



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS

FACULTAD DE FARMACIA



“ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS
ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRA EN FARMACIA

PRESENTA:

L. F. CINTHYA AGUILAR ARANA

DIRECTOR DE TESIS

DR. SERGIO ALCALÁ ALCALÁ

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO 2020



FACULTAD DE FARMACIA

Consejo Interno de Posgrado

MAESTRÍA EN FARMACIA

Cuernavaca, Morelos a 11 de diciembre de 2019

Folio: FF/D/SAc/ CIP /MF/081/2019

L.F. CINTHYA AGUILAR ARANA
ESTUDIANTE DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA
P R E S E N T E

Por este medio le informo que, con base en la propuesta hecha en su solicitud, el Consejo Interno de Posgrado le asigno el siguiente jurado para evaluar la tesis "ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA"

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

PRESIDENTE: Dr. Efrén Hernández Baltazar

SECRETARIO: Dr. Jesús Rivera Islas

V.1. cDr. Sergio Alberto Bernal Chávez

V.2. Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

V.3. Dra. Viridiana Llera Rojas

Se le solicita entregar las tesis al jurado designado y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

Esperando que esta resolución sea en beneficio de su desempeño académico, y sin otro particular por el momento reciba un cordial saludo.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

Dr. Julio César Rivera Leyva.

Jefatura de Posgrado



ccp: archivo, jurado
mitv

**UA
EM**

Una universidad de excelencia

RECTORÍA
2017-2023

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Cinthya Aguilar Arana

Título de la tesis: “ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Efrén Hernández Baltazar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Efrén Hernández Baltazar

21 de mayo de 2020
Fecha



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

EFREN HERNANDEZ BALTAZAR | Fecha:2020-05-21 15:12:29 | Firmante

EKekKaMmJSIVgytm1kFtax8DzuXYIoQmo0kQqjBU9am2qErW0vsqKqiY8ndugbzYhbGDsnoYq+YluhCLSVFriux5Cv6/rpUn76L2y7LdonHfJfOifM2ZfqoKr9ce5teSCWO8K66XaTkZniZFjrOdN2uTHMyhKRVfo/Sb3xXo9J99c2Cx+3iU8w8HzjSa+WDbFABUoujqAPC+i5EoM026ZW/6OZaPmc/Hb8v2LWysXsDa9UQvfh2K/wqB3wCHNe+4W4dH7iwGhVB1QtoXmqfLVKSzOKZ8cgYSiApPOf/Um9CragGTpissX4eavbrdHF5ZAShqSO4xqbVgSF9I4aZw==

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



[p\(gVnzH1eoC](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/3nFx0VoAMvuLq25SGuDzvwRUqVMqqrXh>



VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Cinthya Aguilar Arana

Título de la tesis: “ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Jesús Rivera Islas

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____



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

JESUS RIVERA ISLAS | Fecha:2020-05-21 11:16:07 | Firmante

yt/Fvb5vTIJ7PNuWgRwvQGCO8Mjo5bsdtT7hsCQvuH6kEko2M7wa4uVGxD31mVZzCm+daJ2sHGWBbwh7QolRn5YAjhl6Fzlo6+jDfyBMI16qycDm+UBAvq5NaXxCnKtdnHgG3/a+fR0p1cDAfnQRMkCRnXG4CII5U9QrW6jk1Mn0zlx+Nb33INJT8v08DkHvLg2TkxpnQAD7olazwB6oqzt/YybK7i/RctTwZDFLjCJf2wPNftz9y/SSBsNhm6ruyAEypMb55noGjFzn+yXLupCdTft3DhDL4i4JWc8EwTs7K24e3gb6pYqy6WXNeZtUcAwlcYbQRhmc8TDG0Ltyg==

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



[ReT70fN8HZ&](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/gGYjBJCN74aOH79DAXcRSis6RBzZF3Gi>



**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Cinthya Aguilar Arana

Título de la tesis: "ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA"

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: cDr. Sergio Alberto Bernal Chávez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Sergio Alberto Bernal
cDr. Sergio Alberto Bernal Chávez

24/mayo/2020
Fecha

**VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Cinthya Aguilar Arana

Título de la tesis: “ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____

Dr. Jorge Armando Moreno Escobar

29-MAY0-2020

Fecha



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

JORGE ARMANDO MORENO ESCOBAR | Fecha:2020-05-29 23:47:58 | Firmante

XkISRNmMPCOo4MdOFGO+FjI83VsuSHIRbbAaVoN1QxdsFjgZK/+1XNWKcptSH8FtB2A7PPPjIw7bskLHd9OhWykeX1RJsFPomD9IELTzeSmeFyZnR7fgtEtt7d07it4BVFnaR5Hy6od7WyDBcydh6s9xKcmtLK59JhgQCGAJelflJtkPYb26Fo1QE4tQXYFis90TlhgTB+OsP6HA8OdgjTKeDIEt423ag6OGrCGIYMzAdB8wtCwciIjRym+U6hDySNVSen575B0C6DvZisIRtJaTciEPIf0QaVMZ7PLKw0Z4woC/8EKIQ6HfmRUtNoIW9X6Obgq5enzTV3qDv/yQ==

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



6Ubj2R

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/h7L7jEFZgv6dsKo7VChqFM8DNPjMLZe3>



VOTO APROBATORIO
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Cinthya Aguilar Arana

Título de la tesis: “ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA”

Grado a obtener:

- Maestría en Farmacia
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Viridiana Llera Rojas

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo): _____



Dra. Viridiana Llera Rojas

27 de Mayo de 2020

Fecha

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y a la Universidad Nacional Autónoma de México por brindarme los recursos y las áreas para el desarrollo de este proyecto.

Al Laboratorio de Investigación de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la UAEM y al Laboratorio de Investigación y Posgrados en Tecnología Farmacéutica de la FES Cuautitlán campus 1 por el apoyo para la obtención del trabajo.

A CONACyT por la beca otorgada durante el programa para la conclusión del grado y del proyecto. Número de registro CVU 890824.

Al Dr. Sergio Alcalá Alcalá por darme la oportunidad de trabajar con él, por su dirección y consejos.

A mi comité tutor conformado por la Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz y el Dr. Jesús Rivera Islas por la asesoría para enriquecer este proyecto.

A mis sinodales por las observaciones, sugerencias y el tiempo otorgado para la mejora de este trabajo.

A la Dra. Flora Adriana Ganem Rondero, al cDr. Sergio Alberto Bernal Chávez y a los alumnos del laboratorio L-323 de la FES Cuautitlán campus 1, por su apoyo durante la estancia de investigación para el desarrollo de la tesis.

A mis amigos Erika, Kevin, Areli, Omar, Gaby, Mitzi, Vale, Nancy, Pablo, Isabel, Jaz, Diana, William, Fer y Jesé por el apoyo, por las enseñanzas y por todos los momentos compartidos.

A mis tíos por sus consejos y palabras de aliento para que alcance mis metas.

A mis primas por su cariño, motivación y apoyo incondicional.

A mi hermana por su amor, por su guía y por impulsarme a lograr lo que me propongo.

A mi mamá por motivarme y alentarme a seguir adelante, por siempre escucharme y guiarme, y por todo el amor y apoyo, sin ti todo esto no sería posible.

A mi madre y hermana.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE FIGURAS	V
ÍNDICE DE TABLAS	VI
ÍNDICE DE ECUACIONES	VI
ÍNDICE DE ANEXOS	VII
ABREVIATURAS	VIII
RESUMEN.....	1
ABSTRACT	4
1. INTRODUCCIÓN.....	6
2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO	7
2.1. <i>Enfermedades cardiacas, un problema de salud mundial</i>	7
2.1.1. Hipertensión arterial (HTA).....	7
2.1.2. Tratamientos utilizados en la HTA.....	8
2.2. <i>Felodipino en el tratamiento de la hipertensión</i>	9
2.2.1. Propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas y farmacocinéticas	9
2.3. <i>La vía transdérmica y la administración de fármacos</i>	10
2.3.1. La piel y mecanismos de transporte	11
2.3.2. Ventajas y desventajas	13
2.3.3. Promotores de permeación	14
2.4. <i>La nanotecnología en la liberación y acarreo de fármacos</i>	16
2.4.1. Nanoacarreadores en la vía transdérmica	16
2.4.2. Transferosomas®.....	18



3. JUSTIFICACIÓN	20
4. HIPÓTESIS	21
5. OBJETIVOS	22
5.1 <i>Objetivo general</i>	22
5.2 <i>Objetivos particulares.....</i>	22
6. MATERIALES Y EQUIPOS.....	23
6.1 <i>Materiales.....</i>	23
6.2 <i>Equipos</i>	23
7. METODOLOGÍA	25
7.1. <i>Pruebas de solubilidad</i>	26
7.2. <i>Obtención de las nanovesículas ultraflexibles.....</i>	26
7.2.1. <i>Creación de un diseño experimental</i>	26
7.2.2. <i>Obtención de nanovesículas ultraflexibles, ejecución del diseño experimental</i>	28
7.3. <i>Medición de las variables de respuesta.....</i>	28
7.3.1. <i>Tamaño promedio de partícula e índice de polidispersión</i>	28
7.3.2. <i>Potencial zeta.....</i>	29
7.3.3. <i>Índice de flexibilidad</i>	29
7.4. <i>Optimización del proceso de obtención de las nanovesículas ultraflexibles</i>	30
7.5. <i>Encapsulación de felodipino en los Transferosomas®.....</i>	30
7.6. <i>Desarrollo y validación de métodos analíticos para cuantificar felodipino</i>	32
7.6.1. <i>Determinación de la longitud de onda de máxima absorción</i>	32
7.6.2. <i>Determinación de la eficiencia de encapsulación.....</i>	33



7.6.3.	Estudios de liberación <i>in vitro</i>	33
7.6.4.	Estudios de permeabilidad <i>ex vivo</i>	33
7.6.5.	Determinación de la retención de fármaco en piel	34
7.7.	<i>Caracterización física</i>	34
7.7.1.	Morfología	34
7.7.2.	Prueba de interacción de materiales	35
7.7.3.	Rendimiento (%RE).....	36
7.8.	<i>Estudios de liberación in vitro</i>	36
7.9.	<i>Estudios de permeabilidad de felodipino ex vivo</i>	37
7.10.	<i>Estudio de fármaco retenido en piel</i>	38
7.11.	<i>Estudios de estabilidad</i>	38
7.12.	<i>Análisis estadístico</i>	39
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	40
8.1.	<i>Prueba de solubilidad</i>	40
8.2.	<i>Obtención y optimización de las nanovesículas ultraflexibles</i>	40
8.3.	<i>Validación de métodos analíticos para la cuantificación de felodipino</i>	44
8.3.1.	Determinación de la longitud máxima de absorción	44
8.3.2.	Resultados de los parámetros de desempeño de los métodos desarrollados	45
8.4.	<i>Evaluación de la eficiencia de encapsulación</i>	46
8.5.	<i>Caracterización física del sistema considerado óptimo</i>	47
8.5.1.	Tamaño de partícula, PDI, potencial zeta e índice de flexibilidad	47
8.5.2.	Rendimiento	48
8.5.3.	Microscopia Electrónica de Transmisión	48
8.5.4.	Estudios con FTIR.....	49
8.5.5.	Estudios térmicos por DSC	51



8.6.	<i>Estudios de liberación in vitro de felodipino a partir de los Transferosomas®</i>	52
8.7.	<i>Validación de métodos analíticos para permeabilidad y retención en piel de oreja de cerdo</i>	54
8.7.1.	Permeación de fármaco en la piel.....	54
8.8.	<i>Pruebas de permeabilidad ex vivo de felodipino en tejido de cerdo</i>	54
8.9.	<i>Estudio de estabilidad aparente</i>	56
9.	CONCLUSIONES	59
10.	PERSPECTIVAS	60
11.	REFERENCIAS	61
ANEXOS		68



ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1. Mecanismo de acción de los bloqueadores de los canales de calcio.....</i>	<i>8</i>
<i>Figura 2. Estructura química de felodipino.....</i>	<i>9</i>
<i>Figura 3. Anatomía de la piel.....</i>	<i>12</i>
<i>Figura 4. Mecanismos de transporte en la vía transdérmica.....</i>	<i>13</i>
<i>Figura 5. Nanoacarreadores.....</i>	<i>17</i>
<i>Figura 6. Tipos de liposomas.....</i>	<i>18</i>
<i>Figura 7. Paso de Transferosomas® a través del estrato córneo en comparación con vesículas convencionales.....</i>	<i>19</i>
<i>Figura 8. Método de hidratación de película.....</i>	<i>31</i>
<i>Figura 9. a) interior de oreja de cerdo, b) Interior de la oreja de cerdo en contacto con S. A. de fosfatos pH 7.4.....</i>	<i>34</i>
<i>Figura 10. Diagrama de Pareto para tamaño de vesícula.....</i>	<i>42</i>
<i>Figura 11. Diagrama de Pareto para índice de flexibilidad.....</i>	<i>43</i>
<i>Figura 12. Espectro UV-Vis de felodipino en etanol-agua a una concentración de 25 µg/ml.....</i>	<i>45</i>
<i>Figura 13. Eficiencia de encapsulación de felodipino en Transferosomas® por métodos de incorporación probado.....</i>	<i>47</i>
<i>Figura 14. Resultados de la influencia de la incorporación de felodipino a los Transferosomas® en las variables iniciales.....</i>	<i>48</i>
<i>Figura 15. a) Transferosomas® sin fármaco, b) Transferosomas® con fármaco sin dializar.....</i>	<i>49</i>
<i>Figura 16. Espectros IR de los componentes, mezcla física y sistemas óptimos con y sin felodipino.....</i>	<i>50</i>
<i>Figura 17. Termogramas de los componentes, mezcla física y sistemas óptimos con y sin felodipino.....</i>	<i>52</i>
<i>Figura 18. Perfil de liberación de felodipino en polvo y en Transferosomas®.....</i>	<i>53</i>
<i>Figura 19. Perfiles de permeación de felodipino en piel de cerdo.....</i>	<i>55</i>
<i>Figura 20. Cantidad de felodipino retenido en piel por cm².....</i>	<i>56</i>



<i>Figura 21. Estabilidad de Transferosomas® a partir del tamaño promedio monitoreada durante un mes.</i>	57
<i>Figura 22. Estabilidad de Transferosomas® a partir del potencial zeta monitoreado durante un mes.</i>	57
<i>Figura 23. Estabilidad de Transferosomas® a partir de la eficiencia de encapsulación monitoreada durante un mes.</i>	58

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de felodipino.</i>	11
<i>Tabla 2. Principales promotores físicos de permeabilidad.</i>	14
<i>Tabla 3. Principales promotores químicos de permeabilidad.</i>	15
<i>Tabla 4. Matriz del diseño experimental 2⁴ con punto al centro.</i>	27
<i>Tabla 5. Solubilidad de componentes de los tranferosomas® en diferentes disolventes.</i>	40
<i>Tabla 6. Diseño experimental con variables de respuesta.</i>	41
<i>Tabla 7. Reproducción de condiciones óptimas de experimentación.</i>	44
<i>Tabla 8. Parámetros evaluados en la validación de los métodos analíticos.</i>	46
<i>Tabla 9. Coeficiente de determinación de modelaje matemático.</i>	53

ÍNDICE DE ECUACIONES

<i>Ecuación 1. Índice de flexibilidad (IF).</i>	29
<i>Ecuación 2. Porcentaje de eficiencia de encapsulación.</i>	32
<i>Ecuación 3. Porcentaje de rendimiento de la suspensión.</i>	36



<i>Ecuación 4. Flujo en estado estacionario (Jss).....</i>	<i>37</i>
<i>Ecuación 5. Coeficiente de permeabilidad (Kp).....</i>	<i>38</i>

ÍNDICE DE ANEXOS

<i>Anexo 1. Superficie de respuesta para optimización de sistema.....</i>	<i>68</i>
<i>Anexo 2. Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos para eficiencia de encapsulación.....</i>	<i>69</i>
<i>Anexo 3. Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos para la permeabilidad de felodipino.....</i>	<i>72</i>
<i>Anexo 4. Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos para la retención de felodipino en piel.....</i>	<i>75</i>
<i>Anexo 5. Desempeño de la liberación del felodipino en bolsas de diálisis en un medio etanol:agua (1:1).....</i>	<i>78</i>
<i>Anexo 6. Gráficos de modelado matemático.....</i>	<i>79</i>
<i>Anexo 7. Rendimiento de los Transferosomas® considerados como óptimos.....</i>	<i>80</i>
<i>Anexo 8. Constancias de participación en foros de investigación farmacéutica....</i>	<i>81</i>



ABREVIATURAS

Abs	Absorbancia
ATR	Attenuated Total Reflection (reflexión total atenuada)
Ca ²⁺	Calcio
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
DSC	Differential scanning calorimetry (calorimetría diferencial de barrido)
EE	Eficiencia de encapsulación
FT-IR	Fourier Transform infrared spectroscopy (espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier)
Hg	Mercurio
HTA	Hipertensión arterial
mV	Milivoltios
nm	Nanómetros
OMS	Organización Mundial de la Salud
PDI	Polydispersity Index (índice de polidispersión)
pH	Potencial hidrógeno
rpm	Revoluciones por minuto
r ²	Coeficiente de determinación ajustado
SA	Solución amortiguadora
SCB	Sistema de Clasificación Biofarmacéutico
t	Tiempo
TEM	Transmission Electron Microcopy (microscopía electrónica de transmisión)
Ts	Tensoactivo
UV	Ultravioleta
µg	Microgramo
µl	Microlitro



RESUMEN

El propósito de este trabajo fue obtener, optimizar y caracterizar nanovesículas ultraflexibles, también conocidas como Transferosomas[®], cargadas con un antihipertensivo de la familia de las dihidropiridinas llamado felodipino, para ser evaluados como sistemas de administración transdérmica. Lo anterior radica en la importancia de proponer nuevos y mejores tratamientos para enfermedades de interés, como la hipertensión arterial (HTA), donde los tratamientos convencionales han llevado a la ineficacia terapéutica debido a la alta frecuencia de administración, altas dosis y una serie de efectos no deseados para el paciente que los consume, lo que como resultado ha llevado a una disminución en el apego al tratamiento. Existen diferentes grupos de fármacos antihipertensivos, formulados en formas farmacéuticas orales, donde han destacado los bloqueadores de canales de Ca^{+2} , grupo donde se encuentra el felodipino. Este fármaco se ha caracterizado por tener una alta potencia y selectividad; sin embargo, su baja solubilidad, alto metabolismo de primer paso y efectos adversos, minimizan su eficacia cuando se administra por vía oral. Es por lo anterior y por sus propiedades fisicoquímicas que se han buscado alternativas para su administración y formulación. Aquí se propone la vía transdérmica y el uso de nanoacarreadores como estrategia debido a las ventajas que poseen, como su capacidad de llevar el fármaco a través de la piel para alcanzar un efecto sistémico terapéutico deseado. En particular los Transferosomas[®], un tipo de liposomas o nanovesículas ultraflexibles, capaces de atravesar las capas de la piel debido a su facilidad de deformación sin pérdida medible del fármaco y su capacidad de acarrear tanto fármacos lipofílicos como hidrofílicos.

Para el desarrollo del proyecto se seleccionaron materiales a partir de pruebas de solubilidad y la capacidad de los fosfolípidos de generar una película. Los Transferosomas[®] se obtuvieron mediante el método de hidratación de película, optimizando el proceso hasta la obtención de una talla promedio objetivo con un diseño experimental ²⁴ obtenido con el *software Statgraphics*. La eficiencia de



encapsulación del felodipino en las nanovesículas se determinó haciendo uso de 8 métodos distintos de incorporación, en donde se usaron diferentes proporciones de etanol y diferentes pHs para favorecer la entrada del fármaco al nanosistema. Una vez seleccionados los Transferosomas[®] considerados como óptimos, se llevó a cabo una caracterización física de estos por tamaño promedio, PDI, potencial zeta, flexibilidad, rendimiento, morfología, interacción de los materiales y estabilidad, empleando técnicas como la espectrofotometría UV, calorimetría diferencial de barrido, espectroscopía infrarroja, y microscopía electrónica de transmisión. Así mismo se evaluó su eficacia *in vitro* con estudios de liberación y pruebas de permeabilidad en piel de cerdo.

Como resultado se obtuvieron Transferosomas[®] sin fármaco con talla promedio de 200 nm y PDI <0.6, y, debido a su baja eficiencia de encapsulación (hasta 44.5%), las tallas no tuvieron una variación significativa al incorporar el fármaco. Por otra parte, el potencial zeta e índice de flexibilidad tuvieron variación entre lotes ya que para lograr la incorporación del fármaco se utilizaron diferentes proporciones de etanol. Se seleccionaron los Transferosomas[®] óptimos y se les realizó una caracterización física, en el caso del TEM, se pudo observar la presencia de Transferosomas[®] esféricos, mientras que en los IR se pudo observar la presencia del fármaco en los sistemas, variable que influye en la elasticidad de las membranas. Los termogramas demostraron el confinamiento molecular del fármaco en las nanovesículas. Por otro lado, de acuerdo al perfil de liberación se observó que la bolsa de diálisis no influye en la velocidad de liberación del fármaco, sin embargo, los Transferosomas[®] llevan a cabo la liberación paulatina del activo, mientras que la liberación del fármaco en polvo se retrasa debido a la baja solubilidad del felodipino. Así mismo, se determinó que la cantidad de felodipino permeado es mayor cuando se encuentra en el sistema debido a su tamaño y capacidad de deformación, es por ello, que el fármaco retenido en la piel de oreja de cerdo es casi nulo. Finalmente, la prueba de estabilidad del sistema se llevó a cabo por un mes, evaluando el cambio de tamaño promedio, el potencial zeta y la eficiencia de encapsulación cada semana.



Como conclusión, se lograron obtener Transferosomas[®] cargados con felodipino en cantidades terapéuticas y con capacidad para ser administrados por la vía transdérmica.



ABSTRACT

The purpose of this work was to obtain, optimize and characterize ultraflexible nanovesicles, also known as Transferosomes[®], loaded with an antihypertensive of the dihydropyridine family called felodipine, to be evaluated as transdermal administration systems. This is based on the importance of proposing novel and better treatments for diseases of interest, such as arterial hypertension, where conventional treatments have led to ineffective therapy due to the high frequency of administration, high doses and a series of unwanted effects for the patient who consumes them, which has resulted into a decrease of adherence to treatment.

There are different groups of antihypertensive drugs formulated in oral pharmaceutical forms, which have highlighted the Ca⁺² channel blockers, a group where felodipine is found. This drug has been characterized by high potency and selectivity, however, its low solubility, high first-pass metabolism and side effects, minimize its effectiveness when administered orally. It is for the above and for its physicochemical properties that alternatives have been sought for its administration and formulation. Here we propose the transdermal route and the use of nanocarriers as a strategy due to the advantages they have, such as their ability to carry the drug through the skin to achieve a desired therapeutic systemic effect. In particular Transferosomes[®], a type of liposomes or ultraflexible nanovesicles, which are capable of crossing skin layers due to their ease of deformation without measurable loss of the drug and their ability to carry both lipophilic and hydrophilic drugs.

For the development of the project, materials were selected from drug solubility test and the ability of phospholipids to generate a film. The Transferosomes[®] were obtained using the film hydration method, optimizing the process until obtaining an average size target by using an experimental design 2⁴ with *Statgraphics software*. The encapsulation efficiency of felodipine in nanovesicles was determined by using 8 different methods of incorporation, where different proportions on ethanol and different pHs were used to favor the entry of the drug into the nanosystem. Once obtained, the Transferosomes[®] considered as optimal were selected, and a physical



characterization of these was carried out by average size, PDI, zeta potential, flexibility, performance, morphology, interaction of materials and stability, using techniques such as UV spectrophotometry, transmission electron microscopy, infrared spectroscopy, and differential scanning calorimetry. Likewise, its efficacy was evaluated *in vitro* with release studies and permeability tests in pigskin.

As a result, Transfersomes[®] without a drug with an average size of 200 nm and PDI <0.6 were obtained, and, due to their low encapsulation efficiency (up to 44.5%), the sizes did not have a significant variation when incorporating the drug. On the other hand, the zeta potential and flexibility index varied between batches since different ethanol ratios were used to achieve drug incorporation. The optimal Transfersomes were selected and physical characterization was performed, in the case of TEM, the presence of spheroid Transfersomes[®] could be observed, while in the IR the presence of the drug in the systems could be observed, a variable that influences the membrane elasticity. The DSCs demonstrated the molecular confinement of the drug in the nanovesicles. On the other hand, according to the release profile it was observed that the dialysis bag does not influence the speed of drug release, however, the Transfersomes[®] carry out the gradual release of the active, while the release of the powdered drug is delayed due to the low solubility of felodipine. Likewise, it was determined that the amount of permeated felodipine is greater when it is in the system due to its size and deformability, that is why the drug retained in the pigskin is almost null. Finally, the stability test of the system was carried out for one month, evaluating the change in average size, zeta potential and encapsulation efficiency week by week.

In conclusion, it was possible to obtain Transfersomes[®] loaded with felodipine in therapeutic amounts and with the capacity to be administered transdermally.



1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiacas, son padecimientos que principalmente se presentan por un estilo de vida no saludable, desde mala alimentación, consumo de tabaco y alcohol, falta de actividad física y por factores genéticos. La hipertensión arterial, también conocida como tensión arterial alta es una enfermedad cardiovascular que afecta al 26% de la población a nivel mundial. Como tratamiento, los fármacos bloqueadores de canales de Ca^{+2} son importantes tanto en monoterapia como en combinación ya que se ha demostrado su eficacia y tolerancia en diferentes tipos de pacientes. Ejemplo de estos es el felodipino, una dihidropiridina antagonista de calcio utilizada como potente antihipertensivo, sin embargo, por su baja solubilidad de 0.00715 mg/ml en soluciones acuosas, su baja biodisponibilidad oral (15%) y el reflujo como su principal efecto adverso es que se ha cuestionado su administración oral a largo plazo. La liberación de fármacos a través de la piel ofrece ventajas sobre las vías convencionales ya que evita el metabolismo de primer paso, minimiza los efectos adversos y mejora la respuesta farmacológica. Por otro lado, los Transferosomas[®] son nanoacarreadores, que por su composición de fosfolípido y tensoactivo poseen una estructura hidrofílica e hidrofóbica que mejoran la solubilidad de fármacos para transportarlos. De la misma manera, pueden deformarse de 5 a 10 veces menor a su diámetro, lo que les permite permear hasta las capas profundas de varios tejidos, incluida la piel. Otras de las ventajas que ofrecen estas nanovesículas ultraflexibles es controlar la liberación de fármacos para generar sistemas con un efecto sostenido capaz de reducir la frecuencia de administración y de un ajuste de dosis para los fármacos que acarrear. En este proyecto se reporta la obtención, optimización, caracterización física y evaluación *in vitro* para acarrear felodipino en estas nanovesículas con potencial aplicación transdérmica.



2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

2.1. Enfermedades cardíacas, un problema de salud mundial

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), las enfermedades cardíacas se definen como trastornos en el corazón y/o en los vasos sanguíneos que incluyen: hipertensión arterial, enfermedad coronaria, enfermedad cerebrovascular, entre otras. Se estima que las enfermedades cardíacas afectan a 17 millones de personas a nivel mundial (World Health Organization, 2017). Dentro de estas enfermedades, la hipertensión arterial (HTA), también conocida como tensión arterial alta se considera de gran importancia debido a su alta prevalencia. En México, el 31.5% de la población la padece, asociándose principalmente a un estilo de vida no saludable, como la mala alimentación, la falta de actividad física y el consumo de alcohol y tabaco, además de factores genéticos y la diabetes (Durango, y otros, 2016), (Stewart, 2017). La HTA se encuentra altamente asociada a la morbilidad y mortalidad cardíaca, se estima que el 20% de la población de países desarrollados tienen riesgo de padecerla (Mulvany, 2002).

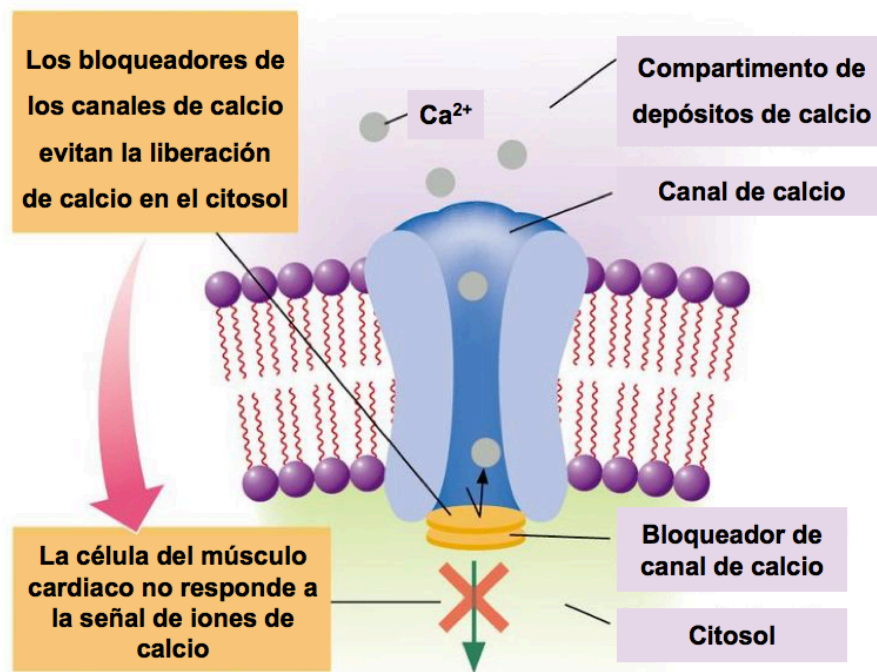
2.1.1. Hipertensión arterial (HTA)

La HTA es una enfermedad cardiovascular que consiste en la resistencia del flujo de sangre, pudiendo dañar los vasos sanguíneos del corazón, riñón y cerebro, lo que podría desencadenar insuficiencia cardíaca, coronariopatía, insuficiencia renal, apoplejía y la muerte. La tensión arterial se considera normal en adultos cuando la presión sistólica (contracción del corazón) es de 120 mmHg, y cuando la presión diastólica (relajación del corazón) es de 80 mmHg, si la tensión arterial es igual o mayor a 140/90 mmHg se considera alta (Organización Mundial de la Salud, 2015). Se ha comprobado que la aplicación de fármacos antihipertensivos provee una buena expectativa de vida y previene el daño a vasos sanguíneos, disminuyendo la tasa de morbilidad y mortalidad (Katzung, Masters, & Trevors, 2015).



2.1.2. Tratamientos utilizados en la HTA

El tratamiento actual para la HTA se distingue por una variedad de fármacos que se agrupan en la siguiente clasificación: diuréticos, fármacos simpaticolíticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas del receptor de la angiotensina II, vasodilatadores y bloqueadores de los canales de Ca^{2+} . De los grupos mencionados anteriormente, los fármacos bloqueadores de canales de Ca^{2+} (Figura 1) son importantes en el tratamiento de la hipertensión tanto en monoterapia como en combinación ya que se ha demostrado su eficacia y tolerabilidad en diferentes tipos de pacientes (raza y edades), además de la selectividad de estas moléculas ya que la resistencia vascular depende de la contracción del músculo liso que a su vez depende de la concentración intracelular de calcio (Morr & Morr, 2007), (Brunton, Blumenthal, Buxton, & Parker, 2008). Dentro de este grupo se reconoce una segunda clasificación: las no dihidropiridinas como el verapamilo y diltiazem, y las dihidropiridinas como el amlodipino, nimodipino, isradipino, nifendipino, nisoldipino, nitredipino, nicardipino y felodipino (Katzung, Masters, & Trevors, 2015).



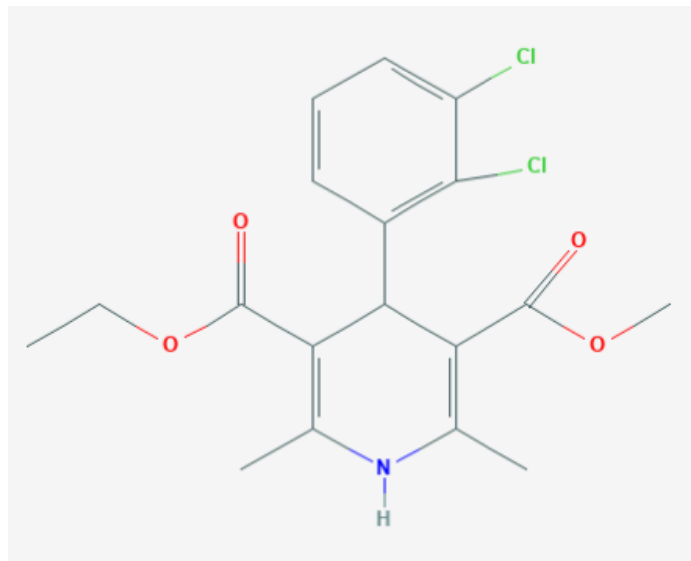
(Kupchik, 2018)

Figura 1. Mecanismo de acción de los bloqueadores de los canales de calcio.



2.2. Felodipino en el tratamiento de la hipertensión

El felodipino (Figura 2) es una dihidropiridina antagonista de calcio utilizada como potente antihipertensivo debido a su alta especificidad vascular. La resistencia vascular depende de la contracción del músculo liso que a su vez depende de la concentración intracelular de calcio, por lo tanto, disminuye la presión arterial (Morr & Morr, 2007), (Brunton, Blumenthal, Buxton, & Paker, 2008). La presentación comercial de felodipino es en tabletas para la vía oral en dosis disponibles de 2.5, 5 y 10 mg, administrado una vez por día, lo que habla de su alta potencia, sin embargo, uno de los efectos adversos más frecuente de la administración oral de este fármaco es el reflujo gastroesofágico, por lo que este fármaco no se considera como candidato para la administración oral a largo plazo (Katzung, Masters, & Trevors, 2015).



(National Center for Biotechnology Information, 2020)

Figura 2. Estructura química de felodipino.

2.2.1. Propiedades fisicoquímicas, biofarmacéuticas y farmacocinéticas

El felodipino tiene una clasificación biofarmacéutica tipo II, lo que indica que tiene una baja solubilidad acuosa de 0.00715 mg/ml y pKa de 5.39, y una alta



permeabilidad ya que tiene un logP de 3.44, coeficiente de reparto adecuado para su administración transdérmica, y un peso molecular (PM) de 384.259 g/mol, tamaño adecuado para facilitar la permeabilidad en tejidos como la piel. Se encuentra como polvo cristalino de carácter lipofílico. Este fármaco tiene una vida media de 17.5-31.5 horas y una biodisponibilidad oral del 15%, metabolizándose considerablemente en el hígado e intestino, y excretándose casi por completo como metabolitos en la orina. Debido a las propiedades descritas anteriormente, se sugiere que la administración transdérmica de este fármaco podría verse favorecida (Brunton, Blumenthal, Buxton, & Paker, 2008), (Sahu & Das, 2014).

2.3. La vía transdérmica y la administración de fármacos

La piel representa una barrera para la administración de fármacos, esto debido a la semipermeabilidad dada por las propiedades estructurales del estrato córneo, sin embargo, se han desarrollado formulaciones para lograr un efecto terapéutico deseado a nivel local (tópico) y sistémico (transdérmico) (Morais, Gravinez, de Sousa, Silva, & Ribeiro, 2016). La vía transdérmica ofrece ventajas sobre las vías convencionales como la oral y la parenteral, ya que evita el metabolismo de primer paso, minimiza los efectos adversos, mejora la utilidad de los fármacos de vida media corta, mejora la respuesta farmacológica y su aplicación es cómoda para el paciente, sin embargo, la mayor limitante de esta vía es la poca permeabilidad de la piel para permitir el paso de sustancias a través de ella, debido a una de sus principales funciones, la de barrera (Reddy, y otros, 2015), (Czajkowska-Kośnik, Szekalska, & Winnicka, 2019). Se considera que para que un fármaco sea candidato para ser administrado a través de la piel deberá contar con un logP entre -1 y 4, un peso molecular <500 Da y una dosis diaria <50mg (Lebrón, 2015). La Tabla 1 resume las propiedades de felodipino que lo hacen candidato para la administración transdérmica.



Tabla 1. Propiedades fisicoquímicas de felodipino.

Parámetro	Propiedades
Biodisponibilidad oral	Baja, 15%
Coefficiente de partición	3.44
Peso molecular	384.259 g/mol
Solubilidad acuosa	0.00715 mg/ml
Punto de fusión	145 °C
Reacción en piel	No irritante ni sensibilizante

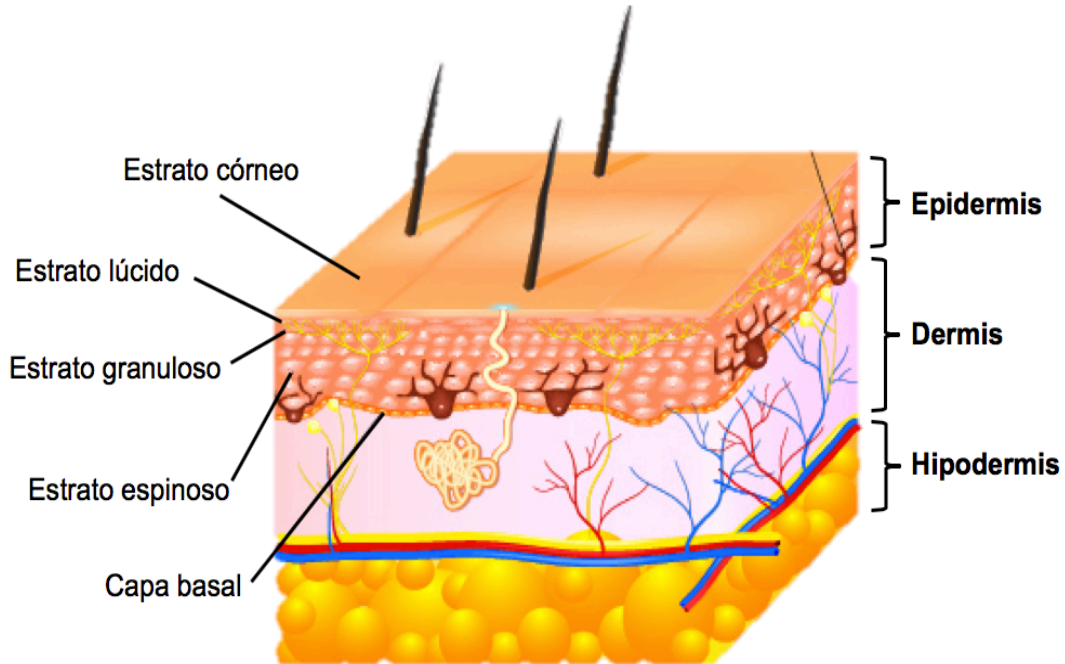
2.3.1. La piel y mecanismos de transporte

La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, con un área superficial de 1.7 m². Su función principal es proteger el cuerpo de agentes físicos, químicos y mecánicos. Consta de 3 capas principales (ver Figura 3):

- Epidermis. Capa superficial, estratificada y escamosa encargada de proteger al organismo de la entrada de agentes químicos y físicos. Tiene un grosor que va de 0.8 a 1.5 mm y está formada por 5 estratos:
 - Basal: capa más profunda de la epidermis. Está compuesta por melanocitos y células madre, productoras de queratinocitos.
 - Espinoso: formado por 8-10 capas de células dendríticas, ayudan en la síntesis proteica para la obtención de queratina.
 - Granuloso: está formado por 3-5 capas de células con gránulos de queratohialina y lamelares. Los gránulos de queratohialina contienen queratina, que eventualmente dan estructura a la piel, mientras que los gránulos lamelares contienen glicolípidos que son secretados a la superficie para ejercer una función de pegamento.
 - Lúcido: formado por 2-3 capas eleidina, producto de transformación de la queratohialina, es la proteína encargada de impedir la entrada y salida de agua.



- Córneo: capa superior, está formado por queratina y por 20-30 capas de corneocitos, también conocidos como queratinocitos muertos, mismos que secretan defensinas, péptidos que actúa como primera línea de defensa inmune.
- Dermis. Capa intermedia de 3 mm de grosor, es la encargada de proveer nutrientes. Está compuesta por vasos sanguíneos, vasos linfáticos, glándulas sudoríparas y terminaciones nerviosas.
- Hipodermis. Capa interna que consta de grasa subcutánea. Es la encargada de proveer nutrientes y de la protección física. Su grosor varía entre 1 a 7 mm, dependiendo de la zona (Hwang, Kim, & Kim, 2016), (Yousef, Alhajj, & Sharma, 2020).



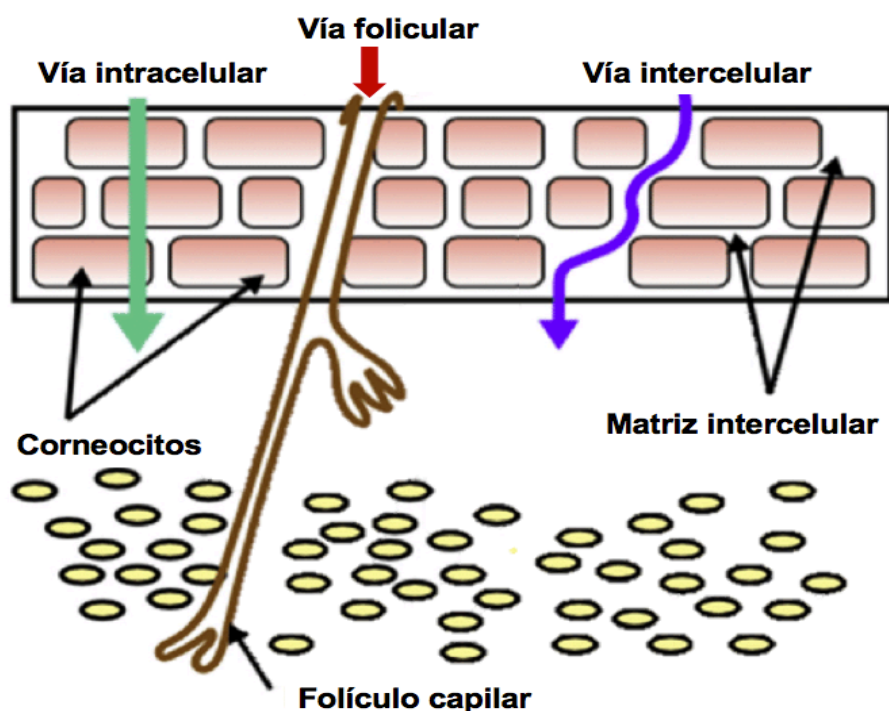
(Herbal Hispania, 2020)

Figura 3. Anatomía de la piel.

El estrato córneo es la subcapa más superficial de la epidermis y tiene gran importancia en la administración de fármacos, ya que está constituido por corneocitos y queratina que para su organización sufren un acomodo denominado de ladrillos y cemento, lo que hace que la piel sea semipermeable, lo que significa



que es la principal barrera a vencer en la administración de fármacos. Los mecanismos principales de transporte (Figura 4) son las siguientes: intracelular, intercelular y folicular (Alkilani, McCrudden, & Donnelly, 2015).



(Jain, Patel, Shah, & Vora, 2016)

Figura 4. Mecanismos de transporte en la vía transdérmica.

2.3.2. Ventajas y desventajas

La administración transdérmica tiene muchas ventajas sobre la vía convencional, como la minimización de efectos adversos, la evasión del metabolismo de primer paso, puede ser adecuado para la administración de fármacos a pacientes infantiles, geriátricos y pacientes con dificultad para deglutir. Sin embargo, existen algunas desventajas para la administración transdérmica como sensibilidad a componentes de la formulación, área de exposición del fármaco y principalmente las propiedades fisicoquímicas del fármaco (Reddy, y otros, 2015), (Czajkowska-Kośnik, Szekalska, & Winnicka, 2019).



El principal reto de la vía transdérmica es el paso de agentes a través del estrato córneo, ya que este por su composición de 20 a 30 capas de corneocitos y queratina hacen semipermeable la piel, debido a esto, se han desarrollado estrategias como promotores de permeabilidad para facilitar el proceso de administración de fármacos (Malvey, Rao, Venkateshwar, & Arumugam, 2019).

2.3.3. Promotores de permeación

Debido a las limitantes que presenta la vía transdérmica, se han desarrollado promotores de permeación físicos y químicos capaces de atravesar las diferentes capas de la piel.

Los promotores físicos son métodos que consisten en la alteración temporal de la integridad de la piel para favorecer la permeabilidad de activos (Bueno, Demirci, & Husnu, 2017). En la tabla 2 se describen los promotores físicos más utilizados:

Tabla 2. Principales promotores físicos de permeabilidad.

(Azagury, Khoury, Enden, & Kost, 2014), (Bueno, Demirci, & Husnu, 2017)

Promotor	Mecanismo
Sonoforesis	Aplicación de ultrasonido que interactuar con el tejido causando cambios temporales de densidad, pH y componentes químicos
Iontoforesis	Aplicación de corriente eléctrica para impulsar moléculas a través del estrato corneo
Electroporación	Aplicación de campo eléctrico pulsante provocando poros acuosos transitorios en el estrato corneo
Microagujas	Aplicadas en la superficie de la piel para realizar perforaciones micrométricas lo suficientemente profundas sin tocar nervios



Los promotores químicos son aquellos compuestos encargados de alterar la barrera de la piel para lograr el flujo deseado de un fármaco. (Tanwar & Sachdeva, 2018)

Las propiedades ideales de estos compuestos son:

- Compatibilidad física y química con el fármaco y los demás excipientes.
- No debe causar la pérdida de materiales endógenos.
- No debe ser tóxico, alergénico ni irritante.
- Debe ser inerte farmacológicamente.
- Inodoro e incoloro.

El mecanismo de transporte de los promotores químicos depende de la naturaleza del componente, principalmente se utilizan los de la Tabla 3:

Tabla 3. Principales promotores químicos de permeabilidad.

(Tanwar & Sachdeva, 2018)

Promotor	Mecanismo
Tensoactivos	Perturbación de la cadena de acilo fosfolípido
	Reducción de la viscosidad del moco, inhibición de la peptidasa
Ácidos grasos	Perturbación de la cadena de acilo fosfolípido
Ciclodextrinas	Inclusión en los componentes de la membrana
Agentes quelantes	Complejación de las aperturas de Ca^{+2} de las uniones estrechas
Polímeros cargados positivamente	Interacciones iónicas con grupos glucocálix cargados negativamente

No obstante, el uso directo de promotores físicos y químicos han resultado ser costosos, dolorosos y han causado irritabilidad y daño en la piel, por lo que un



novedoso enfoque ha sido la aplicación de nanotecnología para promover la permeación a partir de la formulación de un sistema.

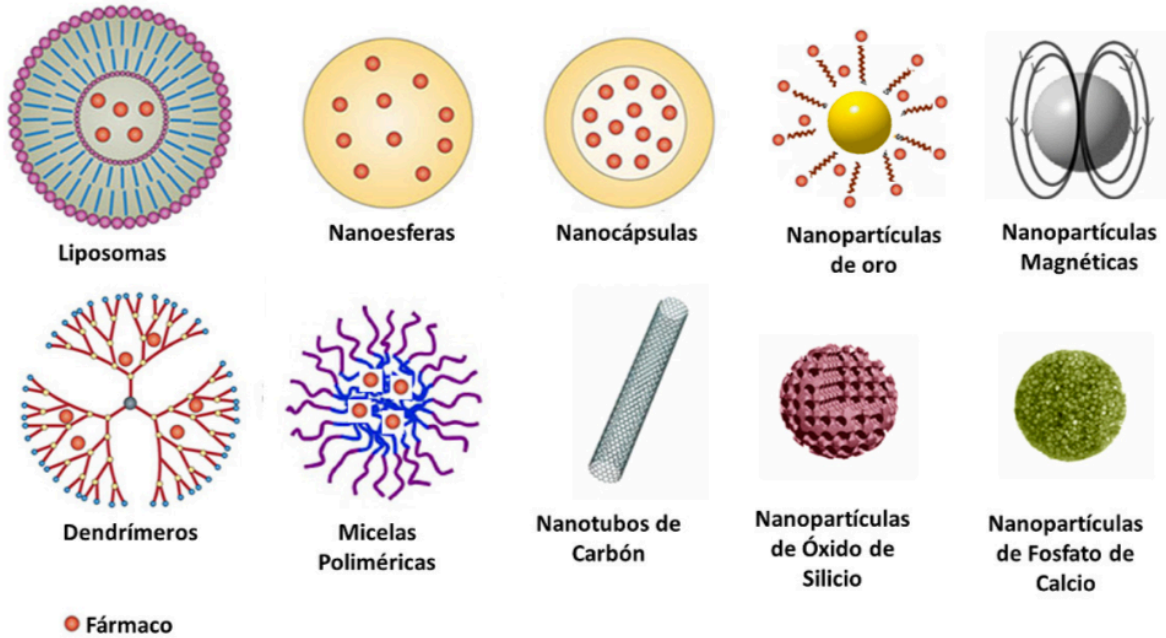
2.4. La nanotecnología en la liberación y acarreo de fármacos

La nanotecnología es una herramienta innovadora que tiene la finalidad de hacer eficientes los procesos de diferentes campos a partir de la observación, medición, manipulación, ensamblaje, control y producción a escala nanométrica (Bayda, Adeel, Tuccinardi, Cordani, & Rizzolio, 2020). En el caso de los fármacos, se ha encontrado que la aplicación de esta herramienta facilita el encapsulamiento de los ingredientes activos, además de que mejora la biodisponibilidad, controla la cinética de liberación y disminuye los efectos adversos. El producto nanotecnológico en la aplicación de la farmacia se conoce como nanoacarreador, y para su obtención se conocen principalmente las siguientes técnicas: emulsificación, coacervación, complexación y evaporación de disolvente (Thiruvengadam, Rajakumar, & Chung, 2018).

2.4.1. Nanoacarreadores en la vía transdérmica

Los nanoacarreadores (Figura 5), como las nanopartículas, liposomas, dendrímeros, nanoemulsiones, entre otros, son sistemas de liberación de fármacos que ofrecen ventajas sobre los sistemas de liberación convencionales ya que mejoran la solubilidad, estabilizan el fármaco, controlan la velocidad de liberación, aumentan la eficacia de atrapamiento de fármaco en el nanoacarreador y mejoran la permeación de los activos a través de los tejidos (Vinardell & Mitjans, 2015).





(Alcalá Alcalá & Quintanar-Guerrero, 2014)

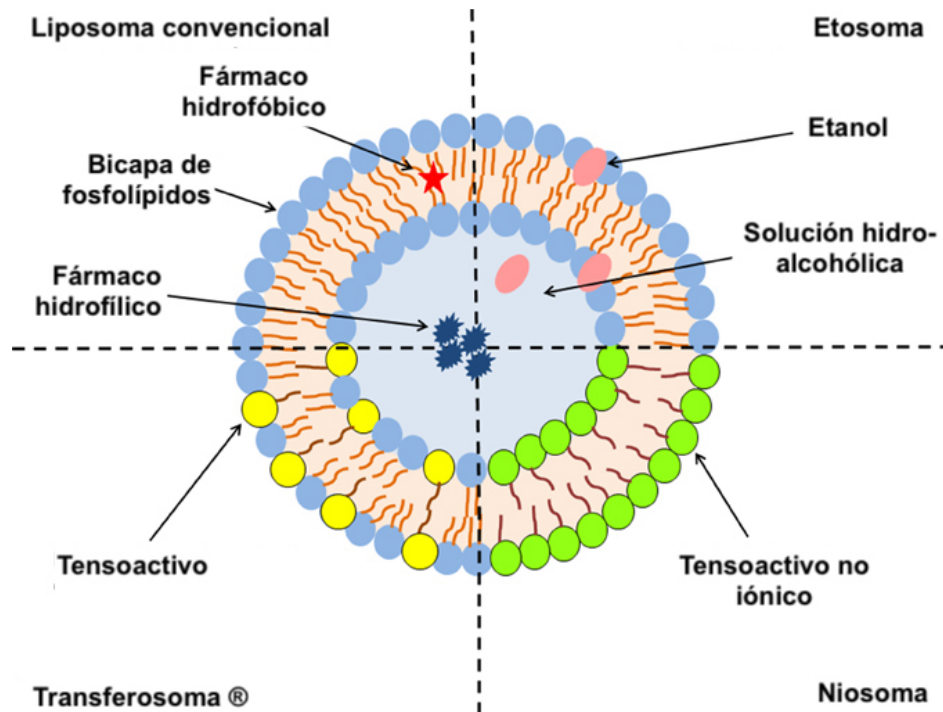
Figura 5. Nanoacarreadores.

Uno de los nanoacarreadores mayormente propuestos para la administración transdérmica son los liposomas, los cuales son estructuras vesiculares compuestos por fosfolípidos que rodean un núcleo líquido donde se encuentra el fármaco. Estos se pueden clasificar en cuatro tipos (ver Figura 6):

- **Liposomas convencionales:** vesículas formadas por fosfolípidos y colesterol. Se caracterizan por tener rigidez y una eficiente carga de fármaco, son biodegradables y biocompatibles, sin embargo, su permeabilidad se ve limitada por la dureza de su membrana.
- **Etosomas:** vesículas formadas por fosfolípidos, agua y etanol (20-45%), componentes que mejoran su capacidad de permeación en membranas, sin embargo, carecen de flexibilidad en comparación con otros sistemas.
- **Niosomas:** vesículas formadas por tensoactivos no iónicos, fáciles de fabricar, sin embargo, tienen una baja permeabilidad y alta fuga de fármaco.
- **Transferosomas®:** vesículas ultraflexibles formadas por fosfolípidos y tensoactivos, estables y capaces de permear por diferentes membranas



gracias a la flexibilidad que le dan sus componentes. Distinguiéndose estos para la vía transdérmica (Reddy, y otros, 2015), (Ascenso, Raposo, Batista, Cardoso, & Mendes, 2015).



(Hua, 2015)

Figura 6. Tipos de liposomas.

2.4.2. Transferosomas®

Son nanoacarreadores que están compuestos por una mezcla de fosfolípidos y tensoactivos no iónicos como el colato de sodio, desoxicolato de sodio, Span® 60, Span® 80, Tween® 20, Tween® 60 o Tween® 80, que le confieren capacidad para deformarse y pasar por espacios estrechos sin romperse, evitando la pérdida del fármaco, lo que le permite una permeación eficaz hasta las capas más profundas de varios tejidos, incluida la piel (Rajan, Jose, Mukund, & Vasudevan, 2011). De la misma manera sus componentes le confieren una estructura hidrofílica e hidrofóbica que mejoran la solubilidad del fármaco para incorporarlo al sistema y transportarlo.



La Figura 7 muestra el mecanismo propuesto para estos sistemas cuando son administrados a través de la piel.

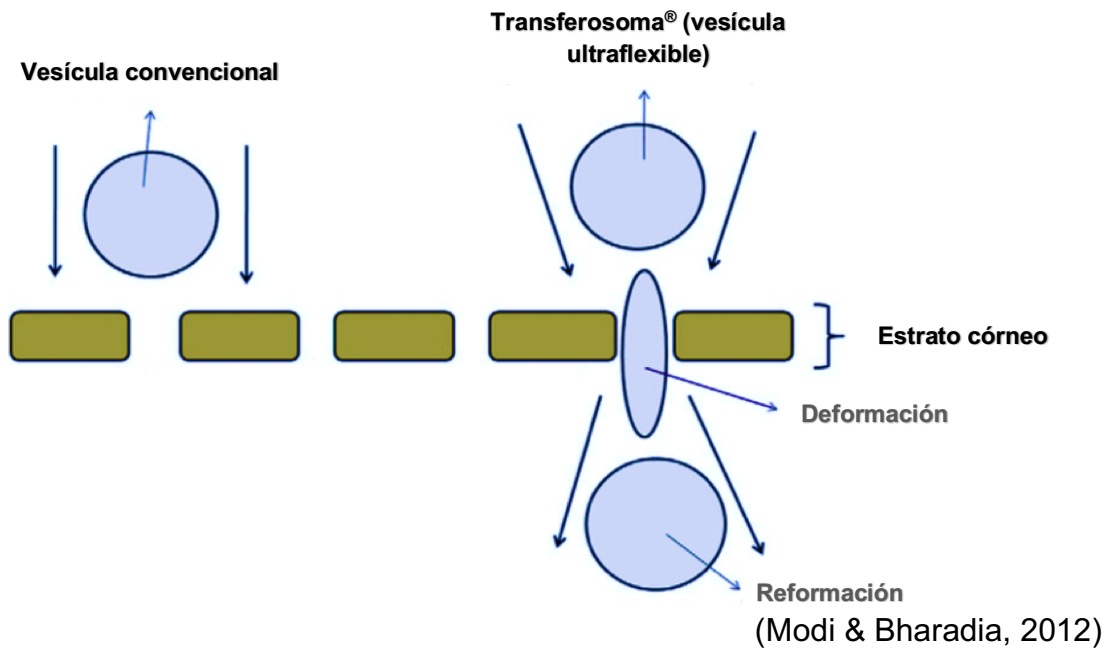


Figura 7. Paso de Transferosomas® a través del estrato córneo en comparación con vesículas convencionales.

Fueron presentados por Gregor Cevc en 1991. Su nombre fue registrado por la empresa alemana IDEA AG, que proviene del latín *transferido* que significa transportar, mientras que *soma* proviene del griego que significa cuerpo (Bhasin & Londhe, 2018). Actualmente existen diferentes métodos para la obtención de Transferosomas® como: sonicación y “vortexing”, inyección de etanol, congelamiento y descongelamiento, evaporación de fase reversa e hidratación de capa fina, también conocida como evaporación de película giratoria (Rai, Pandey, & Rai, 2017). Estos nanosistemas se han pensado para la administración de fármacos utilizados en la terapia de enfermedades crónicas como cáncer, artritis reumatoides, diabetes, hipertensión, entre otras, debido a la frecuencia de administración. Así mismo, se han propuesto para la administración de fármacos, proteínas y péptidos con baja biodisponibilidad con la intención de administrarse por una vía diferente a la oral (Bhasin & Londhe, 2018), (Yusuf, Sharma, & Pathak, 2014).



3. JUSTIFICACIÓN

El felodipino es un fármaco que cuenta con propiedades terapéuticas importantes para contrarrestar la alta prevalencia de la hipertensión debido a su alta especificidad vascular. Sin embargo, debido a sus propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas se ve limitada su administración oral, volviendo ineficaz el tratamiento y haciendo vulnerable el apego del paciente a este, lo que dificulta la terapia. Es por lo anterior que en este proyecto se proponen dos estrategias para mejorar el uso de este fármaco en la terapia de la HTA. Primero una formulación bien caracterizada a base de nanovesículas ultraflexibles llamadas Transferosomas[®] (liposomas flexibles) que favorezcan la liberación y la permeabilidad del fármaco, y, por otro lado, una vía de administración alterna, una aplicación transdérmica para lograr un posible efecto sistémico como producto del fármaco cargado en Transferosomas[®], evitando el metabolismo de primer paso, la falta de apego al tratamiento y los efectos no deseados. Lo anterior con el propósito de ofrecer una alternativa con potencial mejora en la eficacia terapéutica que lleve a un posible ajuste de dosis y una reducción en la frecuencia de administración.



4. HIPÓTESIS

La encapsulación de felodipino en nanovesículas ultraflexibles, Transferosomas[®], favorecerá el control de la liberación del fármaco y promoverá su permeación a través de la piel.



5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Obtener, optimizar y caracterizar nanovesículas flexibles, Transferosomas[®], cargadas con felodipino, así como evaluar su efecto sobre la liberación y la permeabilidad de este en piel de oreja de cerdo.

5.2 Objetivos particulares

- 1) Seleccionar el método de manufactura a emplear mediante pruebas de solubilidad de los diferentes componentes y diferentes disolventes.
- 2) Obtener Transferosomas[®] empleando el método de hidratación de película, optimizando el proceso de obtención mediante un diseño experimental.
- 3) Llevar a cabo la caracterización física de los Transferosomas[®] optimizados.
- 4) Validar métodos analíticos para cuantificar felodipino en las diferentes etapas del proyecto.
- 5) Evaluar la eficiencia de encapsulación del felodipino en los Transferosomas[®] ya optimizados empleando diferentes métodos de encapsulación.
- 6) Realizar estudios de liberación *in vitro* con el método de membrana de diálisis, así como el modelado matemático para establecer el posible mecanismo de liberación.
- 7) Evaluar la permeabilidad *ex vivo* de felodipino, libre y en Transferosomas[®], utilizando un modelo de piel de cerdo en celdas de flujo tipo Franz.
- 8) Determinar la cantidad de fármaco retenido en piel durante los estudios de permeación.
- 9) Llevar a cabo estudios de estabilidad aparente de los Transferosomas[®] en condiciones de refrigeración y temperatura ambiente.



6. MATERIALES Y EQUIPOS

6.1 Materiales

- Acetato de etilo (Sigma-Aldrich®)
- Acetato de sodio (Meyer®)
- Acetona (Meyer®)
- Ácido acético glacial (Meyer®)
- Acrodisc® syringe filters de 220 nm (Sigma-Aldrich®)
- Agua destilada
- Cloroformo (Sigma-Aldrich®)
- Etanol absoluto (Hycel®)
- Felodipino (Helm de México®)
- Filtros de membrana 50 nm (Merck Milipore®)
- Fosfatidilcolina (Sigma-Aldrich®)
- Fosfato dibásico de potasio (Merck®)
- Hidróxido de sodio (Meyer®)
- Metanol (Hycel®)
- Membrana de celulosa de diálisis (Sigma-Aldrich®)
- Tween® 80 (Droguería Cosmopolita®)

6.2 Equipos

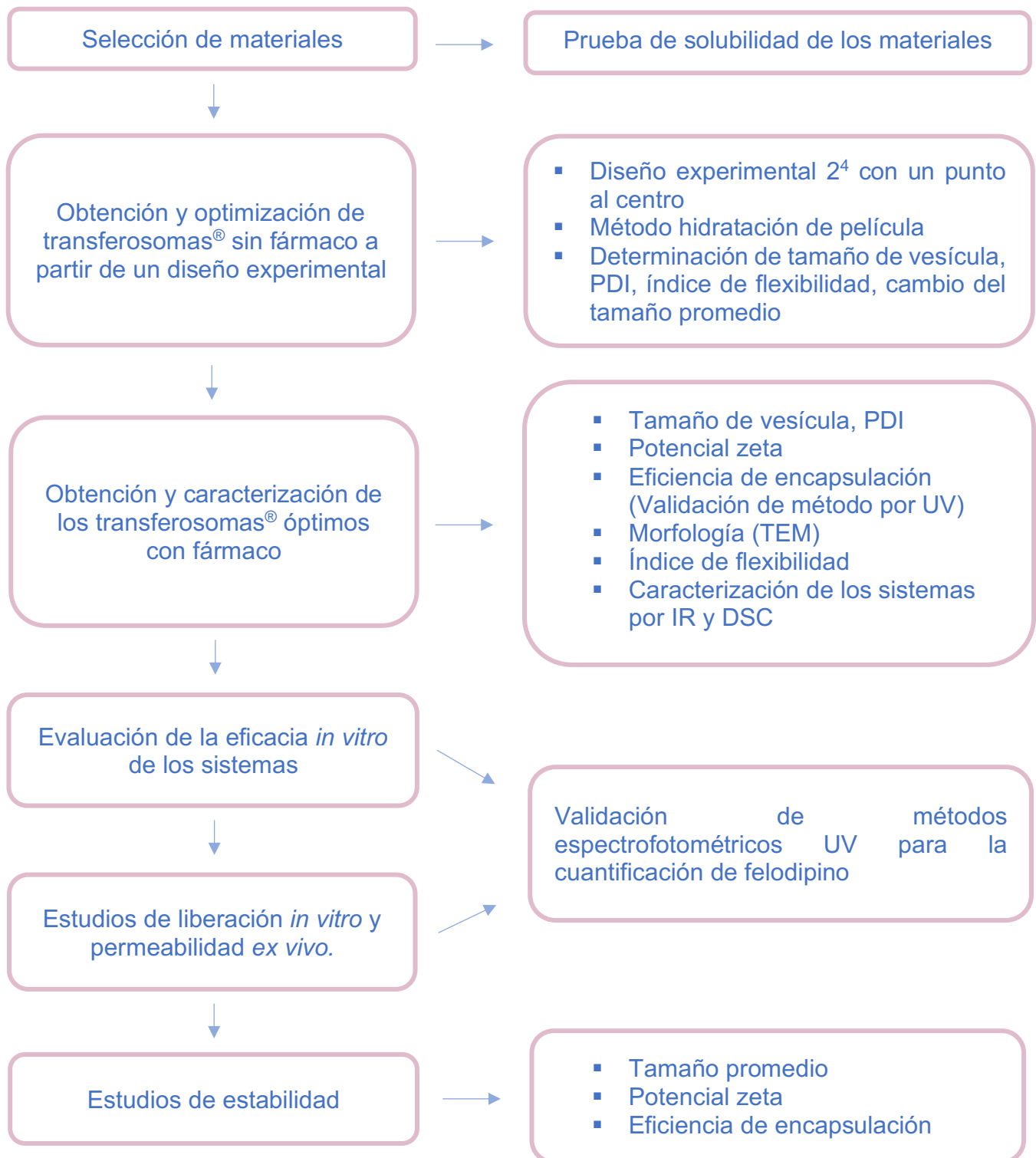
- Balanza analítica (Ohaus® E12140)
- Celdas tipo Franz de 2 mL (área: 0.67 cm)
- Calorímetro diferencial de barrido (Mettler Toledo®/DSC 3 Start System)
- Desecador
- Dermatoma eléctrico (Zimmer®)
- Espectrofotómetro UV (Agilent Technologies® Cary 60)
- Espectrofotómetro Infrarrojo (ABB Miracle® MB3000)



- Microscopio electrónico de transmisión (Jeol® ARM200F)
- Parilla de agitación (Biomega®)
- Parilla de agitación múltiple (Variomag Multipoint® HO15)
- Parilla de agitación múltiple (IKA® RO15)
- Potenciómetro Science (MED® SM-3BW)
- Rotaevaporador (IKA® RV 10/HB 10)
- Sonicador (Cole-Parmer® 08895-53)
- Termocirculador (Polyscience® SVC-AC1B)
- Termocirculador (Cole-Parmer Polystat®)
- Vortex (Science MED® MX-S)
- Zetasizer (Malvern® ZEN 3690)



7. METODOLOGÍA



7.1. Pruebas de solubilidad

Estas pruebas se llevaron a cabo para la selección del método de manufactura de los transferosmas[®]. Se colocaron 10 mg de felodipino, 10 mg de fosfatidilcolina y 100 µl de Tween[®] 80 en diferentes tubos de ensayo previamente etiquetados con el nombre de los disolventes a agregar. Posteriormente se fueron añadiendo los disolventes en cantidades crecientes a partir de 10 µl hasta la disolución total del componente o bien hasta llegar a los 5000 µl. Las pruebas se realizaron por triplicado y se reportó la solubilidad aparente en mg/mL.

7.2. Obtención de las nanovesículas ultraflexibles

7.2.1. Creación de un diseño experimental

Una vez definido el método de manufactura, hidratación de película o evaporación de capa fina (Nava, y otros, 2011), (Reddy, y otros, 2015), se definió un diseño experimental 2⁴ con un punto central para optimizar la talla promedio con el *software Statgraphics*[®]. Con base en la literatura se seleccionaron los factores que podrían influir en la talla de la vesícula, como se indica en la Tabla 4, tales como: X₁: cantidad del tensoactivo Tween[®] 80 (5, 15 o 25%), en proporción con fosfatidilcolina, X₂: contenido de etanol (5, 7.5 o 10%), X₃: tiempo de exposición a ultrasonido (0, 15 o 30 min) y X₄: número de extrusiones realizadas con un acrodisc[®] syringe filter de 220 nm (0, 5 o 10). Las variables de respuesta fueron Y₁: tamaño promedio, Y₂: PDI, Y₃: potencial Z, Y₄: índice de flexibilidad y Y₅: porcentaje de cambio promedio después de forzar su paso a través de un filtro de membrana de 50 nm. Los resultados se analizaron por metodología de superficie de respuesta para encontrar las condiciones óptimas de trabajo.



Tabla 4. Matriz del diseño experimental 2⁴ con punto al centro.

No. de formulación	X ₁ : Tween® 80 (%)	X ₂ : Etanol (%)	X ₃ : Tiempo de sonicación (min)	X ₄ : Número de extrusiones
1	25	5	0	0
2	5	5	0	0
3	25	10	0	0
4	5	10	0	0
5	25	5	30	0
6	5	5	30	0
7	25	10	30	0
8	5	10	30	0
9	25	5	0	10
10	5	5	0	10
11	25	10	0	10
12	5	10	0	10
13	25	5	30	10
14	5	5	30	10
15	25	10	30	10
16	5	10	30	10
17	15	7.5	15	5



7.2.2. Obtención de nanovesículas ultraflexibles, ejecución del diseño experimental

Los Transferosomas[®] se obtuvieron por el método de hidratación de capa fina, en donde se pesaron 200 mg de materiales en total por lote, de 150 a 195 mg de fosfatidilcolina y de 5 a 25 mg de Tween[®] 80 de acuerdo al diseño experimental, dichos materiales se incorporaron disolviéndolos con 20 ml de cloroformo en matraces tipo bola de 250 ml. El disolvente orgánico se removió con ayuda de un rotaevaporador a 60 rpm y 40 °C por 10 minutos. La capa lipídica obtenida se dejó secar en una cámara de nitrógeno durante la noche. Al día siguiente se llevó a cabo la hidratación, en donde se añadieron 10 ml de una solución de etanol:agua (1:1) a los matraces y posteriormente se agitaron de manera constante durante 10 minutos con un vortex. Las vesículas obtenidas se dejaron en reposo y a temperatura ambiente por 2 h para completar dicha hidratación. Finalmente se sonicaron y extruyeron los Transferosomas[®] de acuerdo a las condiciones indicadas en la matriz experimental, pasándolos a través de un acrodisc[®] syringe filter de 220 nm. La suspensión final obtenida se almacenó a 4 °C para posteriormente llevar a cabo la caracterización de las variables de respuesta (Joshi, Kulkarni, & Chaudhari, 2018).

7.3. Medición de las variables de respuesta

7.3.1. Tamaño promedio de partícula e índice de polidispersión

El tamaño promedio de vesícula y el PDI se determinaron por dispersión dinámica de luz en un equipo Zetasizer Malvern[®] ZEN 3690, empleando como condiciones 10 corridas por triplicado y agua destilada como medio dispersante. Para llevar a cabo la prueba, se colocaron muestras de 1.0 mL de cada una de las suspensiones obtenidas en el diseño en celdas de plástico con tapa, posteriormente, estas se colocaron directamente en el equipo y se midieron. Las mediciones se realizaron a



temperatura ambiente, y el tamaño se registró en nm promediando los triplicados (Gupta, Aggarwal, Singla, & Arora, 2012).

7.3.2. Potencial zeta

Para esta determinación fue empleado un equipo Zetasizer Malvern® ZEN 3690, colocando 1.0 mL de cada una de las muestras en una celda capilar plegada con tapones. Las mediciones se realizaron a temperatura ambiente, con 10 corridas por triplicado, ocupando las muestras de la prueba anterior. Una vez finalizado, se registró la movilidad electroforética en mV (Gupta, Aggarwal, Singla, & Arora, 2012).

7.3.3. Índice de flexibilidad

Para la determinación del índice de flexibilidad se pasó la dispersión de Transferosomas® a través de una membrana porosa de 50 nm de diámetro de forma manual. Los parámetros que se consideraron para la determinación del índice de flexibilidad fueron: tamaño inicial, tamaño final, tamaño de poro de la membrana y volumen recuperado de los Transferosomas®, manteniendo como constante 5 minutos extrusión (Manconi, y otros, 2011). El índice de flexibilidad se determinó por triplicado y se calculó con la Ecuación 1:

$$IF = J * \left[\frac{d_0}{r} \right] * \left[\frac{d_0}{d_0 - d_1} \right]$$

Ecuación 1. Índice de flexibilidad (IF).



Donde:

J = fracción de volumen recuperado

d_0 = tamaño de vesícula inicial (nm)

d_1 = tamaño final de la vesícula (nm)

r = tamaño del poro de la membrana (nm)

7.4. Optimización del proceso de obtención de las nanovesículas ultraflexibles

Se reprodujo el método considerado como óptimo en el diseño experimental mencionado anteriormente, esto con la finalidad de definir las condiciones del modelo para su obtención. Para ello, se midieron la variables de la superficie de respuesta que se mencionan en el punto 7.3.

7.5. Encapsulación de felodipino en los Transferosomas[®]

Para evaluar la eficiencia de encapsulación se obtuvieron nanovesículas ultraflexibles con el método optimizado, empleando 8 métodos para la incorporación del felodipino a una dosis fija de 10 mg como se describe a continuación:

1. Se incorporó el fármaco en la parte inicial de su producción, disolviendo el fármaco, la fosfatidilcolina y el Tween[®] 80 en el cloroformo durante la obtención de la película (Figura 8),
2. El 50% del felodipino se agregó como el punto 1 y el otro 50% en la solución de hidratación (etanol:agua 1:1),
3. Agregando el total de fármaco en la solución de hidratación (etanol:agua 1:1),
4. Por gradiente de concentración utilizando una solución de hidratación de etanol:agua (1:1),



5. Por gradiente de concentración utilizando una solución de hidratación de etanol:agua (1:5),
6. Durante la hidratación etanol:S.A. de acetatos pH 3.4,
7. Por gradiente de concentración utilizando una solución de etanol:S.A. de acetatos pH 3.4 (1:1)
8. Por gradiente de concentración utilizando una solución de etanol:S.A. de acetatos pH 3.4 (1:5)



Figura 8. Método de hidratación de película.

Para determinar la eficiencia de encapsulación se colocó una muestra de 1 ml de la formulación en bolsas de diálisis de 15 cm, posteriormente se fijó cada bolsa a un soporte y se sumergió en un vaso de precipitado con 25 ml de solución de agua:etanol (1:1) en agitación durante 5 h para permitir la difusión del fármaco libre hacia el medio de cuantificación. Se tomó una muestra del medio de 3 ml, y se midió su absorbancia en un espectrofotómetro UV a 365 nm, determinando la



concentración del fármaco libre (Ramezani, y otros, 2018). Se utilizó la Ecuación 2 para la determinación del porcentaje de eficiencia de encapsulación (%EE):

$$\%EE = \frac{\text{concentración}_{\text{inicial de fármaco}} - \text{concentración}_{\text{fármaco libre}}}{\text{concentración}_{\text{inicial de fármaco}}} * 100$$

Ecuación 2. Porcentaje de eficiencia de encapsulación.

La eficiencia de encapsulación se evaluó mediante análisis de varianza para seleccionar el método que generó una mayor eficiencia y utilizar estos Transfersomas® en los estudios posteriores de caracterización física y de eficacia *in vitro* (liberación y permeación).

7.6. Desarrollo y validación de métodos analíticos para cuantificar felodipino

Para todos los métodos se siguieron guías de validación (ICH, 2005), (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, 2002) para la determinación de los parámetros de: linealidad, exactitud, precisión y límites de cuantificación y de detección. Todo lo anterior, a partir de una curva de calibración de cinco puntos.

7.6.1. Determinación de la longitud de onda de máxima absorción

Para la determinación de la longitud de onda de absorción de felodipino se preparó una muestra de 100 µg/ml, obteniéndose un barrido de 200 a 600 nm en donde se identificó el fármaco y se determinó la longitud máxima en la región de absorción UV/vis.



7.6.2. Determinación de la eficiencia de encapsulación

Se validó un método por espectrofotometría UV, para evaluar la eficiencia de encapsulación del felodipino en el sistema. Para lo anterior, se ocupó una solución de agua y etanol (1:1) con la que se desarrolló una curva de calibración con 5 puntos de concentración: 5, 10, 15, 20 y 25 µg/ml.

7.6.3. Estudios de liberación *in vitro*

El método de validación para este proceso, se obtuvo a partir de la validación anterior, se realizó un barrido para determinar si la solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4 con 1% de lauril éter sulfato de sodio interfería en la cuantificación del fármaco por UV.

7.6.4. Estudios de permeabilidad *ex vivo*

La matriz acuosa para el desarrollo del método se obtuvo manteniendo en contacto un segmento interno de una oreja de cerdo con solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4 durante 24 h y en agitación constante. Posteriormente se filtró a través de una membrana de 450 nm para eliminar residuos del tejido. La solución obtenida se utilizó para la preparación de la curva de calibración, teniendo como solución madre el fármaco disuelto en metanol (Joshi, Kulkarni, & Chaudhari, 2018), (Flores-Hidalgo & Alcalá-Alcalá, 2018). Al fragmento de la piel de oreja de cerdo se le quitó la grasa con ayuda de un bisturí, para entonces colocarlo sobre un vaso de precipitado como se muestra en la Figura 9. Con esta matriz acuosa se realizó una solución madre para la obtención de una curva de calibración de 5, 10, 15, 20 y 25 µg/ml.





Figura 9. a) interior de oreja de cerdo, b) Interior de la oreja de cerdo en contacto con S. A. de fosfatos pH 7.4.

7.6.5. Determinación de la retención de fármaco en piel

Para el desarrollo de este método y crear la matriz analítica, la piel utilizada en la validación del método anterior se lavó para eliminar el exceso de la solución, se cortó en trozos pequeños que fueron colocados en un frasco con tapa hermética que contenía 1 l de metanol. Se mantuvo en agitación constante por 24 h y posteriormente se filtró para eliminar los residuos del tejido. La solución obtenida se utilizó para preparar una solución patrón, mientras que el metanol se utilizó como diluyente para la preparación de la curva de calibración con 5 puntos de concentración: 5, 10, 15, 20 y 25 $\mu\text{g}/\text{ml}$ (Flores-Hidalgo & Alcalá-Alcalá, 2018).

7.7. Caracterización física

7.7.1. Morfología

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) fue empleada para llevar a cabo este estudio. En una rejilla recubierta de cobre para TEM se colocó una gota de la muestra de suspensión de nanovesículas, la cual se dejó absorber por 5 minutos



para formar una película fina. El exceso de disolvente se eliminó con papel filtro, agregando una gota de acetato de uranilo al 2% que se dejó secar por 10 minutos para poder observarse bajo el microscopio (Wang, Wei, Fei, Fang, & Zheng, 2017).

7.7.2. Prueba de interacción de materiales

7.7.2.1. *Espectrometría Infrarroja*

El fármaco, los materiales, una mezcla física y la formulación óptima de tranferosomas[®] con y sin fármaco se analizaron por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier. Una cantidad de cada muestra se colocó sobre el cristal de ATR del equipo ABB Miracle MB3000. Las muestras fueron escaneadas en un rango de número de onda de 4000 a 500 cm^{-1} , haciendo 150 lecturas por muestra. Los espectros se analizaron para evidenciar la presencia del fármaco en los sistemas y determinar si existe interacción de este con los materiales (Shuwaili, Rasool, & Abdulrasool, 2016).

7.7.2.2. *Calorimetría diferencial de barrido*

Para esta prueba se pesaron 5 mg de felodipino, Tween[®] 80, fosfatidilcolina, una mezcla física de ellos (manteniendo las proporciones de la mezcla óptima), Transferosomas[®] con y sin fármaco para determinar la interacción y compatibilidad entre ellos. Las muestras se colocaron sobre celdas herméticas de aluminio, se sellaron con una prensa, realizando las corridas analíticas con una rampa de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en un rango de calentamiento de 30 a 185 $^{\circ}\text{C}$, bajo flujo de nitrógeno a 50 ml/min en un DSC Mettler Toledo[®]/DSC 3 Start System (Chiu & Prenner, 2011).



7.7.3. Rendimiento (%RE)

Se evaluó el rendimiento en la obtención de las nanovesículas ultraflexibles a partir de la liofilización de las suspensiones. Inicialmente, se pesaron 3 tubos vacíos, a los que se les colocaron 10 ml de la suspensión de nanovesículas, se les eliminó el alcohol por medio de una evaporación y posteriormente se llevaron a liofilizar. Finalmente se pesaron los tubos con el liofilizado para poder determinar el rendimiento en porcentaje, para ello se ocupó la siguiente ecuación:

$$\%RE = \frac{\text{peso final} - \text{peso tubos}}{\text{peso inicial}} * 100$$

Ecuación 3. Porcentaje de rendimiento de la suspensión.

7.8. Estudios de liberación *in vitro*

Esta prueba se llevó a cabo con 10 ml de una suspensión de Transferosomas® con una masa equivalente a 4 mg de felodipino, el cual fue colocado en una bolsa de membrana de diálisis de 5 cm. Posteriormente, la bolsa se sumergió en un vaso de precipitado con 250 ml de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4, con lauril éter sulfato de sodio al 1% para mantener condiciones *sink*. El medio se mantuvo en agitación constante, a 100 rpm, y a 37 ± 0.5 °C. Se tomaron muestras a intervalos regulares durante 24 h, reponiendo el mismo volumen con medio fresco, midiendo a una longitud de onda de 365 nm en un espectrofotometro UV Agilent Technologies Cary 60, cuantificando y empleando el método previamente validado (Ramezani, y otros, 2018), (Joshi, Kulkarni, & Chaudhari, 2018). A la par se evaluó una muestra blanco de nanovesículas sin fármaco. Los estudios se realizaron por sextuplicado. Se obtuvieron los perfiles de liberación, los cuales fueron ajustados a los siguientes modelos de orden 0, orden 1, Higuchi y Korshmeier-Peppas (Anexo 6).



7.9. Estudios de permeabilidad de felodipino *ex vivo*

Para estos estudios se cortaron fragmentos de 0.95 cm de diámetro de oreja de cerdo, con un grosor de 0.75 mm obtenidos con un dermatoma eléctrico ZIMMER. Los segmentos de piel se colocaron entre los compartimentos de las celdas Franz, ajustando las celdas con pinzas y ligas para evitar la fuga de la suspensión. En el compartimento aceptor se agregó 1 ml de una suspensión de Transferosomas[®] óptimos con felodipino encapsulado (dosis equivalente a 400 µg), una suspensión de nanovesículas sin fármaco y de una suspensión acuosa del fármaco para comparar el efecto promotor del sistema. El compartimento receptor se llenó con 2 ml de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4 con 1% de tensoactivo para mantener las condiciones Sink. Las celdas armadas se colocaron en un baño a 37 ± 0.5 °C. A tiempos establecidos se tomó el volumen del receptor durante 24 h, reponiendo con medio fresco. Las muestras se analizaron a una longitud de onda de 365 nm en un espectrofotometro UV para determinar la cantidad permeada y obtener el perfil de permeación, empleando el método previamente validado. Con técnicas de modelado matemático se obtuvo el flujo en estado estacionario (J_{ss}) y la constante de permeabilidad (K_p), los cuales se calcularon con las Ecuaciones 4 y 5 respectivamente. Los estudios se realizaron por sextuplicado (Flores-Hidalgo & Alcalá-Alcalá, 2018), (Simon, Amaro, Healy, Cabral, & de Sousa, 2016).

$$J_{ss} = \frac{Q}{(A \cdot t)}$$

Ecuación 4. Flujo en estado estacionario (J_{ss}).

Donde:

Q = cantidad de fármaco (µg) que atraviesa la membrana en un tiempo (t)

A = área de la membrana expuesta en cm^2



$$K_p = \frac{Q}{A \cdot t \cdot (C_0 - C_i)}$$

Ecuación 5. Coeficiente de permeabilidad (K_p).

Donde:

Q = cantidad de compuesto transportado a través de la membrana en un tiempo (t) en minutos ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}$)

C_0 y C_i = concentraciones del compuesto en el sistema donador y el sistema receptor de la membrana respectivamente

A = área de la membrana expuesta en cm^2

7.10. Estudio de fármaco retenido en piel

Una vez concluida la prueba de permeabilidad *ex vivo*, se retiró la piel del sistema, se limpió con un papel absorbente para eliminar el exceso de la dispersión, y se cortó en pedazos pequeños que se incorporaron en un recipiente con 5 ml de metanol. Las muestras se mantuvieron en agitación constante por 24 h. Transcurrido el tiempo, se filtró la solución metanólica y se midieron las muestras a una longitud de onda de 365 nm en un espectrofotómetro UV, cuantificando con el método previamente validado (Flores-Hidalgo & Alcalá-Alcalá, 2018).

7.11. Estudios de estabilidad

Se evaluó la estabilidad de las formulaciones a temperatura ambiente y temperatura de refrigeración (2-4 °C). Muestras de 10 mL se guardaron en las condiciones mencionadas, analizando una vez por semana durante un mes, midiendo tamaño de



vesícula, potencial zeta y contenido de fármaco (Shuwaili, Rasool, & Abdulrasool, 2016), (Iskandarsyah, Rahmi, & Pangesti, 2018).

7.12. Análisis estadístico

Para los análisis estadísticos se ocuparon los *softwares Excel*[®] y *Statgraphics*[®] para la obtención de ANOVAs, prueba t y diseño experimental. El nivel de significancia utilizado fue de 0.05.



8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Prueba de solubilidad

Se realizó la prueba de solubilidad con la finalidad de determinar las condiciones o modificaciones necesarias al método de hidratación de película en la producción de Transferosomas[®]. Los resultados de solubilidad se muestran en la Tabla 5. Se puede observar que el cloroformo fue capaz de disolver todos los componentes en mayor cantidad en comparación con los demás disolventes empleados, por ello se utilizó en la metodología, además de que diferentes autores como (Chaudhary, Kohli, & Kumar, 2013) y (Rai, Pandey, & Rai, 2017) lo han referido como adecuado para la obtención de los transfersomas[®].

Tabla 5. Solubilidad de componentes de los tranfersomas[®] en diferentes disolventes.

Disolvente	Felodipino (mg/ml)	Fosfatidilcolina (mg/ml)	Tween [®] 80 (ml/ml)
Acetato de etilo	219.33 ± 26.63	36.67 ± 2.31	10.00 ± 0.00
Acetona	127.43 ± 14.36	<2	10.00 ± 0.00
Agua	<2	8.57 ± 0.53	0.15 ± 0.01
Cloroformo	337.78 ± 5.09	105.67 ± 2.89	10.00 ± 0.00
Etanol	117.59 ± 6.63	<2	10.00 ± 0.00
Metanol	125.83 ± 0.72	<2	10.00 ± 0.00

8.2. Obtención y optimización de las nanovesículas ultraflexibles

Se obtuvo un diseño experimental 2⁴ con un punto medio con el *software statgraphics*[®], como resultado se obtuvieron 17 muestras con combinaciones aleatorias para la optimización del método de fabricación de los Transferosomas[®].



La Tabla 6 resume los resultados obtenidos de la ejecución del diseño experimental. Como se puede apreciar se consideraron varios como factores que de acuerdo a los autores (Chaurasiya, Ganju, Upmanyu, Ray, & Jain, 2019) influyen en la talla y flexibilidad de las nanovesículas, variables importantes en la fabricación de Transferosomas® debido a su facilidad de atravesar la piel.

Tabla 6. Diseño experimental con variables de respuesta.

No. De muestra	X1: Tween® 80 (%)	X2: Etanol (%)	X3: Tiempo de sonicación (min)	X4: No. de extrusiones	Y1: Tamaño de vesícula (nm)	Y2: PDI	Y4: Potencial zeta	Y4: Índice de flexibilidad	Y5: Grado de deformación (%)
1	25	5	0	0	977.5	0.500	-6.6	4.8	80.8
2	5	5	0	0	973.9	0.586	-5.2	6.7	86.7
3	25	10	0	0	1136.0	0.431	-6.9	8.9	76.6
4	5	10	0	0	1522.0	0.210	-9.6	3.7	82.1
5	25	5	30	0	857.4	0.316	-9.9	6.1	42.5
6	5	5	30	0	751.6	0.306	-5.9	1.1	67.4
7	25	10	30	0	1028.0	0.461	-9.9	11.1	83.6
8	5	10	30	0	915.7	0.424	-5.4	1.3	72.3
9	25	5	0	10	198.2	0.266	-6.6	9.4	25.3
10	5	5	0	10	458.8	0.283	-6.8	3.2	56.8
11	25	10	0	10	280.6	0.265	-4.0	2.4	34.9
12	5	10	0	10	256.3	0.301	-6.4	8.9	11.5
13	25	5	30	10	243.6	0.197	-9.6	59.7	6.5
14	5	5	30	10	230.6	0.210	-8.6	16.5	19.5
15	25	10	30	10	221.9	0.198	-5.4	112.8	3.9
16	5	10	30	10	260.4	0.158	-8.4	6.9	30.0
17	15	7.5	15	5	310.5	0.563	-7.1	11.1	16.7



De acuerdo con los diagramas de Pareto (ver Figura 10), el número de extrusiones afecta significativamente el tamaño de vesícula, disminuyéndola significativamente, así mismo, un mayor tiempo de sonicación y una mayor cantidad de Tween® 80 también reducen la talla de las vesículas, mientras que el etanol tiende a aumentarlas.

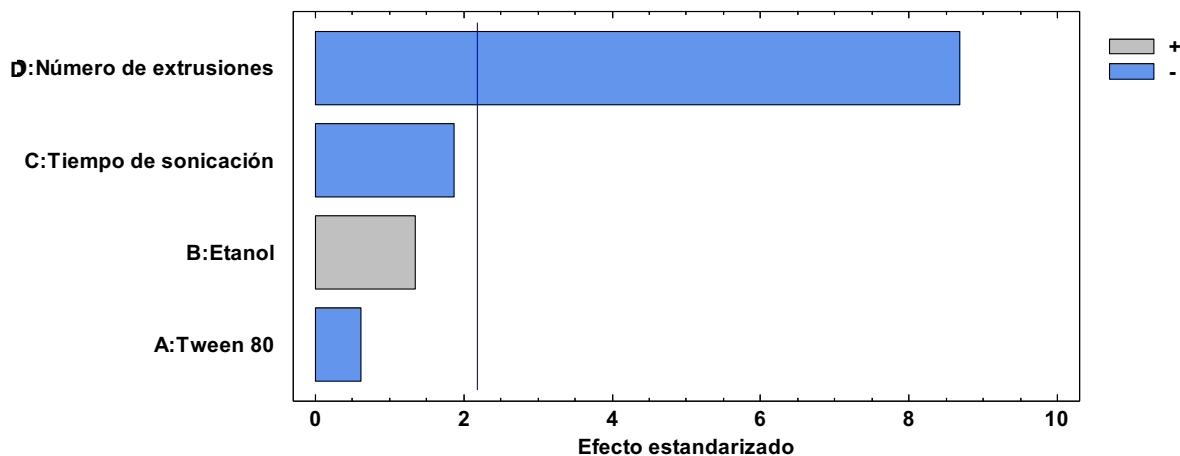


Figura 10. Diagrama de Pareto para tamaño de vesícula.

Por su parte, el PDI no se vio afectado por el proceso ni por los componentes ya que siempre mostró valores menores a 0.6, lo que indica una muestra monodispersa, si los valores fueran cercanos a la unidad demostraría una variabilidad en el tamaño del lote. Así mismo se evaluó el índice de flexibilidad de los Transferosomas® midiendo su tamaño antes y después de su filtración por una membrana de 50 nm, como resultado aquellos que sufrieron el proceso de sonicación demostraron una flexibilidad mayor como se observa en la Figura 11, lo anterior debido a que durante la sonicación las nanovesículas reducen su tamaño perdiendo capas hasta obtener una monocapa, por lo que hay una diferencia mínima en el cambio entre la talla inicial y talla final, favoreciendo la flexibilidad (Amnuakit, Limsuwan, Khongkow, & Boonme, 2018). Otro factor importante en la flexibilidad del Transferosomas® fue el tensoactivo, se ha demostrado que uso de este mejora la flexibilidad ya que interacciona con los lípidos de la membrana



mejorando su acomodo estructural, y por lo tanto su elasticidad (Pawar, Jadhav, & Chaudari, 2016). Para la prueba anterior se corroboró que la diferencia de tamaño promedio entre muestras fuera menor para garantizar la flexibilidad de la nanovesícula (Caddeo, Manca, & Peris, 2018), (Langasco, Fancello, Rassu, Cossu, & Cavalli, 2019).

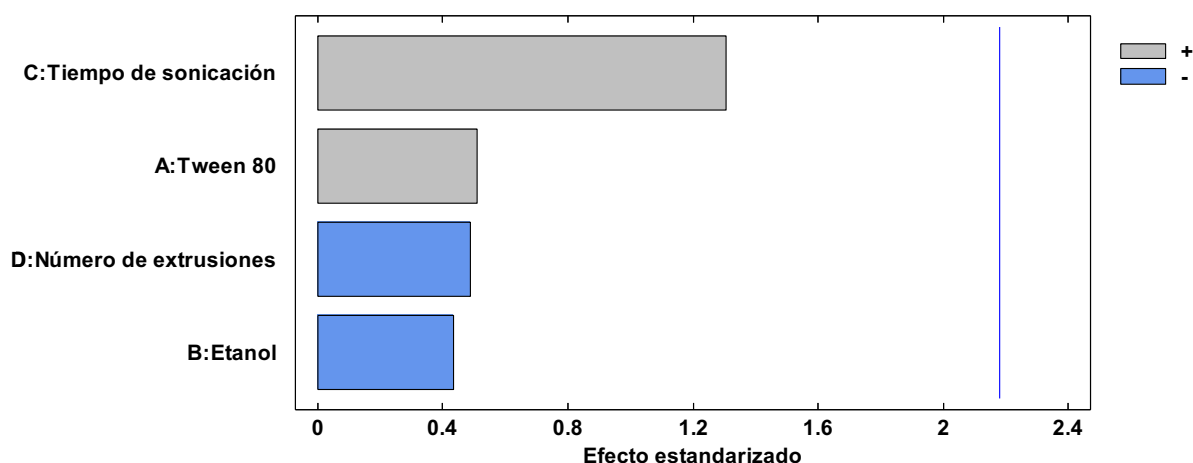


Figura 11. Diagrama de Pareto para índice de flexibilidad.

Para la optimización de las nanovesículas se consideró el tamaño de vesícula, el PDI, el índice de flexibilidad y el porcentaje de cambio de talla promedio. Lo anterior debido a que se requerían tallas promedio alrededor de 200 nm para la administración transdérmica, así mismo dadas las condiciones del equipo, el PDI debía mostrar valores menores a 0.6 para corroborar una lectura adecuada de las tallas. El índice de flexibilidad se seleccionó tomando los valores de mayor rango entre lotes, para ello, se consideraron los lotes de menor cambio en la talla promedio debido a que la vesícula no sufría una reconstitución, sino una mejor flexibilidad. Es por lo anterior que la muestra 15 fue seleccionada como óptima ya que presentó una talla promedio de 221.9, un PDI de 0.198, un índice de flexibilidad de 112.8 (el mayor entre lotes) y un cambio de talla promedio de 3.9 (el menor cambio entre lotes). Debido a que el potencial zeta no se vio afectado debido a que las



concentraciones del medio de mantuvieron constantes, no se consideró para la optimización de los transferosomas®. Debido a que se definió el experimento 15 como el óptimo se realizó por triplicado para verificar las condiciones del modelo. La Tabla 7 muestra las condiciones del modelo:

Tabla 7. Reproducción de condiciones óptimas de experimentación.

Muestra óptima	Tamaño promedio (nm)	PDI	Índice de flexibilidad	Grado de deformación (%)
1	245.6	0.407	77.8	6.31
2	266.1	0.136	59.5	8.94
3	252.3	0.186	70.7	7.13

El método de fabricación se encontró reproducible ya que cumplía con los valores establecidos previamente en cuanto a su talla y PDI, en el caso del índice de flexibilidad se encontró una discrepancia debido a que la flexibilidad fue menor, sin embargo, esta seguía siendo aun más flexible que el resto de las muestras del diseño experimental, es por esto y ligado al grado de deformación que se consideró reproducible el método.

8.3. Validación de métodos analíticos para la cuantificación de felodipino

8.3.1. Determinación de la longitud máxima de absorción

Para la validación del método se realizó un barrido de una solución de felodipino en etanol a una concentración de 25 µg/ml, la Figura 12 muestra el espectro de



absorción de felodipino de 200 a 600 nm en el espectro electromagnético. Se puede apreciar un máximo de absorción a una longitud de onda ($\lambda_{\text{máx}}$) de 365 nm de acuerdo a lo reportado por otros autores (Brito, y otros, 2012), (Palazi, y otros, 2018), lo que confirma la identidad del fármaco.

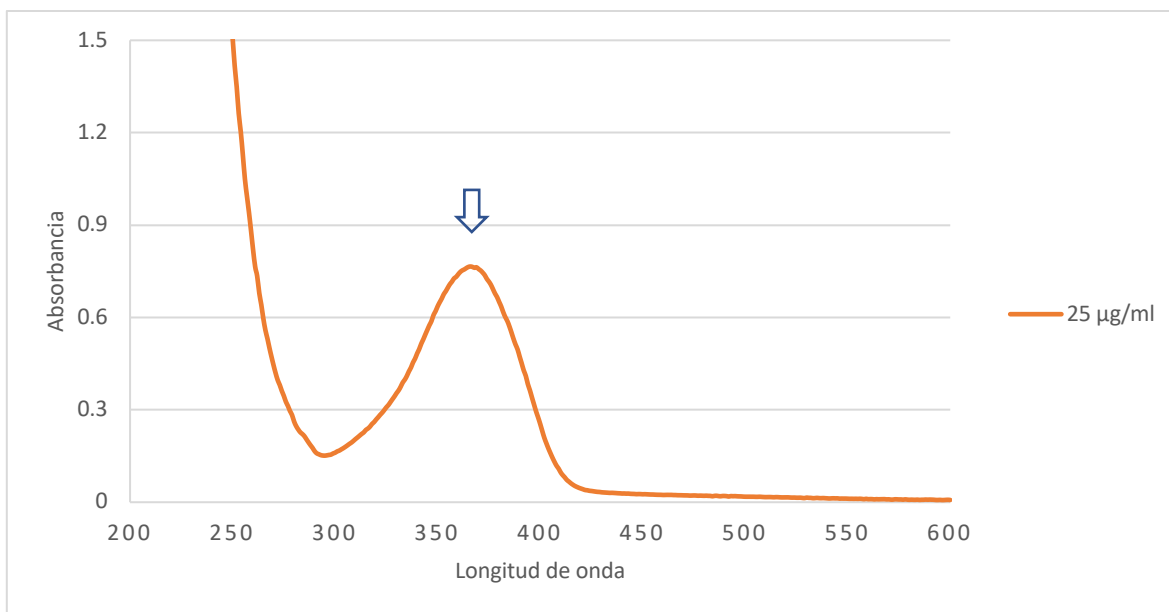


Figura 12. Espectro UV-Vis de felodipino en etanol-agua a una concentración de 25 µg/ml.

8.3.2. Resultados de los parámetros de desempeño de los métodos desarrollados

En la Tabla 8 se exhibe a manera de resumen los parámetros evaluados para la validación de los métodos desarrollados en este proyecto. Se puede apreciar que se cumplieron con las especificaciones establecidas, lo que ratificó el hecho de que los métodos son aptos para cuantificar felodipino en las diferentes matrices analíticas (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, 2002), (ICH, 2005).



Tabla 8. Parámetros evaluados en la validación de los métodos analíticos.

Parámetro evaluado	Especificación	Resultado		
		Método para liberación <i>in vitro</i>	Método para permeabilidad en piel	Método para retención en piel
Linealidad	$r^2 > 0.98$ C.V. $\leq 3\%$	$r^2 = 0.9994$ C. V. = 2.89%	$r^2 = 0.9991$ C.V. = 2.99%	$r^2 = 0.999$ C.V. = 2.94%
Exactitud (% de recobro)	97% al 103% C.V. $\leq 3\%$	97.46% al 100.44% C. V. = 1.97%	98.80% al 100.26% C.V. = 1.13%	99.53% al 103.05% C.V. = 2.66%
Repetibilidad	C.V. $\leq 3\%$	C. V. = 1.21%	C.V. = 2.30%	C.V. = 2.95%
Límite de detección	-	0.2994 $\mu\text{g/ml}$	0.3694 $\mu\text{g/ml}$	0.3834 $\mu\text{g/ml}$
Límite de cuantificación	-	0.9073 $\mu\text{g/ml}$	1.1194 $\mu\text{g/ml}$	1.1617 ml

8.4. Evaluación de la eficiencia de encapsulación

Con base en las propiedades fisicoquímicas del felodipino y las referencias consultadas se probaron diferentes métodos de incorporación del fármaco durante la obtención de los Transferosomas[®] con la finalidad de detectar el método con la mejor eficiencia de encapsulación. Los resultados obtenidos para los diferentes métodos se muestran en la Figura 13.



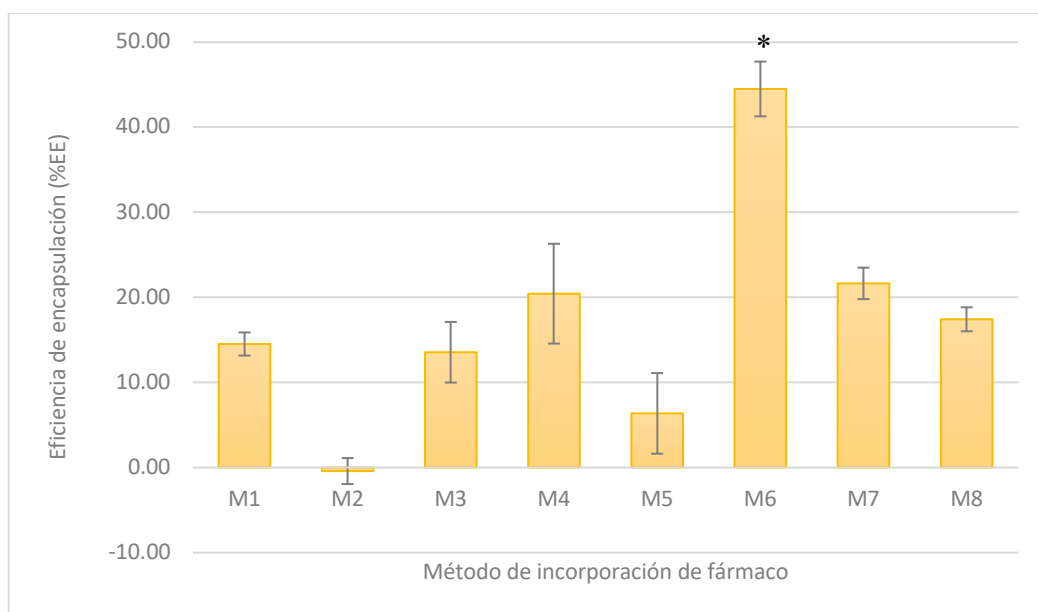


Figura 13. Eficiencia de encapsulación de felodipino en Transferosomas® por métodos de incorporación probado.

En la Figura 13 se observa que aquellos métodos en donde se ocupó la solución amortiguadora de acetatos pH 3.4 (M6 a M8), la variabilidad entre lotes fue menor, ya que el comportamiento del felodipino a ese pH promovió la solubilidad del fármaco y con ello la creación de un gradiente de concentración que promovió el ingreso del fármaco a las vesículas (Fatima, Islam, Ahmad, Barreto, & Ashraf, 2018). El método 6 resultó ser el más eficiente en la incorporación de fármaco, por lo que se seleccionó como método óptimo para la caracterización y evaluación en los estudios de eficacia *in vitro*.

8.5. Caracterización física del sistema considerado óptimo

8.5.1. Tamaño de partícula, PDI, potencial zeta e índice de flexibilidad

Se evaluó el sistema óptimo con y sin fármaco para determinar si este influía en la propiedades iniciales para la obtención de las nanovesículas ultraflexibles. Los resultados obtenidos se resumen en la Figura 14, los cuales se analizaron por prueba t ($p < 0.05$), en donde pudimos concluir que el encapsulamiento de fármaco aumenta el tamaño de la



vesícula y por consecuencia, al haber una tensión de estiramiento en el transferosoma[®], la flexibilidad disminuye. Por otra parte el PDI no presentó cambio así como el potencial zeta ya que el fármaco se encontraba encapsulado.

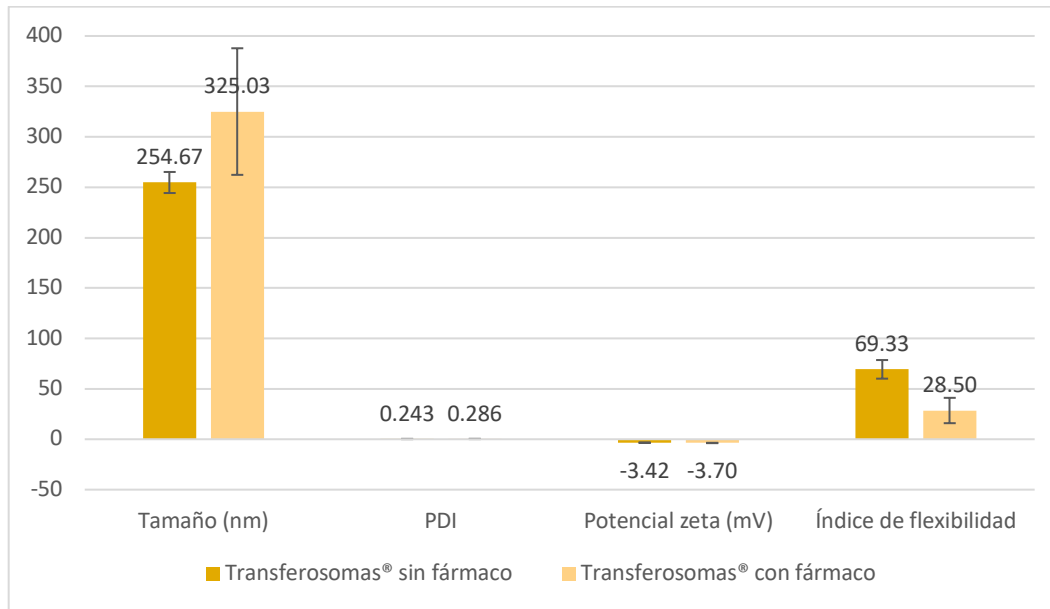


Figura 14. Resultados de la influencia de la incorporación de felodipino a los Transferosomas[®] en las variables iniciales.

8.5.2. Rendimiento

Como resultado se obtuvo un rendimiento del $74 \pm 5.9\%$ (Anexo 7) en la obtención de las nanovesículas bajo las condiciones consideradas como óptimas. De la liofilización se produjo una pasta naranja característica de la fosfatidilcolina, ya que esta se encuentra en mayor proporción (75%).

8.5.3. Microscopía Electrónica de Transmisión

Se obtuvieron imágenes de los Transferosomas[®] sin fármaco y con felodipino (Figura 15) a partir de la utilización de un TEM Jeol[®] ARM200F, comprobando así la obtención de dichas nanovesículas en las suspensiones utilizadas.



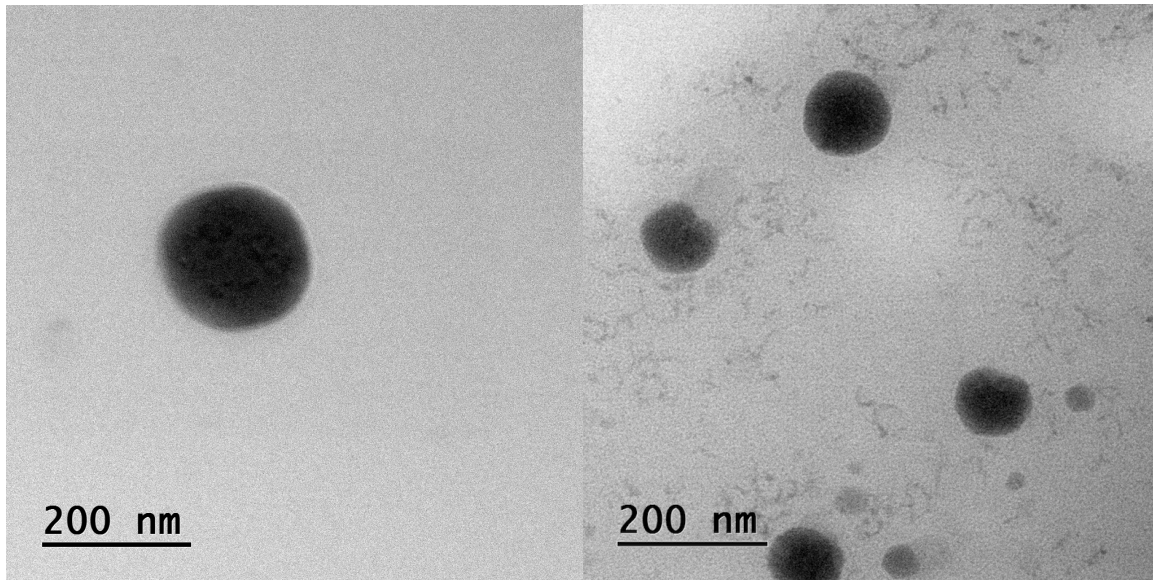


Figura 15. a) *Transferosomas*[®] sin fármaco, b) *Transferosomas*[®] con fármaco sin dializar.

8.5.4. Estudios con FTIR

Se llevó a cabo un estudio de infrarrojo que consistió en analizar los componentes por separado (felodipino, Tween[®] 80, fosfatidilcolina), una mezcla física de ellos y la formulación óptima de los *Transferosomas*[®] con y sin fármaco, para evaluar las interacciones químicas o fisicoquímicas en los sistemas. Los espectros observan en la Figura 16.



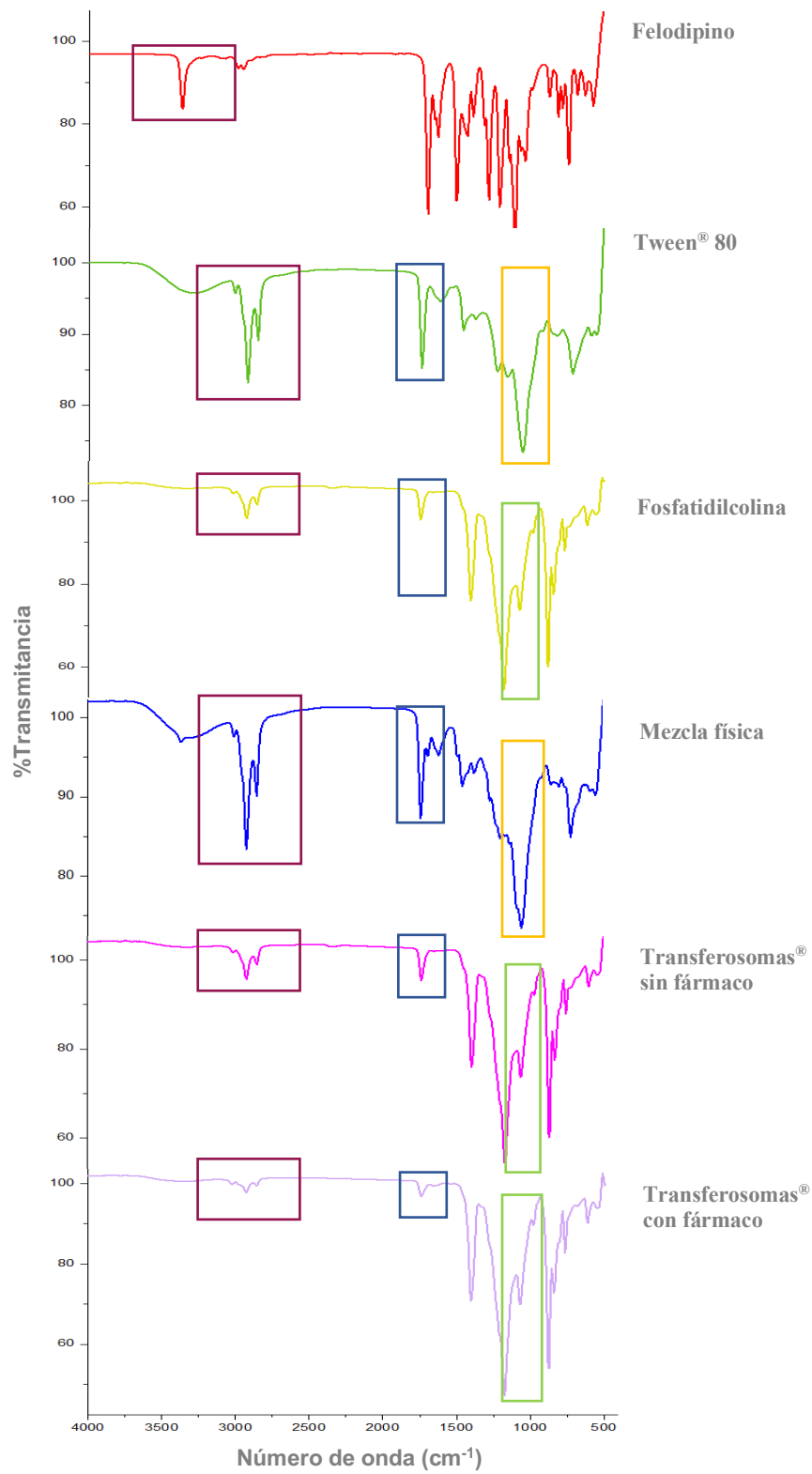


Figura 16. Espectros IR de los componentes, mezcla física y sistemas óptimos con y sin felodipino.



En los espectros IR podemos observar la presencia de grupos funcionales de acuerdo con la composición de cada uno de los materiales, esto sin desplazamiento de las bandas. En el caso del felodipino se observó la banda representativa de la amina en 3370 cm^{-1} , en el caso de la mezcla física y de los sistemas, se observaron bandas características de los lípidos como los enlaces C-O en 1044 cm^{-1} , C-H en 2900 cm^{-1} y grupos carboxilos en 1634 cm^{-1} . Los espectros obtenidos para las vesículas ultraflexibles son similares entre ellos, se presentaron bandas características de los componentes, sin embargo, no se aprecia la banda de amina del felodipino que podría deberse a su proporción menor con respecto a los demás componentes o a que se encuentra molecularmente disperso en el núcleo acuoso o en la doble membrana lipídica de los Transferosomas[®].

8.5.5. Estudios térmicos por DSC

En la Figura 17 podemos observar que el fármaco tiene un evento térmico característico a 147 °C debido a su punto de fusión (145 °C (Ali, Elham, Zainab, & Manal, 2019)), el Tween[®] 80 no mostró ningún evento debido que se encuentra en estado líquido, así mismo, la fosfatidilcolina al estar en un estado semilíquido no presentó evento térmico. En la mezcla física se pudo observar el evento alguno, debido a que el Tween[®] 80 fue capaz de solubilizar los componentes. Finalmente, en los Transferosomas[®] con y sin fármaco se observó un evento térmico en 98 y 105° respectivamente que pudo deberse a la presencia de agua por un mal secado de la suspensión, así mismo en el termograma de los Transferosomas[®] no se apreció el endoterma de fusión del felodipino, lo que sugirió que este se encuentra en un confinamiento molecular en las nanovesículas.



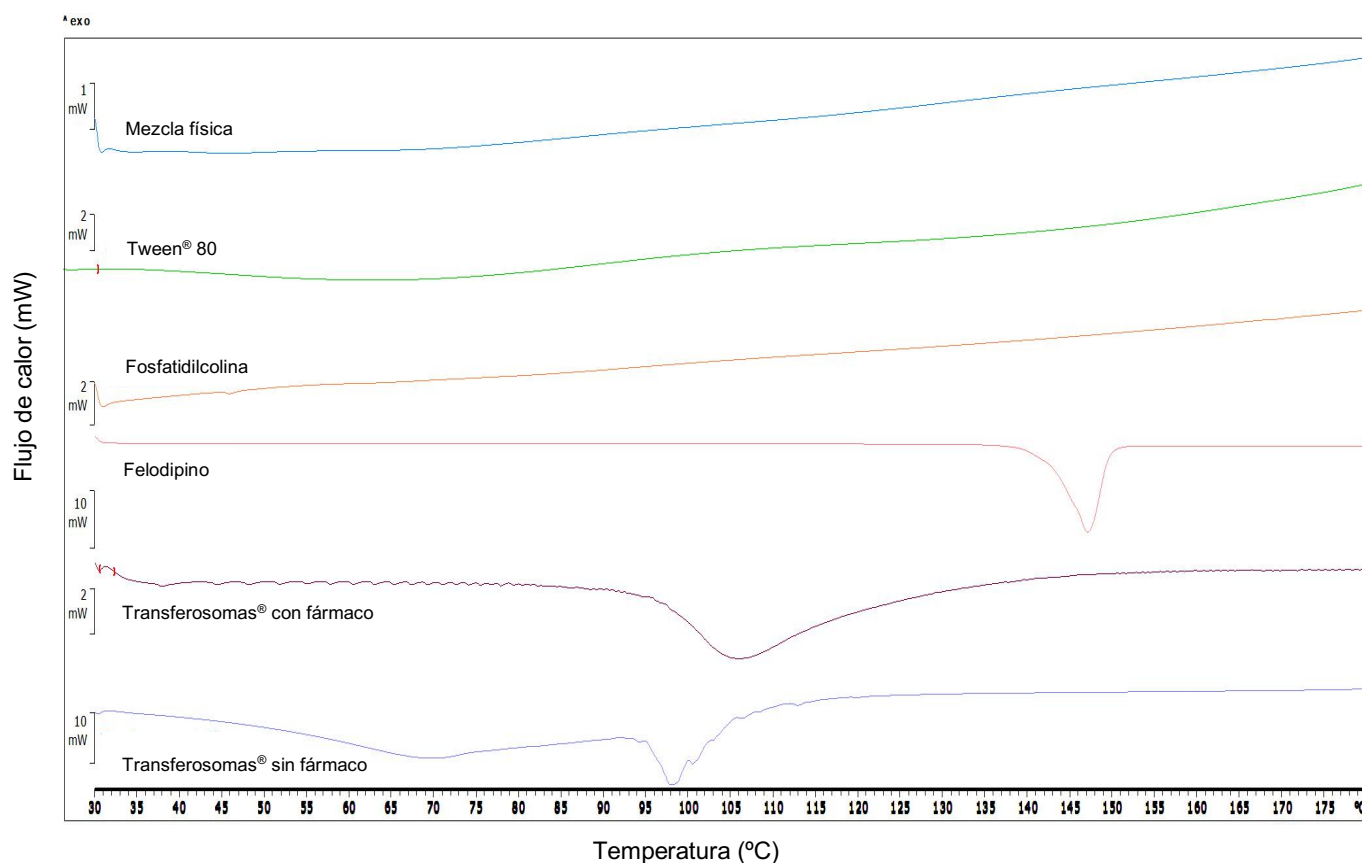


Figura 17. Termogramas de los componentes, mezcla física y sistemas óptimos con y sin felodipino.

8.6. Estudios de liberación *in vitro* de felodipino a partir de los Transferosomas®

En el perfil de liberación (ver Figura 18) se puede observar que el fármaco libre alcanzó una disolución del 42.79% en las primeras 48 h, aun cuando en las primeras horas fue evidente la diferencia entre las cantidades disueltas en comparación con las nanovesículas. Estas últimas, por su parte generaron una liberación de felodipino del 53.16% en el mismo tiempo de prueba, sin embargo, en las primeras 8 horas dispusieron fármaco en el medio un poco más del doble en comparación con el fármaco en suspensión, con una liberación más constante. En ambos se tuvo una liberación prolongada, que en el caso de las nanovesículas se debió a un proceso de difusión a



partir de los sistemas, ya que el fármaco se encapsuló de forma molecular y fue sometido a atravesar un camino de difusión.

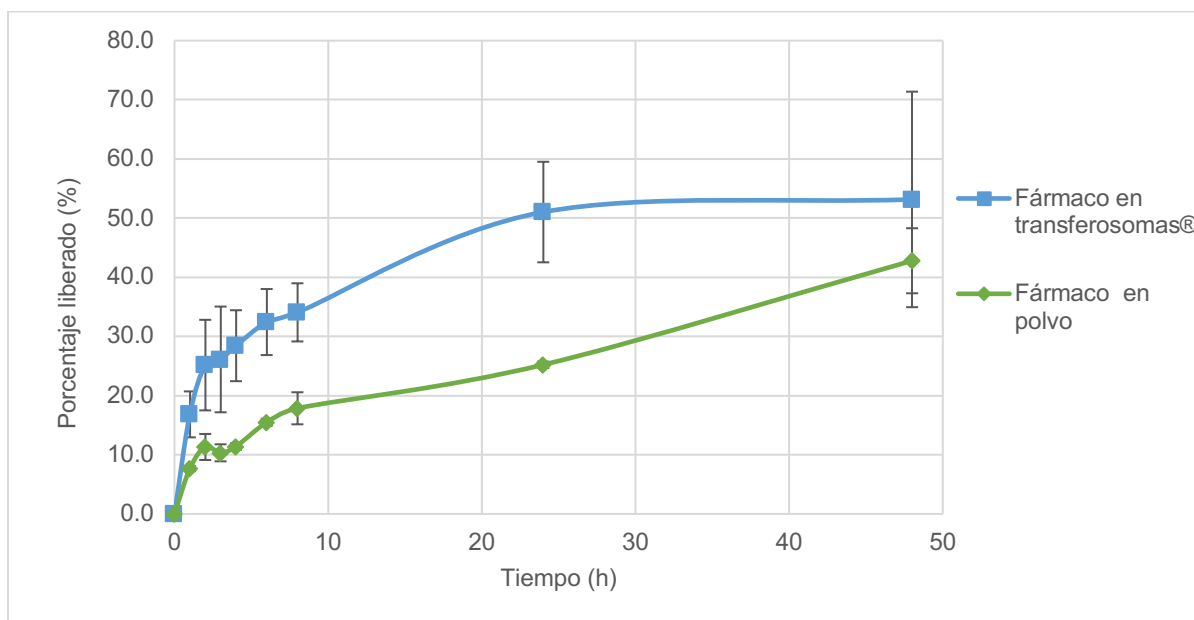


Figura 18. Perfil de liberación de felodipino en polvo y en Transferosomas®.

El modelado de los perfiles evidenció que el fármaco se libera por difusión fickiana a partir de un sistema matricial (Higuchi, Peppas) como se muestra en la Tabla 9. Mientras que en el polvo el control de la velocidad se encuentra dada por la disolución intrínseca del fármaco y su baja solubilidad acuosa, lo cual coincide con los reportes de (Jana, Mohanty, Pal, Manna, & Mohanta, 2014).

Tabla 9. Coeficiente de determinación de modelaje matemático.

Modelo matemático	R ²
Orden 0	0.8051
Orden 1	0.6876
Higuchi	0.9263
Korshmeier-Peppas	0.9432



8.7. Validación de métodos analíticos para permeabilidad y retención en piel de oreja de cerdo

8.7.1. Permeación de fármaco en la piel

En la Tabla 8 se muestran los parámetros de desempeño evaluados para la validación de los métodos analíticos, en donde se puede apreciar que estos cumplen con las especificaciones establecidas, demostrando que son aptos para su uso (Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, 2002), (ICH, 2005).

8.8. Pruebas de permeabilidad *ex vivo* de felodipino en tejido de cerdo

Los resultados de los perfiles de permeación obtenidos se muestran en la Figura 19. Se apreció que el efecto promotor que presentaron las nanovesículas flexibles sobre la permeabilidad en piel del felodipino en comparación cuando este se presenta libre y en suspensión. Este resultado es consistente con lo que se ha reportado para el uso de estos sistemas para la vía transdérmica. Los resultados son similares a los que reporta (Kassem, Aboul-Einien, & El Taweel, 2018) donde obtuvieron una mejor permeabilidad de fármacos clase II similares al felodipino. Este efecto promotor se puede explicar debido a que los tranferosomas[®] obtenidos tienen la capacidad de deformarse para atravesar la piel sin perder fármaco, alcanzando una permeación de 3.79 veces más que cuando el felodipino se encuentra libre.



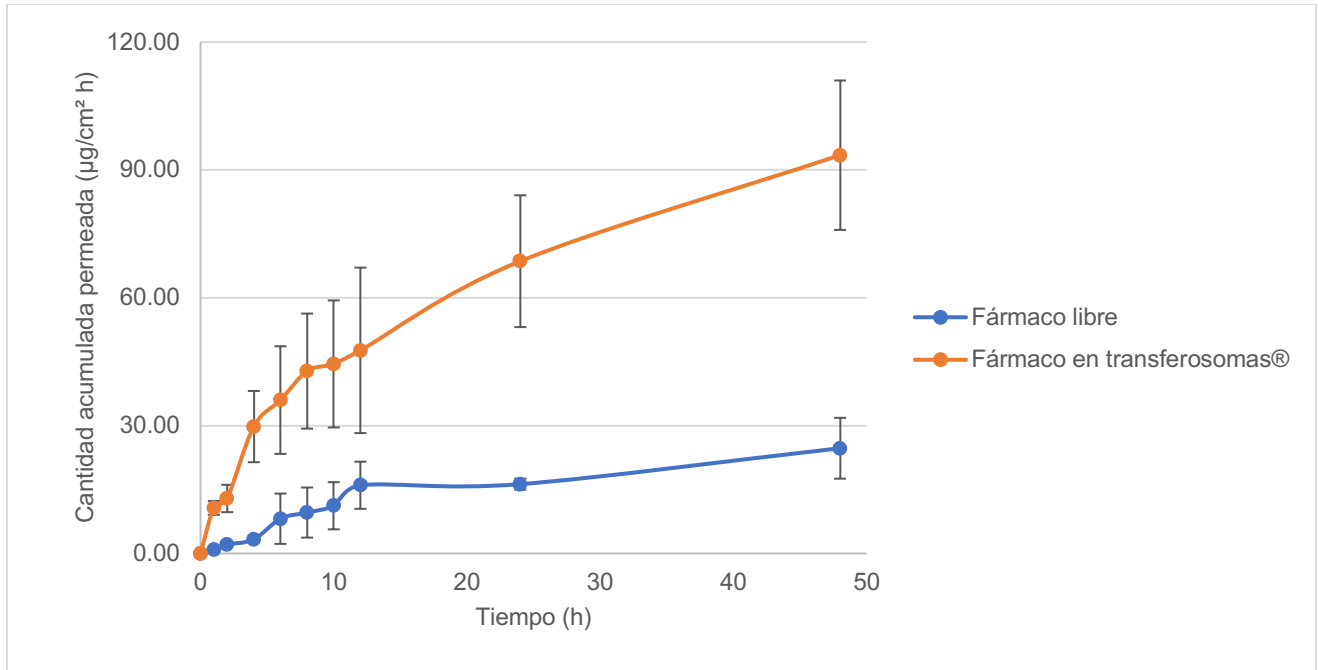


Figura 19. Perfiles de permeación de felodipino en piel de cerdo.

Una vez concluida la prueba de permeabilidad *ex vivo*, se retiraron los segmentos de piel del sistema de celdas Franz, se cortaron en pedazos pequeños para determinar el fármaco retenido en el tejido. Los resultados obtenidos para la determinación del fármaco retenido en piel se aprecian en la Figura 20, donde es posible observar que la cantidad retenida de fármaco fue mayor cuando se administra este en forma libre, lo cual puede deberse al hecho de que este fármaco presenta cierta lipofiliidad, tiene logP de 3.44 que sugiere su afinidad por las fases lipídicas, como la que se encuentra en el estrato córneo de la piel, favoreciendo una mayor permanencia de este en esa capa como ha sido referido por otros autores (Alkilani, McCrudden, & Donnelly, 2015).



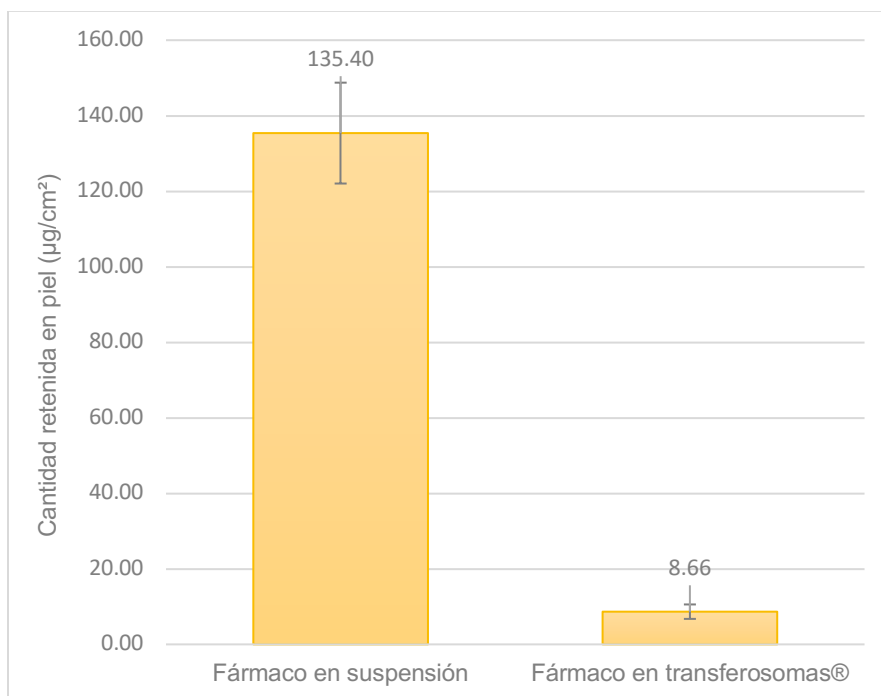


Figura 20. Cantidad de felodipino retenido en piel por cm².

La retención menor, para el caso de felodipino encapsulado, se explica y corrobora con los estudios de permeabilidad donde es evidente el acarreo que presentan las nanovesículas a través del estrato córneo promoviendo el paso de este debido a su tamaño (entre 300 y 400 nm) y su facilidad de deformación (Rai, Pandey, & Rai, 2017).

8.9. Estudio de estabilidad aparente

Se evaluó la estabilidad de las formulaciones a temperatura ambiente (TA) y a 4 °C, midiendo tamaño de vesícula, potencial zeta y contenido de fármaco cada semana durante un mes como han referido diferentes autores (Iskandarsyah, Rahmi, & Pangesti, 2018), (Wu, Li, & Lin, 2019) de acuerdo a la estabilidad que presentan los Transferosomas®. Las Figuras 21, 22 y 23 muestran los resultados obtenidos.



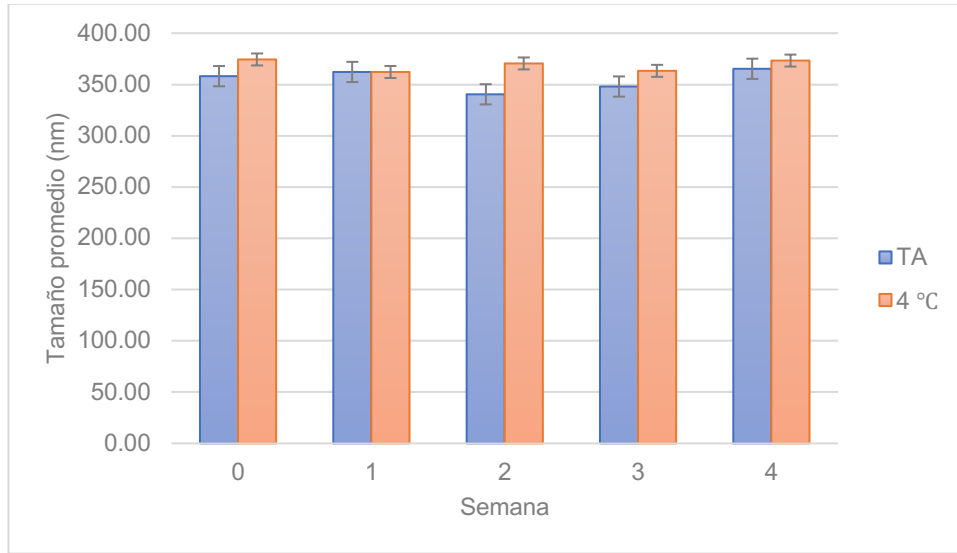


Figura 21. Estabilidad de Transferosomas® a partir del tamaño promedio monitoreada durante un mes.

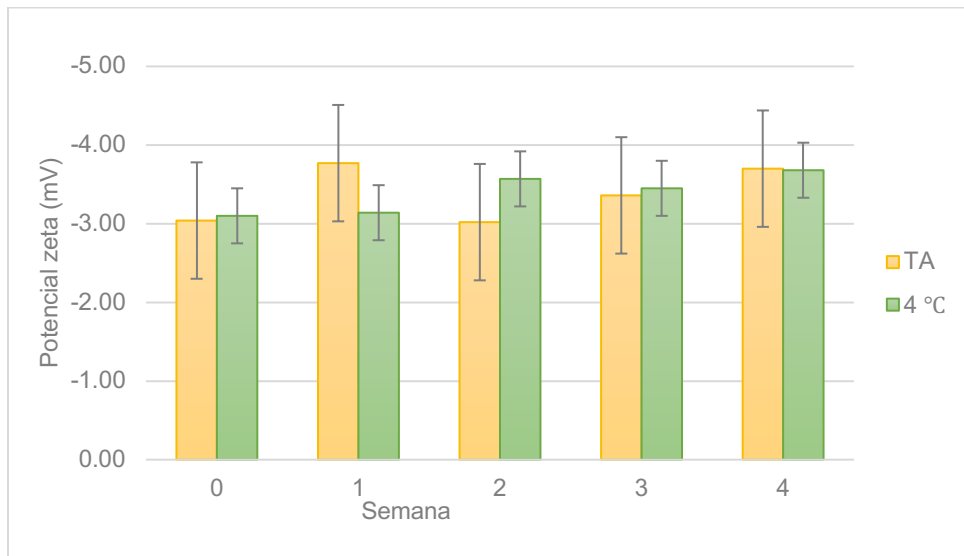


Figura 22. Estabilidad de Transferosomas® a partir del potencial zeta monitoreado durante un mes.



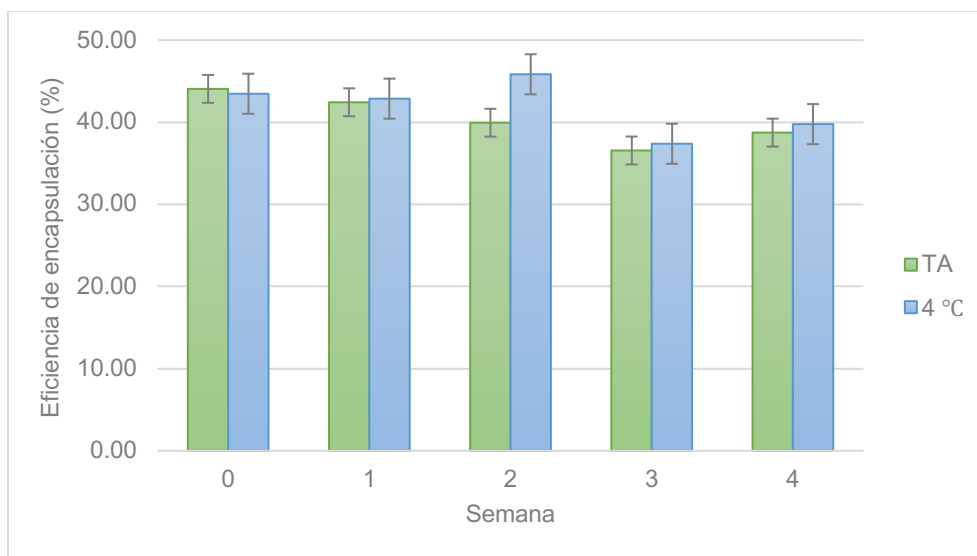


Figura 23. Estabilidad de *Transfersomas*® a partir de la eficiencia de encapsulación monitoreada durante un mes.

Se realizaron pruebas de ANOVA para determinar si existía diferencia significativa entre las formulaciones que se encontraban a temperatura ambiente en comparación con las refrigeradas (4 °C), como resultado no se observaron diferencias significativas ($p > 0.05\%$) en la talla promedio así como el potencial zeta, sin embargo, en la tercera semana se pudo observar un pérdida de 8.5% del fármaco a temperatura ambiente y de 18.5% a 4 °C, diferentes autores como (Modi & Bharadia, 2012), (Yusuf, Sharma, & Pathak, 2014) han referido que los *Transfersomas*® tienden a perder fármaco en los primeros 30 días, lo anterior debido a que podría haber una transición de la membrana de un estado semilíquido a uno líquido, sin embargo, se ha propuesto formular estas dispersiones para mejor su estabilidad (Luthfiah, Sagita, & Iskandarsyah, 2017).



9. CONCLUSIONES

En este proyecto se lograron obtener nanovesículas ultraflexibles cargadas con felodipino con propiedades adecuadas para administración transdérmica, ya que se caracterizaron Transferosomas[®] con diferentes proporciones de materias primas y condiciones de fabricación, en donde se evaluó la talla promedio, el PDI, el potencial zeta y la eficiencia de encapsulación. La Transferosomas[®] considerados como óptimos presentaron estabilidad física, una liberación prolongada para el felodipino y una capacidad para promover la permeación de este a través de la piel, con una menor retención en el tejido. Así,

- Se obtuvieron Transferosomas[®] empleando fosfatidilcolina, Tween[®] 80 y felodipino a partir del método de hidratación de capa fina, optimizando mediante el uso de diseños experimentales.
- A partir de 8 métodos distintos se pudo encapsular felodipino de manera eficiente en las nanovesículas flexibles, seleccionando como óptimo el método 6.
- Los Transferosomas[®] fueron caracterizados, encontrando formulaciones estables, con tallas promedio entre 300 y 400 nm, PDI menores a 0.7, flexibilidad y cargas de fármaco de hasta 44.5%.
- Finalmente se comprobó que los Transferosomas[®] son capaces de atravesar la piel para la liberación sistémica.
- Fue posible encapsular felodipino en Transferosomas[®] que de acuerdo a sus propiedades estructurales favorecieron la liberación y permeabilidad del fármaco. Y con lo anterior, ofrecer una alternativa para la mejora tanto en la eficacia terapéutica como en la comodidad del paciente.



10. PERSPECTIVAS

- Evaluar los Transferosomas[®] en una formulación de gel o parche para comprobar si existe una mejora en la aplicación y en la estabilidad de los nanosistemas.
- Evaluar las propiedades fisicoquímicas y biotecnológicas de la formulación.
- Realizar pruebas *in vivo* para determinar la efectividad y seguridad Transferosomas[®] o formulación.
- Utilizar la metodología para la incorporación de otros fármacos que presenten problemas para administrarse por vía oral, como lo son los de clase biofarmacéutica II y IV.



11. REFERENCIAS

- Caddeo, C., Manca, M. L., & Peris, J. E. (2018). Tocopherol-loaded transfersomes: In vitro antioxidant activity and efficacy T in skin regeneration. *International Journal of Pharmaceutics*, 551, 34-41.
- Langasco, R., Fancello, S., Rasso, G., Cossu, M., & Cavalli, R. (2019). Increasing protective activity of genistein by loading into transfersomes: A T new potential adjuvant in the oxidative stress-related neurodegenerative diseases? *International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology*, 52, 23-31.
- Chaudhary, H., Kohli, K., & Kumar, V. (2013). Nano-transfersomes as a novel carrier for transdermal delivery. *International Journal of Pharmaceutics*(454), 367–380.
- Chaurasiya, P., Ganju, E., Upmanyu, N., Ray, S. K., & Jain, P. (2019). Transfersomes: a novel technique for transdermal drug delivery . *Journal of Drug Delivery & Therapeutics*, 9(1), 279-285.
- Lebrón, M. d. (2015). Estrategias de vectorización de fármacos a través de la piel. Facultad de Farmacia, Universidad Complutense.
- Chiu, M. H., & Prenner, E. J. (2011). Differential scanning calorimetry: An invaluable tool for a detailed thermodynamic characterization of macromolecules and their interactions. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*, 3(1), 39-59.
- Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, M. A. (2002). *Guia de validación de métodos analíticos*.
- Luthfiah, A., Sagita, E., & Iskandarsyah. (2017). Physical Stability Testing of P-syneprine Prepared as Transfersome Gel. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 9.
- Czajkowska-Kośnik, A., Szekalska, M., & Winnicka, K. (2019). Nanostructured lipid carriers: A potential use for skin drug delivery systems. *Pharmacological Reports*, 71(1), 156-166.
- Alcalá Alcalá, S., & Quintanar-Guerrero, D. (2014). La terapia a nanoescala: ensamblaje de estructuras liberadoras de fármacos. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias Y Nanotecnología*, 7(12), 32-48.



- Al Shuwaii, A. H., Abdulrasool, B. K., & Abdulrasool, A. A. (2016). Optimization of elastic transfersomes formulations for transdermal delivery of pentoxifylline. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 102, 101-114.
- Ali, K. A., Elham, A. T., Zainab, M. Y., & Manal, M. F. (2019). The Thermal Analysis of Felodipine and Ramipril: Application to Quality Control. *Analytical Chemistry: An Indian Journal*, 19(1), 1-13.
- Alkilani, A. Z., McCrudden, M. T., & Donnelly, R. F. (2015). Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum. *ISRN pharmaceutics*, 7(4), 438-470.
- Amin, S., Sarfenejad, A., Ahmad, J., Kohli, K., & Mir, S. R. (2012). Nanovesicular Transfersomes for Enhanced Systemic Delivery of Telmisartan. *Advance Science, Engineering and Medicine*, 5, 1-10.
- Amnuakit, T., Limsuwan, T., Khongkow, P., & Boonme, P. (septiembre de 2018). Vesicular carriers containing phenylethyl resorcinol for topical delivery system; liposomes, transfersomes and invasomes. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(5), 472-484.
- Ascenso, A., Raposo, S., Batista, C., Cardoso, P., & Mendes, T. (2015). Development, characterization, and skin delivery studies of related ultradeformable vesicles: transfersomes, ethosomes, and transethosomes. *International Journal of Nanomedicine*(10), 5837–5851.
- Azagury, A., Khoury, L., Enden, G., & Kost, J. (2014). Ultrasound mediated transdermal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 72, 127-143.
- Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., & Rizzolio, F. (2020). The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules*, 25(1).
- Bhasin, B., & Londhe, V. Y. (2018). An overview of transfersomal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*.
- Brito, J., Pozo, A., García, C., Núñez-Vergara, L. J., Morales, J., Günther, G., & Pizarro, N. (2012). Photodegradation of nimodipine and felodipine in microheterogeneous systems. *Journal of the Chilean Chemical Society*, 57(3), 1313-1317.



- Brunton, L., Blumenthal, D., Buxton, I., & Paker, K. (2008). *Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics*. Mc Graw Hill.
- Bueno, J., Demirci, R., & Husnu, K. (2017). Antimicrobial Strategies in Novel Drug Delivery Systems. En *The Microbiology of Skin, Soft Tissue, Bone and Joint Infections* (págs. 271-286). Academic Press.
- Durango, N. M., Fuentes, C. A., Castillo, A. E., Gómez, L. M., Vecchiola, A., Fardella, C. E., & Kalergis, A. M. (23 de junio de 2016). Role of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System beyond Blood Pressure Regulation: Molecular and Cellular Mechanisms Involved in End-Organ Damage during Arterial Hypertension. *International Journal of Molecular Sciences*, *17*(7), 797.
- Flores-Hidalgo, J., & Alcalá-Alcalá, S. (2018). Estudio in vitro del efecto promotor de microemulsiones sobre la permeabilidad de naltrexona en piel.
- Fatima, M. T., Islam, Z., Ahmad, E., Barreto, G. E., & Ashraf, G. M. (2018). Ionic gradient liposomes: Recent advances in the stable entrapment and prolonged released of local anesthetics and anticancer drugs. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *107*, 34-43.
- Gupta, A., Aggarwal, G., Singla, S., & Arora, R. (31 de agosto de 2012). Transfersomes: A Novel Vesicular Carrier for Enhanced Transdermal Delivery of Sertraline: Development, Characterization, and Performance Evaluation. *Scientia Pharmaceutica*, *80*, 1061-1080.
- Herbal Hispania, S. L. (2020). *Pharma Line*. Recuperado el enero de 2020
- Hua, S. (2015). Lipid-based nano-delivery systems for skin delivery of drugs and bioactive. *Frontiers in Pharmacology*, *6*.
- Hwang, K., Kim, H., & Kim, D. J. (2016). Thickness of skin and subcutaneous tissue of the free flap donor sites: A histologic study. *Microsurgery*, *36*(1).
- ICH. (2005). *Validation of Analytical Procedures: text and methodology Q2(R1)*. International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.



- Iskandarsyah, Rahmi, A. D., & Pangesti, D. M. (2018). Comparison of the Characteristics of Transfersomes and Protransfersomes Containig Azelaic Acid. *Journal of Young Pharmacist*, 10(2), Suppl: s11-s15.
- Jain, S., Patel, N., Shah, M. K., & Vora, N. (2016). Recent Advances in Lipid-Based Vesicles and Particulate Carriers for Topical and Transdermal Application. *Journal of Pharmaceutical Science*, 1-23.
- Jana, U., Mohanty, A., Pal, S., Manna, P., & Mohanta, G. (2014). Preparation and in vitro characterization of felodipine loaded Eudragit RS100 nanoparticles. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science*, 6(4), 564-567.
- Joshi, A., Kulkarni, R., & Chaudhari, R. (2018). In-vitro and Ex-vivo evaluation of Raloxifene hydrochloride delivery using nano-transfersome based formulations. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*.
- Kassem, M. A., Aboul-Einien, M. H., & El Taweel, M. M. (2018). Dry Gel Containing Optimized Felodipine-Loaded Transfersomes: a Promising Transdermal Delivery System to Enhance Drug Bioavailability. *American Association of Pharmaceutical Scientist*, 19(5), 2155-2173.
- Katzung, B. G., Masters, S. B., & Trevors, A. J. (2015). *Farmacología básica y clínica*. Mc Graw Hill.
- Kupchik, N. (2018). *Consulting & education*. Recuperado el diciembre de 2019, de <https://nicolekupchikconsulting.com/a-new-calcium-channel-blocker-on-the-block/>
- Malvey, S., Rao, Venkateshwar, J., & Arumugam, M. K. (2019). Transdermal drug delivery system: A mini review. *The Pharma Innovation Journal*, 8(1), 181-197.
- Manconi, M., Caddeo, C., Sinico, C., Valenti, D., Mostallino, M. C., & Biggio, G. (2011). Ex vivo skin delivery of diclofenac by transcutol containing liposomes and suggested mechanism of vesicle-skin interaction. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 78, 27-35.
- Modi, C. D., & Bharadia, P. D. (2012). Transfersomes: A newdominants for transdermal drug delivery. *American Journal of PharmTech Research*, 2, 71-91.
- Modi, C. D., & Bharadia, P. D. (2012). Transfersomes: New Dominants for Transdermal Drug Deliver. *American Journal of Pharmatech Research*, 2(3), 71-91.



- Morais, A. L., Gravinez, A., de Sousa, M. E., Silva, P., & Ribeiro, G. (2016). Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Science*, 52(3).
- Morr, I., & Morr, C. G. (2007). Los antagonistas del calcio en la hipertensión arterial. *Revista Latinoamericana de Hipertensión*, 2(2), 59-64.
- Mulvany, M. (2002). Small Artery Remodeling and Significance in the Development of Hypertension. *American Physiological Society*, 105-109.
- National Center for Biotechnology Information. (2020). *PubChem*. Recuperado el mayo de 2020, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Felodipine>
- Nava, G., Piñón, E., Mendoza, L., Néstor, M., Quintanar, D., & Ganem, A. (2011). Formulation and in Vitro, ex Vivo and in Vivo Evaluation of Elastic Liposomes for Transdermal Delivery of Ketorolac Tromethamine. *Pharmaceutics*(3), 954-970.
- Organización Mundial de la Salud. (2015). Recuperado el junio de 2018, de <https://www.who.int/features/qa/82/es/>
- Palazi, E., Karavas, E., Barmpalexis, P., Kostoglou, M., Nanaki, S., Christodoulou, E., & Bikiaris, D. N. (2018). Melt extrusion process for adjusting drug release of poorly water soluble drug felodipine using different polymer matrices. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 114, 332-345.
- Pawar, A. Y., Jadhav, K. R., & Chaudari, L. H. (2016). Transfersome: A Novel Technique Which Improves Transdermal Permeability. *Asian Journal of Pharmaceutics*, 10(4).
- Rai, S., Pandey, V., & Rai, G. (2017). Transfersomes as versatile and flexible nano-vesicular carriers in skin cancer therapy: the state of the art. *Nano reviews and experiments*, 8(1), 1-18.
- Rajan, R., Jose, S., Mukund, V. B., & Vasudevan, D. (2011). Transfersomes - A vesicular transdermal delivery system for enhanced drug permeation. *Journal for Advance Pharmaceutical Technology & Research*, 2(3), 138-143.
- Ramezani, V., Honarvar, M., Seyedabadi, M., Karimollah, A., Mohammad Ranjbar, A., & Hashemi, M. (abril de 2018). Formulation and optimization of transfersome containing minoxidil and caffeine. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 44, 129-135.



- Reddy, Y. D., Sravani, A. B., Ravisankar, V., Prakash, P. R., Reddy, Y. R., & Bhaskar, N. V. (2015). Transfersomes A Novel Vesicular Carrier for Transdermal Drug Delivery System. *Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences*, 2(2), 193-208.
- Sahu, B. P., & Das, M. K. (2014). Nanosuspension for enhancement of oral bioavailability of felodipine. *Applied Nanoscience*, 4, 189-197.
- Sahu, B., & Das, M. (2014). Nanosuspension for enhancement of oral bioavailability of felodipine. *Applies nanoscience*, 4(2), 189. Obtenido de <https://www.drugbank.ca/drugs/DB01023>
- Shuwaili, A. H., Rasool, B. K., & Abdulrasool, A. A. (2016). Optimization of elastic transfersomes formulations for transdermal delivery of pentoxifylline. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 102, 101-114.
- Simon, A., Amaro, M. I., Healy, A. M., Cabral, L. M., & de Sousa, V. P. (2016). Comparative evaluation of rivastigmine permeation from a transdermal system in the Franz cell using synthetic membranes and pig ear skin with in vivo-in vitro correlation. *International Journal of Pharmaceutics*, 512(1), 234-241.
- Stewart, J. (2017). Primary prevention of cardiovascular disease: A review of contemporary guidance and literature. *JRSM Cardiovascular Disease*, 6.
- Tanwar, H., & Sachdeva, R. (2018). Transdermal drug delivery: A review. *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*.
- Thiruvengadam, M., Rajakumar, G., & Chung, I.-M. (2018). Nanotechnology: current uses and future applications in the food industry. *3 Biotech*, 8(1).
- Vinardell, M., & Mitjans, M. (10 de octubre de 2015). Nanocarriers for Delivery of Antioxidants on the Skin. *Cosmetics*, 2(4), 342-354.
- Wang, J., Wei, Y., Fei, Y.-R., Fang, L., & Zheng, H.-S. (2017). Preparation of mixed monoterpenes edge activated PEGylated transfersomes to improve the in vivo transdermal delivery efficiency of sinomenine hydrochloride. *International Journal of Pharmaceutics*, 533(1), 266-274.
- World Health Organization. (17 de mayo de 2017). Recuperado el mayo de 2020, de [https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))



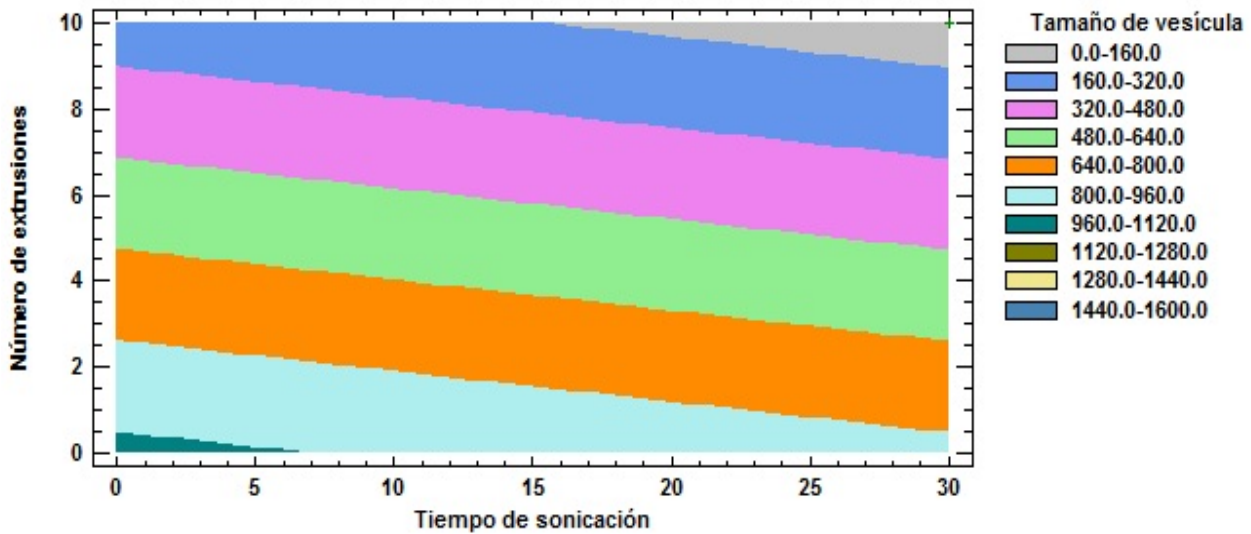
- Wu, P.-S., Li, Y.-S., & Lin, C.-C. (2019). Preparation and Evaluation of Novel Transfersomes Combined with the Natural Antioxidant Resveratrol. *Molecules*, 24(3).
- Yousef, H., Alhajj, M., & Sharma, S. (2020). Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls*.
- Yusuf, M., Sharma, V., & Pathak, K. (2014). Nanovesicles for Transdermal Delivery of felodipine: Development, characterization, and pharmacokinetics. *International Journal of Pharmaceutical Investigation*, 4(3), 119-130.



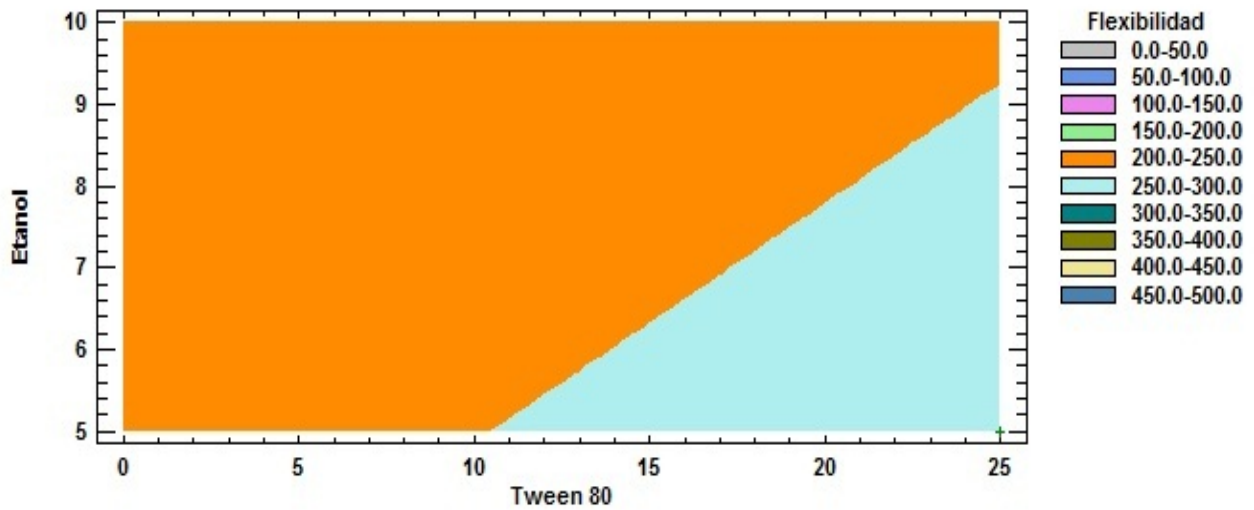
ANEXOS

Anexo 1. Superficie de respuesta para optimización de sistema.

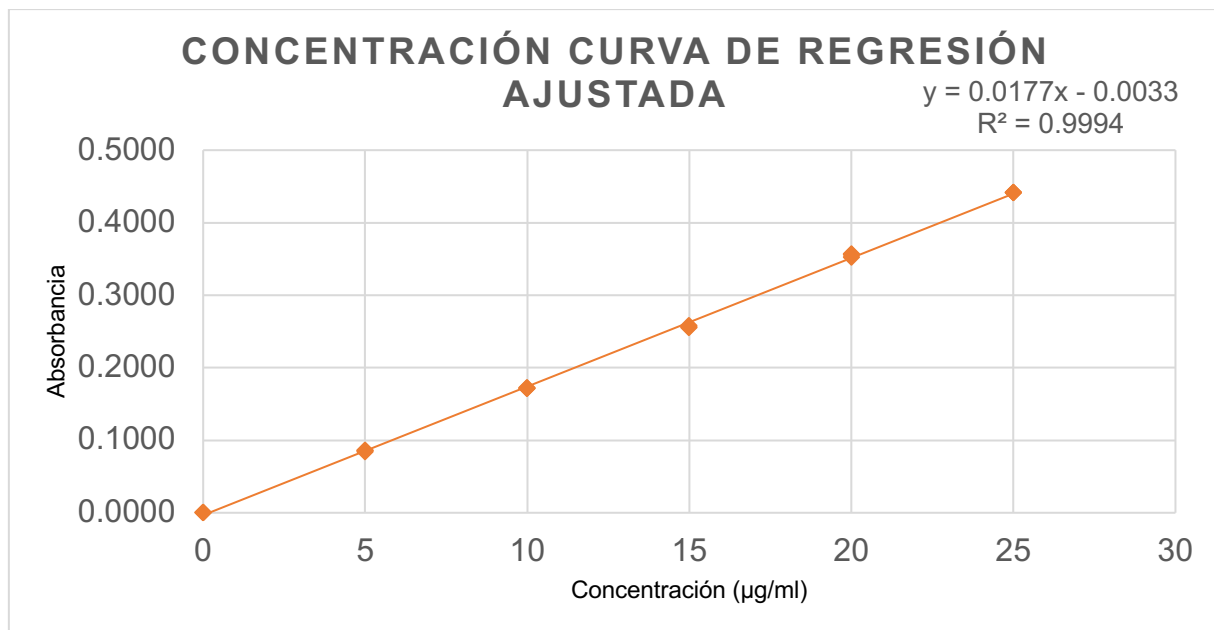
Contornos de la Superficie de Respuesta Estimada
Tween 80=25.0, Etanol=5.0



Contornos de la Superficie de Respuesta Estimada
Tiempo de sonicación=15.0, Número de extrusiones=10.0



Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración	CV (%)
5	0.0858	0.0172	1.19652897
5	0.0861	0.0172	
5	0.0842	0.0168	
10	0.1712	0.0171	0.29898629
10	0.1722	0.0172	
10	0.1715	0.0172	
15	0.2578	0.0172	0.48712933
15	0.2560	0.0171	
15	0.2554	0.0170	
20	0.3525	0.0176	0.64231696
20	0.3565	0.0178	
20	0.3564	0.0178	
25	0.4420	0.0177	0.04526935
25	0.4416	0.0177	
25	0.4418	0.0177	
	Media	0.0174	
	DE	0.0003	
	CV	1.8660 %	



Exactitud del método

Concentración teórica (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	% de recobro
5	5.0621	101.24
5	4.9379	98.76
5	5.0734	101.47
15	14.4689	96.46
15	14.6949	97.97
15	15.4124	102.75
25	24.3390	97.36
25	24.4068	97.63
25	24.2260	96.90
Media	19.59	98.95
DE	5.19	2.28
CV	26.51	2.31
Intervalo confianza	3.39	1.49
Límite inferior	16.20	97.46
Límite superior	22.98	100.44

Precisión del método

Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración
10	0.1722	0.0172
10	0.1747	0.0175
10	0.1708	0.0171
20	0.3514	0.0176
20	0.3519	0.0176
20	0.3506	0.0175
	Media	0.0174
	DE	0.0002
	CV	1.2125 %



Determinación del límite de detección y cuantificación

Límite de detección

$$LD = 3.3 \sigma/S$$

σ = desviación estándar del
intercepto

0.2994
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración

Límite de cuantificación

$$LC = 10 \sigma/S$$

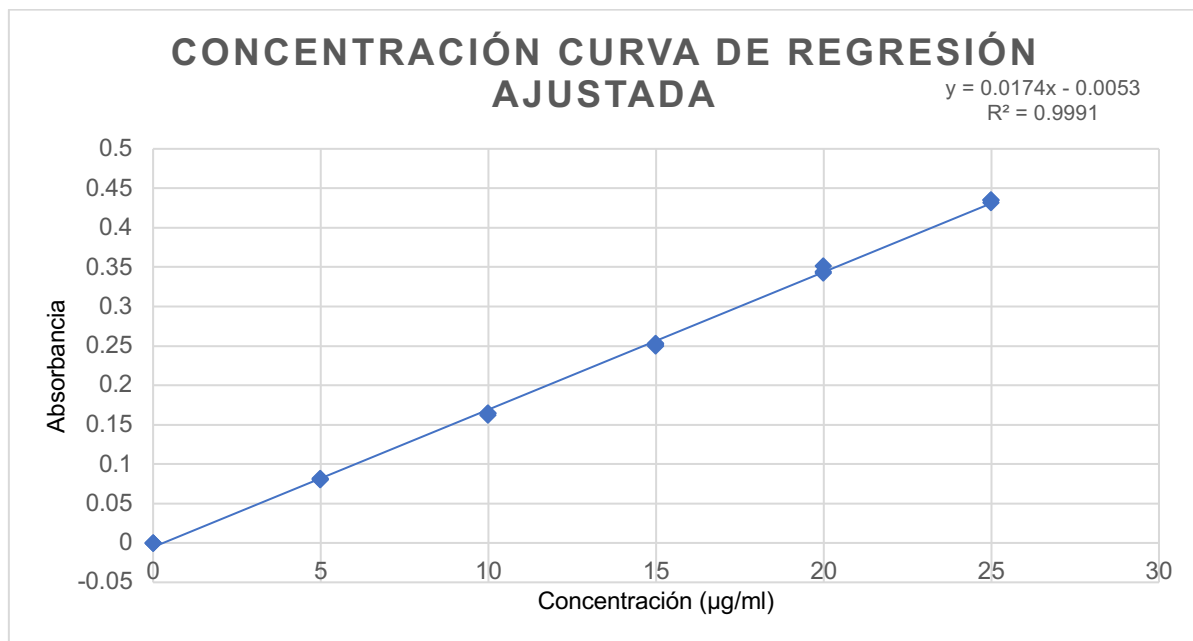
σ = desviación estándar del
intercepto

0.9073
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración



Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración	CV (%)
5	0.0815	0.0163	1.14616446
5	0.0800	0.0160	
5	0.0817	0.0163	
10	0.1650	0.0165	1.00809711
10	0.1620	0.0162	
10	0.1647	0.0165	
15	0.2521	0.0168	0.70653186
15	0.2533	0.0169	
15	0.2498	0.0167	
20	0.3515	0.0176	1.36005284
20	0.3446	0.0172	
20	0.3425	0.0171	
25	0.4350	0.0174	0.42628643
25	0.4352	0.0174	
25	0.4319	0.0173	
	Media	0.0168	0.9294
	DE	0.0005	
	CV	2.99 %	



Exactitud del método

Concentración teórica (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	% de recobro
5	5.0805	101.61
5	4.9080	98.16
5	4.9770	99.54
15	14.8333	98.89
15	14.7069	98.05
15	15.0460	100.31
25	25.0805	100.32
25	24.9023	99.61
25	24.8218	99.29
Media	19.90	99.53
DE	5.52	1.12
CV	27.73	1.13
Intervalo confianza	3.61	0.73
Límite inferior	16.29	98.80
Límite superior	23.50	100.26

Precisión del método

Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración
10	0.1674	0.0167
10	0.1659	0.0166
10	0.1690	0.0169
20	0.3491	0.0175
20	0.3476	0.0174
20	0.3494	0.0175
	Media	0.0171
	DE	0.0004
	CV	2.2968 %



Determinación del límite de detección y cuantificación

Límite de detección

$$LD = 3.3 \sigma/S$$

σ = desviación estándar del
intercepto

0.3694
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración

Límite de cuantificación

$$LC = 10 \sigma/S$$

σ = desviación estándar del
intercepto

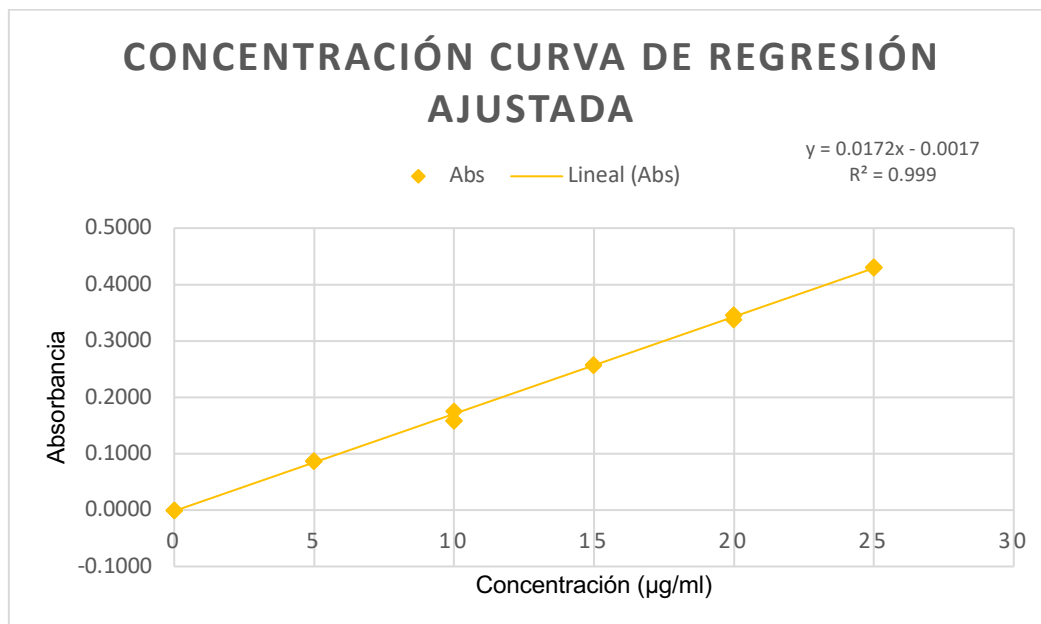
1.1194
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración



Anexo 4. Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos para la retención de felodipino en piel.

Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración	CV (%)
5	0.0867	0.0173	0.20000587
5	0.0867	0.0173	
5	0.0864	0.0173	
10	0.1588	0.0159	5.96774701
10	0.1588	0.0159	
10	0.1758	0.0176	
15	0.2576	0.0172	0.04483694
15	0.2574	0.0172	
15	0.2576	0.0172	
20	0.3460	0.0173	1.48081585
20	0.3462	0.0173	
20	0.3373	0.0169	
25	0.4296	0.0172	0.18634259
25	0.4305	0.0172	
25	0.4312	0.0172	
	Media	0.0171	1.5759
	DE	0.0005	
	CV	2.9432 %	



Exactitud del método

Concentración teórica (µg/ml)	Concentración real (µg/ml)	% de recobro
5	5.0581	101.16
5	5.0698	101.40
5	5.1628	103.26
15	15.7791	105.19
15	15.6570	104.38
15	15.2209	101.47
25	24.4244	97.70
25	24.4244	97.70
25	24.8430	99.37
Media	20.06	101.29
DE	4.94	2.70
CV	24.64	2.66
Intervalo confianza	3.23	1.76
Límite inferior	16.83	99.53
Límite superior	23.29	103.05

Precisión del método

Concentración (µg/ml)	Abs	Abs/concentración (µg/ml)
10	0.1676	0.0168
10	0.1601	0.0160
10	0.1626	0.0163
20	0.3423	0.0171
20	0.3428	0.0171
20	0.3427	0.0171
	Media	0.0167
	DE	0.0005
	CV	2.9517 %



Determinación del límite de detección y cuantificación

Límite de detección

$$LD = 3.3 \sigma/S$$

σ = desviación estándar del
intercepto

0.3694
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración

Límite de cuantificación

$$LC = 10 \sigma/S$$

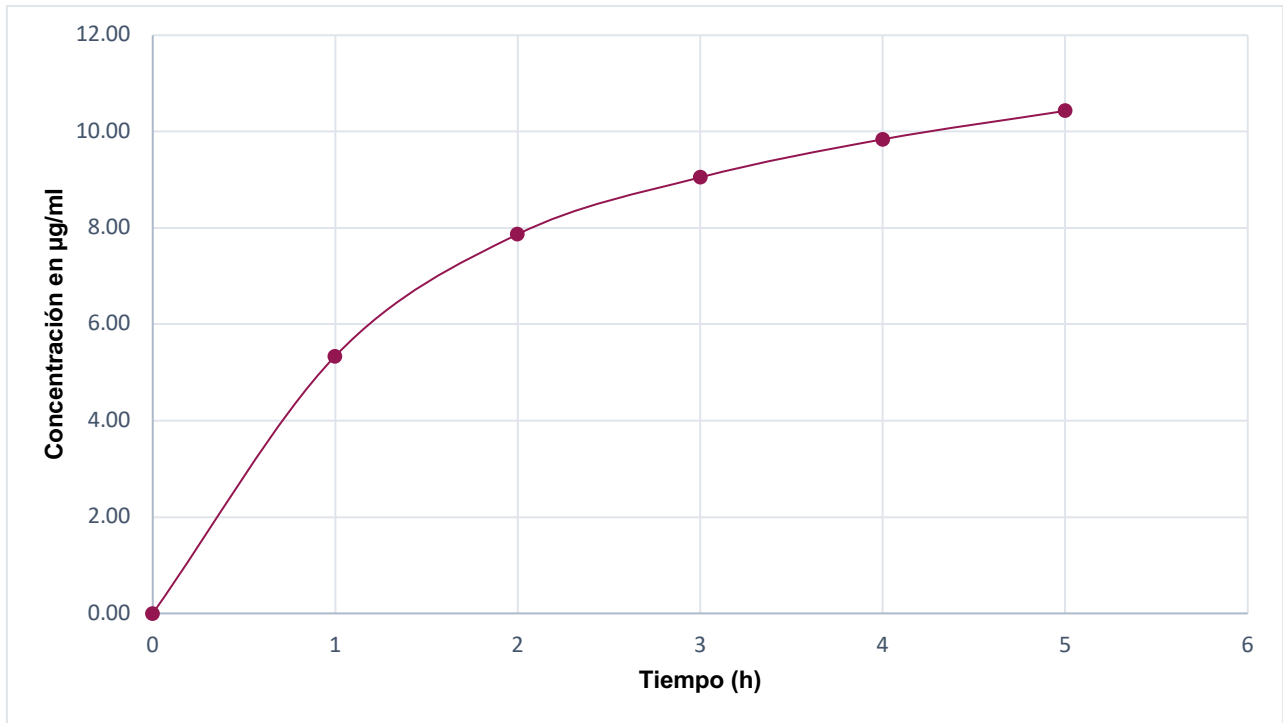
σ = desviación estándar del
intercepto

1.1194
 $\mu\text{g/ml}$

S = pendiente de la curva de
calibración



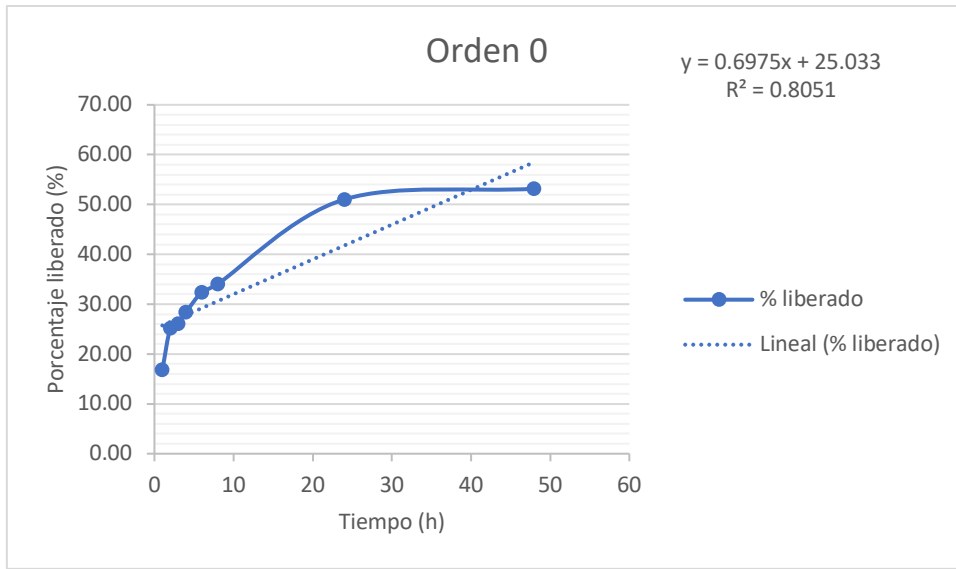
Anexo 5. Desempeño de la liberación del felodipino en bolsas de diálisis en un medio etanol:agua (1:1).

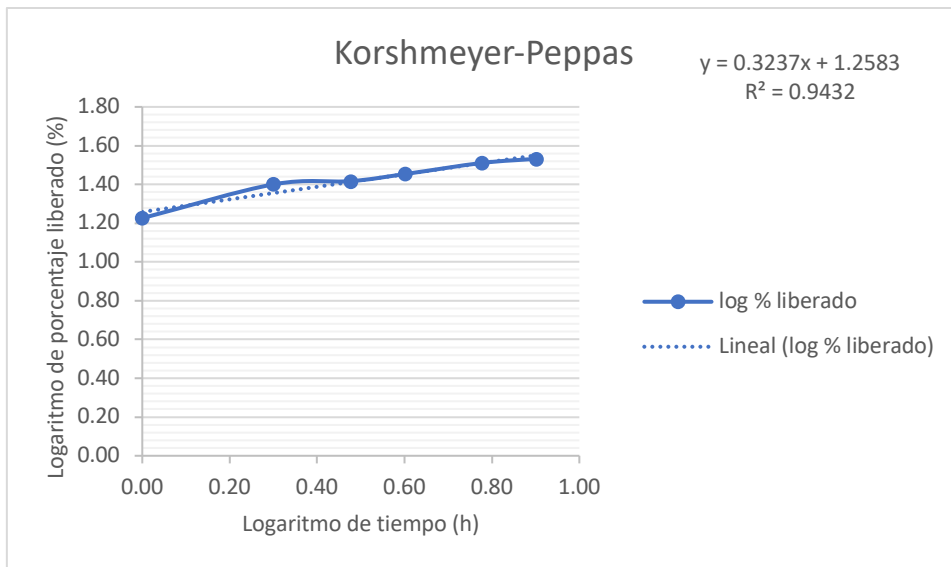
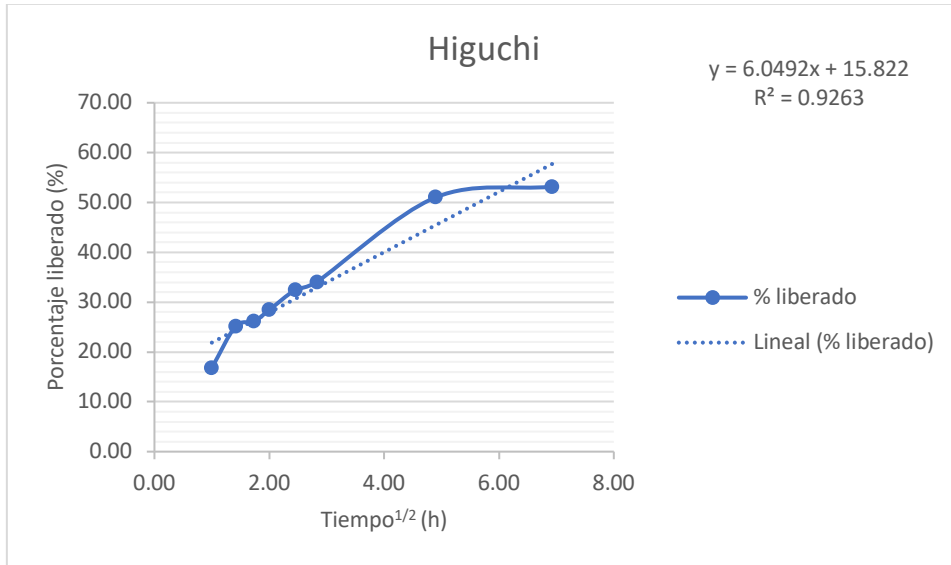


Tiempo (h)	Concentración (µg/ml)
0	0.00
1	5.34 ± 0.60
2	7.87 ± 0.61
3	9.05 ± 0.52
4	9.84 ± 0.49
5	10.43 ± 0.32



Anexo 6. Gráficos de modelado matemático.





Anexo 7. Rendimiento de los Transferosomas[®] considerados como óptimos.

Muestra	Peso inicial (mg)	Peso de tubos (mg)	Peso final con tubos (mg)	Rendimiento (%)
1	200.5	6665.9	6813.4	73.6
2	200.3	6743.4	6880.2	68.3
3	200.4	6678.9	6839.2	80.0
			Promedio	74.0 ± 5.9



TEF0031



"INNOVACIÓN Y DESARROLLO FARMACÉUTICO
CON IMPACTO EN LA SALUD Y BIENESTAR DE LA POBLACIÓN"

LI Congreso Nacional de CIENCIAS FARMACÉUTICAS



La Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C.
otorga el presente

RECONOCIMIENTO a:

Cintha Aguilar Arana, Sergio Alcalá Alcalá

Por la presentación del trabajo:
**Optimización del tamaño promedio de transferosomas® empleando un
diseño experimental**

 Septiembre 2018, Puerto Vallarta, Jalisco.

Dr. Efrén Hernández Baltazar
Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.

 Dra. Verónica Rodríguez López
Dirección de Ciencia y Tecnología de la Asociación Farmacéutica Mexicana, A. C.





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS
A través de la Facultad de Farmacia



Hace constar que el:

L.F. Cinthya Aguilar Arana

Participó en el ciclo de seminarios de la Facultad de
Farmacia con la ponencia:

"PREPARACIÓN, CARACTERIZACIÓN Y ENCAPSULACIÓN DE FELODIPINO EN NANOVESÍCULAS ULTRAFLEXIBLES"

Cuernavaca, Morelos a 6 de mayo 2019.

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia



Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director





UADY
UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA
DE YUCATÁN

"Luz, Ciencia y Verdad"

FACULTAD DE QUÍMICA

La Facultad de Química de la Universidad Autónoma de Yucatán
otorga la presente

CONSTANCIA

A: Cinthya Aguilar Arana, Sergio Alcalá Alcalá, María Guadalupe Nava Arzaluz, Jesús Rivera Islas

Por la presentación del poster "Obtención y caracterización in vitro de liposomas ultraflexibles para administración transdérmica, cargados con felodipino" en el marco del 1er. Foro Nacional de Ciencias Farmacéuticas realizado del 2 al 6 de septiembre en las instalaciones de esta Facultad.

Mérida Yucatán México, a 02 de septiembre de 2019


Dra. Zulema Osiris Cantillo Ciaú
Directora





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

A través de la Facultad de Farmacia



Otorga la presente:

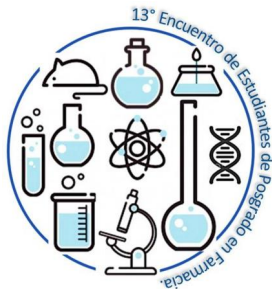
CONSTANCIA

a:

Cinthya Aguilar Arana y Sergio Alcalá Alcalá

Por su participación en la presentación del cartel titulado **"OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN IN VITRO DE LIPOSOMAS ULTRAFLEXIBLES PARA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA, CARGADOS CON FELODIPINO"** en el 13° Encuentro de Estudiantes de Posgrado en Farmacia.

Cuernavaca, Morelos a 21 de noviembre del 2019.



Dr. Efrén Hernández Baltazar
Director de la Facultad de Farmacia

