

ESTUDIO “*IN VITRO*” DE LA CINÉTICA DE HINCHAMIENTO Y LIBERACIÓN DE
VENLAFAXINA A PARTIR DE HIDROGELES DE QUITOSANO UTILIZANDO
GENIPINA COMO AGENTE RETICULANTE

INGRID TATIANA VILLA CASTRO

UNIVERSIDAD ICESI

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES

PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA, DEPARTAMENTO DE CIENCIAS
FARMACÉUTICAS

SANTIAGO DE CALI

2017

ESTUDIO “*IN VITRO*” DE LA CINÉTICA DE HINCHAMIENTO Y LIBERACIÓN DE
VENLAFAXINA A PARTIR DE HIDROGELES DE QUITOSANO UTILIZANDO
GENIPINA COMO AGENTE RETICULANTE.

INGRID TATIANA VILLA CASTRO

Proyecto de grado para optar por el título de pregrado en Química Farmacéutica

Tutora: Nora Elena Valderruten Posso, Ph.D

SANTIAGO DE CALI

2017



APROBADO POR:

Cristhian Javier Yarce Castellanos

Evaluador

Nora Elena Valderruten Posso, Ph.D

Directora del Proyecto

SANTIAGO DE CALI, 7 DE NOVIEMBRE DEL 2017

AGRADECIMIENTOS

“Y todo lo que hacéis, sea de palabra o de hecho, hacedlo todo en nombre de Señor Jesús, dando gracias a Dios Padre por medio de él.”

Colosenses 3.17

Agradezco a YHWH padre creador de la vida, por la sabiduría y fortaleza que depositó en mi para culminar este proyecto de grado con éxito. Toda la gloria y la honra para él.

A mi madre y padre por su aliento, entrega, dedicación, confianza y amor. A mis familiares por su compañía en esta etapa de mi vida.

A mi tutora Nora Elena Valderruten por su gran paciencia, apoyo y dedicación durante este año para llevar acabo el desarrollo de mi proyecto de grado. Al profesor Guillermo Montoya por su ayuda para lograr iniciar la parte práctica de este trabajo.

A mis compañeros de investigación, muchas gracias por su ayuda y apoyo incondicional.

Contenido

1. Resumen del proyecto.....	11
2. Introducción.....	13
3. Descripción del proyecto	14
3.1. <i>Planteamiento de la pregunta o problema de investigación y su justificación.</i>	14
3.2. Marco Teórico y Estado del arte.....	16
3.3. Objetivos.....	23
3.3.1. <i>Objetivo General</i>	23
3.3.2. <i>Objetivos Específicos:</i>	23
3.4. Metodología.....	24
3.4.1. <i>Materiales y equipos</i>	24
3.4.2. <i>Síntesis de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina</i>	24
3.4.3. <i>Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.</i>	25
3.4.4. <i>Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina de dos concentraciones comerciales diferentes.</i>	25
3.4.4.1. <i>Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina</i>	26
3.4.5. <i>Matriz de marco-lógico</i>	26
3.5. Resultados.....	29
3.5.1. <i>Síntesis de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina.</i>	29
3.5.2. <i>Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.</i>	30
3.5.3. <i>Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina con dos concentraciones comerciales diferentes.</i>	33
3.5.3.1. <i>Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina</i>	37
3.6. Discusión.....	39
3.6.1. <i>Síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 3,0 % p/v con un grado de entrecruzamiento de 0,3 %.</i>	39
3.6.2. <i>Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.</i>	39
3.6.3. <i>Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina desde hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales diferentes.</i>	41
3.6.3.1. <i>Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina</i>	44
3.7. Conclusiones	45

3.8. Recomendaciones..... 46
3.9. Referencias 47
ANEXOS 51

Fé de erratas

Lista de tablas

Tabla 1. Modelos matemáticos para la cinética de liberación de fármacos. (Harris, 2010)	17
Tabla 2. Matriz de marco-lógico	26
Tabla 3. Resultados obtenidos en la uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina	38
Tabla 4. Mecanismos de liberación de fármacos según el modelo de Korsmeyer-Peppas. (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008).....	42
Tabla 5. Valores para la determinación del volumen del cilindro resultante	51
Tabla 6. Valores para realizar la curva de calibración para la cinética de liberación de venlafaxina HCl.....	55
Tabla 7. Resultados del porcentaje de hinchamiento (W%) de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.	56
Tabla 8. Resultados de porcentajes de agua en el hidrogel (H%) de los Hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.....	57
Tabla 9. Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo para la concentración de 37,5 mg de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento	58
Tabla 10. Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo para la concentración de 75 mg de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3%.	59

Lista de gráficas

Gráfica 1. Porcentaje de hinchamiento W% respecto al tiempo (minutos) para la cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.....	32
Gráfica 2. Porcentaje de agua en el hidrogel H% respecto al tiempo (minutos) para la cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento	32
Gráfica 3. Curva de calibración de venlafaxina HCl para la cinética de liberación del fármaco a partir de los hidrogeles de quitosano/ genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.....	34
Gráfica 4. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a de 37,5 mg a partir de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.	35
Gráfica 5. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a 75 mg a partir de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3% de entrecruzamiento.	35
Gráfica 6. Valores teóricos de n y K para la cinética de liberación de venlafaxina HCl desde hidrogeles cargados con 37,5 mg de fármaco	36
Gráfica 7. Valores teóricos de n y K de la cinética de liberación de venlafaxina HCl desde hidrogeles cargados con 75 mg de fármaco	37

Lista de figuras

Figura 1. Comportamiento de los diferentes sistemas de liberación de fármacos. (FLORES, 2012)	16
Figura 2. Estructura química del quitosano.	19
Figura 3. Estructura química de la genipina.	20
Figura 4. Mecanismo de reacción del entrecruzamiento de la genipina con el polímero quitosano en medio ácido.	20
Figura 5. Estructura química de la venlafaxina.....	22
Figura 6. Hidrogeles de quitosano/ genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.	29
Figura 7. Síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3% de entrecruzamiento y dos concentraciones diferentes de fármaco venlafaxina HCl.	30
Figura 8. Cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento	30
Figura 9. Proceso para la cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento	33
Figura 10. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina con 37,5 mg de fármaco.....	33
Figura 11. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina con 75 mg de fármaco.....	34
Figura 12. Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina.....	38
Figura 13. Esquema representativo de los mecanismos de liberación modificada de fármacos a partir de matrices poliméricas hidrofílicas.	41
Figura 14. Ajuste pH 2 de solución buffer HCl para cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano/genipina al 0,3% de entrecruzamiento	53
Figura 15. Ajuste pH 7,4 de solución buffer fosfato para cinética de liberación de venlafaxina a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina al 0,3% de entrecruzamiento	54
Figura 16. Proceso de reacción de color azul claro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento	55
Figura 17. Proceso de reacción de color azul oscuro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento	56

Lista de anexos

Anexo 1. Cálculos para síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento.	51
Anexo 2. Cálculos para la síntesis de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento con fármaco para la cinética de liberación de venlafaxina.	51
Anexo 3. Cálculos preparación de soluciones Buffer según Farmacopea de los Estados Unidos de América.	52
Anexo 4. Cálculos para realizar la curva de calibración de venlafaxina HCl para la cinética de liberación del fármaco a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.	54
Anexo 5. Proceso de reacción de color azul claro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento antes del secado en el horno Binder.	55
Anexo 6. Proceso de reacción de color azul oscuro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento después de secado en el horno Binder.	55
Anexo 7. Datos obtenidos de los porcentajes de hinchamiento (W%) de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento	56
Anexo 8. Datos obtenidos de los porcentajes de agua (H%) de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.	57
Anexo 9. Datos obtenidos Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo en la cinética de liberación del fármaco venlafaxina a 37,5 mg.	58
Anexo 10. Datos obtenidos Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo en la cinética de liberación del fármaco venlafaxina a 75 mg.	58

1. Resumen del proyecto

La liberación modificada de fármacos se ha convertido en una alternativa eficaz para disminuir el número de dosis diarias, logrando así una mayor adherencia al tratamiento por parte del paciente. Existen varios estudios de liberación de medicamentos que demuestran la capacidad de los hidrogeles de quitosano de actuar como sistemas de liberación modificada. (Hernandez, 2004).

Este proyecto logró sintetizar hidrogeles de quitosano utilizando genipina como agente reticulante como sistema de liberación prolongada del antidepresivo venlafaxina HCl; aprovechando que la toxicidad del entrecruzante es mucho menor que la de otros agentes reticulantes estudiados, glutaraldehído por ejemplo. (Sung, Huang, Huang, & Tsai, 1999). De acuerdo a la recomendación planteada en el trabajo de grado de Guzmán (Guzman, 2016), se estudió la cinética de hinchamiento a pH 2 de los hidrogeles de quitosano/genipina mediante el porcentaje de hinchamiento (W%) y el porcentaje de agua (H%) respecto al tiempo. Los resultados muestran un proceso de hinchamiento lento a pesar del pH del medio lo cual concuerda con los resultados del proyecto de grado previo (Guzman, 2016).

En el estudio de la cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina, se obtuvo que los materiales cargados con 37,5 mg se ajustaron al modelo cinético de Korsmeyer-Peppas, mientras que aquellos cargados con 75 mg se ajustaron a un mecanismo de liberación de difusión "Fickiana". Además, se determinó la uniformidad de contenido en los hidrogeles, arrojando una cantidad de fármaco de 1,3217 mg y 1,3226 mg para las concentraciones comerciales de 37,5 mg y 75 mg de venlafaxina HCl, respectivamente. Por último, se evidenció una liberación lenta de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles con mayor concentración de fármaco, comportándose como vehículos de liberación prolongada para este fármaco que posee un tiempo de vida media corto.

Palabras Claves: Hidrogeles, Venlafaxina HCl, Quitosano, Genipina, Korsmeyer-Peppas.

Abstract

The modified release of medications has become an effective alternative to reduce the number of daily doses, thus achieving greater adherence to treatment by the patient. There are several drug release studies that demonstrate the ability of chitosan hydrogels to act as modified release systems. (Hernandez, 2004)

This project was able to synthesize chitosan hydrogels using genipin as a crosslinking agent at 0.3% crosslinking as a prolonged release system of the antidepressant Venlafaxine HCl; The toxicity of the cross linkers is much lower than that of other crosslinking agents studied, glutaraldehyde for example. (Sung, Huang, Huang, & Tsai, 1999). According to the recommendation made in Guzmán's degree work (Guzman, 2016), the kinetics of swelling at pH 2 of the chitosan / genipin hydrogels was studied by the percentage of swelling (%) and the percentage of water (%) with respect to time. The results show a slow swelling process despite the pH of the medium which is consistent with the results of the degree project ; managing to behave as a vehicle for the modified release of the drug (Guzman, 2016).

In the study of the release kinetics of venlafaxine HCl from the chitosan / genipin hydrogels, it was obtained that the materials loaded with 37.5 mg were adjusted to the kinetic model of Korsmeyer-Peppas, while those loaded with 75 mg were adjusted to a Fick's theory release mechanism. In addition, the uniformity of content in the hydrogels was determined, obtained a drug amount of 1.3217 mg and 1.3226 mg for the commercial concentrations of 37.5 mg and 75 mg of venlafaxine HCl, respectively. Finally, there was a slow release of venlafaxine HCl from the hydrogels with higher drug concentration, behaving as prolonged release vehicles for this drug that has a short half-life.

Key Words: Hydrogels, Venlafaxine HCl, Chitosan, Genipin, Korsmeyer-Peppas.

2. Introducción

Hoy en día la depresión perjudica a más de 50 millones de personas en diferentes etapas de la vida, siendo el resultado de factores biológicos, psicológicos y del entorno. Genera un impacto negativo en la vida de estas personas, afectando el desarrollo de sus tareas cotidianas como la facilidad de interaccionar con los demás en diversas circunstancias e incluso, puede conllevar a un límite extremo como el suicidio. (Fuhrimann, 2017)

Es claro que este trastorno tiene un impacto social marcado debido a que las familias deben lidiar con la persona afectada al perder interés por sus actividades cotidianas. Sin embargo, otros factores como el incumplimiento del tratamiento antidepresivo se convierte en un punto clave de las recaídas o recurrencias que tienen las personas con este trastorno. El incumplimiento se debe a la falta de compromiso por parte del paciente al no tomar su medicamento en la forma en que fue prescrita por el médico. En la falta de cumplimiento se encuentra aproximadamente el 20% y 80% de las personas, donde se reporta que “el 28% de los pacientes abandonan su medicación durante el primer mes de tratamiento y el 44% durante el tercero” (Murga, Dienstmaier, Carpio-Tapia, & al., 2005). También, “el 20% de los pacientes con depresión rechazan los medicamentos” (Murga, Dienstmaier, Carpio-Tapia, & al., 2005). Además, aproximadamente el 50% de las personas con tratamiento farmacológico antidepresivo no se adhieren debido a los efectos adversos de los medicamentos o por falta de acción rápida sobre este trastorno. (Murga, Dienstmaier, Carpio-Tapia, & al., 2005) Incluso se reporta que la polimedicación es un factor condicionante en la adherencia al tratamiento (Párraga, y otros, 2014), ya que al tener varios medicamentos por administrar en un día, puede generar olvido en la persona para administrar el antidepresivo.

Actualmente, se cuenta con una tecnología farmacéutica denominada liberación modificada, la cual emplea sistemas poliméricos que tienen la capacidad de condicionar la velocidad de entrega del fármaco manteniéndolo en el margen terapéutico por largos tiempos. Son apetecidos para ser empleados en la vía de administración oral gracias a su gran eficacia. Debido a sus propiedades intrínsecas, pueden tener diversos mecanismos para controlar la entrega del fármaco logrando así diversos tipos de liberación: retardada, prolongada, entre otros. (Lopes, Lobo, & Costa, 2005) Por esta razón, estos sistemas poliméricos se convierten en la alternativa más eficaz para incorporar medicamentos que hacen parte de tratamientos de difícil adherencia por parte del paciente. Sin embargo, esta tecnología será moderna cuando se comience a implementar polímeros y entrecruzantes de origen natural que generen un impacto positivo al medio ambiente, al bienestar del paciente por ser biocompatibles, biodegradables y menos tóxicos (Herrera, Acevedo, Castro, & Marrugo, 2016) y en la reducción de costos por parte de las industrias farmacéuticas.

3. Descripción del proyecto

3.1. Planteamiento de la pregunta o problema de investigación y su justificación.

¿Es posible emplear hidrogeles de quitosano reticulados con genipina como sistemas de liberación modificada de fármacos con tiempos de vida media corta?

El área de investigación y desarrollo de la industria farmacéutica actualmente se enfoca en encontrar materiales que mejoren significativamente las formulaciones de los medicamentos que se usan con mayor frecuencia. Esto con el fin de mejorar la biodisponibilidad del fármaco, reducir efectos adversos e incluso implementar sistemas de liberación modificada para disminuir el número de dosis administradas al paciente. Entre dichos materiales encontramos biopolímeros como los polisacáridos, liposomas y polianhídridos, destacados por su estabilidad y bioadhesividad. Además, los hacen candidatos potenciales en cuanto a la liberación modificada de las moléculas del fármaco en un tiempo prolongado o sostenido, manteniéndose en el margen terapéutico. (Herrera, Acevedo, Castro, & Marrugo, 2016)

Sin embargo, muchos de los materiales para sistemas de liberación modificada son polímeros costosos y algunos importados, lo que se convierte en la principal desventaja frente a los polímeros naturales. (García & Roca, 2008) En cuanto a los polisacáridos el más estudiado es el quitosano, llamativo como alternativa para sistemas de liberación modificada al ser un producto altamente seguro, biodegradable, no tóxico y biocompatible (Herrera, Acevedo, Castro, & Marrugo, 2016). Además, este polímero se obtiene a partir de la desacetilación de la quitina, componente del exoesqueleto de los crustáceos como los cangrejos y los camarones. (García & Roca, 2008). Por lo tanto, se contribuye de forma positiva al medio ambiente al reutilizar este tipo de residuos que no son de consumo humano y que tienen un potencial beneficio para las industrias farmacéuticas que buscan una alternativa novedosa a menor costo.

De igual forma, la genipina se extrae del fruto de *Genipa americana* L. y se ha estudiado como un potencial “*entrecruzante atóxico*” en la obtención de hidrogeles con biopolímeros que en su estructura química posean grupos amino (Lárez, Rivas, & Santos, 2014). Por lo tanto, se hace ventajoso dicho extracto reticulante con el polímero quitosano para formar hidrogeles que sean efectivos en el empleo de sistemas de liberación modificada de fármacos.

El antidepresivo venlafaxina tiene un tiempo de vida media de 5 horas (Wyeth Pharmaceuticals, Inc, 2008), lo que hace necesario administrar el medicamento más de 1 vez al día para mantener los niveles plasmáticos. Se ha observado que entre

el 30 y el 70 % de los pacientes con depresión no se adhieren al tratamiento, dejando de consumir el medicamento en los primeros 3 meses. Uno de los factores que afectan esta falta de adherencia es el consumo de otros fármacos simultáneamente, lo que puede crear confusión y olvido a la hora de administrar el antidepresivo. (Párraga, y otros, 2014).

Por consiguiente, este proyecto buscó estudiar la eficacia del hidrogel de quitosano entrecruzado con genipina a una proporción de 0,3 % a pH 7,4 como sistema de liberación modificada de fármacos. Se utilizaron dos diferentes concentraciones comerciales esperando que la entrega del fármaco se haga de forma lenta, manteniendo la dosis en el margen terapéutico durante un largo periodo de tiempo (Guzman, 2016). Además, se estudió el comportamiento del hidrogel a un pH ácido, corroborando que sigue siendo un vehículo de liberación modificada y podría aplicarse como alternativa en fármacos donde se requiera aumentar la adherencia al tratamiento por parte del paciente.

3.2. Marco Teórico y Estado del arte

Los sistemas de liberación modificada de fármacos son útiles para formulaciones farmacéuticas que requieran mantener la concentración dentro del margen terapéutico por tiempos prolongados, lo que no se lograría con sistemas de liberación inmediata o convencional. Estas últimas formas farmacéuticas son diseñadas para entregar rápidamente el principio activo a sus blancos u órganos diana para lograr el efecto terapéutico en un tiempo corto, pero están limitadas en el caso de fármacos con tiempos de vida media corta. Estos fármacos requieren varias dosis en un día para mantener las concentraciones dentro del margen terapéutico, lo cual se ve condicionado por la adherencia o cumplimiento del paciente primordialmente. (Aulton, 2004)

Por tal motivo, la innovación en estos sistemas hace que se reduzca la participación del médico / paciente y dependa totalmente de la forma de liberación del medicamento, siendo un ventaja para aumentar la adherencia a los tratamientos farmacológicos y lograr su efectividad. Entre los sistemas de liberación se encuentra: la liberación retardada, donde el principio activo no se libera recién se administra sino a un tiempo más largo; la liberación prolongada, donde el principio activo se encuentra dentro de un sistema que limita su velocidad de liberación haciéndola más lenta; la liberación sostenida, hace que el principio activo al administrarse ejerza una parte del efecto farmacológico pero se mantiene liberando de forma gradual durante un tiempo amplio; la liberación controlada, hace que el principio activo se libere constantemente sin alterar las concentraciones en sangre, entre otras, representadas en la Figura 1. (Aulton, 2004)

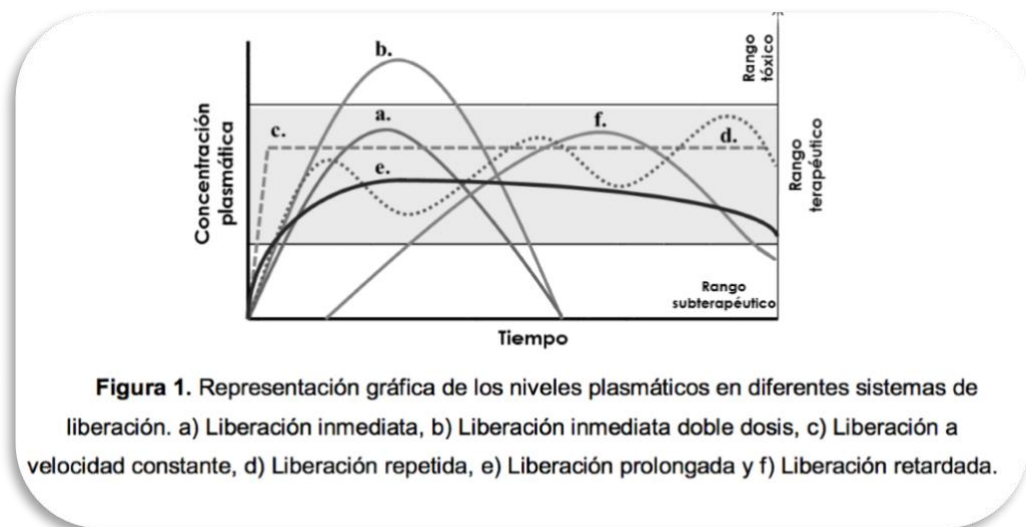


Figura 1. Comportamiento de los diferentes sistemas de liberación de fármacos. (FLORES, 2012)

El sistema de liberación modificada cuenta con mecanismos que hacen que la velocidad de entrega del principio activo se haga de forma controlada durante tiempos extensos, manteniéndose en el margen terapéutico o modificando el lugar de la entrega del fármaco. (Aulton, 2004). Por este motivo, es que dentro de este sistema se clasifican las liberaciones controladas, prolongadas y sostenidas. No obstante, para estos mecanismos hoy en día se cuenta con diferentes modelos matemáticos que ayudan a pronosticar la cinética de liberación in vitro de los fármacos por medio de diferentes ecuaciones que tienen en cuenta diversas variables. Algunos de los modelos más conocidos son: Higuchi, Korsmeyer-Peppas, cinética de orden cero, cinética de orden uno, Hixson- Crowell o raíz cúbica; presentados en la Tabla 1. (Harris, 2010)

Tabla 1. Modelos matemáticos para la cinética de liberación de fármacos. (Harris, 2010)

Modelo matemático	Ecuación
Cinética de orden 0	$Q_t = Q_0 + K_0 t$ <p>Donde Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en solución; K_0 es la constante de velocidad y Q_t es la cantidad de fármaco liberado a tiempo</p>
Cinética de orden 1	$Q_t = Q_0 e^{-K_1 t}$ <p>Donde Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en solución; K_1 es la constante de velocidad de primer orden y Q_t es la cantidad de fármaco liberado a tiempo</p>
Higuchi	$Q_t = K_H t^{1/2}$ <p>Donde Q es la cantidad de fármaco liberado y K_H es la constante de disolución Higuchi</p>
Korsmeyer-Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = k t^n$ <p>Donde $\frac{M_t}{M_\infty}$ es la fracción de fármaco que se liberó en un tiempo; K es la constante del sistema y n es el exponente difusional.</p>

Hixson- Crowell o raíz cúbica	$(1 - f_t)^{1/3} = 1 - K_b t$ <p>Donde $f_t = 1 - (W_t/W_0)$ es la fracción de fármaco disuelto en el tiempo y K_b es la constante de liberación</p>
--------------------------------------	--

Se considera para estas formas de liberación, utilizar “matrices insolubles inertes, resinas de intercambio iónico, formulaciones osmóticamente controladas y sistemas de reservorios” (Aulton, 2004), siempre y cuando cumpla con las características deseadas de diseño en la formulación farmacéutica. Sin embargo, las matrices poliméricas se han convertido en una gran herramienta para utilizarlos en dichos sistemas de liberación debido a su alta biocompatibilidad con las moléculas del fármaco y el organismo. Además, su obtención puede ser sintética y natural. Por esto, los polímeros fueron abarcados oficialmente en la Farmacopea Americana USP XX en 1980 para su uso en el sector farmacéutico como material de empaque/ envase y auxiliar de formulaciones farmacéuticas. (Rojas, Vallejo, & Perilla, 2008)

Los polímeros naturales tienen la ventaja de tener una alta bioadhesión a las membranas biológicas, biocompatibilidad y biodegradabilidad, pero una de las principales desventajas es la variabilidad que se presenta en los métodos de obtención y purificación. (Santana, Severino, Malmonge, & Souto, 2011) Por tal razón, se debe encontrar un proveedor que brinde el producto en el tiempo adecuado de producción, lo que hace que la confiabilidad sea una herramienta clave en este proceso. Sin embargo, son más las ventajas que ofrecen los polímeros naturales, por lo cual se justifica su uso para estos sistemas de liberación de fármacos.

Entre los polímeros naturales se encuentra el quitosano, obtenido a partir de la quitina, el segundo polímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. (Serrano, Guadarrama, & Revilla., 2015) La quitina se obtiene, entre otras fuentes, de las cáscaras y caparazones de los crustáceos mediante un proceso de desacetilación. El quitosano es “*un polímero biodegradable, biocompatible, no tóxico y mucoadhesivo*” características que lo hacen apetecido en los campos farmacéuticos. Además, este polímero tiene funciones antimicrobianas, antivirales y antitumorales (García & Roca, 2008). Cabe mencionar que la quitina se puede obtener también del exoesqueleto de artrópodos, zooplancton marino, algunas familias de levaduras / hongos y alas de insectos, por eso es uno de los polímeros más abundantes que existe en la naturaleza. (Hernandez, 2004)

El quitosano es un “*polieléctrolito catiónico*” susceptible a cambios de pH del entorno y “responde a estímulos externos tales como la temperatura y fuerza iónica del medio” donde se encuentre. Se compone de β -(1,4)-2-amino-2-deoxi-D-glucopiranososa, representada en la Figura 2. Como se obtiene del proceso de desacetilación de la quitina, se debe tener en cuenta los residuos de N-acetil-D-glucosamina para determinar su pureza (Herrera, Acevedo, Castro, & Marrugo, 2016). Su solubilidad es alta en medios ácidos diluidos pero es insoluble en solventes orgánicos y en agua (García & Roca, 2008). Otra característica del quitosano es la estabilidad que le brinda a los sistemas heterodispersos como las emulsiones, dado el carácter hidrofílico/hidrofóbico que proporcionan los grupos aminos y N-acetilamino. (Hernandez, 2004)

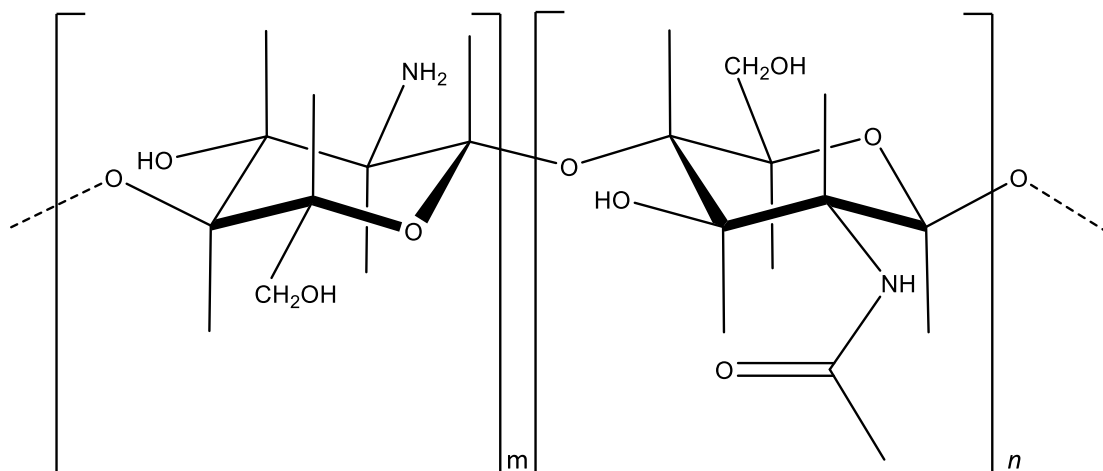


Figura 2. Estructura química del quitosano.

La genipina (1R,2R,6S)-2-Hidroxi-9-(hidroximetil)-3-oxabicyclo (4.3.0) nona-4,8-dieno-5-carboxilato de metilo), representada en la Figura 3, es un producto natural que se obtiene de los frutos maduros de la *Genipa americana L.* y también de los frutos de *Gardenia jasmínoides*. La principal característica de la genipina es su color violeta oscuro que se observa en las bebidas preparadas a partir del fruto de *Genipa americana L.* Sus principales usos son en industrias alimentarias, cosméticas y farmacéuticas donde funciona como “*entrecruzante atóxico*” de polímeros que en su estructura presenten grupos aminos para la formación de hidrogeles. Cabe mencionar que, la genipina cumple con otras funciones como elaboración de bioadhesivos para las heridas y en trastornos metabólicos como Diabetes tipo II. (Lárez, Rivas, & Santos, 2014).

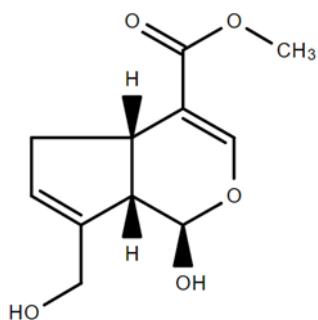
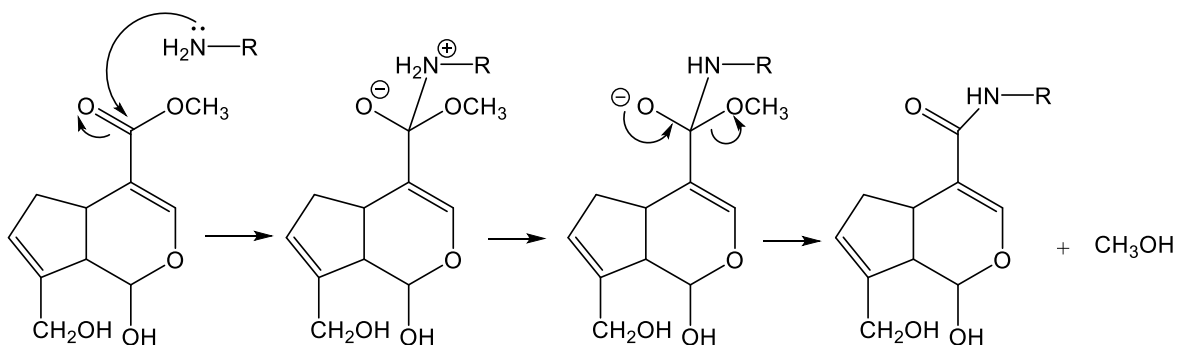


Figura 3. Estructura química de la genipina.

Mecanismo de reacción 1



Mecanismo de reacción 2

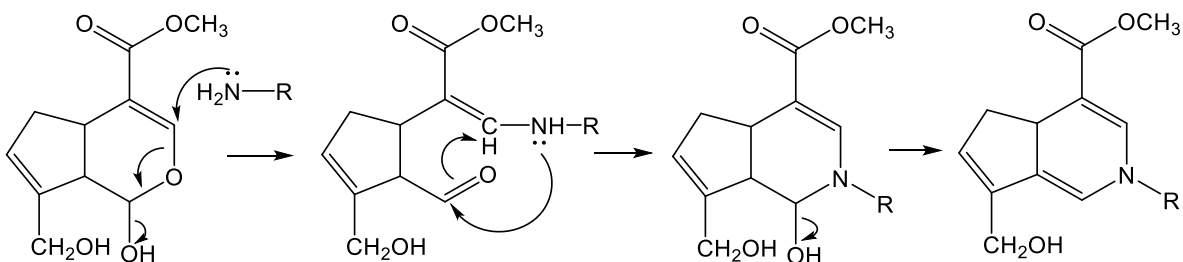


Figura 4. Mecanismo de reacción del entrecruzamiento de la genipina con el polímero quitosano en medio ácido.

En la Figura 4 se presenta el posible mecanismo de entrecruzamiento del quitosano con genipina. El par de electrones libres del grupo amino del quitosano ataca nucleofílicamente al carbono olefínico (C-3) de la genipina, cambiando la conformación del anillo di-hidropiránico y ocasionando su apertura. Se forma entonces un grupo aldehído en la genipina que reaccionará con la amina

secundaria, produciendo un anillo heterocíclico. Finalmente, la amina primaria del polímero atacará nucleofílicamente al éster formado, obteniéndose una amida y metanol como productos finales. (Arlan de Assis, 2011)

Los hidrogeles son una red polimérica tridimensional que tienen la capacidad de retener moléculas de agua en su interior. La cantidad de agua absorbida se ve condicionado por la proporción de polímero/reticulante que se maneje. Cabe resaltar que la ventaja de los hidrogeles químicamente reticulados son las interacciones covalentes que se forman con el agente entrecruzante, lo que hace que sean mucho más estables que los hidrogeles físicamente reticulados (Escalona & Quitanar, 2014). Es por esto que, los hidrogeles se han convertido en la herramienta más apetecida para transportar fármacos como antibióticos, antineoplásicos, anticoagulantes, anticuerpos, anticonceptivos, etc; que requieran de liberaciones sostenidas, es decir, modificadas, ya que contiene al fármaco dentro de esta matriz polimérica la cual condiciona su velocidad de liberación. Por lo tanto, solo se necesitaría de una sola dosis en el día que es capaz de mantener las concentraciones plasmáticas dentro del margen terapéutico sin ocasionar sobredosificaciones en un tiempo extenso. (Zuluaga, Valderruten, & Muñoz, 2006).

Los antidepresivos son una clase de fármacos que tratan los trastornos afectivos que le suceden a las personas. La depresión es un *“trastorno heterogéneo en el que el paciente se presenta con uno o más síntomas esenciales”* y también se ven reflejadas alteraciones psiquiátricas, alimenticias y por el consumo de drogas recreativas. Sin embargo, hay varios tipos de fármacos disponibles clasificados en varios grupos para tratar la depresión como: los inhibidores de la recaptación de monoaminas, antagonistas de los receptores de monoaminas e inhibidores de la monoaminoxidasa (MAO) (Rang & Dale, 2012). Estudios publicados demuestran que la falta de adherencia al tratamiento farmacológico se debe a que el paciente consume otros fármacos a la vez, la insuficiencia de una respuesta terapéutica rápida o a las reacciones adversas de los fármacos (Párraga, y otros, 2014). En cuanto a las reacciones adversas, por ejemplo de los inhibidores de la recaptación de monoaminas (inhibidores selectivos de la recaptación de la 5-hidroxitriptamina) se pueden presentar náuseas, anorexia, insomnios, anorgasmia, etc, y se demoran en ejercer un efecto terapéutico de 2 a 4 semanas (Rang & Dale, 2012).

La Venlafaxina es un inhibidor no selectivo de la recaptación de monoaminas, inhibe la recaptación de 5-HT a dosis bajas provocando una acción escasa frente a la noradrenalina. Este principio activo se encuentra en presentaciones de liberaciones modificadas de forma lenta con el fin de disminuir el efecto de náuseas en los pacientes que la consumen (Rang & Dale, 2012). Este principio activo recibe el nombre IUPAC 1-[2-(dimetilamino)-1-(4-metoxifenil)etil] ciclohexanol, representada en la Figura 5 (Pubchem, 2017), con un peso molecular de 313.87 g/mol, siendo un sólido cristalino blanco el cual es muy soluble en agua (Rosenboom & Kalin, 2002).

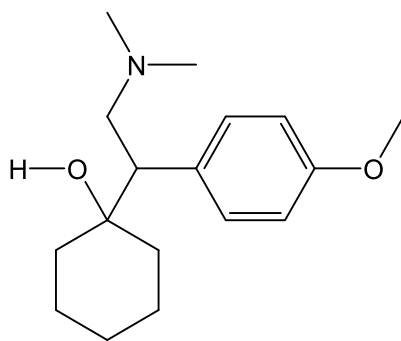


Figura 5. Estructura química de la venlafaxina.

La farmacocinética de este fármaco se basa en una buena absorción por vía oral, un volumen de distribución de 7,5 L/kg con unión a proteína plasmática del 27 al 30 %. Presenta un metabolismo de primer paso mediante el citocromo P450 por la CYP2D6, debido a que su metabolito activo es la O-desmetilvenlafaxina. Su excreción es por vía renal en un 87% y el 82 % como metabolitos; abarcando un tiempo de vida media de 5 horas. (Wyeth Pharmaceuticals, Inc, 2008)

3.3. Objetivos

3.3.1. Objetivo General

Estudiar el hidrogel de quitosano entrecruzado con genipina como sistema de liberación modificada de fármacos.

3.3.2. Objetivos Específicos:

3.3.2.1. Sintetizar hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina y cargados con dos concentraciones diferentes de venlafaxina.

3.3.2.2. Evaluar la cinética de hinchamiento del hidrogel de quitosano entrecruzado con genipina a pH ácido.

3.3.2.3. Evaluar la cinética de liberación del fármaco venlafaxina a dos concentraciones diferentes a partir del hidrogel de quitosano entrecruzado con genipina a través del tiempo

3.4. Metodología

3.4.1. Materiales y equipos

Se utilizó quitosano de bajo peso molecular (QN; Aldrich, 75-85 % de desacetilación), el fármaco venlafaxina clorhidrato estándar secundario (Hyper Chem, pureza 99,5 %) y la genipina se obtuvo a partir de la “Extracción de genipina en planta semipiloto para ser empleado como entrecruzante de hidrogeles “del proyecto de grado de Juan Carlos Santa Culma.

Se utilizaron otros reactivos químicos como: ácido acético glacial (pureza 99 % Merck), Metanol (grado HPLC Merck), Fosfato monobásico de potasio (99,9 % Merck), Hidróxido de sodio 2N (reactivo pureza 99 % Merck) y agua destilada tipo II. Cloruro de Potasio (pureza 99 % Merck), ácido clorhídrico HCl 1M (reactivo pureza 99 % Merck). En cuanto a los equipos se necesitó de: Balanza analítica METTLER TOLEDO, Cabina de Extracción Frontier Marca ESCO, Horno Binder, Sacabocados 12 mm de diámetro, Ultrasonido Cole-Parmer 8892 y Equipo UV-VIS Shimadzu. (Guzman, 2016).

3.4.2. Síntesis de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina

Se llevó a cabo la obtención de hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina en una proporción del 0,3 % empleando una solución de Quitosano al 3,0 % p/v en ácido acético al 2,0% (Anexo 1). (Moura, 2013) (Guzman, 2016)

A 40 mL de la solución de quitosano se añadió 120 mg del agente reticulante genipina disuelto en 1 mL de metanol. (Guzman, 2016) Las burbujas en la superficie se eliminaron empleando un equipo de ultrasonido durante 10 minutos. (Vallejo, 2014)

La mezcla de reacción se vertió en una caja petri plástica y se dejó reaccionar en el horno Binder a 45 ° C por 48 horas. Después de este tiempo, con un sacabocados de 12 mm de diámetro se cortaron los hidrogeles y se secaron en el horno a 30 ° C por 72 horas. (Vallejo, 2014)

Cabe mencionar que se obtuvieron hidrogeles a dos concentraciones diferentes de fármaco y sin fármaco, para realizar los respectivos estudios cinéticos. Los hidrogeles con fármaco se prepararon con dos concentraciones comerciales: a 37,5 mg y 75 mg (Tecnoquímicas , s.f.). Para la síntesis de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados con 37,5 mg del antidepresivo, se agregó 5.5147 g/mL de Venlafaxina HCl a la solución de ácido acético al 2,0 % hasta solubilizarlo y después se agregó los 3,0 g de quitosano, la homogenización de la mezcla se

realizó con agitación magnética. Posteriormente, se extrajo los 40 mL de esta solución y se entrecruzó con 120 mg de genipina. De igual forma, se realizó para la síntesis de los hidrogeles cargados a 75 mg de venlafaxina HCl, pero agregando una cantidad de 11.029 g/mL del fármaco a la solución de ácido acético, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente (Anexo 2).

3.4.3. Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.

Los hidrogeles sin fármaco se colocaron en los vasos con solución Buffer a pH 2, (Anexo 3) y se ubicaron en un baño termostático a 25°C para hacer seguimiento del incremento del peso de la matriz con respecto al tiempo. Los tiempos (minutos) fueron de: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140, 160, 180, 200, 220, 240, 260, 300, 320, 360, 380, 420, 440, 480. Se extrajeron los hidrogeles a cada tiempo respectivamente, se secaron con papel y se pesaron en la Balanza Analítica. Estos estudios se realizaron por triplicado.

3.4.4. Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina de dos concentraciones comerciales diferentes.

La determinación de la concentración del fármaco venlafaxina liberada en el tiempo fue llevada a cabo utilizando el Espectrofotómetro UV-VIS. En primer lugar, se realizó un barrido del fármaco venlafaxina para corroborar que la longitud de onda a la cual absorbe la molécula es en 274 nm. Posteriormente, se realizó una curva de calibración a las siguientes concentraciones (mg/mL): 1; 0,5; 0,25; 0,125; 0,06; 0,03; 0,015; 0,0075 y 0,005 (Anexo 4), utilizando la venlafaxina clorhidrato como estándar y la solución buffer de fosfato monobásico a pH 7,4 (Anexo 3) como medio.

Los hidrogeles con fármaco se adicionaron a la solución buffer y se ubicaron en un baño termostático a 37°C. Los tiempos (minutos) fueron de: 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180, 240, 300, 360, 420. A cada tiempo se extraía solución de cada vaso con ayuda de una pipeta Pasteur para ser depositado en la celda de cuarzo, con el fin de medir la absorbancia correspondiente en el espectrofotómetro UV/vis marca Shimadzu a una longitud de onda de 274 nm.

3.4.4.1. Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina

La determinación de la uniformidad de contenido de fármaco venlafaxina en los hidrogeles de quitosano/genipina requirió, en primer lugar, del proceso de maceración de los hidrogeles con 37,5 mg y 75 mg de venlafaxina en un mortero de porcelana. Posteriormente, se dejaron hinchar en 20 mL de la solución buffer de fosfato pH 7,4 dentro de un baño termostático. Después de 14 horas, se extrajeron del baño termostático y se agitaron las soluciones con ayuda de un magneto. Luego, se procedió a tomar 3 mL de las soluciones con ayuda de una jeringa pasando la muestra por un filtro de 0,22 micras NYLON a la celda de cuarzo; con el fin de medir la absorbancia mediante el espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda de 274 nm. Los estudios se realizaron por triplicado.

3.4.5. Matriz de marco-lógico

Tabla 2. Matriz de marco-lógico

<u>Objetivo General:</u> Estudiar el hidrogel de quitosano entrecruzado con genipina como sistema de liberación modificada de fármacos.			
Objetivo Específico	Actividades	Supuesto	Indicadores

<p>Sintetizar hidrogeles de Quitosano entrecruzado con Genipina y cargados con dos diferentes concentraciones de Venlafaxina.</p>	<p>Se sintetizaron hidrogeles de quitosano/genipina con un entrecruzamiento del 0,3 %.</p> <p>Se determinó la cantidad de principio activo necesario para que la muestra contenga las dos diferentes concentraciones comerciales del fármaco.</p>	<p>Las reacciones químicas entre el polímero y entrecruzante junto con otros reactivos, sometidas a condiciones de temperatura y tiempo establecidas generen hidrogeles.</p> <p>Obtener hidrogeles sólidos.</p>	<p>Obtención de un Hidrogel sólido del tamaño adecuado y de color azul</p>
<p>Evaluar la cinética de hinchamiento del hidrogel de Quitosano entrecruzado con Genipina a pH ácido.</p>	<p>Se preparó la solución buffer a pH 2.</p> <p>Se sometieron los hidrogeles a la solución buffer.</p> <p>Se pesaron los hidrogeles para el seguimiento en el incremento del peso del hidrogel en función del tiempo a: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 100, 120, 140,160,180, 200, 220, 240, 260, 300, 320, 360, 380, 420, 440 y 480 minutos.</p> <p>Se graficó el porcentaje del contenido de agua del hidrogel vs el tiempo (Minutos)</p>	<p>El Hidrogel de Quitosano/Genipina 0,3 % a un pH 2 genere un menor hinchamiento para un sistema de liberación modificada de fármacos.</p>	<p>Modelo de hinchamiento que sigue el hidrogel identificada.</p>

	Se identificó el modelo cinético que obedece el hidrogel.		
<p>Evaluar la cinética de liberación del fármaco Venlafaxina a dos concentraciones diferentes a partir del hidrogel de Quitosano entrecruzado con Genipina a través del tiempo</p>	<p>Se realizó la curva de calibración para calcular la concentración de Venlafaxina en cada punto.</p> <p>Se sometieron los hidrogeles a una solución buffer de fosfato salino 7,5 como imitador del medio intestinal y, en tiempos de: 5, 10, 15, 20, 30, 40, 50, 60, 120, 180, 240, 300, 360 y 420 minutos, se tomaron respectivas muestras.</p> <p>Se midieron las absorbancias de las muestras mediante el Espectrofotómetro UV/vis.</p> <p>Se graficó las absorbancias vs el tiempo</p> <p>Se identificó el modelo cinético seguido por el sistema de liberación.</p>	<p>El espectrofotómetro UV/Vis no esté disponible en los tiempos de corrida para tomar la muestra respectiva. Por tanto, se debe contar con otras instalaciones certificadas que tengan el Espectrofotómetro UV /Vis para continuar con la medida en el tiempo respectivo.</p>	<p>El tiempo que tarda los diferentes sistemas en alcanzar el equilibrio.</p>

3.5. Resultados

3.5.1. Síntesis de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina.

Se obtuvieron los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina con 0,3 % de entrecruzamiento, de acuerdo a la metodología descrita anteriormente. Durante el proceso de entrecruzamiento se observó la aparición de un color azul claro (Anexo 5) y a medida que avanzó el tiempo se fue tornando más oscuro (Anexo 6).

Una vez sometidos al proceso de entrecruzamiento se apreció un color azul muy oscuro y una consistencia blanda que se pudo notar al cortar con el sacabocados los hidrogeles. Se observó que los hidrogeles adquirirían una consistencia más dura pero su tamaño se redujo al perder agua durante el proceso de secado, como se muestra en la Figura 6.



Figura 6. Hidrogeles de quitosano/ genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.

Por otro lado, en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina con dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina, se evidenció un encogimiento de cada hidrogel en presencia de un medio acuoso después del primer proceso de secado en el horno Binder, como se representa en la Figura 7.



Figura 7. Síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3% de entrecruzamiento y dos concentraciones diferentes de fármaco venlafaxina HCl.

3.5.2. Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.

Se siguió la cinética de hinchamiento en el baño termostático a 25°C, como se representa en la Figura 8.

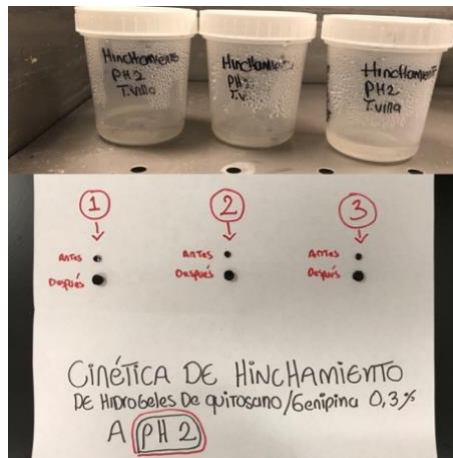


Figura 8. Cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento

Una vez recolectados los pesos de los hidrogeles a cada tiempo, se calculó el promedio y, teniendo en cuenta el peso inicial de cada uno, se obtuvieron los porcentajes de hinchamiento (W%) aplicando la Ecuación 1, los resultados se presentan en el Anexo 7. También, se obtuvieron los porcentajes de agua en el

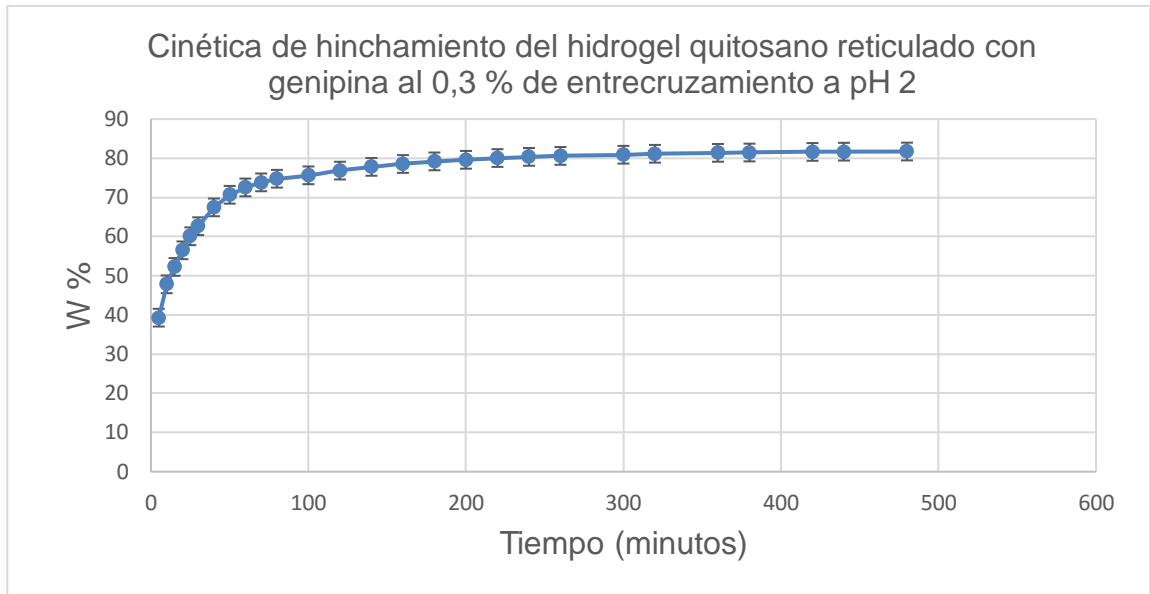
hidrogel (H%) para cada tiempo aplicando la Ecuación 2, los resultados se presentan en el Anexo 8.

$$W\% = \frac{m-m_0}{m} \times 100 \quad (1)$$

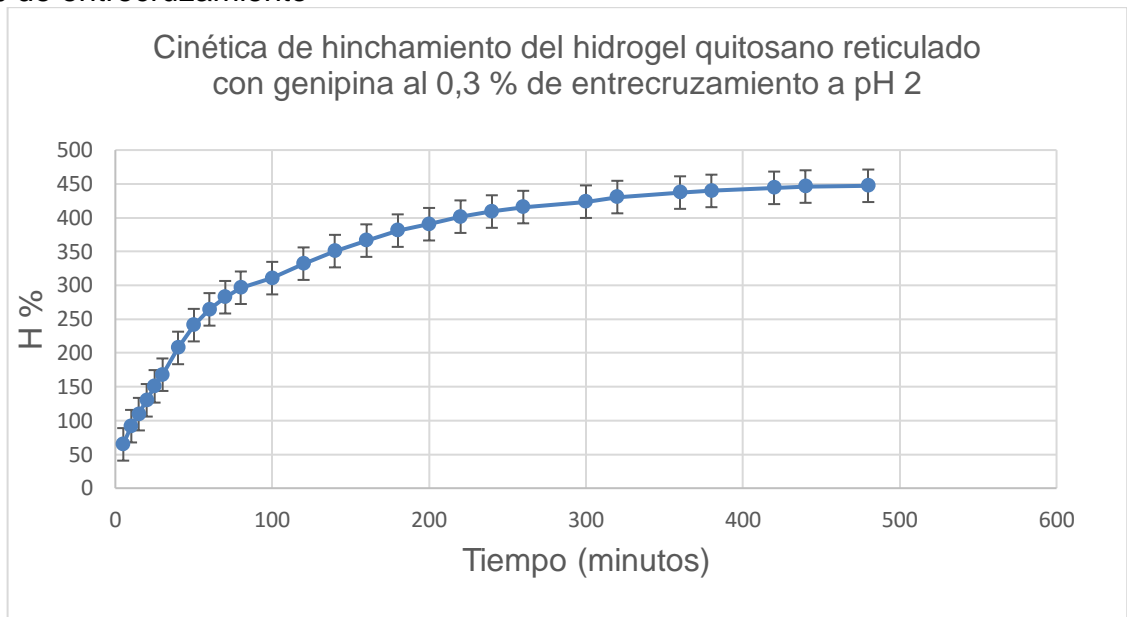
$$H\% = \frac{m-m_0}{m_0} \times 100 \quad (2)$$

Donde m es el peso del hidrogel en el medio ácido a diferentes tiempos y m₀ corresponde al peso inicial del hidrogel. (Rivas, 2014)

Con base en lo anterior y teniendo en cuenta que el peso promedio inicial del hidrogel fue de 0,0176 g, se representó el porcentaje de hinchamiento (W%) con respecto al tiempo en la Gráfica 1 y el porcentaje de agua en el hidrogel (H%) respecto al tiempo en la Gráfica 2. Se observó que a medida que pasa el tiempo, los hidrogeles absorben agua dentro de la matriz polimérica y se hinchan hasta llegar al equilibrio de hinchamiento equivalente a los 220 minutos y de agua retenida en el hidrogel a los 360 minutos. De acuerdo con esto, se corroboró que a este grado de entrecruzamiento el tiempo de hinchamiento sigue transcurriendo lentamente, independientemente que se encuentre en un medio de mayor concentración de hidrogeniones, lo cual concuerda con los resultados presentados en el proyecto de grado previo (Guzman, 2016).



Gráfica 1. Porcentaje de hinchamiento W% respecto al tiempo (minutos) para la cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento



Gráfica 2. Porcentaje de agua en el hidrogel H% respecto al tiempo (minutos) para la cinética de hinchamiento de hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento

3.5.3. Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina con dos concentraciones comerciales diferentes.

Se siguió la cinética de liberación de venlafaxina a 37°C desde los hidrogeles presentada en la Figura 9 a 37,5 mg y 75 mg las cuales, se presenta en las Figuras 10 y 11, respectivamente.

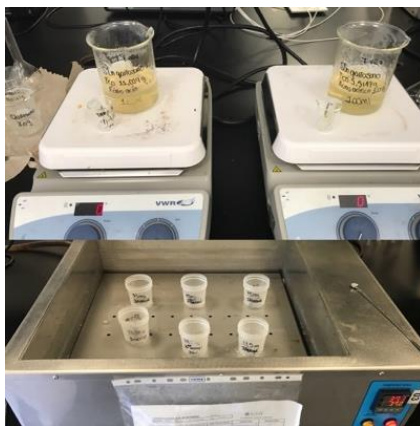


Figura 9. Proceso para la cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento

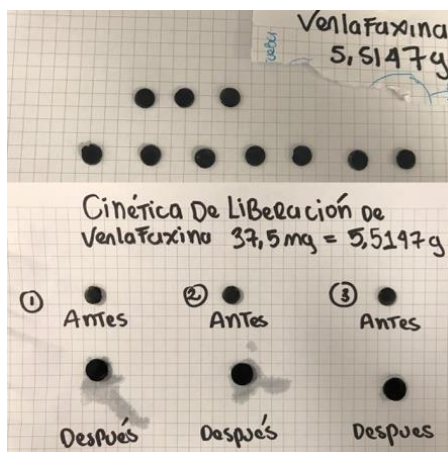


Figura 10. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina con 37,5 mg de fármaco

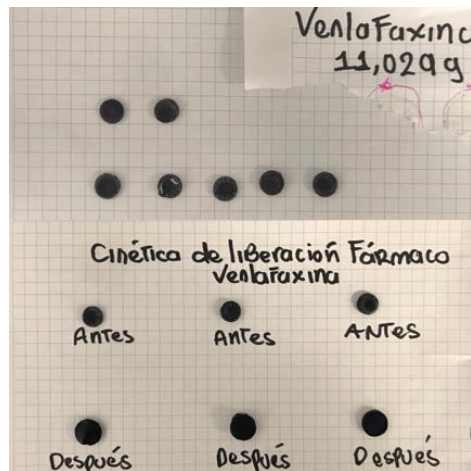
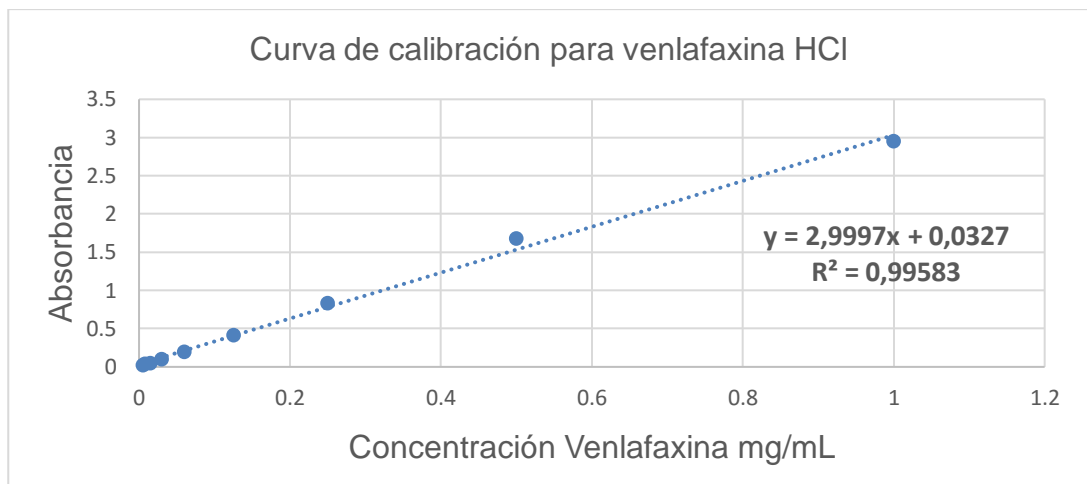


Figura 11. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina con 75 mg de fármaco

En primer lugar, se obtuvo la ecuación de la recta presentada en la Gráfica 3, mediante la curva de calibración realizada (Ecuación 3).

$$y = 2,9997x + 0,0327 \quad (3)$$

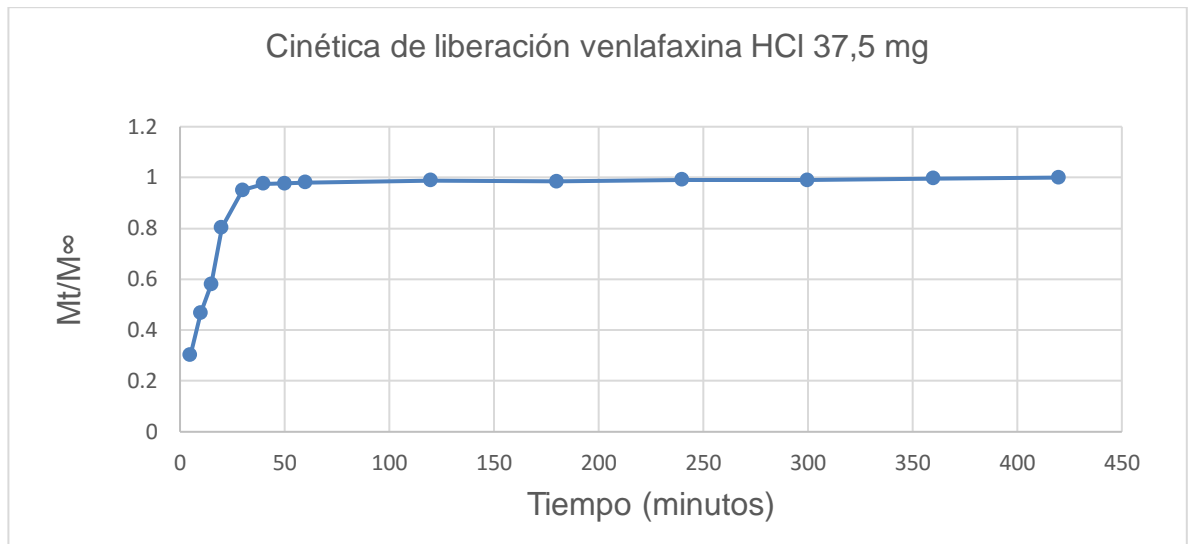
Donde y hace referencia a las absorbancias tomadas en los tiempos respectivos y x es la concentración del soluto.



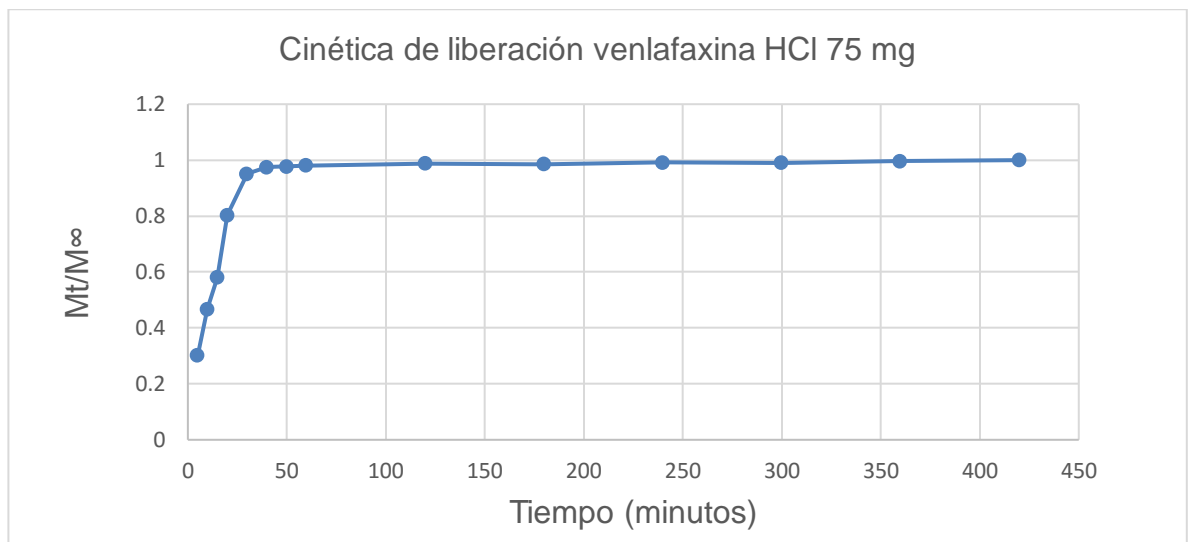
Gráfica 3. Curva de calibración de venlafaxina HCl para la cinética de liberación del fármaco a partir de los hidrogeles de quitosano/ genipina con 0,3 % de entrecruzamiento

Con base en la Ecuación 3, se hallaron las concentraciones de venlafaxina liberada para cada tiempo. También se calculó la fracción de soluto liberado en cada tiempo (M_t/M_∞) permitiendo observar el comportamiento presentado en la Gráfica 4, con

base a los datos presentados en el Anexo 9 y en la Gráfica 5, con base a los datos presentados en el Anexo 10.



Gráfica 4. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a de 37,5 mg a partir de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.



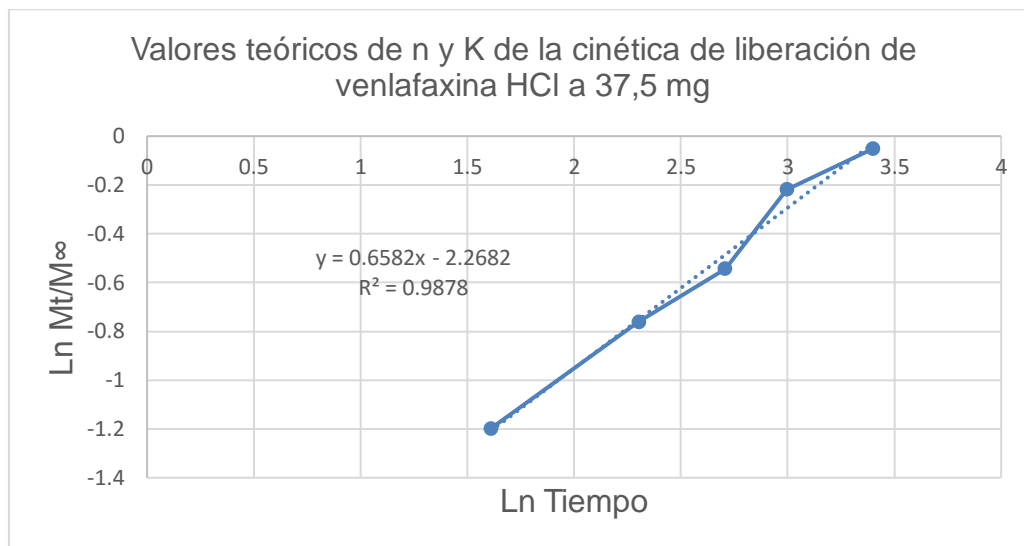
Gráfica 5. Cinética de liberación de venlafaxina HCl a 75 mg a partir de hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3% de entrecruzamiento.

El modelo de Korsmeyer-Peppas está dada por la Ecuación 4, la cual se linealiza aplicando el logaritmo natural y se obtiene la Ecuación 5. Con base en la ecuación linealizada se obtiene que el valor de la pendiente es n y el valor del intercepto es k y por ello, se grafica el $\ln M_t/M_\infty$ con respecto al \ln Tiempo, la cual arroja la ecuación de la recta de estas gráficas. (Fernández, Santos, & Esteves, 2010)

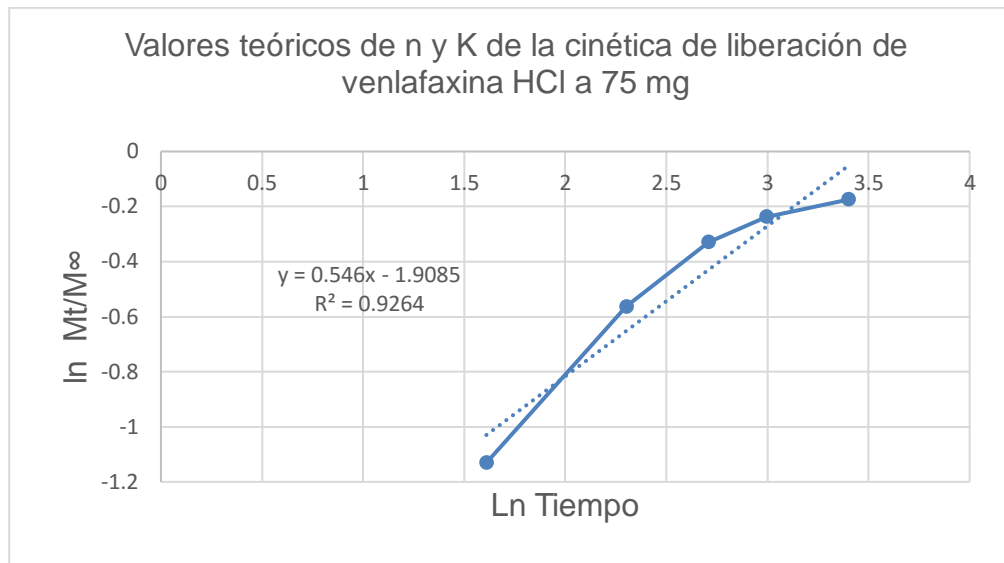
$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \quad (4)$$

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln k + (n) \ln t \quad (5)$$

Se escogió el 60% de los datos M_t/M_∞ para graficar donde, se obtuvo un $n=0,6584$ con una constante de velocidad $K= 2,2682$ (min) para los hidrogeles cargados con 37,5 mg de venlafaxina (Gráfica 6). De igual forma, para los hidrogeles cargados con 75 mg, se obtuvo un $n=0,546$ con una constante de velocidad $K= 1,9085$ (min) (Gráfica 7).



Gráfica 6. Valores teóricos de n y K para la cinética de liberación de venlafaxina HCl desde hidrogeles cargados con 37,5 mg de fármaco



Gráfica 7. Valores teóricos de n y K de la cinética de liberación de venlafaxina HCl desde hidrogeles cargados con 75 mg de fármaco

3.5.3.1. Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina

La uniformidad de contenido en los hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3 % de entrecruzamiento como se presenta en la Figura 12, se obtuvo determinando la concentración de fármaco en tres muestras diferentes. Para ello se utilizó la ecuación de la recta de calibrado presentada en la Ecuación 3. Los resultados se muestran en la Tabla 3, donde se obtuvo que, para el hidrogel de 37,5 mg la cantidad real de fármaco es de 1,3217 mg y para el hidrogel de 75 mg es de 1,3226 mg de venlafaxina.



Figura 12. Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina

Tabla 3. Resultados obtenidos en la uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados a dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina

Absorbancias	37,5 mg Venlafaxina	75 mg Venlafaxina
Primer Hidrogel	3,992	4
Segundo Hidrogel	4	4
Tercer hidrogel	4	4
Promedio	3,997	4
Concentración (mg)	1,3217 mg	1,3226 mg

3.6. Discusión

3.6.1. Síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 3,0 % p/v con un grado de entrecruzamiento de 0,3 %.

Los resultados cualitativos demostraron hidrogeles de color azul oscuro después de un tiempo de reacción entre el quitosano y la genipina. Esto se debe a que la genipina tiene la capacidad de reaccionar con los grupos aminos primarios del quitosano, generando dicho color y corroborando su función como entrecruzante atóxico en estos hidrogeles. (Lárez, Rivas, & Santos, 2014) Además, se confirmó que la reacción de entrecruzamiento a una proporción de 0,3% con el biopolímero quitosano, genera suficientes enlaces covalentes que le confieren una gran estabilidad mecánica a estas matrices poliméricas evitando su disolución en medios ácidos diluidos. (Rivas, 2014)

Para este caso, el quitosano contenía un 75-85 % de desacetilación, es decir, la cantidad de grupos aminos libres capaces de reaccionar con la genipina como se representa en el mecanismo de la Figura 4 mediante dos reacciones: Michael y sustitución nucleofílica del grupo acilo; dando como producto un hidrogel entrecruzado con genipina mediante enlaces covalentes. (Rivas, 2014)

3.6.2. Estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina a pH 2.

Se mencionó previamente que el quitosano es muy soluble en medios ácidos diluidos (García & Roca, 2008). Las cadenas poliméricas que poseen grupos ionizables cuando se someten a pHs en los que son susceptibles, tienden mostrar cambios marcados sobre la cinética de hinchamiento. (Becerra-Bracamontes, Sánchez-Díaz, & Arellano-Ceja, 2009) De acuerdo con lo anterior, el quitosano es uno de estos polímeros susceptibles a cambios bruscos de pH, ya que cuenta con gran cantidad de grupos aminos libres en su estructura. El par de electrones libres del nitrógeno le confiere un carácter básico a la molécula y, por tanto, son altamente ionizables en un medio ácido como la solución Buffer HCl a pH 2. Este biopolímero se destaca por ser una base débil cuyo ácido conjugado posee un pK_a de 6,2-7,0, es decir que, los grupos amino primarios de esta estructura se protonan en todo medio cuyo pH sea menor de 6,2, generando un aumento considerable en la solubilidad del quitosano. (CORTÉS, 2014)

Los resultados obtenidos para los porcentajes de agua (H%) y de hinchamiento (W%) coinciden con los registrados en un trabajo previo a un pH de 4,5 (Guzman, 2016). Se observó que los porcentajes de contenido de agua y de hinchamiento de los hidrogeles sometidos en un medio a pH 2, aumentan a medida que incrementa

el tiempo y alcanzan un estado de equilibrio. A los 220 minutos el hidrogel alcanza un estado de equilibrio de hinchamiento, es decir, reduce la absorción de moléculas de agua lo que indica que la red no se puede expandir más. Se evidenció que a este porcentaje de entrecruzamiento los hidrogeles tardan más en hincharse completamente, al igual que en el trabajo de grado previo donde el tiempo de equilibrio se encuentra en 240 minutos en un medio de pH 4,5 (Guzman, 2016). La diferencia en los tiempos se debe a los diferentes pHs de los medios que se trabajaron. A un pH 2 existe mayor cantidad de hidrogeniones que tienen mayor influencia sobre el hidrogel que a pH 4,5. Además, se evidenció que el porcentaje de hinchamiento máximo a pH 2 es de 81,7 % mientras que a pH 4,5 es de 79,7 % (Guzman, 2016), lo cual corroboró que el pH del medio tiene influencia al protonar los grupos amino y ocasionar un mayor hinchamiento.

Es evidente que a medida que transcurre el tiempo, el hidrogel se hincha cada vez más, debido a que las redes poliméricas absorben agua (Escalona & Quitanar, 2014). Además, el quitosano es sensible al pH del medio debido a la presencia de los grupos aminos, los cuales al protonarse generan una presión osmótica de hinchamiento dentro del hidrogel. Es por esto que la cinética de hinchamiento depende de la velocidad de ionización, es decir, si los grupos aminos pueden protonarse rápidamente, se observaría un hinchamiento en un tiempo muy corto (Becerra-Bracamontes, Sánchez-Díaz, & Arellano-Ceja, 2009), lo cual no sucede a la proporción de entrecruzamiento en que se trabajó.

Cabe mencionar que todo fármaco que se administre por vía oral tiene un trayecto por el organismo para llegar a un blanco donde ejercerá su acción farmacológica. Este proceso se reconoce mediante el acrónimo ADME que se divide en: Absorción desde el momento de su administración, Distribución, Metabolismo y Excreción (Rang & Dale, 2012). El fármaco debe liberarse para solubilizarse y permear la membrana celular para cumplir con la fase de absorción. La solubilización se genera en el estómago donde el pH oscila entre 1 - 3,5 por la presencia de glándulas tubulares que secretan ácido clorhídrico, pepsinógeno, factor intrínseco y moco. (Hall, 2011) Por tal razón, fue vital hacer el estudio cinético in vitro de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano/ genipina con 0,3 % de entrecruzamiento, con el fin de confirmar que a un pH bajo el hidrogel no sufriría un rápido hinchamiento en un tiempo muy corto perdiendo la posibilidad de ser utilizado como vehículo de liberación modificada.

Se destaca que lo anteriormente mencionado no ocurre, gracias a las interacciones covalentes que presenta el entrecruzamiento de la genipina con el quitosano (Rivas, 2014). En los enlaces covalentes "el par de electrones compartidos actúa como un "pegamento "para mantener unidos a los átomos" (Brown & LeMay), por eso se habla de una mayor estabilidad cuando se trata de hidrogeles químicamente reticulados a comparación de físicamente entrecruzados. (Escalona & Quitanar, 2014) En el entrecruzamiento se incrementa este tipo de enlaces en el hidrogel, reduciendo cavidades intermoleculares donde podría penetrar el medio acuoso

ácido de forma fácil y ágil; provocando una rápida protonación de los grupos aminos, lo cuales se hinchan; estimulando una liberación inmediata del fármaco y no una liberación prolongada.

3.6.3. Estudio de la cinética de liberación del fármaco venlafaxina desde hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales diferentes

La liberación modificada de fármacos a partir de matrices poliméricas hidrofílicas se da mediante los siguientes mecanismos: Relajación, difusión, erosión (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008) e hinchamiento de las cadenas poliméricas (Fernández, Santos, & Esteves, 2010) como se representa en la Figura 13.

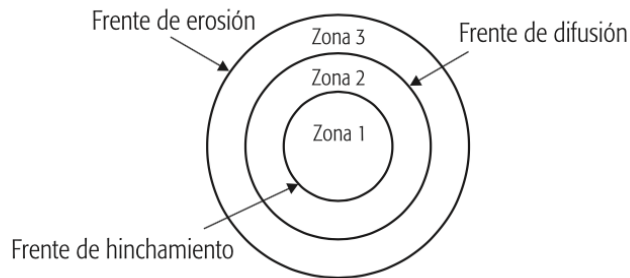


Figura 13. Esquema representativo de los mecanismos de liberación modificada de fármacos a partir de matrices poliméricas hidrofílicas.

Donde, la zona 1 interactúa con el medio acuoso ocasionando que el polímero absorba las moléculas de agua y se hinche. Aquí, la temperatura de transición vítrea del polímero es igual a la del sistema y por este motivo se da el hinchamiento, la flexibilidad de las cadenas en este punto le permite a la red absorber moléculas del medio acuoso. En la zona 2, el medio tiene que solubilizar el fármaco para que difunda al exterior al mismo tiempo que se va dando el hinchamiento. En la zona 3 el fármaco es solubilizado por el medio y por gradiente de concentración se expulsa provocando que erosione el polímero. (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008). Por este motivo, se procedió a identificar por cual mecanismo se rige la liberación de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina con 0,3 % de entrecruzamiento.

El modelo de Korsmeyer-Peppas “es una aproximación que se utiliza para el análisis de liberación de medicamentos”, donde el exponente n hace referencia al tipo de mecanismo por el cual se rige la liberación del fármaco como se representa en la Tabla 4.

Tabla 4. Mecanismos de liberación de fármacos según el modelo de Korsmeyer-Peppas. (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008)

Exponente (n)			Mecanismo de liberación
Capa delgada	Cilindro	Esfera	
0.5	0.45	0.43	Difusión "Fickiana"
$0.5 < n < 1.0$	$0.45 < n < 0.89$	$0.43 < n < 0.85$	Transporte anómalo
1.0	0.89	0.85	Transporte Caso-II

De acuerdo a lo anterior se obtuvieron hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina con forma cilíndrica por lo cual, un $n = 0,45$ indica una liberación de tipo Fickiana, es decir, obedece netamente el mecanismo de difusión. Un valor de n entre $0,45$ y $0,89$ indica una liberación de tipo anómalo o no Fickiana. (Fernández, Santos, & Esteves, 2010) Con base en esto, se obtuvo que para una dosis de fármaco de $37,5$ mg el $n = 0,6584$ es decir, un valor que se sitúa entre $0,45$ y $0,89$ por lo cual se ajustó a un modelo cinético de tipo anómalo o no fickiano, es decir, que libera el fármaco mediante dos mecanismos físicos de difusión y relajación-erosión de la matriz polimérica. (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008)

Básicamente, el polímero al entrar en contacto con el medio acuoso absorbe moléculas de agua provocando que se hinche el hidrogel, generando poros por donde el fármaco se expulsa al exterior para mantener un gradiente de concentración apropiado. Esto quiere decir que a medida que se hincha el hidrogel, las cadenas poliméricas se relajan poco a poco ocasionando aperturas para que salga al medio el fármaco. A medida que el hidrogel se relaja, se expande y esto causa que se vaya erosionando. Este proceso es lento porque se requiere tiempo para que se relajen las cadenas entrecruzadas con genipina del polímero y que se generen cavidades por los cuales difunda el fármaco hacia el exterior. Es coherente que haya una relajación de las cadenas poliméricas, ya que este proceso es más lento que la inclusión de moléculas de agua lo cual, provoca la expansión del volumen. Cabe mencionar que no se observa la erosión del polímero por completo probablemente debido a que la venlafaxina HCl es muy soluble en agua (Rosenboom & Kalin, 2002). El fármaco podría liberarse de forma más rápida antes de la ruptura del hidrogel; proceso limitante en la entrega del fármaco. (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D'León, 2008)

De igual forma, para los hidrogeles cargados con una dosis de 75 mg de venlafaxina se obtuvo un $n = 0,546$, es decir, un valor que se sitúa entre $0,45$ y $0,89$ por lo cual se ajustó a un modelo cinético de tipo anómalo o no fickiano, es decir, que libera el fármaco mediante dos mecanismos físicos de difusión y relajación-erosión de la

matriz polimérica. Sin embargo, el valor de n es menor que el que se obtuvo a una dosis de 37,5 mg lo cual, indica que a 75 mg el proceso de difusión predomina un poco más que el mecanismo de relajación-erosión. La difusión está regulada únicamente por la diferencia de gradiente de concentración con el medio. (Fernández, Santos, & Esteves, 2010)

Se reporta que si hay una alta cantidad de fármaco o principio activo en la matriz polimérica, su conformación molecular cambia considerablemente a la hora de liberar dicha sustancia “llegando a ser más porosa y menos restrictiva para el proceso de difusión” (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D’León, 2008). Es probable que por esta razón en la liberación del fármaco predomine el mecanismo físico de difusión y se vea reflejado en un valor de n menor que a una dosis de 37,5 mg; siendo mucho más cercano a un $n=0,45$ (Mecanismo de Difusión o Fickiano). Posiblemente, la alta cantidad de fármaco que se localizó en la superficie del hidrogel (lo cual se explica en la sesión 3.6.3.1) y su alta solubilidad en agua generó espacios intermoleculares conocidos como “poros”, lo cual hace que sea mucho más fácil la difusión de la venlafaxina al medio para igualar gradiente de concentración con el exterior. Sin embargo, se obtuvo un valor de $K=2,2682$ min para la dosis de 37,5 mg y un $K=1,9085$ (min) para la dosis de 75 mg. Esto se debe a que una menor cantidad de fármaco se libera en un tiempo más corto mientras que una mayor concentración necesita de más tiempo para expulsar la sustancia completamente al medio.

Para los hidrogeles cargados con 75 mg del fármaco se encontró una constante de velocidad menor lo cual no es congruente con el mecanismo de liberación por el cual se rige. Sin embargo, la alta concentración de venlafaxina no implica que toda la molécula activa haya quedado en la superficie del hidrogel, sino que también una parte está alojada en el interior de la matriz polimérica y puede difundir al medio.

Es claro que una liberación retardada se debe a que la penetración de agua hacia el interior de la matriz polimérica es más lenta (Plinio, Sandoval, Baena, Aragón. M, & D’León, 2008). Esto, ocurre a esta velocidad para el caso de la concentración comercial de 75 mg de venlafaxina HCl, debido a la existencia de fármaco en la superficie del hidrogel lo cual, hace que prime el mecanismo fickiano, es decir, a medida que va difundiendo estas moléculas del fármaco al medio exterior; permite que, poco a poco, las moléculas del agua tengan mayor contacto con el interior del hidrogel provocando el hinchamiento respectivo; ocasionando la relajación de las cadenas poliméricas para la liberación de las otras moléculas de venlafaxina que se encuentran en el interior de esta matriz polimérica y por está razón se obtiene una constante de velocidad menor.

3.6.3.1. Uniformidad de contenido de los hidrogeles de quitosano/genipina cargados con dos concentraciones comerciales del fármaco venlafaxina

La uniformidad de contenido permitió conocer la cantidad de fármaco cargada en el hidrogel de quitosano/genipina, donde se esperaba una concentración de 37.5 y 75 mg de la sustancia, respectivamente. Sin embargo, se obtuvieron concentraciones diferentes a las esperados: 1,3217 mg para 37,5 mg de fármaco y 1,3226 mg para 75 mg. Esto es atribuible a la característica de que el fármaco venlafaxina HCl es muy soluble en agua (Rosenboom & Kalin, 2002).

De acuerdo a lo anterior, cabe mencionar que en el proceso de secado el calor suministrado por el horno provoca una deshidratación del hidrogel. Al evaporarse el agua arrastra el fármaco quedando gran parte de este en la superficie del hidrogel y otra parte en el medio acuoso que se encontró al finalizar el proceso de secado, donde se observó también el hidrogel encogido (Figura 7). Por tal razón, se realizó el estudio de uniformidad de contenido de los hidrogeles puesto que se sospechaba que la cantidad de fármaco realmente contenida en las muestras no era la calculada teóricamente.

La uniformidad de contenido fue congruente con la cinética de liberación del fármaco puesto que los hidrogeles sintetizados con 37,5 mg contienen 1,3217 mg de fármaco venlafaxina, los cuales liberaron 1,01942 mg. Los hidrogeles cargados con 75 mg realmente contenían 1,3226 mg de venlafaxina HCl y liberaron 1,28923 mg. Ambos sistemas liberaron el fármaco en un tiempo prolongado sin llegar a agotar el contenido total a los 420 minutos del estudio de la cinética de liberación del fármaco.

3.7. Conclusiones

3.7.1. Se estudió como sistema de liberación modificada el hidrogel de quitosano/genipina con una proporción de 0,3 de entrecruzamiento a una condición de pH ácida y con concentraciones de fármaco de 37,5 mg y 75 mg.

3.7.2. Se sintetizaron hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina y cargados a dos concentraciones comerciales de venlafaxina HCl de consistencia firme y de color azul oscuro.

3.7.3. Se evaluó la cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a pH 2 mediante el porcentaje de hinchamiento (W%) y el porcentaje de agua (H%) respecto al tiempo. Los resultados muestran un proceso de hinchamiento lento a pesar del pH del medio lo cual concuerda con los resultados del proyecto de grado previo (Guzman, 2016)

3.7.4. Se evaluó la cinética de liberación del fármaco venlafaxina HCl a partir de hidrogeles de quitosano/genipina con un 0,3 % de entrecruzamiento donde la concentración de 37,5 mg se ajustó al modelo cinético de Korsmeyer-Peppas con un $n=0,6584$ y una constante de velocidad $K= 2,2682$ (min), mientras que la concentración de 75 mg obedece el mecanismo de liberación de difusión "Fickiana" con un $n=0,546$ y una constante de velocidad $K= 1,9085$ (min).

3.7.5. Se evidenció que el hidrogel de quitosano/genipina con un 0,3 % de entrecruzamiento funciona como vehículo de liberación prolongada al liberar de forma lenta el fármaco a través del tiempo.

3.7.6. Se observó que a una concentración comercial de 37,5 mg y 75 mg de fármaco venlafaxina, el contenido real en cada hidrogel es equivalente a 1,3217 mg y 1,3226 mg, respectivamente.

3.8. Recomendaciones

3.8.1. Se recomienda sintetizar hidrogeles de quitosano/genipina a 0,3 % de entrecruzamiento con fármacos de otras categorías farmacológicas como antiinflamatorios, anticoagulantes u otros, en donde se necesite incrementar la adherencia al tratamiento por parte del paciente y reducir el número de dosis administradas al día con fármacos que posean cortos tiempos de vida media.

3.8.2. Se recomienda buscar y utilizar un solvente ácido que sea capaz de solubilizar el polímero quitosano, pero donde el fármaco sea parcialmente soluble para minimizar la probabilidad de perder el fármaco durante el proceso de secado, puesto que puede ser arrastrado por el solvente que se quiere eliminar. De esta forma se garantizaría que la cantidad real de fármaco sea igual a la cantidad teórica que se espera dentro del hidrogel.

3.8.3. Se recomienda realizar el estudio de cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano reticulados con genipina en balanza de humedad.

3.8.3. Se recomienda determinar el tiempo al cual se ha liberado el máximo porcentaje de fármaco a partir del hidrogel, el cual debe ser comparado con la concentración correspondiente al tiempo de equilibrio obtenido en el estudio de la cinética de liberación.

3.9. Referencias

- Ocampo CB; Ferro C; Cadena H; Marín D; Lozano L; Ramírez CA; Munstermann L. . (2013). jerajeraejjsdfjao. *acta tropica*, 27- 30.
- saldarriaga, c; Valderrama, B; . (2014). jraj fjaoidsjiadu. *xxxxx*, 37-45.
- Hernandez, I. (2004). La quitosana: Un producto Bioactivo de diversas aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 97-110.
- Herrera, A., Acevedo, M., Castro, m., & Marrugo, L. (2016). Preparacion de Nanopartículas de Quitosano Modificadas con Alginato de Sodio con Potencial para la Liberacion Controlada de Medicamentos. *EIA*, 75-83.
- García, T., & Roca, J. (2008). Industrialización de los Crustaceos para la Obtencionm de Quitosano en Ūnguento con efecto Cicatrizante. . *Revista de la Facultad de Ingeniería Industrial* . , 24-32.
- Lárez, C., Rivas, A., & Santos, I. (2014). Obtencion de Genipina a partir de Frutos de Caruto (Genipa americana L.) del llano Venezolano. *Avances en Quimica*, 75-86.
- Rojas, M., Vallejo, B., & Perilla, J. (2008). Los Biopolimeros como Materiales para el Desarrollo de Productos en Aplicaciones Farmacéuticas y de uso Biomédico. *Ingeniería e Investigación*.
- Wyeth Pharmaceuticals, Inc. (02 de 2008). Efexor- Venlafaxine hydrochloride tablet.
- Párraga, I., Lopez, J., Campo, J. d., Villena, A., Morena, S., & Escobar, F. (2014). Seguimiento de la adherencia al tratamiento antidepresivo en pacientes que inician su consumo. . *Atencion Primaria*, 357-366.
- Santana, M., Severino, P., Malmonge, S., & Souto, E. (2011). Polimeros Usados como Sistemas de Transporte de Principios Ativos. *Polimeros: Ciencia e Tecnologia*, 361-368.
- Assis, A. d., Melo, C., Alves, N., Fonseca, M., & Caxico, F. (2011). Diferentes Estratégias para a Reticulacao de Quitosana. *Quim Nova*, 1215-1223.
- Guzman, E. (2016). *Estudio Cinetico in-vitro de la Liberación Modificada de Venlafaxina desde Hidrogeles de Quitosano utilizando Genipina como Agente Reticulante*. Santiago de Cali: Universidad ICESI.

- Escalona, O., & Quitanar, D. (2014). NANogeles Polimericos: Una Nueva Alternativa para la Administración de Fármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 17-38.
- Zuluaga, F., Valderruten, N., & Muñoz, F. (2006). Síntesis y estudio de hidrogeles de acrilamida/ácido metacrílico y su aplicación en la liberación de fármacos. *El Hombre y la Máquina*, 100-107.
- Rang, H., & Dale, M. (2012). *Farmacología*. Barcelona, España: Elsevier.
- Rosenboom, P., & Kalin, N. (2002). Neurofarmacología de Venlafaxina. *Revista de Toxicomanías*, 33-43.
- Pubchem. (16 de 04 de 2017). *Pubchem*. Obtenido de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5656#section=Top>
- Serrano, P., Guadarrama, O., & Revilla., A. (2015). Liberación de Pravastatina Sódica Formulada en Matrices Poliméricas a base de Quitosano/Pluronic F-127. *Revista Cubana de Farmacia*, 18-28.
- Aulton, M. (2004). *Farmacia, La Ciencia del Diseño de las Formas Farmacéuticas*. Madrid, España: Elsevier.
- Moura, M. G. (2013). Delivery of cisplatin from thermosensitive cocross-linked chitosan hydrogels. *European Polymer Journal*, 49, 2504-2510.
- Vallejo, J. C. (2014). Síntesis y Caracterización de Redes de Polímeros Interpenetrados de Quitosano y PNIPA-CO-Ácido Itacónico. *Universidad Icesi*.
- Sung, H., Huang, R., Huang, L., & Tsai, C. (1999). In vitro Evaluation of Cytotoxicity of a naturally occurring cross-linking reagent for biological tissue fixation. *Biomater Sci Polym*, 63-78.
- Arlan de Assis, C. M. (2011). DIFERENTES ESTRATEGIAS PARA A RETICULACION DE QUITOSANA. *Quim. Nova*, 34(7), 1215-1223.
- Unidos, C. d. (s.f.). *USP 32 NF 27: Farmacopea de los Estados Unidos de América, Formulario Nacional* (32 ed., Vol. I). (C. d. 2009, Ed.)
- Tecnoquímicas . (s.f.). *Venlafaxina MK* . Recuperado el 11 de Octubre de 2017, de TQFarma : <https://www.tqfarma.com/productos/vademecum-mk/sistema-nervioso-central/venlafaxina-mk>
- Fuhrmann, C. M. (2017). La Depresión: Un reto para toda la sociedad del que debemos de hablar. *Revista Cubana de Salud Pública*, 43(2), 136-138.

- Murga, H. V., Dienstmaier, J. V., Carpio-Tapia, J., & al., e. (2005). Estudio del Cumplimiento del Tratamiento Antidepresivo. *Revista de Neuro-Psiquiatría*, 68(1-2), 93-106.
- Lopes, C. M., Lobo, J. M., & Costa, P. (abr/jun de 2005). Formas farmacêuticas de liberação modificada: polímeros hidrofílicos. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*, 41(2), 143-154.
- Bruice, P. Y. (2008). *Química Orgánica* (5 edición ed.). (L. M. Castillo, Ed.) México: Pearson Educación.
- Fernández, J. A., Santos, R. G., & Esteves, G. F. (2010). Estudio in vitro de liberación de fármacos desde un biomaterial compuesto. *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 41, 1-8.
- Becerra-Bracamontes, F., Sánchez-Díaz, J. C., & Arellano-Ceja, J. (2009). EFECTO DEL pH Y LA CONCENTRACION DEL FOSFATO DIBASICO DE SODIO EN LAS PROPIEDADES DE HINCHAMIENTO DE HIDROGELES DE QUITOSANA. *Revista Mexicana de Ingeniería Química*, 8(1).
- Rivas, A. (2014). *Obtención y caracterización del entrecruzante natural genipina a partir del fruto caruto (Genipa americana L.)*. Tesis, University of the Andes (Venezuela), Mérida, 1-99.
- Hall, G. y. (2011). *Tratado de Fisiología médica* (Decimosegunda Edición ed.). Barcelona, España: ELSEVIER SAUNDERS.
- Brown, T., & LeMay, E. (s.f.). *Química La Ciencia Central* (Decimoprimera Edición ed.). PEARSON Prentice Hall.
- Plinio, A., Sandoval, H., Baena, Y., Aragón, M, J. R., & D'León, L. P. (2008). Mecanismos generales de cesión de principios activos a partir de matrices monolíticas hidrofílicas preparadas con éteres de celulosa. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 37(2), 105-121.
- Fernández, J. A., Santos, R. G., & Esteves, G. F. (2010). Estudio in vitro de liberación de fármacos desde un biomaterial compuesto . *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 41, 1-8.
- CORTÉS, E. V. (2014). *EVALUACIÓN DE LA INFLUENCIA DE LOS MÉTODOS DE SÍNTESIS SIMULTÁNEA Y SECUENCIAL SOBRE LAS PROPIEDADES DE POLÍMEROS INTERPENETRADOS DE QUITOSANO Y POLI N-ISOPROPILACRILAMIDA*. Tesis, UNIVERSIDAD ICESI, Valle del Cauca, Cali.

FLORES, P. G. (2012). *DESARROLLO DE TABLETAS DE LIBERACIÓN PROLONGADA DE DICLOFENACO SÓDICO A PARTIR DE UNA MATRIZ HIDROFÍLICA*. Tesis, UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN.

Harris, R. E. (2010). *QUITOSANTO, UN BIOPOLÍMERO CON APLICACIONES EN SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS*. Tesis, UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID, Madrid.

ANEXOS

Anexo 1. Cálculos para síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento.

- **Preparación de la solución de ácido acético al 2,0 %**

$$\frac{2,0 \text{ mL ácido acético}}{100 \text{ ml agua destilada}} \times 100 = 2,0\% \text{ Solución de ácido acético}$$

La solución fue preparada en un balón volumetrico de 100 mL y se aforó con agua destilada.

Anexo 2. Cálculos para la síntesis de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento con fármaco para la cinética de liberación de venlafaxina.

- **Determinación del volumen del cilindro resultante:**

Tabla 5. Valores para la determinación del volumen del cilindro resultante

Variables del Hidrogel	Resultados
Altura (h)	0,6 cm
Radio	0,6 cm

$$V = h \times \pi r^2$$

$$V = (0,6 \text{ cm}) \times \pi (0,6 \text{ cm})^2$$

$$V = 0,68 \text{ cm}^3 \rightarrow 0,68 \text{ mL}$$

Dosis de 37,5 mg de venlafaxina HCl para la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento:

Con un volumen de 0,68 mL del hidrogel y una concentración de 37,5 mg de Venlafaxina HCl que requiere estar en cada hidrogel, se calculo la cantidad de principio activo por mililitro

- **Concentración de venlafaxina HCl:**

$$\frac{37,5 \text{ mg de Venlafaxina}}{0,68 \text{ mL}} = 55.147 \text{ mg/mL}$$

- **Cantidad total de fármaco requerido para preparar 100 mL de solución a 55.147 mg/mL**

$$55.147 \frac{mg}{mL} \times 100 mL \text{ solución} = 5514,7 \frac{mg}{mL} \rightarrow 5.5147g/mL \text{ Venlafaxina}$$

Dosis de 75 mg de venlafaxina HCl para la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3 % de entrecruzamiento:

Con un volumen de 0,68 mL del hidrogel y una concentración de 37,5 mg de Venlafaxina HCl que requiere estar en cada hidrogel, se calculo la cantidad de principio activo por mililitro

- **Concentración de venlafaxina HCl:**

$$\frac{75 \text{ mg de Venlafaxina}}{0,68 \text{ mL}} = 110.294 \text{ mg/mL}$$

- **Cantidad total de fármaco requerido para preparar 100 mL de solución a 110.294 mg/mL**

$$110.294 \frac{mg}{mL} \times 100 mL \text{ solución} = 11029,4 \frac{mg}{mL} \rightarrow 11.029g/mL \text{ Venlafaxina}$$

Anexo 3. Cálculos preparación de soluciones Buffer según Farmacopea de los Estados Unidos de América.

- **Preparación de solución Buffer HCl pH 2**
- Preparación de solución de cloruro de potasio KCl a 0,2M:

$$\frac{0,2 \text{ mol KCl}}{1 \text{ L KCl}} \times \frac{74,55 \text{ g KCl}}{1 \text{ mol KCl}} \times 0,00250 \text{ L} = 3,7275 \text{ g KCl}$$

Se pesó 3,7275 g de KCl y se agregó a un balón volumétrico de 250 mL el cual se aforó con agua destilada.

- Preparación de solución ácido clorhídrico 0,2 M: En el laboratorio se utilizó la solución de ácido clorhídrico a 1 M:

$$C1V1 = C2V2$$

$$(1M)(V1) = (0,2M)(100mL)$$

$$V1 = \frac{(0,2M)(100mL)}{1M}$$

$$V1 = 20 mL$$

Se extrajo 20 mL de la solución HCl de 1M y se llevó a balón volumétrico de 100 mL y se aforó con agua destilada.

Finalmente, se extrajo 50 mL de la solución de KCl al 0,2M y se llevó a balón volumétrico de 200 mL. Posteriormente, se extrajo 13,0 mL de de la solución HCl al 0,2M y se llevó al balón volumétrico con la solución de KCl al 0,2 M. Una vez hecho esto, se aforó con agua destilada y se ajustó el pH en 2, ver figura 12.



Figura 14. Ajuste pH 2 de solución buffer HCl para cinética de hinchamiento de los hidrogeles de quitosano/genpina al 0,3% de entrecruzamiento

- **Preparación de solución Buffer Fosfato pH 7,4**
- Preparación de solución de fosfato monobásico de potasio K_2HPO_4 a 0,2M:

$$\frac{0,2mol K_2HPO_4}{1L K_2HPO_4} \times \frac{136,09gK_2HPO_4}{1mol K_2HPO_4} \times 0,00250 L = 6,8045 g K_2HPO_4$$

Se pesó 6,8045 g de K_2HPO_4 y se agregó a un balón volumétrico de 250 mL el cual se aforó con agua destilada.

- Preparación de solución hidróxido de sodio NaOH 0,2 M: En el laboratorio se utilizó la solución de hidróxido de sodio a 2 N el cual, es equivalente a 2M:

$$C1V1 = C2V2$$

$$(2M)(V1) = (0,2M)(100mL)$$

$$V1 = \frac{(0,2M)(100mL)}{2M}$$

$$V1 = 10 \text{ mL}$$

Se extrajo 10 mL de la solución hidróxido de sodio 0,2 M y se llevó a balón volumétrico de 100 mL y se aforó con agua destilada.

Finalmente, se extrajo 50 mL de la solución de K_2HPO_4 al 0,2M y se llevó a balón volumétrico de 200 mL. Posteriormente, se extrajo 39,1 mL de de la solución NaOH al 0,2M y se llevó al balón volumétrico con la solución de K_2HPO_4 al 0,2 M. Una vez hecho esto, se aforó con agua destilada y se ajustó el pH en 7,4, ver figura 13.



Figura 15. Ajuste pH 7,4 de solución buffer fosfato para cinética de liberación de venlafaxina a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina al 0,3% de entrecruzamiento

Anexo 4. Cálculos para realizar la curva de calibración de venlafaxina HCl para la cinética de liberación del fármaco a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.

Se realizó en un balón volumétrico de 25 mL por lo cual, la concentración inicial de venlafaxina HCl es de 25 mg:

$$\left(\frac{1\text{mg}}{\text{mL}} \text{venlafaxinaHCl}\right)(25\text{ml}) = 25\text{mgVenlafaxinaHCl}$$

Se procedió a calcular las diluciones correspondientes para cada concentración de la siguiente forma:

$$C1V1 = C2V2$$

$$(1\text{mg})(V1) = (0,5\text{mg/mL})(25\text{mL})$$

$$V1 = \frac{(0,5\text{mg/mL})(25\text{mL})}{1\text{mg}}$$

$$V1 = 12,5 \text{ mL}$$

Tabla 6. Valores para realizar la curva de calibración para la cinética de liberación de venlafaxina HCl

Concentración mg/mL	Volumen (mL)
1	25
0,5	12,5
0,25	12,5
0,125	12,5
0,06	12
0,03	12,5
0,015	12,5
0,0075	12,5
0,005	16,6

Anexo 5. Proceso de reacción de color azul claro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento antes del secado en el horno Binder.

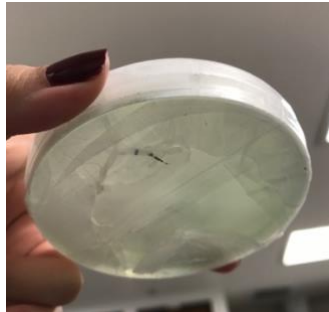


Figura 16. Proceso de reacción de color azul claro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento

Anexo 6. Proceso de reacción de color azul oscuro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento después de secado en el horno Binder.



Figura 17. Proceso de reacción de color azul oscuro en la síntesis de hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento

Anexo 7. Datos obtenidos de los porcentajes de hinchamiento (W%) de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento

Tabla 7. Resultados del porcentaje de hinchamiento (W%) de los hidrogeles de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.

Tiempo min	W %
5	39,31034483
10	47,82608696
15	52,26039783
20	56,50741351
25	60,09070295
30	62,65912306
40	67,4676525
50	70,68295391
60	72,55717256
70	73,84843982
80	74,77305303
100	75,64575646
120	76,85225778
140	77,80580076
160	78,54530679
180	79,20441119
200	79,60602549
220	80,06042296
240	80,35714286
260	80,60962174
300	80,90415913
320	81,14958943
360	81,38222849
380	81,46718147

420	81,62199791
440	81,68574402
480	81,72377985

Anexo 8. Datos obtenidos de los porcentajes de agua (H%) de los hidrogel de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.

Tabla 8. Resultados de porcentajes de agua en el hidrogel (H%) de los Hidrogel de quitosano entrecruzados con genipina a 0,3 % de entrecruzamiento.

Tiempo min	H%
5	64,77272727
10	91,66666667
15	109,469697
20	129,9242424
25	150,5681818
30	167,8030303
40	207,3863636
50	241,0984848
60	264,3939394
70	282,3863636
80	296,4015152
100	310,6060606
120	332,0075758
140	350,5681818
160	366,0984848
180	380,8712121
200	390,3409091
220	401,5151515
240	409,0909091
260	415,719697
300	423,6742424
320	430,4924242
360	437,1212121
380	439,5833333
420	444,1287879
440	446,0227273
480	447,1590909

Anexo 9. Datos obtenidos Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo en la cinética de liberación del fármaco venlafaxina a 37,5 mg.

Tabla 9. Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo para la concentración de 37,5 mg de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3% de entrecruzamiento

PROMEDIO ABSORBANCIA	Tiempo (minutos)	Concentración soluto	Mt/M[∞]	In tiempo	In Mt/M[∞]
0,95500	5	0,30746	0,301605642	1,609437912	-1,198634936
1,461	10	0,47615	0,467075072	2,302585093	-0,761265281
1,807666667	15	0,59171	0,580440162	2,708050201	-0,543968564
2,49	20	0,81918	0,80357318	2,995732274	-0,218687021
2,939666667	30	0,96909	0,950620783	3,401197382	-0,050640052
3,014	40	0,99387	0,974928874	N/A	N/A
3,021	50	0,99620	0,977217977	N/A	N/A
3,030666667	60	0,99942	0,980379119	N/A	N/A
3,055666667	120	1,00776	0,988554486	N/A	N/A
3,045	180	1,00420	0,985066329	N/A	N/A
3,064333333	240	1,01065	0,991388613	N/A	N/A
3,060666667	300	1,00942	0,99018956	N/A	N/A
3,08	360	1,01587	0,996511843	N/A	N/A
3,090666667	420	1,01942	1	N/A	N/A

Anexo 10. Datos obtenidos Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo en la cinética de liberación del fármaco venlafaxina a 75 mg.

Tabla 10. Fracción de soluto que se ha liberado en el tiempo para la concentración de 75 mg de venlafaxina HCl a partir de los hidrogeles de quitosano/genipina 0,3%.

PROMEDIO ABSORBANCIA	Tiempo (minutos)	Concentración soluto	Mt/M[∞]	In tiempo	In Mt/M[∞]
1,28100	5	0,41614	0,322781816	1,609437912	-1,130778676
2,235	10	0,73417	0,569463944	2,302585093	-0,56305981
2,815333333	15	0,92764	0,719530262	2,708050201	-0,329156694
3,081666667	20	1,01642	0,788393072	2,995732274	-0,237758491
3,280666667	30	1,08276	0,839850143	3,401197382	-0,174531804
3,397333333	40	1,12166	0,870023192	N/A	N/A
3,505666667	50	1,15777	0,898032159	N/A	N/A
3,603333333	60	1,19033	0,923287544	N/A	N/A
3,81	120	1,25923	0,976730296	N/A	N/A
3,873333333	180	1,28034	0,993104411	N/A	N/A
3,883666667	240	1,28378	0,995772671	N/A	N/A
3,871	300	1,27956	0,992499399	N/A	N/A
3,907666667	360	1,29178	1,001977925	N/A	N/A
3,9	420	1,28923	1	N/A	N/A

FÉ DE ERRATAS

La Universidad Icesi aclara que este proyecto de grado se ejecutó bajo el Contrato Marco de Acceso a Recursos Genéticos y Productos Derivados N° 108 del 07 de mayo de 2018 y del Otrosí No. 1 del 17 de agosto del mismo año, en el marco del control que adelanta el Grupo de Recursos Genéticos de la Dirección de Bosques, Biodiversidad y Servicios Ecosistémicos del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible. Así como de la Resolución 0526 del 20 de mayo de 2016 de la Autoridad Nacional de Licencias Ambientales (ANLA). Las muestras vegetales fueron recolectadas en la ciudad de Cali, Valle del Cauca, Colombia en las coordenadas geodésicas 3°23'09.1"N 76°32'39.6"W y 3°21'01.0"N 76°32'14.1"W.

11 de marzo de 2020