para la administración por la vía nasal.

Para el desarrollo del objetivo, las nanopartículas de quitosán se obtuvieron con el método de gelación iónica con TPP, mientras que las de alginato se prepararon como nanoplexos mediante un método de complejación por atracción de cargas, ambos métodos optimizados mediante un diseño experimental. Para las nanopartículas de quitosán se definieron como factores la cantidad de polímero, la cantidad de fármaco y la cantidad de agente entrecruzante para las partículas de quitosán, mientras que para las de alginato se definió el radio polímero-fármaco y la concentración de estabilizante. La duloxetina se incluyó a una concentración de 10 mg, agregándose en la etapa de formación de la nanopartícula. Se midió el tamaño promedio con dispersión dinámica de luz, el potencial Z por movilidad electroforética, el PDI y la eficiencia de encapsulación se obtuvo mediante cuantificación de fármaco libre con un método por UV-Vis. La optimización de las nanopartículas se llevó a cabo con la Metodología de Superficie de Respuesta, a partir de los diseños.

De la ejecución de los diseño se obtuvieron lotes de nanoplexos de alginato con un tamaño promedio de 236.9 nm y una eficiencia de encapsulación del

37.5%, mientras que con las nanopartículas de quitosán se obtuvo un tamaño promedio optimizado de 195.3 nm y una eficiencia de encapsulación del 37.9%; las partículas presentaron eficiencias de encapsulación estadísticamente similares. El potencial Z de los nanoacarreadores fue de carácter negativo (-3.57 mV) para los nanoplexos y positivo (0.43 mV) para las nanopartículas de quitosán. El método analítico cumplió con los parámetros de desempeño para la validación.

Finalmente, fue posible obtener nanopartículas y nanoplexos cargados con duloxetina en cantidades terapéuticas, las cuales podrían ser utilizadas en una posible formulación nasal, ya que ambos sistemas son mucoadhesivos.

## 1. Introducción

La tristeza es un parte común en la vida de las personas, pero la depresión es un trastorno mental que afecta el estilo de vida de la persona que la posee. La depresión es el desorden afectivo más frecuente en adolescentes, siendo más común que se presente en mayor proporción en los adultos. La población adulta suele tener mayor disposición a padecer depresión, factores como el padecimiento de una enfermedad crónica, autoestima, nivel de educación, expectativas de auto eficiencia y apoyo social llegan a desencadenar un cuadro depresivo en este tipo de pacientes. Este trastorno llega a ser una de las más importantes causas de incapacidad en el mundo. La OMS considera que en este año 2020 y en los siguientes, la depresión mayor unipolar se convertirá en la segunda causa de enfermedad más importante en todo el mundo.<sup>2</sup> Esto conlleva a un mayor gasto de servicios de salud derivados solo de un trastorno mental. En México se presentan un número alarmante de casos de depresión mayor, con una prevalencia de 5.8 a 10%, lo cual conlleva a un gasto extra de servicios de salud que se encuentran limitados.<sup>3</sup>

Cuando las personas presentan trastornos depresivos la primera alternativa es la psicoterapia que puede ir de la mano con medicamentos como los antidepresivos. El tipo de terapia y medicamentos utilizados dependerá del nivel del trastorno depresivo por el que esté pasando el individuo. Los antidepresivos más utilizados son los inhibidores de la receptación de serotonina y norepinefrina (duloxetina), antidepresivos atípicos (bupropión), antidepresivos tricíclicos (imipramina), y los inhibidores de la monoaminoxidasa (iproniazida).<sup>4</sup> La administración de antidepresivos por vía oral presenta varias desventajas como tratamiento como lo son el número de efectos adversos, medicamentos sensibles el pH estomacal, baja biodisponibilidad, etc. Todos estos factores reducen el seguimiento del tratamiento por parte de los pacientes lo cual resulta con problemas de salud. Lo que tienen en común estos fármacos es que son administrados por vía oral, en formas farmacéuticas sólidas como tabletas y cápsulas, a pesar de que estos fármacos de cierta manera son eficientes presentan numerosos efectos adversos.<sup>1</sup>

La duloxetina es un inhibidor de la recaptación de serotonina y noradrenalina, y es además el medicamento más utilizado en el tratamiento de la depresión mayor, comercializada en forma de cápsulas de liberación retardada. Este fármaco actúa sobre el sistema nervioso central y está ligado a la potenciación de la actividad serotoninérgica y noradrenérgica que resulta de la inhibición de la recaptura de serotonina y norepinefrina.<sup>5</sup>

Las principales desventajas de este medicamento por vía oral es su inestabilidad en el pH gástrico, una biodisponibilidad oral apenas del 50%, que lleva a administrar varias dosis diarias, así como efectos adversos que llegan a ser graves como la confusión, la visión borrosa, ansiedad y dificultad para respirar. Para una persona con un trastorno mental como la depresión, resulta difícil el llevar un tratamiento y apegarse a él, pues efectos adversos como la ansiedad son un riesgo ya que esto podría inducir al paciente a consecuencias graves como el suicidio.<sup>5</sup>

Es debido a lo anterior que se han explorado vías de administración alternas, que para el caso de fármacos de baja solubilidad y con acción en el SNC se ha propuesto la vía intranasal, la cual posee importantes ventajas como el usar menos cantidades de fármaco y una mayor biodisponibilidad.<sup>2</sup> Además, aunado a lo anterior el utilizar nanopartículas con propiedades mucoadhesivas para mejorar el tiempo de retención del sistema en el sitio de absorción, como vehículo en este tipo de administración, mejora la entrega del medicamento de una forma más directa, disminuye la dosificación, disminuye la aparición de efecto adverso, prolonga la liberación y aumenta la biodisponibilidad.<sup>6</sup>

Por ello en el presente proyecto se buscó obtener nanopartículas biodegradables y mucoadhesivas cargadas con duloxetina, un fármaco clase II según la clasificación biofarmacéutica, es decir de baja solubilidad, con la finalidad de disponer de un nanoacarreador con potencial uso en el desarrollo en un aerosol nasal, controlando la liberación del fármaco y proponer un sistema que pueda ser una alternativa para administrar duloxetina en el tratamiento de la depresión mayor.

## **2. Marco teórico y antecedentes**

### **2.1 Depresión y sus retos en la terapia**

La depresión es uno de los trastornos más frecuentes en la población a nivel mundial. La depresión representa problemas muy graves si evoluciona a un trastorno depresivo mayor, con lo cual surgen problemas para desempeñarse en diferentes ámbitos de la vida e incluso llegar al suicidio.

Los trastornos depresivos pueden surgir por diferentes factores como lo son biológicos y ambientales. Los trastornos depresivos se clasifican como leve, moderado y severo, dependiendo de qué tipo de depresión posea un individuo el tratamiento será diferente. “Hay que tener en cuenta que en la elección del tratamiento del paciente, se debe considerar costos y disponibilidades para asegurar una buena alianza terapéutica”.<sup>3</sup>

La mayoría de las personas que padecen un trastorno depresivo mayor presentan síntomas comunes como lo son sentimientos de culpa, inutilidad, intentos de autolesión y suicidio. El principal problema de estos pacientes es que al sentir tantos sentimientos negativos, la mayoría de las veces no es posible continuar con el tratamiento al pie de la letra, además la mayoría de antidepresivos presentan problemas de biodisponibilidad y numerosos efectos adversos. Toda la combinación de estos efectos provoca ansiedad en los pacientes con depresión por lo cual deciden suspender el tratamiento.<sup>7</sup>

#### **2.2.1 Tratamientos actuales**

La depresión se puede llegar a presentar en un individuo de maneras diferentes ya sea de naturaleza biológica, factores culturales y factores psicológicos. Como primer alternativa ante cualquier tipo de depresión se encuentra la psicoterapia. Así como existen diferentes niveles de depresión existen diferentes tipos de terapia para cada uno de estos. Con la psicoterapia se pretende encontrar factores causales de los síntomas de depresión y tratar de que la persona que los padece logre superarlos.<sup>5</sup>

Varios estudios han demostrado la eficacia de la psicoterapia en diferentes niveles de depresión. Por sí sola puede llevar a una recuperación eficaz del paciente, pero en muchos casos este tratamiento se acompaña con el uso de medicamentos que tienen en su formulación IFAs conocidos como antidepresivos o ansiolíticos. Esto antidepresivos en conjunto con la psicoterapia ayudan al paciente a una recuperación más rápida y evitar recaídas durante el tratamiento de la enfermedad. <sup>8</sup>

Gran parte de los medicamentos antidepresivos actuales son eficaces al tratar la depresión, pero presentan numerosos efectos adversos. Los antidepresivos más utilizados son los inhibidores de la receptación de serotonina y norepinefrina (duloxetina), antidepresivos atípicos (bupropión), antidepresivos tricíclicos (imipramina), y los inhibidores de la monoaminoxidasa (iproniazida).

La duloxetina, por su parte, es uno de los fármacos mayormente recetados en la terapia de la depresión, es eficiente pero presenta diferentes efectos adversos como problemas gástricos, vómitos, falta de apetito, sequedad bucal, problemas en la micción, vértigos, cefaleas, sudoración nocturna, sensación de fatiga, debilidad, y somnolencia, cuando se administra por vía oral. Sumado a todo esto, además presenta una biodisponibilidad oral de solo el 50%, lo que ha llevado al uso de altas y frecuentes dosis. Es por lo anterior que la duloxetina es un candidato ideal para mejorar algunos aspectos de su formulación y/o formas farmacéuticas, o bien para ser administrada por vía de administración que le permita llegar de una manera más eficiente al sitio blanco, utilizar menor cantidad del fármaco, aumentar la biodisponibilidad y reducir los efectos adversos. <sup>9,10</sup>

## 2.2 Duloxetina

La duloxetina es un inhibidor dual de la recaptación de serotonina y norepinefrina. Fue descubierta originalmente en 1993 y desarrollada por Eli Lilly and Company como LY248686. Duloxetina recibió la aprobación de la FDA por primera vez en agosto de 2004 como Cymbalta para el tratamiento del trastorno depresivo mayor.

En la **figura 1** se muestran ejemplos de las formas farmacéuticas disponibles en el mercado.

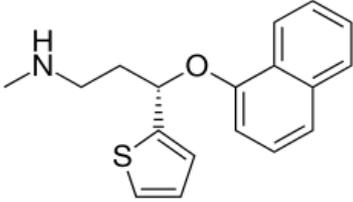


Figura 1. Presentación de duloxetina HCL, 30 mg y 60 mg capsulas de liberación retardada ( Eli Lilly and Company: Cymbalta, Pisa, AMSA, Medimart)

### 2.2.1 Propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas

En la **tabla 1** se listan las propiedades fisicoquímicas de la duloxetina. Tiene un elevado coeficiente de partición por lo que es hidrófobo y se distribuye preferentemente en entornos hidrófobos como las bicapas lipídicas de las células, es decir que presenta mayor afinidad a fases orgánicas y de ahí su baja solubilidad acuosa. La duloxetina es un fármaco clase II del Sistema de Clasificación Biofarmacéutico, por lo que cuenta con una baja solubilidad y una alta permeabilidad. <sup>11</sup>

**Tabla 1: Propiedades fisicoquímicas y biofarmaceuticas**

Propiedad	Valor
Peso molecular	297.415 g/mol
Formula química	C <sub>18</sub> H <sub>19</sub> NOS
Nombre IUPAC	(3 S)- N -metil-3-naftalen-1-iloxi-3-tiofen-2-ilpropan-1-amina
Solubilidad en agua	0.00296 mg/ml
Log P	4.72
pKa	9.7 (básico fuerte)
Estructura	

Duloxetina es un fármaco en venta que se administra de solo de manera oral encontrándose en presentación de liberación retardada, ya que la molécula es muy sensible a los ácidos del estómago, la liberación retardada ayuda a protegerlo de estos y que se liberen en el intestino. Debido a estas propiedades se puede inferir que es fármaco candidato para administrarse por una vía distinta a la oral, como la vía nasal, incluso el encapsulamiento de este fármaco en nanoacarreadores puede ayudar a que este llegue de manera más directa al sitio de acción, cruzando la barrera hematoencefálica. Con esto se podría reducir la cantidad administrada del fármaco y reducir los efectos adversos. La idea de una formulación nasal podría ser útil para hacer más eficiente el tratamiento con este fármaco, pues la vía nasal es un área con un elevado porcentaje de perfusión y con acceso directo al SNC el cual es el sitio diana donde actuará el farmaco.<sup>11</sup>

### 2.2.2 Farmacocinética y farmacodinamia

La duloxetina es un inhibidor de la recaptura de serotonina y norepinefrina, y débilmente inhibe la captura de dopamina; sin afinidad significativa por receptores histaminérgicos, dopaminérgicos, colinérgicos y adrenérgicos. Se piensa que el posible mecanismo de acción de la duloxetina en el tratamiento

de la depresión se debe a la inhibición de la captura neuronal de serotonina y norepinefrina con el incremento resultante en la neurotransmisión serotoninérgica y noradrenérgica en el sistema nervioso central. Se cree que la acción inhibitoria del dolor de la duloxetina es resultado de la potencialización de las vías descendentes inhibitoras del dolor dentro del sistema nervioso central.<sup>12</sup>

La duloxetina se absorbe bien después de su administración oral y la concentración máxima en plasma se alcanza 6 horas después de la dosis. Los alimentos retrasan el tiempo para alcanzar la concentración máxima de 6 a 10 horas y disminuyen marginalmente el grado de absorción (aproximadamente en 11%). Se une extensamente a las proteínas plasmáticas (> 90%) principalmente a la albúmina y a la  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida, y es ampliamente metabolizada, sus metabolitos son excretados principalmente en la orina. La vida media de eliminación de duloxetina es de 12.1 horas y la depuración plasmática aparente es de 101 L/h.<sup>12</sup>

## **2.4 Estrategias para mejorar el paso de fármacos al snc**

Los problemas más comunes de los fármacos que son administrados por la vía oral son aquellos que se relacionan con la biodisponibilidad, como la solubilidad, la velocidad de disolución, el efecto del pH, el peso molecular, entre otros, ya que pueden provocar que la concentración del fármaco en la sangre es mínima si la comparamos con la concentración inicial, al momento de la administración. La solubilidad es uno de los más críticos. Además de los problemas asociados con los efectos adversos o no deseados, los cuales pueden presentarse desde leves hasta graves, con una respuesta a la intolerancia al fármaco, a las altas y frecuentes dosis que son administradas.<sup>13</sup>

Para el caso de los antidepresivos los problemas antes mencionados llevan a que el paciente deje el tratamiento o que genere adicción. Es por ello que una de las estrategias a las que se ha recurrido es la generación de sistemas de liberación modificada, sobre todo de liberación prolongada, con la finalidad de reducir la dosis y la frecuencia de administración, haciendo uso además de áreas emergentes como la nanotecnología para mejorar problemas relacionados con la baja velocidad de disolución o la dificultad de cruzar

diferentes membranas biológicas. Adicional a lo anterior, también se han propuesto administrar este tipo de fármacos por diferentes vías de administración para lograr un mejor aprovechamiento, haciendo que el fármaco se disponga mucho mejor en el sitio de absorción o de acción. <sup>14</sup>

Los fármacos que actúan en el SNC tienen como reto alcanzar el tejido cerebral desde la administración oral, para posteriormente vencer el principal obstáculo, la barrera hematoencefálica. En la **figura 2** se muestran las diferentes formas en que las moléculas atraviesan la barrera hematoencefalica

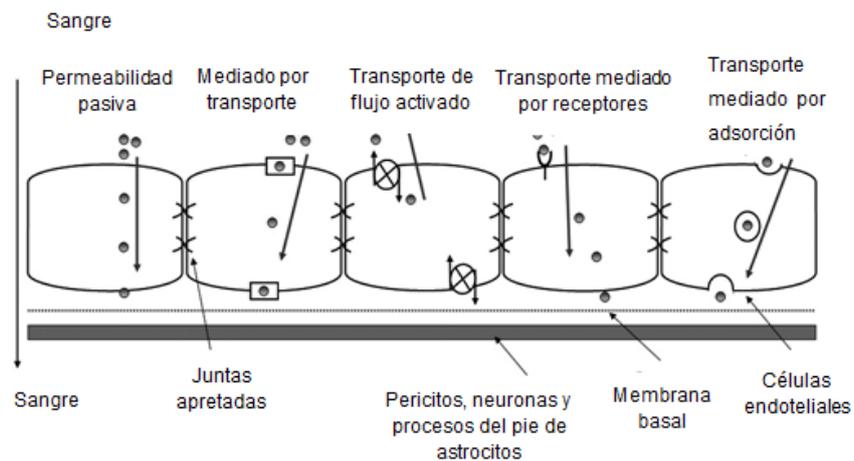


Figura 2: diferentes formas de atravesar la BBB. (1. Permeabilidad pasiva, 2. Mediado por transporte, 3. Transporte de flujo activado, 4. Transporte mediado por receptores, 5. Transporte mediado por adsorción). <sup>15</sup>

Una las vías de administración que se ha visto que es altamente eficiente para administrar fármacos al SNC es la vía nasal. Esta es una vía no invasiva que tiene como ventajas una fácil administración, ejercer una acción local, la concentración del medicamento es menor y no produce dolor al momento de su aplicación. Una vez administrado el medicamento por la vía nasal la forma farmacéutica sigue ciertos pasos para llegar al SNC y son: el transporte a de la molécula través del epitelio nasal, posterior transporte desde la mucosa nasal a los puntos de entrada al cerebro cerca de la superficie pial en el compartimiento craneal y finalmente el transporte desde las zonas iniciales de entrada del cerebro a otras dentro del SNC. <sup>16</sup>

Se tiene la teoría de que algunos acarreadores, como los nanosistemas, tienden a utilizar la ruta transcelular y por medio de la endocitosis ayudar a cruzar el epitelio nasal para alcanzar el tejido cerebral a través del epitelio olfatorio. La endocitosis clatrina-dependiente es el proceso que actúa en este caso, en la **figura 3** se muestra cómo se lleva a cabo este proceso. <sup>17</sup>

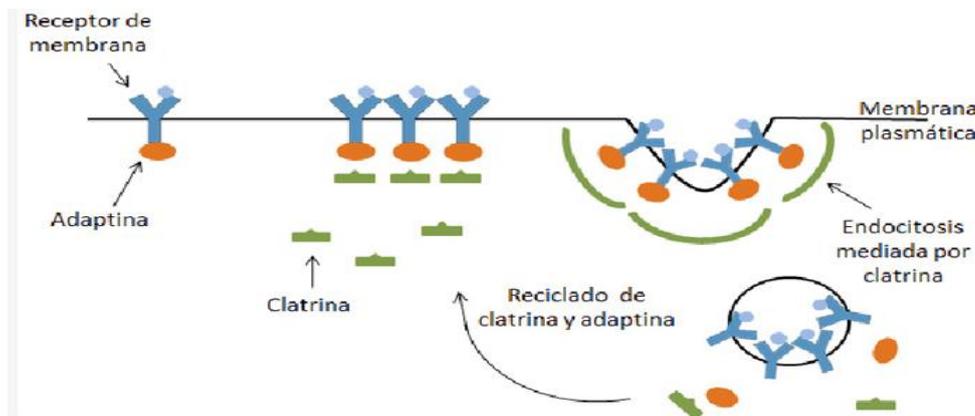


Figura 3: Endocitosis clatrina-dependiente para el transporte de nanopartículas hacia el SNC desde la vía nasal. (Kozlovskaya L 2014)

Una vez que el fármaco llega al nervio olfatorio puede cruzar esta región por medio de transporte extracelular o intracelular para alcanzar el SNC. De esta manera se puede llegar al cerebro de una manera más directa y menos invasiva. Un inconveniente de esta vía es que el diámetro del axón es de aproximadamente 100-300 nm, lo que reduce el paso de nanopartículas mayores a ese tamaño. Por otra parte, como camino alternativo se tiene el nervio trigémino cercano al nervio olfatorio como lo muestra la **figura 4**, el cual se puede utilizar como otra vía de entrada directa al SNC. Esto lo hace utilizando el mismo epitelio respiratorio por los pasajes nasales, por dos zonas: a través del agujero lacerado anterior cerca de la protuberancia y la lámina cribosa cerca del bulbo olfatorio, aprovechando así diferentes puntos de entrada después de la administración nasal. Utilizando así otros puntos de entrada en las áreas caudal y rostral del cerebro después de la administración intranasal.

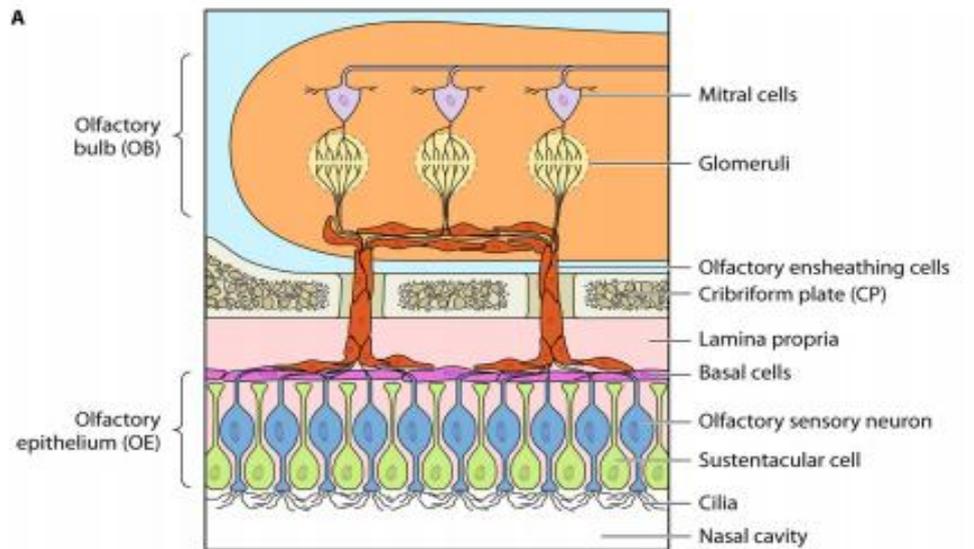


Figura 4: Cruce de nanopartículas hacia el SNC empleando la ruta del nervio trigémino / nervio olfatorio. (Samantha Dando 2014)

Al administrarse un sistema farmacéutico por la nariz se espera que el fármaco entre de una manera más local y directa al sistema nervioso donde genera más rápido los efectos terapéuticos, la concentración del fármaco sería menos, reduciendo los efectos adversos para el paciente.

De este modo, las formulaciones que se tienen para ser administrados por esta vía son

- Gotas nasales: son las más simples de usar, una de sus desventajas es que presentan imprecisión de su dosificación, pérdidas inespecíficas de dosis y un alto riesgo de contaminación.<sup>19</sup> Son fluidos y pueden tener de dos o más principios activos. Presentan un alto tiempo de residencia. El problema de estas formulaciones es su incomoda aplicación.<sup>20</sup>
- Sprays nasales: son más precisos que las gotas, se consigue una mejor dosificación. También presentan el problema de pérdidas inespecíficas.<sup>19</sup>
- Geles de formación *in situ* pueden ser aplicados mediante un spray, ya que en su estado inicial son líquidos y una vez en el organismo, se

produce el proceso de gelificación in situ dependiente de factores como la temperatura, cambio de pH, o presencia de iones.<sup>19</sup>

- Geles fluidos: estos geles son líquidos que contienen un polímero gelificante, que en el proceso de gelificación se aplica una fuerza externa, produciendo una solución de polímero no gelificado que contiene partículas gelificadas, la cual se puede liberar desde sprays.<sup>20</sup>
- Polvos nasales: es una mezcla seca de principio activo y excipientes en estado pulverulento. El problema principal que presentan es la irritación en la mucosa nasal que producen, debido a que los componentes están en estado seco y se humectan mediante el agua que forman los tejidos.<sup>20</sup>
- Nanosuspensiones y nanoemulsiones nasales: pueden formularse como liposomas, proliposomas, micelas, microesferas, nanopartículas, microemulsiones, entre otros.<sup>20</sup>

Estos últimos representan una ventaja en la formulación de fármacos a administrar por la vía nasal, ya que protegen al fármaco del ambiente o su exterior, pueden acarrear moléculas de baja solubilidad, controlan la liberación de este, o bien pueden estar funcionalizadas o preparadas con materiales que favorezcan el tiempo de residencia en el sitio de aplicación al emplear por ejemplo polímeros mucoadhesivos (bioadhesivos).<sup>20</sup>

## 2.5 Nanoacarreadores

Los fármacos para poder ingresar al organismo deben ser incorporados en un medicamento que cumpla la función de protección o transportador. Para poder formular un medicamento para alguna vía de administración deseada se tiene que tomar en cuenta todas las propiedades posibles, las del fármaco, el medicamento y la misma vía de administración. Una vez adentro del organismo el fármaco tiene que ser liberado de manera controlada dentro del organismo. Para este fin es utilizada la nanotecnología, que es aplicada en materiales que se han utilizado para la construcción de nanosistemas de liberación de fármacos.<sup>21</sup>

Un nanoacarreador es una plataforma o soportes, con propiedades coloidales, a los que se les incorpora una o más sustancias activas o de contraste con la finalidad de obtener un control en su liberación (espacial y/o temporal), y una potencial vectorización o direccionamiento específico.<sup>22</sup> Estos nanosistemas hoy en día son utilizados como transportadores de fármacos, los cuales son dirigidos a un sitio de acción, de tal manera que al llegar más fármaco se aumentará la biodisponibilidad y con ello se podría reducir la dosificación.<sup>23</sup>

Estos nanosistemas son muy diversos, pero se pueden clasificar de manera muy general en 2 grandes grupos.<sup>21</sup>

1. **Nanoestructuras orgánicas.** En este grupo se encuentran las nanopartículas que están hechas de materiales poliméricos y/o lípidos, con los que se construyen nanoesferas, nanocápsulas, micelas, liposomas, dendrímeros y conjugados polímero-fármaco (ver **figura 5**).

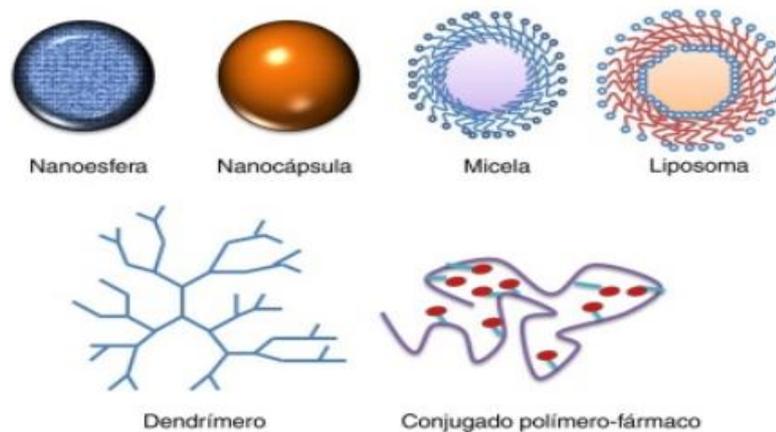


Figura 5: Representación de nanoestructuras orgánicas (Yareli Rojas 2016)

2. **Nanoestructuras inorgánicas.** Bajo esta clasificación están las nanopartículas de óxidos metálicos, nanopartículas de sílica mesoporosa y nanotubos de carbono.

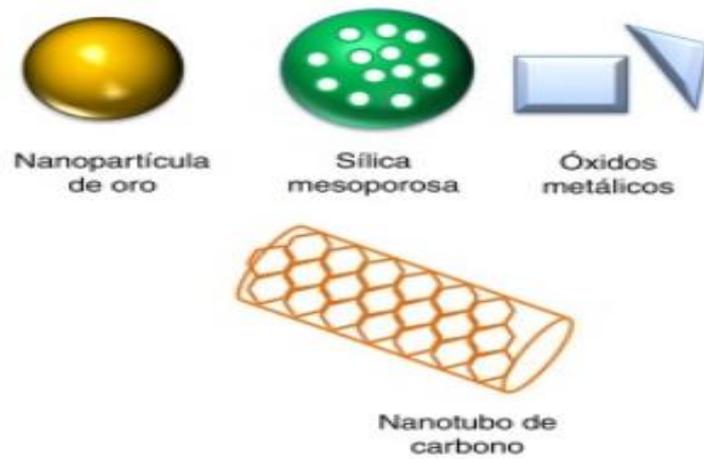


Figura 6. Representación de nanoestructuras inorgánicas (Yareli Rojas 2016)

## 2.5.1 Métodos de obtención

Los métodos de obtención de nanomateriales poliméricos se clasifican en dos grandes estrategias: construcción y deconstrucción, conocidas también en inglés como enfoques “bottom-up” y “top-down”. El primer enfoque de obtención se basa en agregar o acumular moléculas, para obtener estructuras del tamaño deseado, mientras que para el segundo, la estrategia de deconstrucción se basa en un fraccionamiento controlado de materiales más grandes con el objetivo de producir nanomateriales (ver figura 7).

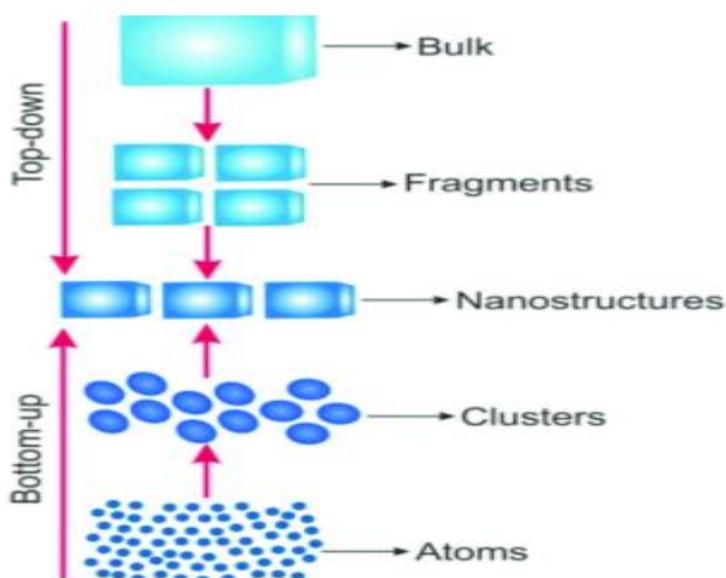


Figura 7: Enfoques “bottom-up” y “top-down” (Lynn Margulis 2021)

Al principio para generar estos nanosistemas era muy común utilizar interacciones físicas, pero esta técnica provocaba que las nanopartículas presentaran inestabilidad, por lo cual se buscó la manera de mejorar las características relacionadas con el tamaño, estabilidad, carga superficial y la capacidad de incorporación de principios activos con actividad biológica. Actualmente, las metodologías de deconstrucción se han colocado como una alternativa interesante para producir nanopartículas, ya que se basan principalmente en la agregación controlada de materiales macroscópicos como los polisacáridos. <sup>24, 25</sup>

En la actualidad existen metodologías tales como la coprecipitación, la reticulación química, la termodescomposición, la coacervación, la emulsificación y la gelación iónica. Este último una de las técnicas más usada para la preparación de nanopartículas de polisacáridos, (Raveendran *et al.*, 2015), cuyo proceso se basa en generar interacciones iónicas entre los grupos aminos con carga positiva o los grupos carboxilo con carga negativa de un polianión con contraiones mono o polivalentes para generar una estructura menos polar que permita la agregación y el encapsulamiento de fármacos.<sup>25</sup> Como por ejemplo el tripolifosfato de sodio (TPP), el cual es el agente iónico reticulador más usado para obtener nanopartículas a partir de quitosán o el cloruro de calcio para generar nanoestructuras con alginato; son materiales no tóxicos y tienen la capacidad de gelificar rápidamente. La **figura 8** muestra un ejemplo de las interacciones entre estas sustancias.<sup>26</sup>

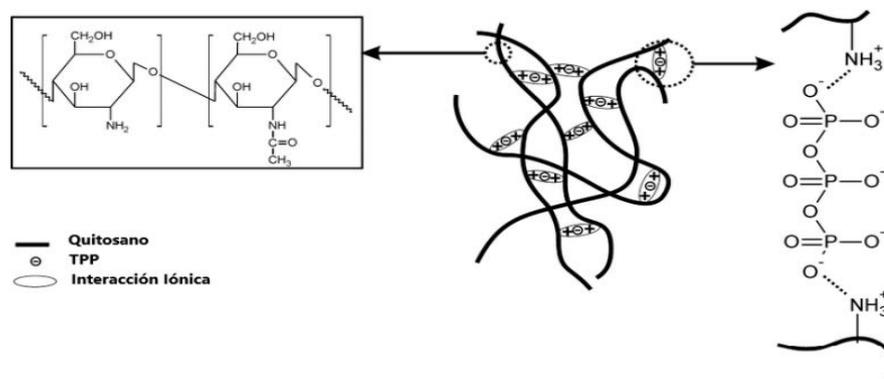


Figura 8: Interacción iónica y entrecruzamiento del quitosano y tripolifosfato de sodio (Dra. Lilian Abugoch 2019)

Así, las nanopartículas de origen polimérico han adquirido relevancia y su aplicación se ha extendido como sistemas de liberación modificada. Estas partículas se han preparado empleando poliméricos sintéticos como el PLGA, la Poli-ε-caprolactona, derivados del ácido acrílico, entre otros, y naturales como el alginato, el quitosán, algunas proteínas como el colágeno y la albúmina; sobre todo materiales biocompatibles, pero preferentemente biodegradables. Dentro de las partículas poliméricas, aquellas que por su constitución presentan propiedades bioadhesivas han llamado la atención en el

desarrollo de sistemas de liberación para vías de administración cubiertas de mucosas, como la ruta nasal, donde la interacción de polímeros poli-iónicos como el quitosán (policación) y el alginato (polianión) con las mucinas presentes en el mucus genera un mayor tiempo de retención en el área de absorción debido a este fenómeno de mucoadhesión.<sup>25</sup>

## **2.5.2 Nanopartículas poliméricas bioadhesivas**

La forma en la que se mejoran las propiedades de los medicamentos es hacer que su aplicación sea menos invasiva y más segura. Al momento de incorporar un medicamento de forma más directa en el sitio diana, es ideal para garantizar que llegue la mayor cantidad de fármaco posible; de esta manera se podría utilizar una menor cantidad de fármaco y reducir costos de producción y efectos adversos.

En estas últimas décadas se le ha puesto un mayor interés a los nanomateriales poliméricos, debido que con ellos se han generado nuevos métodos para el tratamiento y diagnóstico de enfermedades que nos afectan hoy en día. Estos polímeros poseen características como el ser abundantes en el medio ambiente, no ser tóxicos para el organismo humano y presentar propiedades bioadhesivas. Estas características los han convertido en candidatos para el transporte de fármacos dentro del organismo, con el fin de que lleguen al sitio de acción de una manera más eficaz.

Dentro de los requisitos para los nanosistemas de administración de fármacos y para que sean considerados como buenos transportadores dentro del cuerpo, se requiere que sean biocompatibles, biodegradables, y protejan a las moléculas encapsuladas. En particular, los biopolímeros cuentan con estas características que los hacen únicos y que pueden ser aprovechadas en el área farmacéutica, además son capaces de atravesar barreras epiteliales, lo que les permitiría desarrollar tratamientos nasales y oculares.<sup>23,26</sup> Algunos de ellos además cuentan con la capacidad de responder a estímulos externos como el pH, la temperatura y la fuerza iónica del medio, permitiendo mejorar la sensibilidad de los excipientes. Se encuentran fácilmente en la naturaleza y sus métodos de extracción son económicos.<sup>23</sup>

Estos últimos años se han propuesto nanosistemas generados con biopolímeros que se encuentran fácilmente en la naturaleza y presentan propiedades favorables como porosidad y bioadhesividad.<sup>24</sup> Algunos ejemplos de polímeros y clasificación se muestran en la **tabla 2**.

**Tabla 2: Clasificación y ejemplos de polímeros mucoadhesivos**

Características	Clasificación	Ejemplos
Origen	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Natural</li> <li>• Semi-Sintético</li> <li>• Sintético</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Chitosan (Natural-Catiónico)</li> <li>• Alginato (Natural-Aniónico)</li> <li>• Pectinas (Natural-Aniónico)</li> <li>• Derivados de la celulosa (Sintético)</li> <li>• Ácido Poliacrílico (Sintético-Aniónico)</li> </ul>
Solubilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Solubles</li> <li>• Insolubles</li> </ul>	
Carga	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aniónicos</li> <li>• Catiónicos</li> <li>• No Iónicos</li> </ul>	

Así, las nanopartículas mucoadhesivas se obtienen a partir de polímeros que presentan esta propiedad. Un polímero mucoadhesivo es una sustancia química que puede genera un proceso de fijación entre dos superficies, la cual se produce en un entorno biológico, más concretamente en una membrana mucosa.<sup>22</sup>

## 2.8 Chitosán y alginato, usos en la nanotecnología farmacéutica

El quitosán es un polímero polisacárido compuesto de 2-acetamido-2-deoxi-β-D-glucopiranososa repetitiva y 2-amino-2-deoxi-β-D-glicopiranososa <sup>14</sup>. Se obtiene de la desacetilación de la quitina que se encuentra en la cascara de los camarones, es el segundo polisacárido más abundante y un polielectrolito catiónico presente en la naturaleza, ver **figura 9**. El chitosan ha demostrado tener características de actuar dentro del organismo humano sin afectarlo. <sup>23, 26</sup>

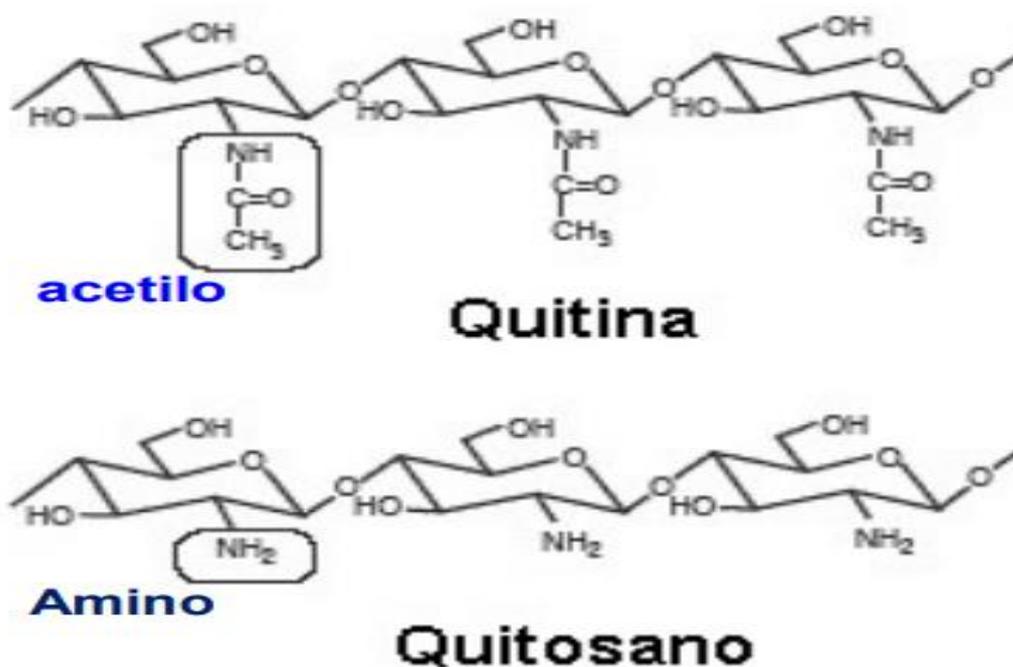


Figura 9. Estructura química y efecto de desacetilación de la quitina para obtener chitosán

El quitosán suele ser estructuralmente flexible, lo que hace posible que los polisacáridos formen polímeros lineales y ramificados, lo que genera sus características bioadhesivas. El quitosán posee aplicaciones en el área terapéutica, como lo es en el transporte de fármacos y ha sido usado actualmente en algunos tratamientos contra el cáncer. <sup>19</sup>

La formación estructural de un hidrogel físico puede obtenerse cuando se unen dos polielectrolitos de carga opuesta. El hidrogel resultante se combina mediante enlaces moleculares, fuerzas hidrofóbicas o fuerzas iónicas; todas estas interacciones son reversibles, y podrían ser interrumpidas por cambios de condición como el pH, la temperatura y la fuerza iónica.

Se pueden producir diferentes estructuras de gel con chitosán dependiendo de las concentraciones de este a través del proceso de gelación iónica previamente descrito.<sup>14, 27</sup>

Por su parte, el alginato es un polisacárido que se encuentra fácilmente en la naturaleza, utilizado comúnmente en el desarrollo de medicamentos como aglutinante o como matriz de liberación prolongada. Es un biopolímero aniónico extraído de las algas marrones y de las bacterias *Pseudomonas* y *Azotobacter*, cuyas propiedades le permiten ser usado como agente gelificante. Este Polímero ha sido estudiado para ser utilizado como nanoacarreador de fármacos en el área farmacéutica, gracias a que no presenta toxicidad en el organismo. Es un biopolímero ampliamente usado debido a que su estructura le permite ser transformado en hidrogeles, micropartículas o nanopartículas porosas que le permiten encapsular pequeñas moléculas y así funcionar como un transportador para estas.<sup>22</sup>

El alginato de sodio químicamente se define como un copolímero de bloques formado por cadenas lineales de ácido D-manurónico y ácido L-gulurónico que se encuentran unidos por puentes glucósidos 1→4 (Hay et al., 2013). Su estructura química se puede apreciar en la **figura 10**. En presencia de iones calcio sufre agregación para formar hidrogeles por gelación iónica, generando un sistema conocido como esquema de caja de huevo, el cual se puede observar en la **figura 11**.<sup>24</sup>

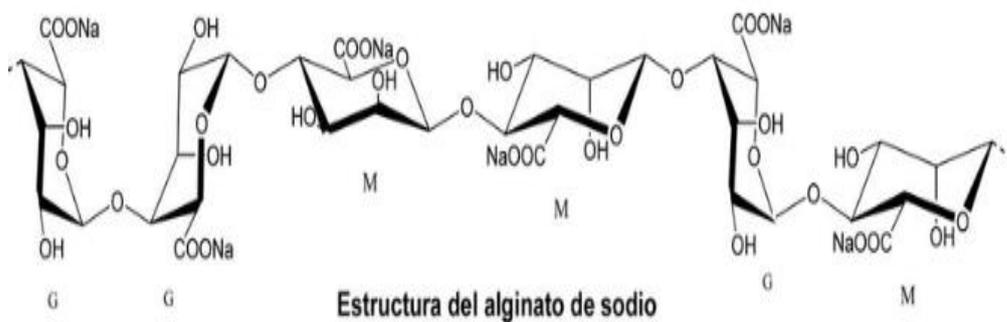


Figura 10. Estructura química del Alginato de sodio (Ghosal & Ray, 2011)

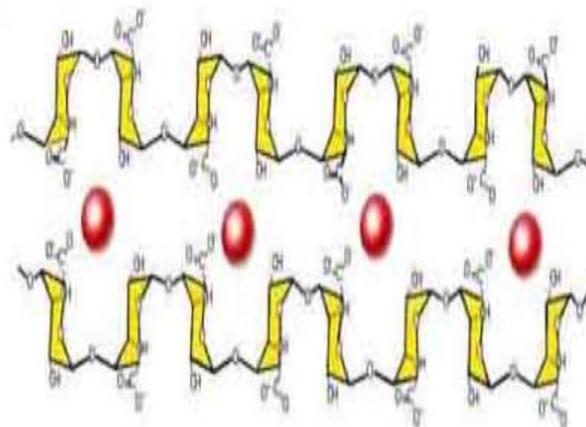


Figura 11. Esquema de caja de huevo (sabel Andueza, 2016)

### 3. Justificación

La depresión es un problema psicológico serio y de salud que afecta tanto a jóvenes como adultos mayores, para el tratamiento de este trastorno existen antidepresivos en formas farmacéuticas sólidas orales, como cápsulas o tabletas, que han generado diferentes efectos adversos y efectos no deseados como la adicción, debido a las altas y frecuentes dosis para alcanzar la concentración terapéutica adecuada, lo que ha causado incluso que el paciente suspenda el tratamiento. Dentro de este tratamiento farmacológico se encuentra la duloxetina, un fármaco clase II que presenta una baja biodisponibilidad oral.

La utilización de nanopartículas poliméricas de quitosán y alginato para encapsular duloxetina podría ser una estrategia para resolver los problemas relacionados a su baja biodisponibilidad, solubilidad y efectos adversos, además que podrían actuar como un posible acarreador para una formulación para la vía nasal, ya que pueden ejercer una liberación prolongada y una mucoadhesión, para lo que acarrear el fármaco a través de la barrera hematoencefálica, lo que podría generar un efecto más rápido y una terapia más eficiente.

Por lo anterior, en este estudio se pretende generar nanosistemas poliméricos mucoadhesivos, nanopartículas de quitosán y nanoplexos de alginato, cargados con duloxetina, a fin de obtener una materia prima optimizada para que se pueda utilizar para la formulación de un sistema de administración nasal para este fármaco, e ir estableciendo una alternativa para el tratamiento de la depresión mayor.

## 4. Hipótesis

El uso de polímeros naturales como el quitosán y alginato permitirá obtener de manera eficiente nanopartículas poliméricas que contengan duloxetina encapsulada, las cuales podrían ser utilizadas como posible vehículos mucoadhesivos para el tratamiento de la depresión mayor.

## 5. Objetivos

### 5.1 Objetivo General

Obtener nanopartículas poliméricas de alginato y quitosán cargadas con duloxetina para ser propuestas como un vehículo mucoadhesivo.

### 5.2 Objetivos Específicos

- Llevar a cabo pruebas de solubilidad aparente de duloxetina en diferentes disolventes para optimizar el método de manufactura de las nanopartículas; gelación iónica en nanopartículas de quitosán y nanoprecipitación en nanoplexos de alginato.
- Desarrollar y validar un método analítico por espectrofotometría UV para poder cuantificar el fármaco (duloxetina) durante los estudios de encapsulación.
- Optimizar la manufactura tanto de las nanopartículas de quitosán como de los nanoplexos de alginato con ayuda de un diseño experimental.
- Caracterizar las nanopartículas obtenidas en sus características de tamaño promedio, potencial Z y eficiencia de encapsulación, con base en el diseño experimental establecido.
- Optimizar los métodos de producción mediante la estimación de los parámetros de proceso para verificar la reproducibilidad de la manufactura de las nanopartículas.

## 6. Materiales y equipos

### 6.1 Materiales

- Duloxetina - ANTVOL 20160425
- Alginato de sodio – Droguería Cosmopolita
- Pluronic - SIGMA ALDRICH-073K0155
- NaCl – Droguería Cosmopolita
- Chitosan - SIGMA ALDRICH 448869
- Ácido acético al 1%
- Tripolifosfato - SIGMA ALDRICH -238503
- Metanol, Fosfato de sodio dibásico y Fosfato de sodio monobásico - Reactivos Química Meyer.

### 6.2 Equipo

- Balanza analítica - OHAUS E12140
- Potenciómetro – JENCO pH6175
- Espectrofotómetro - UV/VIS AGILENT TECHNOLOGIES CARY60
- Zetasizer – MALVERN NANO-ZS90
- Parrilla de agitación IKA - C-MAG-H57
- Vortex - SCIENCE MED MX-S
- Agitador multipuntos – VARIOMAG HP15
- Centrifuga
- Programa Statgraphics - CENTURION XVII
- Material de laboratorio

## **7. METODOLOGÍA**

### **7.1 Pruebas de solubilidad aparente**

Para este proyecto se decidió trabajar con el fármaco duloxetina. Para poder desarrollar un método fue necesario conocer la solubilidad de este fármaco en diferentes disolventes. Para la prueba de solubilidad se utilizaron tubos de ensaye previamente rotulados, a cada uno de estos se le agregó 10 mg del fármaco. Posteriormente a cada tubo se le adicionó escalonadamente 100  $\mu$ L de un disolvente, hasta disolver completamente el fármaco, midiendo el volumen total requerido para disolver la masa. Los disolventes utilizados fueron Metanol, Etanol, Alcohol butílico, Dimetil Sulfoxido, Diclorometano, Buffer fosfato 6.5 y ácido acético 0.1%. La solubilidad aparente se determinó por triplicado y se reporta en mg/mL.

### **7.2 Validación de un método analítico por UV para cuantificar duloxetina**

Se realizó la validación de un método analítico por espectrofotometría UV para este proyecto, con el fin de cuantificar duloxetina en las etapas del proyecto y con ello evaluar el desempeño tanto de las nanopartículas de chitosán como de los nanoplexos de alginato en cuanto a la eficiencia de encapsulación.

#### **7.2.1 Determinación de la longitud máxima de absorción ( $\lambda$ )**

En dos matraces aforados de 10 ml se colocaron 10 mg de duloxetina en cada uno, el primer tubo fue aforado con buffer fosfato pH 6.5 y el segundo tubo fue aforado con ácido acético al 1%, para obtener una solución stock de cada una a una concentración de 1 mg/ml. De estas dos soluciones se tomaron 1000  $\mu$ l y se transfirieron en un matraz aforado de 10 ml, los cuales fueron aforados con buffer fosfato pH 6.5 y ácido acético al 1% respectivamente. Se realizó un barrido en el espectro UV-VIS Cary 60 en un rango de 200 a 400 nm de longitud de onda. El buffer pH 6.5 y la solución de ácido acético 1% fueron utilizados como blancos en sus respectivos barridos.

### 7.2.2 Curva de calibración

Para asegurar confiabilidad de resultados, los métodos analíticos se someten a un proceso de validación. La validación para la cuantificación de duloxetina fue realizada por espectrofotometría UV, esto ayudó con la cuantificación del fármaco durante la experimentación.

Para la validar el método se siguieron las recomendaciones de la FEUM 12va edición.<sup>28</sup>

Para la determinación de la linealidad se utilizaron 5 puntos a diferentes concentraciones, midiendo la absorbancia a cada concentración. Con los datos se construyó un gráfico de dispersión, se obtuvo la línea de regresión por mínimos cuadrados, la ecuación de la recta y el coeficiente de determinación ( $r^2$ ). Para este paso se necesitó de una solución stock, para ello se agregaron 10 mg de duloxetina en un matraz volumétrico de 10 ml, posteriormente se aforó con metanol para obtener una concentración de 1 mg/ml.

Después de obtener la solución stock se continuó con la realización de las diluciones utilizando agua destilada y así obtener la curva de calibración por triplicado, en un rango de concentración de 10 a 50  $\mu\text{g/mL}$ . Estas diluciones se leyeron a una longitud de onda 290 nm.

Para medir la repetibilidad y la exactitud se evaluaron curvas de calibración en diferentes días, obteniéndose el coeficiente de variación.

### 7.3 Obtención de Nanoplexos de alginato

Las nanopartículas de alginato se obtuvieron como nanoplexos, los cuales son nanoestructuras que se obtienen por la interacción electrostática de dos especies de carga opuesta; un polión y especies de carga opuesta. Para obtener esta condición se utilizó un pH en el medio de preparación que permitió tener el alginato ionizado y la duloxetina protonada.

### 7.3.1 Diseño experimental

Con base en un análisis bibliográfico se fijaron condiciones de proceso en la elaboración de los nanoplexos, con el fin de encontrar las condiciones más eficientes.

Se utilizó el Programa Statgraphics CENTURION XVII para generar una matriz de diseño, mediante un diseño experimental  $2^2$ ; estableciendo la proporción entre el polímero-fármaco ( $X_1$ ) y el porcentaje de estabilizante ( $X_2$ ) como factores. Los niveles de los factores fueron para la proporción P-F: 0.5-1.0 y para estabilizante fue de: 0.2-0.5%. Las variables de respuesta elegidas fueron el tamaño promedio ( $Y_1$ ) y la eficiencia de encapsulación ( $Y_2$ ).

### 7.3.2 Producción de nanoplexos de alginato por nanoprecipitación iónica

Para la producción de nanoplexos se siguió la matriz experimental obtenida, en un proceso a escala pequeña; un volumen de 10 ml en total en todo el proceso. Como primer paso en un vaso de pp de 15 ml se agregaron 15 ml de buffer fosfato pH 6.5 y posteriormente se agregó el polímero alginato a la proporción correspondiente. En el interior del vaso pp se colocó un agitador magnético de 1 cm, manteniendo en agitación por 24 h. Una vez transcurrido el tiempo se agregó el surfactante (Pluronic) y NaCl para asegurar la estabilidad coloidal de los nanoplexos resultantes (Solución A). Después en otro vaso de pp de 15 ml, se agregaron 5 ml de buffer fosfato pH 6.5 más el fármaco, según la proporción indicada en el diseño, agitando de la misma forma durante 15 min (Solución B). Posteriormente, la solución B fue agregada con ayuda de una jeringa de 5 ml por goteo con flujo constante a la solución A bajo agitación (Solución C). Para recuperar los nanoplexos la suspensión final fue centrifugada durante 1 h a temperatura ambiente y el sobrenadante fue separado del precipitado. El precipitado donde se encuentran los nanoplexos fue resuspendido en agua para determinar el tamaño promedio y el potencial Z como se indica más adelante. El Sobrenadante fue analizado en el espectrofotómetro UV/VIS para determinar el fármaco libre y por diferencia de concentración determinar el porcentaje de encapsulación como se muestra más adelante.<sup>29</sup>

### **7.3.3 Optimización de los nanoplexos de alginato**

Una vez que se desarrollaron todos los experimentos, los resultados fueron analizados por superficie de respuesta en el software Statgraphics Centurion XVI para obtener las condiciones de optimización, es decir, los niveles de los factores donde se encuentran los objetivos de optimización. Los objetivos de optimización fueron nanoplexos de menor tamaño promedio ( $Y_1$ ) y la mayor eficiencia de encapsulación ( $Y_2$ ).

## **7.4. Obtención de nanopartículas de chitosán**

### **7.4.1 Diseño experimental**

Con base en un análisis bibliográfico para la elaboración de las nanopartículas de chitosán por gelación iónica se establecieron los factores de trabajo. Se utilizó el Programa Statgraphics CENTURION XVII para generar la matriz de diseño, mediante un diseño experimental  $2^3$ , estableciendo las concentraciones de Chitosan ( $X_1$ ), Tripolifosfato (Tpp)( $X_2$ ) y duloxetina ( $X_3$ ). Los niveles de los factores fueron para chitosan: 0.5-1.5%, para Tpp: 0.05-1% y Duloxetina: 0.25-0.75%. Las variables de respuesta elegidas fueron el tamaño promedio ( $Y_1$ ) y la eficiencia de encapsulación ( $Y_2$ ).

### **7.4.2 Preparación de las nanopartículas de chitosán por gelación iónica**

Se seleccionaron las combinaciones entre la cantidad de polímero, fármaco y Tpp proporcionales al número de experimentos arrojados por el diseño experimental. Como primer paso se utilizó un volumen pequeño para el desarrollo de las nanopartículas, 7 ml en total en todo el proceso. En un vaso pp de 10 ml se agregaron 5 ml de acc 1% y posteriormente se agregó el polímero chitosán (Se colocó en el interior del vaso pp un agitador magnético de 1 cm, esta fue colocada en el agitador multipuntos manteniéndose en agitación por 24 h). Una vez pasadas las 24 h se agregó el fármaco (duloxetina) con agitación constante durante 30 min. (Solución A). En un tubo de ensaye por separado se preparó una solución de Tpp con la concentración

correspondiente arrojada en el análisis experimental (Solución B). Una vez que pasó el tiempo de agitación de las dos soluciones, se agregó 2 ml de Tpp (solución B) con ayuda de una jeringa por goteo con flujo constante a la solución A en agitación (Solución C). Para recuperar las nanopartículas, la suspensión final fue centrifugada durante 1 h a temperatura ambiente. El sobrenadante fue separado del precipitado, posteriormente las nanopartículas de quitosán fueron resuspendidas en agua para determinar el tamaño promedio y potencial Z de estas. El Sobrenadante fue analizado en el espectrofotómetro UV/VIS para determinar el porcentaje de encapsulación del fármaco (mediante diferencia de pesos como se muestra más adelante).<sup>25</sup>

### **7.4.3 Optimización de las nanopartículas de quitosán**

Una vez que se desarrollaron todos los experimentos, los resultados fueron analizados por superficie de respuesta en el software Statgraphics Centurion XVI para obtener las condiciones de optimización, es decir, los niveles de los factores donde se encuentran los objetivos de optimización. Los objetivos de optimización fueron nanopartículas de menor tamaño promedio ( $Y_1$ ) y la mayor eficiencia de encapsulación ( $Y_2$ ).

## **7.5 Determinación del tamaño promedio de partícula**

Para medir el tamaño de las partículas fue necesario centrifugar la preparación, para que las nanopartículas precipitaran, separando lo que no fue encapsulado. El botón de centrifugación se resuspendió en 1 ml de agua destilada y fue colocado dentro de una celda y leído en el Zetaziser®. Se realizaron lecturas por triplicado, a un ángulo de 90°, utilizando agua destilada como agente dispersante.

## **7.6 Determinación del potencial Z**

Para medir el potencial Z de las partículas se utilizó un equipo Zetaziser®, colocando la suspensión de nanopartículas en una celda de potencial Z. Las mediciones se realizaron por triplicado.

## 7.7 Determinación de la Eficiencia de Encapsulación de duloxetina en los nanoacarreadores

Para la determinación del porcentaje del fármaco encapsulado se tomó el sobrenadante de cada uno de los experimentos, el cual fue medido en un equipo espectrofotómetro UV-VIS Cary 60. Para calcular la eficiencia de encapsulación (%EE), se determinó la masa de fármaco libre, la cual se referenció a la cantidad inicial, empleando la siguiente fórmula:

$$\%EE = \frac{\text{mg iniciales} - \text{mg sobrenadante}}{\text{mg Iniciales}} \times 100$$

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 Pruebas de solubilidad

La tabla 3 muestra los resultados de solubilidad aparente para duloxetina. Con base en los resultados se seleccionó el metanol para disolver duloxetina en el método de cuantificación. Tomando como base la solubilidad del fármaco en acc 1% y buffer 6.5, se calcularon los volúmenes a emplear en los métodos de manufactura propuestos.

**Tabla 3. Solubilidad aparente de duloxetina**

Disolventes	Solubilidad
Metanol	42.2 mg/ml
Etanol	41.6 mg/ml
Alcohol Butilico	5.15 mg/ml
Dimetil Sulfóxido	20.6 mg/ml
Diclorometano	20.2 mg/ml
Buffer 6.5	0.55 mg/ml
Acc 0.1%	10.3 mg/ml

## 8.2 Validación del método analítico

Para confirmar la identidad del fármaco se realizó un barrido para seleccionar la longitud de onda de máxima absorción en el espectro UV (200-400 nm), el cual se muestra en la **figura 12**. Asimismo, se comparó este espectro con lo reportado en la literatura (ver **figura 13**), verificando la identidad del fármaco (Duloxetina). La longitud de onda de máxima absorción encontrada fue de 290 nm.

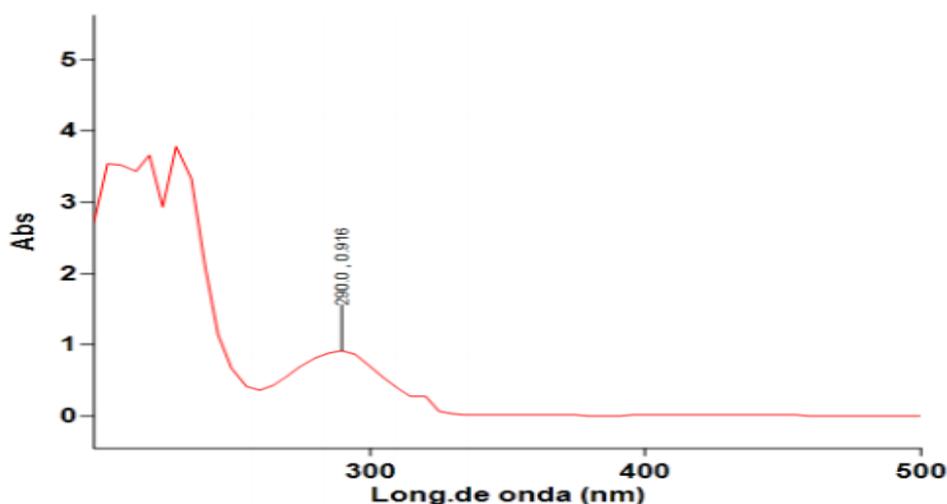


Figura 12. Espectro UV de duloxetina / longitud de onda de máxima de absorción ( $\lambda$ )

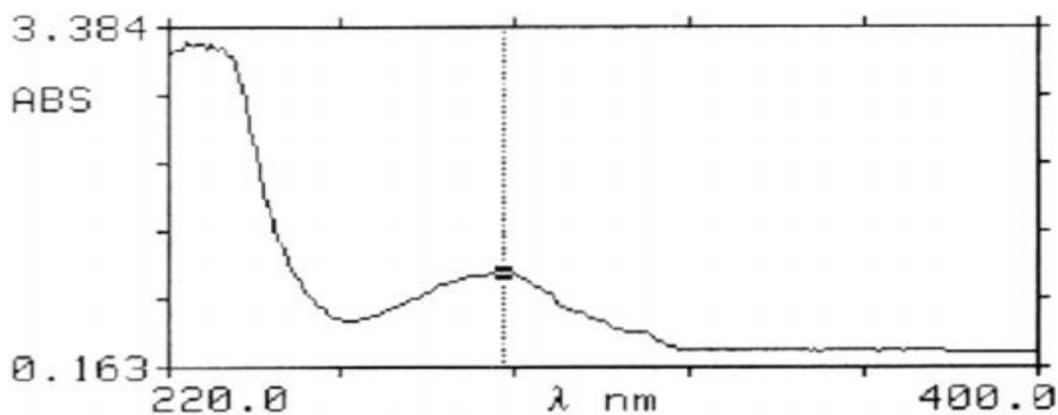


Figura 13. Barrido UV Duloxetina (D. Anderson 2006)

Los parámetros evaluados en la validación con resultados se muestran en la tabla 4. Se puede apreciar que se cumplen las especificaciones, por lo que se puede indicar que el método por espectrofotometría UV-Vis para duloxetina es confiable para cuantificar el fármaco.

**Tabla 4. Resultados de la validación analítica**

Parámetro	Resultado	Especificación
Linealidad	$r^2$ : 0.9983	0.98 - 1.00
Precisión	CV: 0.00033796%	≤2%
Exactitud	CV: 1.63049883%	≤2%

### **8.3 Obtención de las nanopartículas y nanoplexos cargados con duloxetina**

Con ayuda del software Statgraphics Centurion XVI se obtuvieron matrices de diseño para la elaboración de los nanoplexos de alginato y las nanopartículas de quitosán. Los factores y niveles descritos en la metodología fueron utilizados en la elaboración de diseños  $2^k$ . Las tablas 5 y 6 muestran la matriz de diseño y los resultados obtenidos para cada tipo de nanopartícula.

**Tabla 5. Matriz de Diseño 2<sup>3</sup> con punto central para la obtención de nanopartículas de chitosán, y resultados obtenidos**

No. Experimento	X <sub>1</sub> : Concentración de Chitosan %	X <sub>2</sub> : Concentración de Tpp %	X <sub>3</sub> : Concentración de Duloxetina	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de Encapsulación (%)	Y <sub>1</sub> : Diámetro Promedio (nm)
1	1	0.075	0.5	87.64	506.9
2	1	0.075	0.5	42.28	413.1
3	1.5	0.1	0.25	34.54	119.63
4	0.5	0.05	0.75	14.88	158.6
5	1.5	0.05	0.75	1.60	374.1
6	0.5	0.1	0.75	12.76	264.4
7	1.5	0.05	0.25	8.40	176.1
8	1.5	0.1	0.75	17.54	267.2
9	0.5	0.05	0.25	35.71	166
10	0.5	0.1	0.25	41.79	112.7

De acuerdo a la matriz de diseño de la tabla 5 se prepararon las nanoparticulas de chitosan con las diferentes combinaciones proporcionadas por el programa, con el fin de encontrar la combinación más óptima para los factores: diámetro y la eficiencia de encapsulación.

En la tabla 5 se muestra resultados dispersos, ya que se utilizaron diferentes porcentajes de chitosan, duloxetina y Tpp.

El programa de Statgraphics arrojo gráficos que describen el comportamiento de las variables en la fabricación de nanoparticulas. Una de estas graficas obtenidas es el diagrama de Pareto (**Figura 14**), el cual determina los factores más influyentes al generar las nanoparticulas de chitosan.

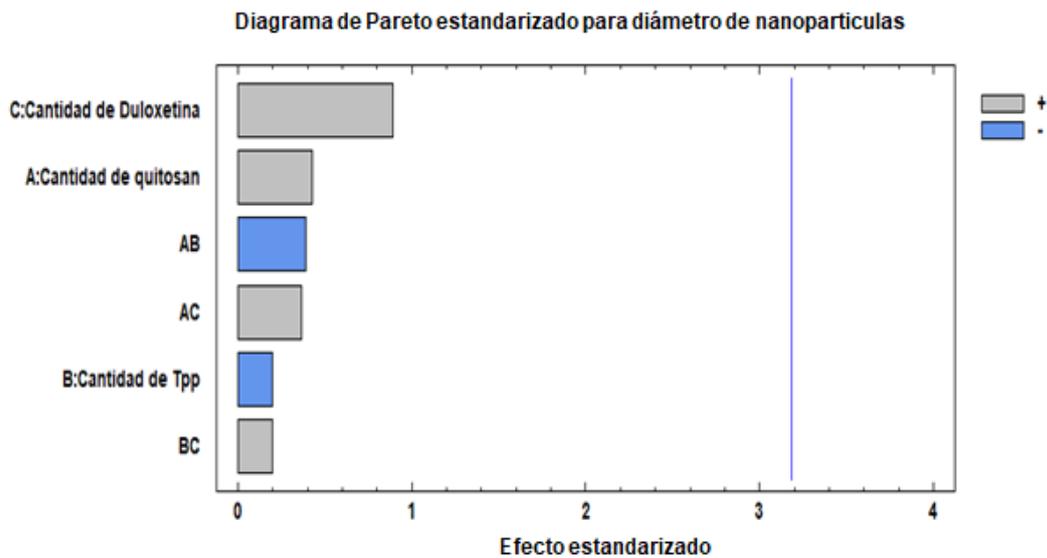


Figura 14: Diagrama de Pareto de nanoparticulas de chitosan.

En el diagrama de Pareto se observa que ninguna de las variables tiene efecto significativo sobre la variable de respuesta, sin embargo la cantidad de duloxetina es la variable que más efecto significativo tiene sobre el diámetro de las nanoparticulas en comparación con las otras variables. En la **Figura 15** se puede apreciar la superficie de respuesta estimada del efecto de las variables de diseño.

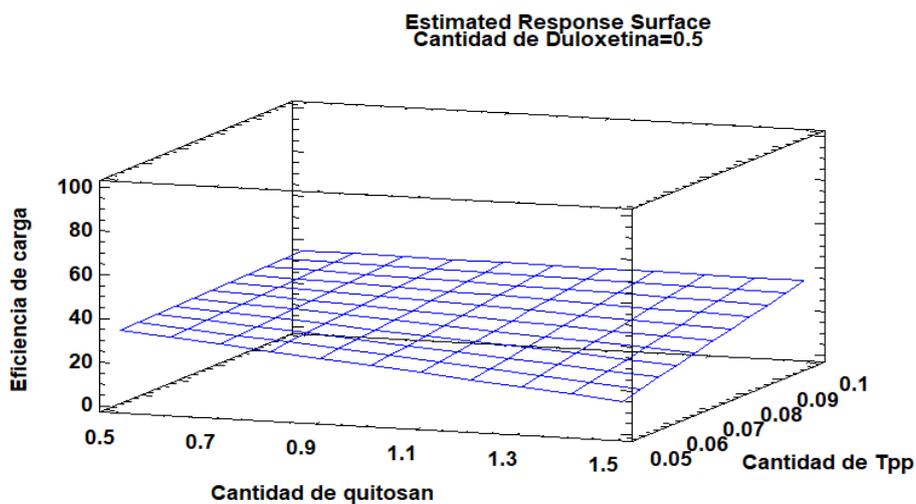


Figura 15: Superficie de respuesta de nanopartículas de quitosan

Las variables que se tomaron para este diseño son el % de la cantidad de quitosan y el % de la cantidad de TPP para optimizar la eficiencia de carga. En la **figura 15** se puede observar que al manejar cantidades altas de TPP la eficiencia de carga aumenta, mientras que si se manejan valores intermedios de quitosan la eficiencia de carga también se ve favorecida. Siguiendo estas condiciones descritas en el diagrama de superficie de respuesta, el porcentaje más alto de eficiencia de encapsulación en el diseño experimental fue de 87%.

**Tabla 6. Matriz de Diseño 2<sup>2</sup> con punto central y una réplica para la obtención de nanoplexos de alginato, y resultados obtenidos**

No. Experimento	X <sub>1</sub> : Proporción P-F	X <sub>2</sub> : Estabilizante %	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de encapsulación (%)	Y <sub>1</sub> : Diámetro Promedio (nm)
1	1	0.2	49.10	768.2
2	1	0.5	46.62	495.6
3	0.75	0.35	57.60	3.248
4	0.5	0.5	35.12	460.9
5	0.5	0.2	56.97	112.7
6	0.75	0.35	70.57	463.1
7	1	0.2	40.35	188.2
8	1	0.5	69.52	495.3
9	0.75	0.35	60.53	276.1
10	0.5	0.5	55.59	111.3
11	0.5	0.2	2.11	1103
12	0.75	0.35	71.90	195.7

De acuerdo a la matriz de diseño de la tabla 6 se prepararon los nanoplexos de Alginato con las diferentes combinaciones proporcionadas por el programa, con el fin de encontrar la combinación más óptima para los factores: diámetro y la eficiencia de encapsulación.

En la tabla 6 se muestra resultados dispersos, ya que se utilizaron diferentes porcentajes de radio P-F y estabilizante.

El programa de Statgraphics arrojó gráficos que describen el comportamiento de las variables en la fabricación de nanoplexos. Una de estas graficas obtenidas es el diagrama de Pareto (**Figura 16**), el cual determina los factores más influyentes al generar los nanoplexos de Alginato.

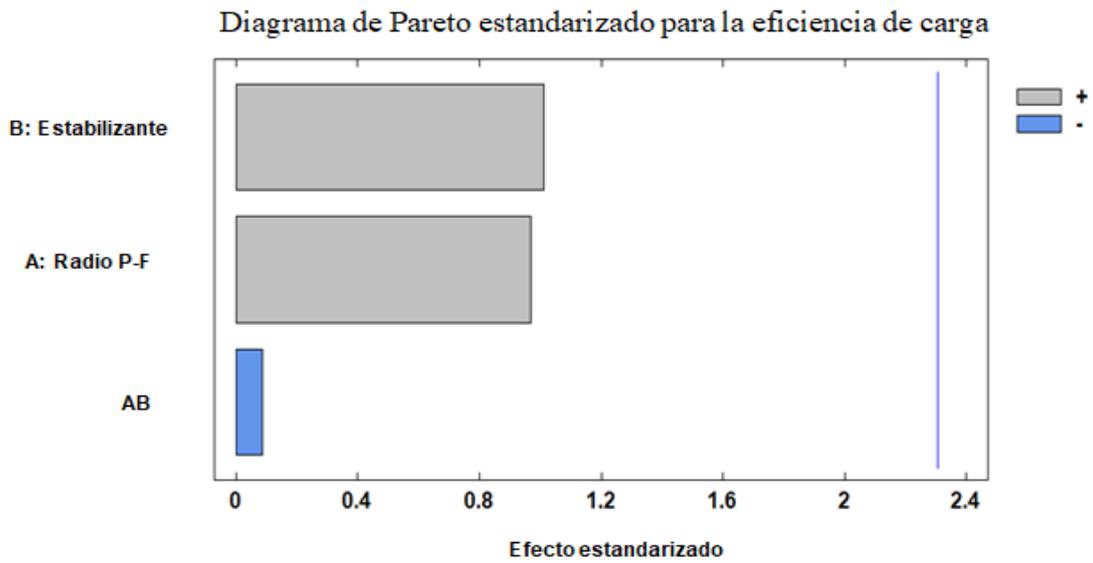


Figura 16: Diagrama de Pareto Nanoplexos de Alginato.

En el diagrama de Pareto se observó que para ambas variables (estabilizante y radio P-F) por separado ejercen efecto positivo en la eficiencia de carga (Variable de respuesta).

En la **Figura 17** se puede apreciar la superficie de respuesta estimada del efecto de las variables de diseño.

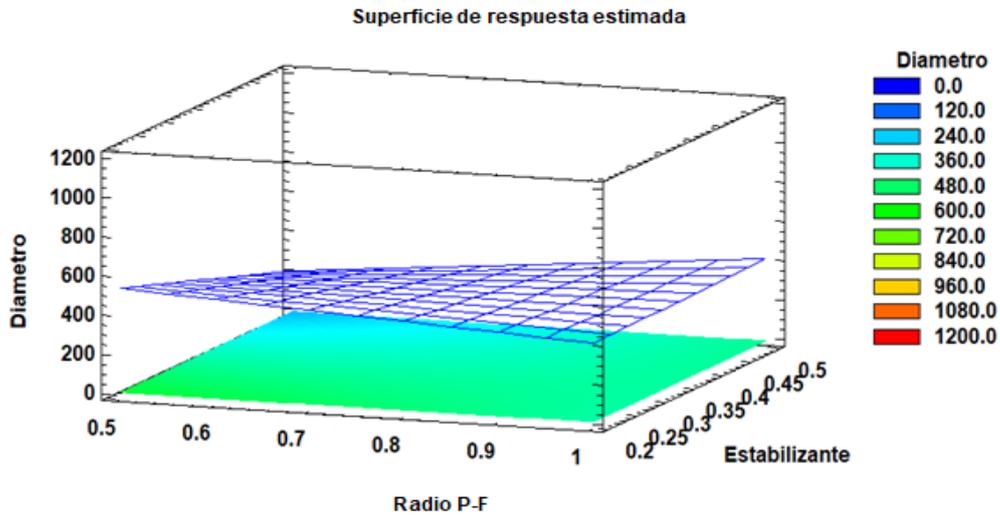


Figura 17: Superficie de respuesta de nanoplexos de alginato

Las variables que se tomaron para este diseño son el radio P-F y el % de estabilizante para optimizar el diámetro de los nanoplexos Alginato.

En la **figura 17** se puede observar que al manejar cantidades bajas de estabilizante el diámetro de los nanoplexos disminuye, mientras que si se manejan valores altos de radio P-F también el diámetro de los nanoplexos se ve disminuido. Siguiendo estas condiciones descritas en el diagrama de superficie de respuesta, el diámetro más pequeño en el diseño experimental fue de 3.248 nm.

### 8.3.1 Optimización de los nanoacarreadores

Considerando como objetivos de optimización el tamaño promedio más pequeño y la mayor eficiencia de encapsulación, con la ayuda de las herramientas de optimización del software Statgraphics Centurion XVI y con base en la ecuación de superficie de respuesta se estimaron los niveles de los factores que permitan obtener los objetivos de optimización. Las tablas 7 y 8 muestran los niveles estimados, así como los resultados de la verificación de las condiciones mediante el desarrollo de cinco réplicas para cada caso. Se prepararon 5 lotes de cada sistema siguiendo las condiciones óptimas, los resultados individuales se promediaron dando un aproximado similar con los resultados estimados por la superficie de respuesta.

**Tabla 7. Optimización y verificación de los nanoplexos de alginato**

Factor	Niveles Optimizados Estimados	Variable de Respuesta estimada (esperada)	Resultado de la verificación con 5 lotes experimentales
X <sub>1</sub> : Radio P-F	0.58%	Y <sub>1</sub> : Tamaño promedio: 242.9 nm	Y <sub>1</sub> : Tamaño promedio: 236.9 ± 51.3 nm
X <sub>2</sub> : Estabilizante (%)	0.5%	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de encapsulación: 54.3%	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de encapsulación: 37.5 ± 4.9%

**Tabla 8. Optimización y verificación de las nanopartículas de quitosán**

Factor	Niveles Optimizados Estimados	Variable de Respuesta estimada (esperada)	Resultado de la verificación con 5 lotes experimentales
X <sub>1</sub> : Cantidad de Chitosan (%)	0.5%	Y <sub>1</sub> : Tamaño promedio: 189.9 nm	Y <sub>1</sub> : Tamaño promedio: 195.3 ± 29.3 nm
X <sub>2</sub> : Cantidad de Tpp (%)	0.1%	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de encapsulación: 50.8%	Y <sub>2</sub> : Eficiencia de encapsulación: 37.9 ± 9.6%
X <sub>3</sub> : Cantidad de Duloxetina (%)	0.25%	0.5 %	Se reporta la media ± DE

El programa arrojó las condiciones óptimas que darán los nanoacarreadores con diámetro más pequeño y mayor encapsulación. Experimentalmente los nanoacarreadores resultaron ser aproximadamente similares. Los factores

como el estabilizante y la cantidad de fármaco influyen en el factor de respuesta.

## 9. CONCLUSIONES

Se logró obtener nanopartículas de quitosán y nanoplexos de alginato optimizados mediante el método de gelación iónica y nanoprecipitación respectivamente, con tamaños promedio alrededor de 195.3 nm y 236.9 nm y una eficiencia de encapsulación de duloxetina de 37.9% y 37.5%, las cuales presentan características tecnológicas para poder ser empleadas en el desarrollo de una formulación de administración nasal.

- Las pruebas de solubilidad mostraron que el fármaco utilizado (duloxetina) no presenta problemas de la disolución en los disolventes utilizados en la metodología de ambos nanosistemas.
- Fue posible el desarrollo y validación de un método analítico para cuantificar duloxetina durante estudios de encapsulación.
- Con ayuda del programa Statgraphics Centurion XVI se logró tener las diferentes condiciones experimentales para la manufacturas de las nanoparticulas de quitosan y nanoplexos de alginato.
- Se logró caracterizar a los nanosistemas de acuerdo a su tamaño promedio, potencial Z y eficiencia de encapsulación óptimos por medio de equipos indicados. Con la preparación de 5 lotes de cada sistema siguiendo las condiciones óptimas, se logró obtener resultados aproximadamente similares, para verificación de la reproducibilidad de la manufactura de las nanoparticulas.

## 10. BIBLIOGRAFÍA

- 1.P.E. Favela, G.J. García, A.G. Manilla, R.M. Rivera, P.J. Sánchez. (2008). Guía de práctica clínica diagnóstica y tratamiento de depresión en el Adulto Mayor en el Primer Nivel de Atención, Secretaria de Salud, México.
- 2.DrukBank. DrukBank Online. go.drugbank.com. Duloxetine: Uses, Interactions, Mechanism of Action. <https://go.drugbank.com/drugs/DB00476>.
- 3.Christian Oswaldo A, Raquel García F. (2017). Ansiedad y depresión en adultos mayores. *Psicología y Salud*, 17 (2), 291-300.
- 4.Saavedra González A, Rangel Torres S, García de León A, Duarte Ortuño A, Bello Hernández Y, Infante Sandoval A. (2016). Depresión y funcionalidad familiar en adultos mayores de una unidad de medicina familiar de Guayalejo, Tamaulipas, México. *ScienceDirect*, 23 (1), 24-28.
- 5.Maliheh Ghadiri, Paul Young M. Daniela Traini. (2019). Physical activity and biological maturation: a systematic review. *SciELO*, 33 (1), 114–121.
6. Muscatello M, R Rocco A & Gianluca P. (2019). Duloxetine in Psychiatric Disorders: Expansions Beyond Major Depression and Generalized Anxiety Disorder. *Front Psychiatry*. 10 (702).
- 7.Toshi Luna R, Eileen Vilchez H. (2017). Depresión: situación actual. *Rev. Fac. Med.* 17(2): 78-85.
- 8.Sanz Jesús. Ideas equivocadas sobre la depresión y su tratamiento (II) *Papeles del Psicólogo*. Consejo General de Colegios Oficiales de Psicólogos, España 38 (3).
- 9.Rodrigo Pérez E. (2017). Tratamiento farmacológico de la depresión: actualidades y futuras direcciones. Ciudad de México sep *Rev. Fac. Med. (Méx.)* 60 (5).
- 10.Herrera A, Barros M, Acevedo T & Morantes M. (2016). Preparación De Nanopartículas De Quitosano Modificadas Con Alginato De Sodio Con Potencial Para La Liberación Controlada De Medicamentos. 3 (12), pag 75-83.

11. Ruike Z, Junhua C, Wenxing P. (2010) *In vitro* and *in vivo* evaluation of the effects of duloxetine on P-gp function. *Hum Psychopharmacol.* .25 (7-8): 553-9.
12. Anttila S, Leinonen E.(2002). Duloxetine Eli Lilly. *Curr Opin Investig Drugs.* Aug;3(8): 1217-21.
13. Maria del Pilar G.(2016). Nanopartículas poliméricas de administración intranasal para la liberación de activos en el sistema nervioso central. *Ars Pharm.* 57(1): 27-35.
14. Wean Sin C, Kunn Hadinoto. (2012). Self-assembled amorphous drug–polyelectrolyte nanoparticle complex with enhanced dissolution rate and saturation solubility. *Elsevier.* 367 (1): 518-526.
15. Gecioni Loch N, Janice Koepp. (2010). La barrera hematoencefálica y la administración de fármacos en el sistema nervioso central. *Rev Neurol.*51(3): 165-74.
16. Jesus M. (2020). La nanotecnología como herramienta para el transporte de fármacos al cerebro. Facultad de farmacia. Universidad de Sevilla, España.
17. Maria del Pilar García. (2016). Nanopartículas poliméricas de administración intranasal para la liberación de activos en el sistema nervioso central. Granada. *Ars Pharm.* 57 (1).
18. Pardeshi C, Belgamwar V. (2013). Entrega directa de fármacos de la nariz al cerebro a través de vías nerviosas integradas que evitan la barrera hematoencefálica: una excelente plataforma para la focalización cerebral. *Expert Opin Drug Deliv.* 10 (7): 957-972.
19. Ghorri M.U.(2015). Sistemas de administración nasal de fármacos: An Overview. *Am J Pharmacol Sci,* 3 (5): 110-119.
20. Behl C.(1998). Efectos de las propiedades fisicoquímicas y otros factores sobre la droga sistémica nasal. *Adv. Drug Del. Rev.* 1998;29

21. Yareli Rojas, Israel González. (2016). La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: la revolución de la terapia contra el cáncer. *Educación Química*. 27 (4): 286-29.
22. Alcalá-Alcalá S, Quintanar-Guerrero D. La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. *mundonano.unam*. 2014, 7 (12): 32-48.
23. Herrera A. Barros M. Acevedo T & Morantes M. (2016). Preparación De Nanopartículas De Quitosano Modificadas Con Alginato De Sodio Con Potencial Para La Liberación Controlada De Medicamentos. *EIA*, 3 (12), 75-83.
24. Guillermo García G. (2019). Polímeros mucoadhesivos y sus aplicaciones en las formas de dosificación para la cavidad oral. Facultad de Farmacia. Universidad de Sevilla.
25. Francisco J. Caro-León. (2019). Métodos de preparación de nanopartículas de quitosano: una revisión. *Biotecnia*. 21 (3): 13-25
26. Erico R, Tania P, Gonzalo R, Jorge P. (2018). Generación de un protocolo para la síntesis de nanopartículas de quitosano cargadas con florfenicol a través del método de gelación iónica. *Rev Inv Vet Perú*. 29(4): 1195-1202.
27. Younes I, & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3). 1133-1174.
28. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, FEUM. 12 ed.
29. Biblioteca Nacional de Medicina de EE. UU. Centro Nacional De Información Biotecnológica. Pub Chem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=Nasal0drugs>.
30. Almutairi F, Erten T, Adams G, Hayes M, McLoughlin P, Kak M, Mackie A, Rowe R, Harding S. (2015) Hydrodynamic characterisation of chitosan and its interaction with two polyanions: DNA and xanthan. *Carbohydrate polymers*. 8 (122): 359-366.
31. Carrasco E. (2017). Modelos psicoterapéuticos para la depresión: hacia un enfoque integrado. *Interamerican Journal of Psychology*. 51 (2): 181-189

## 11. ANEXOS

### Anexo 1

Datos de la curva de calibración

Conc. ug/mL	Abs		
10	0.2078		
10	0.2115		
10	0.2062		
20	0.4197		
20	0.4149		
20	0.4184		
30	0.6270		
30	0.6347		
30	0.6233		
40	0.8041		
40	0.8225		
40	0.8165		
50	1.0547		
50	1.0038		
50	1.0313		
		Promedio	0.020727122
		Ds	0.000337955
		Cv	1.630498834

### Anexo 2

## 12. Características promedio de nanoplexos de alginato (experimentales)

Lote	Tamaño promedio	Eficiencia de Encapsulación	Potencial Z
1	190.4	37.97	-6.41
2	144	43	-1.99
3	190.2	31.81	-1.72
4	224.4	41.66	-4.25
5	435.6	33.14	-3.51
<b>Media</b>	236.92	37.516	-3.576
<b>DE:</b>	51.2891256	4.97897881	1.90067883

## 12.1. Características promedio de nanopartículas de quitosán (experimentales)

Lote	Diámetro Promedio	Eficiencia de Encapsulación	Potencial Z
1	169.1	30.22	-0.0251
2	215.3	50.46	-0.498
3	204.2	46.22	-0.00292
4	160.3	31.6	-1.06
5	227.6	31.15	-0.569
<b>Media</b>	195.3	37.93	-0.431004
DE:	29.2999147	9.63335871	0.43794443