

---

---

**Evaluación *in vitro* del efecto promotor de  
microemulsiones de clorhidrato de  
naltrexona sobre la permeabilidad en piel**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:**

**MAESTRO EN FARMACIA**

**PRESENTA:**

**L.F. JULIETA FLORES HIDALGO**

**DIRECTOR DE TESIS**

**DR. SERGIO ALCALÁ ALCALÁ**

**CUERNAVACA, MORELOS**

**FECHA: MAYO DE 2018**



FACULTAD DE FARMACIA COORDINACIÓN DE POSGRADO

Av. Universidad 1001 Chamilpa, Cuernavaca, Morelos, México. C.P. 62210  
Tel. (01 777) 329 7089 y 329 7000 Ext. 3385



**Fecha:** 12 de diciembre de 2017  
**Asunto:** Cambio de título.  
**Medio de notificación:** Impresa  
**Folio:** FF/D/SAc/CIP/MF/139/2017

**L.F. JULIETA FLORES HIDALGO**  
**ESTUDIANTE AL PROGRAMA DE MAESTRÍA EN FARMACIA**  
**P R E S E N T E**

Por este medio le informo que en sesión ordinaria del Consejo Interno de Posgrado celebrada el día 06 de diciembre de 2017, se analizó su solicitud de cambio de título, así como asignación de jurado.

Una vez analizado el proyecto le informo que el CIP propone que el título final quede de la siguiente manera: "Evaluación *in vitro* del efecto promotor de microemulsiones de clorhidrato de naltrexona sobre la permeabilidad en piel"

Quedando integrado su comité de la siguiente manera:

**PRESIDENTE:** Dra. Dea Herrera Ruiz.

**SECRETARIO:** Dr. Julio César Rivera Leyva.

**VOCAL 1:** cDr. Sergio Alberto Bernal Chávez.

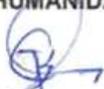
**VOCAL 2:** M.F. Edgar Barrera Bautista.

**VOCAL 3:** Dra. Inés fuentes Noriega.

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"**



**DR. JULIO CÉSAR RIVERA LEYVA**  
**JEFATURA DE POSGRADO**



C.c.p. Dra. Dea Herrera Ruiz, Dr. Julio César Rivera Leyva, cDr..Sergio Alberto Bernal Chávez, M.F. Edgar Barrera Bautista, Dra. Inés fuentes Noriega.

MITV

## **DEDICATORIAS Y AGRADECIMIENTOS.**

En primer lugar, a Dios, por darme vida, por ponerme en este camino profesional y darme la paciencia, sabiduría y fortaleza para enfrentar esta vida y concluir esta etapa.

Agradezco a la Universidad Autónoma del Estado de Morelos y a la Universidad Nacional Autónoma de México por brindar espacio en sus áreas de trabajo para desarrollar mi proyecto de investigación.

Al laboratorio 1 de Investigación en Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Farmacia de la UAEM, y al laboratorio de Investigación y Posgrados en Tecnología Farmacéutica Laboratorio L-323 de la FES Cuautitlán Campo 1, por brindarme el apoyo para proporcionarme los materiales para realizar este trabajo.

A CONACyT, ya que gracias a la beca otorgada durante todo el programa pude concluir esta maestría. Con número de Registro CVU 741771 y Número de Beca 435606

A mi comité tutor, Dr. Sergio Alcalá Alcalá, Dra. Adriana Ganem Rondero y Dr. Julio César Rivera Leyva, por su apoyo, guía, consejo y por compartir su conocimientos y experiencias para llevar a cabo de la mejor manera este trabajo.

A mi esposo Sinue y mis hijos Emi y Emman, de quienes siempre he recibido cariño, apoyo y motivación para concluir esta etapa de aprendizaje y crecimiento.

A mis suegros Irma y Eliseo, a mi cuñado Memo y Yuri, quienes también han mostrado siempre su apoyo y cariño incondicional.

Agradezco a mis amigas Anabel, Brenda y Sandra por brindarme su amistad y apoyo incondicional; así como también a mis compañeros y amigos del laboratorio, Cinthya, Kevin, Ana, Areli, Josué, Nayara, Eloísa, con los que compartí enseñanzas, y muchos momentos agradables.

## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL.....	2
ÍNDICE DE FIGURAS .....	5
ÍNDICE DE TABLAS .....	7
ABREVIATURAS.....	8
RESUMEN .....	9
ABSTRACT.....	11
1. INTRODUCCIÓN .....	13
2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO .....	15
2.1 ALCOHOLISMO, UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA.....	15
2.1.1 Tratamiento.....	16
2.2 NALTREXONA .....	17
2.2.1 Formas de dosificación disponibles para naltrexona y sus desventajas. ....	18
2.3 VÍA TRANSDÉRMICA PARA LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS....	21
2.3.1 La piel .....	21
2.3.2 Absorción de fármacos a través de la piel. ....	26
2.4 SISTEMAS DE LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA (SLT).....	28
2.4.1 Ventajas y desventajas de los SLT .....	30
2.5 ESTRATEGIAS PARA MEJORAR EL PASO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL.....	31
2.6 MICROEMULSIONES.....	33
2.6.1 Definición.....	33
2.6.2 Componentes de una microemulsión. ....	36
2.6.3 Tipos de microemulsiones. ....	38
2.6.4 Caracterización de microemulsiones .....	40
2.7 PRUEBAS DE PERMEABILIDAD DE FÁRMACOS <i>IN VITRO</i> .....	41
2.7.1 Métodos utilizando celdas de difusión. ....	42
2.7.2 Modelos de membrana .....	43
3. JUSTIFICACIÓN .....	44
4. OBJETIVO GENERAL .....	45
4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	45
5. HIPÓTESIS .....	46

<b>6. MATERIALES Y EQUIPOS</b> .....	47
<b>6.1 MATERIALES</b> .....	47
<b>6.2 EQUIPOS</b> .....	47
<b>6.3 FÁRMACO, EXCIPIENTES Y REACTIVOS</b> .....	47
<b>7. METODOLOGÍA</b> .....	49
<b>7.1 SELECCIÓN DE MATERIALES</b> .....	50
<b>7.2 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO</b> .....	50
<b>7.3 DESARROLLO DE DIAGRAMAS PSEUDOTERNARIOS</b> .....	51
7.3.1 Delimitación de la zona de microemulsión. ....	52
<b>7.4 PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS</b> .....	52
<b>7.5 CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES OBTENIDAS</b> .....	52
7.5.1 Tamaño promedio de glóbulo y potencial zeta.....	52
7.5.2 Tipo de microemulsión.....	53
7.5.3 Carga de fármaco .....	53
<b>7.6 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b> .....	53
7.6.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de naltrexona.....	53
7.6.2 Método para evaluar el paso de clorhidrato de naltrexona a través de la piel.....	54
7.6.3 Método analítico para determinar el fármaco remanente en la piel.....	56
<b>7.7 PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL <i>IN VITRO</i></b> .....	56
7.7.1 Estudios de permeabilidad de naltrexona.....	56
7.7.2 Estudios de fármaco retenido en piel.....	57
<b>7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO</b> .....	58
<b>8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	59
<b>8.1 SELECCIÓN DE MATERIALES Y PRUEBAS DE SOLUBILIDAD</b> .....	59
<b>8.2 DIAGRAMAS SEUDOTERNARIOS (ZONAS DE ME) Y CARACTERIZACIÓN</b> .....	59
<b>8.3 SELECCIÓN DE LAS MICROEMULSIONES ÓPTIMAS</b> .....	78
<b>8.4 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS</b> .....	80
8.4.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción ( $\lambda_{\max}$ ) de naltrexona.....	80
8.4.2 Validación de los métodos analíticos para las pruebas en piel..	81
<b>8.5 ESTUDIOS DE PERMEABILIDAD <i>IN VITRO</i></b> .....	82
8.5.1 Prueba de permeación en celdas de franz .....	82

8.5.2 Fármaco remanente en piel.....	86
9. CONCLUSIONES.....	88
10. PERSPECTIVAS.....	90
11. BIBLIOGRAFÍA.....	91
12. ANEXOS.....	96

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Circuitos neuroquímicos involucrados en la dependencia al alcohol.....	15
<b>Figura 2.</b> Estructuras de naltrexona y sus principales propiedades fisicoquímicas.....	17
<b>Figura 3.</b> Metabolismo de naltrexona.....	19
<b>Figura 4.</b> Diagrama esquemático de la estructura de la piel.....	22
<b>Figura 5.</b> La epidermis y sus estratos.....	23
<b>Figura 6.</b> Organización del estrato córneo.....	24
<b>Figura 7.</b> El estrato córneo organizado estructuralmente como cemento y ladrillos.....	25
<b>Figura 8.</b> Tipos de transporte en la absorción cutánea.....	27
<b>Figura 9.</b> Estrategias para mejorar el paso de fármacos a través de la piel.....	31
<b>Figura 10.</b> Representación esquemática de un diagrama ternario de fases, mostrando la región de emulsiones.....	35
<b>Figura 11.</b> Representación esquemática del tamaño de una gota para diferentes tipos de emulsiones.....	36
<b>Figura 12.</b> Representación transversal de una gota esférica de microemulsión O/W.....	37
<b>Figura 13.</b> Clasificación de las microemulsiones.....	39
<b>Figura 14.</b> Celdas de difusión tipo Franz.....	42
<b>Figura 15.</b> Esquema general de la metodología empleada.....	50
<b>Figura 16.</b> Oreja de cerdo sin tratar en contacto con buffer de fosfatos pH 7.4.....	54
<b>Figura 17.</b> Sistema para pruebas de permeabilidad con celdas de Franz.....	56
<b>Figura 18.</b> Mezclas, diferencia de microemulsiones y emulsiones gruesas.....	60
<b>Figura 19.</b> Diagrama pseudoternario Sistemas Tween 80-Transcutol®-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:1.....	61
<b>Figura 20.</b> Diagrama pseudoternario Sistemas Tween 80-Transcutol® -Ácido Oleico-Agua Proporción 2:1 .....	62
<b>Figura 21.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:2.....	63
<b>Figura 22.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:1.....	64
<b>Figura 23.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 2:1.....	65

<b>Figura 24.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:2.....	66
<b>Figura 25.</b> Sistema pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.....	67
<b>Figura 26.</b> Sistema pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2.....	68
<b>Figura 27.</b> Sistema pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.....	69
<b>Figura 28.</b> Diagrama pseudoternario Sistemas Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.....	70
<b>Figura 29.</b> Diagrama pseudoternario Sistemas Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.....	71
<b>Figura 30.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2.....	72
<b>Figura 31.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.....	73
<b>Figura 32.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-Transcutol®-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.....	74
<b>Figura 33.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.....	76
<b>Figura 34.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.....	77
<b>Figura 35.</b> Diagrama pseudoternario Sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2.....	78
<b>Figura 36.</b> Carga de fármaco en los sistemas microemulsionados. Se muestra media $\pm$ desviación estándar.....	79
<b>Figura 37.</b> Espectro de Absorción UV de naltrexona .....	81
<b>Figura 38.</b> Sistemas para las pruebas de permeación <i>in vitro</i> utilizando celdas de Franz .....	83
<b>Figura 39.</b> Perfiles de permeación de Naltrexona en piel <i>in vitro</i> .....	84
<b>Figura 40.</b> Cantidad de Naltrexona retenida en piel.....	87

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Medicamentos aprobados en México para el tratamiento del alcoholismo .....	16
<b>Tabla 2.</b> Comparativo de las propiedades ideales de un fármaco para la administración transdérmica y la naltrexona .....	20
<b>Tabla 3.</b> Ejemplos de promotores químicos de permeación.....	32
<b>Tabla 4.</b> Comparación de microemulsiones con emulsiones convencionales o gruesas.	35
<b>Tabla 5.</b> Matriz de Diseño experimental de Mezclas con vértices extremos.....	51
<b>Tabla 6.</b> Resultados de solubilidad de naltrexona clorhidrato en los diferentes componentes .....	59
<b>Tabla 7.</b> Sistemas para el desarrollo de diagramas pseudoternarios.....	60
<b>Tabla 8.</b> Sistema Tween 80-Transcutol®-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:1.....	61
<b>Tabla 9.</b> Sistema Tween 80-Transcutol®-Ácido Oleico-Agua Proporción 2:1.....	62
<b>Tabla 10.</b> Sistema Tween 80-Transcutol®-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:2.....	63
<b>Tabla 11.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:1 .....	64
<b>Tabla 12.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 2:1.....	65
<b>Tabla 13.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Ácido Oleico-Agua Proporción 1:2.....	66
<b>Tabla 14.</b> Sistema Tween 80-Transcutol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1..	67
<b>Tabla 15.</b> Sistema Tween 80-Transcutol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2... 68	
<b>Tabla 16.</b> Sistema Tween 80-Transcutol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1... 69	
<b>Tabla 17.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.... 70	
<b>Tabla 18.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.... 71	
<b>Tabla 19.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol-Miristato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2.... 72	
<b>Tabla 20.</b> Sistema Tween 80-Transcutol®-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1. .... 73	
<b>Tabla 21.</b> Sistema Tween 80-Transcutol®-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1. .... 74	
<b>Tabla 22.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1.. 75	
<b>Tabla 23.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1.. 76	
<b>Tabla 24.</b> Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2.. 77	
<b>Tabla 25.</b> Microemulsiones óptimas y su caracterización.....	80
<b>Tabla 26.</b> Resultados de la validación de métodos.....	82
<b>Tabla 27.</b> Flujo de naltrexona a través de la piel.....	85

<b>ABREVIATURAS</b>	
<b>Símbolos y Abreviaturas</b>	<b>Significado</b>
KDa	Kilodaltones
W/O	Emulsión agua en aceite
API's	Ingredientes farmacéuticos activos
FDA	Administración de Alimentos y Fármacos
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
NMF	Factor Natural de Humectación
GRAS	Generalmente considerado como seguro
SLT	Sistemas de Liberación Transdérmica
CV	Coefficiente de variación
nm	Nanómetros
Kp	Coefficiente de permeabilidad
J <sub>max</sub>	Flujo máximo
UV-Vis	Ultravioleta-Visible
Q	Cantidad de fármaco que atraviesa la membrana en un tiempo
J	Flujo
mV	Milivolts
$\lambda_{max}$	Longitud de onda de máxima absorción
ME	Microemulsión
J <sub>ss</sub>	Cantidad de fármaco que cruza la membrana a una velocidad constante
m	Pendiente

## RESUMEN

El consumo de alcohol produce daños a la salud y es hoy uno de los principales factores de morbilidad, discapacidad y mortalidad, además de ser agente causante de más de 200 enfermedades, provocando a nivel mundial aproximadamente 303 millones de muertes al año.<sup>1</sup> La naltrexona está aprobada en el manejo de la adicción a opioides y como adyuvante en el tratamiento de la dependencia al alcohol. En México se encuentra disponible en tabletas de 50 mg en un régimen de dosis diaria, bajo el nombre comercial Arrop®. Sin embargo, esta vía de administración presenta algunas desventajas: efectos adversos como náusea, vómito, hepatotoxicidad, falta de apego al tratamiento por parte del paciente, baja y variada biodisponibilidad oral (del 5 al 40 %).

Debido a que la vía de administración transdérmica es un modo de aplicación fácil, sin dolor y conveniente, el cumplimiento de los pacientes al tratamiento por esta ruta es generalmente alto. Sin embargo, la capacidad de los fármacos para difundir a través de las membranas biológicas, específicamente de la piel, depende de su peso molecular (<500 kDa), tamaño molecular, el grado de ionización, solubilidad y su equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad.

La naltrexona por sí misma no tiene las propiedades fisicoquímicas que le permitan alcanzar una dosis terapéutica si se desea administrar cruzando la barrera cutánea. Varias estrategias se han empleado para promover el paso de fármacos a través de la piel, como el uso de promotores químicos (sustancias que irrumpen el estado normal del estrato córneo), físicos (como las microagujas, la iontoforesis y la sonoforesis), así como el uso de acarreadores nanométricos, entre los que han destacado las nanopartículas, liposomas, dendrímeros y microemulsiones. Estas últimas han sido ampliamente estudiadas para mejorar la biodisponibilidad de fármacos poco solubles. El interés en estos transportadores versátiles está aumentando y sus aplicaciones han sido diversificadas a varias rutas de administración. Son sistemas termodinámicamente estables, compuestos de una fase oleosa, una acuosa, un tensoactivo y un cosurfactante, son fáciles de preparar, sin necesidad de energía, logran solubilizar fármacos de baja solubilidad, son fluidos y debido a sus componentes y tamaño son capaces de acarrear fármacos a través de barreras biológicas como la piel.

Es por lo anterior que el objetivo de este proyecto fue evaluar el efecto promotor de microemulsiones preparadas con un diseño experimental de mezclas con vértices extremos sobre la permeabilidad de naltrexona en piel de cerdo, como modelo de membrana biológica. Se evaluaron tres fases oleosas (ácido oleico, miristato de isopropilo y palmitato de isopropilo), tween 80 como tensoactivo en mezcla con dos diferentes cosurfactantes (1-butanol y transcutool®), a tres diferentes proporciones (1:1, 2:1, 1:2). Se obtuvieron diagramas pseudoternarios, identificando la zona de microemulsión. Para las microemulsiones obtenidas, se determinó el tamaño promedio, potencial Z, tipo de emulsión, estabilidad física y carga de fármaco. En las formulaciones con mayor carga de naltrexona en cada fase oleosa se evaluó la permeabilidad en piel de cerdo, utilizando celdas tipo Franz.

Se obtuvieron 18 diagramas pseudoternarios, identificando microemulsiones por su transparencia, las cuales fueron caracterizadas fisicoquímicamente, encontrando tallas de glóbulo promedio de 20 – 200 nm, potencial Z de -40.10 a -0.27 mV, la mayoría tipo W/O, y con 6 formulaciones que mostraron la mayor carga de fármaco, de 9 a 71 mg/mL. En los estudios de permeabilidad, la fase oleosa que mostró mayor promoción en la permeabilidad de naltrexona fue el palmitato de isopropilo.

En este estudio se logró obtener una formulación óptima para la administración sistémica de clorhidrato de naltrexona a través de la piel debido a su efecto promotor, esta formulación puede ser empleada como una alternativa para obtener sistemas de liberación transdérmicos que puedan ser utilizados en el tratamiento del alcoholismo.

## ABSTRACT

The consumption of alcohol causes damage to health and is today one of the main factors of morbidity, disability and mortality, besides being the causative agent of more than 200 diseases, causing approximately 303 million deaths per year in the world.

Nowadays, naltrexone is approved in the management of opioid addiction and is used as an adjuvant in the treatment of alcohol dependence, in Mexico it is available in 50 mg tablets in an oral daily dose regimen, with the commercial name of Arrop®. However, this route of administration has some disadvantages such as the adverse effects of the gastrointestinal tract for example nausea, vomiting, hepatotoxicity, lack of adherence to treatment by the patient, low and varied oral bioavailability (5-40%).

Because transdermal drug delivery is an easy, painless and convenient mode of application, patient compliance by this route is generally high. However, the capacity of the drugs for the use of biological membranes is limited by its molecular weight (<500 kDa), molecular size, degree of ionization, solubility and the balance between liposolubility and hydrosolubility.

Naltrexone by itself does not have the physicochemical properties that allow it to reach a therapeutic dose if it is administered through the cutaneous barrier. Several strategies have been used to promote the passage of API's through the skin, such as the use of chemical enhancers (substances that break up the normal state of the stratum corneum), physical (such as microneedles, iontophoresis and sonophoresis), as well as the use of nanometric carriers; including nanoparticles, liposomes, dendrimers and microemulsions. Microemulsions have been widely studied to improve the bioavailability of poorly soluble API's. The interest in these versatile carriers has increased and their applications have been diversified to several routes of administration. They are thermodynamically stable systems, composed of an oil phase, an aqueous phase, a surfactant and a cosurfactant; they are easy to prepare, without the need for energy, they can solubilize drugs of low solubility, are fluid and due to their components and size are able to carry API's through biological barriers such as skin.

Therefore, the objective of this project was to evaluate the enhancer effect of microemulsions, prepared with an mixture experimental design, on the permeability of naltrexone in pig skin, as a biological membrane model. Three oil phases were evaluated (oleic acid, isopropyl myristate and isopropyl palmitate), tween 80 as surfactant in mixture with two different cosurfactants (1-butanol and transcutool®), at three different proportions (1: 1, 2: 1, 1: 2). Pseudoternary diagrams were obtained, identifying the microemulsion zone. For the obtained microemulsions, the average size, Z potential, type of emulsion, physical stability and API loading were determined. The formulations with the highest load of naltrexone in each oil phase were evaluated permeability in pig skin, using Franz cells.

There were obtained 18 pseudoternary diagrams, identifying microemulsions for their limpidity and transparency, which were characterized physicochemically, finding globule sizes of 20-200 nm, Z potential of -40.10 to -0.27 mV, most type W/O, and with 6 formulations that showed the highest drug load, from 9 to 71 mg / mL. In the permeability studies, the oil phase that showed the highest promotion in the permeability of naltrexone was isopropyl palmitate.

In this study it was possible to obtain an optimal formulation for the systemic administration of naltrexone hydrochloride through the skin due to its enhancing effect, which can be used as an alternative to obtain transdermal delivery systems that can be used in the treatment of alcoholism.

## 1. INTRODUCCIÓN

El consumo de alcohol es un serio problema de salud pública a nivel mundial cuyas consecuencias se expresan como enfermedad y muerte.<sup>1</sup> Cada año se producen 3.3 millones de muertes en el mundo debido al consumo de alcohol, lo que representa un 5.9% de todas las defunciones. El consumo de alcohol es un factor causal en más de 200 enfermedades y trastornos. Está asociado con el riesgo de desarrollar problemas de salud tales como trastornos mentales y de comportamiento, incluido el alcoholismo, importantes enfermedades no transmisibles como la cirrosis hepática, algunos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, así como traumatismos derivados de la violencia y los accidentes de tránsito <sup>2</sup>

La naltrexona es un antagonista competitivo potente que ha sido usado en varios países para asistir en el manejo de la adicción a opioides y como adyuvante en el tratamiento de la dependencia al alcohol. Posterior a la administración oral convencional, la naltrexona sufre un extenso metabolismo de primer paso en el hígado resultando en una biodisponibilidad oral estimada en un rango entre 5-40%. Han sido reportados efectos adversos en la terapia oral que incluyen dolor abdominal, náusea y vómito, también es capaz de producir daño hepatocelular relacionado con la dosis.<sup>3</sup>

En Estados Unidos de América está aprobada una inyección intramuscular de liberación extendida de 380 mg de naltrexona, la cual es administrada mensualmente, aún con ello, la FDA emitió alertas a los profesionales de la salud del riesgo de reacciones serias en el sitio de inyección, incluyendo abscesos, celulitis y casos de necrosis de tejido que requerían de intervención quirúrgica. Dada esta situación y la problemática de la vía oral, es necesario buscar una vía de administración alterna, siendo la vía transdérmica una de las opciones más recurridas.<sup>4</sup>

La administración de fármacos a través de la piel ha llamado la atención debido a sus múltiples ventajas, como que no es dolorosa, a diferencia de la vía inyectable, los sistemas farmacéuticos pueden ser autoadministrados, se puede discontinuar la administración por remoción del sistema, se tiene una amplia área de absorción, se evita el primer paso hepático, los efectos pueden ser locales o sistémicos, es posible mantener una liberación prolongada, reduciendo la frecuencia de administración, además con esta vía, se logran

mantener niveles plasmáticos constantes, reduciendo los efectos no deseados de los fármacos. Lo anterior conlleva a aumentar el cumplimiento del paciente, especialmente en tratamientos largos y crónicos.<sup>5</sup>

Para superar la baja permeabilidad de la piel a los fármacos se han planteado varios enfoques, como son métodos físicos (microagujas, dermoabrasión, ultrasonido, etc), métodos químicos mediante el uso de promotores de absorción como ácidos grasos, alcoholes y surfactantes, entre otros, los cuales facilitan la permeación del fármaco a través de la piel aumentando la partición de este en el estrato córneo, y con ello su difusión, o bien la combinación de ambos.<sup>5,6</sup> Por otro lado, se ha propuesto el uso de acarreadores nanométricos, entre los que han destacado las nanopartículas, los liposomas, los dendrímeros y las microemulsiones.<sup>7</sup>

Los sistemas microemulsionados ofrecen varias ventajas en la administración de fármacos, como una alta estabilidad termodinámica de la formulación, facilidad y bajo costo de preparación sobre otros sistemas coloidales, debido a que son sistemas espontáneos y de baja energía. Las microemulsiones son sistemas versátiles y se pueden usar para la entrega de fármacos a través de varias rutas, pueden aumentar o disminuir la velocidad de liberación del fármaco, generando un efecto de manera local o sistémica por diferentes mecanismos. La existencia de micro dominios de diferente polaridad dentro de la misma solución monofásica permite solubilizar tanto materiales solubles en agua como en aceite.<sup>8</sup>

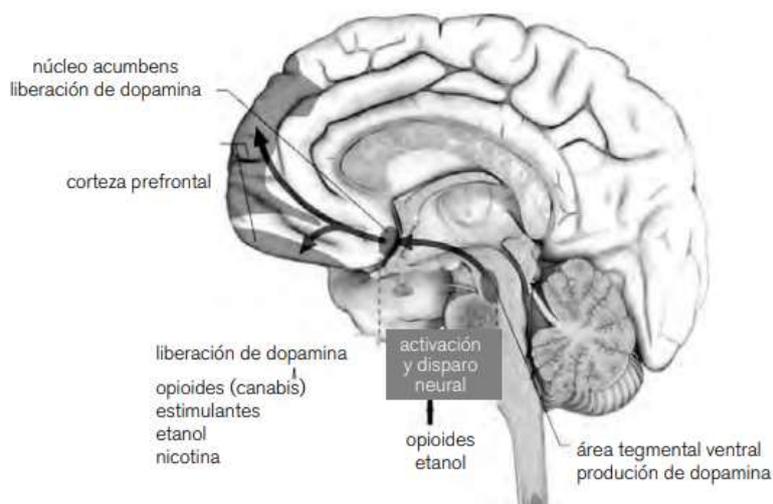
Debido a las ventajas que representa la vía transdérmica y los sistemas microemulsionados, este trabajo tiene como objetivo evaluar la promoción que tienen las microemulsiones sobre la permeabilidad en piel de naltrexona, un fármaco de baja solubilidad (clase II), empleando un modelo *in vitro*.

## 2. ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

### 2.1 ALCOHOLISMO, UN PROBLEMA DE SALUD PÚBLICA.

El alcoholismo es el consumo crónico y continuado de alcohol o el consumo periódico, que se caracteriza por un deterioro del control sobre la bebida, episodios frecuentes de intoxicación y obsesión por el alcohol y su consumo a pesar de sus consecuencias adversas. Es un trastorno que tiene una causa biológica primaria y una evolución natural previsible<sup>9</sup>

El consumo excesivo del alcohol influye en varios sistemas neuroquímicos en el cerebro, incluyendo los sistemas del ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), glutamato, dopamina y opioide; los primeros dos están involucrados con la sedación e intoxicación, así como muchos de los síntomas de la abstinencia de alcohol, mientras que los dos últimos están involucrados con algunos aspectos del ansia y uso sostenido del mismo, y potencial recaída después de un tiempo prolongado de abstinencia en una persona dependiente. Así, el uso agudo de alcohol estimula las neuronas en la región tegmental ventral del cerebro, induciendo la liberación de dopamina en el núcleo accumbens, un área del cerebro que media la recompensa y el placer (figura 1); bajas dosis de alcohol estimulan el sistema glutamato, lo cual mejora la actividad dopaminérgica que lleva a excitación y aumento de energía.<sup>4</sup> En contraste, altas cantidades del mismo inhiben el glutamato y aumentan la neurotransmisión GABA, suprimiendo la actividad dopaminérgica, llevando a la sedación, entre otros efectos.<sup>4</sup>



**Figura 1.** Circuitos neuroquímicos involucrados en la dependencia al alcohol<sup>10</sup>

El alcoholismo es una enfermedad médica devastadora con un impacto profundo en la salud pública.<sup>11</sup> Se ha estimado que contribuye en cerca del 4% al riesgo global de muerte en el mundo y se ha asociado como riesgo de al menos 60 condiciones médicas, como desórdenes psiquiátricos, cirrosis hepática, neoplasias de boca, esófago e hígado, trastornos cardiovasculares, diabetes, entre otros.<sup>12</sup>

### 2.1.1 Tratamiento

La Administración de Alimentos y Fármacos, por sus siglas en inglés, (FDA), ha aprobado varios medicamentos para tratar la dependencia al alcohol, incluyendo disulfiram, acamprosato y naltrexona. Además del topiramato, que se ha visto que es potencialmente efectivo, aunque no ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de la dependencia al alcohol.<sup>4</sup> Por su parte, en México se encuentran aprobados por la COFEPRIS el disulfiram, naltrexona y topiramato, en la tabla 1 se describen algunas características de interés para estos fármacos.

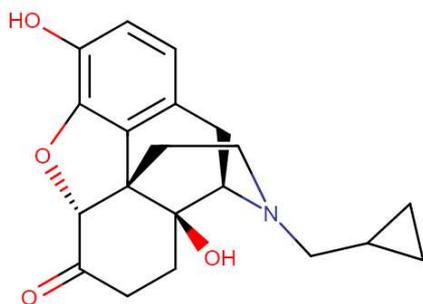
**Tabla 1.** Medicamentos aprobados en México para el tratamiento del alcoholismo.<sup>3,13</sup>

PRODUCTO	NOMBRE COMERCIAL	DOSIS	INDICACIÓN TERAPÉUTICA	PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS
Disulfiram	Etabus, tabletas 250 mg	1 tableta al día	Auxiliar en el tratamiento del alcoholismo crónico.	P.M. 296.54 g/mol, logP 3.88.
Naltrexona	Arrop, tabletas 25 y 50 mg	1 tableta al día	Para utilizar dentro de un programa de tratamiento completo del alcoholismo, para reducir la recaída, mantener la abstinencia y reducir el deseo del alcohol.	P.M. 341.40 g/mol logP 1.92.
Topiramato	Optiprax, tabletas 25, 50 y 100 mg	Dosis inicial 25 mg aumentando semanalmente hasta 300 mg de dosis máxima.	Tratamiento de epilepsia, migraña. Coadyuvante en la terapia integral de la adicción al alcohol.	P.M. 339.36 g/mol logP -0.7.

La naltrexona fue incorporada en el tratamiento del alcoholismo con la premisa de que la estimulación de los receptores  $\mu$  opioides contribuía a los efectos de recompensa del alcohol. Datos provenientes de estudios clínicos sugirieron que la naltrexona reduce los efectos de recompensa del alcohol y contribuye a reducir el ansia del alcohol y a disminuir el consumo.<sup>11</sup>

## 2.2 NALTREXONA

La naltrexona es un derivado de la noroximorфона que es el congéner N-ciclopropilmetil de la naloxona. Es un antagonista narcótico que es efectivo oralmente, tiene mayor duración y es más potente que la naloxona, y ha sido propuesto para el tratamiento de la adicción a la heroína. En la figura 2 se muestra su estructura química y sus propiedades fisicoquímicas más importantes. La FDA aprobó la naltrexona para el tratamiento de la dependencia al alcohol y otros opioides en 1984.<sup>3</sup>



Punto de fusión	168 -170°C
LogP	1.92
Peso Molecular	341.40 g/mol
pKa (fuertemente ácido)	7.39
pKa (fuertemente básico)	11.54
Solubilidad acuosa (como sal de hidrocloreuro)	100.000 mg/l

**Figura 2.** Estructura de naltrexona y sus principales propiedades fisicoquímicas.<sup>3</sup>

- a) *Farmacocinética.* Aunque de manera oral es bien absorbida, la naltrexona presenta metabolismo de primer paso significativo, con una biodisponibilidad oral estimada entre el 5 – 40%. Su metabolismo es hepático, y es metabolizado a 6-beta-naltrexol y a otros metabolitos menores. Es excretada por el riñón (53% a 79% de la dosis), sin embargo, la excreción urinaria de la naltrexona sin alterar cuenta menos del 2% de una dosis oral de 50 mg y la excreción fecal es una vía de eliminación menor. La naltrexona tiene una vida media de 4 horas y su metabolito activo, el 6 beta-naltrexol de 13 horas.<sup>3</sup>

b) *Farmacodinamia*. El mecanismo de acción de naltrexona en el alcoholismo no está bien entendido, sin embargo, por datos preclínicos se sugiere que involucra a los sistemas opioides endógenos. Se piensa que la naltrexona actúa como un antagonista competitivo en los receptores  $\mu$ ,  $\kappa$  y  $\delta$  en el sistema nervioso central, con una mayor afinidad por el receptor  $\mu$ .<sup>3</sup>

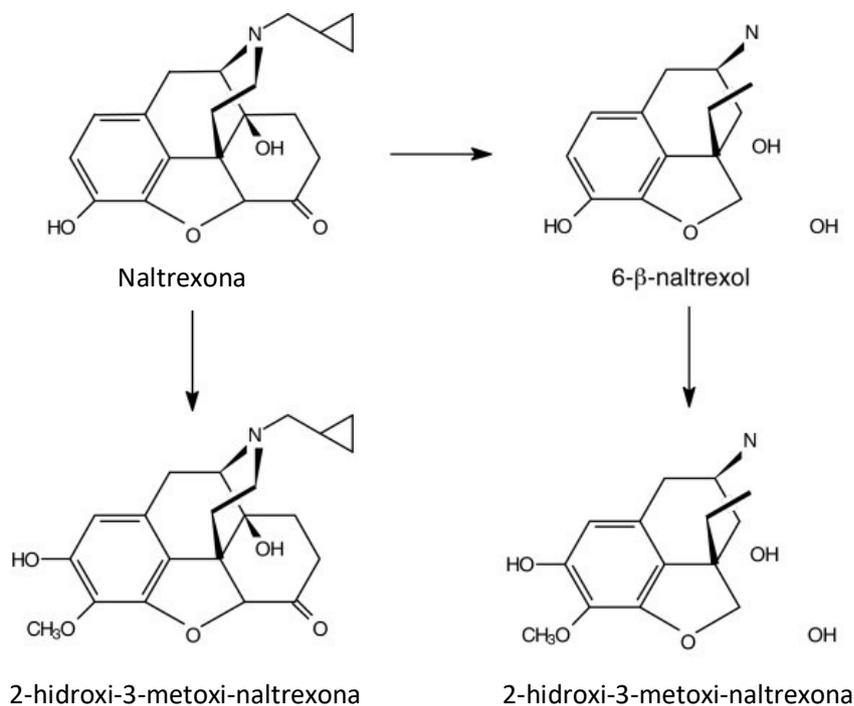
La naltrexona se une competitivamente a estos receptores y puede bloquear los efectos de los opioides endógenos. Esto lleva a la antagonización de muchos de los efectos subjetivos y objetivos de los opioides, incluyendo depresión respiratoria, miosis, euforia y ansiedad.

### 2.2.1 Formas de dosificación disponibles para naltrexona y sus desventajas.

La naltrexona está disponible en México en tabletas de 25 y 50 mg en un régimen de dosis diaria, bajo el nombre comercial de Arrop®. Muchos de los eventos adversos asociados a la administración del fármaco por vía oral ocurren en la etapa temprana del tratamiento y en general son gastrointestinales, incluyendo náusea, vómito, dolor abdominal e incomodidad. Estos efectos adversos, junto con dolor de cabeza y fatiga, de acuerdo con la mayoría de los reportes de los estudios clínicos, ocurren en más del 30% de los pacientes.<sup>4,14</sup>

La hepatotoxicidad asociada con la naltrexona ha sido reportada especialmente en pacientes que recibieron dosis altas del fármaco, de 100 a 300 mg diarios por vía oral, lo cual limita su uso en formas farmacéuticas orales (por ejemplo tabletas o cápsulas), sobre todo en pacientes alcohólicos que a menudo se caracterizan por una función hepática dañada.<sup>4</sup>

Administrada oralmente, la naltrexona se metaboliza extensamente en el hígado por el dihidrodiol deshidrogenasa, una familia de enzimas citosólicas en 6- $\beta$ -naltrexol,<sup>15</sup> que es su metabolito activo, que también participa en la respuesta farmacológica.<sup>3</sup> (ver estructura en figura 3), obteniéndose así de forma general una biodisponibilidad oral estimada entre 5 – 40 %.<sup>16,12</sup> El 6- $\beta$ -naltrexol es un receptor antagonista opioide más débil que naltrexona, pero puede contribuir a los efectos clínicos del fármaco si persiste en los fluidos biológicos en cantidades mayores que la naltrexona.<sup>17</sup>



**Figura 3.** Metabolismo de la naltrexona<sup>17</sup>

Desde hace algunos años (desde 2005) se tiene en el mercado una forma farmacéutica con naltrexona a 380 mg, la cual es en una inyección intramuscular de liberación prolongada que es administrada mensualmente y que igualmente fue aprobada para el tratamiento de adicción a opiáceos y alcoholismo, sin embargo, la FDA emitió alertas a los profesionales de la salud del riesgo de reacciones serias en el sitio de inyección, incluyendo abscesos, celulitis y casos de necrosis de tejido que requirieron de intervención quirúrgica.<sup>18,16</sup>

Tomando en cuenta las desventajas asociadas a las vías de administración actuales para la naltrexona, es deseable considerar otras vías de administración, como la administración transdérmica para adictos a drogas y alcohólicos, con la finalidad de ayudar a reducir los efectos adversos asociados con las terapias oral e intramuscular (inyección de depósito), así como mejorar el cumplimiento y apego al tratamiento por parte del paciente. El problema es que la naltrexona por sí misma no tiene las propiedades fisicoquímicas esenciales que permitan que una dosis terapéutica del fármaco sea capaz de cruzar la barrera cutánea humana.<sup>18</sup>

Por lo que existe una necesidad de una forma de dosificación alternativa para naltrexona, para tener una opción de terapia para pacientes ambulatorios que provea una liberación controlada, efectos adversos reducidos y la habilidad de discontinuar la terapia fácilmente.

La vía transdérmica para la administración sistémica de naltrexona es una excelente alternativa, ya que por esta ruta se favorece la difusión de moléculas lipofílicas, la liberación transdérmica convencional basada en la difusión pasiva a menudo se basa en incrementar la hidrofobicidad del fármaco para lograr la permeación del fármaco en la piel.<sup>19</sup>

Generalmente, el principal factor limitante para que los fármacos crucen por esta vía recae en la hidrofobicidad de los mismos, propiedad que permite tener una idea de si es posible lograr una alta permeación a través de la piel.<sup>19</sup>

Dado el LogP de la naltrexona (1.9) y sus propiedades fisicoquímicas, se permite generar la premisa de que este fármaco es un candidato para ser administrado por esta vía. En la tabla 2 se muestran las propiedades fisicoquímicas ideales para la administración transdérmica de fármacos, así como una comparativa con las propiedades de la naltrexona, donde se puede observar como la ruta transdérmica es una alternativa potencial para administrar este fármaco de forma sistémica.<sup>20</sup>

**Tabla 2.** Comparativo de las propiedades ideales de un fármaco para la administración transdérmica y la naltrexona<sup>20</sup>

PROPIEDAD	IDEAL <sup>3</sup>	NALTREXONA
Peso Molecular	<500 g/mol	341.40 g/mol
Solubilidad acuosa	>0.1 mg/l	0.52 mg/ml
Punto de fusión	<200 °C	168 -170 °C
LogP	-1 a 3	1.92
Dosis diaria para la difusión transdérmica	<10 mg	2.5 - 20 mg*

\*considerando una dosis oral diaria de 50 mg y una biodisponibilidad oral de 5-40%

## 2.3 VÍA TRANSDÉRMICA PARA LA ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS.

Es un método sin dolor para administrar fármacos sistemáticamente aplicando la formulación sobre la piel sana e intacta. El fármaco inicialmente penetra a través del estrato córneo, pasando por la epidermis y dermis sin acumulación del fármaco en las capas dérmicas.<sup>21</sup> La vía transdérmica representa una alternativa atractiva a la vía oral para fármacos, y apunta a proveer mejoras en comparación con las vías hipodérmica e intramuscular también. Por miles de años, la gente ha colocado sustancias en la piel para efectos terapéuticos y, en la era moderna, se han desarrollado una variedad de formulaciones tópicas para tratar tanto indicaciones locales como sistémicas.<sup>22</sup>

La piel es la primera línea de defensa del organismo y la última barrera que separa el organismo del entorno hostil de virus, patógenos y tóxicos. Ha evolucionado para impedir el flujo de moléculas exógenas al cuerpo, pues naturalmente ofrece una baja permeabilidad al movimiento de estas a través de ella.

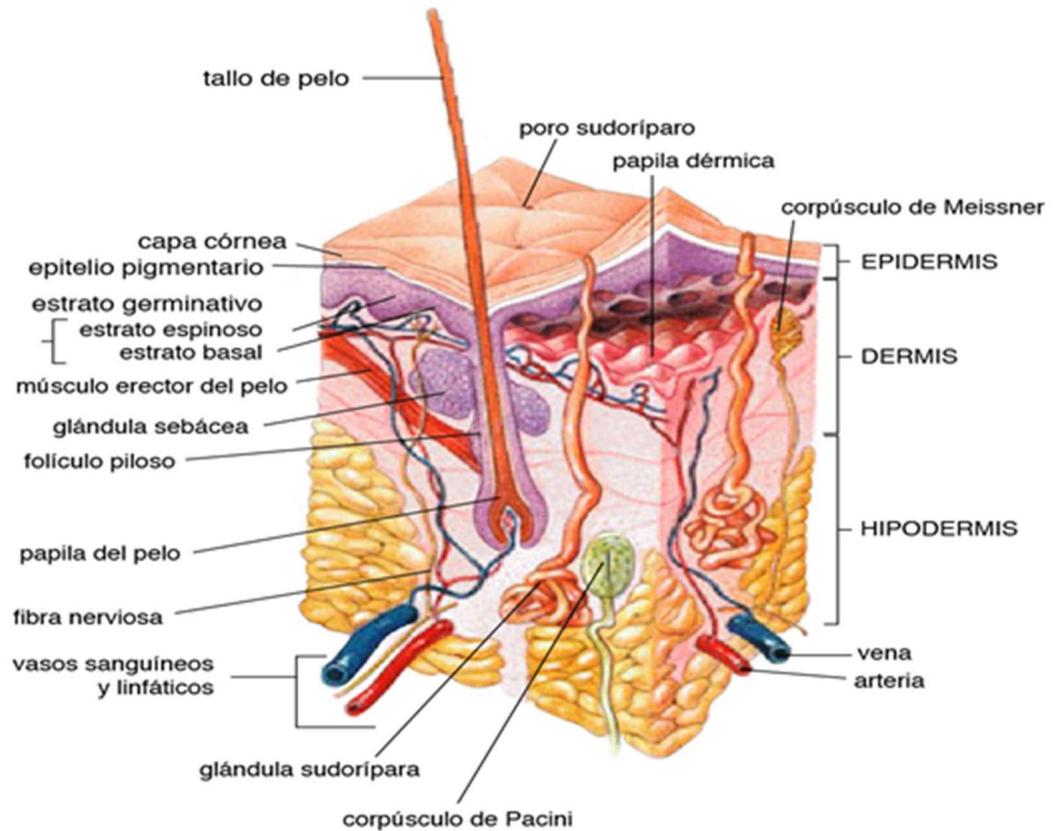
La piel rutinariamente regula el flujo de moléculas de agua hacia adentro y afuera del cuerpo, también permite la afluencia de una variedad de moléculas pequeñas que son bastante lipofílicas ( $\log P > 1.5$ ) y que tienen pesos moleculares menores a 500 Da.<sup>7</sup> Las moléculas de fármacos actualmente administradas por vía transdérmica caen dentro de un rango muy estrecho de peso molecular y lipofilidad y están caracterizadas por un alto  $\log P (>1.5)$  y bajo peso molecular ( $<500$  Da), por lo tanto, toman ventaja de la selectividad natural de la membrana de la piel.<sup>7,21</sup>

El reto más grande en la administración transdérmica de fármacos es permitir el acceso a los fármacos a través de la piel de manera segura y reversible, sean o no candidatos para cruzar la piel de forma pasiva.<sup>7</sup>

### 2.3.1 La piel

La piel es el órgano más grande del cuerpo, con un área de superficie de aproximadamente 1.8 m<sup>2</sup> y un peso total estimado de 4 kg; de 70 kg para un adulto típico. Es un órgano heterogéneo, contiene un cierto número de capas celulares y tejidos, así como apéndices, tales como glándulas sudoríparas, folículos capilares y glándulas sebáceas.<sup>23</sup>

La figura 4 presenta un esquema de la estructura de la piel, donde se pueden apreciar las diferentes capas celulares que la componen, así como la localización de glándulas y anexos y de la vascularización del órgano.



**Figura 4.** Diagrama esquemático de la estructura de la piel<sup>24</sup>

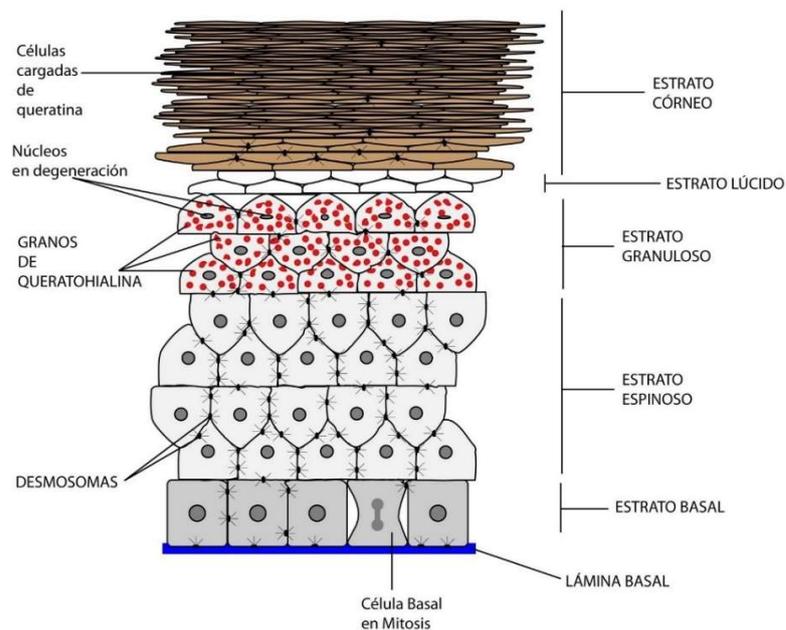
La piel provee una barrera robusta, flexible, y auto-reparable al ambiente exterior, protegiendo los órganos internos y fluidos de influencias externas. Previene la pérdida de agua endógena y nutrientes y protege contra muchas sustancias tóxicas indeseadas y microorganismos patógenos. La piel también responde a fuerzas mecánicas (elasticidad y amortiguación)<sup>23</sup> y juega un papel esencial en el control de la temperatura, la cual es regulada por la sudoración y la termorregulación arteriovenosa. La piel contiene sistemas que proveen la habilidad de defensa y reparación, como sensibilidad al tacto (células de Merkel, nociceptores), inmunidad (células de Langerhans) protección contra radiación ultravioleta (melanocitos), cicatrización de heridas y metabolismo cutáneo. La reparación ocurre automáticamente a través de la rotación continua de sus capas celulares.<sup>23, 25</sup>

Como se puede apreciar en la figura 4, la piel está compuesta de tres capas, la epidermis (50-100  $\mu\text{m}$ ), dermis (1-2 mm) e hipodermis (1-2 mm). La función barrera de la piel ha sido atribuida principalmente a la organización y composición de la subcapa más externa de la piel, el estrato córneo, subcapa perteneciente a la epidermis; un número de estudios reconoce que las capas de la piel más internas pueden jugar un papel importante en la penetración y distribución de fármacos.<sup>26,27</sup>

Las diferentes capas de la piel le dan sus principales funciones. A continuación, se describen cada una de estas capas:

### a) Epidermis

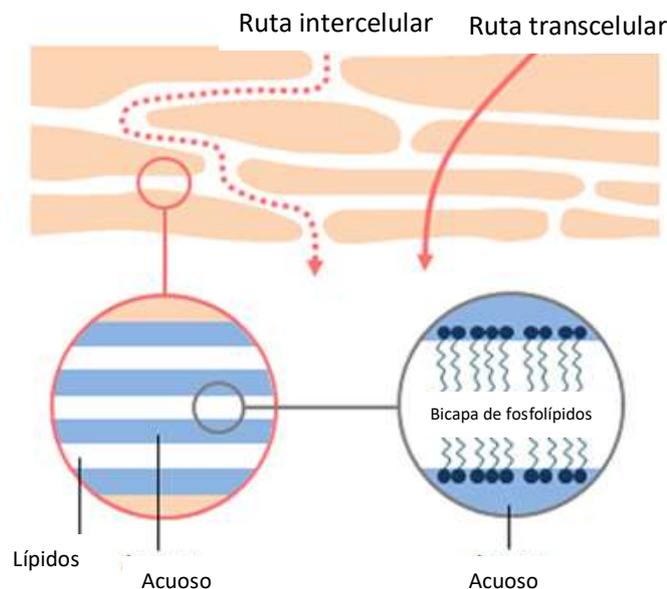
La epidermis comprende aproximadamente el 5% de espesor total de la piel y está dividida en cinco subcapas o estratos basados en sus características celulares (basal, espinoso, granuloso, lúcido y córneo), como se parecía en la figura 5. La mayoría de las células en la epidermis son llamadas queratinocitos, las cuales son formadas por la diferenciación de una capa de células basales mitóticas.<sup>23</sup>



**Figura 5.** La epidermis y sus estratos<sup>28</sup>

El *estrato córneo* es un estrato de multicapas de células planas, de forma poliédrica, no nucleadas, llamadas corneocitos. Los corneocitos están compuestos principalmente de queratina insoluble y rodeados por una envoltura celular estabilizada por proteínas reticuladas y lípidos unidos covalentemente. El espacio intercelular entre los corneocitos está compuesto de lípidos generados de la exocitosis de cuerpos lamelares durante la diferenciación terminal de los queratinocitos. Estos lípidos son requeridos para una función barrera de la piel competente.<sup>27</sup> La protección de la piel es provista principalmente por el estrato córneo. Subyacente al estrato córneo, se encuentran los otros cuatro estratos conocidos como la epidermis viable, que es la responsable de la generación del estrato córneo. La epidermis viable consiste de varias capas, de adentro hacia afuera estas capas son el estrato basal, espinoso, granuloso y lúcido (figura 5).<sup>29</sup>

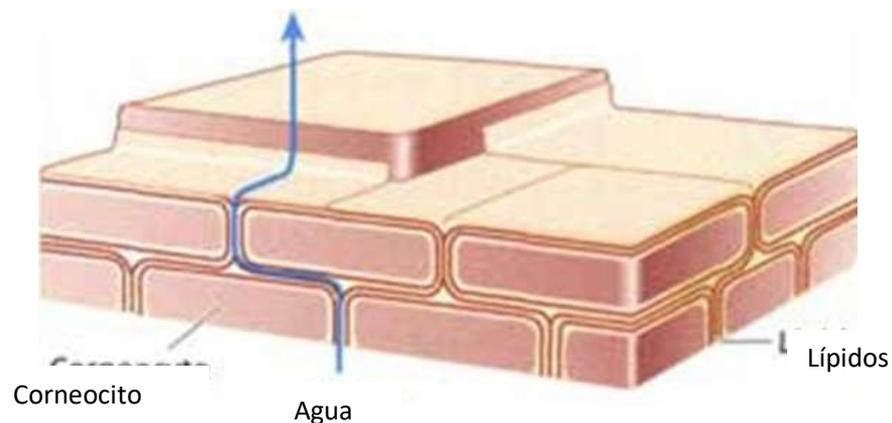
Las principales clases de lípidos en el estrato córneo son ceramidas (45-%), colesterol (25%), ácidos grasos de cadena larga (15%) y otros lípidos (5%). Han sido identificados 9 subclases de ceramidas, que difieren una de otra por la arquitectura del grupo de la cabeza (esfingosina, fitoesfingosina o 6-hidroxiesfingosina). La fracción de ácidos grasos consiste principalmente de ácidos saturados. Otro lípido importante es el sulfato de colesterol, aunque está presente en cantidades pequeñas (típicamente 2-5 %p/p), juega un papel importante en el proceso de descamación del estrato córneo. La figura 6 muestra la organización de estos lípidos en la composición del estrato córneo.<sup>29</sup>



**Figura 6.** Organización del estrato córneo<sup>30</sup>

El agua es un componente esencial del estrato córneo, que actúa como un plastificante para evitar el agrietamiento del estrato córneo y también está involucrada en la generación del factor natural de hidratación (NMF, por sus siglas en inglés) que ayuda a mantener la flexibilidad y humectación de la piel.<sup>31</sup>

Los lípidos, en el estrato córneo organizado, en lugar de estar dispersos uniformemente están secuestrados dentro de los espacios extracelulares, donde la matriz enriquecida con lípidos está organizada en membranas lamelares que rodean los corneocitos. Por lo tanto, más que grosor del estrato córneo, las variaciones en el número de membranas lamelares, la estructura de la membrana y/o la composición de lípidos proveen la base estructural y bioquímica para las variaciones de permeabilidad relacionadas al sitio (figura 7).<sup>22</sup>



**Figura 7.** El estrato córneo organizado estructuralmente como cemento y ladrillos<sup>32</sup>

### ***b) Dermis***

La dermis provee el soporte nutricional para la epidermis avascular. Es un tejido de grosor entre 0.2 – 0.3 cm que comprende una matriz de fibras de proteína, principalmente colágeno, elastina y retículo, embebidos en una sustancia coloidal amorfa. El comportamiento físico de la dermis, incluyendo elasticidad, está determinado por manojos de fibras. La dermis es el lugar donde se encuentran los vasos sanguíneos, nervios sensoriales (presión, temperatura y dolor) y linfáticos. Provee flexibilidad y sirve como barrera a las infecciones, y funciona como un órgano de almacenamiento de agua.<sup>23, 25</sup>

### c) *Hipodermis*

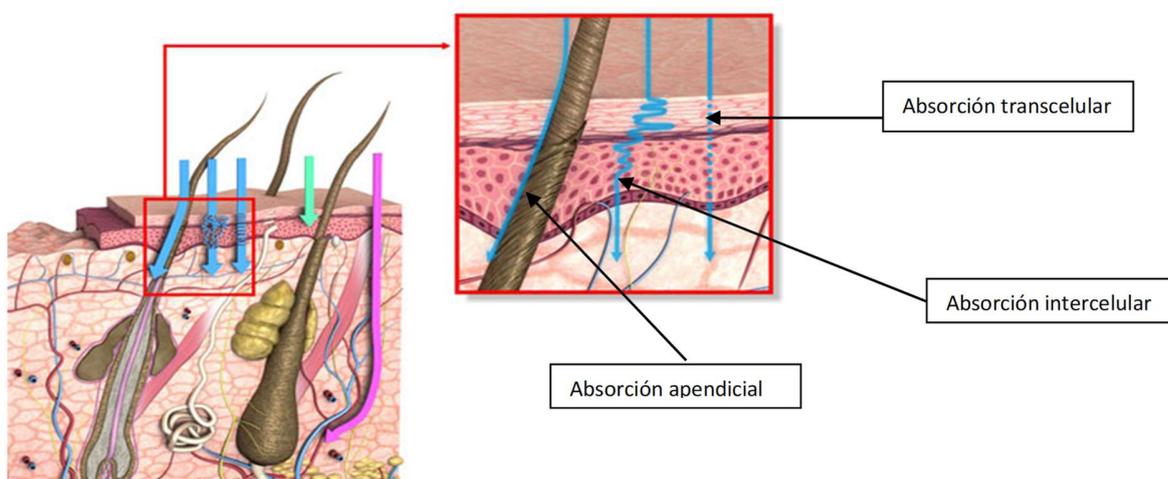
La hipodermis o capa subcutánea es la capa más profunda de la piel y consiste en una red de células grasas. Es la capa de contacto entre la piel y los tejidos subyacentes del cuerpo, como los músculos y hueso. Por lo tanto, las funciones principales de la hipodermis son protección contra el choque físico, aislamiento térmico y soporte y conductancia de las señales vasculares y neuronales de la piel. Las células de grasa residentes en la hipodermis representan aproximadamente el 50% de la grasa del cuerpo, las otras células predominantes de la hipodermis son los fibroblastos y macrófagos.<sup>33,34</sup>

#### 2.3.2 Absorción de fármacos a través de la piel.

El transporte de compuestos a través de la piel es un proceso complejo. Este proceso puede ser dividido en tres pasos:<sup>23, 35</sup>

1. **Penetración.** Es la entrada de una sustancia a una capa particular o estructura, como la entrada de un compuesto al estrato córneo.
2. **Permeación.** Es la penetración a través de una capa a otra, la cual es funcional y estructuralmente diferente a la primera.
3. **Reabsorción.** Es la entrada de una sustancia al sistema vascular (vasos linfáticos o sanguíneos), el cual actúa como compartimiento central.

Hay tres mecanismos principales por los cuales puede ocurrir la absorción cutánea, mismos que se encuentran descritos y representados en la figura 8.



**Figura 8.** Tipos de transporte en la absorción cutánea.<sup>36</sup>

1. **Absorción transcelular.** Las moléculas son transferidas a través de la queratina empacada en los corneocitos por partición dentro y fuera de la membrana celular.
2. **Absorción intercelular.** Las moléculas son transferidas alrededor de los corneocitos en las regiones extracelulares ricas en lípidos.
3. **Absorción apendicial.** Las moléculas evitan los corneocitos, entrando a través de los folículos, glándulas sudoríparas o glándulas sebáceas.

La permeación de un fármaco a través del estrato córneo es básicamente un proceso de difusión en donde el transporte activo no juega ningún papel. La capa con la mayor resistencia a la difusión es la membrana limitante de la velocidad. Para muchos compuestos, el estrato córneo lipofílico es la barrera primaria o limitante de la velocidad.<sup>23</sup> Después de que el fármaco difunde en el entorno acuoso principalmente (epidermis viable y dermis), se absorbe en el sistema linfático y sanguíneo cutáneo (reabsorción). Sin embargo, si el flujo sanguíneo es insuficiente, los compuestos se pueden acumular en la epidermis viable, en la dermis y en tejidos más profundos.<sup>23,6</sup>

Debido a que el área de la superficie relativa de los apéndices es sólo de 0.1 – 1.0 % del área total, se cree que no juegan un papel decisivo en la absorción de muchos fármacos. Sin embargo, el área de la superficie relativa de las derivaciones o apéndices puede ser de gran significancia en

áreas del cuerpo como el cuero cabelludo, donde la densidad y tamaño de los folículos pilosos es mucho más grande, por ejemplo, la piel de la espalda.<sup>23,37</sup>

En cualquier superficie cutánea, el proceso de penetración de una molécula cumple la ley de Fick, que en términos generales establece que el flujo a través de la piel es inversamente proporcional al espesor de esta. Es útil conocer las zonas de la piel donde el estrato córneo es sumamente delgado. La piel del escroto es muy fina y casi tan permeable como la mucosa oral. En la cara y el cuero cabelludo la permeabilidad también es elevada, debido a defectos en la estructura de la capa córnea y a la abundancia de folículos.<sup>38</sup>

Como se comentó anteriormente, las propiedades físicas y químicas de un compuesto y su vehículo tienen una influencia decisiva en su permeación a través de la piel.<sup>23</sup> En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende de su peso molecular (< 400 kDa), del tamaño molecular, del grado de ionización (las especies ionizadas no penetran la piel), de la solubilidad y del equilibrio o partición entre la liposolubilidad y hidrosolubilidad del fármaco en la piel y el vehículo.<sup>38</sup>

## **2.4 SISTEMAS DE LIBERACIÓN TRANSDÉRMICA (SLT)**

Son sistemas de liberación sostenida con el objetivo de suministrar el fármaco a velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante a través de la piel del paciente.<sup>38,39</sup>

El desarrollo de los sistemas transdérmicos ha incursionado en las áreas de la terapéutica, cosmeceútica, productos de venta libre y cuidado personal, no sólo se emplean para terapias sistémicas sino también para liberar productos en la piel o justo debajo de ella, extraer fluidos para diagnóstico, realizar tratamientos cosméticos, odontológicos y aplicarse en superficies mucosas.<sup>38</sup> Entre las moléculas que se han administrado de esta forma se encuentran las moléculas de fármacos pequeñas hidrofóbicas, los fármacos hidrofílicos y algunas macromoléculas.<sup>5</sup>

La mayor parte del enfoque en los sistemas transdérmicos ha sido en la forma de dosificación de parche, pero una variación en el sistema de parche de la era transdérmica es un aerosol dosificado, por ejemplo, Evamist®, que libera estradiol, o bien, formulaciones de gel como Androgel®, que libera testosterona. Los geles transdérmicos más nuevos son técnicamente solo

un regreso a la tecnología de la pomada de nitroglicerina aprobada a principios de 1980, sin embargo, las nuevas formulaciones tienen un sensorial más estético y atractivo para el consumidor. Estos sistemas son altamente efectivos y rentables, y proporcionan una buena alternativa a la fabricación de parches para moléculas de fármacos muy potentes.<sup>5</sup>

Con el objetivo de administrar agentes terapéuticos a través de la piel para efectos sistémicos, se debe considerar la comprensión de las propiedades morfológicas, biofísicas y fisicoquímicas de la piel que ya se han revisado anteriormente, y como estas influyen en el desarrollo de nuevos sistemas de liberación que se han propuestos para esta vía.<sup>39</sup>

El primer sistema transdérmico que fue aprobado por la FDA en 1979, fue el Transderm-SCOP, desarrollado para la prevención de náusea y vómito, asociada con mareo.<sup>39</sup> Otros ejemplos son los parches de nitroglicerina en el campo cardiovascular, el cual fue introducido exitosamente en el mercado hace poco más de 30 años, y la reciente introducción de los parches de rivastagmina para la indicación de Alzheimer, así como agonistas de dopamina indicados en la enfermedad de Parkinson.<sup>40</sup>

La absorción transdérmica de fármacos altera fuertemente la cinética del fármaco y depende de varios parámetros incluyendo los siguientes:<sup>39</sup>

- Sitio de aplicación del sistema.
- Grosor e integridad del estrato córneo.
- Tamaño de la molécula a ser administrada.
- Permeabilidad de la membrana.
- Estado de hidratación de la piel.
- pH del fármaco.
- Metabolismo del fármaco por la flora de la piel.

El efecto tóxico del fármaco y el problema en limitar el ingreso del mismo son importantes consideraciones de los sistemas de liberación transdérmica, especialmente en niños debido a que el grosor y flujo sanguíneo en la piel usualmente varía con la edad.<sup>39</sup>

### 2.4.1 Ventajas y desventajas de los SLT

La vía transdérmica tiene una variedad de ventajas comparada con otras rutas, principalmente la vía oral, las cuales se resumen enseguida:<sup>22, 41</sup>

- Se evita el metabolismo hepático de primer paso; lo cual permite que la cantidad de fármaco administrado sea menor, y, por lo tanto, más seguro para los pacientes hepato-comprometidos, resultando en una disminución de efectos adversos.
- A diferencia de la vía inyectable, no es dolorosa, no genera desperdicio médico peligroso y no pone en riesgo la transmisión de enfermedades por el reúso de agujas.
- Las formas farmacéuticas transdérmicas (generalmente parches) son no invasivos y pueden ser autoadministrados.
- Se puede discontinuar la administración por remoción del sistema.
- Es posible una reducción en la frecuencia de dosis con la mejora en el cumplimiento del paciente.
- Se tiene habilidad para modificar las propiedades de absorción de la piel, incorporando al sistema promotores de absorción o permeación.
- Se puede aumentar el valor terapéutico de muchos fármacos, evitando problemas específicos asociados con el fármaco, como reacciones adversas o secundarias, irritación, baja absorción y efectos de descomposición.
- Se mejora el cumplimiento del paciente al tratamiento.
- Reduce la variabilidad inter e intrapacientes.<sup>39,22</sup>

Tal vez el reto mayor para la vía transdérmica es que sólo un número limitado de fármacos son sujetos de administrarse por esta vía. Pero, los fármacos transdérmicos exitosos requieren dosis de miligramos por día o menos.<sup>22</sup>

Algunas desventajas asociadas a estos sistemas son:

- Las formas farmacéuticas pueden desarrollar irritación local en el sitio de aplicación o desprenderse fácilmente.
- No todos los fármacos son convenientes para ser administrados por esta vía.

- Muchos fármacos con estructura hidrofílica tienen una baja y lenta penetración a través de la piel para tener un efecto terapéutico sistémico.
- Los sistemas transdérmicos no pueden alcanzar altos niveles de fármaco en la sangre o pueden ser incómodos para el paciente.<sup>6</sup>
- Siempre hay un tiempo de latencia del fármaco para penetrar a través de la piel hasta la circulación sistémica, por lo tanto estos sistemas no son adecuados para fármacos que requieren un comienzo de acción rápido.<sup>41</sup>

## 2.5 ESTRATEGIAS PARA MEJORAR EL PASO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL.

Es necesario superar las barreras de absorción para asegurar una administración eficiente de fármacos y otros compuestos activos. Para esto se han establecido muchos diferentes enfoques y alternativas, para superar la barrera presentada por la piel en la administración transdérmica, involucrando estrategias de mejora tanto químicas como físicas, conocidos como promotores de absorción transdérmica físicos y químicos.<sup>37</sup>

Los métodos físicos se emplean para aumentar el transporte de las moléculas de fármacos a través de la piel mediante alguna fuente de energía mecánica, eléctrica, magnética o térmica, para promover el transporte de moléculas, interrumpiendo o rompiendo la membrana de la piel. Algunos ejemplos de promotores químicos y físicos se incluyen en la figura 9.<sup>7</sup>



Figura 9. Estrategias para mejorar el paso de fármacos a través de la piel

Por otro lado, se sabe que varios compuestos o moléculas interactúan con la piel y reducen la barrera de resistencia de esta de manera reversible, la cual forma la barrera primaria a la difusión de moléculas exógenas. Los promotores de permeación actualmente representan el enfoque más estudiado para permeación transdérmica de fármacos, considerando las ventajas que ofrecen sobre los medios físicos.<sup>7,37</sup>

Los promotores químicos de permeación son relativamente baratos y fáciles de formular, ofrecen flexibilidad en su diseño, son simples de aplicar y permiten libertad de autoadministración. En la tabla 3 se muestran algunos ejemplos de promotores químicos de permeación. Mientras que los sistemas más complejos que surgen de la combinación de promotores químicos individuales son las vesículas coloidales (como liposomas y nanopartículas), microemulsiones, mezclas eutécticas y complejos de inclusión.<sup>7,34</sup>

**Tabla 3.** Ejemplos de promotores químicos de permeación<sup>42</sup>

<b>Promotores químicos</b>
Sulfóxidos y químicos similares (dimetil sulfóxido, dimetilformamida, dimetil acetamida)
Azonas (azona)
Pirrolidonas (N-metil-2-pirrolidona)
Ácidos grasos (ácido laúrico, ácido cáprico, propilenglicol, dietilenglicol, ácido oleico)
Aceites esenciales, terpenos o terpenoides (aceite de eucalipto, L-mentol, linalool)
Ciclodextrinas
Agentes activos de superficie (Lauril sulfato de sodio, cloruro de benzalconio)

Idealmente, los promotores de permeación reducen reversiblemente la resistencia de la barrera del estrato córneo sin dañar células viables. Algunas propiedades deseables de los promotores de permeación:<sup>42</sup>

- Deben ser no tóxicos, no irritantes y no alergénicos.
- Deben trabajar de manera rápida; la actividad y duración del efecto debería ser reproducible y predecible.
- No deben tener actividad farmacológica dentro del cuerpo.
- Deben ser aceptables cosméticamente con una sensación de la piel apropiada.

El enfoque de profármacos ha sido investigado para aumentar la permeabilidad dérmica y transdérmica de fármacos con coeficientes de partición no favorables. La estrategia del diseño generalmente involucra la adición de una entidad de promoción para incrementar el coeficiente de partición, y por lo tanto la solubilidad y el transporte del fármaco padre en el estrato córneo.<sup>31</sup>

Las nanopartículas como los liposomas y otros sistemas vesiculares, así también como otros tipos de acarreadores de fármacos de talla nano, como nanopartículas sólidas lipídicas, acarreadores lípidos nanoestructurados, polímeros basados en nanopartículas y nanopartículas magnéticas han sido nuevas tecnologías desarrolladas para aplicaciones dérmicas y transdérmicas.<sup>41</sup>

Las microemulsiones son uno de los sistemas más usados e interesantes sistemas de liberación de fármacos. Numerosos estudios han reportado que las microemulsiones aumentan la permeación de la piel de los fármacos incorporados en ellas y de sustancias cosméticas.<sup>43</sup> Son dispersiones con tamaño de talla de 10 a 100 nm y no tienden a coalescer. Como acarreadores de fármacos eficientes, las microemulsiones se han empleado ampliamente en la liberación de fármacos tanto en la administración dérmica como la transdérmica.<sup>41</sup>

El mecanismo principal para explicar las ventajas de las microemulsiones en la liberación transdérmica de fármacos incluye el alto potencial de solubilidad para los fármacos hidrofílicos y lipofílicos en los sistemas microemulsionados.<sup>41</sup> Las microemulsiones han sido sujetas de numerosos estudios durante las últimas décadas debido a su gran potencial en muchas aplicaciones como la vía pulmonar, como vehículos de liberación en administración intravaginal e intrarectal para fármacos lipofílicos como esteroides y hormonas, y formulaciones intramusculares de péptidos. La revisión reciente hecha por Garti y Aserin y colaboradores incluye entre otros, el progreso reciente de las microemulsiones para liberación oral e intravenosa.<sup>44</sup>

## **2.6 MICROEMULSIONES**

### **2.6.1 Definición.**

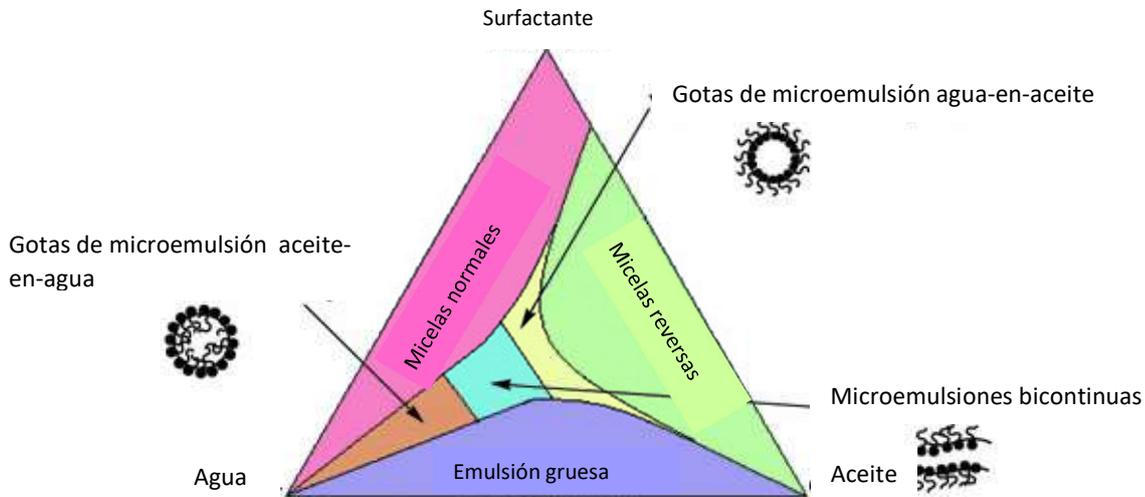
El concepto de microemulsión fue propuesto por Hoar y Schulman en 1959, quienes pudieron hacer una solución de una sola fase, clara, por el método de titulación de una emulsión lechosa con hexanol.

Una microemulsión puede ser descrita como un sistema disperso de talla nanométrica que contiene una fase acuosa, una fase oleosa y una combinación de un amfífilo o tensoactivo con un cosurfactante, y que es una solución líquida, ópticamente isotrópica y termodinámicamente estable.<sup>45</sup>

Las microemulsiones han sido ampliamente estudiadas para mejorar la biodisponibilidad de fármacos poco solubles. Las microemulsiones tiene muy baja tensión superficial y tamaño de gota pequeño 10 – 100 nm, lo cual resulta en alta absorción y permeación. El interés en estos transportadores versátiles está aumentando y sus aplicaciones han sido diversificadas a varias rutas de administración además de la convencional ruta oral.<sup>46</sup> Esta tecnología se está aplicando en la industria cosmética y farmacéutica en la formulación de sistemas transdérmicos de liberación de fármacos y en algunas preparaciones tópicas.<sup>47</sup> Las microemulsiones como acarreadores de fármacos muestran propiedades favorables como:<sup>46</sup>

- Estabilidad termodinámica del sistema.
- Fácil formación (formación casi espontánea y sin necesidad de energía).
- Isotropía óptica.
- Habilidad para ser esterilizada por filtración.
- Área superficial grande.
- Alta capacidad de solubilización.
- Tamaño de gota muy pequeño, con vectorización pasiva.

Las microemulsiones se preparan por un método de emulsificación espontánea, y se pueden estudiar o representar con la ayuda de un diagrama de fases. La construcción del diagrama de fases es un enfoque útil para estudiar las complejas series de interacciones que pueden ocurrir cuando se mezclan sus diferentes componentes.<sup>8</sup> Un diagrama pseudoternario se construye para encontrar las diferentes zonas de emulsión, incluyendo la zona de microemulsión, en donde cada esquina del diagrama representa el 100% del componente en particular, (figura 10).<sup>46</sup>



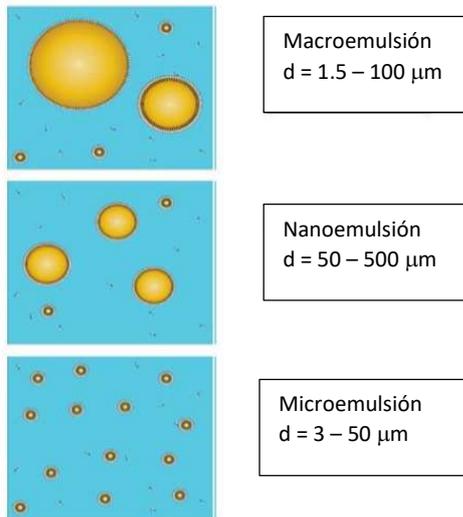
**Figura 10.** Representación esquemática de un diagrama ternario de fases, mostrando la región de microemulsión.<sup>48</sup>

En contraste con las emulsiones ordinarias, las microemulsiones se forman con el simple mezclado de sus componentes y no requieren condiciones de alta cizalla o corte, usadas generalmente en las emulsiones convencionales. Las diferencias principales entre microemulsiones y emulsiones es en el tamaño y forma de sus gotas que están dispersas en la fase continua.<sup>8</sup> En la tabla 4 se encuentran listadas las diferencias en las propiedades de las microemulsiones en relación con las emulsiones convencionales.

**Tabla 4.** Comparación de microemulsiones con emulsiones convencionales o gruesas.<sup>49,46</sup>

PROPIEDAD	MICROEMULSION	EMULSION
Apariencia	Transparente (o Translúcida)	Turbia
Isotropía óptica	Isotrópica	Anisotrópica
Tensión Interfacial	Ultra baja	Alta
Microestructura	Dinámica (la interface es fluctuante continua y espontáneamente)	Estática
Tamaño de gota	20 – 200 nm	>500 nm
Estabilidad	Termodinámicamente estable.	Termodinámicamente inestable.
Fases	Monofásica	Bifásica
Preparación	Fácil preparación, relativamente bajo costo para producción comercial.	Requiere un gran aporte de energía, costo más alto.
Viscosidad	Baja viscosidad	Alta viscosidad

En la figura 11 se muestra una comparación entre el tamaño de glóbulo de una microemulsión, comparada con el de una emulsión convencional y una nanoemulsión.



**Figura 11.** Representación esquemática del tamaño de una gota para diferentes tipos de emulsiones<sup>49</sup>

### 2.6.2 Componentes de una microemulsión.

Los principales componentes de una microemulsión son:

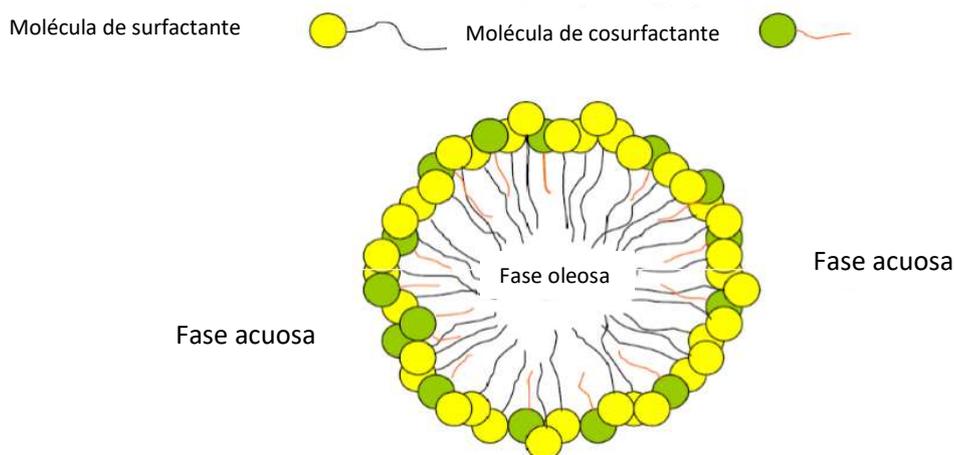
**a) Fase oleosa.** En la elección de los componentes de la fase oleosa puede influir principalmente tres parámetros: liberación del fármaco, solubilización del fármaco en la microemulsión y permeabilidad en la piel.<sup>46</sup> Pueden ser usados ácidos grasos saturados e insaturados como potenciadores de penetración efectivos, ejemplos de ellos son el ácido oleico, el miristato de Isopropilo y el, palmitato de Isopropilo, entre otros.<sup>44</sup>

**b) Fase acuosa.** En la mayoría de los casos, el agua forma la fase acuosa. En algunos casos es usado un buffer o solución amortiguadora, según el tipo de fármaco o la vía de administración.<sup>44</sup>

**c) Tensoactivos.** Los tensoactivos elegidos deben ser capaces de disminuir la tensión interfacial a un valor muy pequeño, que facilite el proceso de dispersión durante la preparación de las microemulsiones y provea un film flexible que se pueda deformar rápidamente alrededor de las gotas.<sup>46</sup> Hay un amplio uso de surfactantes no iónicos empleados como agentes solubilizantes, entre ellos los polisorbatos (ésteres de sorbitan etoxilados). Algunos estudios recientes indicaron que los surfactantes no iónicos pueden afectar la función barrera de la piel.<sup>44</sup>

**d) Cosurfactantes.** En muchos casos, los tensoactivos de cadena sencilla solos no son capaces de reducir la tensión interfacial para permitir la formación de microemulsiones. La presencia de cosurfactantes permite al film interfacial flexibilidad suficiente para tomar diferentes curvaturas para formar microemulsiones.<sup>46</sup> Los alcoholes de cadena corta son ampliamente usados como cosurfactantes y a su vez son buenos promotores de permeación. El etanol es muy común entre las formulaciones transdérmicas y se sabe que su adición mejora el flujo de muchos fármacos.<sup>44</sup>

En la figura 12, se muestra el arreglo de los componentes de una gota de microemulsión aceite-en-agua.



**Figura 12.** Representación transversal de una gota esférica de microemulsión aceite-en agua.<sup>49</sup>

Las microemulsiones aplicadas de manera tópica, mostraron un incremento significativo en la absorción cutánea de fármacos. Los vehículos comúnmente actúan como promotores de penetración, dependiendo de los constituyentes oleosos/ surfactantes, los cuales están involucrados en el riesgo de inducir irritación local.<sup>44</sup>

Se encuentran disponibles un gran número de aceites y tensoactivos para ser usados como componentes de sistemas de microemulsiones, pero su toxicidad, potencial de irritación y un mecanismo de acción poco claro limitan su uso. Se deben elegir materiales biocompatibles, no tóxicos, aceptables clínicamente y usar emulsificantes o tensoactivos en un rango de concentración apropiada, lo cual resultará en microemulsiones levemente o no agresivas.

El énfasis, es por lo tanto el uso de excipientes considerados generalmente como seguros, por sus siglas en inglés (GRAS, generally regarded as safe).<sup>46</sup>

Varios mecanismos potenciales para mejorar la penetración de un fármaco a través de la piel incluyen la afectación directa de la piel y modificación de la formulación, así la partición, difusión o solubilidad son alterados. En la siguiente lista se mencionan estos mecanismos potenciales:<sup>44</sup>

**1. Efecto directo en la piel:**

- a. La desnaturalización de la queratina intracelular o modificación de su conformación causa hinchamiento e incrementa la hidratación.
- b. La afectación de los desmosomas que mantienen la cohesión entre los corneocitos.
- c. Modificación de las capas lipídicas, reduciendo la resistencia a la penetración.
- d. Alterando las propiedades de disolvente del estrato córneo para modificar la partición del fármaco.
- e. El uso de disolventes que puedan extraer los lípidos en el estrato córneo y disminuir su resistencia a la penetración.

**2. Modificación de la formulación:**

- a. El estado de supersaturación producido por disolventes volátiles que dejan la sustancia activa en un estado termodinámicamente más activo.
- b. La elección de las moléculas potenciadoras en el vehículo que son buenos solventes para el ingrediente activo y que mejoran la permeación a través de la piel.
- c. La difusión del ingrediente activo a través de la piel puede ser facilitada por el uso de potenciadores que crean “pools” de líquido dentro de las bicapas, como el ácido oleico; o interrumpen las bicapas uniformemente como las moléculas de azona.

**2.6.3 Tipos de microemulsiones.**

En términos generales, existen diferentes tipos de microemulsiones, dependiendo de su composición, proporción entre sus componentes y arreglo de las moléculas de los componentes presentes, en la figura 13 se presentan los tipos de microemulsiones: <sup>26, 50</sup>

- a. **Winsor I (O/W)**, en donde las gotas de aceite están dispersas en agua. El surfactante se solubiliza preferiblemente en la fase acuosa.
- b. **Winsor II (W/O)**, en donde las gotas de agua están dispersas en aceite. El surfactante se solubiliza preferiblemente en la fase oleosa.
- c. **Winsor III o sistemas bicontinuos**, en donde las cantidades de agua y aceite son similares. La fase intermedia cargada con surfactante se combina con las fases de agua y aceite y forma una microemulsión de tres fases.
- d. **Winsor IV**, sistemas que son formados alterando la curvatura de la interfase con la ayuda de diferentes factores como salinidad, temperatura, etc. Consiste en una mezcla homogénea de una fase única.

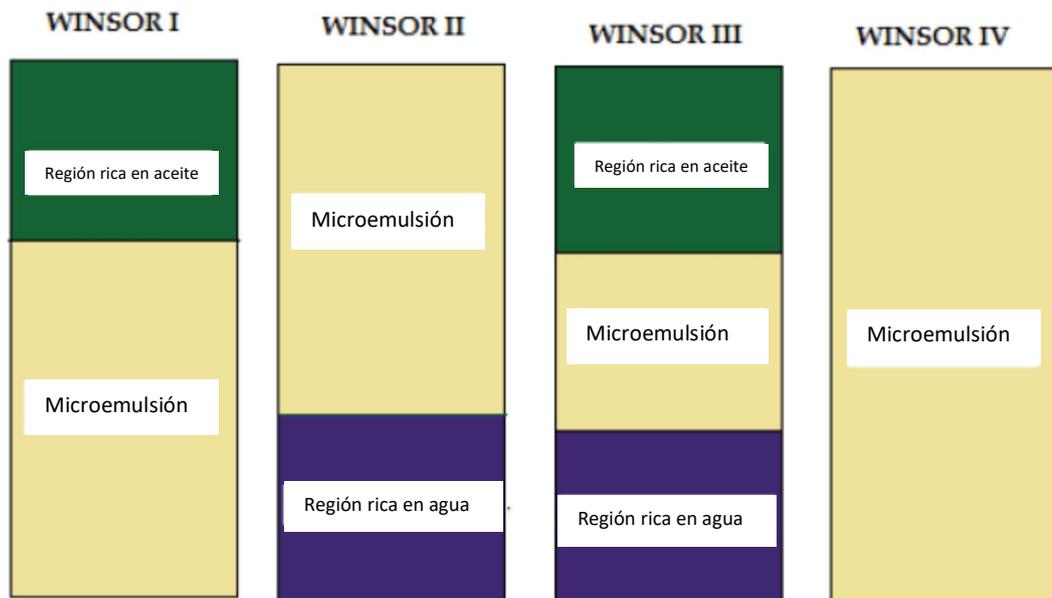


Figura 13. Clasificación de las microemulsiones.<sup>50</sup>

#### 2.6.4 Caracterización de microemulsiones

La caracterización de las microemulsiones es una tarea retadora debido a la complejidad, variedad de estructuras, componentes involucrados en los sistemas y limitaciones asociados con cada técnica. La caracterización fisicoquímica de las microemulsiones está basada principalmente en la estabilidad de las fases, comportamiento de las fases, microestructura y dimensiones (tamaño y distribución de tamaño), forma, características de superficie, arreglos moleculares locales, interacciones y dinámica.<sup>49</sup>

Las microemulsiones se pueden caracterizar empleando diferentes técnicas. Entre las propiedades que se evalúan está el tamaño de partícula, interacciones y dinámica, debido a que estas características controlan muchas de las propiedades generales de las microemulsiones.<sup>51</sup>

Algunas técnicas utilizadas para su caracterización son<sup>8</sup>:

- a) **Estudios de comportamiento de fase.** Pueden usarse observaciones visuales y con microscopio de contraste de fases para diferenciar las microemulsiones de las emulsiones gruesas.
- b) **Mediciones de tamaño de glóbulo.** La distribución del tamaño de partícula es muy importante para entender el mecanismo que involucra la estabilidad y penetración en la membrana. Existen muchas tecnologías, como la dispersión dinámica de luz (DLS, por sus siglas en inglés) (Zhang et al., 2013), dispersión de ángulo pequeño de rayos X (SAXS, por sus siglas en inglés) (Podlogar et al, 2004), microscopía de crío transmisión electrónica, entre otras, las cuales son útiles para obtener información significativa acerca del tamaño, forma y actividad de los componentes.<sup>49</sup>
- c) **Potencial Z.** Debe ser negativo o neutral, lo cual indica que las gotas de microemulsión no tienen carga, y por lo tanto el sistema es estable. El potencial zeta es esencialmente útil para evaluar la floculación, ya que la carga eléctrica en las partículas influencia la velocidad de floculación.<sup>51</sup>

- d) **Viscosidad.** El comportamiento reológico de la formulación puede ser observado usando un viscosímetro. Un cambio en las características reológicas ayuda a determinar la región de microemulsión y su separación de otra región.
- e) **Tipo de Emulsión.** Las mediciones de conductividad determinan si una microemulsión es aceite-en-agua, que también provee un método para monitorear el fenómeno de inversión de fase. Existen otros métodos, como el de uso de colorante afín y el método de dilución para inversión de fases.
- f) **Estabilidad.** La microemulsión optimizada es puesta a condiciones de temperatura de refrigeración (4-8°C), temperatura ambiente y temperatura elevada (50 ± 2°C) durante 2 meses, al término del cual se evalúa el % de separación, y tamaño de partícula.

## 2.7 PRUEBAS DE PERMEABILIDAD DE FÁRMACOS *IN VITRO*

Son métodos diseñados para medir la penetración de fármacos y subsecuente permeación a través de la piel a un depósito de fluido. Se puede utilizar piel no viable para penetración y permeación, o piel activa metabólicamente para medir simultáneamente la permeación y el metabolismo de la piel. Las pruebas *in vitro* son apropiadas para predecir la penetración dérmica humana. Más aún, estas pruebas ofrecen un número de ventajas sobre experimentos en animales completos o incluso en voluntarios humanos, incluyendo ahorro en tiempo y costos, mejor reproducibilidad de resultados.<sup>35</sup>

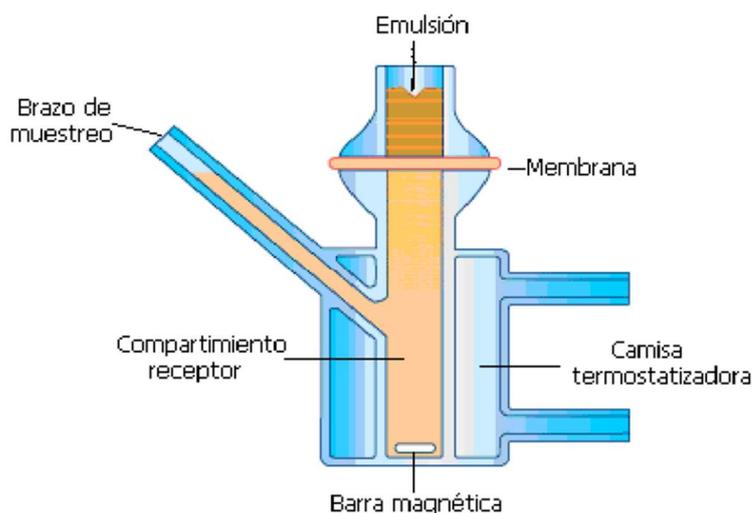
La gran mayoría de las estimaciones matemáticas de la absorción percutánea usa como primera entrada la información de la velocidad de paso de una molécula a través de una membrana o permeabilidad. Se ha utilizado el coeficiente de permeabilidad  $K_p$ , o el menos comúnmente usado, el flujo máximo en estado estable  $J_{max}$ , que son medidos experimentalmente. Además de un número de descriptores fisicoquímicos como la lipofilicidad (log P) y el punto de fusión.<sup>52</sup>

Aunque las mediciones de la penetración percutánea *in vitro* son comunes, las técnicas usadas deben ser consideradas cuidadosamente. Hay varios puntos a ser tomados en cuenta cuando se usen sistemas *in vitro* para evaluar la absorción dérmica:

1. Tipo de sistema de celdas; 2. Origen o fuente de la piel; 3. Viabilidad; 4. Preparación; 5. Composición del fluido receptor; y 6. Cálculo de resultados. Las pruebas *in vitro* deben ser llevada a cabo de acuerdo con la OECD, “Guía para las pruebas de Químicos”; Borrador de la Nueva Guía 248: Método Absorción de piel *in vitro*.<sup>35</sup>

### 2.7.1 Métodos utilizando celdas de difusión.

La técnica más común para medir la absorción dérmica *in vitro* es la aplicación de la sustancia de prueba en una formulación adecuada que es colocada sobre una muestra de superficie de piel, la cual es montada como una barrera entre el compartimiento donador y el compartimiento receptor de una celda de difusión, conocidas como celdas tipo Franz (figura 14).<sup>35</sup>



**Figura 14.** Celdas de difusión tipo Franz<sup>53</sup>

Las celdas de difusión pueden ser estáticas o de flujo continuo. En las celdas de difusión estáticas se reemplaza el perfundido en cada punto de muestreo, mientras que en la de flujo continuo se emplea una bomba para pasar el fluido a través de la cámara receptora.<sup>35</sup> Las celdas de difusión estáticas son subdivididas de acuerdo con la orientación de la piel. La membrana puede ser colocada horizontal o verticalmente, con volúmenes en la cámara receptora entre 0.5 y 10 ml, y áreas de superficie de membranas expuestas entre 0.2 y 2 cm<sup>2</sup>. La mayoría de los estudios de absorción en piel son conducidos usando celdas horizontales.

El uso de las celdas verticales es más común cuando se evalúan los sistemas de liberación de fármacos, como sonoforesis, iontoforesis o electroporación, etc.<sup>35,54</sup> El compartimiento donador es donde la formulación contiene el permeante de interés y donde es introducido al inicio de la prueba. El compartimiento receptor es la cámara hacia la cual el permeante de interés puede difundir. Además de medir la cantidad, velocidad, y el permeante que pasa a través de la membrana a la fase receptora, también es posible determinar qué tanto del material de interés permanece en la membrana (que puede ser piel) al final del experimento.<sup>52</sup>

### 2.7.2 Modelos de membrana

El principal modelo de membrana es el uso de piel humana, sin embargo, la recolección y uso depende de numerosos factores. Entre los modelos animal más utilizados se encuentra la piel de cerdo, debido a su fácil recolección y semejanza con la piel humana.<sup>52,54</sup>

Muchos investigadores han desarrollado equivalentes de piel artificial. Estos materiales intentan producir membranas que exhiben regiones tanto hidrofílicas como hidrofóbicas para imitar el estrato córneo. El uso de piel artificial aún no está recomendado para pruebas *in vitro* debido a las diferencias en la función barrera comparada con la piel natural.<sup>23</sup> La ventaja de este tipo de tejidos es que se puede mantener la viabilidad; por otro lado, la desventaja principal es que la permeabilidad del tejido es generalmente más alta del *in vivo*.<sup>54</sup>

También se han propuesto membranas sintéticas, las cuales han sido usadas cuando es difícil de conseguir piel humana o animal, o cuando se llevan a cabo un gran número de experimentos. Las membranas artificiales más ampliamente usadas son de polidimetilsiloxano (por sus siglas en inglés PDMS) y de acetato de celulosa. Sin embargo, estas membranas a menudo han mostrado sobreestimar significativamente el flujo a través de la piel. Por ejemplo, Moss et al. 2006, comparó la permeabilidad de una serie de profármacos a través de piel de cerdo y membranas de PDMS *in vitro*, encontrando importantes diferencias cuando se utilizan este tipo de membranas.<sup>52</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN

El número de fármacos capaces de atravesar por si mismos el estrato córneo, que es la capa más externa de la piel y principal barrera de absorción, en cantidad suficiente para acceder a la circulación sanguínea y producir una respuesta terapéutica es reducido. Para tal fin se han desarrollado diversas tecnologías en las que además se han incorporado a la formulación promotores químicos y físicos de absorción transdérmica. En los últimos años se han venido estudiando sistemas dispersos de talla nanométrica que han mejorado el paso de sustancias activas a través de la piel, tal es el caso de las microemulsiones farmacéuticas.

La naltrexona está aprobada para el uso en el tratamiento de la dependencia al alcohol, sin embargo, las dosis terapéuticas disponibles en el mercado (oral e inyección) presentan inconvenientes, por lo que existe interés en explorar la vía transdérmica y en particular las microemulsiones ya que presentan algunas ventajas como, estabilidad termodinámica, facilidad y bajo costo de preparación sobre otros sistemas coloidales, además de presentar algunas ventajas para el paciente.

#### **4. OBJETIVO GENERAL**

Preparar y caracterizar microemulsiones cargadas con naltrexona, así como evaluar su efecto promotor sobre la permeabilidad del fármaco en piel.

##### **4.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1. Realizar una búsqueda bibliográfica para definir los componentes a usar en la preparación de las microemulsiones y seleccionar los materiales a emplear como componentes de las microemulsiones a través de pruebas de solubilidad del fármaco en los mismos.
2. Realizar mezclas de los componentes empleando un diseño experimental donde se establezcan las proporciones a evaluar, empleando restricciones para los cuatro componentes (fase oleosa, acuosa, tensoactivo y cosurfactante) según sus indicaciones de uso.
3. Elaborar diagramas pseudoternarios para identificar las zonas de microemulsión para cada uno de los sistemas fase oleosa-tensoactivo-cosurfactante a explorar.
4. Caracterizar las microemulsiones obtenidas en tamaño de glóbulo, potencial Z, carga de fármaco, estabilidad y tipo de emulsión, utilizando técnicas como dispersión dinámica de luz, centrifugación y espectrofotometría UV.
5. Desarrollar y validar los métodos analíticos necesarios para la cuantificación de fármaco en cada una de las etapas del proyecto.
6. Evaluar el efecto de las microemulsiones sobre la permeabilidad de naltrexona en piel de cerdo, utilizando celdas de Franz, determinando la cantidad de fármaco permeado por unidad de tiempo y área, así como el fármaco retenido en piel.

## 5. HIPÓTESIS

Incluir naltrexona en un sistema coloidal microemulsionado, empleando materiales que tienen afinidad por la zona lipídica del estrato córneo y que poseen un efecto promotor sobre la permeabilidad en piel, favorecerá el paso del fármaco a través de la piel, generando formulaciones con propiedades fisicoquímicas y tecnológicas para la administración transdérmica, como una alternativa al tratamiento sistémico del alcoholismo.

## 6. MATERIALES Y EQUIPOS

### 6.1 MATERIALES

- Oreja de cerdo con el estrato córneo intacto
- Portafiltros de polipropileno (Millipore ®).
- Papel filtro, pre-filtro tipo AP (Millipore ®).
- Membrana tipo HVMP 0.45 µm (Millipore ®).
- Celdas tipo Franz.

### 6.2 EQUIPOS

- Dermatoma (Zimmer Electric Dermatome) - Estados Unidos de América
- Espectrofotómetro UV-Vis (Varian Cary 50) – Estados Unidos de América
- Zetasizer (Malvern Instruments Zen 3600) - Estados Unidos de América
- Balanza analítica (Ohaus Modelo E12140) - Suiza
- Potenciómetro (Jenco Vision Plus pH6175) - Estados Unidos de América
- Viscosímetro (Brookfield Model DV3TLVTJ0) - Estados Unidos de América
- Conductímetro (Vernier software Conductivity probe) - Estados Unidos de América
- Agitador vórtex (Science Med MX-S) - Finlandia
- Baño de agua con Termocirculador (Sous Vide PolyScience) - Estados Unidos de América
- Agitador multiplaza (Variomag electronic stirrer) - Estados Unidos de América
- Parrilla de agitación (Biomega Research Products Inc.) - Estados Unidos de América

### 6.3 FÁRMACO, EXCIPIENTES Y REACTIVOS

#### INGREDIENTE ACTIVO FARMACÉUTICO

- Clorhidrato de Naltrexona (Donado por Laboratorio Químico Médico SA de CV, BIOQUIMED) - México

#### FASE OLEOSA

- Miristato de Isopropilo (Droguería Cosmopolita) – México
- Palmitato de Isopropilo (Sigma Aldrich) - Estados Unidos de América
- Ácido oleico (Meyer) - México

#### TENSOACTIVOS

- Tween80® (Droguería Cosmopolita) - México

#### COSURFACTANTES

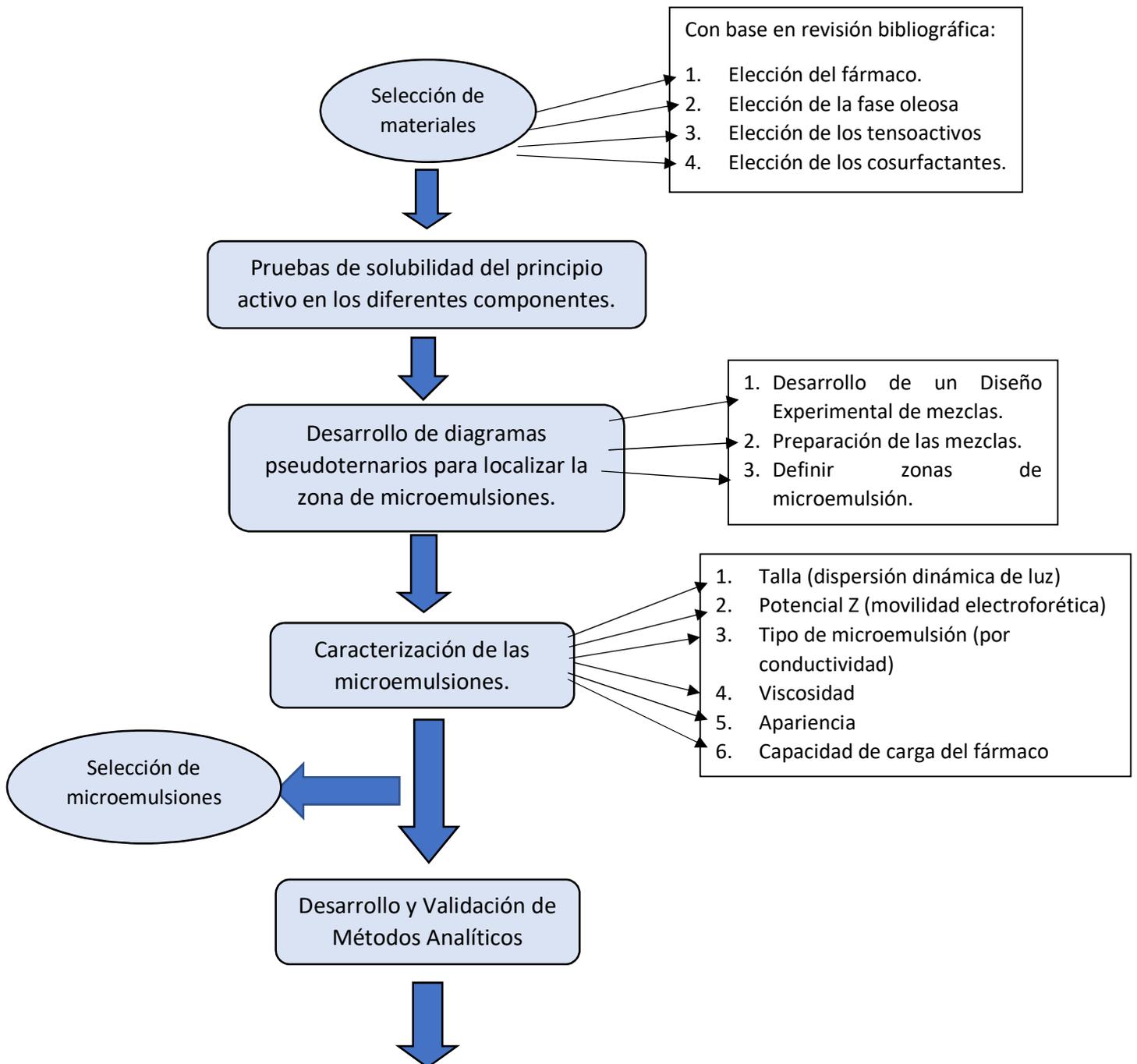
- 1-butanol (Merck KGaA) - Alemania
- Transcutol® (Gattefossé) - Francia

#### REACTIVOS

- Metanol (Meyer) - México
- Fosfato de potasio monobásico (J. T Baker) - Suecia
- Hidróxido de sodio (J. T Baker) - Suecia
- Ácido fosfórico (Meyer) - México

## 7. METODOLOGÍA

En la figura 15 se encuentra resumida, en un diagrama de flujo, la metodología que se siguió en el desarrollo del presente proyecto.



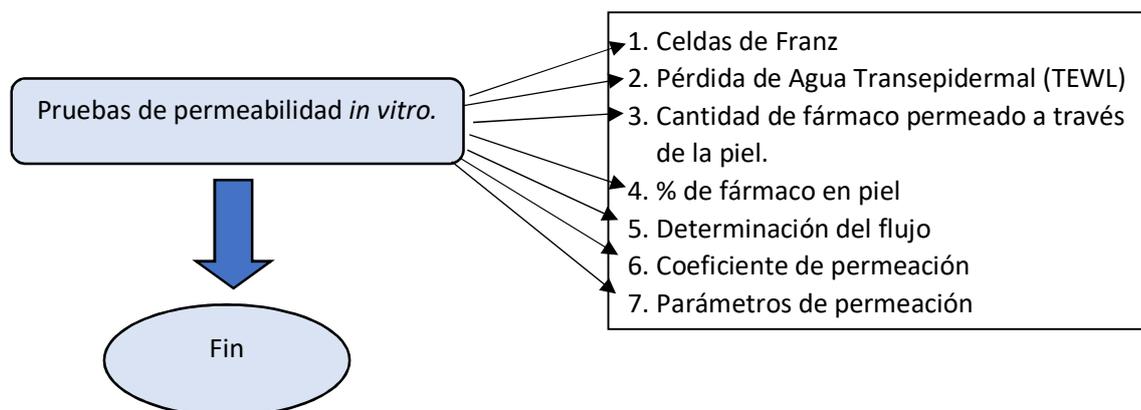


Figura 15. Esquema general de la metodología empleada

### 7.1 SELECCIÓN DE MATERIALES.

Se definió trabajar con un fármaco de interés para tratar un problema de salud pública, como es la naltrexona. En principio se eligieron los materiales a emplear en base a resultados de promoción de permeabilidad publicados por algunos autores, por ejemplo, el *ácido oleico*, de acuerdo con Inayat<sup>42</sup>, quien reportó incrementó en gran medida el flujo de ácido salicílico y 5-fluoracilo a través de membrana de piel humana *in vitro*, en el caso de *palmitato de isopropilo* se ha visto el efecto promotor en varios estudios, incluso se ha visto que por sí mismo podría inducir un alto grado de permeación<sup>55</sup>. Los materiales elegidos fueron:

1. Tensoactivo - Tween80®
2. Fase oleosa – Ácido oleico, miristato de isopropilo y palmitato de isopropilo.
3. Cosurfactantes – 1-butanol y transcutool®.

### 7.2 PRUEBAS DE SOLUBILIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO

Empleando el método de adición de volúmenes, se obtuvo la solubilidad aparente de clorhidrato de naltrexona. Se pesaron 10 mg de naltrexona en diferentes tubos de ensayo, y agregando uno a uno los materiales seleccionados (tween 80®, transcutool®, 1-butanol, ácido oleico, miristato de isopropilo y palmitato de isopropilo) a diferentes volúmenes, comenzando con 100 µl y agitando en cada adición hasta solubilizar el fármaco por completo o completar 1 ml, registrando al final el volumen total utilizado. Con los datos se reportan los mg/ml de fármaco en cada componente por separado.

### 7.3 DESARROLLO DE DIAGRAMAS PSEUDOTERNARIOS

Para la preparación de diagramas pseudoternarios se creó un diseño de mezclas con vértices extremos con uso del software Statgraphics Centurion XVI. Para el diseño se consideraron los siguientes componentes y sus restricciones:

$X_1$ : Proporción de Fase Acuosa: de 20 a 80%

$X_2$ : Proporción de Fase Oleosa: de 20 a 80%

$X_3$ : Mezcla Tensoactivo-Cosurfactante: de 25 a 75%

Adicionalmente, para cada diagrama se consideraron 3 proporciones en la mezcla de tensoactivo:cosurfactante: 1:1, 1:2 y 2:1

La tabla 5 muestra la matriz de diseño generada, donde se muestran las mezclas a elaborar y la proporción de los componentes que se deben utilizar.

**Tabla 5.** Matriz de Diseño experimental de Mezclas con vértices extremos

$X_1$	$X_2$	$X_3$
%	%	%
0.650	0.100	0.250
0.100	0.650	0.250
0.150	0.100	0.750
0.100	0.150	0.750
0.450	0.175	0.375
0.175	0.450	0.375
0.200	0.175	0.625
0.175	0.200	0.625
0.375	0.375	0.250
0.400	0.100	0.500
0.100	0.400	0.500
0.125	0.125	0.750
0.250	0.250	0.500

La variable de respuesta en la evaluación de los diagramas pseudoternarios fue:

$Y_1$ : Presencia de microemulsión (Sí/No)

### **7.3.1 Delimitación de la zona de microemulsión.**

La variable de respuesta se midió de forma visual, determinando la presencia de microemulsión al obtener una mezcla translúcida, homogénea y sin separación de fases. Para localizar la zona de microemulsión se graficaron las coordenadas de las mezclas donde se obtuvieron microemulsiones en el diagrama pseudoternario.

## **7.4 PREPARACIÓN DE LAS MEZCLAS**

De acuerdo con las proporciones de los componentes, según la tabla 4, se agregó el volumen equivalente de cosurfactante, posteriormente el volumen equivalente de fase oleosa, después del tensoactivo y finalmente la fase acuosa. Se agitó la mezcla utilizando vórtex hasta obtener una mezcla homogénea.

## **7.5 CARACTERIZACIÓN DE LAS MICROEMULSIONES OBTENIDAS**

Cada una de las microemulsiones que se identificaron en los diagramas pseudoternarios fueron caracterizadas en tamaño de glóbulo, potencial z, tipo de microemulsión y carga de fármaco con la siguiente metodología:

### **7.5.1 Tamaño promedio de glóbulo y potencial zeta**

Se tomó una muestra de 3 ml de microemulsión, vertiéndolos cuidadosamente en la celda de poliestireno (celda de poliestireno convencional para determinar tamaño promedio del glóbulo y celda capilar de poliestireno para determinar el potencial zeta), evitando que se formen burbujas. Las celdas se colocaron en el equipo Zetasizer® Z-90, seleccionando el tipo de medición que se realizará, bajo una metodología previamente establecido, donde se indicó el medio dispersante y el índice de refracción correspondiente. La medición del tamaño promedio se realizó a 90°, diluyendo previamente la muestra con fase acuosa. Las mediciones se hicieron por triplicado.

### **7.5.2 Tipo de microemulsión.**

Para determinar el tipo de emulsión, muestras de microemulsión se colocaron en un vaso de precipitados. Posteriormente se introdujo un sensor de conductividad con un equipo Vernier®. Registrando si existe una medida de conductividad. Utilizando como criterio, emulsión O/W cuando se registraron lecturas.

### **7.5.3 Carga de fármaco**

La prueba se llevó a cabo colocando 10 mg de clorhidrato naltrexona en un tubo de ensaye, agregando volúmenes crecientes de microemulsión, hasta obtener una saturación del sistema. Iniciando con volúmenes pequeños de 50 µl, agitando con la ayuda de un vortex, en cada volumen adicionado. Se registró el volumen total utilizado para solubilizar la naltrexona, reportando los mg/ml por cada microemulsión.<sup>56,57</sup>

## **7.6 DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS**

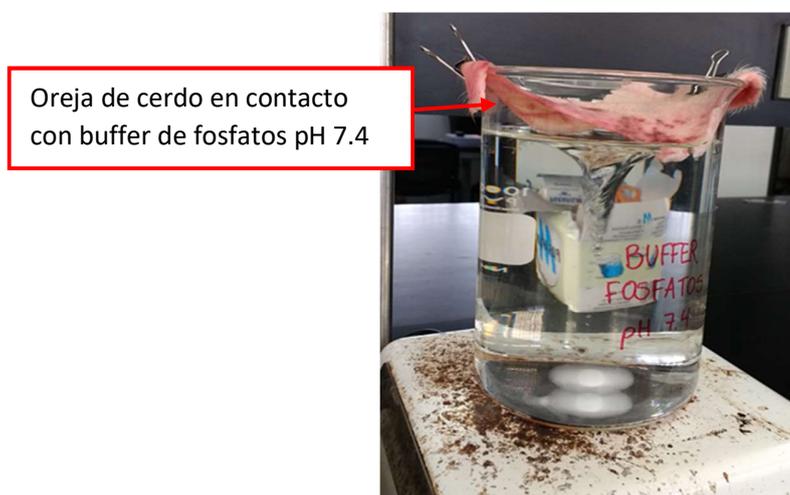
Se validaron dos métodos analíticos por espectrofotometría UV, uno para evaluar el clorhidrato de naltrexona que pasó a través de la piel y el otro para evaluar la cantidad remanente de naltrexona clorhidrato sobre la piel.

### **7.6.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de naltrexona.**

Para una muestra de naltrexona clorhidrato a una concentración de 150 µg/ml, en solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4, fue obtenido un barrido de 200 a 400 nm en el espectrofotómetro UV-Vis Cary-60, con la finalidad de identificar el fármaco y determinar la  $\lambda$  máxima en la región de absorción UV. Se reporta el espectro de absorción de naltrexona en la región UV.

### 7.6.2 Método para evaluar el paso de clorhidrato de naltrexona a través de la piel.

La matriz acuosa para el desarrollo del método se preparó manteniendo en contacto la parte interna de un segmento de oreja de cerdo sin tratamiento con buffer de fosfatos pH 7.4, durante 24 horas, (figura 16). Al concluir este tiempo se filtró la solución para eliminar residuos del tejido, utilizando un portafiltras y papel filtro inicialmente, para después filtrar a través de una membrana tipo HVMP de 0.45  $\mu\text{m}$ .



**Figura 16.** Oreja de cerdo sin tratar en contacto con buffer de fosfatos pH 7.4

Esta solución filtrada se utilizó para preparar una curva de calibración para determinar la cantidad de clorhidrato de naltrexona que llegue al medio receptor durante los estudios de permeación. Para tal objetivo se preparó una solución patrón del fármaco, disolviendo 10 mg de clorhidrato de naltrexona en un matraz volumétrico de 10 ml con metanol. A partir de esta solución se hicieron las diluciones pertinentes para obtener las concentraciones a utilizar en la validación del método.

Se evaluaron y determinaron los siguientes parámetros de desempeño del método analítico:

- **Linealidad:** se prepararon 5 concentraciones por triplicado en un rango de 0 a 100 µg/ml midiendo la absorbancia a 281 nm y empleando la matriz acuosa filtrada como blanco. Se determinó el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la ordenada al origen, la pendiente y sus intervalos de confianza al 95%.
- **Exactitud:** se realizaron por sextuplicado diluciones a una concentración de 20 µg/ml y de 100 µg/ml, obteniendo la absorbancia a 281 nm y calculando la cantidad recuperada a partir de la curva de linealidad. Para cada muestra se determinó el porcentaje de recobro con la siguiente expresión:

$$\% \text{Recobro} = (\text{Conc. Real de la Muestra} / \text{Conc. Teórica}) \times 100$$

A los resultados se les calculó el CV y el intervalo de confianza (95%) para los recobros.

- **Repetibilidad:** se prepararon seis soluciones al 50% de la curva de linealidad, evaluando la absorbancia en dos diferentes días. Se determinó el coeficiente de variación (CV).
- **Límites de cuantificación y detección.** se determinaron por cálculo con las siguientes expresiones:

#### LÍMITE DE DETECCIÓN

$$LD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

$\sigma$  = Desviación estándar del intercepto  
 S = Pendiente de la curva de calibración

#### LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

$$LC = \frac{10 \sigma}{S}$$

$\sigma$  = Desviación estándar del intercepto  
 S = Pendiente de la curva de calibración

### 7.6.3 Método analítico para determinar el fármaco remanente en la piel.

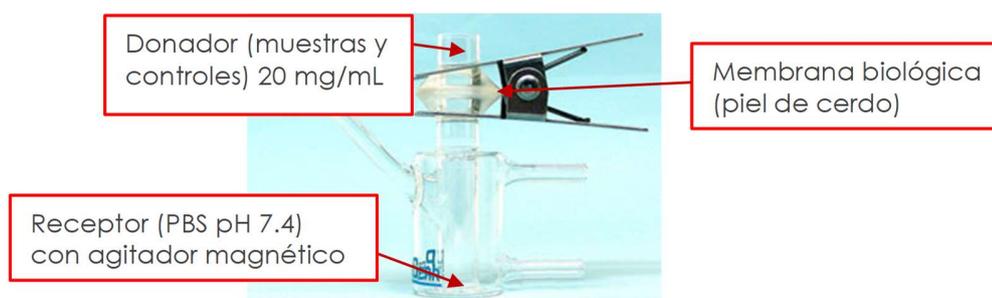
Para el desarrollo de este método se utilizó la misma piel que estuvo en contacto con el buffer de fosfatos, la cual se lavó para eliminar el exceso de solución, se cortó en trozos pequeños y se colocó en un frasco con tapa hermética que contenía metanol. La mezcla anterior se mantuvo en agitación por 24 horas, para después filtrar y eliminar los residuos del tejido, utilizando un portafiltras y papel filtro, y después a través de una membrana tipo HVMP de 0.45  $\mu\text{m}$ .

Con la solución obtenida del filtrado se preparó una solución patrón, pesando 10 mg de clorhidrato de naltrexona que fueron colocados en un matraz volumétrico de 10 ml, aforando con metanol. A partir de este momento se siguió el mismo procedimiento descrito en el punto anterior, utilizando metanol como disolvente de dilución.

## 7.7 PRUEBAS DE PERMEACIÓN EN PIEL *IN VITRO*.

### 7.7.1 Estudios de permeabilidad de naltrexona

Se utilizó oreja de cerdo como membrana para realizar estos estudios, esta se cortó utilizando un Dermatoma Zimmer Electric, a un grosor de aproximadamente 0.75 mm. Fragmentos de 1.1 cm de diámetro de oreja de cerdo previamente cortada, se colocaron en celdas de Franz tal como se muestra en la figura 17. Como medio receptor se utilizó entre 1.8 y 2.0 ml de buffer de fosfatos pH 7.4. En el donador se colocó 1 ml de cada microemulsión optimizada sin fármaco y con fármaco (a una concentración de 20 mg/ml). Además, para comparación del efecto promotor de la microemulsión se probó una solución acuosa del fármaco. Los estudios se realizaron por triplicado.



**Figura 17.** Sistema para pruebas de permeabilidad con celdas de Franz

Las celdas montadas se colocaron en un baño a  $37^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ , con agitación magnética. Al momento de colocar la piel entre el medio receptor y donador, se aseguró que la piel estuviera bien estirada y que no hubiera zonas muy delgadas del tejido. Al llenar el compartimiento receptor con buffer de fosfatos pH 7.4, se verificó que la solución estuviera en contacto con la piel y que no quedaran burbujas de aire en el interior.

Finalmente, se realizaron muestreos cada hora, hasta la hora 8, y posteriormente a las 24 h. Durante el muestreo se tomó el total del volumen del medio receptor y reemplazando con medio fresco. Las muestras se leyeron en el espectrofotómetro UV-Vis a 281 nm para cuantificar el fármaco permeado. Con los resultados obtenidos se hicieron los perfiles de permeabilidad, a partir de los cuales se determinó el flujo y el coeficiente de permeabilidad con las siguientes expresiones:

$$J = Q/(A \cdot t)$$

Donde, J es el flujo, Q es la cantidad de fármaco que atraviesa la membrana en un tiempo t, y A es el área de la membrana expuesta en  $\text{cm}^2$ .

$$K_p = Q/[A \cdot t \cdot (C_o - C_i)]$$

Donde  $K_p$  es el coeficiente de permeabilidad, Q es la cantidad de compuesto transportado a través de la membrana en un tiempo t (min),  $C_o$  y  $C_i$  son las concentraciones del compuesto en el sistema donador y el sistema receptor de la membrana respectivamente, y A es el área de la membrana expuesta en  $\text{cm}^2$ .

### **7.7.2 Estudios de fármaco retenido en piel.**

Una vez concluida la prueba de permeación, se desmontaron las celdas de Franz y se retiró el tejido, el cual se limpió con una servitoalla para retirar el exceso de formulación, se cortó en pedazos muy pequeños y se colocaron en frascos conteniendo 5 ml de metanol con un agitador magnético, la agitación se mantuvo durante 24 horas. Concluido el tiempo, se filtró la solución metanólica, cuantificando el fármaco extraído de la piel a 281 nm en el espectrofotómetro UV-Visible. Se reporta la cantidad en  $\mu\text{g}$  de fármaco remanente en piel.

## 7.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la comparación de tratamientos en las pruebas de carga de fármaco, estimación de flujo, cantidad permeada y retenida en piel, se utilizó el análisis de varianza unifactorial con pruebas de Tukey como análisis *post-hoc*, considerando significativos los efectos con una  $p < 0.05$ .

## 8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 8.1 SELECCIÓN DE MATERIALES Y PRUEBAS DE SOLUBILIDAD

La tabla 6 muestra los materiales elegidos para la preparación de microemulsiones y la solubilidad aparente encontrada para la naltrexona en cada uno de ellos por separado.

**Tabla 6.** Resultados de solubilidad de clorhidrato de naltrexona en los diferentes componentes

COMPONENTE	SOLUBILIDAD APARENTE
Ácido oleico	<2.0 mg/ml
Miristato de Isopropilo	<2.0 mg/ml
Palmitato de Isopropilo	<2.0 mg/ml
Tween 80	<2.0 mg/ml
Transcutol®	25.0 mg/ml
1-Butanol	4.5 mg/ml
Agua	50.0 µg/l
Buffer de fosfatos pH 7.4	45.0 µg/l

Los materiales evaluados como fases oleosas se eligieron en su función de capacidad para promover el paso de los fármacos a través de la piel, es decir, que actúan como promotores químicos de absorción<sup>42</sup>, ya que, como se puede apreciar el fármaco es prácticamente insoluble en las fases oleosas. Sin embargo, el fármaco presenta buena solubilidad en los diferentes cosurfactantes.

### 8.2 DIAGRAMAS SEUDOTERNARIOS (ZONAS DE ME) Y CARACTERIZACIÓN.

De acuerdo con el diseño de experimentos se prepararon 13 formulaciones o mezclas, para cada cosurfactante, en diferente fase oleosa y con diferente proporción en relación con el tensoactivo. La tabla 7 resume los posibles sistemas, y por tanto el número de diagramas seudoternarios que se estudiaron.

**Tabla 7.** Sistemas para el desarrollo de diagramas pseudoternarios.

<b>SISTEMA</b> <b>Agua + Tween 80+</b>
Transcutol®-Ácido Oleico
1-Butanol-Ácido Oleico
Transcutol®-Miristato de Isopropilo
1-Butanol-Miristato de Isopropilo
Transcutol®-Palmitato de Isopropilo
1-Butanol-Palmitato de Isopropilo

Como se aprecia en la tabla anterior se elaboraron 6 sistemas, de los cuales adicionalmente se probaron en proporciones tensoactivos/ cosurfactantes 1:1, 1:2 y 2:1, generando así 18 diagramas pseudoternarios.

Al preparar las mezclas, el primer criterio que se consideró para determinar si era microemulsión, fue la transparencia de esta. En la figura 18 se observan algunas pruebas realizadas, en donde se observan microemulsiones (transparentes), otras turbias o lechosas, correspondientes a emulsiones gruesas.

**Figura 18.** Mezclas, diferencia de microemulsiones y emulsiones gruesas

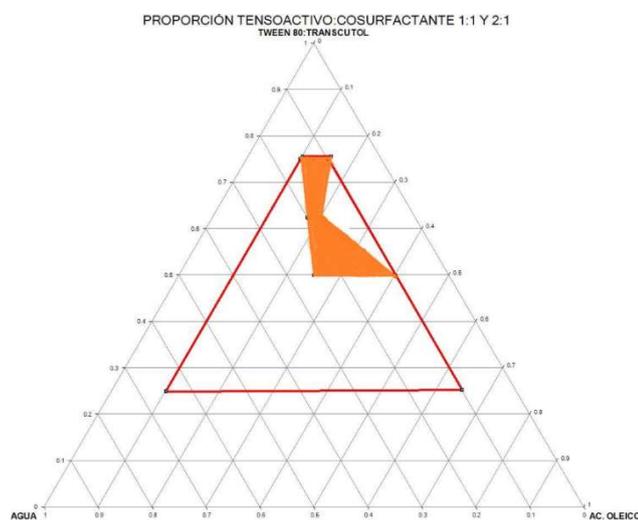
En las tablas 8-24 y figuras de la 19 a la 35 (diagramas pseudoternarios) se muestran los resultados de cada sistema evaluado en sus tres diferentes proporciones, señalando en cada sistema las mezclas que sí formaron microemulsión, así como sus principales parámetros de caracterización. Mientras que en los diagramas pseudoternarios se encuentran

graficados los puntos (mezclas con coordenadas) donde se encontraron microemulsiones y por tanto delimitando las zonas de microemulsión para cada proporción evaluada.

**Tabla 8.** Sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FACuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm ± ES	mV	mg/ml
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	227.6 ± 4.68	-28.1	12.5 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	467.9 ± 48.88	-21.0	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	736.3 ± 85.62	-31.4	22.2 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	535.5 ± 5.19	-34.7	<10.0 mg/ ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	2044 ± 209.23	-41.2	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	348.0 ± 34.39	-35.0	<10.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	570.8 ± 29.68	-32.7	33.3 mg/ ml

ES = Error estándar

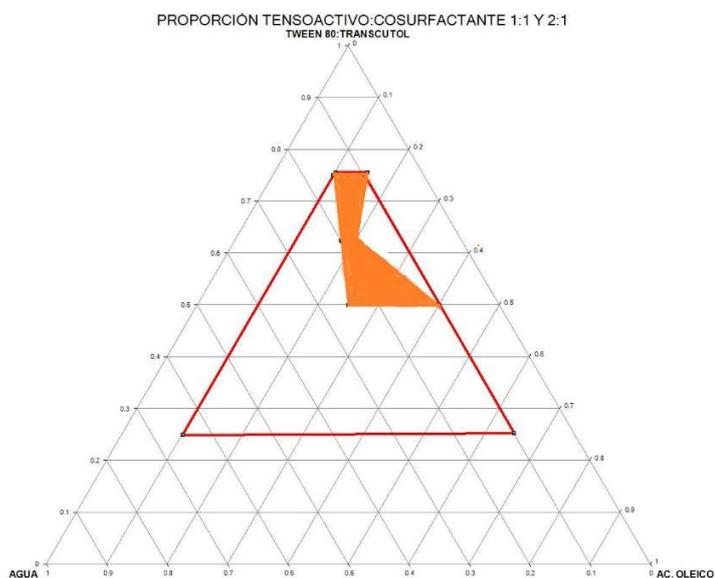


**Figura 19.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 1:1

**Tabla 9.** Sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FACuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	217.4 + 4.68	-23.3	11.1 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	308.8 + 25.59	-25.3	11.1 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	530.7 + 25.15	-25.6	16.7 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	659.7 + 72.58	-31.3	12.5 mg/ ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	1695.0 + 168.36	-40.1	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	297.2 + 7.77	-24.8	<10.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	762.8 + 195.49	-33.5	16.7 mg/ ml

ES = Error estándar

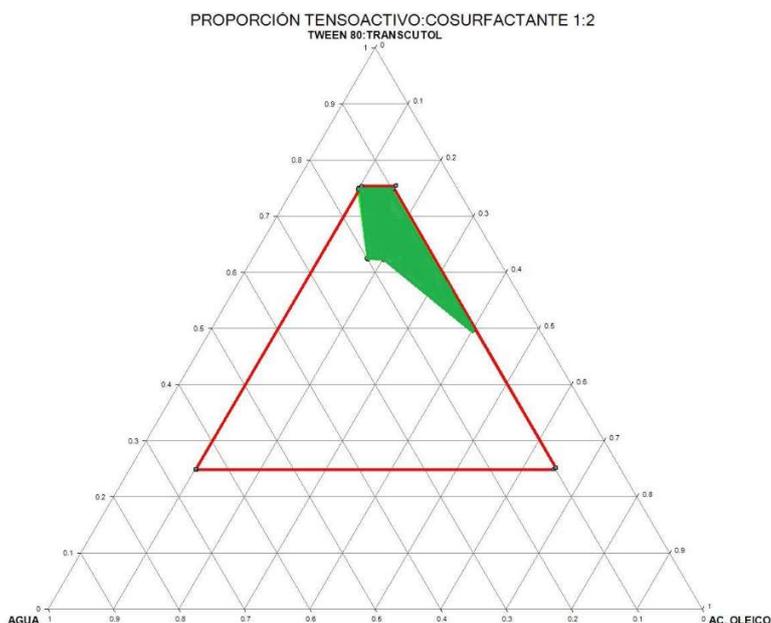


**Figura 20.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 2:1

**Tabla 10.** Sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 1:2

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	549.3 ± 69.46	-34.1	20.0 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	359.3 ± 62.76	-38.5	14.3 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	991.5 ± 141.91	-34.4	33.3 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	659.1 ± 41.08	-39.2	33.3 mg/ ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	415.0 ± 22.90	-37.1	100.0 mg/ ml
11	0.500	0.100	0.400	Si	87.22 ± 1.44	-44.5	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	534.0 ± 157.15	-36.9	22.2 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar



**Figura 21.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-ácido oleico-agua Proporción 1:2

Como puede apreciarse para los sistemas con ácido oleico como fase oleosa y transcutol® como surfactante, se observaron mezclas donde fue posible observar microemulsiones. El tamaño promedio se encuentra en valores esperados para las microemulsiones, mientras

que el potencial zeta tiene valores entre -23.0 y -44.5 mV, lo que las hace altamente estables. Por otro lado, la carga de naltrexona se ve afectada por la proporción de fases, encontrándose una mayor carga a altas proporciones de tensoactivo-cosurfactante, lo cual puede explicarse por la capacidad de estos agentes para solubilizar fármacos.<sup>58</sup>

Tabla 11. Sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	27.85 ± 1.68	-1.11	20.0 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	242.6 ± 11.33	-0.878	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	231.5 ± 4.44	-0.270	50.0 mg/ml
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	259.8 ± 8.49	-1.63	14.3 mg/ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

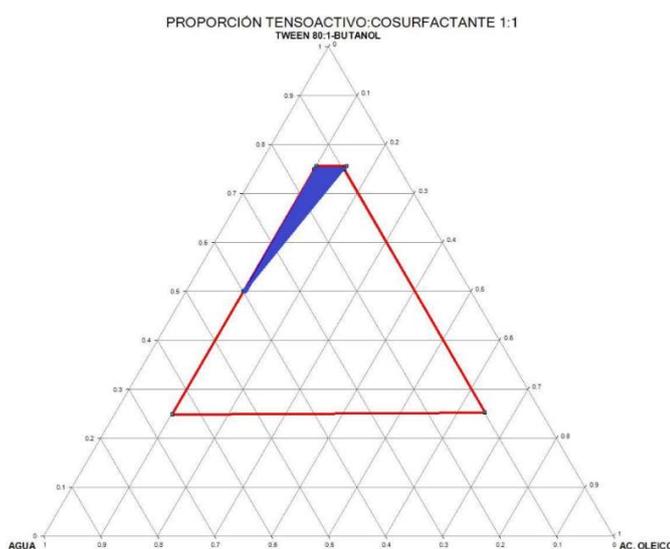
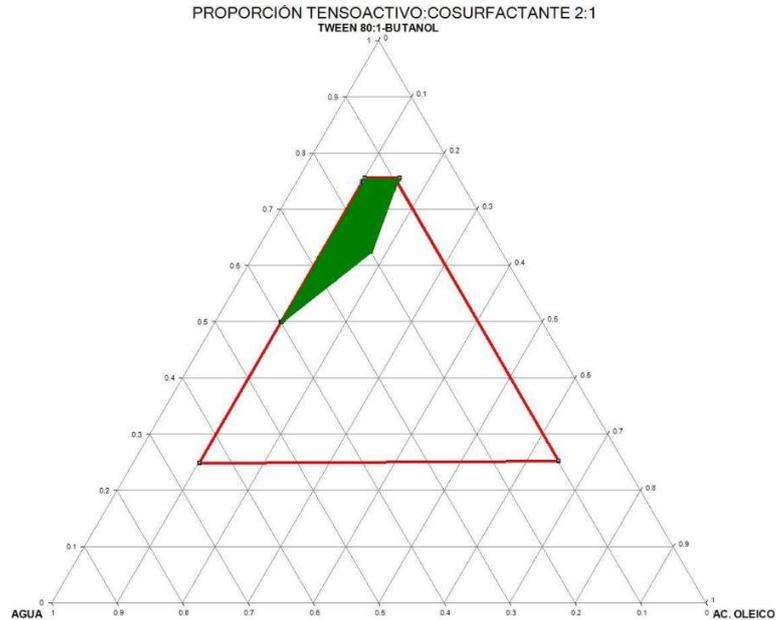


Figura 22. Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 1:1

**Tabla 12.** Sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	158.7 ± 6.19	-8.27	20.0 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	122.7 ± 3.98	-0.954	11.1 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	506.9 ± 80.78	-12.8	20.0 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	633.5 ± 89.49	-3.21	50.0 mg/ ml
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	601.7 ± 39.29	-25.0	11.1 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

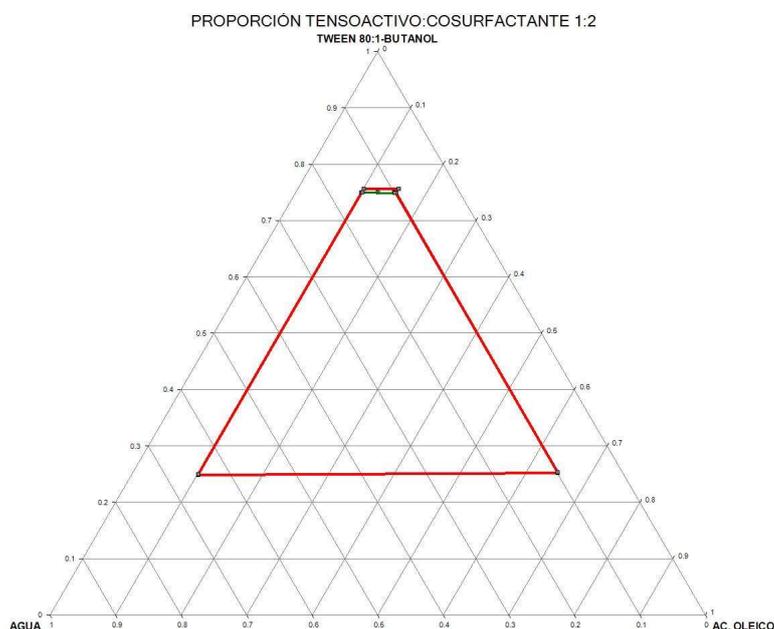


**Figura 23.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 2:1

**Tabla 13.** Sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 1:2

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	704.7 ± 253.11	-34.6	20.0 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	829.3 ± 107.10	-30.7	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	689.5 ± 78.98	-27.4	14.3 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

**Figura 24.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-1-butanol-ácido oleico-agua Proporción 1:2

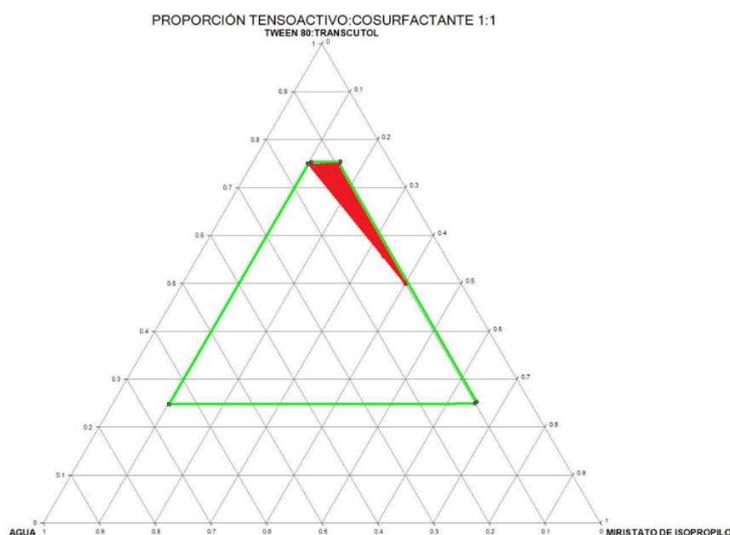
En el sistema que contiene ácido oleico como fase oleosa y 1-butanol como surfactante (figuras 22-24), se puede observar que con la proporción 2:1 se obtuvieron más mezclas que presentaron microemulsión con respecto a las otras 2 proporciones evaluadas; el tamaño

promedio es el esperado para los 3 sistemas, así como el potencial zeta, que se encuentra entre valores de -0.8 hasta -34 mV dándonos un indicativo de estabilidad para la mayoría de las microemulsiones. En lo que respecta a la carga de fármaco, podemos ver en los resultados que los sistemas con mayor proporción del sistema acuoso favorecen la mayor carga de fármaco.

**Tabla 14.** Sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	44.34 ± 30.34	-13.4	25.0 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	49.98 ± 21.90	-14.3	12.5 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	383.1 ± 16.84	-21.2	ND, se ve ligera separación.
12	0.750	0.125	0.125	Si	82.49 ± 33.23	-16.7	13.2 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

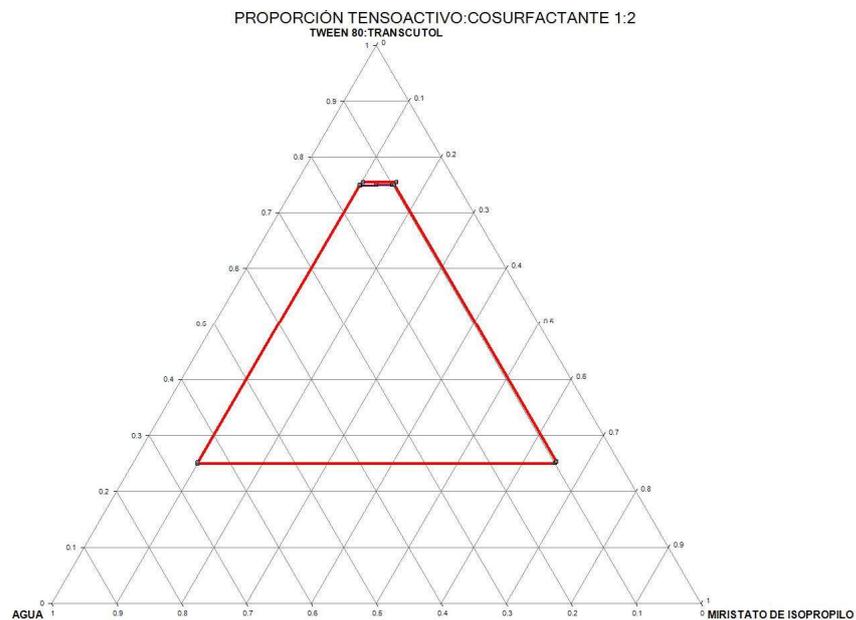


**Figura 25.** Sistema pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:1

**Tabla 15.** Sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:2

No. Mezcla	Ts-Cs	FACuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	436.6 ± 11.85	-21.2	22.7 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	195.7 ± 10.71	-21.5	20.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	206.5 ± 3.04	-19.1	21.7 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

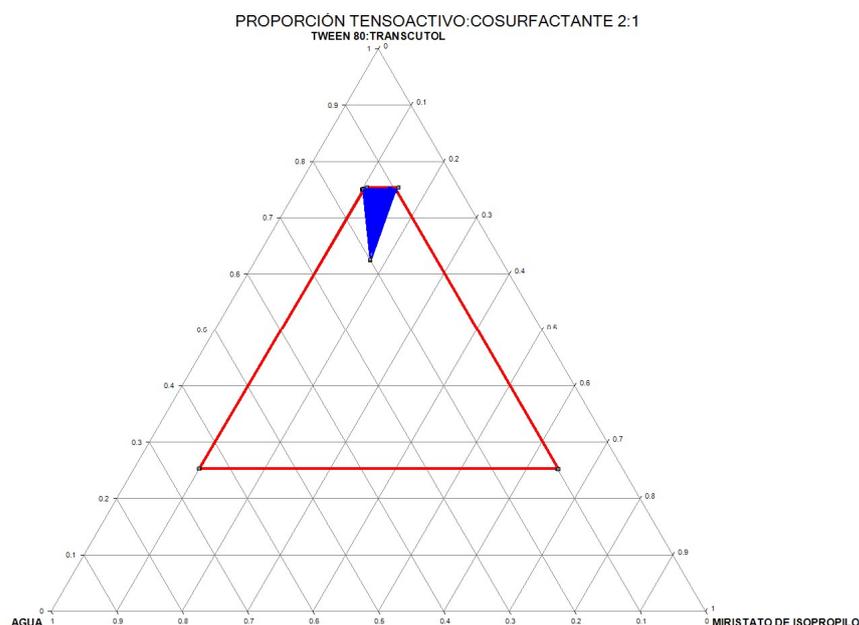


**Figura 26.** Sistema pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:2

**Tabla 16.** Sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	14.37 ± 0.42	-11.3	14.3 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	16.27 ± 0.64	-17.1	12.5 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	29.82 ± 6.30	-3.34	25.0 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	15.06 ± 0.41	-2.68	11.4 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar



**Figura 27.** Sistema pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-miristato de isopropilo-agua Proporción 2:1

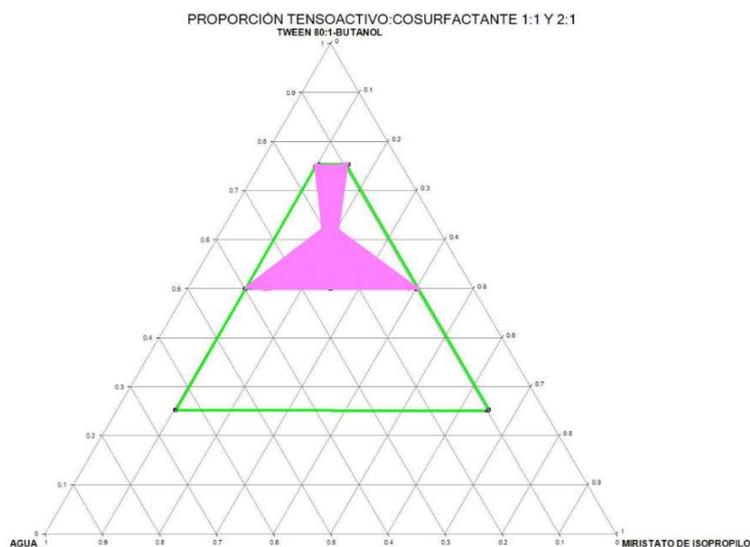
En los sistemas con transcutol®-miristato de Isopropilo (figuras 25-27) se puede observar que en los tres sistemas se presentaron como máximo 4 mezclas que formaron microemulsión. El valor promedio de talla en cada sistema se encuentra dentro de los valores

que se esperaban, en tanto que para el potencial zeta se obtuvieron valores que van desde -2.68 hasta -21.5 mV, lo cual nos da un indicativo de estabilidad de las microemulsiones. Finalmente, en lo referente a la carga del fármaco, esta se ve afectada por las proporciones de los diferentes componentes, y en las mezclas con las proporciones más altas de tensoactivo-cosurfactante se encuentran las cargas más altas de naltrexona, lo cual nos indica la capacidad de estos agentes para solubilizar fármacos.<sup>58,7</sup>

**Tabla 17.** Sistema tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	210.1 ± 4.31	-4.35	12.5 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	295.9 ± 5.22	-1.33	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	361.4 ± 13.83	-2.21	11.4 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	502.1 ± 73.84	-2.0	12.5 mg/ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	125.3 ± 0.26	-2.6	27.8 mg/ml
11	0.500	0.100	0.400	Si	21.01 ± 0.55	-1.07	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	15.03 ± 0.38	-0.37	<10.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	48.43 ± 2.00	-22.6	25.0 mg/ml

ES = Error estándar

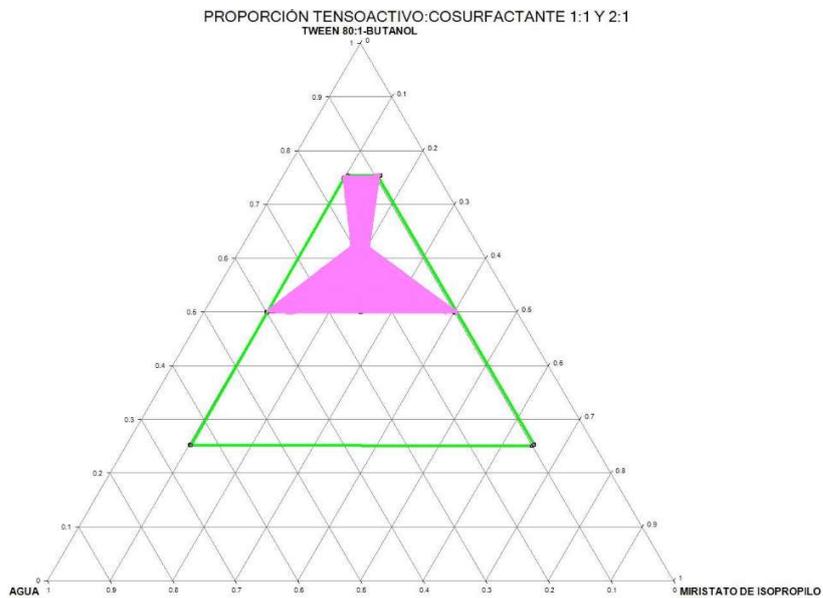


**Figura 28.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:1

**Tabla 18.** Sistema tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	13.39 ± 0.40	-1.61	13.9 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	81.43 ± 1.30	-1.70	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	40.49 ± 4.95	-15.5	12.5 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	116.9 ± 5.11	-8.67	14.3 mg/ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	15.58 ± 0.17	-19.1	27.8 mg/ml
11	0.500	0.100	0.400	Si	23.86 ± 1.72	-18.2	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	13.13 ± 0.04	-17.1	<10.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	352.0 ± 3.01	-13.6	18.2 mg/ml

ES = Error estándar

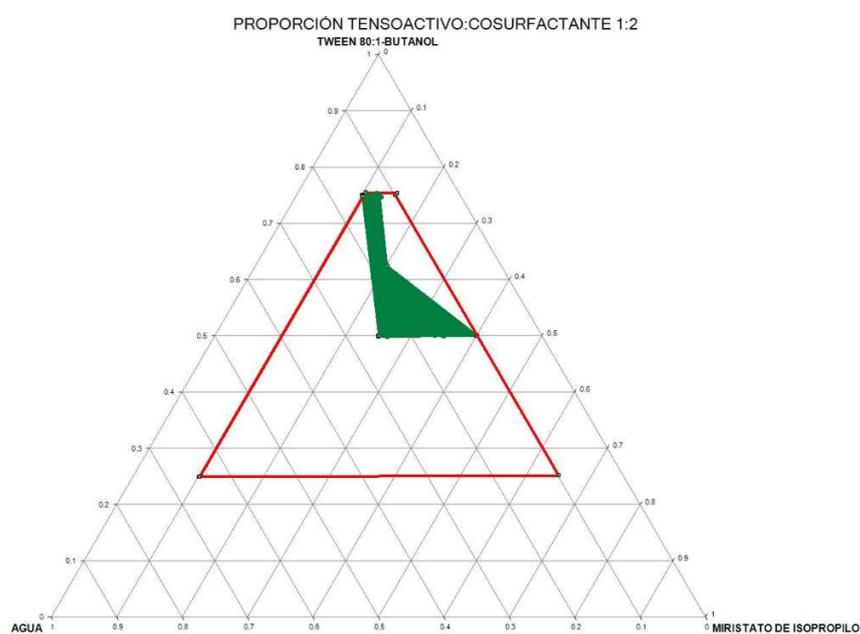


**Figura 29.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 2:1

**Tabla 19.** Sistema tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:2

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	23.96 ± 1.18	-12.2	16.7 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	No	-	-	-
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	220.6 ± 6.28	-22.7	<10.0 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	101.2 ± 14.56	-9.12	12.5 mg/ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	23.76 ± 0.16	-1.80	<10.0 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	1249 ± 155.54	-4.41	<10.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	221 ± 1.24	-18.0	28.6 mg/ml

ES = Error estándar



**Figura 30.** Diagrama pseudoternario del sistema Tween 80-1-butanol-miristato de isopropilo-agua Proporción 1:2

En las figuras 28-30 que corresponden a los sistemas con 1-butanol-miristato de isopropilo, donde se obtuvieron microemulsiones en 8 mezclas en dos de los sistemas y se encontraron tallas promedio dentro del rango esperado, en cuanto a potencial zeta los valores máximos

encontrados están en -22.7 mV. Para la carga de fármaco podemos ver que las mezclas con mayor carga de fármaco son las que tienen mayor proporción de agua, haciendo una comparación con el sistema transcuto<sup>®</sup>-miristato de isopropilo, es importante resaltar que en el sistema 1-butanol-miristato de isopropilo, un mayor número de mezclas dieron microemulsiones.

**Tabla 20.** Sistema tween 80-transcuto<sup>®</sup> -palmitato de isopropilo-agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs %	FAcuosa %	FOleosa %	ME Si/ No	Talla nm + E.S.	Potencial Z Mv	Capacidad de Carga de fármaco mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	27.63 ± 0.86	-3.01	35.3 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	No	-	-	-
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	No	-	-	-
12	0.750	0.125	0.125	Si	74.59 ± 1.12	-3.77	23.4 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar

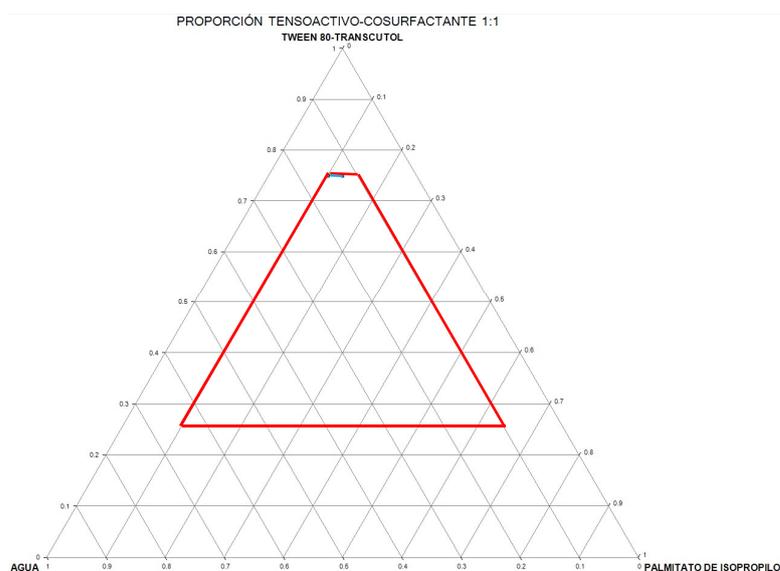
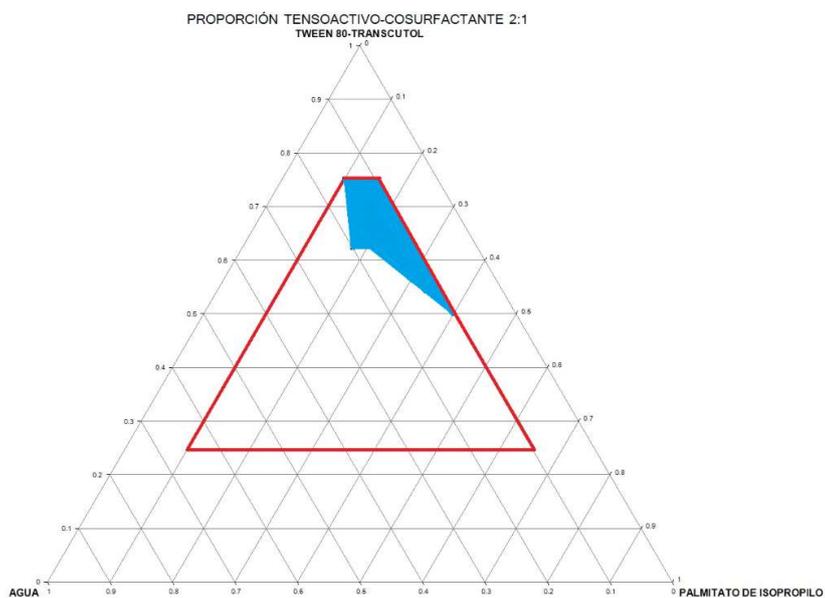


Figura 31. Diagrama pseudoternario del Sistema tween 80-transcuto<sup>®</sup>-palmitato de isopropilo-agua Proporción 1:1

**Tabla 21.** Sistema tween 80-transcutol® -palmitato de isopropilo-agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	Mv	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	14.18 ± 0.12	-2.82	35.7 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	20.19 ± 0.27	-3.16	27.7 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	31.40 ± 1.07	-3.83	42.9 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	162.1 ± 1.8	-4.15	35.7 mg/ ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	675.0 ± 33.5	-25.9	16.7 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	17.46 ± 0.42	-3.79	25.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	No	-	-	-

ES = Error estándar



**Figura 32.** Diagrama pseudoternario del sistema tween 80-transcutol®-palmitato de isopropilo-agua proporción 2:1

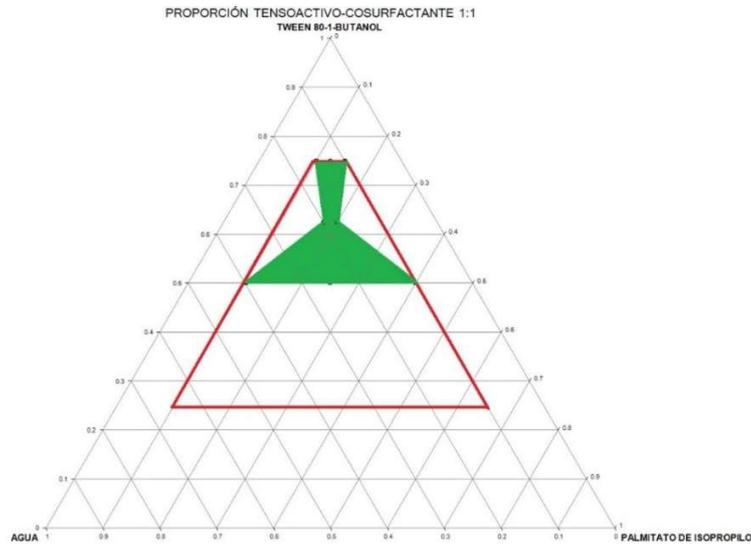
## [RESULTADOS Y DISCUSIÓN]

En los sistemas conteniendo transcuto<sup>®</sup>-palmitato de isopropilo (figuras 31 y 32), es importante mencionar que a la proporción 1:2 tensoactivo:cosurfactante ninguna de las mezclas probadas resultó en microemulsión. En lo que se refiere a talla promedio encontramos valores dentro de los parámetros esperados; y para potencial zeta se observan valores hasta de -25.9 mV, dándonos un indicio de estabilidad. Finalmente para la carga de fármaco, los mayores valores de carga de fármaco se obtuvieron en la mezclas con alta proporción tensoactivo-cosurfactante, lo cual nos habla de la alta capacidad de estos agentes para solubilizar la naltrexona.<sup>58</sup>

**Tabla 22.** Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1

No. Mezcla	Ts-Cs %	FAcuosa %	FOleosa %	ME Si/ No	Talla nm + E.S.	Potencial Z Mv	Capacidad de Carga de fármaco mg/mL
F1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
F2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
F3	0.750	0.150	0.100	Si	16.63 ± 0.8	-2.36	33.3 mg/ ml
F4	0.750	0.100	0.150	Si	15.38 ± 0.19	-9.24	20.0 mg/ ml
F5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
F6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
F7	0.625	0.200	0.175	Si	96.44 ± 2.07	-13.2	33.3 mg/ ml
F8	0.625	0.175	0.200	Si	107.4 ± 0.6	-12.2	33.3 mg/ ml
F9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
F10	0.500	0.400	0.100	Si	66.93 ± 2.42	-5.42	63.8 mg/ ml
F11	0.500	0.100	0.400	Si	192.5 ± 0.86	-19.5	<10.0 mg/ ml
F12	0.750	0.125	0.125	Si	16.82 ± 0.52	-4.96	28.6 mg/ ml
F13	0.500	0.250	0.250	Si	133.7 ± 1.74	-20.5	29.7 mg/ml

ES = Error estándar

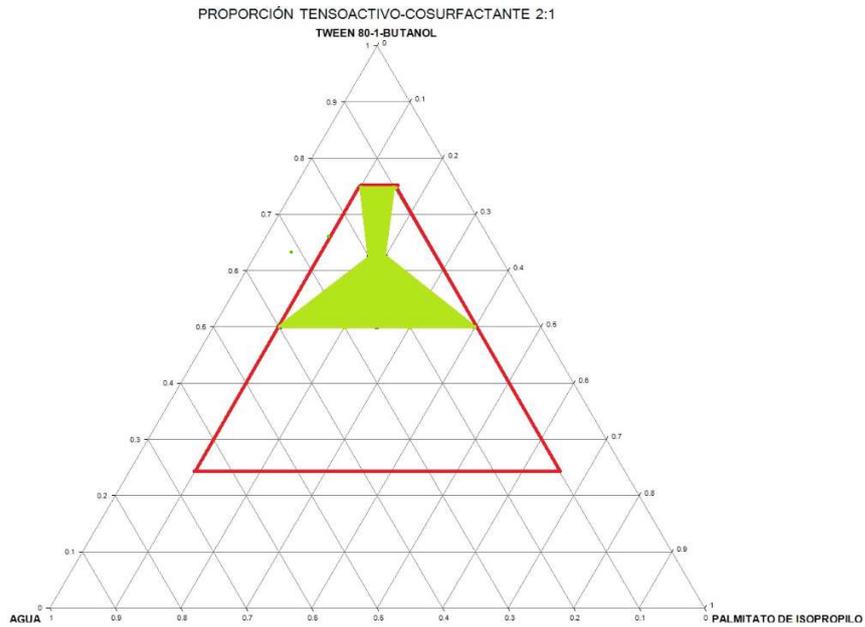


**Figura 33.** Diagrama pseudoternario del sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:1

**Tabla 23.** Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1

No. Mezcla	Ts-Cs	FACuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	11.44 ± 0.09	-1.78	33.3 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	13.07 ± 0.10	-2.34	<10.0 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	Si	47.92 ± 1.30	-3.99	33.3 mg/ ml
8	0.625	0.175	0.200	Si	68.56 ± 1.04	-6.17	22.2 mg/ ml
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	Si	15.62 ± 0.26	-3.83	60.0 mg/ ml
11	0.500	0.100	0.400	Si	153.9 ± 0.18	-14.9	12.5 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	18.56 ± 0.20	-2.46	20.0 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	112.2 ± 0.42	-14.1	40.0 mg/ml

ES = Error estándar

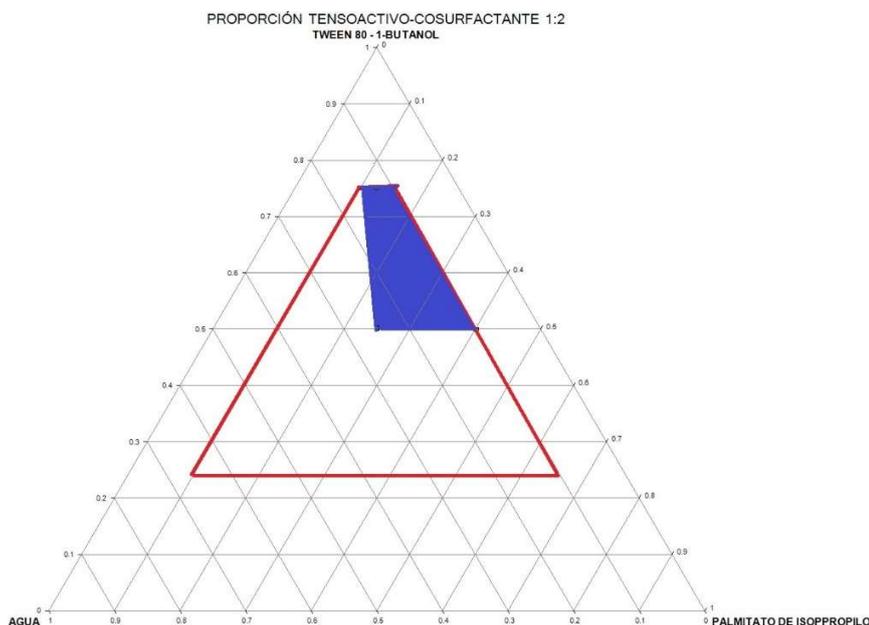


**Figura 34.** Diagrama pseudoternario del sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 2:1

**Tabla 24.** Sistema Tween 80-1-Butanol -Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2

No. Mezcla	Ts-Cs	FAcuosa	FOleosa	ME	Talla	Potencial Z	Capacidad de Carga de fármaco
	%	%	%	Si/ No	nm + E.S.	mV	mg/mL
1	0.250	0.650	0.100	No	-	-	-
2	0.250	0.100	0.650	No	-	-	-
3	0.750	0.150	0.100	Si	21.66 ± 0.28	-9.81	19.2 mg/ ml
4	0.750	0.100	0.150	Si	178.6 ± 1.54	-16.3	12.5 mg/ ml
5	0.375	0.450	0.175	No	-	-	-
6	0.375	0.175	0.450	No	-	-	-
7	0.625	0.200	0.175	No	-	-	-
8	0.625	0.175	0.200	No	-	-	-
9	0.250	0.375	0.375	No	-	-	-
10	0.500	0.400	0.100	No	-	-	-
11	0.500	0.100	0.400	Si	171.3 ± 0.48	-20.2	16.7 mg/ ml
12	0.750	0.125	0.125	Si	126.9 ± 0.55	-14.6	16.7 mg/ ml
13	0.500	0.250	0.250	Si	146.6 ± 1.14	-0.113	34.0 mg/ml

ES = Error estándar



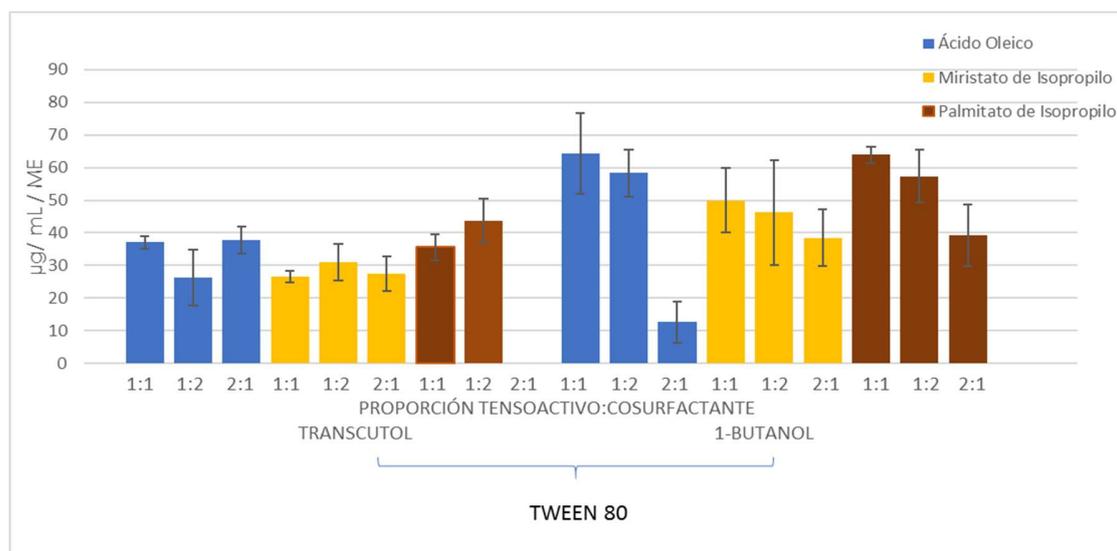
**Figura 35.** Diagrama pseudoternario del sistema Tween 80-1-Butanol-Palmitato de Isopropilo-Agua Proporción 1:2

Finalmente, para los sistemas con 1-butanol-palmitato de isopropilo (figuras 33-35), para las proporciones 1:1 y 2:1 tensoactivo-cosurfactante, 8 de las mezclas dieron microemulsiones, y para la proporción 1:2 sólo 4 de las mezclas dieron microemulsión. Las tallas promedio se encuentran dentro de los valores esperados, y para potencial zeta se obtuvieron valores hasta de -20.2 mV, lo cual nos habla de estabilidad de las mezclas formadas. En cuanto a carga de fármaco, se obtuvieron las más altas cargas de naltrexona en mezclas con proporción de agua mayor, debido a la cantidad de tensoactivo presente.

### 8.3 SELECCIÓN DE LAS MICROEMULSIONES ÓPTIMAS.

Para la selección de las microemulsiones óptimas se realizó un análisis de varianza con los resultados obtenidos de carga de fármaco, haciendo una selección previa de aquellas que tuvieron una mayor carga para cada sistema y cada proporción tensoactivo-cosurfactante.

Los resultados se muestran en la figura 36, en ella podemos apreciar que en general la proporción 1:1 tensoactivo-cosurfactante es la que tiene mayor efecto en la carga del fármaco.



**Figura 36.** Carga de fármaco en los sistemas microemulsionados.

Se muestra media  $\pm$  desviación estándar.

Del análisis estadístico se puede resaltar que, tanto el tipo de surfactante como la proporción tensoactivo-cosurfactante influyen en la carga del fármaco ( $p < 0.05$ ). Así, con base en lo anterior se realizaron pruebas *post hoc* Tukey para determinar los niveles significativos en cada sistema, encontrando que la mayor carga de fármaco es para los sistemas con proporción 1:1. En la tabla 25 se encuentra un resumen de las microemulsiones óptimas y su caracterización.

**Tabla 25.** Microemulsiones óptimas y su caracterización

COMPONENTE 1 (X <sub>1</sub> )	COMPONENTE 2 PROPORCIÓN 1:1 (X <sub>2</sub> )	COMPONENTE 3 (X <sub>3</sub> )	IDENTIFICACIÓN	TIPO DE ME	TALLA (nm) ± ES	VISCOSIDAD (cPs)
<b>Agua</b>	tween 80 - transcutol®	ácido oleico	ME-AO:T	W/O	114.2 ± 4.99	71.6
		miristato de isopropilo	ME-MI:T	W/O	82.49 ± 33.2	62.4
		palmitato de isopropilo	ME-PI:T	W/O	27.63 ± 0.8	23.3
	tween 80 - 1-butanol	ácido oleico	ME-AO:B	W/O	27.85 ± 1.7	23.8
		miristato de isopropilo	ME-MI:B	O/W	125.3 ± 0.3	21.6
		palmitato de isopropilo	ME-PI:B	O/W	66.93 ± 2.42	21.8

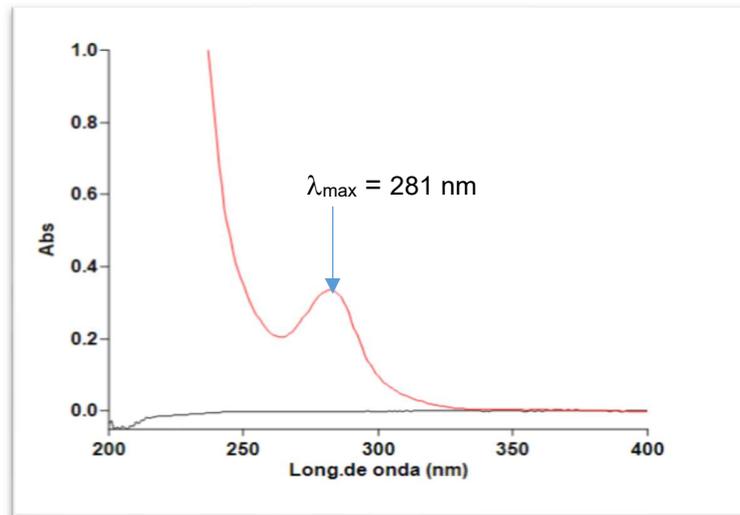
ES = Error estándar

Este criterio fue considerado para la elección de las formulaciones a evaluar en la prueba de permeación *in vitro*.

## 8.4 VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

### 8.4.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción ( $\lambda_{\max}$ ) de naltrexona

Se utilizó espectrofotometría UV para determinar la longitud de onda de máxima absorción para clorhidrato de naltrexona. La figura 37 muestra el espectro de absorción de naltrexona en agua, los resultados evidenciaron una  $\lambda_{\max}$  a 281 nm en la región del espectro UV. El espectro corresponde con otros reportados, lo que confirma la identidad de naltrexona.<sup>59</sup>



**Figura 37.** Espectro de Absorción UV de naltrexona

#### 8.4.2 Validación de los métodos analíticos para las pruebas en piel.

La validación de los métodos analíticos se realizó considerando las especificaciones de la Guía de Validación de Métodos del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos de México (CNQFBM)<sup>60</sup> y de la Guía ICH Q2 (R1)<sup>61</sup>

La tabla 26 resume los parámetros de desempeño evaluados en la validación, así como el resultado obtenido para cada uno de los métodos.

**Tabla 26.** Resultados de la validación de métodos

Parámetro evaluado	Especificación	Resultado	Resultado
		Método para evaluar el paso de naltrexona a piel	Método para determinar el fármaco retenido en piel
Linealidad	$r^2 > 0.98$ $C.V \leq 3\%$	$r^2 = 0.9983$ $C.V \leq 0.6419 \%$	$r^2 = 0.9981$ $C.V \leq 0.4745 \%$
Exactitud	% de Recobro: 97% al 103% $C.V \leq 3\%$	% de Recobro: 99.37 – 101.07 % $C.V = 1.49 \%$	% de Recobro: 99.64 – 100.81 % $C.V = 1.03 \%$
Repetibilidad	$C.V \leq 3\%$	$C.V = 1.03 \%$	$C.V = 0.3822 \%$
Límite de Detección	-	2.08 $\mu\text{g/ml}$	0.98 $\mu\text{g/ml}$
Límite de Cuantificación	-	6.30 $\mu\text{g/ml}$	2.96 $\mu\text{g/ml}$

Estos resultados evidencian que los métodos cumplen con las especificaciones establecidas, indicando que son adecuados para la cuantificación de naltrexona en las diferentes pruebas del proyecto, ya que son lineales, exactos y precisos.

## 8.5 ESTUDIOS DE PERMEABILIDAD *IN VITRO*

### 8.5.1 Prueba de permeación en celdas de franz

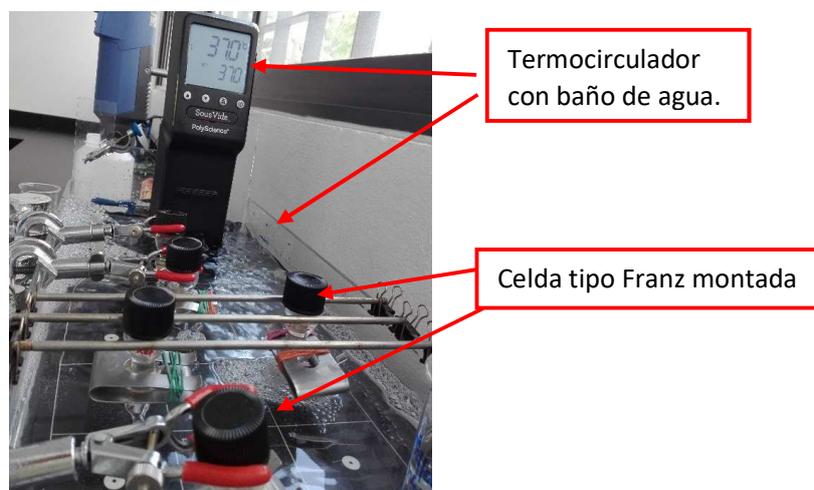
Esta prueba fue llevada a cabo para evaluar la capacidad de promoción de las microemulsiones formuladas en el paso de clorhidrato de naltrexona a través de la piel, considerando que los componentes de la microemulsión juegan un papel importante en la liberación y penetración del fármaco a través de la piel y llegar al torrente sanguíneo y tener un posible efecto sistémico.

Se evaluaron las 6 formulaciones óptimas cargadas con naltrexona a 20 mg/ml de concentración, así como una microemulsión placebo (Bco), y naltrexona en solución acuosa (Ref).

En la tabla 25 se observan las microemulsiones seleccionadas para la prueba de permeación *in vitro*, cada una de ellas fue procesada nuevamente, obteniendo los parámetros talla y viscosidad.

En lo que se refiere a talla, los valores obtenidos no son mayores a 150 nm, mientras que para la viscosidad no se obtuvieron valores de viscosidad mayor a 100 cPs, es decir que son muy fluidas. Estos resultados son característicos en las microemulsiones. <sup>44</sup>

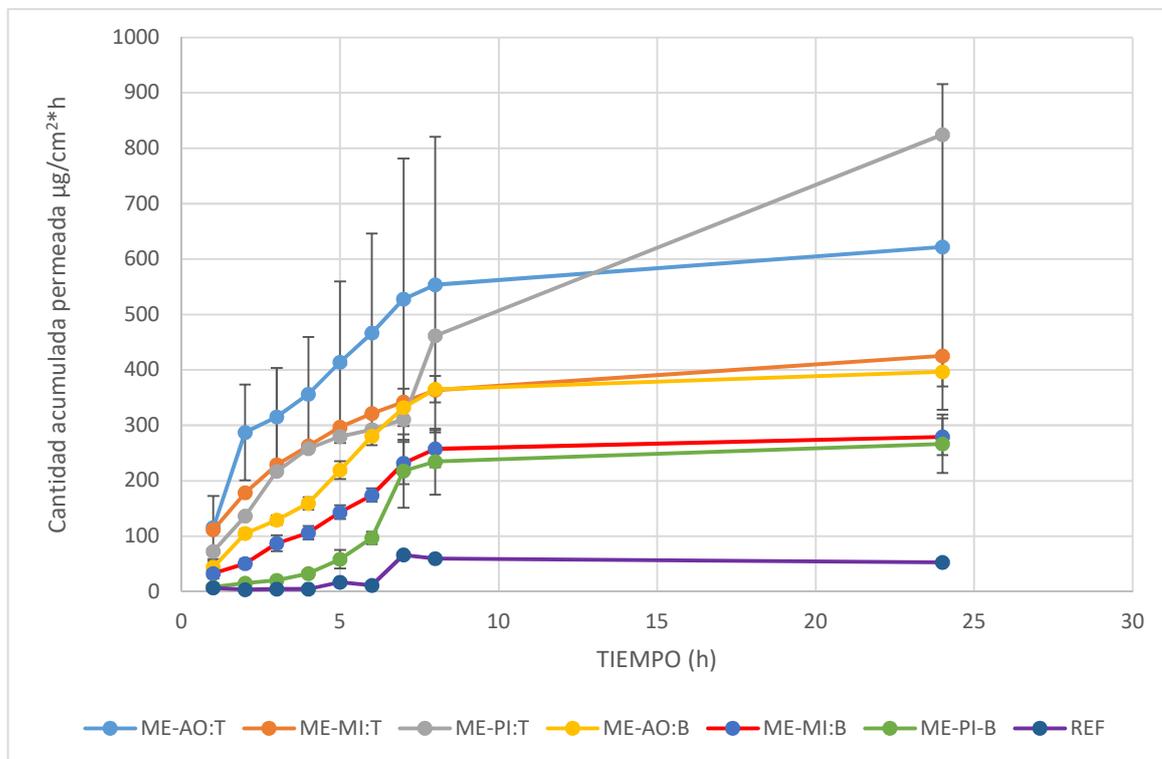
Con las formulaciones óptimas, se realizaron las pruebas de permeación *in vitro*, utilizando oreja de cerdo como membrana; en la figura 34 se muestra el sistema montado para llevar a cabo los estudios de permeación. Es importante mencionar que el área de permeación disponible para cada celda fue de 0.9503 cm<sup>2</sup>.



**Figura 38.** Sistemas para las pruebas de permeación *in vitro* utilizando celdas de Franz

En la figura 39 se observan los perfiles de permeación de las 6 formulaciones evaluadas, comparadas con la solución de referencia (solución de naltrexona en agua), se puede observar que la formulación ME-PI:T es la que presenta una mayor permeación de fármaco a las 24 h. En este caso el cosurfactante usado fue el Transcutol® (dietilenglicol monoetiléter), el cual es un promotor de permeación ampliamente usado, Makhmal y

colaboradores evaluó su uso como promotor de permeación aumentando hasta 11 veces la penetración de Salicilato de trolamina, sobre otros promotores químicos y físicos.<sup>62</sup>



**Figura 39.** Perfiles de permeación de naltrexona en piel empleando diferentes formulaciones. ME-AO:T (Transcutol®-Ac. Oleico); ME-MI:T (Transcutol®-Miristato de Isopropilo); ME-PI:T (Transcutol®-Palmitato de Isopropilo); ME-AO:B (1-Butanol-Ac. Oleico); ME-MI:B (1-Butanol-Miristato de Isopropilo); ME-PI:B (1-Butanol-Palmitato de Isopropilo); REF (Solución acuosa de naltrexona)

También se observa que la mayoría de las formulaciones obtuvo su máxima permeación a las 8 h, aumentando de manera mínima a las 24 h.

Se tomó la parte más lineal de la curva de cada formulación para determinar el parámetro  $J_{ss}$ , utilizando un análisis de regresión lineal, donde la pendiente ( $m$ ) representa su valor estimado. Este valor representa la cantidad de fármaco que cruza la membrana a una velocidad constante, lo cual ocurre después de la fase *lag*, cuando la cantidad continúa aumentando.<sup>54</sup> La estimación de los flujos y las constantes de permeación se resumen en la tabla 27.

**Tabla 27.** Flujo de naltrexona a través de la piel

Formulación	m $J_{ss}$ ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}^{-1}$ )	$K_p$ ( $\text{cm}^2/\text{h}$ )	Cantidad total permeada ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ )
<b>ME-AO:T</b>	56.6	0.00283	621.86
<b>ME-MI:T</b>	35.41	0.00177	425.23
<b>ME-PI:T</b>	53.39	0.00267	824.77
<b>ME-AO:B</b>	46.12	0.00231	396.84
<b>ME-MI:B</b>	33.78	0.00169	279.31
<b>ME-PI:B</b>	35.53	0.00178	266.67
<b>REF</b>	32.85	0.00164	380.74

m = pendiente;  $J_{ss}$  = fármaco que cruza a una velocidad constante;  $K_p$  = constante de permeación.

Como se puede observar en la tabla 27 la formulación ME-PI:T fue la que presentó la mayor cantidad de fármaco permeado, un total de 7.1 % de naltrexona de la dosis inicial, lo que equivale a 1420  $\mu\text{g}$  o 1.42 mg sumando la cantidad retenida en piel, es decir que fue la formulación con mayor efecto promotor. Vale la pena mencionar que los valores de permeabilidad se verán incrementados al extender el tiempo de la prueba, ya que en el compartimiento donador quedó remanente de microemulsión.

Tomando en cuenta que la dosis diaria oral de naltrexona es de 50 mg cada 24 h, y considerando una biodisponibilidad oral entre 5 - 40%, tendríamos una dosis absorbida entre 2.5 – 20 mg sin considerar el metabolismo hepático. Por otro lado, el valor de  $C_{max}$  para naltrexona, de acuerdo con un estudio de bioequivalencia realizado por In-hwan Baek et al<sup>63</sup>, es de 12.27 ng/ml, mientras que con la formulación más eficiente se estarían entregando al torrente sanguíneo 1.42 mg de fármaco en las primeras 24 h, lo cual resulta adecuado dado que la dosis terapéutica diaria debe ser menor a 10 mg debido a lenta difusión de las moléculas a través del estrato córneo.

La formulación con mayor eficacia contiene transcutol® como cosurfactante, el cual es un glicol que actúa alterando temporalmente las propiedades de barrera del estrato córneo, promoviendo la penetración del fármaco,<sup>64</sup> además de tener propiedades solubilizantes.<sup>65</sup> En este estudio los dos cosurfactantes empleados son transcutol® y 1-butanol, sin embargo,

las formulaciones con transcutol® mostraron mayor cantidad de fármaco permeado que las que contenían 1-butanol.

Así mismo, la formulación con mayor eficacia también cuenta con palmitato de Isopropilo como fase oleosa, lo cual sugiere que la parte hidrofóbica de este compuesto interactúa con la bicapa del estrato córneo; alterándola mediante la generación de dominios separados, e induciendo vías altamente permeables en el estrato córneo para inducir un incremento en la permeabilidad de la piel temporal y reversible.<sup>43, 66</sup> En un estudio realizado para evaluar el efecto promotor de algunos ésteres de ácidos alifáticos, entre ellos el palmitato de isopropilo, se encontró que este tenía menor efecto promotor comparado con miristato de isopropilo,<sup>66</sup> sin embargo, las mezclas de fármaco y cosurfactante pueden ofrecer varias oportunidades de superar las limitaciones de los promotores químicos solos, o bien sinergizar sus efectos aislados, como pudo haber ocurrido en este caso.

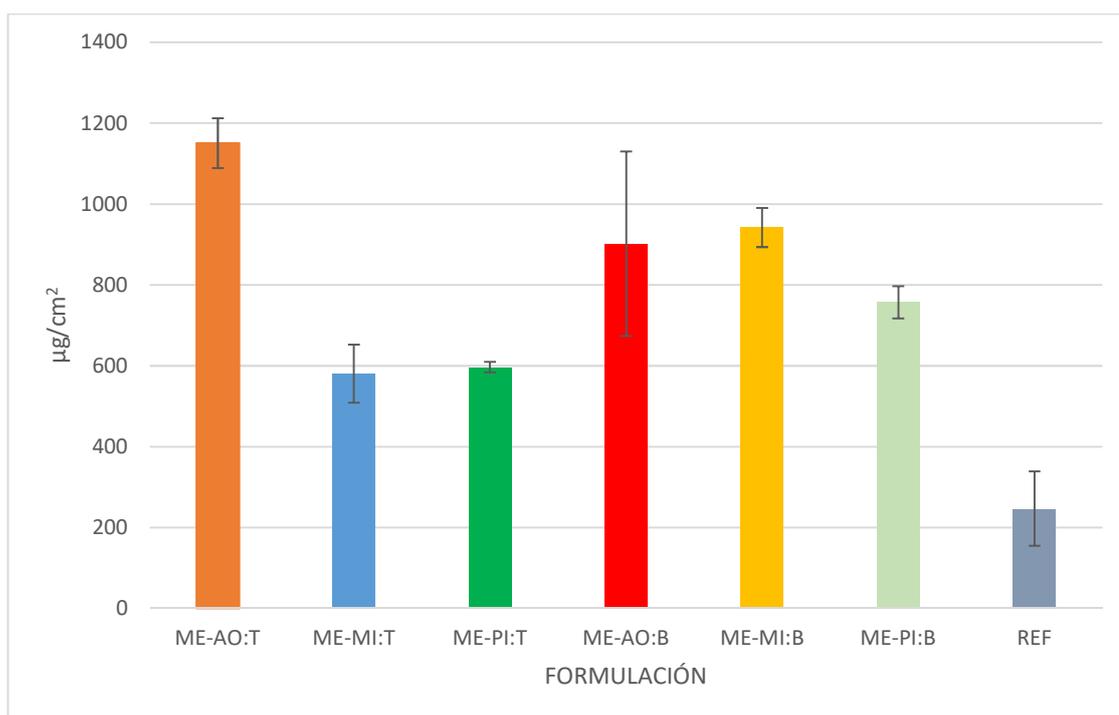
Así mismo, la baja viscosidad de las microemulsiones (tabla 26) puede facilitar su difusión sobre la piel, además del tamaño de glóbulo, el cual en la escala nanométrica favorece la penetración.<sup>26</sup> Por otro lado, en todas las microemulsiones evaluadas, un componente constante fue el tween 80, un tensoactivo no iónico, el cual, es bien sabido que posee menos potencial irritante<sup>37</sup> y con un mecanismo de acción de efecto directo sobre las propiedades de la barrera de la piel, desorganizando su estructura y aumentando la absorción de fármacos.<sup>67</sup>

### **8.5.2 Fármaco remanente en piel**

Una vez determinado el paso de fármaco a través de la piel, se llevó a cabo la determinación del fármaco retenido en la piel. En la figura 39 se encuentran los resultados de la concentración de fármaco remanente en piel, en donde se puede observar que las 6 formulaciones óptimas presentan valores similares y por arriba de la cantidad de fármaco permeado por la solución de referencia. Encontrando diferencias estadísticas significativas ( $p < 0.05$ ) con respecto al fármaco cuando sólo se encuentra en solución acuosa. Es evidente que las microemulsiones en general, favorecen el paso del fármaco a través del estrato córneo.

En la figura 40 se muestra la cantidad de naltrexona acumulada en la piel al finalizar el estudio para cada microemulsión evaluada, en donde se puede ver que las formulaciones que contienen 1-butanol presentan un porcentaje mayor de retención de naltrexona en piel que las que tienen transcuto<sup>®</sup>, lo cual se debe al poder solubilizante del transcuto sobre los componentes de la piel, favoreciendo la penetración del fármaco y permitiendo una cantidad de fármaco menor retenida sobre la piel.<sup>62</sup>

Hubo solo una formulación que contenía transcuto<sup>®</sup> que mostró la mayor cantidad de naltrexona retenida en piel, esta formulación contiene como fase oleosa el ácido oleico, el cual de acuerdo al estudio de Zadeh & Hasani es una de las fases oleosas con menor efecto promotor o menos efectivo en los estudios de permeabilidad.<sup>62</sup>



**Figura 40.** Cantidad de naltrexona retenida en piel

## 9. CONCLUSIONES

El presente estudio permitió evidenciar el efecto que tienen las microemulsiones para promover el paso de naltrexona a través de la piel, haciendo evidente la obtención de formulaciones con propiedades fisicoquímicas y tecnológicas para administrar este fármaco por la vía transdérmica. Entre las evidencias a resaltar se encuentran las siguientes:

- Fue posible preparar y caracterizar microemulsiones cargadas con naltrexona, que favorecen la permeabilidad del fármaco en piel, con la posibilidad de ser propuestas como alternativa de un tratamiento sistémico para el alcoholismo.
- EL diseño experimental de mezclas permitió obtener las proporciones a evaluar para cada uno de los componentes de los sistemas, considerando las restricciones de uso y permitiendo el desarrollo de diagramas pseudoternarios.
- Se realizaron 18 diagramas pseudoternarios, donde se identificaron las zonas de microemulsión para las combinaciones estudiadas, pudiendo identificar las proporciones más adecuadas para el uso transdérmico.
- La caracterización fisicoquímica y tecnológica de las microemulsiones obtenidas tanto en talla, potencial zeta, viscosidad y carga de fármaco, pusieron de manifiesto el uso potencial de los sistemas microemulsionados para obtener sistemas de liberación transdérmicos.
- Se desarrollaron y validaron métodos analíticos espectrofotométricos adecuados para cuantificar naltrexona en los estudios en piel.
- El estudio del efecto promotor de las microemulsiones sobre la permeabilidad de naltrexona en piel de cerdo, utilizando celdas de Franz, evidenció que el tipo de fase oleosa y el cosurfactante empleados, son los principales factores en la efectividad de la permeación del fármaco.

- Las formulaciones con naltrexona, conteniendo palmitato de isopropilo y transcutol® son las que permiten una mayor cantidad de fármaco permeado. Siendo las formulaciones con 1-butanol las que menos permearon y que generaron la mayor cantidad de fármaco retenido en piel.

Al incluir el clorhidrato de naltrexona en sistemas coloidales, como lo son las microemulsiones, se logró la promoción de su absorción a través de la piel y con ello la posibilidad de administrarla en un sistema de administración transdérmico para lograr un efecto sistémico. Este sistema podría minimizar las eventuales dificultades de los sistemas convencionales de dosificación que existen actualmente. Esto tiene implicaciones en el tratamiento del alcoholismo, donde el apego al tratamiento por parte del paciente es bajo con las opciones farmacéuticas que existen actualmente.

## 10. PERSPECTIVAS

- Utilizar las microemulsiones efectivas en una formulación menos fluida como un gel microemulsionado, que sea formulado en un parche transdérmico. Así como, llevar a cabo el desarrollo farmacéutico de estas formulaciones.
- Llevar cabo estudios de liberación *in vitro* para conocer el mecanismo de liberación y el impacto de las microemulsiones sobre la velocidad de liberación.
- Estudiar la efectividad de los sistemas en un modelo *in vivo* y determinar la correlación *in vitro/in vivo*.
- Emplear esta metodología para la evaluación de la permeabilidad de otros fármacos con problemas para administrarse por la vía oral o con baja solubilidad como los de clase biofarmacéutica II y IV.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

1. <https://www.gob.mx/salud/articulos/aumenta-el-consumo-de-alcohol-entre-jovenes>.
2. (OMS). Alcohol - Organización Mundial de la Salud. Enero de 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs349/es/>. Published 2015.
3. <http://www.drugbank.ca/drugs/DB00704>.
4. Anton F. Raymond MD. Naltrexone for the management of alcohol dependence. *N Engl J Med*. 2008;359(7):715-721.
5. Paudel, Kalpana; Swadley, Courtney; Milewski, Mikolaj; Brogden, Nicole; Ghosh, Priyanka; Stinchcomb A. Challenges and opportunities in dermal/transdermal delivery. *Natl Inst Heal*. 2010;1(1):109-131.
6. Bavaskar K, Jain A, Patil M, Kalamkar R. The impact of penetration enhancers on transdermal drug delivery system: physical and chemical approach. *Int J Phar Res Rev*. 2015;4(7):14-24.
7. Karande P, Mitragotri S. Enhancement of transdermal drug delivery via synergistic action of chemicals. *Biochim Biophys Acta - Biomembr*. 2009;1788(11):2362-2373. doi:10.1016/j.bbamem.2009.08.015.
8. Singh V, Bushetti SS, Appala Raju S, Ahmad R, Singh M, Bisht A. Microemulsions as promising delivery systems: A Review. *Indian J Pharm Educ Res*. 2011;45(4):392-401.
9. Babor T, Campbell R, Room R, Saunders J. *Glosario de Términos de Alcohol Y Drogas*. Madrid, España; 1994. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
10. Fanjul ML. Adicción drogas de abuso y circuitos de recompensa. *Ciencias*. 2013;109:146-153.
11. Krystal, H. John; Cramer, A. Joyce; Krol FW. Naltrexone in the treatment of alcohol dependence. *N Engl J Med*. 2001;345(24).
12. González, G. Rafael; Alcalá RJ. *Consumo de Alcohol Y Salud Pública*.
13. PLM - Líder en información sobre Ciencias de la Salud. <http://www.medicamentosplm.com/>. Published 2016.
14. Fernández, C. Carmen; León, L.M. León; Lázaro TÓ. *Manual de Protocolos Médicos Para La Atención de Las Adicciones. Serie Técnica de Tratamiento Y Rehabilitación*.
15. Liu, Janet; Morello, Candis; Atayee, Rabia; Best B. Naltrexone metabolism and concomitant drug concentrations in chronic pain patients. *J Anal Toxicol*. 2014;38:212-217.
16. Milewski M. Microneedle-Assisted Transdermal Delivery of Naltrexone Species : in

- Vitro Permeation and in Vivo. 2011.
17. Heinala, Pekka; Sinclair, David; Ariniemi, Kari; Lillsunde P. *Analysis of Naltrexone and Its Metabolite 6-B-Naltrexol in Serum with High-Performance Liquid Chromatography*.
  18. Stinchcomb A. Transdermal naltrexone for opiate addiction and alcoholism. SBIR STTR. <https://www.sbir.gov/sbirsearch/detail/391322>. Published 2012.
  19. Audra, Banks ; L. Stan; Pinninti, Raghothan; Gill, Harvinder; Crooks, Peter; Prausnitz M and SL. Flux across microneedle-treated skin is increased by increasing charge of naltrexone and naltrexol in vivo. *Pharm Res*. 2008;25(7):1677-1685.
  20. Dodou, Kalliopi; Armstrong , Andrew; Kelly, Ivan; Wilkinson, Simon; Carr, Kevin; Shattock, Paul and Whiteley P. Ex vivo studies for the passive transdermal delivery of low-dose naltrexone from a cream; detection of naltrexone and its active metabolite, 6beta-naltrexol, using a novel LC-Q-ToF MS assay. *Pharm Dev Technol*. 2015;20(6):694-701. <http://informahealthcare.com/phd>.
  21. Alkilani, Ahlam; McCrudden MDR. Transdermal drug delivery Innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*. 2015;7:438-470.
  22. Prausnitz MR, Langer R. Transdermal drug delivery. *Nat Biotechnol*. 2009;26(11):1261-1268. doi:10.1038/nbt.1504.Transdermal.
  23. Byford T. Environmental Health Criteria 235: Dermal Absorption. *Int J Environ Stud*. 2009;66(5):662-663. doi:10.1080/00207230802361240.
  24. Wikipedia. La piel. [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/52/Skin\\_es.png/300px-Skin\\_es.png](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/5/52/Skin_es.png/300px-Skin_es.png).
  25. Organization WH. *Who Guidelines on Hand Hygiene in Health Care.*; 2009.
  26. Lopes LB. Overcoming the cutaneous barrier with microemulsions. *Pharmaceutics*. 2014;6(1):52-77. doi:10.3390/pharmaceutics6010052.
  27. WHO Guidelines on Hand Hygiene in Health Care: First Global Patient Safety Challenge Clean Care Is Safer Care. Physiology of normal skin.
  28. Martínez J. *El Órgano Cutáneo: Anatomía de La Epidermis*. <http://1.bp.blogspot.com/-kap1rxnysqo/Se4Gy1hDqDI/AAAAAAAAADCI/k0aBCjQngkk/s1600/image037.jpg>.
  29. Bouwstra JA, Ponc M. The skin barrier in healthy and diseased state. *Biochim Biophys Acta - Biomembr*. 2006;1758(12):2080-2095. doi:10.1016/j.bbamem.2006.06.021.

30. Biospectrum. Skin. [http://biospectrum.com/design/bioskin/2013img/skinncos\\_01.jpg](http://biospectrum.com/design/bioskin/2013img/skinncos_01.jpg).
31. Benson HA. Transdermal drug delivery: penetration enhancement techniques. *Curr Drug Deliv*. 2005;2(1):23-33. doi:10.2174/1567201052772915.
32. The stratum corneum - A model of brick and mortar. <http://slideplayer.com/6956314/24/images/8/Epidermis-3+A+model+of+bricks+and+mortar.jpg>.
33. Babor T, Campbell R, Room R, Saunders J. Glosario de Términos de Alcohol y Drogas. *World Heal Organ*. 1994;66. doi:10.1007/s13398-014-0173-7.2.
34. Escobar-Chávez, Jose Juan; Revilla VAL. Nanocarriers systems for transdermal drug delivery. In: *Research Gate*. ; 2012.
35. Bartosova Lucie; Bajgar Jiri. Transdermal Drug Delivery In vitro using diffusion cells. *Curr Med Chem*. 2012;19:4671-4677.
36. Pérez SH. Absorción Percutánea. Milenium.farmacia. <http://www.esteticamedica.info/noticias/val/50-37/absorcion-percutanea.html>. Published 2010.
37. Songkro S. An overview of skin penetration enhancers: Penetration enhancing activity, skin irritation potential and mechanism of action. *Songklanakarin J Sci Technol*. 2009;31(3):299-321.
38. Allevato M. Sistemas Terapéuticos Transdérmicos. *Act Ter Dermatol*. 2007;30:154-166.
39. Shingade G, Aamer Q, Sabale P, et al. Review On: Recent Trend On Transdermal Drug Delivery System. *J Drug Deliv Ther*. 2012;2(1):66-75. <http://www.jddtonline.info/index.php/jddt/article/view/74>.
40. Wolff HM. Future of Transdermal Drug Delivery Systems ( TDDS ) Requirements for Transdermal Formulations. 2014:1-9.
41. Uchechi O, Ogbonna JDN, Attama A a. Nanoparticles for Dermal and Transdermal Drug Delivery. *Appl Nanotechnol Drug Deliv*. 2014:193-235. doi:10.5772/58672.
42. Pathan IB, Setty M. Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems. *Trop J Pharm Res*. 2009;8(2):173-179. doi:10.1081/DDC-100100984.
43. Burachacheep, Varaporn; Boonme, Prapaporn; Songkro, Sarunyoo; Krauel, Karen; Rades T. Transdermal delivery of hydrophobic and hydrophilic local anesthetics from o/w and w/o Brij 97 -based microemulsions. *J Pharm Pharm Sci*. 2007;10(3):288-298.
44. Kogan A, Garti N. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Adv Colloid*

- Interface Sci.* 2006;123-126(SPEC. ISS.):369-385. doi:10.1016/j.cis.2006.05.014.
45. Dhanapal R. A review - Microemulsions. *Asian J Pharm Res.* 2012;2(1):23-29.
  46. Talegaonkar S, Azeem A, Ahmad F, Khar R, Pathan S, Khan Z. Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008;2(3):238-257. doi:10.2174/187221108786241679.
  47. Basheer HS, Ibrahim Noordin M, Ghareeb MM. Characterization of microemulsions prepared using isopropyl palmitate with various surfactants and cosurfactants. *Trop J Pharm Res.* 2013;12(3):305-310. doi:10.4314/tjpr.v12i3.5.
  48. Representación diagrama ternario de fases. [https://www.researchgate.net/figure/11-Hypothetical-pseudo-ternary-phase-diagram-of-an-oil-surfactant-water-system-showing\\_fig1\\_278655783](https://www.researchgate.net/figure/11-Hypothetical-pseudo-ternary-phase-diagram-of-an-oil-surfactant-water-system-showing_fig1_278655783).
  49. Gadhavre AD, Waghmare JT. A Short Review On Microemulsion And Its Application In Extraction Of Vegetable Oil. *IJRET Int J Res Eng Technol.* 2014;3(9):147-158. [http://ijret.org/Volumes/V03/I09/IJRET\\_110309022.pdf](http://ijret.org/Volumes/V03/I09/IJRET_110309022.pdf).
  50. S. K. Mehta.; Gurpreet K. Microemulsions: Thermodynamic and Dynamic properties. In: *Thermodynamics.* Intech; 2011:307-544. <http://www.intechopen.com/books/thermodynamics/microemulsions-thermodynamic-and-dynamic-properties>.
  51. Muzaffar F, Singh UK, Chauhan L. Review on Microemulsion As Futuristic Drug Delivery. *Int J Pharm Pharm Sci.* 2013;5(3).
  52. Moss, G.; Gullick, D.; Wilkinson S. Methods for the measurement of percutaneous absorption. In: *Predictive Methods in Percutaneous Absorption.* ; 2015:199.
  53. Francois N. Representación esquemática de un celda tipo franz. University of Buenos Aires.
  54. PermeGear Inc. Diffusion Testing Fundamentals. *WwwPermeGearCom.* 2014:1-8.
  55. Kreilgaard M. Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(SUPPL.). doi:10.1016/S0169-409X(02)00116-3.
  56. Villanueva Martínez NA. Administración percutánea de ácido glicirricínico incluido en microemulsiones. 2014.
  57. Martínez I de J. Promoción de la permeación transdérmica de ranitidina mediante su formulación en sistemas submicrónicos. 2015.
  58. Serrano, Castañeda Pablo; Escobar, Chávez José Juan; Morales, Hipólito Elvia Adriana; Domínguez DML. Microagujas y transcutol como promotores de la

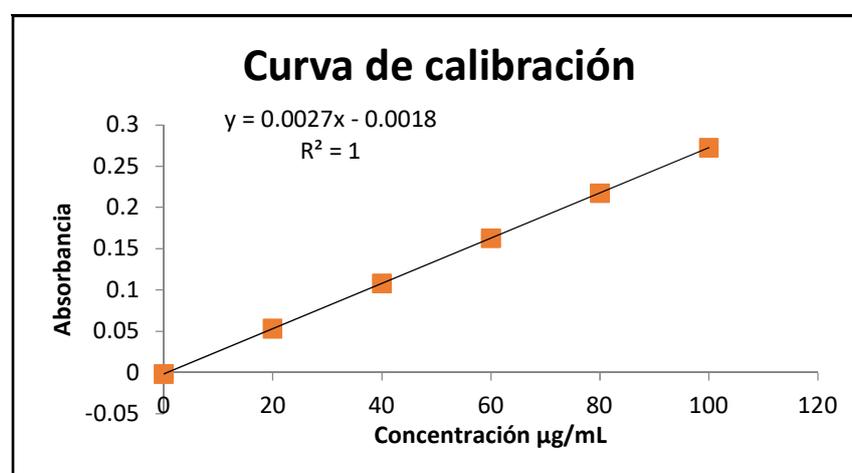
- penetración transdérmica de sibutramina en parche transdérmico. 2013.
59. Farhana, Jabeen; Khan W. Development of new analytical methods for the estimation of opioid antagonist naltrexone hydrochloride. *Int J Univers Pharm Bio Sci.* 2015;4(1).
  60. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México AC. *Guía de Validación de Métodos Analíticos.*
  61. Guideline IHT. *Validation of Analytical Procedures Text and Methodology Q2 (R1).*; 2005.
  62. Makhmal, B.S. Behzad; Hossin HM. The effect of chemical and physical enhancers on trolamine salicylate permeation through rat skin. *Trop J Pharm Res.* 2010;9(6):541-548.
  63. Baek, In-hwan; Hwi-yeol, Yun; Wonku, Kang; Kwang-il K. Evaluation of Bioequivalence of two brands of naltrexone 50 mg tablet in healthy volunteers. *Kor J Clin Pharm.* 2006;16(1):69-74.
  64. Maibach H. Percutaneous penetration enhancers chemical methods in penetration enhancement: modification of the stratum corneum. In: Dragicevic N, ed. *Percutaneous Penetration Enhancers Chemical Methods in Penetration Enhancement: Modification of the Stratum Corneum.* San Francisco, CA: Springer; 2015:283.
  65. Prasanthi, D; Lakshmi PK. Effect of chemical enhancers in transdermal permeation of alfuzosin hydrochloride. *Int Sch Res Netw.* 2012:8 pages.
  66. Das, K. Malay; Bhattacharya, Asokangshu; Ghosal KS. Effect of penetration enhancers on skin permeation of trazodone hydrochloride from matrix type transdermal formulation through mouse and human cadaver epidermis. *Acta Pol Pharm Res.* 2006;63(6):535-541.
  67. Prieto C, Calvo L. Performance of the Biocompatible Surfactant Tween 80, for the Formation of Microemulsions Suitable for New Pharmaceutical Processing. *J Appl Chem.* 2013;2013:1-10. doi:10.1155/2013/930356.

## 12. ANEXOS

### ANEXO 1. Parámetros de desempeño en la validación de métodos analíticos para estudios de permeabilidad.

Curva de calibración de naltrexona clorhidrato en buffer de fosfatos pH 7.4

Concentración µg/ml	Absorbancia	Promedio	C.V (%)
20	0.0527	0.0522	0.9578
20	0.0522		
20	0.0517		
40	0.1119	0.1115	0.5694
40	0.1108		
40	0.1119		
60	0.1576	0.1557	1.2928
60	0.1560		
60	0.1536		
80	0.2199	0.2200	0.3471
80	0.2209		
80	0.2194		
100	0.2734	0.2735	0.0422
100	0.2736		
100	0.2736		
$r^2$	0.9983	<b>PROMEDIO</b>	<b>0.6419</b>



## Linealidad del método.

## Exactitud del método

Conc. (µg/ml)	Absorbancia	Concentración	% Recobro
20	0.0513	19.667	98.333
20	0.0511	19.593	97.963
20	0.0534	20.444	102.222
20	0.0518	19.852	99.259
20	0.0515	19.741	98.704
20	0.0529	20.259	101.296
100	0.2727	101.667	101.667
100	0.2702	100.741	100.741
100	0.2669	99.519	99.519
100	0.2721	101.444	101.444
100	0.2671	99.593	99.593
100	0.2734	101.926	101.926
		<b>MEDIA</b>	100.222
		<b>DESV. EST.</b>	1.499
		<b>C.V. (%)</b>	1.495
		<b>I.C.</b>	0.848
		<b>LÍMITE SUP.</b>	101.070
		<b>LÍMITE INF.</b>	99.374

## Precisión del método.

PRECISIÓN DÍA 1 (60 µg/ml)		PRECISIÓN DÍA 2 (60 µg/ml)	
Repetición	Abs	Repetición	Abs
1	0.1579	1	0.1566
2	0.1559	2	0.1574
3	0.1576	3	0.1533
4	0.1571	4	0.1555
5	0.1560	5	0.1532
6	0.1540	6	0.1540
<b>MEDIA</b>	0.1564	<b>MEDIA</b>	0.1550
<b>DESV. EST.</b>	0.0014	<b>DESV. EST.</b>	0.0018
<b>C.V.</b>	0.9197	<b>C.V.</b>	1.14323

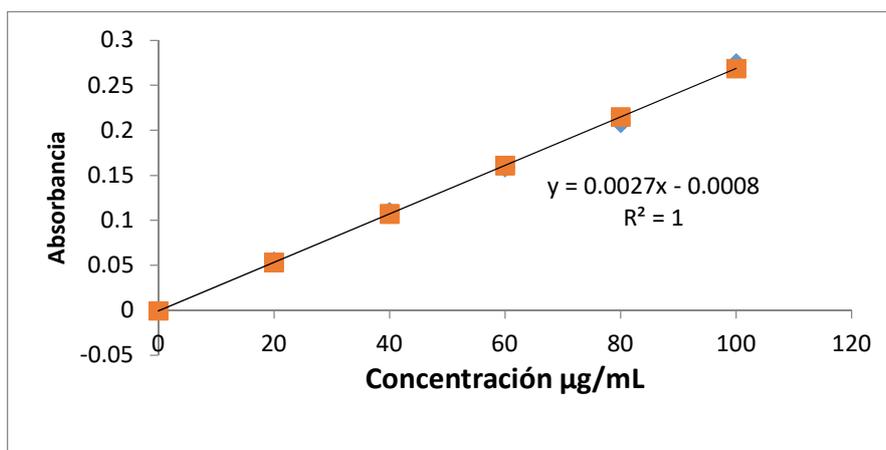
### Determinación del límite de detección y límite de cuantificación

LÍMITE DE DETECCIÓN	LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN
$LD = \frac{3.3 \sigma}{S}$ <p><math>\sigma</math> = Desviación estándar del intercepto S = Pendiente de la curva de calibración</p>	$LC = \frac{10 \sigma}{S}$ <p><math>\sigma</math> = Desviación estándar del intercepto S = Pendiente de la curva de calibración</p>
<b>LD = 2.08 µg/ml</b>	<b>LC = 6.30 µg/ml</b>

### ANEXO 2. PARÁMETROS DE DESEMPEÑO EN LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINAR FÁRMACO RETENIDO EN PIEL.

#### Curva de calibración de clorhidrato de naltrexona en metanol

Concentración µg/mL	Absorbancia	Promedio	C.V (%)
20	0.0539	0.0540	0.7705
20	0.0537		
20	0.0545		
40	0.1085	0.1091	0.4705
40	0.1095		
40	0.1092		
60	0.1588	0.1589	0.3844
60	0.1596		
60	0.1584		
80	0.2082	0.2086	0.3744
80	0.2095		
80	0.2081		
100	0.2746	0.2742	0.3726
100	0.2749		
100	0.2730		
<b>r<sup>2</sup></b>	<b>0.9981</b>	<b>C.V</b>	<b>0.4745</b>



Linealidad del método para cuantificar el fármaco remanente en la piel.

Exactitud del método para cuantificar el fármaco remanente en la piel.

Conc. (µg/ml)	Absorbancia	Concentración	% Recobro
20	0.0529	19.889	99.444
20	0.0523	19.667	98.333
20	0.0528	19.852	99.259
20	0.0535	20.111	100.556
20	0.0531	19.963	99.815
20	0.0526	19.778	98.889
100	0.2720	101.030	101.037
100	0.2719	101.000	101.000
100	0.2726	101.259	101.259
100	0.2716	100.889	100.889
100	0.2715	100.852	100.852
100	0.2731	101.444	101.444
		<b>MEDIA</b>	100.232
		<b>DESV. EST.</b>	1.037
		<b>C.V. (%)</b>	1.035
		<b>I.C.</b>	0.587
		<b>LÍMITE SUP.</b>	99.645
		<b>LÍMITE INF.</b>	100.818

**Precisión del método para extraer el fármaco remanente en la piel.**

PRECISIÓN DÍA 1 (60 µg/ml)		PRECISIÓN DÍA 2 (60 µg/ml)	
Repetición	Abs	Repetición	Abs
1	0.1573	1	0.1581
2	0.1589	2	0.1582
3	0.1587	3	0.1572
4	0.1573	4	0.158
5	0.1577	5	0.1585
6	0.1579	6	0.1587
<b>MEDIA</b>	0.1580	<b>MEDIA</b>	0.1581
<b>DESV. EST.</b>	0.0007	<b>DESV. EST.</b>	0.0005
<b>C.V.</b>	0.4361	<b>C.V.</b>	0.3284

**Determinación del límite de detección y límite de cuantificación para extraer el fármaco retenido en la piel.**

<p><b>LÍMITE DE DETECCIÓN</b></p> $LD = \frac{3.3 \sigma}{S}$ <p>σ = Desviación estándar del intercepto S = Pendiente de la curva de calibración</p> <p><b>LD = 0.98 µg/ml</b></p>	<p><b>LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN</b></p> $LC = \frac{10 \sigma}{S}$ <p>σ = Desviación estándar del intercepto S = Pendiente de la curva de calibración</p> <p><b>LC = 2.96 µg/ml</b></p>
--	--

**Anexo 3. Resultados de la concentración acumulada de clorhidrato de naltrexona por unidad de tiempo de ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) para cada formulación.**

TIEMPO (h)	FORMULACIÓN						
	FÓRMULA ME-AO:T	FÓRMULA ME-MI:T	FÓRMULA ME-PI:T	FÓRMULA ME-AO:B	FÓRMULA ME-MI:B	FÓRMULA ME-PI:B	REFERENCIA
1	115.59	111.61	72.61	43.82	32.85	8.06	89.73
2	287.23	178.40	136.34	104.97	50.52	15.42	110.58
3	315.42	228.79	217.22	128.96	87.26	20.21	124.34
4	356.38	263.37	258.22	159.10	106.32	32.64	152.12
5	413.93	297.01	280.14	219.27	143.26	58.65	195.85
6	466.73	321.47	292.36	280.59	174.13	96.91	215.04
7	527.56	342.09	310.66	332.36	231.91	217.43	281.52
8	553.83	363.45	461.76	365.28	257.78	234.55	313.74
24	621.86	425.23	824.77	396.84	279.31	266.67	380.74
% naltrexona	3.11	2.13	4.12	1.98	1.40	1.33	1.90

**Anexo 4. Resultados de la concentración de clorhidrato de naltrexona retenida en la piel de cerdo.**

FORM/ REP	Absorbancia	µg/ml	µg	µg/cm <sup>2</sup>	PROMEDIO µg/cm <sup>2</sup>	D.E.	% NALTREXONA
ME-AO:T 1	0.412	152.89	764.44	1194.44	927.37	61.59	3.68
ME-AO:T 2	0.3819	141.74	708.70	1107.35			
ME-MI:T 1	0.2174	80.81	404.07	631.37	580.73	71.61	1.86
ME-MI:T 2	0.1824	67.85	339.26	530.09			
ME-PI:T 1	0.2087	77.59	387.96	606.19	596.79	13.30	1.91
ME-PI:T 2	0.2022	75.18	375.93	587.38			
ME-AO:B 1	0.2206	82.00	410.00	640.63	901.91	228.03	2.89
ME-AO:B 2	0.3463	128.56	642.78	1004.34			
ME-AO:B 3	0.3658	135.78	678.89	1060.76			
ME-MI:B 1	0.344	127.70	638.52	997.69	942.23	48.47	3.02
ME-MI:B 2	0.313	116.22	581.11	907.99			
ME-MI:B 3	0.3175	117.89	589.44	921.01			
ME-PI:B 1	0.2742	101.85	509.26	795.72	1098.38	39.53	2.42
ME-MI:B 2	0.2469	91.74	458.70	716.72			
ME-MI:B 3	0.2615	97.15	485.74	758.97			
Ref. 1	0.0485	18.26	91.30	142.65	901.81	91.82	0.79
Ref. 2	0.097	36.22	181.11	282.99			
Ref. 3	0.1082	40.37	201.85	315.39			

## Anexo 5. Constancias de asistencia a Congresos.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



a:

**Flores-Hidalgo, Julieta, Alcalá-Alcalá, Sergio.**



Por su participación en la presentación de trabajo libre en la modalidad de cartel con el título:  
**PROYECTO PARA EVALUAR EL EFECTO PROMOTOR DE MICROEMULSIONES SOBRE EL PASO DE FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL**



durante el **12° Encuentro de Estudiantes de Licenciatura y Posgrado en Farmacia**, realizado en el marco del Día Mundial del Farmacéutico en la Facultad de Farmacia de la UAEM, el día 29 de Septiembre de 2016.

«Por una Humanidad Culta»

Sello Digital:

kuIuwfIdlrSfKowgyZxwIJJUq3C9eE6n9CaYp6PcaPUGSeHT1QpdVVvpjSPJHE1tSANSr7C+1c3OXocagumyft  
Ro05tlLmFPpMoJbP8dTFxq1OVpx1ay1OBSNyMTNb7aU/LZsfay8rOqKCaq-VoGnH7eW+JES6sqVP8oakNcE-



F103916

Cuernavaca, Morelos, México





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS



a:

La Universidad Autónoma del Estado de Morelos a través de  
la Facultad de Farmacia otorga la presente

# CONSTANCIA

## JULIETA FLORES HIDALGO



Por su participación en el taller:

**«Principios básicos para la determinación del tamaño y potencial Z,  
utilizando las técnicas de DLS y ELS»,**

impartido por la Q.F.B. Thelma Rivera de Malvern Instruments LTd,  
con duración de **2 horas**, el día 29 de Septiembre del 2016,  
en las instalaciones de la Facultad de Farmacia de la UAEM.



Durante el **4to Coloquio Internacional: Retos e Innovaciones en la Investigación  
Farmacéutica y 12º Encuentro de Estudiantes de Licenciatura y Posgrado en Farmacia.**

«Por una Humanidad Culta»

Sello Digital:

u[XC1wJ9Izh/mcDologmPESQURtaKOzrSSE]SCYxONRR0nx+OIrsnLU74XpT93Kny1XcabNWAe1kdBus14IP  
pEzFWM0xe9cYJakIba1k4tymj3JodOewDPS5pBTa137ka9U95C/GUHKShmHYhU9Y1aJkxYOH21LMIaT+9H4y4-



F94316

Cuernavaca, Morelos. México





**L** Congreso Nacional de  
*Ciencias Farmacéuticas*  
*Tepic, Jalisco*  
3 a 7 de Septiembre de 2017  
*"Una cuenta al medicamento de 50 años"*

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

**RECONOCIMIENTO** a:

**Julieta Flores Hidalgo, Flora Adriana Ganem Rondero, Sergio  
Alberto Bernal Chávez, Sergio Alcalá Alcalá**

Por la presentación del trabajo

**Estudio in vitro del efecto promotor de microemulsiones sobre la  
permeabilidad de Naltrexona en piel**

  
QFB. Victoria Ruiseco Nocetti  
Presidencia AFM

  
Dra. Elizabeth Sánchez González  
Dirección de Ciencia y Tecnología



La Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.  
otorga la presente

CONSTANCIA a  
**JULIETA  
FLORES HIDALGO**

Por su asistencia al



*Congreso Nacional de  
Ciencias Farmacéuticas  
Tequila Jalisco*

3 al 7 de Septiembre de 2017

*"Una vuelta al medicamento de 50 años"*

Q.F.B. Victoria Patricia Ruiseco Nocetti  
*Presidencia de la Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C.*

Dra. Elizabeth Sánchez González  
*Dirección de Ciencia y Tecnología*