



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

“ELABORACIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE SISTEMAS
SEMISÓLIDOS BIOADHESIVOS DE LIBERACIÓN
CONTROLADA PARA EL TRATAMIENTO DE ECTOPARÁSITOS
(*B. MICROPLUS*) EN BOVINOS”.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A:

LAURA MARISOL GÓMEZ PELÁEZ

ASESOR: DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Debo ser fuerte sin ser rudo,
Ser amable sin ser débil,
Aprender con orgullo sin arrogancia,
Aprender a ser gentil sin ser suave.
Ser humilde sin ser tímido,
Ser valioso sin ser agresivo,
Ser agradecido sin ser servil,
Meditar sin ser flojo.
Por eso señor te pido....**

**Dame grandeza para entender,
Capacidad para retener,
Método y Facultad para aprender,
Sutileza para interpretar,
Gracia y abundancia para hablar.
Dame acierto al empezar,
Dirección al progresar
Y perfección al terminar.**

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. David Quintanar,

Por ser mi ángel de la guarda, por creer en mí y darme siempre la oportunidad de demostrar que puedo hacerlo. Por su paciencia, apoyo, motivación y comprensión.

A la Dra. Adriana Ganem,

Por todo el apoyo y paciencia que me brindo para salir adelante y por su gran calidad humana.

A la Maestra Luz María,

Por la ayuda brindada en la realización de este trabajo.

A mis compañeros del laboratorio de Posgrado en Farmacia,

A Elizabeth, Luis, Miriam, Lupita, José Juan, Zaida, Marlen, Clara, Gerardo, Néstor, Eddy, Erika, Mariana y Daniel. Porque en muchos de ustedes logre encontrar más que a un compañero, conocí a verdaderos amigos.

A mis profesores de la carrera,

Por dejar parte de sus conocimientos en mí. Porque gracias a ustedes pude crecer como profesionista y ser humano. Gracias por su confianza y apoyo: Francisco López, Gerardo Cruz, José Juan Escobar, Jorge López, Rafael Villalobos, Rodolfo Cruz, Elizabeth García, Claudia Mariano, Guadalupe Rebollar, José Antonio Garduño, Roberto Díaz.

A mis compañeros de generación y amigos,

A toda la generación de Q.F.B. 29, ya que siempre van a formar parte de mí. A mis amigos; Adolfo, Rubén y Armando (I.Q. 29), Iván, Hugo y Raúl (Q.F.B. 27), Norma, Marcela y Roberto (Q.F.B. 28), porque de una u otra forma estuvieron cuando necesitaba ayuda, un consejo o una sonrisa.

Al Sr. Draucin Jimenez,

Por las facilidades otorgadas para la realización de este trabajo.

A LA UNAM, en especial a FES- Cuautitlan,

Por abrirme sus puertas y hacerme sentir, desde el primer día, el orgullo de pertenecer a la UNAM.

DEDICATORIAS

A Dios,

Por darme la oportunidad de estar viva, ya que sin Él no hubiera sido posible hacerlo.

A mi mamá,

Porque a pesar de todo, siempre has estado pendiente de mí. Este trabajo que tienes en tus manos es tuyo. Gracias.

A Ezequiel,

Por todo el apoyo incondicional que nos has brindado. Gracias por estar cerca y por ser parte de mi familia.

A mi precioso (O.L.T.L.),

Por ser lo más bueno y lo más constante que ha habido en mi vida. Gracias por ser lo mejor que me ha pasado. 83266.

A mis hermanos,

Tal vez no seamos los mejores hermanos del mundo pero cada uno de ustedes son mi motivación para despertar y saber que vale la pena estar viva, no cambiaría a ninguno. Los quiero demasiado.

A Ángel,

Por ser mi esperanza y mi fuerza para llegar al final del camino. Porque sé que todavía faltan muchos grandes momentos por los cuales seguir y tú eres uno de ellos.

A mi equipo (Vicky, Alfredo, Carlos, Edwin y Fabián),

Por todas las cosas que compartimos juntos, dentro y fuera de la Facultad, por ser una parte muy importante y especial de mi vida. Pero sobre todo por regalarme cada día el maravilloso tesoro de su amistad. Los quiero muchísimo.

A mis amigos,

Por todos los momentos que pasamos juntos, las pláticas, consejos, regaños...Gracias Martín, Oscar, Yessica, Alejandro, Alberto, Jacobo, Néstor (Q.F.B. 30) y a todos los que estuvieron cerca de mí.

ÍNDICE GENERAL

A.	INDICE DE FIGURAS _____	V
B.	ÍNDICE DE TABLAS _____	VII
C.	LISTA DE ABREVIATURAS _____	IX
I.	INTRODUCCION _____	1
II.	MARCO TEÓRICO _____	3
1.	CARACTERÍSTICAS GENERALES DE GARRAPATA GÉNERO <i>Boophilus Microplus</i> (CANESTRINI). _____	3
1.1	Taxonomía y morfología _____	3
1.2	Ciclo de vida _____	5
1.3	Principales problemas ocasionados por su infesta _____	7
1.3.1	Producción (importación - exportación) _____	7
1.3.2	Enfermedades transmitidas _____	8
1.3.2.1	Babesiosis _____	8
2.	CONTROL DE LAS GARRAPATAS _____	10
2.1	No químico _____	10
2.2	Químico (ixodicidas disponibles en el mercado) _____	10
2.2.1	Organofosforados _____	10
2.2.2	Piretroides _____	11
2.2.3	Amidinas _____	12
2.2.4	Inhibidores del desarrollo _____	13
2.2.5	Fenilpirazolonas _____	13
2.2.6	Inmunógenos _____	14
2.2.7	Endectocidas (lactonas macrocíclicas) _____	15
2.2.7.1	Características generales _____	15
2.2.7.2	Clasificación _____	15
2.2.7.3	Características de la ivermectina _____	16
2.2.7.4	Estructura química _____	17
2.2.7.5	Acción farmacológica _____	17
2.2.7.6	Farmacocinética _____	18
3	SITUACIÓN ACTUAL DE CONTROL DE GARRAPATA GÉNERO <i>Boophilus spp.</i> EN MÉXICO _____	18
3.1	Campaña contra la garrapata <i>Boophilus spp.</i> _____	19
3.2	Situación geográfica _____	20

4	RESISTENCIA	21
4.1	Definición	21
4.2	Antecedentes	21
4.3	Mecanismos de resistencia	22
4.4	Factores que influyen en la resistencia	23
4.5	Fases del desarrollo de la resistencia	24
5	NORMAS OFICIALES MEXICANAS CONTRA GARRAPATAS GÉNERO <i>Boophilus spp.</i>	25
5.1	Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1994	25
5.2	Norma Oficial Mexicana NOM-006-ZOO-1993	26
6	FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE AGENTES GARRAPATICIDAS	26
6.1	Tópica	26
6.1.1	Baños de aspersion	26
6.1.2	Baños de inmersión	26
6.2	Parenteral	27
6.2.1	Inyectable o implantes	27
6.3	Enterales	28
6.3.1	Bolos	28
6.4	Aplicación cutánea o epicutánea	29
6.4.1	Pour on	29
6.4.2	Spot on	30
6.5	Accesorios	31
6.6	Sistemas de liberación	32
7	SISTEMAS SEMISÓLIDOS	35
7.1	Definición	35
7.2	Propiedades reológicas	35
7.3	Geles	36
7.3.1	Definición	36
7.3.2	Características generales	37
7.3.3	Ventajas	38
7.3.4	Clasificación	38
7.3.5	Propiedades de transición	40
7.4	Emulgeles	41

7.4.1	Definición	41
8	PIEL BOVINA	41
8.1	Características de piel bovina	41
8.2	Composición química	42
8.3	Capas de la piel	43
8.4	Epidermis	44
a)	Estrato basal o germinativo	45
b)	Estrato mucoso de Malpighi o espinoso	45
c)	Estrato lúcido	45
d)	Estrato granuloso	45
e)	Estrato córneo	45
8.5	Características de la epidermis	46
8.6	Dermis	46
8.7	Hipodermis	46
8.8	Anexos de la piel del bovino	47
a)	Folículo piloso	47
b)	Pelo	47
c)	Glándulas sudoríparas	48
d)	Glándulas sebáceas	48
9	ABSORCIÓN PERCUTÁNEA	48
9.1	Propiedades fisicoquímicas que afectan la absorción percutánea	50
9.2	Difusión pasiva a través de membrana lipídica	51
III.	OBJETIVOS	54
1	Objetivo General	54
2	Objetivos Particulares	54
IV.	MATERIAL Y REACTIVOS	55
V.	MATERIAL BIOLÓGICO	55
VI.	APARATOS Y EQUIPOS	56
VII.	METODOLOGÍA	57
7.1	Solubilidad del principio activo	58
7.2	Métodos de elaboración de los sistemas semisólidos	59
7.2.1	Pruebas previas para la formulación del gel	59

7.2.1.1	Bioadhesión _____	59
7.2.1.2	Viscosidad _____	60
7.2.1.3	Formulación propuesta para el gel _____	61
7.2.2	Pruebas previas para la formulación del emulgel _____	61
7.2.2.1	Bioadhesión _____	61
7.2.2.2.	Viscosidad _____	62
7.2.2.3.	Selección de la fase oleosa y surfactante _____	62
7.2.2.4.	Formulación propuesta para el emulgel _____	64
7.3	Evaluaciones previas para la cuantificación del activo _____	66
7.3.1	Espectro de absorción _____	66
7.3.2	Curvas de calibración _____	67
7.4	Evaluaciones a los sistemas semisólidos _____	67
7.4.1	Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos _____	67
7.4.2	Bioadhesión _____	68
7.4.3	Carga superficial _____	69
7.4.4	Tamaño de glóbulo para el emulgel _____	70
7.4.5	Viscosidad _____	70
7.4.6	pH _____	70
7.4.7	Gravedad específica _____	70
7.4.8	Estabilidad _____	71
7.4.9	Estabilidad acelerada _____	71
7.5	Perfiles de liberación _____	71
7.5.1	Cuantificación del fármaco retenido en la base _____	72
7.6	Cinética de permeación _____	72
7.6.1	Método de extracción de ivermectina retenida en la piel. _____	73
VIII.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	74
IX.	CONCLUSIONES _____	120
X.	PERSPECTIVAS _____	121
XI.	ANEXOS. _____	122
XII.	BIBLIOGRAFÍA _____	140

A. INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Escudo y gnatosoma de la garrapata <i>B. microplus</i> ⁸	4
Figura 2. Morfología de los órganos internos de la garrapata ⁸	4
Figura 3. Ciclo evolutivo de la garrapata <i>Boophilus microplus</i> ¹	5
Figura 4. Hembra <i>Boophilus microplus</i> repleta que parasita al ganado bovino ¹⁰	7
Figura 5. Estructuras de las principales lactosas macrocíclicas ¹⁹	16
Figura 6. La región sombreada, representa la distribución geográfica de la garrapata <i>Boophilus microplus</i> en México ¹	19
Figura 7. Situación actual de la campaña contra la garrapata <i>B. microplus</i> ⁹	20
Figura 8. Componentes de la administración parenteral (bolos) ³⁴	28
Figura 9. Forma de aplicación del pour on.	30
Figura 10. Dispositivos utilizados para el tratamiento de ectoparásitos (de izquierda a derecha superior): correa, tarjeta de oreja, collar y caucho posterior ¹⁹	32
Figura 11. Capas de la piel ⁴⁵	43
Figura 12. Esquema de estratificación de la epidermis bovina ⁴⁸	44
Figura 13. Diagrama de flujo experimental.	57
Figura 14. Tensiómetro de Du Noüy modificado para la medición de bioadhesión en piel bovina.	60
Figura 15. Representación esquemática de la preparación del emulgel.	66
Figura 16. Sistema de presión / compresión Instron.	68
Figura 17. Viscosidad alcanzada con distintas concentraciones de polímero utilizado en el gel.	78
Figura 18. Efecto que presenta el gel bioadhesivo con diferentes cantidades agregadas de glicerina.	81
Figura 19. Efecto que presenta el gel bioadhesivo de Carbopol 940 al agregar diferentes cantidades de etanol.	82
Figura 20. Curva de calibración a altas concentraciones de IVM en solución de Brij [®] 58 en agua al 3%.	88
Figura 21. Curva de calibración a bajas concentraciones de IVM en solución de Brij [®] 58 en agua al 3%.	89
Figura 22. Curva de calibración de IVM en metanol.	92
Figura 23. Viscosidad que presenta el emulgel a través del tiempo con diferentes velocidades de deformación.	100
Figura 24. Curva del comportamiento reológico que presenta el emulgel.	100
Figura 25. Viscosidad que presenta el gel a través del tiempo con diferentes velocidades de deformación.	101
Figura 26. Curva del comportamiento reológico que presenta el gel.	101
Figura 27. Tendencia que presenta el gel.	107
Figura 28. Tendencia que presenta el emulgel.	107
Figura 29. Figura original del comportamiento que presentan los sistemas semisólidos en presencia del medio.	110
Figura 30. Perfil de liberación que presenta el gel (n=3).	111
Figura 31. Perfil de liberación que presenta el emulgel (n=3).	111
Figura 32. Cinética de permeación de IVM en el gel a través de piel bovina (n=6).	113
Figura 33. Cinética de permeación de IVM en el emulgel a través de piel bovina (n=4).	114
Figura 34. Cinética de permeación de IVM en los dos sistemas semisólidos a través de piel bovina.	115
Figura 35. Media y límites de confianza al 95 % del comportamiento de los coeficientes de permeabilidad de ocho horas para cada sistema semisólido.	116
Figura 36. Media y límites de confianza al 95 % del comportamiento de la cantidad de IVM total permeada para cada sistema semisólido.	117
Figura 37. Cantidad de IVM retenida en piel bovina (µg) en los dos sistemas semisólidos.	118

Figura 38. Barrido de IVM en solución de Brij® 58 al 3% en agua (20 µg/ ml), como medio de disolución. _____ **122**

Figura 39. Barrido de excipientes en solución de Brij® al 3% en agua (20 µg/ ml), como medio de disolución. _____ **122**

Figura 40. Barrido de excipientes; IVM; mezcla de IVM/ EXC, utilizando una solución de Brij® al 3% en agua (20 µg/ ml), como medio en de disolución. _____ **123**

B. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de la garrapata *Boophilus microplus* ⁷. _____ 3

Tabla 2. Organofosforados autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en México ¹⁶. _____ 11

Tabla 3. Piretroides autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en México ¹⁶. _____ 12

Tabla 4. Amidinas autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México ¹⁶. _____ 12

Tabla 5. Inhibidores del desarrollo autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México ¹⁶. _____ 13

Tabla 6. Fenilpirazolonas autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México ¹⁶. _____ 14

Tabla 7. Formulaciones efectuadas bajo prueba y error. _____ 62

Tabla 7 (cont.). Formulaciones efectuadas bajo prueba y error. _____ 63

Tabla 8. Solubilidades experimentales en diferentes sustancias. _____ 74

Tabla 9. Solubilidades experimentales en mezclas agente promotor/ agua. _____ 75

Tabla 10. Resultados de la fuerza de bioadhesión para diferentes concentraciones de gel. _____ 77

Tabla 11. Formulación propuesta para la elaboración del gel. _____ 79

Tabla 12. Formulaciones de emulgeles probados. _____ 83

Tabla 13. Formulación propuesta para la elaboración del emulgel. _____ 86

Tabla 14. Límites de confianza del intercepto. _____ 91

Tabla 15. Límites de confianza inferiores de las respuestas analíticas propuestas. _____ 91

Tabla 16. Límites de confianza del intercepto. _____ 94

Tabla 17. Límites de confianza de las respuestas analíticas propuestas. _____ 94

Tabla 18. Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos. _____ 95

Tabla 19. Comparación de medidas de bioadhesión del gel y el emulgel. _____ 96

Tabla 20. Potencial Z para el emulgel. _____ 98

Tabla 21. Tamaño de glóbulo del emulgel. _____ 99

Tabla 22. Valores de pH obtenidos. _____ 102

Tabla 23. Valores de gravedad específica. _____ 103

Tabla 25. Estabilidad acelerada de los sistemas semisólidos. _____ 106

Tabla 26. Valores obtenidos de la regresión lineal de los gráficos $\ln (Mt/ M\alpha)$ vs $\ln t$ para los sistemas propuestos. _____ 108

Tabla 27. Mecanismo y tipo de liberación propuestos a partir del valor de “n” en la ecuación de Peppas ⁷². _____ 108

Tabla 28. Promedio de los resultados obtenidos en las permeaciones de los dos sistemas semisólidos (gel y emulgel). _____ 112

Tabla 29. Resultados de la curva de calibración a altas concentraciones de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución. _____ 124

Tabla 30. Análisis de Varianza. _____ 125

Tabla 31. Resultados de la curva de calibración de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución. _____ 126

Tabla 32. Resultados de la curva de calibración a bajas concentraciones de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución. _____ 127

Tabla 33. Análisis de Varianza. _____ 128

Tabla 34. Resultados de la curva de calibración de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución. _____ 129

Tabla 35. Resultados de la curva de calibración de IVM en metanol como medio de disolución. _____ 130

Tabla 36. Resultados de la curva de calibración de IVM en metanol como medio de disolución. _____ 131

Tabla 37. Análisis de Varianza para de bioadhesión del polímero. _____ 132

Tabla 38. Análisis de varianza para la viscosidad en gel. _____ 133

Tabla 39. Resultados de la cinética de permeación de IVM en el gel. _____ 134

Tabla 40. Flujo y coeficientes de permeabilidad para cada celda para el gel durante las ocho horas. _____	135
Tabla 41. Resultados de la cinética de permeación de IVM en el emulgel. _____	135
Tabla 42. Flujo y coeficientes de permeabilidad para cada celda para el emulgel durante las ocho horas. _____	136
Tabla 43. Cantidad de IVM total permeada (μg). _____	136
Tabla 44. Cantidad de IVM retenida en piel bovina utilizada en las permeaciones (μg). _____	137
Tabla 45. Prueba de t de Student para el coeficiente de permeabilidad (h cm) de los dos sistemas semisólidos. _____	137
Tabla 46. Prueba de t de Student para la cantidad de IVM total permeada de los dos sistemas semisólidos. _____	138
Tabla 47. Prueba de t de Student para la cantidad de IVM retenida en piel bovina (μg) de los dos sistemas semisólidos. _____	139

C. LISTA DE ABREVIATURAS

ABREVIATURA	SIGNIFICADO
MAO	Monoaminoxidasa
GABA	Acido amino butírico
SARH	Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos
CONASAG	Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria
SAGARPA	Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación
SENASICA	Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos
USP	Farmacopea de los Estados Unidos
RC	Resistencia Cruzada
RM	Resistencia Múltiple
PS	Piretroides
DDT	Dicloro difenil dicloroetano
OF	Organofosforados
A	Absorbancia
o/w	Aceite/ agua
IPM	Miristato de Isopropilo
TCM	Triglicéridos de Cadena Media
IVM	Ivermectina
TEA	Trietanolamina
δ	Desviación Estándar
UV	Ultravioleta
Q acum	Cantidad de fármaco acumulado
I.P.	Índice de polidispersidad
C.V.	Coficiente de variación
Cp	Coficiente de permeabilidad
CTIVMP	Cantidad total de Ivermectina permeada
F	Flujo de Ivermectina que pasa por área
IV	Vía de administración Intravenosa
Vd	Volumen de distribución
Cmáx.	Concentración máxima
Tmáx.	Tiempo máximo

I. INTRODUCCION

En la actualidad las garrapatas y las enfermedades que éstas transmiten son una de las principales limitantes de la explotación de bovinos en el mundo. El problema depende de la región, especies de garrapatas presentes, agente transmisor; así como de la situación socioeconómica y el avance tecnológico en la aplicación de las medidas de control. Dentro de las garrapatas más problemáticas encontramos al género *Boophilus*¹.

Las garrapatas son parásitos que atacan al ganado localizado en regiones tropicales y subtropicales a nivel mundial. En México, la garrapata *Boophilus microplus* causa enormes pérdidas económicas. La babesiosis bovina y la infestación por garrapatas son enfermedades económicamente importantes en los trópicos y sub-trópicos en México y en el mundo. Información reciente indica que el 17% del ganado mexicano que es exportado a Estados Unidos anualmente es rechazado por infestación de garrapatas². Por otro lado, el ataque por garrapatas al ganado genera también reducción de niveles de producción, alteraciones reproductivas y altos costos de control³.

Los ixodicidas que se han usado durante décadas para el control de las garrapatas incluyen organofosforados, piretroides y amidinas. Estos productos han sido utilizados con éxito en el control de las garrapatas; sin embargo, su uso irracional ha ocasionado la generación de cepas de garrapatas resistentes. El desarrollo de resistencias de ectoparásitos a los fármacos disponibles para su control, significa una amenaza permanente que influye sobre la viabilidad de la ganadería¹.

A pesar de esto, en las dos últimas décadas no se han generado nuevos activos para el control de los ectoparásitos y con mecanismo de acción distinto a lo conocido. Los principios activos que se pueden clasificar como nuevos como el fipronil, el imidacloprid, antiqutina, luferunon

y piriproxifeno, poseen protección por patente y por ende, la investigación sobre ellos se constriñe a los poseedores de dicha patente ⁴.

Una estrategia que se puede considerar viable para el desarrollo de preparados contra ectoparásitos es el rediseño de formas farmacéuticas ya existentes en preparados farmacéuticos estratégicos de liberación controlada ⁴.

El enfoque más comprometedor en términos de eficacia e impacto económico para el control de la parasitosis en animales es el rediseño estratégico de los medicamentos antiparasitarios existentes ⁵.

Los productos van desde diminutos acarreadores en dispersión, tales como las nanopartículas o los liposomas, sistemas moleculares como las ciclodextrinas o dendrímeros, etc. Hasta dispositivos grandes que se pueden manipular y producir con mayor precisión. Se pueden diseñar un buen número de combinaciones para el control de ectoparásitos ⁶.

La finalidad de este trabajo es diseñar y caracterizar dos sistemas semisólidos conteniendo ivermectina, con el fin de proponerlos como formulaciones tópicas para el tratamiento de ectoparásitos en bovinos; los cuales permitan el control de los ectoparásitos en cualquier fase de su ciclo biológico. Dichos sistemas presentan mayores ventajas que los existentes en el mercado, debido a que son sistemas de liberación prolongada, lo cual aumenta el tiempo de permanencia del garrapaticida en su sitio de acción y al mismo tiempo un incremento en la permeación del activo. Además de caracterizarse por ser sistemas semisólidos estables con propiedades de formación de películas bioadhesivas, lo cual provoca la inmovilización de los ectoparásitos y por consiguiente su muerte.

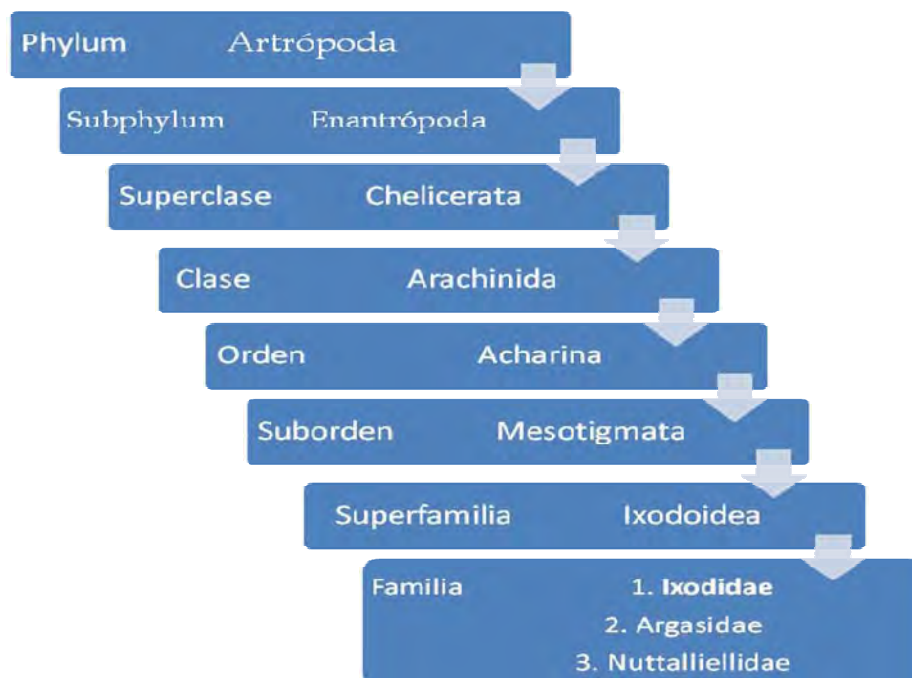
II. MARCO TEÓRICO

1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE GARRAPATA GÉNERO *Boophilus Microplus* (CANESTRINI).

Las garrapatas son parásitos (ácaros) temporarios, caracterizadas por su gran tamaño (hasta 25 mm). Pertenece a la familia Ixodidae (tabla 1), a las especies de ésta familia también se le conoce como “garrapatas duras”. El escudo o placa dorsal (figura 1) es una de las principales características que las diferencia de las garrapatas blandas (familia Argasidae), ya que este está colocado inmediatamente por detrás del capítulo (falsa cabeza). Esta familia pertenece a las garrapatas de un solo huésped (todo su ciclo de vida se lleva a cabo en un solo animal) ⁷.

1.1 Taxonomía y morfología

Tabla 1. Clasificación de la garrapata *Boophilus microplus* ⁷.



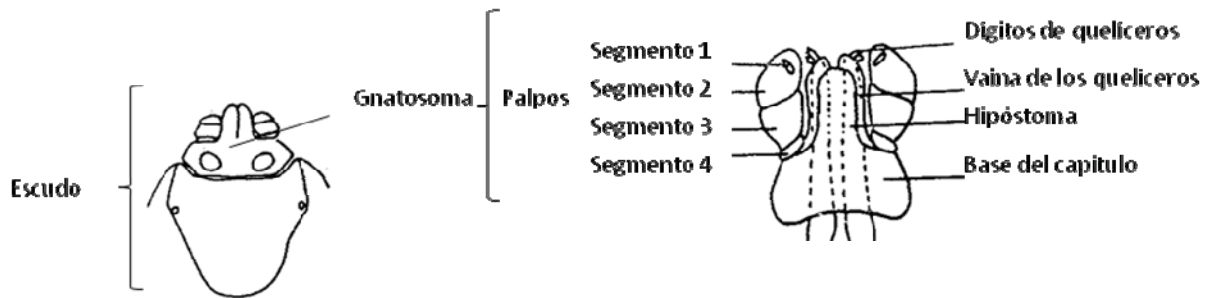


Figura 1. Escudo y gnatosoma de la garrapata *B. microplus* ⁸

La figura 2 muestra la morfología de los órganos internos presentes en la garrapata.

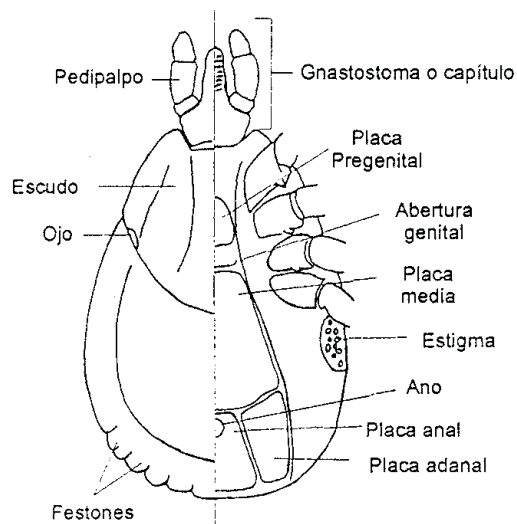


Figura 2. Morfología de los órganos internos de la garrapata ⁸.

1.2 Ciclo de vida

La figura 3 muestra el ciclo biológico que presentan las garrapatas, el cual tiene una duración de 25 días a 9 meses, de acuerdo a las condiciones climáticas. Las garrapatas presentan cuatro estadios en su ciclo biológico: Huevo, larva, ninfa y adulto. El ciclo biológico de las garrapatas del género *Boophilus* se divide en dos fases: fase no parasitaria y fase parasitaria ⁹.

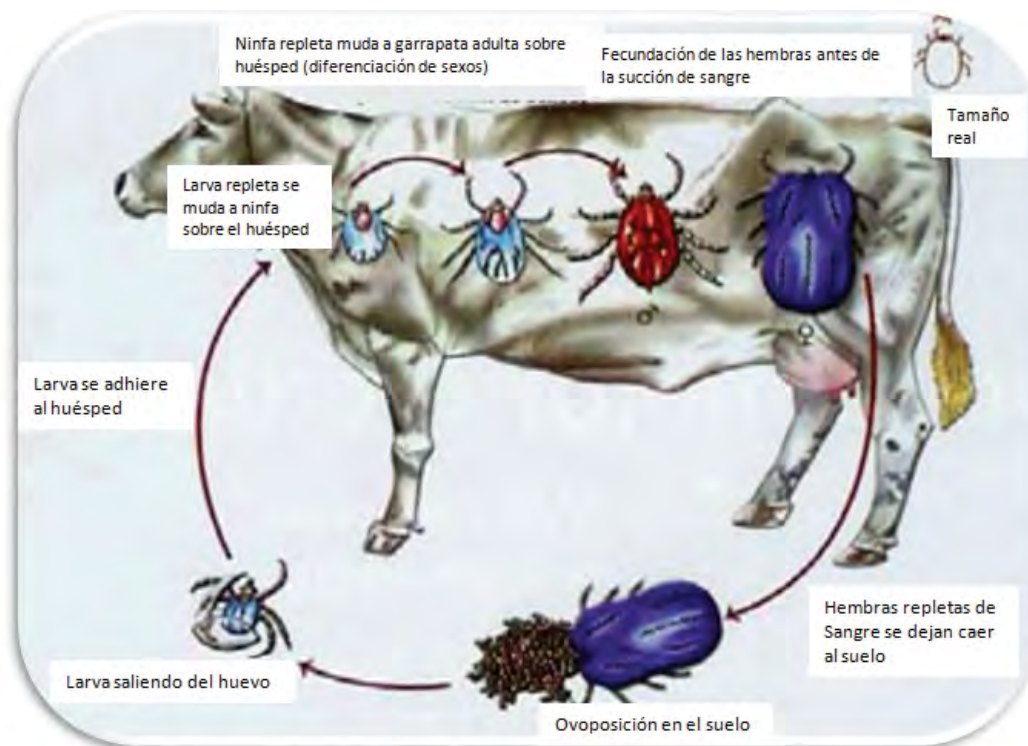


Figura 3. Ciclo evolutivo de la garrapata *Boophilus microplus* ¹.

El ciclo de la garrapata comienza cuando la garrapata adulta cae al suelo y pone los huevos (2000 a 4000 por hembra), de donde nacen las larvas. Estas, crecen y se suben a las hojas para pasar a los animales que caminan por los alrededores. Aparentemente podrían sobrevivir hasta 2 meses en verano y 6 en invierno. A pesar de ello la mortandad de garrapatas es enorme ⁷.

Fase no parasitaria: El adulto macho recién emergido, se alimenta por algunas horas y después se desplaza por el hospedero buscando una hembra para aparearse. La hembra adulta, también capaz de moverse, se fija generalmente esperando la fertilización. Tiempo después se alimenta lentamente por los primeros 5 días, para acelerar rápidamente la ingestión de sangre en los últimos periodos de la alimentación, hasta repletarse. El macho permanece en cópula algunas veces por varios días, hasta que la hembra repleta cae del hospedero ⁸, la fase no parasitaria, inicia cuando la garrapata adulta hembra ingurgitada (figura 4) se desprende del bovino y busca un lugar oscuro y fresco ¹, pone los huevos (2000 a 4000 por hembra), de donde nacen las larvas. Estas, crecen y se suben a las hojas para pasar a los animales que caminan por los alrededores ⁷. Los huevecillos eclosionan dando lugar a larvas sobre las cuales la temperatura y la humedad influyen fuertemente y que son aún más vulnerables que los huevecillos a las bajas temperaturas. El macho puede permanecer sobre el hospedero un mes o más, para buscar y fertilizar a otras hembras ⁸. Esta fase puede durar de 35-90 días dependiendo de las condiciones ¹.

Fase parasitaria: Inicia cuando la larva se sube a un hospedero y se alimenta de sangre ¹. Un pequeño porcentaje de las larvas recién emergidas andan sobre el hospedero por dos o tres días. Sin embargo, la mayoría se fija con sus piezas bucales a la piel del hospedero, generalmente en la parte más interna de las orejas ⁸. Durante esta fase la larva muda para transformarse en una ninfa ¹. Sus cuerpos se hacen rígidos y las larvas pierden su movilidad. Se les encuentra generalmente en los flancos, vientres y ubres para chupar la sangre. Ocho días después de adherirse mudan ⁸. La ninfa muda para transformarse en adulto, donde se diferencia el sexo. Existe la cópula entre estos dos y la hembra queda grávida, en 12- 24 horas, la hembra se desprende del hospedero para continuar la fase no parasitaria. La fase parasitaria tiene un periodo constante que dura de 19- 21 días ¹.



Figura 4. Hembra *Boophilus microplus* repleta que parasita al ganado bovino ¹⁰.

Todos los estadios del ectoparásito pueden encontrarse en cuello, vientre, flancos, papada, ubres, escudo y escroto del ganado ¹.

1.3 Principales problemas ocasionados por su infesta

1.3.1 Producción (importación - exportación)

Como consecuencia de la infesta de garrapatas, se obtienen animales con debilidad, retraso en el crecimiento y mala conversión alimenticia que, en el caso de los bovinos cárnicos, se traduce en pérdidas de 25 a 60 kg/ animal/ año y, en el ganado lechero, se estiman rangos del 12 al 20% de disminución de la secreción láctea ¹¹. Cada garrapata hembra que completa su ciclo parasítico en los bovinos ocasiona una disminución del incremento de peso corporal de 0,3 hasta 1,0 g. Esto afecta también la producción de leche y prolonga el tiempo requerido para que las vaquillonas alcancen el peso apropiado para el primer servicio tanto como las tasas de preñez. La industria del cuero es también afectada de manera importante pues, del ganado infestado con garrapatas se obtiene material de inferior calidad debido a las cicatrices derivadas de sus picaduras ¹².

1.3.2 Enfermedades transmitidas

1.3.2.1 Babesiosis

Es una enfermedad de las praderas que cursa con fiebre, hemoglobinuria y anemia hemolítica. Los agentes etiológicos unicelulares del género *Babesia* parasitan los glóbulos rojos y son transmitidos por garrapatas. Una transmisión inmediata de bovino a bovino sólo es posible mediante la inyección parenteral de sangre infectada ¹³.

En las áreas babesiosas enferman casi exclusivamente bovinos mayores de 1-2 años de edad o animales introducidos desde otras regiones libres, ya que los ejemplares criollos se infectan e inmunizan en la juventud, en su primer periodo de pastoreo. La enfermedad en animales jóvenes casi siempre transcurre en forma subclínica debido a su resistencia juvenil y mejores funciones eritropoyéticas de la médula ósea, en cambio, los animales más viejos no inmunes enferman de gravedad, incluso mortalmente ¹³.

La babesiosis es causada por hemoparásitos unicelulares de movimientos ameboides, cuyas especies sólo son distinguibles morfológicamente, pero causan un cuadro clínico patológico uniforme. Apareciendo incluso las infecciones mixtas. Las especies *B. bigemina*, *B. berbera* y *B. argentina* presentes en todas las regiones tropicales y subtropicales, son transmitidas por lo general por garrapatas del género *Boophilus* de un solo huésped. Los esporozoitos que llegan a la circulación periférica en el acto de succión de las garrapatas, parasitan los eritrocitos en los que se reproducen por bipartición y los destruyen. A continuación los merozoítos infectan nuevos eritrocitos (estadio agudo 10 - 40% de glóbulos rojos). Luego de la infección aguda, quedan algunos eritrocitos parasitados. Esta infección latente confiere al huésped una inmunidad ¹³.

La transmisión del agente se realiza a través de las garrapatas, que lo succionan con la sangre de bovinos con infección aguda o latente y luego, según la especie de garrapata, transfieren a la próxima generación de garrapatas. Las babesias se reproducen en las glándulas salivales de las garrapatas durante el ciclo de succión. Dado que muchas especies de garrapatas pueden invernar, las praderas quedan infecciosas durante años¹³. El periodo de incubación para la infección natural es de 8 a 10 días¹⁴.

La enfermedad comienza con una fiebre continua de 40-41°C, según la gravedad se mantiene por 2-6 días y en casos leves (animales jóvenes) resulta ser el único síntoma. La hemoglobinuria se observa en todos los casos graves a partir del tercer al quinto día. En el curso posterior hay alteraciones moderadas o graves del estado general debido al rápido e intenso desarrollo de la anemia¹³. Los enfermos se separan del rebaño y permanecen mucho tiempo echados, muestran síntomas de debilidad general y temperatura baja de la piel (especialmente en extremidades y orejas). La auscultación cardíaca muestra taquicardia (120 latidos/ min) y tonos intensos. Se percibe un hematocrito microscópicamente bajo, las alteraciones sanguíneas consisten en color rojizo de plasma y suero, intensa eritropenia ($1-3 \times 10^6$ mcl) con anisocitosis y puntillado basófilo de los glóbulos rojos, así como linfocitosis importante ($\leq 80\%$ de leucocitos). La ingesta de comida y agua están muy reducidas. Las heces depuestas en pequeños volúmenes al principio son líquidas, luego firmes y recubiertas de moco. La percusión hepática demuestra un área agrandada en 2-4 dedos de ancho y leve dolor. En la culminación de la enfermedad aparece la hemoglobinuria (orina transparente de color té hasta café) que se mantiene por 1-3 días o hasta la muerte del animal. Con frecuencia hay dificultades de micción. Las vacas gestantes suelen abortar. Antes de la muerte se produce un descenso de la temperatura a valores subnormales¹⁵. Hay un aumento de tamaño del bazo, hígado y riñones. A consecuencia de la necrosis por hemólisis el tejido hepático presenta color amarillo uniforme y es friable. Las vías y la vesícula biliar están plenas de bilis oscura y espesa. Los riñones muestran un típico puntillado rojo oscuro o rojo negruzco a causa de la precipitación por hemoglobina¹³.

2. CONTROL DE LAS GARRAPATAS

2.1 No químico

Son las acciones conocidas para controlar garrapatas sin el uso de productos químicos. Los diferentes controles no químicos utilizados son:

Resistencia del hospedero: Este control depende de la resistencia a las garrapatas por parte del hospedero y se manifiesta con un reducido ingurgitamiento de la teologina, prolongados periodos de alimentación por parte de la garrapata, disminución en la ovoposición, baja o nula viabilidad de los huevos, cese de etapas evolutivas y muerte de ninfas de la garrapata ¹⁶.

Control biológico: Los enemigos naturales de las garrapatas son hongos (*Metarhizium* sp, *Beauveria* sp), bacterias (*Cedecea lapagei*), ácaros (*Anystis baccarum*) nematodos y hormigas (*Pheidole megacephala*) que afectan a las garrapatas en su fase libre ¹.

Manejo: Existen varias prácticas de manejo que afectan negativamente a las poblaciones de garrapatas, tales como el: descanso de praderas, efecto del fuego, barbecho y el corte de pastizales, etc ¹.

2.2 Químico (ixodicidas disponibles en el mercado)

2.2.1 Organofosforados

Se caracterizan por inhibir la actividad de la enzima acetilcolinesterasa (neurotransmisor), produciendo un aumento de estímulos nerviosos de los insectos. Son lipofílicos y se absorben a través de la piel y se acumulan en tejido adiposo donde son

liberados lentamente a la sangre y otros líquidos fisiológicos. Tienen una permanencia de 4 a 8 días.

Los medicamentos más importantes de mayor uso en este grupo son: Clorfenvinfos, Clorpirifos, Coumafos y Diazinón 17. La tabla 2 muestra los organofosforados autorizados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA) para el control de las garrapatas en México.

Tabla 2. Organofosforados autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en México ¹⁶.

ORGANOFOSFORADOS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Asuntol líquido [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Asuntol polvo [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Co-ral flowable [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Bayer
Dursban 24E [®]	Clorpirifos	Aspersión, Inmersión	Elanco
Ganafos [®]	Coumafos	Aspersión, Inmersión	Pfizer
Link [®]	Clorpirifos	Aspersión, Inmersión	Elanco
Supona CE [®]	Clorfenvinfos	Aspersión, Inmersión	Fort Dodge

2.2.2 Piretroides

Provocan un bloqueo de la actividad motriz o bien por la producción de excitabilidad, incoordinación de movimientos, irritabilidad, parálisis y muerte del insecto. Tienen un efecto residual de aproximadamente 15 días. Entre los fármacos más frecuentes de este grupo se encuentran: Cipermetrina, Deltametrina, Flumetrina ¹⁶ (tabla 3).

Tabla 3. Piretroides autorizados por la SAGARPA para el control de garrapatas en México ¹⁶.

PIRETROIDES			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Barricada CE [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Fort Dodge
Batestan plus [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Intervet
Batestop [®]	Deltametrina	Pour on	Intervet
Bayticol baño [®]	Flumetrina	Aspersión, inmersión	Bayer
Bayticol PO [®]	Flumetrina	Pour on	Bayer
Butox [®]	Deltametrina	Aspersión, inmersión	Intervet
Cypermil aspersion [®]	Cipermetrina	Aspersión	Ouro Fino
Cypermil pour on [®]	Cipermetrina	Pour on	Ouro Fino
Ectiban L pour on	Landacyalotrina	Pour on	Schering-Plough
Elantik 25 [®]	Zeta Cipermetrina	Pour on	Elanco
Elantik 62.5 [®]	Zeta Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Elanco
Panecto pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Fort Dodge
Renegade pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Novartis
Ticoff [®]	Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Lapisa
Ultimate [®]	Alfa Cipermetrina	Aspersión, inmersión	Pfizer
Ultimate pour on [®]	Alfa Cipermetrina	Pour on	Pfizer

2.2.3 Amidinas

Se cree que ocasionan muerte del insecto por inhibición de las Mono Amino Oxidasa (MAO), aunque no se ha dilucidado la posible participación de los receptores de la Octopamina. El producto de mayor uso es el amitraz ¹⁶. (tabla 4). El Amitraz continua siendo el más popular acaricida para el control de las garrapatas del ganado bovino (*Boophilus microplus*) en Australia, América Latina y Sudáfrica ¹⁸.

Tabla 4. Amidinas autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México ¹⁶.

AMIDINAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Bombard [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Fort Dodge
Bovitraz [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Bayer
Drastic [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Novartis
GAmitraz [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Pfizer
Nokalt [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Ouro Fino
Preventick solución [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Virbac
Taktic [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Intervet
Trak [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Lapisa
Triatix [®]	Amitraz	Aspersión, inmersión	Schering-Plough

2.2.4 Inhibidores del desarrollo

El fluazurón (tabla 5), se caracteriza por interferir principalmente en la formación de la quitina, impidiendo la formación de la cutícula del ectoparásito. La limitante de este producto es que las garrapatas no mueren al instante, si no que su efecto es reducir la actividad reproductiva de las garrapatas y poco a poco se ven los efectos letales al reducir las poblaciones de garrapatas ¹⁶.

Tabla 5. Inhibidores del desarrollo autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México ¹⁶.

INHIBIDORES DEL DESARROLLO			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	Laboratorio
Acatak [®]	Fluazurón	Pour on	Novartis

2.2.5 Fenilpirazolonas

Las fenilpirazolonas (tabla 6). Están relacionadas con las avermectinas por el modo de acción, ya que bloquea el paso de iones cloro a través del sistema receptor (Ácido γ - aminobutírico) GABA¹⁶. Se fijan al receptor interno del canal de cloro, inhibiendo el flujo celular de los iones; de ésta manera inhibe el efecto neuroregulador del GABA, causando la muerte de la garrapata por sobreexcitación.

Generalmente, estos productos son de aplicación tópica (epicutánea). Actúan sobre hembras repletas (ingurgitadas) de *Boophilus microplus* susceptibles químico resistentes, disminuyendo el número de especímenes, la repleción y la ovoposición ⁹.

Tabla 6. Fenilpirazolonas autorizados por la SAGARPA para el control de las garrapatas en México¹⁶

FENILPIRAZOLONAS			
Producto comercial	Principio activo	Forma de aplicación	de Laboratorio
Ectoline pour on [®]	Fipronil	Pour on	Merial

2.2.6 Inmunógenos

La vacuna para el control de la garrapata *Boophilus* spp. Es una proteína recombinante glicosada de 20 a 36 μm de diámetro, denominada Bm86, originalmente obtenida del intestino de la garrapata y replicada por procedimientos biotecnológicos. Esta proteína una vez purificada y homogeneizada es adicionada a un agente emulsionante y al aceite mineral como adyuvante ⁹.

Su efecto sobre la garrapata inicia al momento en que ésta se alimenta con la sangre del bovino vacunado, los anticuerpos producidos contra la proteína Bm86 que se encuentra en la superficie de las células intestinales del parásito. Los anticuerpos provocan junto con otros elementos del complejo inmune del animal, un daño irreversible en el intestino de la garrapata afectando paulatinamente su reproducción y disminuyendo por consecuencia su descendencia ⁹. Aunque el antígeno Bm86 está presente en la larva, ninfa y garrapata adulta, este último estado es el más afectado. Esto es debido al mayor volumen de sangre que ingiere la garrapata adulta ¹³. La ventaja en el uso de esta estrategia es que permite ampliar los periodos de tratamiento en regiones de alta infestación hasta por más de 60 días.

2.2.7 Endectocidas (lactonas macrocíclicas)

2.2.7.1 Características generales

Son las llamadas lactonas macrocíclicas ¹⁶. Actúan sobre parásitos internos y externos con dosis bajas, es decir, son parasiticidas de amplio espectro que actúan sobre moscas (*Haematobia irritans*), larvas de mosca (*Dermatobia hominis*) garrapatas de diferentes géneros y especies, piojos, ácaros de la sarna, además de controlar parásitos internos como gastroentéricos (*Haemonchus*, *Ostertagia*, *Trichostrongylus*, *Cooperia*, *Nematodirus*, etc.), parásitos pulmonares (*Dictyocaulus viviparus*) ¹⁹. Este amplio espectro ha dado lugar a que las lactonas macrocíclicas sean catalogadas como endectocidas.

Tienen la ventaja de tener un poder residual más largo que otros quimioterapéuticos para el control de los parásitos, además de presentar diversas formas de aplicación (inyectable, tópica o *pour on* y la administración de bolos) ¹⁸.

2.2.7.2 Clasificación

Las lactonas macrocíclicas se dividen en dos subgrupos:

- a) Avermectinas: las cuales incluyen la abamectina, doramectina, ivermectina, emamectina, eprinomectina y selamectina (figura 5). Tienen un sustituyente sacárido en la posición C13. Son originadas por la bacteria *Streptomyces avermitilis*. Estudios electrofisiológicos, han demostrado que se les asocia con el bloqueo del canal glutamato cloro - glutamato en nematodos y artrópodos ¹⁴.
- b) Mibelmicinas: también llamadas nemodectinas, la moxidectina (figura 5) es la más representativa. No presenta un sustituyente sacárido. Son originadas por *S. cyanogrise* o *S. hygrosopicus* ¹⁹.

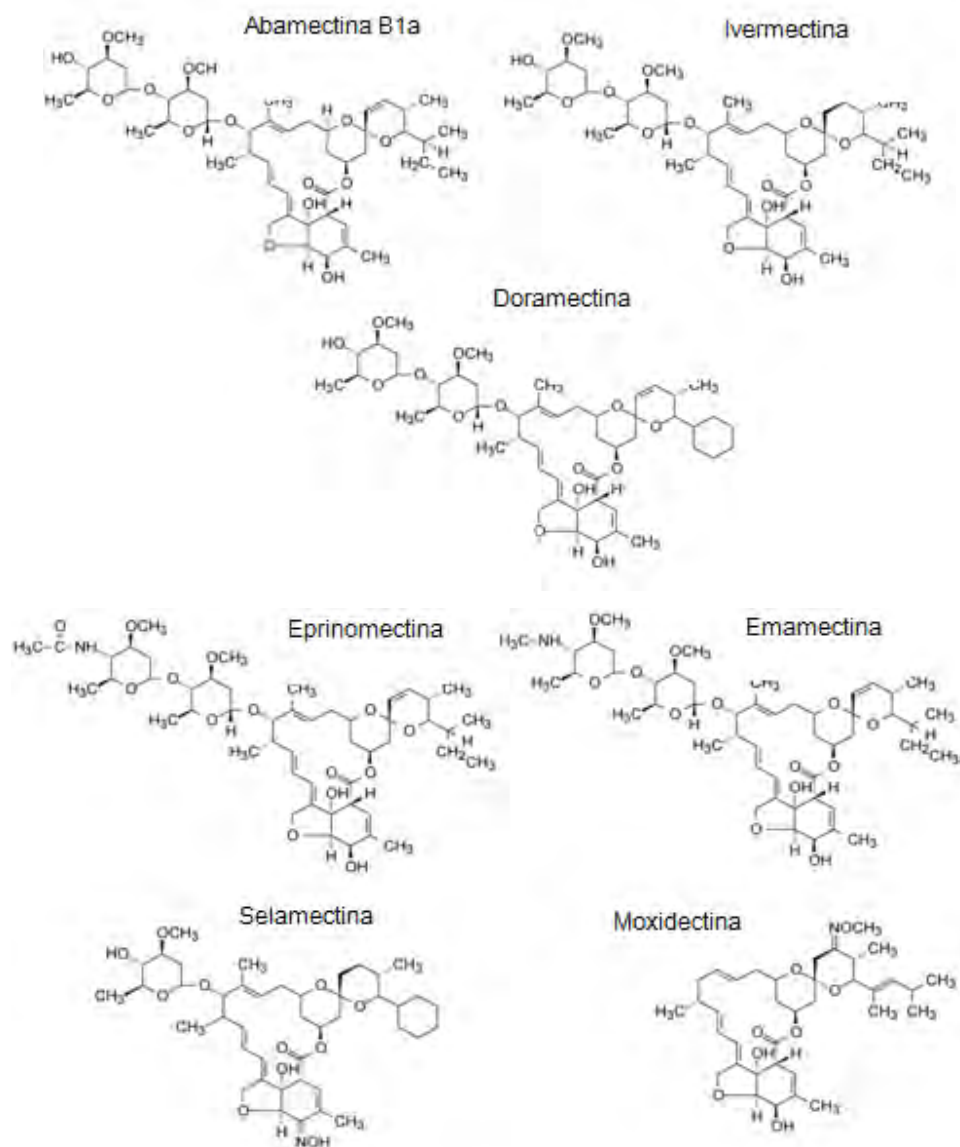


Figura 5. Estructuras de las principales lactonas macrocíclicas ¹⁹.

2.2.7.3 Características de la ivermectina

La ivermectina (IVM) es una lactona macrocíclica semisintética. Es un compuesto formado por la mezcla de dos compuestos de avermectinas: dihidroavermectina B1a (90%) y la dihidroavermectina B1b (10%) ²⁰. La diferencia en estos compuestos es en el

sitio de la cadena donde se encuentra el C-25, donde el componente a tiene un butilo y el componente b tiene un isopropilo.

La ivermectina presenta las siguientes propiedades fisicoquímicas:

- a) Polvo blanco o amarillo cristalino, insoluble en agua pero soluble en muchos solventes orgánicos. Es un derivado semisintético de las avermectinas, producto de la fermentación de la bacteria *Streptomyces avermitilis*.
- b) Es estable en su forma sólida por 6 meses a 40°C.
- c) Peso molecular: B1a, B1b 875.1, 861.1 respectivamente
- d) Solubilidad en alcohol: 1 en 10 300
- e) Solubilidad en agua: 1 en 1 000 000
- f) Coeficiente de partición octanol/agua: 3.55/21
- g) Punto de fusión: 155°C.

2.2.7.4 Estructura química

Estructura química (figura 5).

Fórmula química: C₄₈H₇₄O₁₄ (90%)/C₄₇H₇₂O₁₄ (10%)

22,23-Dihidroavermectina B1a (90%)/

5-O-Dimetil-25-de (1-metilpropil)-22,23-dihidro-25-(1-metil-etil) avermectina A1a (5-O-dimetil-22,23-dihidroavermectina B1b) (10%)

2.2.7.5 Acción farmacológica

La ivermectina es un compuesto activo que es utilizado en veterinaria, tiene un amplio espectro antiparasitario, el cual es usado para el control de parásitos internos y externos en bovinos ²². Es un agente antiparasitario, activo en dosis simples contra muchas especies de nematodos y artrópodos ²¹.

2.2.7.6 Farmacocinética

La biodisponibilidad absoluta de la ivermectina es desconocida desde la formulación disponible por vía intravenosa. Con administración oral de una dosis de 12 mg, la ivermectina fue rápidamente absorbida con un tiempo máximo de aproximadamente 4 horas. Las formulaciones en tabletas muestran una concentración máxima de aproximadamente

46 µg/L, lo cual es substancialmente menos que el de una solución acuosa de etanol (81 µg /L) y la biodisponibilidad relativa de la tableta fue solo el 60% de la solución. Tiene un volumen aparente de distribución de 46.9 L²¹. La mayor parte de la ivermectina es excretada en las heces y aproximadamente el 1% es excretada en la orina. Así mismo, es excretada en leche¹⁵.

3 SITUACIÓN ACTUAL DE CONTROL DE GARRAPATA GÉNERO *Boophilus* spp. EN MÉXICO

Aproximadamente el 40% del territorio nacional de México, que se extiende por 197'225,000 hectáreas esta cubierto por pastos naturales y se aprovecha para la cría del ganado bovino productor de carne, siendo las regiones costeras y del sureste donde se explota el 70% de los 30 millones de cabezas con que cuenta el país. Dichas condiciones favorecen también, sin embargo, la presencia de una serie de problemas sanitarios entre los cuales destacan por su importancia las parasitosis ocasionadas por garrapatas de los géneros, *Boophilus* y *Amblyomma* principalmente¹.

Dentro de las garrapatas más problemáticas, encontramos al género *Boophilus*. Sin embargo, en México, la garrapata *Boophilus microplus* ha sido la principal especie bajo control. Estas ocupan el 53% del territorio nacional (figura 6), es por ello, que se le atribuye mayor importancia por su amplia distribución, principalmente en zonas del trópico bajo¹.



Figura 6. La región sombreada, representa la distribución geográfica de la garrapata *Boophilus microplus* en México ¹.

3.1 Campaña contra la garrapata *Boophilus spp.*

En México existen antecedentes que se remontan a la segunda década del siglo pasado, donde se señala la preocupación del sector pecuario por los daños ocasionados por la garrapata, lo cual se tradujo en acciones aisladas, desarrolladas por algunos estados de la república tales como Sonora y Tabasco. En el estado de Sonora se inició un programa que condujo a la liberación de 2.5 millones de hectáreas y gracias a él, se establecieron las características técnicas esenciales de la campaña conservadas hasta la fecha ¹. En el año de 1992 con la creación de la Subsecretaría de ganadería de la entonces Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos (SARH), el programa de control de la garrapata *Boophilus spp.*, dependió operativa y técnicamente de la Dirección general de Salud Animal. Posteriormente a partir de 1996 con la nueva estructura de la Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria (CONASAG) el control de la garrapata se realiza en forma individualizada por los productores, contando con la asesoría y el apoyo del gobierno federal, a través de la SAGARPA y el SENASICA, los gobiernos estatales, las organizaciones de productores y los Comités de Fomento y Protección Pecuaria de los estados ⁹.

3.2 Situación geográfica

La situación geográfica actual está referida a cada una de las fases del programa (figura 7):

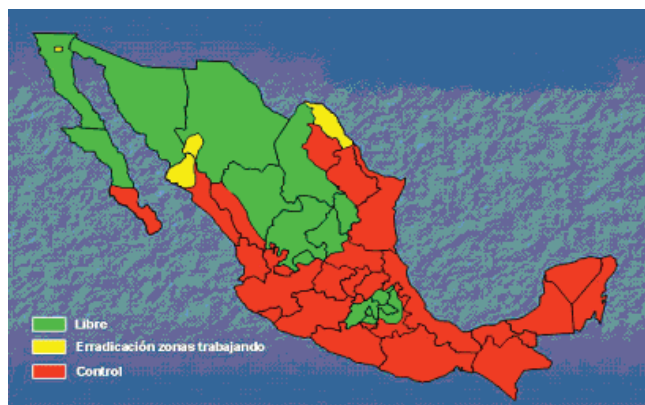


Figura 7. Situación actual de la campaña contra la garrapata *B. microplus* ⁹.

Fase libre: Ocupa una porción importante del norte del país, así como pequeñas áreas del centro. Comprende 94.4 millones de hectáreas que equivalen al 47.88% del territorio nacional. Las áreas libres de la garrapata *Boophilus spp.* son la región norte del país en parte de los estados de Baja California, Baja California Sur, Chihuahua, Coahuila, Nuevo León, Tamaulipas, Durango, Zacatecas, el altiplano de San Luis Potosí, Guanajuato, Hidalgo, Estado de México, Puebla y en todo el estado de Sonora, Aguascalientes, Tlaxcala y Distrito Federal ²³.

Fase de control: Las áreas en fase de control en este momento alcanzan una superficie total de 101.6 millones de hectáreas y representan el 51.5% del país. Las áreas en fase de control están localizadas principalmente en los estados que se encuentran en el litoral del Golfo de México y del Pacífico y en la parte Sur del Territorio Nacional. En estas áreas se realizan acciones para el control de la garrapata *Boophilus spp.* a través de tratamientos estratégicos y selectivos dependiendo de la época del año, la carga parasitaria por animal (infestación) y el porcentaje de animales infestados por el ectoparásito ²³.

Fase de bajo control: en estas zonas se ha propiciado el control de la población de garrapatas *Boophilus microplus* con organofosforados y piretroides. Se encuentran en los estados de Tabasco, Tamaulipas, Veracruz, Chiapas, Oaxaca, San Luis Potosí, Jalisco, Yucatán, Colima, Guerrero, Michoacán, Puebla, Nuevo León, Hidalgo, Querétaro, Nayarit y Sinaloa ⁹.

4 RESISTENCIA

4.1 Definición

La resistencia es la detección medio de pruebas sensitivas, de aumento significativo de individuos dentro de una población de una misma especie, capaces de tolerar una dosis de droga (s) que han resultado letales para la mayoría de los individuos de la misma especie ¹.

La resistencia cruzada (RC) es el mecanismo que utilizan especies de insectos resistentes para sobrevivir a la exposición de insecticidas relacionados químicamente, usando un patrón de detoxificación genérico. La resistencia múltiple (RM) es la utilización de varios mecanismos hacia la acción de varias clases de insecticidas no relacionados químicamente ²³.

4.2 Antecedentes

La resistencia y propagación de resistencias a ixodicidas en México es un serio problema que afecta a la ganadería vacuna. La historia de las resistencias en el ámbito mundial comienza en Australia en 1937 con los arsénicos, extendiéndose en 1950 a los ciclodienos clorinados, en 1954 al Dicloro difenil dicloroetano (DDT) y en 1964 a los organofosforados y carbamatos ²⁴. En México desde 1981 se identificaron poblaciones de garrapatas resistentes a los organofosforados, distribuidas en áreas tropicales del Golfo, del Estado de México y de la península de Yucatán (en la zona conocida como las

Huastecas). En 1993, apareció resistencia a piretroides en Soto La Marina, Tamaulipas, y Emiliano Zapata, Tabasco ²⁵. En 2002, se notificó resistencia de amitraz en Tabasco, presentando la cepa "San Alfonso", también resistencia a organofosforados y piretroides ²⁶.

Existe un patrón de desarrollo exponencial entre el descubrimiento de nuevos insecticidas y el desarrollo de especies resistentes a estos nuevos productos, que se caracteriza por ocurrir a través de los años en menor período de tiempo: para (DDT) la resistencia se presentó 6.3 años después de salir al mercado, lindano 5 años, organofosforados (OF) 4 años, carbamatos 2.5 años y piretroides sintéticos (PS) 2 años ²³.

4.3 Mecanismos de resistencia

La plasticidad del genoma de los insectos ha facilitado el desarrollo de resistencia hacia los insecticidas más importantes, y mientras permanezcan las técnicas de uso actuales, permitirá el desarrollo de resistencia a insecticidas futuros ¹. Entre estas resistencias se encuentran:

- a) **Resistencia de la penetración.** Es una modificación del exoesqueleto del insecto para inhibir o retardar la penetración del químico, y que en general tiene que ver con la concentración de lípidos que facilitan o retardan la penetración del pesticida a través de esta estructura ²⁷.
- b) **Resistencia del comportamiento:** Es cuando el insecto modifica su conducta para evitar el contacto con el insecticida ²⁷.
- c) **Resistencia metabólica.** Se caracteriza por la detoxificación enzimática del garrapaticida que es degradado como consecuencia de la acción de las enzimas que participan en los procesos de detoxificación del insecto ¹.

Las formas más importantes de resistencia metabólica involucran oxidasas multifuncionales, glutatión -S- transferasa y esterasas ²⁷. Dentro de los mecanismos de resistencia metabólica el más común incluye la detoxificación de PS por la sobreexpresión de enzimas citocromo P450. Las enzimas P450 (mezcla funcional de oxidasas, citocromo P450 monooxigenasas) son una compleja familia de enzimas establecida en la mayoría de los organismos. Las enzimas P450 juegan un papel importante en la adaptación de insectos a compuestos tóxicos de su planta hospedadora y están involucradas en el metabolismo de todos los insecticidas comúnmente usados. Sin embargo, en general las enzimas P450 median la detoxificación de otros compuestos especialmente PS ²⁸.

- d) **Insensibilidad del sitio de acción:** Modifica el sitio de acción al garrapaticida, con la finalidad de contrarrestar la toxicidad del ingrediente activo del producto químico. El proceso de resistencia más conocido ocurre con los Piretroides, en donde la garrapata resistente sufre una mutación en el gen de canal de sodio ¹.

4.4 Factores que influyen en la resistencia

Entre los factores que influyen en la resistencia de los ectoparásitos se pueden mencionar:

- a) **Genéticos.** Incluyen la frecuencia de alelos resistentes (R), número de alelos R, dominancia, penetración, expresividad e interacciones de alelos R ²⁹. La dominancia es un factor determinante sobre los genes que confieren resistencia. El grado de dominancia del gen influye en el incremento de individuos resistentes en una población bajo presión de selección. Cuando el alelo resistente fue recesivo, la población resistente incrementó después de nueve generaciones (F9), mientras que cuando el alelo fue dominante el incremento de individuos resistentes ocurrió en la generación F4 ²⁹.

- b) **Biológicos.** Incluyen aspectos bióticos de la plaga como número de generaciones, número de descendientes por generación, monogamia, poligamia, sobrevivencia fortuita y refugio. La presencia del refugio retarda el incremento en la frecuencia del alelo resistente, aparentemente ocurre porque algunos individuos susceptibles escapan al tratamiento, lo cual favorece a los alelos susceptibles perpetuarse en una población mayor ³⁰.
- c) **Operacionales del químico.** Incluye la naturaleza química del pesticida, el uso inicial de pesticidas, persistencia de residuos, formulación, tipo de aplicación, umbral de aplicación, umbral de selección, selección de estado de vida y selección alterna. Estos factores sí pueden ser controlados ²⁹.

4.5 Fases del desarrollo de la resistencia

El desarrollo de la resistencia se divide en tres fases ³¹:

Fase de establecimiento. Es cuando surge el alelo resistente en una población, habitualmente este proceso se efectúa por mutaciones naturales y en forma independiente a la presión de selección.

Fase de desarrollo. Es el aumento del número de individuos resistentes y ocurre por la tasa de sobrevivencia preferencial sobre los individuos susceptibles después del uso de productos químicos.

En este proceso pueden seguirse dos modos de selección:

- a) rápida, ocurre cuando el gen que confiere resistencia es dominante o parcialmente dominante y permite la selección de heterocigotos
- b) lenta, cuando los alelos son recesivos o son inefectivos en forma aislada.

Fase de emergencia. Ocurre por una elevada tasa de presión de selección, es una fase corta y el alelo resistente es lo suficientemente común en la población para manifestar una reducción de la efectividad del ixodicida ³¹.

5 NORMAS OFICIALES MEXICANAS CONTRA GARRAPATAS GÉNERO *Boophilus spp.*

5.1 Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1994

Campaña Nacional contra la garrapata *Boophilus spp.* Informa sobre la identificación de focos de resistencia de las garrapatas *Boophilus spp.* a productos de las familias de organofosforados y piretroides en unidades de producción de los estados de San Luis Potosí, Veracruz y Tabasco. Esta resistencia representa un alto riesgo, en virtud a la posibilidad de su difusión a zonas en control, erradicación o libres, lo que provocaría serias consecuencias en el combate químico del ectoparásito con el correspondiente impacto en la economía de los productores y en la exportación de ganado hacia otros países. Las garrapatas del género *Boophilus spp.* son ectoparásitos hematófagos que provocan graves alteraciones en los animales infectados, que inciden principalmente en la disminución de la producción de carne y leche, además de que al transmitir enfermedades, como la babesiosis bovina y la anaplasmosis, ocasionan la muerte y generan gran cantidad de animales improductivos. Ello, repercute desfavorablemente en la economía de la actividad ganadera. Asimismo, las condiciones ecológicas del país en las zonas tropicales y subtropicales, favorecen la infestación de los animales por las garrapatas del género *Boophilus spp.* ³².

5.2 Norma Oficial Mexicana NOM-006-ZOO-1993

Requisitos de efectividad biológica para los ixodicidas de uso en bovinos y métodos de prueba. Se refiere a las pruebas de laboratorio para evaluar la resistencia de garrapatas a ixodicidas. Los ixodicidas son productos químicos que pertenecen al grupo de los plaguicidas y por sus características de uso y aplicación son objeto de vigilancia por parte de diversas autoridades, a fin de garantizar al usuario su calidad y efectividad, dada su naturaleza tóxica, para prevenir los riesgos a la salud pública y los efectos adversos al medio ambiente ³³.

6 FORMAS DE DOSIFICACIÓN DE AGENTES GARRAPATICIDAS

6.1 Tópica

6.1.1 Baños de aspersión

Conjunto de instalaciones y equipo que consisten en un corral de acopio, manga acondicionada con tubos que contienen boquillas aspersoras a través de las cuales se hace circular el garrapaticida, a una presión constante, con la que se asegura que el producto se disperse por toda la superficie corporal del animal ³². Tiene la ventaja de que en cada tratamiento se puede usar líquido recientemente preparado con la correcta concentración de la sustancia activa, lo que asegura la máxima eficacia. La aspersión manual; es el método de mojado más simple y se utiliza cuando hay que bañar unos pocos animales, por lo general el equipo consiste en una bomba de aspersión manual ¹⁶.

6.1.2 Baños de inmersión

Conjunto de instalaciones en las que se realiza el tratamiento garrapaticida del ganado, consistente en un corral de acopio, manga, tina y escurridero. La tina corresponde al

depósito en donde se encuentra el garrapaticida por donde se sumerge totalmente al ganado ³².

Es el paso de animales por soluciones, suspensiones o emulsiones de garrapaticidas mantenidos en depósitos (baños) de 7, 000 a 10, 000 litros. Con este método se logra un completo mojado de todo el cuerpo del animal, lo que permite un perfecto contacto de la sustancia activa del garrapaticida con todos los estados evolutivos de las garrapatas. Su inconveniente reside en que se trata de una instalación fija y cara, hacia la cual se debe de acarrear a los animales. Durante los periodos de sequía esto produce en los animales una carga de estrés adicional ¹⁶.

6.2 Parenteral

6.2.1 Inyectable o implantes

Productos inyectables o epicutáneos que al absorberse y alcanzar niveles sanguíneos, tienen un efecto de control contra la garrapata ³². Es el método más comúnmente usado para endectocidas y puede administrarse por vía intramuscular o subcutánea.

Los productos usados así, presentan por lo regular efectos de largo plazo con tratamiento con lapso de 30 días o más. Uno de los requerimientos para este tipo de formas de liberación, es que los activos debe de ir en dosis muy bajas, usualmente en mcg/kg de peso. Generalmente al hablar del uso para ectoparásitos, se requieren dosis altas en mg/kg de peso para lograr una eficacia. Las limitaciones que tiene las inyecciones y los implantes son el tamaño o volumen requeridos ¹⁹.

6.3 Enterales

6.3.1 Bolos

El sistema digestivo del ganado, provee interesantes posibilidades para la administración de sistemas de liberación. En la mayoría de los casos, los bolos constan de cuatro componentes básicos: una tableta osmótica compuesta de una sal y un hidrogel hinchable (figura 8).

El activo que contiene el vehículo se encuentra en el centro del bolo. Un elemento metálico con un orificio de salida es localizado en la parte superior final. Estos tres elementos están revestidos por una cápsula semipermeable y rígida. En el rumen del animal el agua permea la cápsula, originando que el elemento osmótico sal - hidrogel se hinche y fuerce al activo y al vehículo a pasar a través del orificio de salida y dentro del compartimento rumino- reticular del estómago del animal¹⁹.

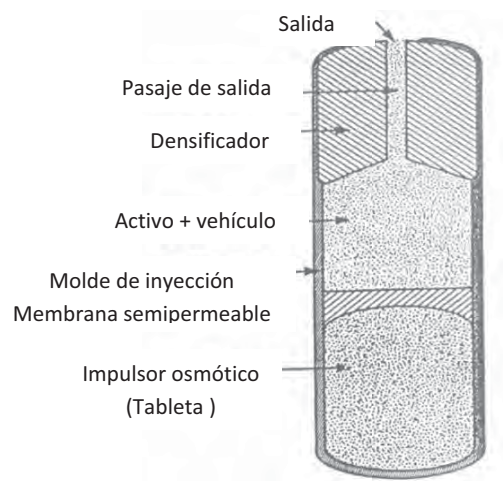


Figura 8. Componentes de la administración parenteral (bolos) ³⁴.

6.4 Aplicación cutánea o epicutánea

6.4.1 Pour on

Ixodícidas que se aplican directamente sobre la línea media dorsal de los animales, distribuyéndose por todo el cuerpo, alcanzando los lugares en donde se encuentran las garrapatas ³².

Consiste en derramar el producto sobre la línea media dorsal del bovino desde la cruz hasta la base de la cola (figura 9). Esta técnica se recomienda en el caso de vacas preñadas o con crías, en lugares donde no existan facilidades para el manejo de los animales, ya que ofrece las siguientes ventajas: se puede adherir sobre la superficie del cuerpo del bovino, las secreciones de las glándulas sudoríparas y sebáceas forman una emulsión que actúa como vehículo para aumentar la distribución dérmica de la sustancia activa, las formulaciones actúan sobre los parásitos por contacto y por medio de los vapores que emanan, formando una atmósfera que rodea al cuerpo del animal tratado ¹⁶. La concentración del ingrediente activo en un *pour on* es considerablemente más alto que en un spray o implante. Hay dos tipos generales de formulaciones: el primer tipo lleva a cabo la difusión del activo sobre la piel tanto como sea posible. El segundo tipo, lleva a cabo una liberación sistémica utilizando como ruta la vía tópica. En el primer tipo se incorporan solventes, surfactantes y agentes propagantes, causando que el activo migre desde el punto de aplicación a regiones distales del animal, disminuyendo su viscosidad por acción del incremento de temperatura del cuerpo del bovino. La eficacia de este producto es altamente dependiente del vehículo, ya que al ser formulaciones generalmente semisólidas, el vehículo toma un papel importante, debido a que debe de presentar características con las cuales se presente un incremento en el tiempo de permanencia en la piel, lo cual provocaría un incremento en la actividad terapéutica ³⁴.



Figura 9. Forma de aplicación del *pour on*.

Los solventes utilizados en este tipo de formulaciones son el xileno (por sus buenas propiedades de disolución) y el dipropilen glicol metil éter o varios petrolatos. El segundo tipo de *pour on* presenta una forma de dosificación tópica, el cual muestra buenos resultados de absorción. Se entiende que las propiedades fisicoquímicas de las barreras de absorción en el sitio blanco del animal son muy importantes, el entendimiento de éstas ayudaría al diseño de formas de dosificación tópicas que incrementaría la absorción del ingrediente activo. El ganado bovino, ovejas y otros animales secretan un sebo aceitoso, esto es necesario para una formulación que contiene un solvente orgánico, un surfactante y /o un agente de absorción a menos que la droga sea soluble o miscible en el sebo. El sebo empieza a emulsificar con el sudor hasta que el poro del folículo está lleno, así como la piel del animal y las partes por debajo del pelo. La composición química de la emulsión varía de animal a animal, y con factores como la estación del año y el clima ³⁴.

6.4.2 Spot on

Usualmente la concentración del activo es más alta que en los *pour on*. Consecuentemente, estos productos incrementan el riesgo de absorber materiales tóxicos. Estos pueden ser específicamente formulados con promotores de absorción. Los *spot on* son aplicados en uno o dos lugares en el lomo del animal con una localización en

donde no pueda ser lamida por el animal. La ventaja de estos productos radica en su rápida y fácil aplicación y no existe el requerimiento de cubrir la parte media o total del animal ³⁴.

6.5 Accesorios

Son dispositivos por lo general elaborados a base de plástico o Policloruro de vinilo (PVC) los cuales contienen el pesticida impregnado y su eliminación es paulatina y sostenida, a partir del sitio de aplicación alcanzan todo el cuerpo del animal. Se han utilizado en este tipo de dispositivo: Amidinas, Piretroides, Organofosforados y mezclas tanto para el ganado lechero como el destinado al a producción de carne ¹⁶.

Dentro de estos accesorios se pueden encontrar: cauchos posteriores, bolsas insecticidas, tarjetas de oreja, pescuezo y cola (figura 10). Los primeros métodos de control para el tratamiento de la plaga en ganado son los cauchos posteriores y las bolsas insecticidas. Los cauchos posteriores son fabricados de materiales absorbentes y son tratados periódicamente con una solución aceitosa de pesticida, lo colocan de tal forma cuando el ganado camina permita que el tratamiento se lleve a cabo con el roce del aparato en la espalda y otros sitios del animal. Ocurre algo similar cuando el polvo insecticida es colocado dentro de las bolsas insecticidas, el ganado es empolvado cuando estos caminan, las bolsas que se encuentran suspendidas rozan con la cabeza y el lomo. En cada uno de estos casos una pequeña cantidad de pesticida fue liberada a intervalos frecuentes. Además el ganado aprendió a usar los aparatos en respuesta a la irritación causada por las plagas.

La introducción de los marcadores en orejas representa una mayor innovación en el control de los ectoparásitos en ganado. En 1960 Harvey y Brethour utilizando tiras de cloruro polivinílico impregnado con organofosforados para utilizarlos en los collares o en las tarjetas que se colocan en las orejas. La liberación continua desde el polímero controlaba a la plaga llamada *mosca de los cuernos* por un periodo de una semana a un

mes. Subsecuentemente, se desarrollaron tarjetas de orejas con piretroides, como peregriina, fenvalerato, cialotrina, ciflutrina y cipermetrina ¹⁹.

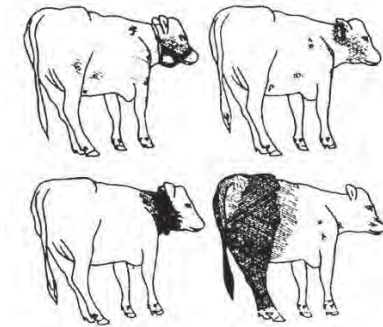


Figura 10. Dispositivos utilizados para el tratamiento de ectoparásitos (de izquierda a derecha superior): correa, tarjeta de oreja, collar y caucho posterior ¹⁹.

Desde que se comenzaron a utilizar las tarjetas de orejas con organofosforados como diazinón, metil pirimosfos, fentión y etiión comenzó un fuerte problema de resistencia encontrado con piretroides. Cada tarjeta presenta una figura y un color para su fácil identificación. Los pesticidas se difunden desde la superficie de la tarjeta donde estos son rozados encima del pelaje del animal que está en contacto con el parásito. Parte de la estrategia de control sigue el comportamiento de la plaga, el pesticida puede ser colocado en otros sitios en donde haya contacto con la plaga. Las tarjetas tienden a perder su efectividad cuando se ha liberado el 50% del activo ¹⁹.

6.6 Sistemas de liberación

El propósito de formular un fármaco dentro de una forma de dosificación de liberación controlada en veterinaria es para producir un producto en el cual el fármaco se libere en un tiempo predeterminado y cumpla con las condiciones terapéuticas veterinarias.

Los sistemas de liberación controlada veterinarios son, por necesidad innovadores en sus diseños y en sus formulas, debido a los requisitos en la liberación del fármaco o el

medio en el cual se encontrará en una última instancia. Comparando los productos de liberación controlada en humanos, los productos veterinarios son diseñados para liberar el fármaco en periodos muy largos (semanas o meses comparados con horas o días). El medio en el cual el sistema de liberación es colocado puede ser áspero (rumen, el cual contiene componentes abrasivos, elevadas presiones y largos volúmenes de fluido, etc.). Muchas veces pueden ser expuestas a elevadas temperaturas y humedad asociada con la administración por largos periodos.

La mayoría de los sistemas de liberación veterinaria son fabricados con polímeros los cuales presentan historias de biocompatibilidad, son biológicamente inertes, tienen aprobación regulatoria y no son caros. Tales polímeros pueden ser biodegradables o no biodegradables, los cuales pueden ser utilizados en varios hidrogeles tales como el copolímero hidroxietil metacrilato metil metacrilato, alcohol polivinílico, etc.³⁵.

Un gran número de técnicas se han desarrollado para simular la liberación de un fármaco contenido en preparaciones tópicas. En los últimos años las pruebas de liberación han sido reconocidas como uno de los métodos más usados para evaluar comprimidos y cápsulas. El equipo y los procedimientos empleados en la disolución de estas formas farmacéuticas han sido debidamente estandarizados³⁶. En los sistemas de dosificación semisólidos incluyendo, las cremas, ungüentos y geles, actualmente no existen pruebas de disolución incluidas en monografías de la Farmacopea de los Estados Unidos (USP) para este tipo de bases. Para la prueba de liberación *in vitro* para productos semisólidos se utilizan las celdas de difusión de Franz, dicha prueba incluye la selección de un método de ensayo, volumen de difusión de la celda, selección de una membrana apropiada, naturaleza del medio receptor, parámetros relacionados del equipo, como velocidad de agitación y temperatura además de un método de validación. El medio receptor debe tener una alta capacidad de disolver el fármaco, manteniendo condiciones sink³⁷.

Se han hecho numerosos estudios al respecto, pero tal parece que casi sin excepción cada uno ha representado de diferente manera el sistema constituido por la fase donadora en la cual se encuentra el fármaco y la fase receptora. Poulsen en 1968 estudió la liberación de corticosteroides a partir de preparaciones tópicas usando cajas de Petri de 10 cm de diámetro y 5 mm de profundidad. La caja se llenó completamente con el vehículo y se colocó en el fondo de un vaso con 200 ml de isopropil miristato a 37°C. Una propela con un ancho aproximado al diámetro del contenedor produjo una agitación de 40 rpm ³⁸.

Chen-Chow y Sylvan G. Frank realizaron un estudio de la liberación *in vitro* de xilocaína contenida en polímeros desarrollando un modelo en donde no utilizaban membrana (idea tomada del experimento desarrollada por Poulsen en 1968), estando el vehículo en contacto directo con el medio de disolución (isopropil miristato). Colocaron el semisólido en un disco de 3 cm de diámetro y 0.7 cm de altura y éste a su vez dentro del medio de disolución con una temperatura de 30°C y agitación de 90 rpm. Armstrong y cols. en 1988 desarrollaron un modelo para simular la liberación *in vitro* de fármacos contenidos en medios oleosos. El aparato que usaron fue el "Simulador de Absorción Santoruis" modificado, este aparato consistió en dos compartimientos separados por una membrana de nitrato de celulosa que previamente se sumergía en isopropil miristato, de un lado de la membrana se colocó la base haciendo circular de ese mismo lado el agua, del otro lado de la membrana se hizo circular solución amortiguadora de McIlvaine a pH 6.4. Se midió el grado de difusión del fármaco a través de la membrana hacia la solución amortiguadora ³⁶.

7 SISTEMAS SEMISÓLIDOS

7.1 Definición

Las preparaciones farmacéuticas semisólidas pueden ser definidas como un producto previsto para la aplicación en la piel o en las membranas mucosas y algunas veces tiene efectos sistémicos desde el sitio de aplicación. En general las dosificaciones semisólidas son formulaciones complejas que tienen elementos estructurales complejos ³⁹.

7.2 Propiedades reológicas

La reología o ciencia de la deformación de la materia se ocupa preferentemente de la deformación de los cuerpos aparentemente continuos y coherentes, pero con frecuencia también trata de la fricción entre los sólidos, el flujo de los polvos, etc.

Existen dos obstáculos para la clasificación reológica: la diversidad de los materiales existentes: sólidos, líquidos, gaseosos y semisólidos, con propiedades reológicas intermedias. El segundo obstáculo deriva del distinto comportamiento que cualquier producto ofrece al variar las condiciones.

Un concepto involucrado en la reología es la deformación, el cual es un fenómeno que experimenta la materia al ser sometida a algún tipo de fuerza ejercida sobre una superficie. La deformación es proporcional a la fuerza que la produce, pero también existe una fuerza que se opone a ésta presión que es la que produce la recuperación de la forma en el sólido ideal ⁴⁰.

Si hablamos de un líquido, este puede denominarse flujo. La viscosidad es una propiedad física que presenta el fluido y que está relacionada con el flujo del mismo, en donde entra lo que se llaman esfuerzo cortante o tensión de cizalla, así se puede definir

a la viscosidad como la resistencia o fricción que un fluido presenta al movimiento, es decir, la viscosidad es la resistencia de un líquido a fluir.

La reología estudia el flujo y la deformación de la materia, en los geles se estudia, en las soluciones de agentes gelificantes, agentes de dispersiones sólidas o agentes que producen típicamente floculación, pseudoplasticidad, exhibiendo un flujo no newtoniano caracterizado por el decremento de la viscosidad incrementándose la ruptura de la tensión de cizalla. Los líquidos no newtonianos son por lo general muy complejos y constan de más de una fase aunque los geles pueden considerarse como fases únicas. Una de las fases es continua y otra discontinua. Cualitativamente la reología de un sistema disperso depende de las propiedades de la fase continua, de la fase dispersa y de la interacción entre ambas ⁴⁰.

7.3 Geles

7.3.1 Definición

Los geles son sistemas semisólidos, que contiene una matriz polimérica (ya sean gomas naturales o sintéticas) entrecruzada y organizada tridimensionalmente suspendidas en un líquido ³⁸, retenidos a través de la adición de un agente gelificante ³⁹. Generalmente contiene una baja concentración del polímero, (menos del 10%, usualmente entre 0.5 - 2%, según el polímero) ³⁹. Los geles son un estado intermedio de la materia conteniendo componentes sólidos y líquidos ³⁹.

La USP define a los geles como un sistema semisólido compuesto por pequeñas partículas inorgánicas o por grandes moléculas orgánicas interpenetradas por un líquido ⁴¹.

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), se define un gel como una preparación semisólida que contiene el o los principios activos o aditivos constituidos por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite que forman una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas ⁴².

7.3.2 Características generales

Los geles presentan un aspecto parecido al de una gelatina transparente, sin embargo, algunos de estos geles principalmente de origen natural llegan a presentar una coloración beige a café, en los geles sintéticos la coloración es transparente a blanca.

Una de las principales características de un gel, está dada por la formación de éste en presencia de agua, así como su formación en otros disolventes como pueden ser alcohol, aceites, etc. Conforme disminuye la temperatura en el gel, éste se contrae y las cadenas se atraen más, con ello disminuye el volumen libre del espacio entre las moléculas hasta que el material se pone rígido, vítreo y frágil, aquí se origina la cristalización.

Muchos geles, particularmente los polisacáridos naturales son susceptibles a la degradación microbiana por muchos microorganismos, esencialmente por hongos. La incorporación de un conservador previene la contaminación.

Los geles pueden hincharse, absorbiendo líquido, con esto se incrementa el volumen del mismo. El disolvente penetra en la matriz del gel, la interacción gel - gel es reemplazada por interacción gel - disolvente, es decir, el hinchamiento se da entre cada una de las subcadenas que forman el gel ⁴⁰.

7.3.3 Ventajas

Algunas de las ventajas que presentan los geles son:

- a) Son atractivos al consumidor, ya que presentan una imagen limpia, pura y natural.
- b) Proporcionan una sensación fresca y no grasosa, permitiendo el contacto de los ingredientes activos con la piel sin ocluirla.
- c) Su preparación es un procedimiento sencillo de realizar.
- d) Posee buen espesamiento y eficiente suspensión de partículas insolubles ⁴³.

7.3.4 Clasificación

1) Según el número de fases en que están constituidos:

- a) Geles monofásicos: consisten en macromoléculas orgánicas, uniformemente distribuidas a través de un líquido, de manera que no existan límites aparentes entre las macromoléculas dispersas y el líquido. Los geles monofásicos pueden obtenerse de macromoléculas sintéticas, por ejemplo los carbómeros o de gomas naturales como el tragacanto, estas últimas preparaciones también se denominan mucilágenos. Si bien los geles generalmente son acuosos, pueden utilizarse alcoholes o aceites como fase continua. El medio líquido lo constituye una sola fase o líquidos miscibles; agua-alcohol, solución hidroalcohólica, aceite, etc.

- b) Geles bifásicos: La masa del gel consiste en una red de partículas pequeñas separada del gel. Como el gel de hidróxido de aluminio, en donde las partículas se encuentran dispersas en la fase líquida y son relativamente grandes. Constituidos por dos fases líquidas inmiscibles, formándose una estructura transparente con propiedades de semisólido ⁴⁰.

2) De acuerdo a su fase continua:

- a) Geles hidrofílicos (hidrogeles): Son aquellos que presentan una fase acuosa continua. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten de agua, glicerol y propilenglicol gelificados con un agente convenientemente gelificante semejante al tragacanto, almidón, derivados de celulosa, polímeros de carboxivinil y silicatos de magnesio y aluminio.

- b) Geles hidrofóbicos (organogeles): Son aquellos que su fase continua es un solvente orgánico. Preparaciones cuyas bases usualmente consisten de parafinas líquidas como polietileno o de aceites grasos gelificantes como silica coloidal y aluminio o agentes jabonosos de aluminio o zinc ⁴⁰.

3) De acuerdo a sus propiedades:

- a) Geles químicos: Son aquellos que tienen entrecruzamientos mediante enlaces covalentes. Por lo tanto, éstos no se disolverán tan fácilmente en agua u otros disolventes orgánicos a menos que el enlace covalente sea roto. Existen dos perspectivas para la modificación de los geles químicos. La primera consiste en que el gel químico puede ser hecho mediante monómeros del polímero solubles en agua en presencia de agentes que rompan fácilmente el enlace covalente. La segunda perspectiva es la de romper los enlaces covalentes mediante típicas reacciones químicas orgánicas que involucren a los grupos funcionales de los polímeros.

- b) Geles físicos: Involucran interacciones no covalentes, es por ello que para que la estructura de un gel quede determinada van a intervenir diversas propiedades físicas, entre ellas el trabajo físico, el cual va a establecer el desarrollo de la continuidad del gel y del desorden, para que exista una relación entre asociaciones de fuerzas capaces de formar entrecruzamientos no covalentes.

Estas interacciones incluyen puentes de hidrógeno, asociaciones iónicas, interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, entrecruzamientos por segmentos cristalinos y complejación del disolvente ⁴⁰.

7.3.5 Propiedades de transición

Las propiedades de transición que presentan los geles:

a) Punto de gel (transición sol - gel)

Puede ser dependiente del polímero o la temperatura. La concentración de gelificación crítica es la concentración en la cual no se forma ningún gel bajo condiciones experimentales ³⁹. Muchos polímeros tienen una tendencia a formar agregados en soluciones diluidas o geles en soluciones moderadamente concentradas. Con los cambios de temperatura las moléculas de polímero se mueven libremente en una distribución espacial al azar en solución siendo ligados por entrecruzamientos no covalentes para la formación del gel. Los geles físicos que tienen la capacidad de formar, romper y/o modificar los enlaces responsables de mantener a la red polimérica unida en función de un cambio de temperatura son llamados geles termoreversos ⁴⁰.

b) Sinéresis

Es el proceso en donde el líquido es liberado espontáneamente desde la matriz del gel. Esta inestabilidad se presenta principalmente por cambios en las condiciones externas. En el equilibrio las fuerzas de contracción elásticas en las cadenas del polímero usualmente son balanceadas por fuerzas de hinchazón de los solventes, resultando un diferencial de presión osmótica ⁴⁰. Con cambios de temperatura la presión osmótica cambia, causando una contracción elástica en las cadenas del polímero y ocasionando con ello que el líquido salga fuera de la matriz ³⁹.

La sinéresis no está limitada a hidrogeles orgánicos, ha sido también vista en hidrogeles inorgánicos. Típicamente la sinéresis se vuelve más pronunciada cuando la concentración del polímero decrece. El mecanismo de contracción ha sido relacionado con la relajación de la tensión elástica ⁴⁰.

7.4 Emulgeles

7.4.1 Definición

Los emulgeles son emulsiones (o/w ó w/o), que son gelificadas por la incorporación de un agente gelificante. Poseen las propiedades de una emulsión y las propiedades del gel, por lo tanto se han utilizado recientemente como vehículos. Presentan una amplia aceptabilidad para su administración ⁴³.

8 PIEL BOVINA

8.1 Características de piel bovina

El término **tegumento común** comprende la piel con su cubierta de pelo y una variedad de glándulas cutáneas, nervios, vasos sanguíneos y linfáticos, fibras musculares y partes especializadas, las pezuñas, pichicos y cuernos.

La piel rodea por completo el cuerpo rellenando los huecos y redondeando las formas. Se fusiona con las membranas mucosas en los orificios naturales, cumpliendo en el bovino las siguientes funciones:

- a) Protección mecánica frente al desgaste superficial, amortiguando los traumatismos externos.
- b) Protección frente a la invasión de microorganismos patógenos.
- c) Propiedades antibacterianas y antifúngicas por el pH ácido y los ácidos grasos de sus secreciones.

- d) La continua descamación de las capas superficiales provoca la eliminación de organismos transitorios y potencialmente infecciosos. La flora normal de la piel se recupera rápidamente a partir de la población residual.
- e) Protección a la penetración de agentes nocivos químicos.
- f) Repelencia ectoparasitaria de ácaros, moscas, mosquitos.
- g) Protección a los tejidos internos de las radiaciones solares, en particular de los rayos ultravioletas.
- h) Termorregulación corporal, expeliendo o reteniendo el calor para mantener la temperatura constante y dentro de márgenes muy estrechos (38° C).
- i) Órgano sensitivo del calor, frío, tacto y dolor.
- j) Prácticamente impermeable al agua, impidiendo que el cuerpo se seque, con pérdida de electrolitos y otras sustancias vitales.
- k) Secreción de sudor y sebo.
- l) Elaboración de la vitamina D.
- m) Penetración por la piel de ciertas sustancias que pueden emplearse como vehículos para administrar medicamentos 45.

8.2 Composición química

La piel está integrada por:

a) **Proteínas:**

- 1) **Queratina** es la capa externa epidérmica y en pelos, pezuñas, pichicos y cuernos, conteniendo los aminoácidos leucina, alanina, tirosina y cistina. Está constituida por cadenas polipépticas que se mantienen unidas en forma fibrosa por enlaces disulfuro de cisteína. La resistencia a los solventes y a las enzimas está asociada con el denso empaquetamiento de estas cadenas polipeptídicas. Los grupos sulfidrilos de la epidermis se transforman en grupos disulfuro en el estrato córneo.

2) **Colágenos**, que integran la mayor parte de la dermis, contienen, entre otros, los aminoácidos alanina, serina y ácido aspártico. Son muy importantes en el curtido del cuero.

3) **Elastina**, que origina las fibras elásticas de la piel;

4) **Mucinas, albúminas y globulinas**.

b) **Minerales**: fósforo, azufre, magnesio, sodio, hierro, aluminio, silicio

c) **Agua**: en proporción del 60 al 65 % ⁴⁵.

8.3 Capas de la piel

El grosor de la piel varía según la especie y según el sitio del cuerpo donde esté ubicada. La piel de los bovinos y porcinos es la más gruesa, mientras la del equino y canino es delgada ⁴⁶. La piel es espesa, flexible, extensible y de colores claro (rosado) u oscuro (negro), y como la de otras especies, consta de: la epidermis, dermis e hipodermis (tejido subcutáneo) ⁴⁵ y estructuras anexas: folículo piloso y pelo, glándulas sebáceas y sudoríparas, etc. ⁴⁶ (figura 11).

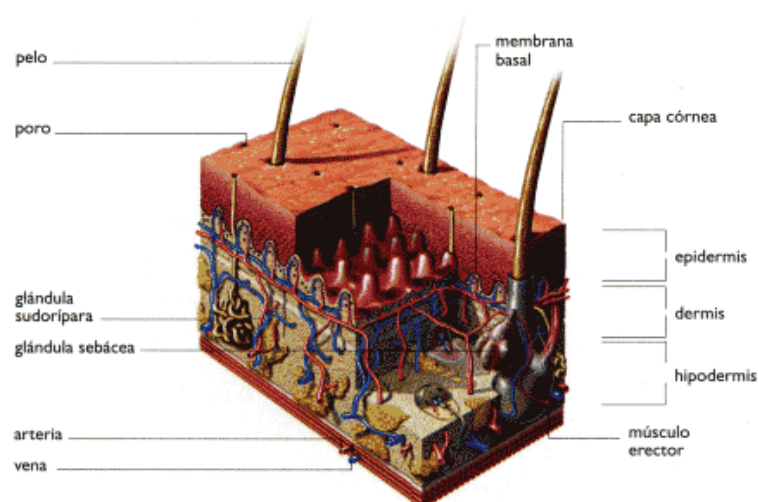


Figura 11. Capas de la piel ⁴⁵.

La piel es más delgada en las axilas y en el abdomen y más gruesa en espalda, dorso y lomo. La dermis es la que más contribuye a la diferencia de espesor. De acuerdo a la región, se adhiere a las partes que recubre de una manera más o menos íntima. Está más firmemente unida en las superficies óseas que en las musculares, y es más móvil en cuello, tórax y abdomen que en los miembros.

Las formaciones cutáneas, tales como el pelo, glándulas sebáceas y sudoríparas, cuernos y pezuñas crecen directamente a partir de la epidermis, aunque en el caso de las estructuras más grandes, tales como cuernos y pezuñas, la dermis contribuye con elementos de soporte ⁴⁵.

8.4 Epidermis

En la figura 12 se observa los estratos que constituyen a la epidermis:

- a) Estrato basal o germinativo
- b) Estrato mucoso de Malpighi o espinoso
- c) Estrato lúcido (la piel bovina no lo presenta)
- d) Estrato granuloso
- e) Estrato córneo ⁴⁷

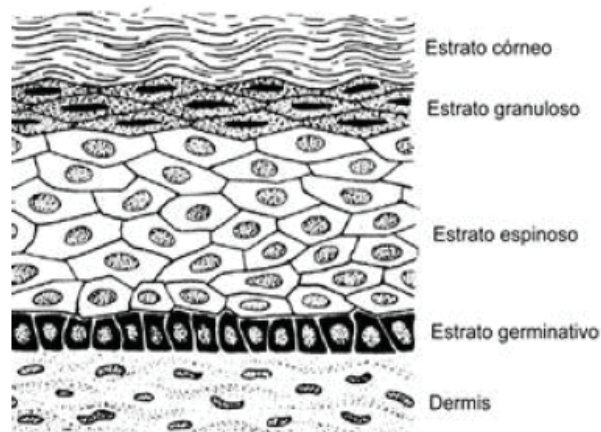


Figura 12. Esquema de estratificación de la epidermis bovina ⁴⁸

a) Estrato basal o germinativo

(germinar = reproducirse)

Consta de una sola capa de células cilíndricas, que se reproducen constantemente para reponer las células que se pierden en las capas epidérmicas más externas. Se adapta íntimamente a las irregularidades de la dermis por lo que tiene una superficie mucho mayor que la del cuerpo ⁴⁵. Consta de dos tipos de células: queratinocitos y melanocitos (productores de la melanina, principal pigmento de la piel) ⁴⁹.

b) Estrato mucoso de Malpighi o espinoso

Sus células se achican y se separan, aunque quedan conectadas entre sí por puentes intercelulares o filamentos protoplasmáticos (desmosomas) ⁴⁵.

c) Estrato lúcido

Es una angosta capa hialina que se presenta sólo en algunas regiones de la piel de ciertas especies ⁴⁵. Son células aplanadas sin núcleo ni perfiles definidos. Está presente solamente en zonas muy queratinizadas y sin pelo (hocico, almohadillas plantares) ^{46,49}.

d) Estrato granuloso

Las células contienen gránulos queratohialínicos dispersos, que corresponden al inicio del proceso de queratinización (cornificación) ⁴⁶.

e) Estrato córneo

Consistente en varias capas de células muertas, delgadas, escamosas, que han perdido sus núcleos y que están queratinizadas densamente con la proteína fibrosa queratina, sustancia córnea en la cual se ha transformado la queratohialina. Este estrato córneo en el bovino es muy fino y frágil, como es común en los animales con pelo, a tal punto que no puede separarse de las otras capas de la piel ⁴⁵.

8.5 Características de la epidermis

- No tiene nervios ni vasos sanguíneos
- Se renueva constantemente
- Se nutre con oxígeno y nutrimentos que se encuentran en las capas inferiores
- Tiene infinidad de receptores sensoriales ⁴⁷.

8.6 Dermis

Bajo la epidermis se encuentra la dermis, compuesta en gran medida por haces de colágeno muy compacto y fibras elásticas, cuya función es dar a la piel resistencia y elasticidad ⁴⁵. Está muy ricamente vascularizada e inervada. También posee glándulas sudoríparas y sebáceas ⁴⁶. La dermis está constituida por el estrato papilar, el más superficial en contacto con la epidermis, y el estrato reticular, más profundo en contacto con el subcutáneo. En el bovino están claramente individualizados en morro, labios y pezuñas, pero no en el resto de la superficie corporal ⁴⁵.

8.7 Hipodermis

Inmediatamente debajo de la dermis aparece un tejido subcutáneo conectivo, hipodermis, endodermis o subcutis. Formado por tejido conectivo laxo y grasa. Varía en cantidad de acuerdo a la ubicación ⁴⁶.

El tejido conjuntivo subcutáneo sirve como depósito de grasa, formando una capa adiposa o panículo adiposo. La capa adiposa subcutánea constituye tanto para los vasos sanguíneos y linfáticos como para los nervios una protección actuando como almohadilla elástica contra las presiones externas ⁴⁷. El espesor del tejido subcutáneo varía según la localización ⁴⁴. Es muy abundante donde la piel es muy móvil (la piel del perro, por ejemplo) y ausente donde es estática (labios, párpados, pezones) ⁴⁵.

8.8 Anexos de la piel del bovino

a) Folículo piloso

Es una diminuta fosa de donde nace el pelo. En su parte más interna presenta un bulbo o matriz del pelo, y una papila dérmica, donde penetran los vasos sanguíneos. Las glándulas sebáceas y sudoríparas apocrinas vierten su contenido al folículo ⁴⁶.

b) Pelo

El pelo es una columna flexible de células epiteliales queratinizadas agrupadas entre sí. En el extremo proximal del folículo se encuentra el músculo erector del pelo, de acción involuntaria estimulada por el frío ⁴⁶. Debido a su naturaleza fibrosa y gruesa suministra gran protección contra cortes, abrasiones, agresiones térmicas y por radiación e irritación química. Es un filtro eficaz y aislante, ya que pocas sustancias contactan realmente con la piel ⁴⁵.

Cada pelo consta de tallo, punta y raíz. Se divide en médula, corteza y cutícula escamosa ⁴⁵.

Aunque los pelos de los animales presentan multitud de formas, existen tres clases de pelo:

- A) Pelos de guarda, de protección o primarios:** Son rectos y rígidos. Dan una cubierta alta, impermeable al agua. Cada pelo nace de un folículo piloso ⁴⁶.
- B) Pelos lanosos o secundarios:** Proporcionan una subcubierta suave. Son finos, ondulados, más cortos y numerosos, por lo que están escondidos ⁴⁶. El folículo carece de glándulas ⁵⁰.
- C) Pelos táctiles:** Son más gruesos y sobrepasan a los pelos de guarda. Se encuentran en la cara labio superior e inferior, alrededor de los ojos y el mentón. Posee folículos más grandes y profundos con terminaciones nerviosas que responden a estimulación mecánica ⁴⁶.

c) Glándulas sudoríparas

En animales el sudor tiene una función protectora, que incluye el control de los microorganismos, prevención del daño por fricción, prevención de la acumulación de productos de desecho en la sangre y producción de feromonas ⁴⁶. La secreción sudorípara desempeña un importante papel en la regulación de la temperatura y en la excreción ⁴⁵.

Las glándulas sudoríparas se clasifican en:

- a) Apocrinas: descargan su secreción dentro de los folículos del pelo. Su función básica es la termorregulación ⁴⁶. La secreción es degradada por bacterias, que forman sustancias que producen el olor característico del cuerpo ⁴⁵.
- b) Ecrinas: descargan su secreción directamente sobre la piel, en zonas sin pelo. Se cree que su función tiene que ver con la marcación del territorio ⁴⁶.

d) Glándulas sebáceas

Producen una secreción grasa (sebo) que lubrica e impermeabiliza la piel y el pelo, facilita la difusión del sudor, retrasa el crecimiento bacteriano y sirve como marcador territorial ⁴⁶.

9 ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

El estrato córneo es una barrera predominantemente lipofílica, de igual manera es la principal barrera de permeación para la absorción percutánea ³⁸. Podemos definir la absorción percutánea de una sustancia como la suma de dos fenómenos que son, por una parte, su penetración desde el medio exterior hasta el seno de la piel externa y, por otra, su transporte a partir de las estructuras cutáneas, por circulación sanguínea o

linfática. El término percutánea indica que el paso se realiza a través de toda la epidermis y que la absorción puede tener lugar en los distintos niveles de la dermis. La aplicación tópica de un fármaco sobre la piel, puede llevarse a cabo por diferentes procesos ⁵¹:

- a) Adsorción: el fármaco queda retenido en la superficie de la piel, principalmente por uniones fisicoquímicas, a componentes cutáneos de elevado peso molecular (queratina, melanina, etc).
- b) Permeación: consiste en el paso del fármaco a través de la piel por difusión desde una capa histológica a otra estructuralmente distinta.
- c) Absorción: la absorción es el proceso que sufre el fármaco, tras su aplicación sobre la piel, para acceder a circulación sistémica ⁵².

Los fármacos pueden difundir a través del estrato córneo vía transepidermal o a través de los apéndices presentes en la piel (folículos pilosos y glándulas sudoríparas) ³⁸. De acuerdo con ello, pueden considerarse dos vías fundamentales para explicar el paso de los fármacos a través de la piel:

- a) *Transepidérmica*, es decir, a través del estrato córneo ⁵², el cual puede tener lugar por la matriz lipídica en la que se encuentran embebidos los corneocitos (vía intracelular) o a través de los corneocitos (vía transcelular). La contribución relativa de éstas vía depende de la solubilidad, el coeficiente de partición y la difusividad del fármaco entre las proteínas y las fases lipídicas.
- b) *Transpendicular*:
 - i) Transfolicular (folículos pilosos y glándulas sebáceas)
 - ii) Transsudorípara (conductos y glándulas sudoríparas) ⁵³.

La vía a través de los apéndices normalmente contribuye solamente con un porcentaje limitado del perfil cinético de liberación transdérmico de un fármaco ³⁸. La absorción de

un principio activo depende de la velocidad de disolución en el medio biológico y sus características fisicoquímicas (pKa, coeficiente de reparto, estabilidad, etc) ⁵¹.

9.1 Propiedades fisicoquímicas que afectan la absorción percutánea

Entre las propiedades fisicoquímicas que afectan la absorción percutánea se encuentran:

a) Peso molecular, tamaño molecular, punto de fusión: están directamente relacionados con el paso del fármaco a través de la piel. En general, en cuanto menores son esos valores, más fácil es el paso del fármaco a través de la piel ⁵³.

b) Coeficiente de reparto (C.P.): se define como sigue;

$$C.P. = C_s / C_v$$

Donde: C_s = concentración del fármaco en el estrato córneo.

C_v = concentración del fármaco en el vehículo.

Un bajo coeficiente de partición indica una gran afinidad entre el fármaco y el vehículo y refleja la tendencia del fármaco a permanecer en él. Si el coeficiente de partición es alto, el fármaco es mucho más soluble en el estrato córneo y esto implica que en el equilibrio la concentración de fármaco en las capas superiores del estrato córneo será mayor que en el vehículo.

El grado de difusión de un fármaco a través de la piel depende directamente del coeficiente de partición y de la concentración de fármaco disuelto en el vehículo., la absorción percutánea puede verse fácilmente alterada modificando la solubilidad del fármaco en el vehículo al alterar la composición del mismo o modificar la estructura del fármaco ³⁶.

Fármacos con un coeficiente de reparto n- octanol/ agua inferior a 0.1 no serán candidatos a ser administrados por vía transdérmica. Los fármacos idóneos serían aquellos cuyo coeficiente de reparto n- octanol / agua éste comprendido entre 10 y 100.

- c) pK_a : Condicionará, en función del pH de la formulación, la fracción no ionizada presente de fármaco que, *a priori*, es la forma que más posibilidades tiene de penetrar a través de la piel ⁵³.

9.2 Difusión pasiva a través de membrana lipídica

La mayoría de las moléculas se absorben en piel a través de difusión pasiva ⁵².

La difusión pasiva de un no electrolito en ausencia de un flujo estacionario se expresa mediante la primera ley de difusión de Fick como:

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

Donde: J es el flujo

D es el coeficiente de difusión

dC/dx es el gradiente de concentración a través de una distancia x .

Esta primera ley de la difusión de Fick puede usarse para describir la permeación de fármacos a través de la piel. Sin embargo, el gradiente de concentración no puede medirse con facilidad, pero puede aproximarse mediante el producto del coeficiente de permeabilidad (P_s) y la diferencia de concentración a través de la piel (C_s).

El flujo transdérmico en el estado estacionario J_s a través de la barrera de la piel estará expresado como:

$$J_s = P_s C_s$$

Donde: P_s es el coeficiente de permeabilidad ($P_s = K D/h$)

Donde: K es el coeficiente de partición.

h es el espesor de la piel.

La cantidad acumulada de fármaco a través de la piel (Q_t) queda dado por:

$$Q_t = K D C_s/h (t - h^2/ 6D)$$

Donde: C_s es la concentración del reservorio saturado cuando las condiciones sink se mantienen en la solución receptora ⁵³.

La velocidad de absorción a través del tegumento no es constante desde el principio puesto que siempre se observa un periodo de latencia. El periodo de latencia representa el tiempo necesario para la penetración de la sustancia al interior de las estructuras córneas y para el establecimiento de un gradiente de difusión. Este tiempo es variable de un compuesto a otro; el periodo de latencia se determina cuando se extrapola la línea del estado estacionario al eje del tiempo, el valor de latencia, t_L se obtiene por el intercepto a $Q = 0$.

$$t_L = h^2/ 6D$$

Donde: t_L es el periodo de latencia

h es el espesor de la membrana

D constante de difusión de la membrana en las estructuras cutáneas. Se define como el número de moles del fármaco que difunden a través de una unidad de área cuando el gradiente de concentraciones es también la unidad; sus dimensiones son área/tiempo.

El intercepto (t_L) es una medida del tiempo que le toma al fármaco alcanzar un gradiente de concentración constante a través de la piel. El tiempo de latencia comúnmente se utiliza para el análisis de datos de permeación de experimentos *in vitro* con la técnica de dosis infinita, donde la piel separa un reservorio de dosis infinita de fármaco en el lado donador y las condiciones sink en el receptor. El flujo en el estado estacionario se calcula a partir de la pendiente del perfil de permeación lineal, mientras que el intercepto

proporciona el tiempo de latencia de difusión. El coeficiente de difusión puede calcularse, entonces, de la ecuación:

$$Q_t = K D C_s / h (t - h/ 6D)$$

Conociendo la concentración en la fase donadora, el espesor de la barrera de permeabilidad de la piel y midiendo el coeficiente de partición ³⁸.

Debe señalarse que la aplicación de la ley de Fick a los estudios de permeabilidad cutánea solo puede realizarse respetando ciertas condiciones:

- a) flujo (dQ/ dt) constante
- b) integridad del tegumento respectivo concentración
- c) C_1 (concentración en el donador) de la sustancia aplicada, pequeña y constante, a lo largo del todo el estudio.
- d) medio receptor en el compartimento dérmico renovado, no saturado ³⁸.

III.OBJETIVOS

1 Objetivo General

Desarrollar y evaluar dos sistemas de liberación controlada de aplicación tópica (gel y emulgel) conteniendo ivermectina, con el fin de poder disponer de nuevas y mejores formas de dosificación que permitan mejorar el control de la infestación de la garrapata *Boophilus microplus*.

2 Objetivos Particulares

- ✓ Desarrollar sistemas semisólidos garrapaticidas estables con propiedades de formación de películas bioadhesivas.
- ✓ Caracterizar los sistemas semisólidos garrapaticidas mediante evaluaciones de tamaño de glóbulo, estabilidad, reología y capacidad de formación de películas bioadhesivas.
- ✓ Evaluar la cinética de disolución y permeación en piel de bovino *in vitro* de la ivermectina para los sistemas semisólidos propuestos.

IV. MATERIAL Y REACTIVOS

- ✓ Acetona (grado reactivo Fermont, México)
- ✓ Agua destilada (Obtenida del equipo Milli-Q, Millipore)
- ✓ Brij 58® (Polioxietilenado 20 cetílico éter) (Canamex, México)
- ✓ Carbopol 940 (Acido poliacrílico) (Noveon, México)
- ✓ Etanol (grado reactivo Fermont, México)
- ✓ Glicerina (Droguería Cosmopolita, México)
- ✓ Ivermectina (Globe Chemicals, México)
- ✓ Metanol (grado reactivo Fermont, México)
- ✓ Miristato de Isopropilo (Droguería Cosmopolita, México)
- ✓ Miglyol® 840 (Propilenglicol Dicaprilato / Dicaprato) (Abitec, España)
- ✓ Pemulen TR- 1 (Acido poliacrílico) (Noveon, México)
- ✓ Pemulen TR- 2 (Acido poliacrílico)(Noveon, México)
- ✓ Pluronic® F-68 (Sigma, USA.)
- ✓ Transcutol (Dietilenglicol monoetil éter) (Noveon, México)
- ✓ Trietanolamina (Baker, México)
- ✓ Tween® 80 (Polisorbato 80) (Droguería Cosmopolita, México)
- ✓ Tween® 60 (Polisorbato 60) (Droguería Cosmopolita, México)
- ✓ Span® 80 (Monoleato de sorbitán) (Droguería Cosmopolita, México)
- ✓ Span® 60 (Monoestearato de sorbitán) (Droguería Cosmopolita, México)

V. MATERIAL BIOLÓGICO

- Piel de becerro, obtenida después de que los animales fueron sacrificados, sin pasaje por vapor.

VI. APARATOS Y EQUIPOS

- ✓ Agitador de velocidad variable (RZR-1, Caframo®, Alemania)
- ✓ Agitador Magnético Magnestir® (Lab- Line instruments, USA)
- ✓ Aparato de disolución (Elaborado en el Laboratorio de Posgrado en Farmacia, FES- Cuautitlan)
- ✓ Balanza analítica (BBC 32, Boeco, Alemania)
- ✓ Celdas de difusión tipo Franz (Taller soplado de Vidrio, FES- Cuautitlan)
- ✓ Espectrófotometro UV-Vis (Varian, Cary IE95031003, Australia)
- ✓ Filtros (Millex® diámetro de 2.5 cm de diámetro y poro de 0.45 µm, Millipore, USA)
- ✓ Instron (Instron 4411, USA)
- ✓ Zetaziser Coulter (N4 Plus, Beckman, USA)
- ✓ Parrilla eléctrica con agitador (Cimarec®, Thermoline, USA)
- ✓ Potenciómetro (Modelo 430)
- ✓ Recirculador de líquidos con termostato (Termostato VWR Scientific, USA)
- ✓ Tensiómetro de Du Noüy modificado (CENCO Du noüy, Alemania)
- ✓ Termómetro digital
- ✓ Ultracentrífuga Optima (LE- 80K ,Beckman, USA)
- ✓ Vernier (Digitix Fowler y NSK, Japón)
- ✓ Viscosímetro Brookfield (Modelo RFV, Stoughton, MA)
- ✓ Vortex (Mixer, modelo M 16715, USA)

- ✓ Material de cristalería

VII. METODOLOGÍA

La figura 13 resume las determinaciones previas, el desarrollo y evaluación de los sistemas semisólidos elaborados.

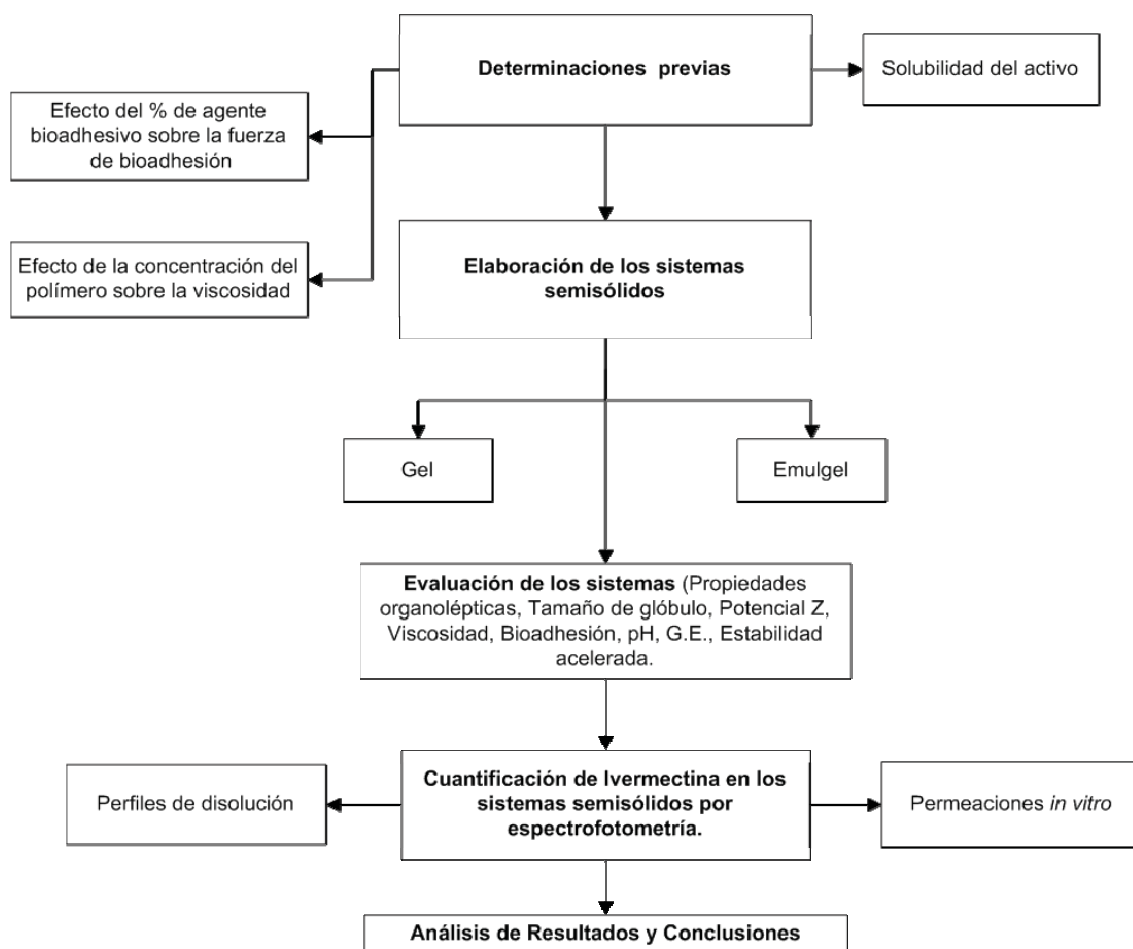


Figura 13. Diagrama de flujo experimental.

7.1 Solubilidad del principio activo

Para esta determinación se colocaron 20 mg de IVM en 5 ml de diferentes sustancias: triglicéridos de cadena media, transcitol, miristato de isopropilo, aceite mineral. Se agitó con vortex cada uno de los tubos durante 5 minutos, lo cual asegura su disolución, a una temperatura de 45°C, agregando 20 mg de IVM consecutivamente hasta la saturación (enturbiamiento o precipitado en el fondo del tubo).

Se llevó a cabo de igual forma, la determinación de la solubilidad del activo en mezclas de Transcitol / Agua (80:20, 70:30, 60:40, 50:50, 40:60, 30:70, 20:80). Se colocaron 20 mg de IVM en 5 ml de cada una de las mezclas a una temperatura de 45°C, agregando 20 mg consecutivamente hasta saturación (enturbiamiento de la solución o precipitado en el fondo del tubo).

De igual forma, la determinación de la solubilidad de IVM se realizó en una solución de Brij® 58 al 3% en agua (p/v) para utilizar como medio en las pruebas de cinética de disolución y permeaciones. Se colocaron 20 mg del activo en 5 ml de la solución a una temperatura de 45°C con agitación por 12 horas, agregando 10 mg consecutivamente hasta la saturación (enturbiamiento de la solución o precipitado en el fondo del tubo). Posteriormente se efectuó una prueba de solubilidad de una mezcla de triglicéridos de cadena media/ solución Brij® 58 al 3% en agua (p/v) con la finalidad de conocer la cantidad de IVM disuelta en cada sustancia para conocer la cantidad de IVM que se solubiliza en cada sustancia, colocando inicialmente 20 mg de IVM en 5 ml de triglicéridos de cadena media a una temperatura de 45°C con agitación por 24 horas y posteriormente se adicionaron 5 ml de solución Brij® 58 al 3% en agua (p/v) en las mismas condiciones. Se centrifugó la muestra a 3000 rpm por 5 minutos, se separó la solución de Brij® 58 al 3% (p/v) y se leyó la muestra. La concentración de IVM contenida en la solución de Brij® 58 al 3% (p/v) se obtuvo en base a la curva de calibración.

7.2 Métodos de elaboración de los sistemas semisólidos

7.2.1 Pruebas previas para la formulación del gel

7.2.1.1 Bioadhesión

Se prepararon geles de Carbopol 940 a diferentes concentraciones (3, 5, 7 y 10% p/v) en agua, neutralizando a pH= 7.0, con una solución de TEA al 10% (v/v). Se midió la bioadhesión del gel con el tensiómetro de Du Noüy modificado (figura 14) el cual fue diseñado originalmente para medir la tensión superficial de líquidos por medio de un anillo sostenido al brazo de tensión. Dicho anillo fue sustituido por una placa metálica, un soporte plástico con tornillos en cada una de las esquinas, en medio de la platina y en el soporte se introdujo el fragmento de piel bovina asegurándola con tuercas para evitar su movimiento ⁵⁴. El filamento original fue sustituido por una cuerda similar a la de un piano ⁵⁵. El fragmento de piel se colocó con el pelo hacia la parte superior, sujetándola como se mencionó anteriormente. Se colocó una delgada capa de gel en la platina y posteriormente se colocó la piel en contacto con el gel; una vez fijos, se comenzó a subir la plataforma metálica y el nivelador pasó la raya del espejo, dejándose así 30 segundos. Después de esto se bajó la base metálica hasta que el nivelador coincidió con la marca del espejo, se comenzó a dar vuelta al dial muy despacio. Al momento que se desprendió la membrana de la platina, se dejó de girar el dial y se tomó la lectura con respecto a la escala vernier. La prueba se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

Para ésta medición se utilizó piel bovina (recientemente sacrificado, < 24 horas). Se aislaron porciones de 5 cm² de piel utilizando un bisturí (quitando todo el músculo y tejido adiposo), obteniendo únicamente la dermis y epidermis, sin retirar el pelo (ya que es fundamental para el estudio). Posteriormente se congeló la piel, sin embargo no se utilizó piel congelada por más de 3 días.

7.2.1.3 Formulación propuesta para el gel

En un vaso de precipitados de 250 ml se mezcló Transcutol/ Agua en una proporción 60:40, con el principio activo (IVM) y se agitó con barra magnética a 45°C, hasta la disolución del activo (30 - 45 min). Se fueron añadiendo paulatinamente 5g de Carbopol 940 con agitación con ayuda de un agitador de velocidad variable y una propela tipo serrata para una mejor homogenización. Una vez agregado todo el polímero bioadhesivo, se calentó el gel formado a 45°C para la incorporación total del polímero y nuevamente se agitó con el agitador de velocidad variable con una hélice marina para su homogenización.

Una vez que el gel se encontró a temperatura ambiente, se adicionó lentamente TEA hasta un pH= 5.0.

7.2.2 Pruebas previas para la formulación del emulgel

7.2.2.1 Bioadhesión

Se preparó un gel de polímero a una concentración al 10% (p/v) neutralizando a pH= 7.0, con una solución de TEA al 10% (v/v), agitando de forma manual. Posteriormente, se pesaron varias porciones con 50g del gel de polímero realizado y se añadieron a cada una de éstas porciones, una cantidad diferente de Glicerina (0.5 - 170g), agitando de igual forma. Se realizó una curva de Bioadhesión vs gramos de Glicerina, utilizando para la medición el tensiómetro de Du Noüy modificado, midiendo la bioadhesión sobre piel bovina como se explicó anteriormente en el apartado 7.2.1.1. La finalidad que tiene ésta prueba es determinar la cantidad de Glicerina con la cual el gel presenta la mayor bioadhesión. Las pruebas se realizaron por triplicado.

7.2.2.2. Viscosidad

Para determinar ésta propiedad se preparó el gel al 10% (p/v) en el punto que presentó una mayor bioadhesión (polímero 10% / 71g de cosolvente). Se pesaron varias porciones con 50g de dicho gel y se adicionó una cantidad diferente de etanol a cada porción (0 - 400 ml). Se llevó a cabo una curva de viscosidad vs. ml de etanol agregado. Las mediciones se hicieron con el viscosímetro Brookfield (Modelo RVF), con la aguja N°.7. Se midió la fuerza de corte a velocidad de cizalla de 20 rpm. Para la obtención de viscosidad, se utilizaron tablas de conversión.

La finalidad de ésta prueba era disminuir la viscosidad del gel formado y una vez aplicado sobre la piel, éste se evaporara y mantuviera su viscosidad inicial manteniendo inmóvil al ectoparásito (garrapata), sin embargo no fue posible mantener la viscosidad y se descartó la prueba utilizando etanol.

7.2.2.3. Selección de la fase oleosa y surfactante

Se efectuaron formulaciones con diferente fase oleosa y surfactantes (tabla 7):

Tabla 7. Formulaciones efectuadas bajo prueba y error.

Sistema	Componentes (Fase oleosa - surfactantes)	% de surfactantes
1	IPM- Tween® 80	5
2	IPM - Tween® 60 y Span® 60	5
3	IPM - Tween® 80 y Span® 80	5
4	IPM - Tween® 80 y Span® 80	10
5	IPM - Pluronic® F-68	5
6	TCM - Tween® 80 y Span® 80	5
7	TCM - Tween® 80 y Span® 60	5
8	TCM - Pluronic® F-68	5

Tabla 7 (cont.). Formulaciones efectuadas bajo prueba y error.

Sistema	Componentes (Fase oleosa - surfactantes)	% de surfactantes
9	TCM - Pluronic® F-68	7
10	TCM - Pemulen TR-1(autoemulsificante)	0.4
11	TCM - Pemulen TR-2(autoemulsificante)	0.1
12	TCM - Pluronic® F-68/ Transcutol	5 y 10 respectivamente

Debido a que se prepararon formulaciones de emulgel bajo prueba y error, se utilizaron diferentes fases oleosas, así como también diversos surfactantes, por tal motivo se prepararon varios sistemas (tabla 7), utilizando diferentes procedimientos para cada uno. Para la preparación de los emulgeles de los sistemas 1, 2, 3, 4, 6 y 7, se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

a) Fase Oleosa

Se disolvió el activo (IVM) en TCM ó IPM como fase oleosa, de acuerdo al sistema que se preparo (tabla 7), se agito con una barra magnética a una temperatura de 45°C hasta su disolución (30 - 45 min). Se adicionó el surfactante (Span® 80 ó 60) a la misma temperatura, homogeneizando con una barra magnética.

b) Fase acuosa

Se colocaron 10g de Carbopol 940 en 100 ml de agua destilada y se dejó humectar por 24 h. Posteriormente se homogenizó con un agitador de velocidad variable con una propela tipo serrata para la formación de un gel sin aire.

Posteriormente, en un vaso de precipitados se mezclaron el gel de Carbopol 940, la glicerina y el agua destilada. Se mezclo con un agitador de velocidad variable con hélice marina hasta la homogenización de los componentes.

Se pesó la cantidad necesaria de ésta solución y se agregó el surfactante (Tween® 80 ó 60), homogenizando la solución y calentando a 45°C. Se adicionó lentamente y con agitación TEA para la neutralización del emulgel.

c) Formación del emulgel

Se mantuvo la fase acuosa con agitación y se fue adicionando poco a poco la fase oleosa, hasta su incorporación total (ambas fases estaban a 40°C). Se continuó la agitación hasta temperatura ambiente.

Para la preparación de los sistemas de los emulgeles (5, 8, 9, 10, 11 y 12), se llevó a cabo el procedimiento descrito en el apartado 7.2.2.4, variando la fase oleosa o el surfactante utilizado, de acuerdo al sistema elaborado (tabla 7). Para los sistemas de emulgeles 10 y 11, se agregó directamente el surfactante sin previa disolución, ya que este presenta propiedades autoemulsificables.

7.2.2.4. Formulación propuesta para el emulgel

En base a la mejor estabilidad (no separación) se seleccionó la formulación, la cual se describe a continuación:

a) Fase Oleosa

Se disolvió el activo (IVM) en Triglicéridos de cadena media agitando con una barra magnética a una temperatura de 45°C hasta su disolución (30 - 45 min).

b) Fase acuosa

Se colocaron 10g de Carbopol 940 en 100 ml de agua destilada y se dejó humectar por 24 hrs. Se homogenizó con un agitador de velocidad variable con una propela tipo serrata para la formación de un gel de Carbopol 940.

Posteriormente, en un vaso de precipitados de 250 ml se mezclaron el gel de Carbopol 940, la glicerina y el agua destilada, para la obtención de un gel biodhesivo que es el cual le confiere esta propiedad al emulgel. Se homogeneizó con un agitador de velocidad variable y una hélice marina hasta la unificación de los componentes.

Se pesó la cantidad necesaria de el gel bioadhesivo previamente preparado y se agregó el Pluronic® F-68, el cual se encontraba disuelto con anterioridad en la mínima cantidad de agua destilada, se homogeneizó nuevamente con agitador de velocidad variable y se agregó posteriormente el Transcutol, agitando la solución y calentando a 45°C. Posteriormente se adicionó la TEA.

c) Formación del emulgel

Se mantuvo la fase acuosa con agitación y se fue adicionando poco a poco la fase oleosa, hasta su incorporación total (ambas fases estaban a 40°C). Se continuó la agitación hasta temperatura ambiente.

El procedimiento para la formación del emulgel, se resume esquemáticamente en la figura 15:

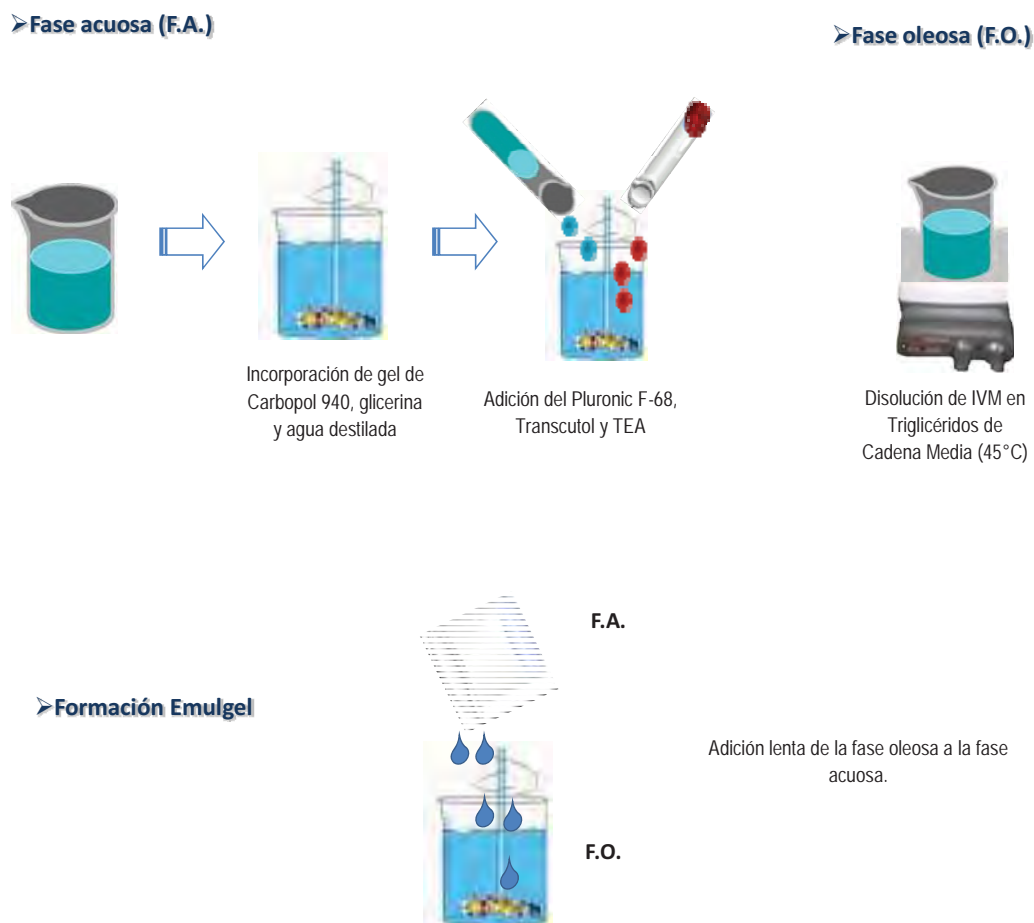


Figura 15. Representación esquemática de la preparación del emulgel.

7.3 Evaluaciones previas para la cuantificación del activo

7.3.1 Espectro de absorción

Se llevó a cabo una prueba de solubilidad previa para la IVM en solución de Brij 58® al 3% en agua (p/v) (apartado 7.1). Se determinó la longitud de onda (λ) de máxima absorción en la misma solución anterior. De igual forma se determinó la longitud de onda (λ) de máxima absorción para la IVM en metanol. Los barridos se hicieron de 200 a 400 nm.

7.3.2 Curvas de calibración

- *Curvas de calibración en Brij[®]58 en agua (p/v) a altas concentraciones*

Se preparó una curva de calibración por triplicado, utilizando como medio de disolución una solución de Brij[®] 58 al 3% en agua (p/v). Se llevó a cabo de la siguiente manera: se preparó una solución stock de IVM de 200 µg/ml y a partir de ésta se tomaron alícuotas para una gama de concentraciones adecuada.

- *Curvas de calibración en Brij[®]58 en agua (p/v) a bajas concentraciones*

Se preparó una curva de calibración a bajas concentraciones debido a que las cantidades cuantificadas del analito en los estudios de permeación eran bajas y en la curva anterior no se podían interpolar estos datos. Se preparó por triplicado, utilizando como medio de disolución una solución de Brij[®] 58 al 3% en agua (p/v). Se llevó a cabo de la siguiente manera: se obtuvo una solución stock de IVM de 100 µg/ml y a partir de ésta se tomaron alícuotas para una gama de concentraciones adecuada.

- *Curvas de calibración en metanol*

Se preparó, una curva de calibración por triplicado, utilizando como medio de disolución metanol. Se llevó a cabo de la siguiente manera: se preparó una solución stock de 100 µg/ml y a partir de ésta se tomaron alícuotas para una gama de concentraciones adecuada.

Los sistemas se leyeron a la longitud de onda de máxima absorción para la IVM por espectrofotometría UV. Se procedió hacer el análisis de los datos de las curvas de calibración.

7.4 Evaluaciones a los sistemas semisólidos

7.4.1 Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos

Se observaron las muestras por un periodo de un mes para ambos sistemas. Tomando en cuenta propiedades físicas como: color, olor, textura y consistencia.

7.4.2 Bioadhesión

Se midió éste parámetro con el tensiómetro de Du Noüy modificado como se describió en el apartado 7.2.1.1. , se realizaron las mediciones por triplicado. De igual forma se midió la bioadhesión con el sistema de prueba tensión/compresión Instron (Figura 16). El cual se fundamenta en la ley de Hooke, la cual describe que la deformación elástica que sufre un cuerpo es proporcional a la fuerza que produce tal deformación, siempre y cuando no se sobrepase el límite de elasticidad para cada sistema. Haciendo la comparación de ambos resultados. Se compararon los diferentes resultados obtenidos para el tensiómetro de Du Noüy modificado y el sistema de prueba tensión/compresión Instron.

Para esta determinación se utilizó piel de becerro. Se aislaron porciones de 10 cm² de piel, utilizando un bisturí (quitando todo el músculo y tejido adiposo), obteniendo únicamente la dermis y epidermis, sin retirar el pelo (ya que es fundamental para el estudio).

Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

- Longitud de despegue/ tiempo: 1.0 mm/ min
- Tiempo de contacto: 10 min
- Longitud total: 10 mm



Figura 16. Sistema de presión / compresión Instron.

7.4.3 Carga superficial

Se determinó el potencial Z del emulgel con ayuda del Zetasizer Malvern Systems ZEN 3600 (viscosidad de 0.8872 cP, constante dieléctrica de 79 y un índice de refracción de 1.330, temperatura de 25°C y una longitud de onda (λ) de 633 nm) utilizando una celda de capilar doblado, el medio de dispersión fue agua destilada. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

Para la determinación del potencial Z, la técnica utilizada es la electroforesis, la cual obtiene el potencial Z a partir de la ecuación de Henry:

$$U_E = \frac{2 \xi z f(ka)}{3\eta}$$

Donde:

U_E = movilidad electroforética

z = potencial Z

ξ = constante dieléctrica

η = viscosidad

$f(Ka)$ = función de Henry

Se utilizan dos valores para Ka:

1.5 = medio acuoso y concentración moderada de electrolitos. También se conoce como aproximación de Smoluchowski. (Partículas > 200nm, en concentración de sales > 10⁻³ M).

1.0 = medios no acuosos, partículas pequeñas en medios con constante dieléctrica baja. También se conoce como aproximación de Huckel ⁵⁶.

7.4.4 Tamaño de glóbulo para el emulgel

Se utilizó la técnica de dispersión dinámica de la luz (espectroscopía de correlación de fotones). La determinación de los tamaños del glóbulo fueron obtenidos con ayuda del Zetasizer Malvern Systems ZEN 3600. Para la muestra de emulgel se utilizó agua destilada como medio de dispersión, todas las lecturas se realizaron a 25°C y una longitud de onda de 633 nm, utilizando una celda de cuarzo con apertura redonda, con un ángulo de incidencia del rayo láser de 180° y una viscosidad de 0.8872 cP⁵⁷. Las determinaciones se hicieron por triplicado.

7.4.5 Viscosidad

Las mediciones se llevaron a cabo con el viscosímetro Brookfield (Modelo RVF), con la aguja N°.7. Se midió la fuerza de corte a diferentes velocidades de cizalla (2, 4, 10, 20 rpm). Las medidas se hicieron por triplicado por periodo de un mes, cada siete días. Para la obtención de viscosidad, se utilizaron tablas de conversión.

7.4.6 pH

Se midió el pH con el potenciómetro calibrando con un buffer de fosfatos (pH=7.0). Las mediciones se hicieron durante un mes, cada siete días, leyendo directamente sobre las muestras que se encontraban a temperatura ambiente, tanto para el gel como para el emulgel.

7.4.7 Gravedad específica

La gravedad específica de ambos sistemas se determinó utilizando un picnómetro metálico, estas determinaciones se hicieron por triplicado para cada muestra, por un periodo de un mes.

7.4.8 Estabilidad

Se siguió la estabilidad de los sistemas a temperatura ambiente, colocando 80 ml de las muestras (gel y emulgel) en frascos cerrados de cristal por periodo de un mes, observando de forma cualitativa las características organolépticas.

7.4.9 Estabilidad acelerada

Se llevaron a cabo dos pruebas:

- a) Prueba de centrífuga: se ejecutó en la Ultracentrífuga Optima LE- 80K a 10000 rpm por 10 min. Se realizó por un periodo de un mes, cada siete días, (únicamente para el emulgel).
- b) Prueba en estufa (40°C): se colocaron las muestras en frascos cerrados de cristal por periodo de un mes.

7.5 Perfiles de liberación

Para determinar los perfiles de liberación se prepararon tres lotes de cada uno de los sistemas semisólidos (gel y emulgel) con una carga de activo de 125 mg. De cada uno de ellos se pesaron 25 g en el contenedor del aparato de disolución realizado diseñado específicamente para la prueba. Sobre la muestra se colocó una malla N° 50 cuya única función fue mantener el área de exposición constante evitando que la base se dispersara en el medio.

Como medio de disolución se empleó una solución de Brij 58® al 3% en agua (p/v) a 37°C con un volumen de disolución de 300 ml. La velocidad de agitación durante la disolución fue de 100 rpm. Se tomaron muestras de 3 ml reponiendo un volumen igual con este medio de disolución fresco a los 5, 15, 30, 60 minutos y posteriormente cada hora hasta completar un total de 74 horas, tomando únicamente muestra las primeras 9 horas de cada día., corrigiendo por efecto de dilución. La finalidad de reponer el volumen con medio fresco es mantener las

condiciones “sink” del sistema, teniendo como dato que el activo presenta una solubilidad de 6 mg/ml en solución Brij® 58 al 3 % y corrigiendo por efecto de dilución.

Las muestras de la disolución se leyeron al espectro en la región UV a la longitud de onda de máxima absorción.

7.5.1 Cuantificación del fármaco retenido en la base

Se determinó la cantidad de principio activo remanente en la base después de la disolución, colocando 1g de la muestra en 10 ml de una solución de Brij ® 58 al 3% (p/v). La muestra fue agitada por 12 horas con una barra magnética en un frasco vial. Posteriormente, se filtró por gravedad y se diluyó 2 ml de muestra en 50 ml de medio y se procedió a leer a la longitud de máxima absorción del activo.

Se efectuó por triplicado para cada uno de los sistemas (gel y emulgel). La concentración se obtuvo con base en la curva de calibración respectiva.

7.6 Cinética de permeación

Se montaron en las celdas de permeación tipo Franz, piel de becerro con 1.5 cm de diámetro. Colocando en el compartimento donador 5 g de la muestra (emulgel o gel) y en el compartimento receptor 19 ml de solución de Brij® 58 al 3% en agua (p/v). Las celdas se incorporaron en un baño María a 37°C con agitación constante, se retiraron los 19 ml del compartimento receptor a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 horas. Reponiendo un volumen igual con medio de disolución fresco.

Cada muestra que se recolectó se analizó por espectrofotometría UV a la longitud de onda de máxima absorción. Se determinó la permeación para cada uno de los sistemas (gel y emulgel) por sextuplicado corriendo un control para cada formulación. La cuantificación de las muestra se obtuvo con base en la curva de calibración correspondiente.

7.6.1 Método de extracción de ivermectina retenida en la piel.

Se retiró la piel de cada una de las celdas después de las permeaciones, se lavó y posteriormente se cortó en finas porciones las cuales se colocaron en un vaso de precipitados de 50 ml, se agregaron 20 ml de metanol, se taparon, y cada uno de los sistemas se mantuvo en agitación constante durante 20 horas.

Posteriormente, se pasó la solución por un filtro de 0.45 micras y se leyó la muestra a la longitud de máxima absorción del activo. La evaluación se realizó por sextuplicado. La concentración se obtuvo con base a la curva de calibración correspondiente.

VIII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1. Solubilidad del principio activo

A partir de esta prueba se determinó la solubilidad de la IVM en diferentes sustancias para conocer en cual de éstas presentaba el activo una mayor solubilidad, considerando que dicha medio sería utilizado como la fase oleosa en el emulgel. La solubilidad que presentó el activo en los triglicéridos de cadena media (tabla 8), permitió utilizar dicho aceite como fase oleosa para la formulación del emulgel y el transcutool fue utilizado como un agente promotor de permeación. Así mismo se determinó la solubilidad de IVM en metanol, el cual sería utilizado como medio en las pruebas durante de permeación en piel bovina.

Tabla 8. Solubilidades experimentales en diferentes sustancias.

Solubilidades experimentales			
Triglicéridos de cadena media (TCM)	Miristato de Isopropilo (IPM)	Transcutol	Metanol
18mg/ ml	14mg/ml	660mg/ml	130 mg/ml

Como la IVM presentó una alta solubilidad en transcutool, se utilizó para preparar el gel, sin embargo, se llevó a cabo la solubilidad de IVM en mezclas transcutool/agua, ya que para que el polímero se humecte es necesario tener una alta cantidad de agua para este caso. Se ha demostrado que la permeación de algunos fármacos se mejora si se disuelven en un agente promotor como el transcutool utilizado en ésta experimentación, sin embargo, un sistema solvente binario que incluye el agua se utiliza a veces para obtener un coeficiente más favorable de la partición entre la piel y el solvente. Esto es porque el transporte de agua de la piel a la solución de aceite podría influenciar la permeación del activo. En primer lugar, porque se acepta generalmente que las sustancias que aumentan la hidratación, en la mayoría

de los casos, promueven la absorción del activo: los humectantes tales como el glicerol o el propilenglicol pueden absorber el agua de la piel, aumentando el contenido de agua en el estrato córneo y por lo tanto disminuyendo su resistencia. En segundo lugar, porque un cambio en la composición del donador puede influenciar la solubilidad del activo y su actividad termodinámica. Además, se ha demostrado que un vehículo puede alterar el grado de absorción de una sustancia debido a su propia penetración. La penetración del agente de permeación puede alterar temporalmente las características de la barrera por el reemplazo de las moléculas de agua en el estrato córneo con las del agente de permeación. Por otra parte, un alto índice de penetración del agente de permeación en o a través de la piel aumentaría la penetración del fármaco ⁵⁸.

De acuerdo a los resultados obtenidos (tabla 9), se utilizó como medio de disolución para el gel una mezcla de transcitol/ agua en una proporción 60:40, debido a la cantidad necesaria requerida para disolver los 500 mg de IVM que se requerirían en la formulación (apartado 8.2.1.3.).

Tabla 9. Solubilidades experimentales en mezclas agente promotor/ agua.

Solubilidades experimentales	
Proporción transcitol/ agua	Solubilidad
30:70	no solubiliza, forma precipitado a 45°C
40:60	no solubiliza, forma precipitado a 45°C
50:50	solubiliza 6 mg/ml
60:40	solubiliza 100mg/ml
70:30	solubiliza 360mg/ml

La solubilidad de la IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua (p/v) fué de 6 mg/ml, considerando que este medio será el utilizado para las pruebas de disolución y permeación como solución receptora. Debido a la insolubilidad que presenta la IVM en la mayoría de los disolventes, el utilizar un surfactante como medio de disolución tiene la finalidad de

incrementar la solubilidad del activo de modo que se asegure con ello las condiciones *sink* durante los estudios de disolución y permeación. La prueba que se llevó a cabo con la muestra de triglicéridos de cadena media /solución Brij® 58 al 3% en agua (p/v) se realizó con el propósito de conocer la cantidad que era soluble en cada fase y con ello asegurar que la lectura de la IVM durante los estudios de disolución y permeación.

Todas las determinaciones de solubilidad se llevaron a cabo a una temperatura de 45°C, con la finalidad de evitar la descomposición de la IVM y obtener la máxima solubilidad para cada sustancia utilizada.

8.2. Métodos de elaboración de los sistemas semisólidos

8.2.1. Pruebas previas para la formulación del gel

8.2.1.1. Bioadhesión

Se midió la fuerza de bioadhesión entre las soluciones de polímero utilizado y el tejido biológico. Esta prueba se realizó, debido a que la principal característica de las formulaciones desarrolladas es la bioadhesión. La principal ventaja de los sistemas adhesivos es la posibilidad de incrementar el tiempo de residencia *“in situ”*, esto reduce el número de aplicaciones. Idealmente la formulación puede ser retenida en una superficie biológica y el activo puede liberarse para la absorción con un consecuente aumento en la biodisponibilidad ⁵⁹.

Tabla 10. Resultados de la fuerza de bioadhesión para diferentes concentraciones de gel.

Concentración (%) polímero	Fuerza de bioadhesión (kN)			Promedio	δ (+/-)
10	0.126	0.121	0.133	0.127	0.006
7	0.098	0.101	0.105	0.101	0.003
5	0.076	0.085	0.083	0.081	0.004
3	0.071	0.080	0.078	0.076	0.004

La bioadhesión puede ser definida como un estado donde dos materiales, uno de naturaleza biológica, son unidos por largos periodos de tiempo por una fuerza interfacial. Esto incluye todo tipo de fenómenos de adhesión entre células. Un bioadhesivo es cualquier macromolécula o material hidrocoloide el cual pueda ser capaz de interactuar y ser retenido por un tejido biológico. Esta adhesión puede ser atribuida a múltiples interacciones como fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno y fuerzas electrostáticas; esto depende de la naturaleza de la superficie del tejido ⁵⁴. Para que la bioadhesión ocurra, se requiere de una sucesión de eventos: primero se da un íntimo contacto entre el bioadhesivo y el tejido receptor, este contacto requiere de una buena humectación, para permitir la relajación de las cadenas poliméricas; segundo se da la penetración del agente bioadhesivo con el tejido, pudiendo situarse entonces enlaces químicos débiles y/o interacciones fisicoquímicas⁵⁵. Se puede observar que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero utilizado para la elaboración del gel y la bioadhesión obtenida (tabla 10), esto es debido a que como se mencionó anteriormente, al aumentar la cantidad de polímero en el gel, existe una mayor cantidad de cadenas poliméricas hidratadas y por lo tanto, la bioadhesión es mayor. Los datos registrados en la tabla 10, nos muestran que no existe una diferencia significativa entre los valores obtenidos, por lo tanto, la concentración de elección, se encontró influenciada por la viscosidad de los sistemas anteriores (aparatado 8.2.1.2.); eligiendo el gel con una concentración al 5 % del polímero. Para corroborar estos resultados, se realizó un análisis de varianza (Tabla 33) el cual nos indica que existe una relación directamente

proporcional entre la concentración del polímero y la bioadhesión obtenida, La finalidad del análisis fue conocer la concentración óptima de polímero con la cual se obtendrían las mejores propiedades de bioadhesión, debido a que una de las principales características de los sistemas semisólidos desarrollados es impedir el movimiento de las garrapatas, siendo de ésta forma más susceptible el contacto con la ivermectina.

8.2.1.2. Viscosidad

En general los geles se caracterizan por ser sustancias viscosas. Al aumentar el peso molecular de los polímeros o su concentración, la viscosidad también aumenta ⁶⁰. En la figura 17 se puede observar que a mayor cantidad utilizada de polímero mayor es la viscosidad del gel. El análisis de varianza corrobora estos resultados, lo cual nos muestra que existe una relación directamente proporcional entre la concentración del polímero y la viscosidad (Tabla 34).

Se eligió el gel con una concentración al 5% del Carbopol 940 (p/v) en agua, debido a que se pretendía obtener un sistema con una viscosidad capaz de poder tener diversas características, entre éstas: administrarse de forma fácil y práctica, alto poder de manipulación durante su formulación. Las viscosidades con concentraciones de polímero al 7% y 10% (p/v) en agua, no permitían manipular el gel para su potencial aplicación como un sistema *pour on*.

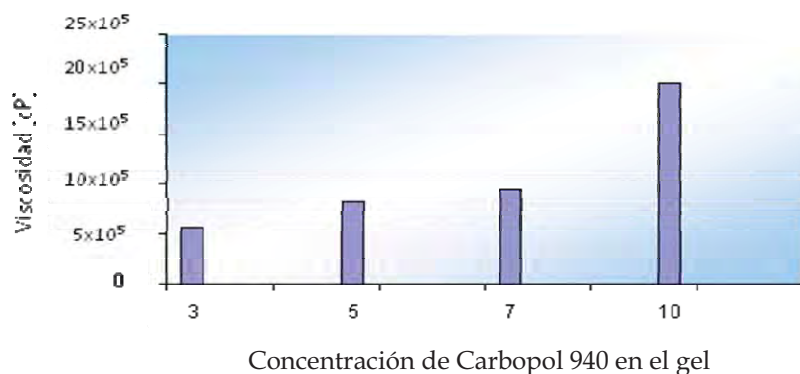


Figura 17. Viscosidad alcanzada con distintas concentraciones de polímero utilizado en el gel.

8.2.1.3. Formulación propuesta para el gel

Un gel se define como una preparación semisólida que contiene el o los principios activos o aditivos constituidos por lo general por macromoléculas dispersas en un líquido que puede ser agua, alcohol o aceite que forma una red que atrapa al líquido y que le restringe su movimiento, por lo tanto son preparaciones viscosas. Un gel tiene como principal componente un polímero, el cual le confiere su propiedad característica. Muchos polímeros naturales así como diversos polímeros sintéticos son solubles en agua y en otros disolventes polares. Esto ocurre debido a la interacción de cargas de los polímeros con las moléculas de agua, lo cual evita una posible precipitación de solutos ⁶⁰. En la tabla 11 se puede apreciar la formulación final para el gel preparado la cual fue propuesta en base a su estabilidad, viscosidad y bioadhesión. De acuerdo a la definición de gel, es necesario un líquido dispersador, en este caso se utilizó la mezcla transcitol/ agua en una proporción 60:40 (tabla 9). La concentración del polímero utilizado fue al 5% (p/v) (apartado 8.2.1.2.). La cantidad utilizada de IVM, se eligió con respecto a la cantidad de activo empleada en las formulaciones comerciales presentes en el mercado, por ejemplo “Ivomec y Bovimec” (0.5g/ 100 ml) ⁶¹. La cantidad de TEA adicionado, se fijó hasta obtener un pH = 5.0. Dicho pH, no puede ser mayor debido a una potencial precipitación del activo a pH superiores.

Tabla 11. Formulación propuesta para la elaboración del gel.

Gel	%
Gel de Carbopol 940	5.0
IVM	0.5
TEA	1.1
Transcitol/ Agua 60:40 c.b.p.	93.4
	100.0

8.2.2. Pruebas previas para la formulación del emulgel

8.2.2.1. Bioadhesión

Se midió la fuerza de bioadhesión entre soluciones conteniendo Carbopol 940 al 10% y diferentes cantidades de glicerina en el tejido biológico, con la finalidad de conocer el punto máximo de bioadhesión y con ello asegurar la funcionalidad del sistema. En la figura 18 se muestra la tendencia de los resultados obtenidos. Se observa una campana de Gauss, en donde a bajas cantidades de glicerina se tiene una baja bioadhesión y a cantidades mayores de glicerina se observa también un descenso de la bioadhesión.

El material bioadhesivo requiere de una buena humectación para poder adherirse, esta humectación es fundamental para permitir la relajación de las cadenas poliméricas. La humectación es entonces un factor de gran influencia para la difusión del polímero en la mucosa. Se ha encontrado que existe una cantidad óptima para un máximo de bioadhesión ⁵⁵. Durante los primeros gramos adicionados de glicerina, se presenta una disminución en la bioadhesión, esto puede deberse a la eliminación de las fuerzas electrostáticas interfaciales, producto del agua presente y del poco glicerina, los cuales no son suficientes para elevar la fuerza de bioadhesión. Posteriormente a mayores cantidades de glicerina, la cantidad de polímero relajado permite una máxima interpenetración con un probable cambio en la viscosidad de las regiones en las cuales tiene contacto lo cual dificulta la separación. Una vez agregados 71 g de glicerina, se encuentra la fuerza máxima de adhesión, en este estadio las cadenas del polímero están relajadas y alcanzan las máximas tensiones interfaciales, y por ende la mayor interpenetración polímero - tejido y probablemente otras interacciones de tipo fisicoquímico. Finalmente al continuar agregando mayor cantidad de glicerina, se vio un marcado descenso en la fuerza de adhesión. Esto puede ser explicado por el hecho de que después de que las cadenas se relajan presentan el paso siguiente "disolución", y conforme aumenta la humectación el número de cadenas disueltas aumenta y consecuentemente la

fuerza de bioadhesión cae aún más, hasta el punto en el que la bioadhesión es debida únicamente a fuerzas débiles.

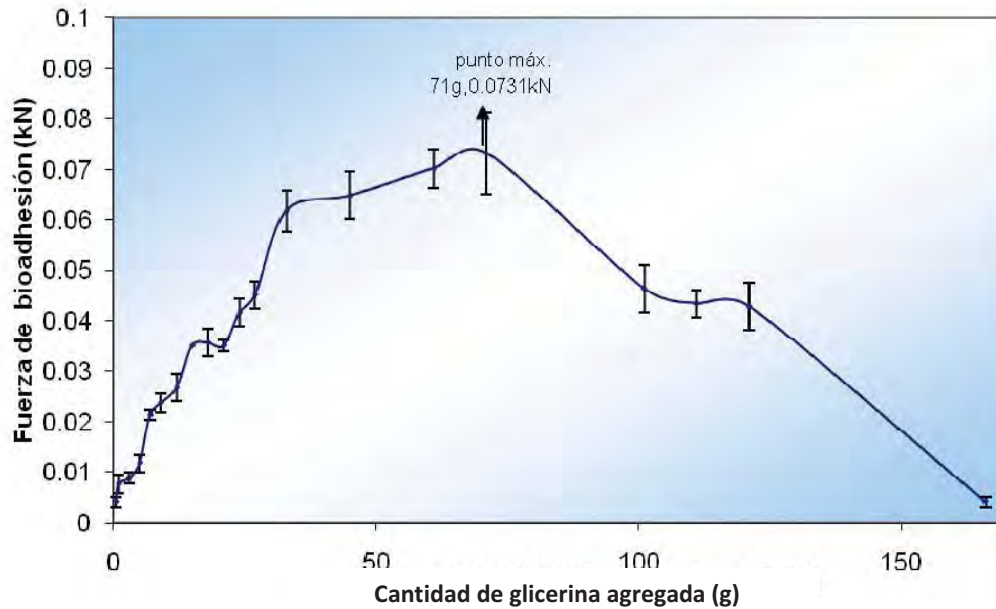


Figura 18. Efecto que presenta el gel bioadhesivo con diferentes cantidades agregadas de glicerina.

8.2.2.2. Viscosidad

Se realizó este proceso con la finalidad de disminuir la viscosidad del gel para poder administrarlo de forma fácil y práctica, pero una vez administrado, era necesario que este gel, regresara a su viscosidad actual para realizar su acción sobre los ectoparásitos. El etanol puede disminuir la viscosidad del gel de forma reversible en un sistema, a medida que se adiciona etanol al sistema su viscosidad disminuye (figura 19), llegando un punto en donde existe una coacervación de fases, es decir es el punto en el que hay una separación de fases; sin embargo el solvente no es capaz de evaporarse del sistema y permitir a éste volver a su estado inicial. Por lo que fue descartado como un ingrediente de la formulación.

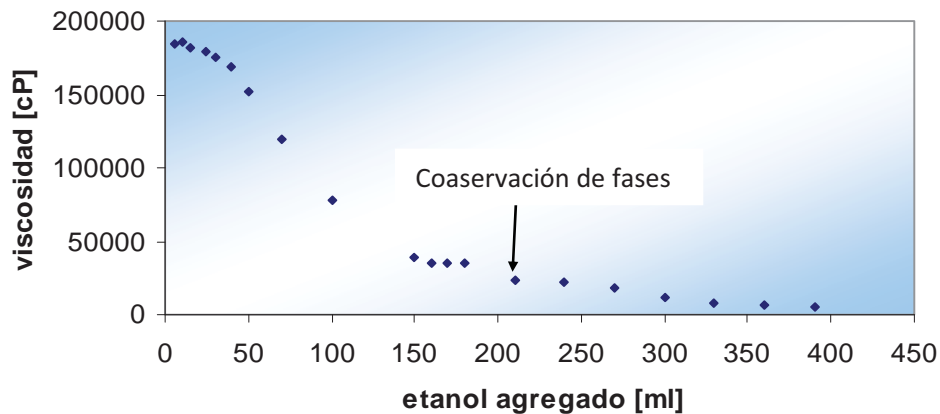


Figura 19. Efecto que presenta el gel bioadhesivo de Carbopol 940 al agregar diferentes cantidades de etanol.

8.2.2.3. Selección de la fase oleosa y surfactante

Los sistemas en donde la fase dispersa es aceite se designan como una emulsión o/w, dentro de las ventajas que presenta sobre las w/o se encuentran: refrescamiento de la piel, proporcionan humedad y frescura permitiendo la rápida evaporación del agua y son fácilmente removibles por adición de agua, son productos más estables y de menor costo por su bajo contenido de aceite ⁶², por tal motivo se realizó un emulgel con características o/w.

Se realizaron diferentes formulaciones para el emulgel (tabla 12), con dos diferentes fases oleosas y diferentes tipos y cantidades de surfactantes; seleccionando la mejor fase oleosa, el mejor surfactante y la cantidad adecuada para lograr un emulgel estable.

Tabla 12. Formulaciones de emulgeles probados.

FASE OLEOSA	SURFACTANTE (% p/p)	ESTABILIDAD
IPM	Tween® 80 (5)	Inestable
IPM	Tween® y Span® 60 (5)	Inestable
IPM	Tween® y Span® 80 (5)	Inestable
IPM	Tween® y Span® 80 (10)	Estable 72 hrs a 40°C
IPM	PLuronic® F-68 (5)	Estable 96 hrs a 40°C
TCM	Tween® y Span® 80 (5)	Estable 24 hrs a 40°C
TCM	Pluronic® F-68 (7)	Estable 21 días a 25°C Estable 11 días a 40°C
TCM	Pemulen TR-1 (0.4)	Inestable
TCM	Pemulen TR-2 (0.1)	Inestable
TCM	Pluronic® F-68 (5) Transcutol (10)	Estable por más de 30 días a 25°C y 40°C

La solubilidad del activo se evaluó en dos diferentes sustancias: IPM y en TCM. El Miristato de Isopropilo es una sustancia utilizada en las formulaciones tópicas ya que posee buenas propiedades de humectación y presenta un amplio intervalo de solubilidad para distintas sustancias, entre ellas la IVM.

La sustancia de elección fueron los triglicéridos de cadena media, esto debido a que dicho compuesto presenta propiedades muy particulares sobre otro tipo de aceites, ya que posee gran compatibilidad con la piel, teniendo excelente tolerancia cutánea. Este tipo de sustancia es ampliamente utilizada para la elaboración de sistemas semisólidos como lo son emulsiones y ungüentos ⁶³.

Las emulsiones pueden presentar tres tipos de inestabilidad: química, física y biológica; sin embargo, las dos más importantes son la inestabilidad química y la física. Las emulsiones son

sistemas dispersos termodinámicamente inestables, debido al exceso de energía libre que presenta la superficie de los glóbulos de la fase interna, los que van a tender a coalescer y destruir la emulsión, a pesar de ello, pueden lograrse sistemas de alta estabilidad, cuando se eligen los emulgentes apropiados. Cada una de las fases presenta una determinada fuerza cohesiva entre sí por moléculas iguales, sin embargo, esta fuerza de atracción intermolecular cambiará drásticamente con moléculas diferentes a las de su naturaleza, comportándose como si se tuviera una membrana entre las distintas moléculas presentes. Esta superficie presenta energía (tensión interfacial), la cual puede ser reducida por la adición de un emulsificante ⁶². Se predijo el tipo de emulsificantes utilizados en las formulaciones realizadas, utilizando para la estabilización de los emulemas el balance hidrófilico- lipofílico (HLB), el cual permite predecir el comportamiento de un tensoactivo y reducir la selección del emulsificante ⁶².

Inicialmente se utilizaron dos mezclas de tensoactivos: Tween[®]80 / Span[®]80, Tween[®] 80 / Span[®] 60. Generalmente se utilizan mezclas binarias de tensoactivos debido a que uno disminuye la tensión interfacial desde el agua y el otro desde el aceite. Sin embargo, algunas moléculas de surfactante se encuentran en la interfase, mientras que otras se pueden localizar en la periferia de ambas fases. La diferencia que existe entre cada una de las mezclas utilizadas únicamente cambia en el número de cadenas hidrocarbonadas que presentan en su estructura.

Se utilizó también como surfactante el Tween[®] 80. Se agregó únicamente un surfactante debido a que el monoestearato de sorbitán polioxietileno presenta características hidrofílicas, los cuales son capaces de incorporar sustancias normalmente poco solubles o bien insolubles ⁶⁴. De igual forma el sistema tiene una alta viscosidad por la presencia de polímero en la fase acuosa, lo cual le confiere una mayor estabilidad a largo plazo ⁶⁵. El mecanismo de estabilización de un sistema depende de la naturaleza del agente emulsificante, los surfactantes que se utilizaron con anterioridad proporcionan una estabilidad al sistema al disminuir la tensión interfacial y favorecer con ello grandes áreas interfaciales.

Por otro lado, se utilizó un poloxámero, que puede estabilizar al emulgel creando un efecto estérico en la superficie de los glóbulos, esto es, provee una protección estérica al absorberse en la superficie de las gotas, más que disminuir la tensión interfacial ⁶⁵. Con este poloxámero aunado a la viscosidad que presenta el sistema, se logró una estabilización mayor en el emulgel, por lo cual se seleccionó el poloxámero para la formulación propuesta.

Se utilizaron dos surfactantes diferentes a los convencionales tratando de obtener una estabilidad por un mayor tiempo, el Pemulen TR-1 y Pemulen TR-2; los cuales son acrilatos utilizados para formulaciones o/w a bajas concentraciones, en donde su porción lipofílica se adsorbe en la interface y la porción hidrofílica se hincha en la fase acuosa formando un gel alrededor de los glóbulos de aceite, sin embargo dichos surfactantes no proporcionaron la estabilidad requerida.

La cantidad de surfactante que se utilizó varió en distintos porcentajes de un 5, 7 y 10 %, sin embargo, la cantidad que generalmente es utilizada para la estabilización de emulsiones está entre un 3 a 5 %. Las razones principales por las que se utiliza en dichos porcentajes son por cuestiones de toxicidad y el costo dentro de la formulación. A pesar de que cantidades mayores de surfactantes no favorecen una mayor estabilidad, se tomó en cuenta el utilizar cantidades más altas de surfactantes, sin embargo los resultados obtenidos fueron la separación de fases, lo cual teóricamente pasaría, debido a la solubilización del surfactante en el sistema a tal grado que provoca una sobresaturación y por tanto la precipitación del carbopol, disminuyendo con esto la viscosidad. Con el porcentaje con el cual se logró la mejor estabilidad fue con el 5%.

8.2.2.4. Formulación propuesta del emulgel

En base a la mejor estabilidad química y física (no presentó separación de fases en un periodo de un mes) que presentaron las formulaciones realizadas, se seleccionó la mejor formulación (tabla 13).

Tabla 13. Formulación propuesta para la elaboración del emulgel.

Emulsión		% p/p
IVM		0.5
Triglicéridos de cadena media		27.6
Poloxámero		5.0
Agente promotor de permeación		10.0
Neutralizante		1.1
Gel c.b.p.		100.0
Carbopol 940	8.26	
Glicerina	58.68	
Agua c.b.p.	100.00	

Las concentraciones para el gel de la tabla 13, se obtuvieron de acuerdo a la cantidad de glicerina que proporcionó la máxima adhesión (apartado 8.2.2.1.) para un gel a una concentración del 10 % de Carbopol (p/v), el cual se propuso desde un principio, agregando la cantidad necesaria de agua para completar el 100 %. Para la realización de la emulsión de la tabla 13, se utilizó la cantidad de IVM empleada en las formulaciones comerciales presentes en el mercado (0.5g/ 100 ml) ⁶¹. La elección de la fase oleosa y el surfactante se mencionó en el apartado 8.2.2.3.

Se incorporó un agente promotor de permeación debido a que la piel opone resistencia natural al paso de sustancias exógenas, por lo tanto es necesario incluir las formulaciones tópicas o transdérmicas sustancias que incrementen la partición y difusión de sustancias lipofílicas o hidrofílicas hacia o a través de la barrera de permeabilidad, Dichos promotores actúan también como cosurfactantes en el emulgel. Generalmente los cosurfactantes son utilizados en microemulsiones, el rol del cosurfactante es bajar la tensión superficial y tener un pequeño valor negativo en el cual la interfase podría expandirse para formar finas gotas dispersadas y subsecuentemente adsorber más surfactantes y cosurfactantes hasta que el volumen de

concentración este bastante agotado para regresar a un valor de tensión interfacial positiva. El análisis establecido de la tensión interfacial delimitará entre una microemulsión termodinámicamente estable y una macroemulsión inestable ⁶⁶. Diferentes características entre estos sistemas nos llevan a confirmar que el emulgel presenta las propiedades de una emulsión y no así una microemulsión:

- a) Las microemulsiones son transparentes ⁶⁶, sin embargo, el emulgel formulado presenta un color opalescente.
- b) El diámetro de las gotas de las emulsiones es alrededor de 1 - 3 μm , en cambio el diámetro de las microemulsiones es más pequeño de 50 - 200 nm. El emulgel presentó un tamaño aproximado de 1 μm .

La cantidad de neutralizante adicionado se determinó por medio de la adición consecutiva de neutralizante al sistema, midiendo el pH hasta un valor de 7.0 para la neutralización del polímero utilizado.

8.3. Evaluaciones previas

8.3.1. Elaboración de espectro de absorción

Los espectros de absorción obtenidos para la IVM en solución Brij[®] 58 en agua al 3% y en metanol, se incluyen en el anexo I. (figuras 38 y 39)

La longitud de onda elegida fue de 245.0 nm tanto en solución Brij[®] 58 en agua al 3% como para el metanol, ya que a esa longitud se presenta la mayor absorción por parte del activo. Se realizaron barridos para cada uno de los excipientes, los cuales pueden verse en el (figura 40), con ello puede observarse que a la longitud de onda de máxima absorción de la IVM, los excipientes no presentan absorción, confirmando con ello que no existe alguna interferencia o interacción por parte de los excipientes.

8.3.2. Elaboración de curvas de calibración

1. Curva de calibración en solución Brij® 58 en agua al 3% a altas concentraciones

Se preparó una curva de calibración para el estudio de liberación en solución Brij® 58 en agua al 3% (p/v). Para evaluar la linealidad del sistema se determinó la respuesta analítica, absorbancia para cada concentración de principio activo [$\mu\text{g/ml}$] (figura 20), realizando un análisis de varianza.

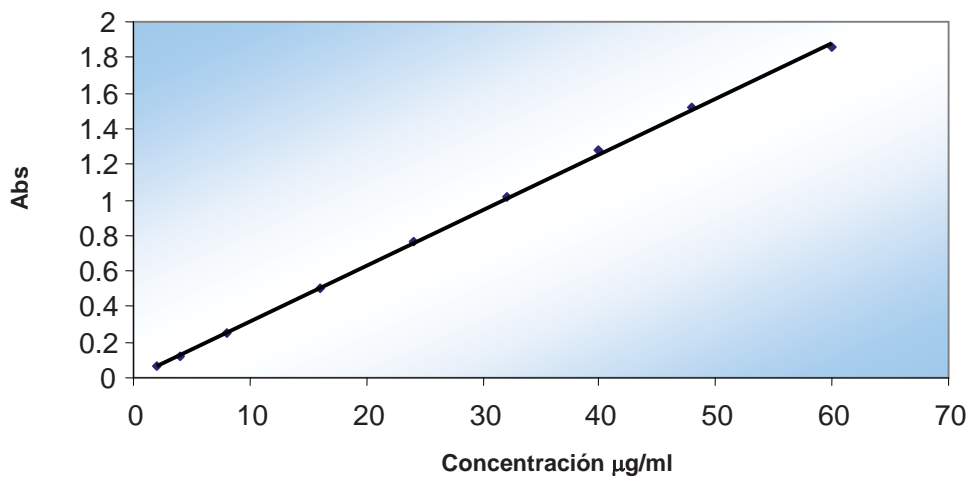


Figura 20. Curva de calibración a altas concentraciones de IVM en solución de Brij® 58 en agua al 3%.

En el análisis de varianza F calculada es mayor que F crítica por lo que de acuerdo al criterio de aceptación se rechaza H_0 , por lo tanto hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia. Esto también se puede corroborar con el coeficiente de correlación el cual es muy cercano a 1, lo cual indica la buena linealidad de la curva. De acuerdo a la curva de calibración en solución de Brij® 58 al 3% (p/v) (figura 20) los parámetros estadísticos son los siguientes:

$$m = 0.0313$$

$$b = 0.0052$$

$$r^2 = 0.99$$

$$\text{C.V. (\%)} = 2.55\%$$

Como se puede observar el valor de la ordenada al origen es distinto a cero, se realizó un análisis estadístico para determinar si es significativamente diferente de cero (tabla 30). Con los datos obtenidos se puede decir que la ordenada al origen es diferente de cero, sin embargo, dicha diferencia puede atribuirse al mismo medio, ya que al ser un surfactante, se tiene la presencia de micelas que ocasionan una interferencia en las lecturas. A pesar de ello, la curva de calibración puede ser empleada, ya que la ordenada al origen es muy cercana a un valor de cero.

2. Curva de calibración en solución Brij[®] 58 en agua al 3% a bajas concentraciones

Se preparó una curva de calibración para el estudio de permeación en solución Brij[®] 58 en agua al 3% (p/v) para evaluar la linealidad del sistema se determinó la respuesta analítica, absorbancia para cada concentración de principio activo [$\mu\text{g}/\text{ml}$] (figura 21), realizando un análisis de varianza.

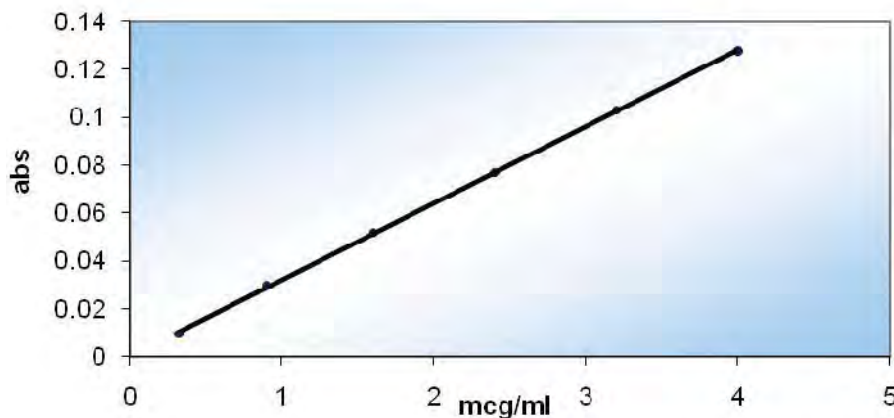


Figura 21. Curva de calibración a bajas concentraciones de IVM en solución de Brij[®] 58 en agua al 3%.

En el análisis de varianza F calculada es mayor que F crítica por lo que de acuerdo al criterio de aceptación se rechaza H_0 , por lo tanto hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Esto también se puede corroborar con el coeficiente de correlación el cual es muy cercano a 1, lo cual indica la buena linealidad de la curva.

De acuerdo a la curva de calibración en solución de Brij® 58 al 3% en agua (p/v) (figura 21), los parámetros estadísticos son los siguientes:

$$m= 0.0004$$

$$b= 0.0032$$

$$r^2= 0.99$$

$$\text{C.V. (\%)}= 3.15\%$$

Como se puede observar el valor de la ordenada al origen es distinto a cero y se realizó un análisis estadístico para determinar si es significativamente diferente de cero (tabla 33). Los datos obtenidos muestran que la ordenada al origen es diferente de cero, sin embargo, dicha diferencia puede atribuirse al mismo medio, como se explico en la curva anterior.

Limites de detección y cuantificación

Una de las ventajas de utilizar métodos analíticos, es el hecho de que éstos son capaces de detectar cantidades pequeñas del analito dependiendo del método que se utilice. Sin embargo, los métodos estadísticos corroboran dichos resultados. El límite de detección de un analito se puede describir como aquella concentración que proporciona una señal en el instrumento significativamente diferente de la señal del blanco o ruido de fondo ⁵³.

La ecuación obtenida a partir del análisis de regresión lineal de la respuesta analítica de la concentración de IVM es la siguiente:

$$\text{Abs} = [\text{Concentración de IVM } (\mu\text{g/ ml})] \times 0.032 + 0.004$$

En la tabla 14 se muestran los intervalos de confianza para la respuesta analítica a una concentración de cero. El valor de la respuesta analítica de 0.003 correspondiente al límite de confianza superior de la concentración 0.0 µg/ ml, se interpoló en la curva de de regresión anterior. El límite de detección, es la cantidad estimada del límite de confianza superior del intercepto en la recta de regresión. El límite de detección para este caso fue de 0.0495 µg/ml.

Tabla 14. Límites de confianza del intercepto

Concentración (µg / ml)	Respuesta analítica estimada (Abs)	LCI al 95% de la respuesta analítica	LCS al 95% de la respuesta analítica
0.0	0.0018	0.0003	0.0034

Para evaluar el límite de cuantificación, el cual es el límite inferior en medidas cuantitativas precisas, se propusieron cinco concentraciones cercanas al límite de detección y se determinaron sus respuestas analíticas a partir de la recta de regresión. Posteriormente se calcularon los límites de confianza inferiores para cada una de las respuestas analíticas para determinar el límite de cuantificación.

Tabla 15. Límites de confianza inferiores de las respuestas analíticas propuestas.

Concentración (µg/ml)	Respuesta analítica estimada (Abs)	LCI al 95% de la respuesta analítica
0.090	0.004	0.003
0.130	0.005	0.004
0.160	0.006	0.005
0.200	0.008	0.006
0.240	0.009	0.007

El límite de cuantificación es aquella concentración estimada del principio activo del límite de confianza inferior de la respuesta analítica semejante al intervalo de confianza superior del

intercepto, en este caso se promedió el límite de confianza inferior de las respuestas analíticas propuestas de la tabla 15 el límite de cuantificación fue de $0.1131 \mu\text{g/ml}$.

1. Curva de calibración en metanol

Para la determinación de la cantidad de IVM retenida en piel en los estudios de permeación, se realizó una curva de calibración en metanol. Se llevó a cabo con la finalidad de disolver la mayor cantidad posible de IVM que pudiera haber quedado retenida en la piel de bovino durante las permeaciones. El metanol es un disolvente en el cual la IVM presenta una alta solubilidad, por ello se tiene la seguridad de que cualquier cantidad retenida, se disuelve completamente en el medio y con ello se garantizan resultados confiables. Para evaluar la linealidad del sistema se determinó la respuesta analítica, absorbancia [A] para cada concentración de principio activo [$\mu\text{g/ml}$] (figura 22), realizando un análisis de varianza.

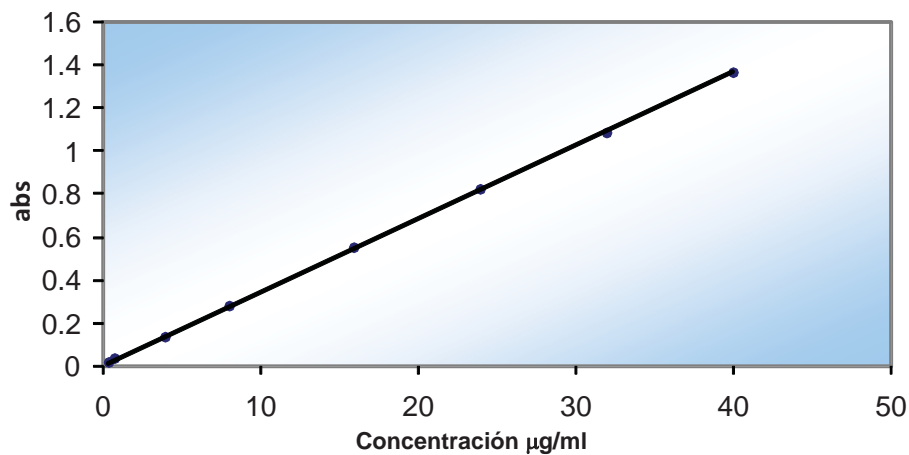


Figura 22. Curva de calibración de IVM en metanol.

En el análisis de varianza F calculada es mayor que F crítica por lo que de acuerdo al criterio de aceptación se rechaza H_0 , por lo tanto hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia. Esto también se puede corroborar con el coeficiente de correlación el

cual es 1, lo cual indica la buena linealidad de la curva. De acuerdo a la curva de calibración en metanol (figura 22), los parámetros estadísticos son los siguientes:

$$m= 0.034$$

$$b= 0.0$$

$$r^2= 1.0$$

$$C.V. (\%)= 1.99\%$$

Como se puede observar el valor de la ordenada al origen es cero, por tal motivo no se llevó a cabo un análisis estadístico para determinar si es significativamente diferente de cero. Por lo tanto la curva de calibración puede ser empleada. El coeficiente de variación obtenido, es aceptable, debido a que este presenta un porcentaje menor al 2%. De acuerdo, al coeficiente de variación obtenido, se puede confiar en los datos de la curva de calibración realizada.

Limites de detección y cuantificación

La ecuación obtenida a partir del análisis de regresión lineal de la respuesta analítica de la concentración de IVM es la siguiente:

$$\text{Abs} = [\text{Concentración de IVM } (\mu\text{g/ ml})] \times 0.034 + 0.0$$

En la tabla 16 se muestran los intervalos de confianza para la respuesta analítica a una concentración de cero. El valor de la respuesta analítica de 0.0023 correspondiente al límite de confianza superior de la concentración 0.0 $\mu\text{g/ ml}$, se interpoló en la curva de regresión anterior. El límite de detección, es la cantidad estimada del límite de confianza superior del intercepto en la recta de regresión.

El límite de detección para este caso fue de 0.080 $\mu\text{g/ ml}$.

Tabla 16. Límites de confianza del intercepto

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Respuesta analítica estimada (Abs)	LCI al 95% de la respuesta analítica	LCS al 95% de la respuesta analítica
0.0	0.0023	-0.0030	0.0023

Para evaluar el límite de cuantificación, se propusieron cinco concentraciones cercanas al límite de detección y se determinaron sus respuestas analíticas a partir de la recta de regresión. Posteriormente se calcularon los límites de confianza inferiores para cada una de las respuestas analíticas para determinar el límite de cuantificación.

El límite de cuantificación es aquella concentración estimada del principio activo del límite de confianza inferior de la respuesta analítica semejante al intervalo de confianza superior del intercepto, en este caso se promedió el límite de confianza inferior de las respuestas analíticas propuestas de la tabla 17 el límite de cuantificación fue de $0.1024 \mu\text{g/ml}$.

Tabla 17. Límites de confianza de las respuestas analíticas propuestas.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Respuesta analítica estimada (Abs)	LCI al 95% de la respuesta analítica
0.120	0.003	0.001
0.150	0.004	0.002
0.180	0.005	0.003
0.210	0.006	0.004
0.240	0.007	0.005

8.4. Evaluaciones a los sistemas semisólidos

8.4.1. Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos

Es importante señalar que las características organolépticas son características físicas de una formulación o forma farmacéutica que confieren a ésta una apariencia, color, olor, textura, consistencia, los cuales son determinadas a través de los sentidos. Son características propias o normales o bien aquellos que son alterados o impropios originados por diversas causas. Se determinaron las características organolépticas de los sistemas semisólidos, por periodo de un mes, obteniendo los resultados siguientes:

Tabla 18. Color, olor y apariencia de los sistemas semisólidos.

CARACTERÍSTICAS DE LOS SISTEMAS		
	GEL	EMULGEL
Color	Transparente	Blanco perlescente
Olor	Característico	Característico
Apariencia	Pegajosa, característico del gel, sin precipitado.	Suave, cremoso.

Durante la observación de los sistemas semisólidos por periodo de un mes, no se observó alteración en sus características organolépticas. La finalidad de evaluar dichas características es distinguir un cambio en las condiciones normales o propias de la formulación a través del tiempo, ya que esto manifiesta un probable cambio en sus propiedades químicas.

8.4.2. Bioadhesión

Esta prueba se llevo a cabo puesto que ambas sistemas tiene la caracteristca de formar películas biodhesivas, por medio de esta propiedad se podrían retener al ectoparásito (*B. microplus*) y se expondría mas fácilmente al garrapaticida aumentando con ello la

efectividad del tratamiento. En la tabla 19 se muestran los resultados obtenidos para los dos equipos de medición utilizados. En el caso del Instron, se tiene una fuerza de despegue que es proporcional a la fuerza de bioadhesión obtenida con el Tensiómetro de Du Noüy, ya que ambas fuerzas pueden mostrar el punto en el cual el sistema ya no es capaz de mantenerse adherido a la piel bovina, esta adhesión puede ser atribuida a múltiples interacciones como fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno, fuerzas electrostáticas o enlaces covalentes, dependiendo de la naturaleza del tejido ⁵⁴.

Tabla 19. Comparación de medidas de bioadhesión del gel y el emulgel.

Sistema	Aparato o equipo de medición	
	Tensiómetro de Du Noüy	Instron
	Promedios	
	Fuerza de despegue (kN)	
Gel	0.013	0.014
Emulgel	0.006	0.004

Al comparar los resultados entre las dos formulaciones realizadas, se tiene una mayor fuerza de adhesión para el gel, debido a que al aumentar la cantidad de polímero en el gel con relación a la cantidad que se tiene en el emulgel, existe una mayor cantidad de cadenas poliméricas hidratadas y por lo tanto, la bioadhesión es mayor. Ahora bien, comparando los resultados entre los dos equipos de medición, existe una semejanza en los resultados obtenidos. Para que la bioadhesión ocurra, se requiere de una sucesión de eventos: la etapa de contacto entre el bioadhesivo y el tejido receptor, este contacto requiere de una buena humectación, para permitir la relajación de las cadenas poliméricas, segundo la etapa de consolidación en donde se da la penetración del agente bioadhesivo con el tejido, adhiriéndose más fuerte por fuerzas de Van der Waals y puentes de hidrógeno, activado por la presencia de la humedad en el sistema ⁶⁷.

Existen diferentes teorías que pueden explicar esta adhesión, ya que debido a su complejidad, la bioadhesión no se puede describir por una sola teoría. La teoría de la difusión menciona que la adhesión depende del coeficiente de difusión y del tiempo de contacto. La penetración de las cadenas de los polímeros a través de la interface del adhesivo crea un enlace semipermanente con la mucosa. Otra teoría que puede explicar los resultados obtenidos es la teoría mecánica, la cual asume que puede existir una adherencia de un adhesivo a cualquier superficie irregular, en donde la interacción junto con la característica viscoelástica del sistema provoca un efecto adhesivo⁶⁷. Reológicamente se ha descrito a los geles como sólidos viscoelásticos⁶⁸ los cuales pueden experimentar los mismos cambios que un sólido de naturaleza elástica, al ser sometidos a condiciones similares. El emulgel al poseer las propiedades de un gel, se considera como un sólido viscoelástico.

8.4.3. Carga superficial

La técnica utilizada para la determinación del potencial Z es la electroforesis, la cual obtiene el potencial Z, a partir de la ecuación de Henry (apartado 7.4.3.) se utilizó el Zetazizer Malvern Systems ZEN 3600. Esta prueba se realizó para conocer la estabilidad que presentaba el emulgel, ya que el valor absoluto obtenido del potencial Z, puede ser tomado como un parámetro para constatar la estabilidad de un sistema.

Los valores de potencial Z obtenidos (tabla 20), fueron negativos pues el medio que se utilizó en la fase acuosa como agente gelificante fue el carbopol, el cual es un carbómero iónico. Cabe señalar que el potencial Z no depende del tamaño de partícula, Depende de la ionización de las partículas, si dentro de la fórmula se presentara un estabilizante estérico la carga de las partículas sería mucho menor. La estabilidad que presentó el emulgel se debió a la presencia de un estabilizante, este actúa creando un efecto estérico, evitando con ello la coalescencia de las partículas. Normalmente se requiere un potencial $|Z|= 30-50$ ó $|Z|> 30$ para tener estabilidad en el sistema. La falta de repulsión electrostática o potencial $Z= 0$ ocasiona una

disminución de la energía de superficie de las partículas, originando con ello la formación de flóculos y finalmente la separación del sistema.

Tabla 20. Potencial Z para el emulgel.

Potencial Z (mV)	- 44.79
	- 40.87
	- 43.57
Promedio	- 43.07
σ (+/-)	2.00

8.4.4. Tamaño de glóbulo

Para la determinación de este parámetro se utilizó el Zetazizer Malvern Systems ZEN 3600, equipo que se fundamenta en la técnica de dispersión dinámica de la luz (espectroscopía de correlación de fotones). Los datos obtenidos con esta prueba son: diámetro promedio e índice de polidispersión. El Índice de polidispersión (IP), indica qué tan homogénea es la dispersión. Para considerar que una población es monodispersa su índice de polidispersión debe de encontrarse en un intervalo entre 0 y 0.5.

Se realizó esta prueba con la finalidad de conocer el tamaño de glóbulo que presentaba el emulgel. Al poseer las propiedades de una emulsión es necesario conocer el tamaño de glóbulo. Se considera que una emulsión debe de tener una talla entre 0.5 – 50 μm y su característica física principal es su color blanco, debido a que el haz de luz que incide sobre la muestra se dispersa en el sistema. La oscilación en el tamaño de partícula implica que los diámetros de las gotas están lejos de ser uniformes y que con el tiempo esto se resume en una inestabilidad del emulgel. Los resultados obtenidos indican que se tiene un promedio de

tamaño de glóbulo de 1.0 μm y un IP por debajo de 0.5, por lo tanto puede considerarse que el emulgel presenta una buena estabilidad (tabla 21).

Tabla 21. Tamaño de glóbulo del emulgel.

	Tamaño de partícula (nm)	Indice de polidispersión (IP)
	1185.0	0.349
	1200.0	0.367
	1063.0	0.422
Promedio	1149.3	0.379
σ (+/-)	75.1	0.038

8.4.5. Viscosidad

Los sistemas semisólidos son sistemas que presentan un flujo no newtoniano. Un sistema no newtoniano, es aquel que exhibe un flujo uniforme, pero para el que no es constante la relación entre la tensión tangencial y la velocidad de deformación. Hay tres tipos de comportamientos para los líquidos no newtonianos: plástico, pseudoplástico y dilatante. Se observa en la figura 23 que para el comportamiento reológico que presenta el emulgel al incrementar la velocidad de deformación la viscosidad disminuye, esto se debe a que la viscosidad es una función de la velocidad de deformación mostrando un comportamiento pseudoplástico (figura 24). Dicho comportamiento, permite a la formulación su administración, ya que al ser un sistema semisólido es necesario que la viscosidad disminuya para su buena aplicación.

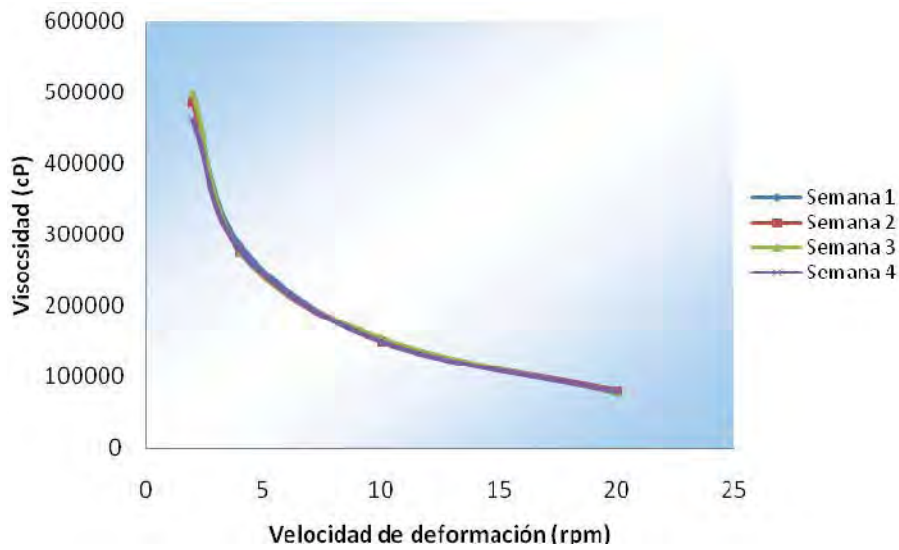


Figura 23. Viscosidad que presenta el emulgel a través del tiempo con diferentes velocidades de deformación.

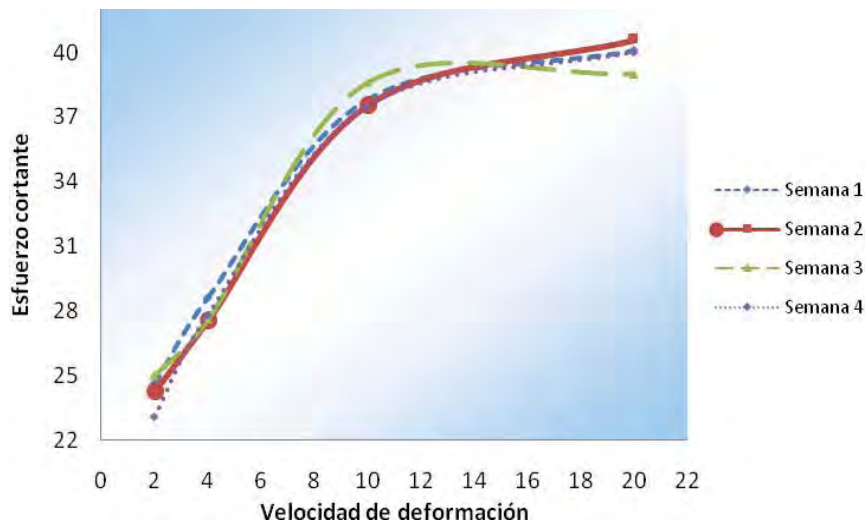


Figura 24. Curva del comportamiento reológico que presenta el emulgel.

Ahora bien, el comportamiento que presenta el gel es similar al emulgel, al incrementar la velocidad de deformación la viscosidad disminuye como se observa en la figura 25, presentando de ésta forma un comportamiento pseudoplástico. (figura 26). Los valores altos

de viscosidad a deformaciones pequeñas pueden ser atribuibles a la presencia de enlaces de hidrógeno y al entrecruzamiento del polímero.

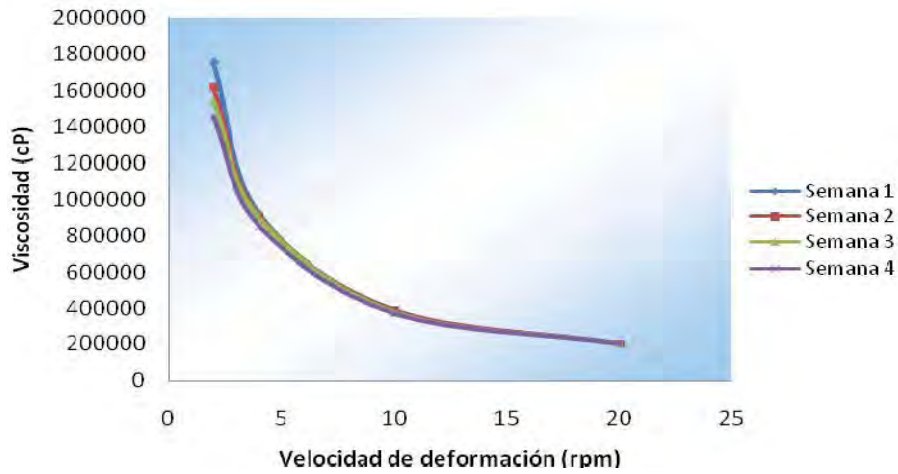


Figura 25. Viscosidad que presenta el gel a través del tiempo con diferentes velocidades de deformación.

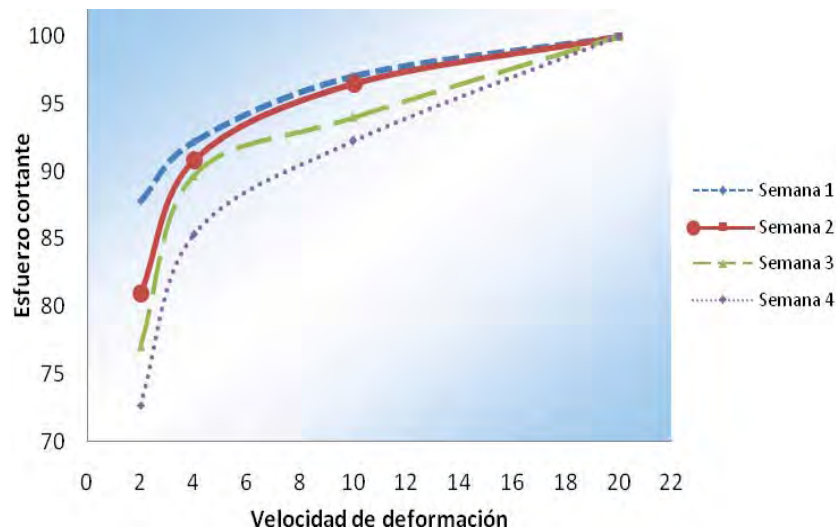


Figura 26. Curva del comportamiento reológico que presenta el gel.

8.4.6. pH

Se realizó esta prueba debido a los efectos que ocasiona el cambio de dicho valor en los sistemas semisólidos:

Si el pH se ubica por encima o por debajo del rango permitido se produce una disfunción de la piel, propiciado con ello irritaciones ⁴⁷. Además influye también el estado de ionización de la molécula. En la tabla 22 se observan los valores de pH obtenidos durante un periodo de 30 días. Los valores de la desviación estándar obtenidos para el pH del gel y el emulgel muestra que no hay una dispersión amplia entre los datos, lo cual nos dice que no hay un cambio en sus propiedades fisicoquímicas.

Tabla 22. Valores de pH obtenidos.

Sistema	Gel					Emulgel				
Semana	1	2	3	4		1	2	3	4	
pH	5.0	5.1	5.1	5.0	$\sigma (+/-) 0.07$	7.22	7	7.12	7.16	$\sigma (+/-) 0.09$

Los efectos del pH son importantes para proporcionar buenas propiedades de bioadhesión a los sistemas semisólidos, el polímero usado puede adherirse mejor a pH ácidos (5 o menos) por encontrarse en una situación protonada. A valores de pH alcalinos, las cadenas del polímero se encuentran sumamente hinchadas y se encuentran en una forma viscoelástica gomosa, lo cual permite la difusión y comunicación de la cadena con el tejido animal ⁶⁰. Se eligió un valor de pH de 5.0 para el gel, debido a que se tiene una mayor bioadhesión. En el caso del emulgel, se eligió un valor de pH neutro para poder aumentar la viscosidad del sistema al tener neutralizado el polímero, lo cual le ayudaría a mantener una buena estabilidad.

8.4.7. Gravedad específica

Se realizó esta prueba para determinar el peso del volumen de la muestra y con ello saber el tipo de envase en el cual pudiera acondicionarse. La gravedad específica puede ayudar a conocer si ésta se puede mantener sin cambios en sus propiedades físicas (pH, estabilidad a largo plazo) durante su almacenamiento. En este caso, la determinación se realizó a temperatura ambiente, es decir, aproximadamente a 25°C. De acuerdo a los resultados obtenidos (tabla 23), se observa que no existen cambios considerables en el valor de la gravedad específica para ambos sistemas semisólidos, lo cual puede corroborarse con el valor de desviación estándar, dicho valor nos muestra la dispersión que existe entre los datos obtenidos para cada uno de los sistemas.

Tabla 23. Valores de gravedad específica.

Semana	Gravedad específica	
	Gel	Emulgel
1	0.975	0.954
2	0.978	0.960
3	0.976	0.950
4	0.976	0.960
σ	0.0012	0.004

8.4.8. Estabilidad

La estabilidad de un medicamento puede definirse como la propiedad que tiene para mantener durante el tiempo de almacenamiento y uso sus características físicas, químicas, fisicoquímicas, microbiológicas y biológicas dentro de los límites especificados ⁶⁵.

Los estudios de estabilidad de los medicamentos son fundamentales para asegurar la eficacia del producto a lo largo de su vida útil, dicha prueba simula el efecto de la gravedad a través del tiempo en este tipo de formulaciones (emulsiones, cremas, etc.). Esta prueba nos permite conocer el tiempo en el cual el emulgel puede sufrir alguna alteración y por consiguiente la separación de fases, cambios físicos y biológicos, así como la interacción que pudiera existir entre el activo y los componentes de la fórmula. Todos los sistemas dispersos después de determinado tiempo presentan una separación de sus fases. Cuando el factor tiempo afecta en el almacenamiento en esta prueba el resultado es la separación de fases, debido a diferentes factores físicos como coalescencia, rompimiento del sistema o floculación. Durante el tiempo de estudio de la estabilidad de los sistemas semisólidos (30 días) a temperatura ambiente, no se observó cambio en ninguno de los sistemas semisólidos (tabla 24), confirmando esto con cada una de las evaluaciones realizadas (características organolépticas, viscosidad, pH, gravedad específica) tanto para el emulgel como para el gel.

Tabla 24. Estabilidad de los sistemas semisólidos.

ESTABILIDAD		
	GEL	EMULGEL
Semana 1	Sin cambio de coloración/ sin precipitado	No hay separación de fases
Semana 2	Sin cambio de coloración/ sin precipitado	No hay separación de fases
Semana 3	Sin cambio de coloración/ sin precipitado	No hay separación de fases
Semana 4	Sin cambio de coloración/ sin precipitado	No hay separación de fases

8.4.9. Estabilidad acelerada

Los estudios de estabilidad acelerada de un medicamento pueden definirse como estudios diseñados para incrementar la velocidad de degradación química y/o biológica o el cambio físico de un medicamento, por medio del empleo de condiciones exageradas de almacenamiento ⁶⁹.

Los datos de la tabla 24 muestran los resultados obtenidos de la estabilidad acelerada por medio de centrifugación (únicamente para el emugel), la cual confiere una idea de lo que pudiera llegar a suceder a la emulsión a través del tiempo. La muestra se sometió a condiciones de gravedad simulada (la equivalente a un año) ⁶⁴. Se realizó también una prueba con temperatura (40°C), tras lo cual no se observó una separación de fases en el caso del emulgel, ni la formación de algún precipitado o cambio de coloración en el gel (tabla 25). Como se sabe un aumento de 10°C en la temperatura de almacenamiento duplica la velocidad de reacción, por ello, para realizar el estudio de estabilidad acelerada, se elevó aproximadamente 10°C la temperatura ambiental. Las pruebas de estabilidad a bajas temperaturas son particularmente importantes para emulsiones w/o, debido a que la capa del emulsificante estabilizada se puede destruir por un aumento en el volumen de la fase acuosa por la formación de cristales de hielo, sin embargo, el emulgel presenta propiedades de una emulsión o/w.

Tabla 25. Estabilidad acelerada de los sistemas semisólidos.

ESTABILIDAD ACELERADA			
	Temperatura (40°C)		Centrifugación (10000rpm/10 min)
	GEL	EMULGEL	EMULGEL
Semana 1	Sin precipitado	No presenta separación	No presenta separación
Semana 2	Sin precipitado	No presenta separación	No presenta separación
Semana 3	Sin precipitado	No presenta separación	No presenta separación
Semana 4	Sin precipitado	No presenta separación	No presenta separación

8.5. Perfiles de liberación

Se realizaron pruebas de liberación para los dos diferentes sistemas semisólidos. Se graficó el $\ln (M_t / M_\alpha)$ vs $\ln t$ para el gel y el emulgel (figs. 27 y 28). El valor de n es obtenido de la pendiente de la recta y es indicativo del mecanismo y tipo de liberación de los sistemas. La tabla 26 resume los valores del exponente “ n ” para los sistemas propuestos., se utilizaron los valores obtenidos de acuerdo a las figuras 27 y 28. De acuerdo al valor numérico que tome “ n ” indica cual es el mecanismo de liberación (tabla 27). En el caso de los sistemas preparados, se obtiene un exponente n prácticamente de 1, lo cual indica un mecanismo de transporte tipo II (orden cero).

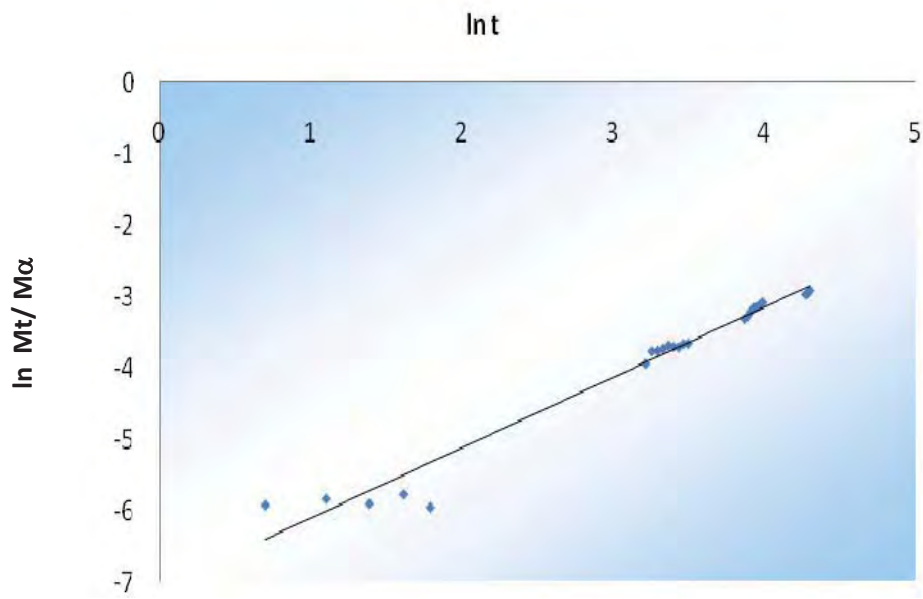


Figura 27. Tendencia que presenta el gel.

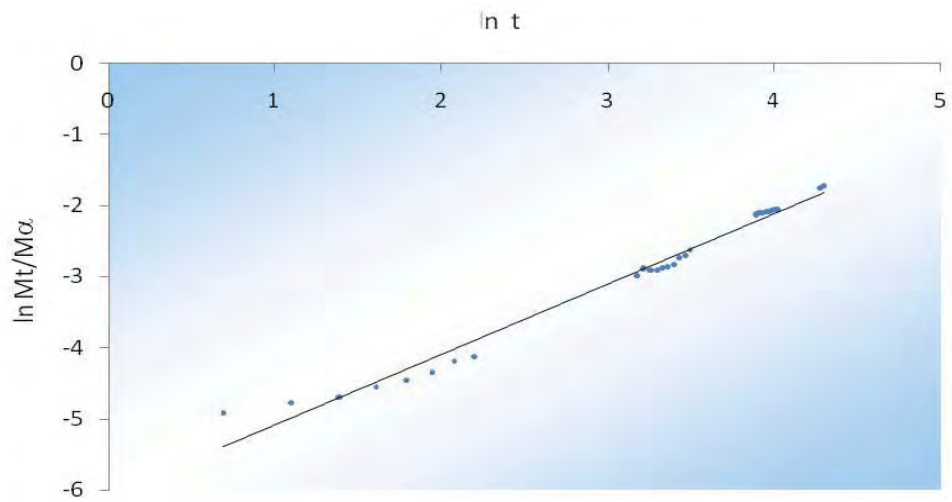


Figura 28. Tendencia que presenta el emulgel.

	Gel	Emulgel
m = n	1.100	0.992
b= k	7.170	6.081
r ²	0.96	0.982

Tabla 26. Valores obtenidos de la regresión lineal de los gráficos $\ln (M_t / M_\alpha)$ vs $\ln t$ para los sistemas propuestos.

Exponente difusional	Mecanismo de liberación	Velocidad de liberación del soluto
n= 0.5	Difusión fickiana	$t^{-0.5}$
0.5 < n <1.0	Difusión no fickiana	t^{n-1}
n=1.0	Transporte tipo II (Liberación de orden cero)	Independiente de t

Tabla 27. Mecanismo y tipo de liberación propuestos a partir del valor de “n” en la ecuación de Peppas ⁷²

Para explicar el probable mecanismo de liberación de los sistemas, se utilizó el modelo propuesto por Peppas:

$$M_t / M_0 = kt^n$$

$$\ln (M_t / M_\alpha) = k + n \ln t$$

Donde:

M_t/M_0 = Porcentaje de fármaco disuelto a tiempo t.

k= es una constante que incorpora características estructurales y geométricas del sistema.

n= exponente de liberación

Para aplicar el sistema semiempírico de Korsmeyer- Peppas se considera hasta el 60 % de principio activo liberado. En esta ecuación se combinan dos procesos aparentemente independientes, uno debido al transporte de fármaco que obedece a las leyes de Fick y el otro a la expansión dinámica del sistema, que involucra una transición de un estado rígido (glass) a otro más flexible (rubber), llamado transporte caso II.

Peppas usa el valor de "n" para caracterizar los diferentes mecanismos de liberación. Si $n=1$, la ecuación corresponde a una cinética de liberación de orden cero (difusión denominada caso II). Por lo tanto, respecto al valor de "n" obtenido, los sistemas semisólidos se ajustan a una liberación de orden cero. Este tipo de liberación es controlada principalmente por la relajación de las cadenas poliméricas. A través de diversos factores como el hinchamiento del polímero, un volumen de hidratación menor al volumen de depleción, la erosión del sistema, etc. La liberación propuesta en este estudio podría estar controlada por la penetración del solvente en el sistema.

Durante la penetración del solvente se originan dos constantes:

K_p = penetración del solvente al gel (constante de penetración)

K_s = solvatación o lavado de las capas de gel superficial (constante de solvatación)

Al inicio de la liberación existe un gradiente de difusión entre la concentración de activo presente en el sistema y la concentración del activo presente en la superficie del gel, sin embargo con el paso del tiempo se genera una capa hidrodinámica, esto es, se produce la solvatación o lavado de la capa superficial del gel que se encuentra expuesta al medio de disolución, desprendiéndose con el paso del tiempo permitiendo que el solvente penetre nuevamente a una nueva capa hidrodinámica originando un gradiente de concentración mayor.

Generándose con el paso del tiempo una nueva capa hidrodinámica, lo cual provoca un gradiente de difusión aproximadamente constante, esto sugiere que ambas constantes (K_p y

Ks) se puedan igualar, es decir, se produce una sincronización en el sistema en donde el grosor de las capas hidrodinámicas que se van generando sea constante hasta un limite en el cual la cantidad de IVM liberada sea la misma. Esto explica el motivo por el cual el tipo de liberación de los sistemas propuestos sea de orden cero (figura 29).

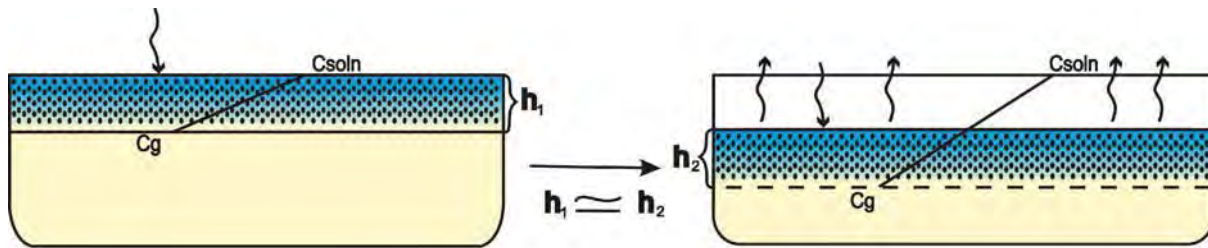


Figura 29. Figura original del comportamiento que presentan los sistemas semisólidos en presencia del medio.

C_{soln} : concentración del activo en el medio, C_g : concentración de activo en el gel o emulgel, h_1 : altura de la capa de gel o emulgel, h_2 : altura de la capa de gel o emulgel después de estar en contacto directo con el medio.

Con los resultados promedio de la cantidad liberada para cada sistema se construyó un gráfico para el gel y el emulgel. (figura 30 y 31 respectivamente). Ambos gráficos y la tabla 27 muestran los resultados del porcentaje liberado en un periodo de 72 h. De acuerdo a los datos obtenidos, se observa que la cantidad liberada para el gel es mucho menor que el liberado por el emulgel.

Se tiene un menor porcentaje liberado de fármaco para el gel, ya que el coeficiente de difusión es inversamente proporcional a la viscosidad que presenta el sistema, es decir, a mayor viscosidad se tendrá un coeficiente de difusión menor. De acuerdo a los resultados de viscosidad obtenidos (apartado 8.3.2.) el gel presenta una mayor viscosidad que el emulgel, por lo tanto es de esperarse que se tenga un menor porcentaje de liberación del principio activo para el gel. Esto confirma la dificultad que tiene el solvente para penetrar en sistemas más viscosos.

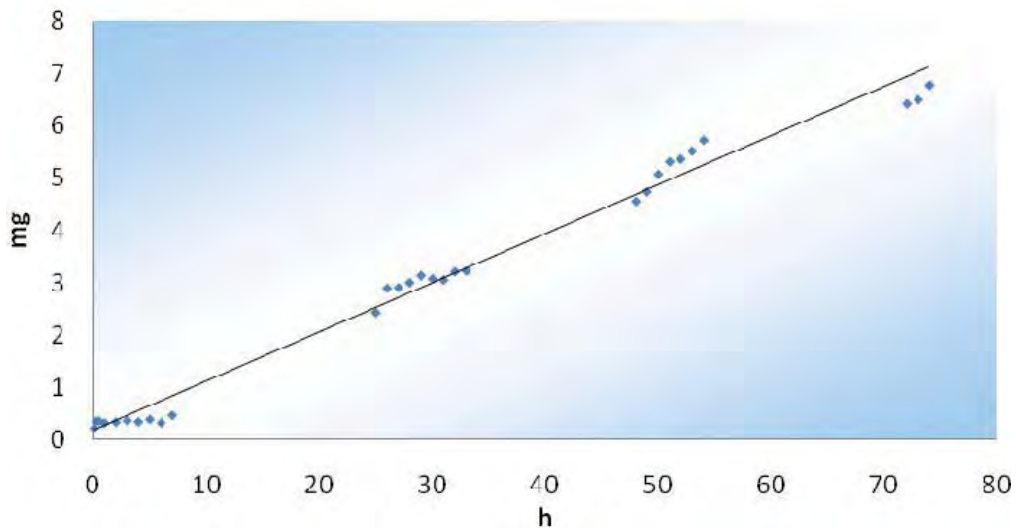


Figura 30. Perfil de liberación que presenta el gel (n=3).
Las barras de error son más pequeñas que el símbolo.

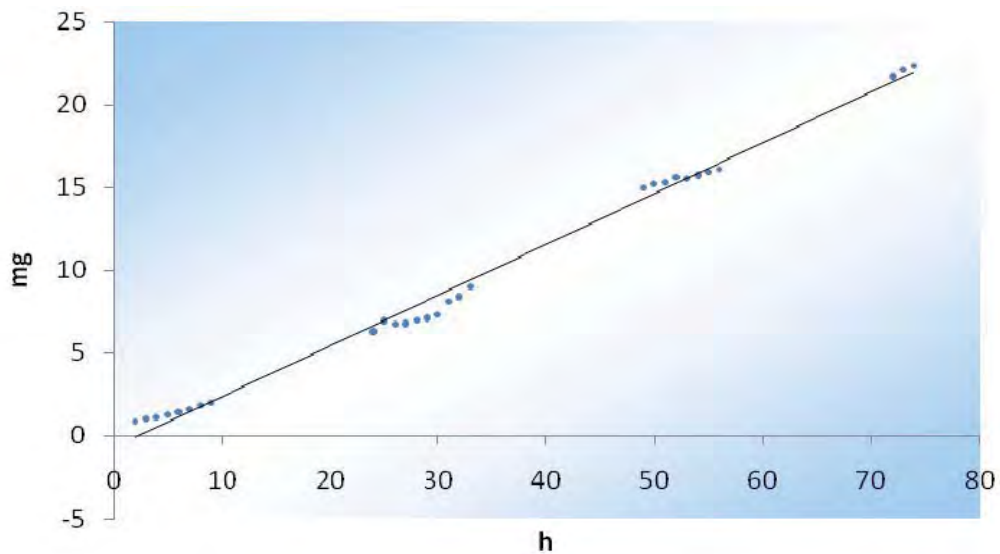


Figura 31. Perfil de liberación que presenta el emulgel (n=3).
Las barras de error son más pequeñas que el símbolo.

El promedio de porcentaje liberado (%) para ambos sistemas fue para el gel de 5.42 % y para el emulgel de 17.92 %. Esto probablemente no es representativo de una aplicación real donde la capa del semisólido aplicado sería mucho más delgada y por ende la

cantidad liberada y permeada sería mucho mayor. Estas condiciones fueron limitadas por el tipo de celdas que se utilizo, teniendo que utilizar mayor cantidad de medio y de muestra, sin embargo a pesar de dichas condiciones y obtener cantidades bajas liberadas, estas son suficientes para lograr un efecto terapéutico.

8.6. Cinética de permeación

Una vez caracterizados los sistemas semisólidos se realizaron las permeaciones *in vitro*, se utilizó piel de bovino. Los promedios de los resultados obtenidos se muestran en la tabla 28. Los resultados numéricos obtenidos se muestran en el anexo II para más detalle.

Tabla 28. Promedio de los resultados obtenidos en las permeaciones de los dos sistemas semisólidos (gel y emulgel).

	GEL	EMULGEL
Flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}$) (8 horas)	2.6 \pm 1.0	1.8627 \pm 1.1
Cp (cm/h) (8 horas)	5.24×10^{-4} \pm 2.1×10^{-4}	3.72×10^{-4} \pm 2.3×10^{-4}
Q acum (μg)	162.3 \pm 51.3	115.08 \pm 36.0
Q retenida en piel(μg)	231.3 \pm 87.6	141.2647 \pm 47.6
T _{lag}	10.14 h	11.47 h

Es importante señalar que a pesar de disminuir lo más posible el grosor de la piel bovina, este fue de 1.5 mm, ya que conservar el pelo fue fundamental para el estudio. La idea es reproducir las condiciones por las cuales serán aplicados los sistemas. Parámetros importantes que hay que considerar para tener datos óptimos son: utilizar porciones de piel de la misma zona del

bovino, en este caso la piel utilizada fue del lomo del bovino, la homogenización del grosor de la piel, etc.

Los resultados de la cinética de permeación de IVM muestran que las variaciones de celda a celda fueron homogéneas y éstas aumentan conforme se incrementa el tiempo de permeación. La figura 32 y la figura 33, muestra las cantidades de IVM acumuladas durante ocho horas para el gel y el emulgel respectivamente, se puede observar que las cantidades son bajas, si se toma en cuenta que en el compartimento donador se colocó una muestra de 5g, en la cual la cantidad total de activo es de 25,000 μg . Estas cantidades fue posible determinarlas ya que se encontraron por arriba del límite de cuantificación determinado.

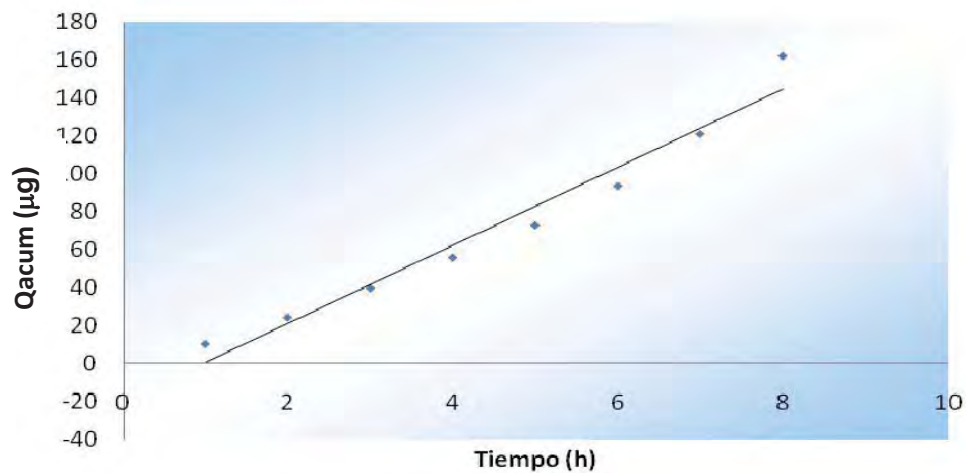


Figura 32. Cinética de permeación de IVM en el gel a través de piel bovina (n=6).

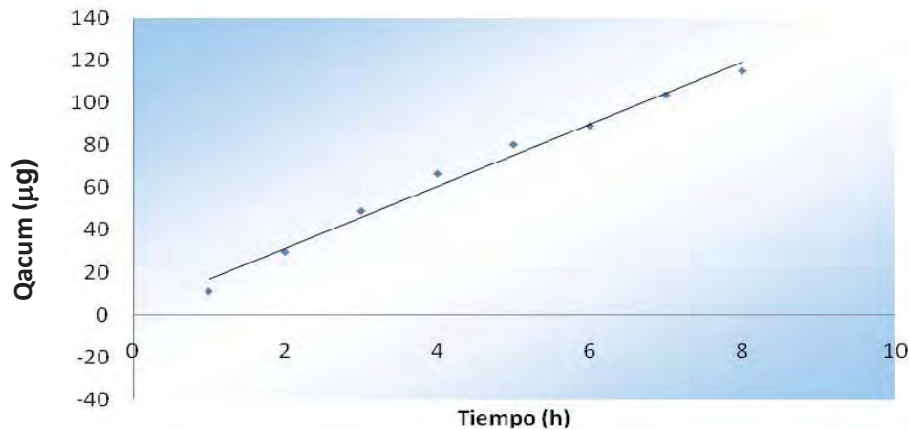


Figura 33. Cinética de permeación de IVM en el emulgel a través de piel bovina (n=4).

En la figura 34, se puede observar el comportamiento de las cinéticas de permeación de IVM de los dos sistemas semisólidos formulados, las dos cinéticas tienen un comportamiento similar, siendo cinéticas de orden cero, sin embargo el promedio de cantidad de IVM permeado es diferente, presentando una mayor cantidad en el gel, esto puede estar directamente relacionado a que el gel tiene una mayor cantidad de promotor de absorción. El promotor de absorción incrementa el paso del activo a través de la barrera de permeabilidad de la piel. También hay que considerar que el emulgel es una emulsión dentro del gel y por tanto le es más difícil permear pues el fármaco está dentro de los globulos.

Las pendientes de cada cinética son ligeramente diferentes esto puede explicarse:

$$Q = K \times t$$

Donde:

Q= Cantidad acumulada de activo

K= Constante de velocidad de liberación

t= tiempo

$$K_{\text{emulgel}} = 20.59$$

$$K_{\text{gel}} = 14.63$$

$$K_{\text{emulgel}} > K_{\text{gel}}$$

$$\frac{K_{\text{emulgel}}}{K_{\text{gel}}} = 1.41$$

Se puede observar que al obtener las constantes de velocidad de liberación del fármaco para cada uno de los sistemas semisólidos, el emulgel presenta una velocidad de liberación mayor al gel (mayor 1.41 veces). Se tiene un menor porcentaje liberado de fármaco para el gel, debido a que éste presenta una mayor viscosidad y por ende el coeficiente de difusión es menor. Para ambas formulaciones se tiene un periodo de latencia (tiempo necesario para la penetración de la sustancia al interior de las estructuras córneas y para el establecimiento de un gradiente de difusión) ⁵³, el cual nos indica que es necesario que exista una relajación de las cadenas poliméricas para que el fármaco comience a liberarse.

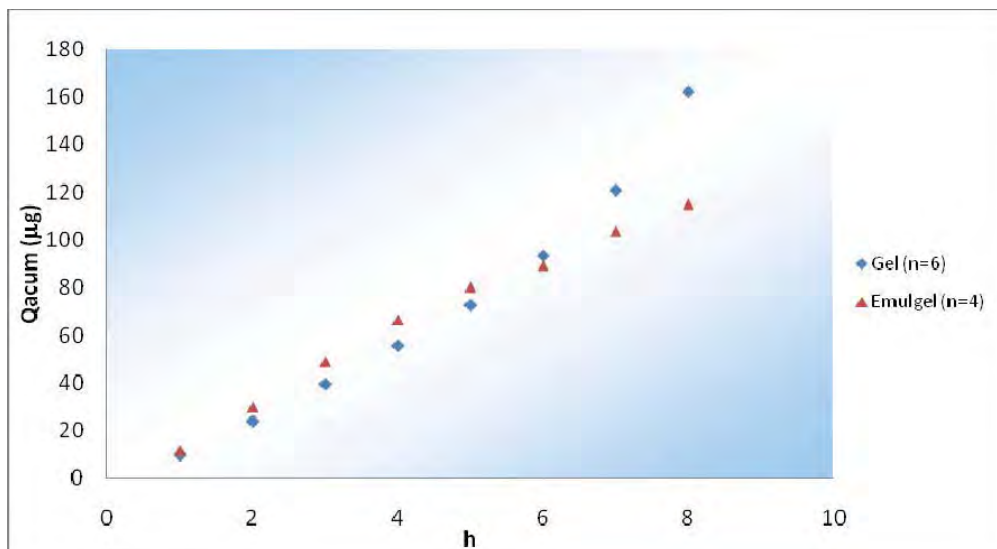


Figura 34. Cinética de permeación de IVM en los dos sistemas semisólidos a través de piel bovina.

Para determinar si las medias de C_p de ambos sistemas son significativamente diferentes se realizó una prueba de t de Student con un nivel de confianza del 95% (anexo II y fig. 35). Se observa que no existe una diferencia significativa en los resultados obtenidos. No hay diferencias significativas entre las formulaciones, es decir, que la capacidad de penetración para el activo en ambos sistemas es similar, esto puede deberse a que ambos sistemas presentan dentro de la formulación el mismo promotor de absorción, sin embargo debe de tomarse en cuenta que en el gel se encuentra en una mayor concentración del promotor de absorción utilizado así como el considerar que la cantidad acumulada en piel de activo es mucho mayor para el gel que para el emulgel. Los tres principales mecanismos de acción para aumentar la permeabilidad del activo: son incrementando la solubilidad del activo generando cambios en el coeficiente de partición, acumulando el activo en las capas superficiales de la piel, debido al hinchamiento de los lípidos intercelulares o bien, provocando un cambio en la composición del vehículo, por absorción de agua del ambiente y la piel ³⁸.

La concentración de fármaco influye ($5000 \mu\text{g}/\text{ml}$) dentro de la cantidad que pudiera penetrar a través del estrato córneo, sin embargo, para ambos sistemas, se utilizó la misma concentración.

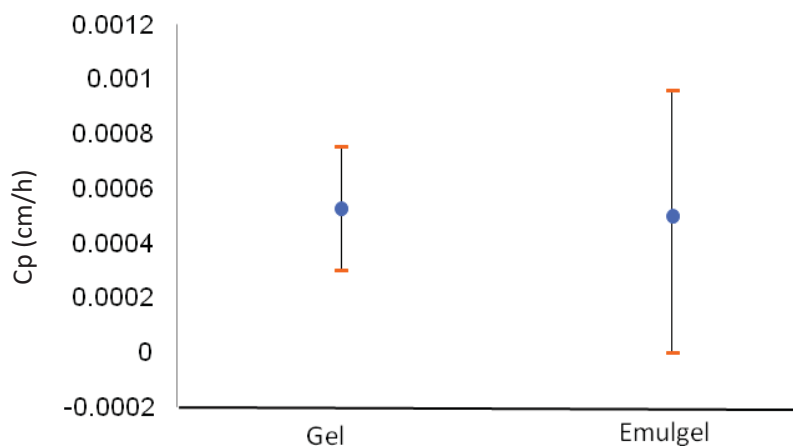


Figura 35. Media y límites de confianza al 95 % del comportamiento de los coeficientes de permeabilidad de ocho horas para cada sistema semisólido

Para conocer si había diferencias significativas entre la cantidad de IVM total permeada (CIVMTP) en cada uno de los sistemas se realizó una prueba de t de Student con un nivel de confianza del 95% (anexo II). En la fig. 36 se observa que las medias y los límites de confianza de la cantidad de IVM total permeada, a pesar de que el gel permitió paso de una mayor cantidad de IVM al final de la permeación (ocho horas de estudio), al igual que para el coeficiente de permeabilidad, no hay diferencias significativas entre ambos sistemas semisólidos. A pesar de que no hay diferencias significativas, se observa que hay una mayor cantidad permeada en el gel, esto puede atribuirse a que el gel presenta como ya se había mencionado anteriormente una proporción mayor del promotor de absorción con respecto al emulgel.

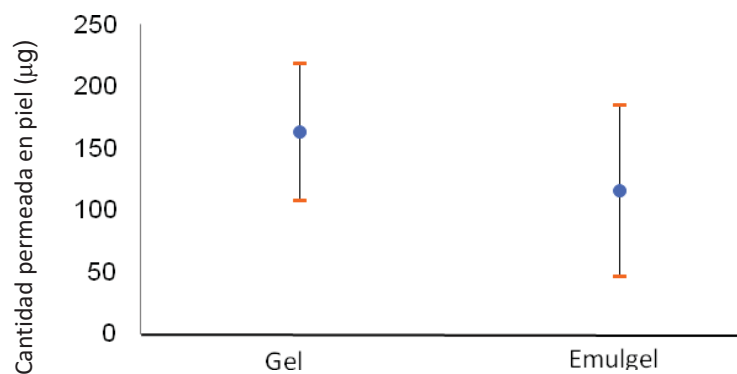


Figura 36. Media y límites de confianza al 95 % del comportamiento de la cantidad de IVM total permeada para cada sistema semisólido.

En cuanto a la cantidad de IVM retenida en la piel de bovino utilizada para las permeaciones, de igual forma que para los estudios anteriores, se llevó a cabo una prueba de t de Student con un nivel de confianza del 95% (anexo II). Para este análisis se utilizó como medio de disolución metanol, pues experimentalmente se obtuvo que la IVM, presenta una alta solubilidad de 130 mg/ml en este disolvente (tabla 8). El análisis de indica que el valor de que no hay una

diferencia estadísticamente significativa entre las medias para la cantidad de ivermectina total permeada en la piel con un 95% de confianza (anexo II).

En la figura 37, se observa que la cantidad de IVM retenida fue mayor para el gel que para el emulgel, sin embargo, no existe una diferencia significativa. Se puede suponer que existe una mayor cantidad de IVM retenida en el caso del gel, ya que este presenta una mayor viscosidad y por consiguiente favoreció la permanencia del gel en la piel.

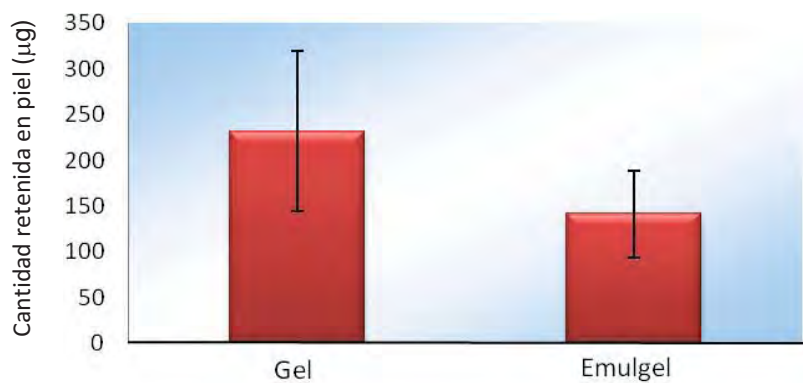


Figura 37. Cantidad de IVM retenida en piel bovina (μg) en los dos sistemas semisólidos.

Según las investigaciones farmacocinéticas con IVM (Fink y Porras, 1989)⁷¹, la farmacocinética de la IVM está influenciada por la formulación usada, por la vía de administración y por la especie animal a la que se le administra. De acuerdo, con esto, se tienen los siguientes parámetros farmacocinéticos para una administración por vía IV a una dosis de 200 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso: un volumen de distribución (V_d) de 1.9 L, una concentración máxima ($C_{\text{máx.}}$) de 44 ng/ml y un tiempo máximo ($T_{\text{máx.}}$) de 48 hrs.

Para lograr un efecto sistémico con los sistemas semisólidos propuestos, es necesario que estos alcanzaran la misma concentración máxima que es obtenida por medio de una administración intravenosa. Las formulaciones propuestas, las cuales podrían ser administradas como *pour on* o *spot on*, tendrían una dosis de administración igual que las formulaciones presentes en el

mercado. La dosis administrada a bovinos es de 1 ml / 10 kg de peso, lo cual equivale a 500 µg/ kg de peso.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 28 se infiere que el flujo para cada sistema semisólido propuesto permitiría una velocidad de pasaje de la IVM a través de piel suficiente para alcanzar la concentración máxima de una formulación por vía intravenosa rápidamente y presentar un efecto sistémico *in vivo*, no obstante, los resultados obtenidos durante ésta experimentación tendrían que confirmarse a través de estudios realizados con animales *in vivo*.
Propuesta de tema de investigación de este trabajo.

IX. CONCLUSIONES

- a) Se lograron obtener dos sistemas semisólidos de aplicación tópica (gel y emulgel) conteniendo ivermectina los cuales incluyen promotores de absorción y son de fácil aplicación con el fin de mejorar el control de la infestación de la garrapata *B. microplus*.

- b) Se desarrollaron sistemas semisólidos garrapaticidas estables con propiedades de formación de películas bioadhesivas.

- c) Se caracterizaron los sistemas semisólidos garrapaticidas mediante evaluaciones de tamaño de partícula (emulgel), estabilidad, propiedades reológicas y capacidad de formación de películas bioadhesivas.

- d) Se evaluaron las cinéticas de liberación y permeación de ivermectina *in vitro* para los dos sistemas semisólidos (gel y emulgel), encontrando para ambos casos perfiles similares de liberación y comportándose como formulaciones de liberación controlada.

X. PERSPECTIVAS

- a) Realizar evaluaciones *in vitro* para los dos sistemas semisólidos (gel y emulgel) por la técnica de inmersión de hembras repletas, en sus dos modalidades: prueba biológica y bioensayos con concentraciones múltiples.

- b) Realizar evaluaciones *in vivo* para los dos sistemas semisólidos (gel y emulgel) para conocer la capacidad de bioadhesión sobre bovinos.

- c) Continuar con los estudios realizados de permeación *in vitro*, realizando estudios *in vivo* para conocer realmente lo que sucede cuando se aplican ambos sistemas en animales y con ello correlacionar el estudio *in vitro* con resultados *in vivo*.

- d) Llevar a cabo el escalamiento de las formulaciones y su potencial forma de aplicación considerando las propiedades fisicoquímicas de los sistemas.

XI. ANEXOS.

ANEXO I. RESULTADOS DE PRUEBAS PREVIAS

Resultados de los espectros de absorción realizados para el principio activo y los excipientes.

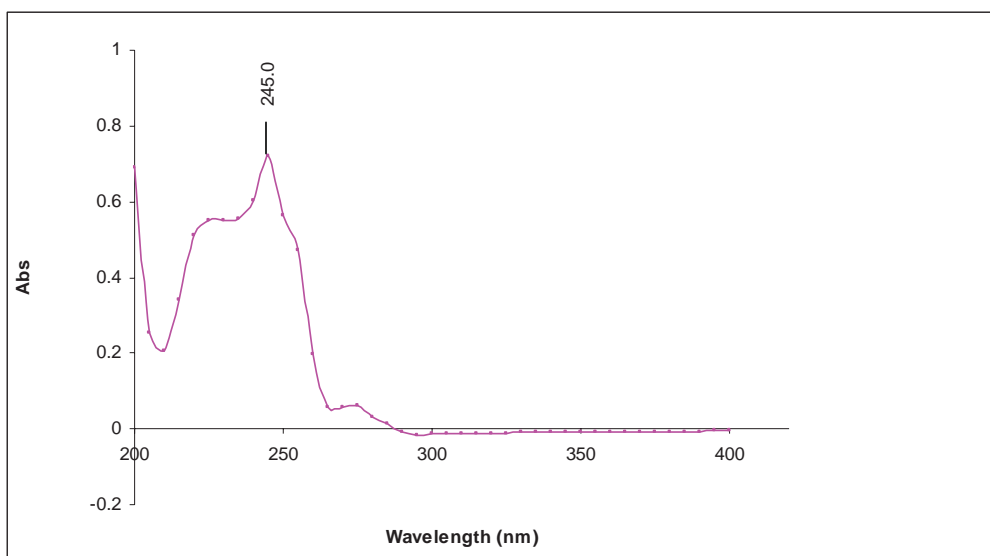


Figura 38. Barrido de IVM en solución de Brij® 58 al 3% en agua (20 µg/ ml), como medio de disolución.

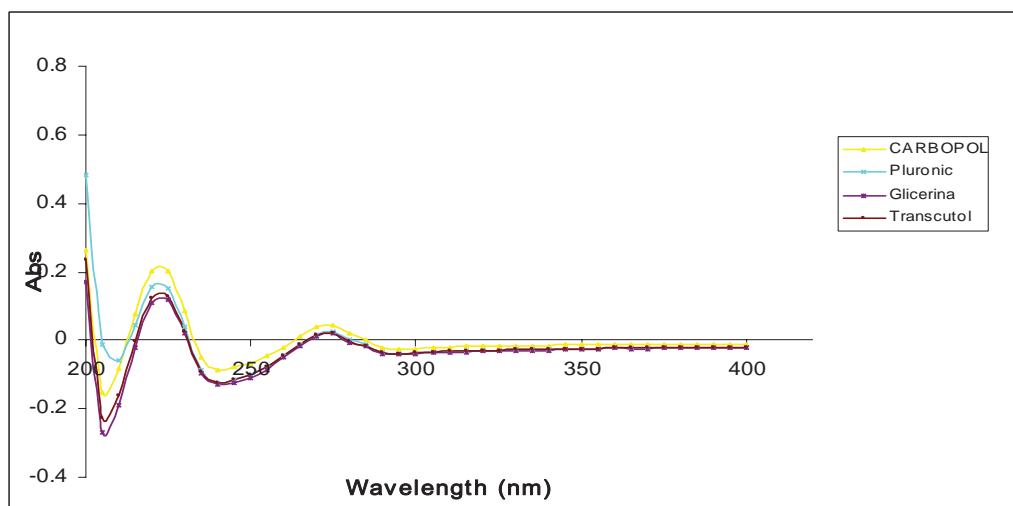


Figura 39. Barrido de excipientes en solución de Brij® al 3% en agua (20 µg/ ml), como medio de disolución.

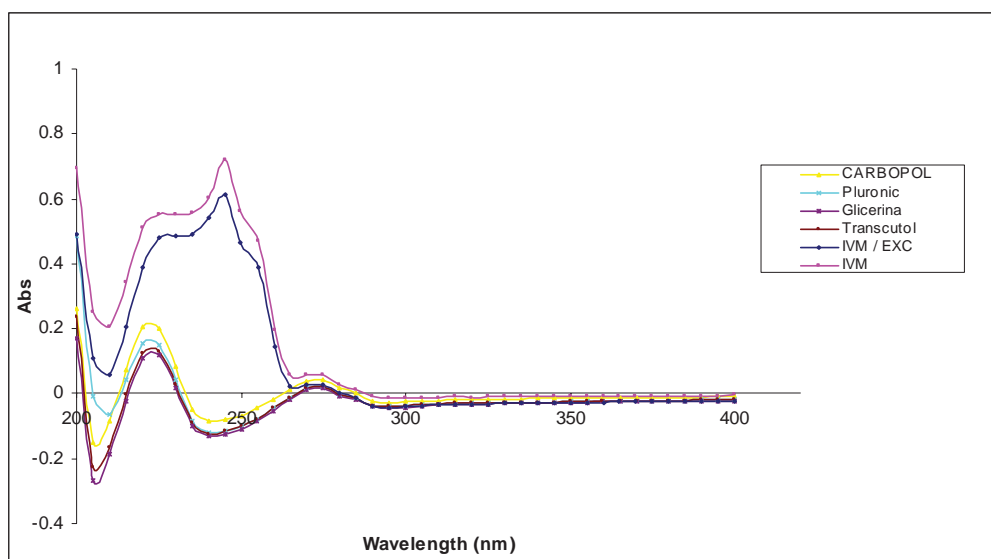


Figura 40. Barrido de excipientes; IVM; mezcla de IVM/ EXC, utilizando una solución de Brij® al 3% en agua (20 $\mu\text{g}/\text{ml}$), como medio en de disolución.

Tabla 29. Resultados de la curva de calibración a altas concentraciones de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución.

Sistema	Concentración (µg/ml)	A	Promedio	δ (+/-)
1	2	0.0640	0.0637	0.0003
	2	0.0634		
	2	0.0637		
2	4	0.1182	0.1188	0.0008
	4	0.1198		
	4	0.1186		
3	8	0.2574	0.2506	0.0065
	8	0.2443		
	8	0.2503		
4	16	0.506	0.5056	0.0052
	16	0.5002		
	16	0.5107		
5	24	0.7752	0.7694	0.0089
	24	0.7591		
	24	0.7741		
6	32	1.0261	1.0197	0.0062
	32	1.0136		
	32	1.0195		
7	40	1.2781	1.2740	0.0036
	40	1.271		
	40	1.2731		
8	48	1.5051	1.5145	0.0142
	48	1.5076		
	48	1.5309		
9	60	1.7893	1.8594	0.0618
	60	1.8828		
	60	1.9062		
			C.V. (%)	2.55

**Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema
(Curva en solución Brij® 58 al 3% en agua).**

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

HA: Existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Criterios de aceptación

- Si F calculada $>$ F crítica se rechaza Ho, por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.
- Si F calculada $<$ F crítica se acepta Ho, por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Tabla 30. Análisis de Varianza.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	9.894	8	1.237	2629.411	2.510
Dentro de los grupos	0.008	18	0.0004		
Total	9.902	26			

Como F calculada es mayor a F crítica se rechaza Ho, lo cual quiere decir que hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia. Esto también se puede comprobar con el coeficiente de correlación múltiple es de 0.99.

Prueba de intercepto

Prueba de hipótesis:

Ho: la ordenada al origen es igual a cero.

HA: la ordenada al origen es diferente de cero.

Criterio de aceptación

- Si t calculada $>$ t crítica se rechaza Ho, por lo tanto el intercepto es diferente de cero.
- Si t calculada $<$ t crítica se acepta Ho, por lo tanto el intercepto es igual a cero.

Tabla 31. Resultados de la curva de calibración de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución.

B	t CALCULADA	t CRÍTICA
0.0052	0.653	2.11

Tabla 32. Resultados de la curva de calibración a bajas concentraciones de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución.

SISTEMA	CONCENTRACIÓN ($\mu\text{g/ml}$)	A	PROMEDIO	δ (+/-)
1	0.32	0.0102	0.0097	0.00064
	0.32	0.01		
	0.32	0.009		
2	0.9	0.0286	0.0291	0.00076
	0.9	0.0288		
	0.9	0.03		
3	1.6	0.0509	0.0512	0.00030
	1.6	0.0515		
	1.6	0.0512		
4	2.4	0.0763	0.0764	0.00046
	2.4	0.076		
	2.4	0.0769		
5	3.2	0.1024	0.1030	0.00066
	3.2	0.1037		
	3.2	0.1029		
6	4	0.1279	0.1278	0.00046
	4	0.1282		
	4	0.1273		
			C.V. (%)	3.15

**Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema
(Curva en solución Brij® 58 al 3% en agua).**

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

HA: Existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Criterios de aceptación

- Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.
- Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Tabla 33. Análisis de Varianza.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.030120784	5	0.00602416	18760.35017	3.10587524
Dentro de los grupos	3.85333E-06	12	3.2111E-07		

Como F calculada es mayor a F crítica se rechaza H_0 , lo cual quiere decir que hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia. Esto también se puede comprobar con el coeficiente de correlación múltiple es de 0.99.

Prueba de intercepto

Prueba de hipótesis:

H_0 : la ordenada al origen es igual a cero.

H_A : la ordenada al origen es diferente de cero.

Criterio de aceptación

- Si t calculada $>$ t crítica se rechaza H_0 , por lo tanto el intercepto es diferente de cero.
- Si t calculada $<$ t crítica se acepta H_0 , por lo tanto el intercepto es igual a cero.

Tabla 34. Resultados de la curva de calibración de IVM en solución Brij® 58 al 3% en agua como medio de disolución.

B	t CALCULADA	t CRÍTICA
0.032	-0.647	2.03

Tabla 35. Resultados de la curva de calibración de IVM en metanol como medio de disolución.

Sistema	Concentración (µg/ml)	A	Promedio	δ (+/-)
1	0.4	0.0125	0.013	0.0006
	0.4	0.0135		
	0.4	0.0138		
2	0.8	0.0274	0.027	0.0003
	0.8	0.0270		
	0.8	0.0267		
3	4	0.1346	0.134	0.0018
	4	0.1349		
	4	0.1315		
4	8	0.2727	0.275	0.0028
	8	0.2784		
	8	0.2751		
5	16	0.5440	0.545	0.0018
	16	0.5441		
	16	0.5472		
6	24	0.8155	0.816	0.0003
	24	0.8154		
	24	0.8160		
7	32	1.0818	1.087	0.0043
	32	1.0891		
	32	1.0896		
8	40	1.3635	1.364	0.0111
	40	1.3532		
	40	1.3755		
			C.V. (%)	1.99

Análisis de varianza para evaluar la linealidad del sistema (Curva en metanol)

Prueba de hipótesis:

Ho: No existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

HA: Existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Criterios de aceptación

- Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.
- Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia.

Tabla 36. Resultados de la curva de calibración de IVM en metanol como medio de disolución.

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	5.488	5.488	296507.246	6.3055E-47
Residuos	22	0.0004	1.8509E-05		
Total	23	5.488			

Como F calculada es mayor a F crítica se rechaza H_0 , lo cual quiere decir que hay una relación lineal entre la concentración de IVM y su absorbancia. Esto también se puede comprobar ya que el coeficiente de correlación múltiple es igual a 1.

Análisis de varianza para evaluar la bioadhesión de la concentración de polímero

Prueba de hipótesis:

H_0 : No existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la bioadhesión obtenida.

H_A : Existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la bioadhesión obtenida.

Criterios de aceptación

- Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la bioadhesión obtenida.
- Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la bioadhesión obtenida.

Tabla 37. Análisis de Varianza para de bioadhesión del polímero.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	0.005	3	0.002	66.186	5.450E-06	4.066
Dentro de los grupos	0.0001	8	2.39652E-05			
Total	0.005	11				

Como F calculada es mayor a F crítica se rechaza H_0 , lo cual quiere decir que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la bioadhesión obtenida.

Prueba de hipótesis:

H_0 : No existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la viscosidad.

H_A : Existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la viscosidad.

Criterios de aceptación

- Si F calculada $>$ F crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la viscosidad.
- Si F calculada $<$ F crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la viscosidad.

Tabla 38. Análisis de varianza para la viscosidad en gel.

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>P</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	3.64332E+12	3	1.21444E+12	3369.547	9.6201E-13	4.066
Dentro de los grupos	2883333333	8	360416666.7			
Total	3.65E+12	11				

Como F calculada es mayor a F crítica se rechaza H_0 , lo cual quiere decir que existe una relación directamente proporcional entre la concentración de polímero y la viscosidad.

ANEXO II. RESULTADOS DE PERMEACIONES PARA LOS SISTEMAS SEMISOLIDOS

Tabla 39. Resultados de la cinética de permeación de IVM en el gel.

TIEMPO (H)	CELDA 1	CELDA 2	CELDA 3	CELDA 4	CELDA 5	CELDA 6
1	5.516	8.703	10.910	15.077	7.477	13.177
2	18.755	25.311	24.148	28.255	19.429	29.358
3	30.584	47.010	34.445	39.042	35.119	51.974
4	42.903	52.403	60.003	44.803	66.255	68.522
5	53.139	45.906	87.461	55.161	118.535	77.042
6	66.316	72.752	111.365	63.190	151.203	97.574
7	92.119	129.016	100.148	81.332	189.755	134.655
8	147.158	153.532	127.852	95.919	262.016	187.732

Anexo de la tabla 39.

TIEMPO (H)	PROMEDIO DE LAS CELDAS	δ (+/-)
1	10.144	3.598
2	24.210	4.398
3	39.6957	8.200
4	55.815	10.841
5	72.874	27.370
6	93.733	33.921
7	121.171	39.548
8	162.368	57.427

Área= 7.854 cm²

Concentración: 5000 µg/ml

Las permeaciones para la formulación del gel se hicieron por sextuplicado.

Tabla 40. Flujo y coeficientes de permeabilidad para cada celda para el gel durante las ocho horas.

	Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4	Celda 5	Celda 6
F	2.236	2.429	2.208	1.385	4.598	2.87
r²	0.895	0.871	0.955	0.981	0.955	0.935
Cp	0.0004	0.0005	0.0004	0.0003	0.0009	0.0006

- El flujo es el cociente de la cantidad acumulada de IVM entre el área ocupada por unidad de tiempo.
- El coeficiente de permeabilidad es el cociente del flujo entre la concentración de IVM en cada formulación.

Tabla 41. Resultados de la cinética de permeación de IVM en el emulgel.

TIEMPO (H)	CELDA 1	CELDA 2	CELDA 3	CELDA 4
1	17.284	7.968	5.577	15.077
2	47.990	29.665	13.668	28.255
3	56.816	34.813	65.519	39.042
4	70.913	51.729	98.923	44.803
5	87.032	34.997	144.216	55.161
6	99.781	42.965	151.387	63.190
7	110.016	66.377	157.271	81.332
8	128.035	48.419	187.977	95.919

Anexo de la tabla 41.

TIEMPO (H)	PROMEDIO DE LAS CELDAS	δ (+/-)
1	11.477	5.592
2	29.894	14.065
3	49.048	14.542
4	66.592	24.218
5	80.352	47.662
6	89.331	47.586
7	103.750	40.013
8	115.088	58.574

Área= 7.854 cm²

Concentración: 5000 µg/ml

Las permeaciones para la formulación del emulgel se hicieron por sextuplicado, sin embargo no se tomaron en cuenta dos celdas ya que los resultados obtenidos en dichas celdas no fueron confiables.

Tabla 42. Flujo y coeficientes de permeabilidad para cada celda para el emulgel durante las ocho horas.

	Celda 1	Celda 2	Celda 3	Celda 4
F	1.865	0.719	3.482	1.385
r²	0.983	0.639	0.949	0.981
Cp	0.000373	0.0001	0.0007	0.0003

- El flujo es el cociente de la cantidad acumulada de IVM entre el área ocupada por unidad de tiempo.
- El coeficiente de permeabilidad es el cociente del flujo entre la concentración de IVM en cada formulación.

Tabla 43. Cantidad de IVM total permeada (µg).

CELDAS	GEL	EMULGEL
1	147.1580	128.0354
2	153.5322	48.4193
3	127.8516	187.9774
4	95.9193	95.9193
5	262.0161	-
6	187.7322	-

Tabla 44. Cantidad de IVM retenida en piel bovina utilizada en las permeaciones (μg).

CELDA	GEL	EMULGEL
1	193.882	151.118
2	172.176	167.235
3	267.235	175.294
4	133.588	71.412
5	381.529	-
6	239.824	-
Promedio	231.373	141.265
δ (+/-)	87.608	47.641

Tabla 45. Prueba de t de Student para el coeficiente de permeabilidad (h cm) de los dos sistemas semisólidos.

	VARIABLE 1	VARIABLE 2
Media	0.000524	0.000372
Varianza	4.6831E-08	5.5445E-08
Observaciones	6	4
Diferencia hipotética de las medias	0.0001	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	0.351	
P(T<=t) una cola	0.369	
Valor crítico de t (una cola)	1.9431	
P(T<=t) dos colas	0.7376	
Valor crítico de t (dos colas)	2.447	

Criterios de aceptación

Si t calculada $< t$ crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto no hay diferencia significativa entre las medias.

Si t calculada es $< t$ crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe diferencia significativa entre las medias.

Como t calculada es $< t$ crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe diferencia significativa entre las medias.

Tabla 46. Prueba de t de Student para la cantidad de IVM total permeada de los dos sistemas semisólidos.

	VARIABLE 1	VARIABLE 2
Media	162.368	115.088
Varianza	3297.862	3430.883
Observaciones	6	4
Diferencia hipotética de las medias	47	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	0.0074	
$P(T \leq t)$ una cola	0.497	
Valor crítico de t (una cola)	1.943	
$P(T \leq t)$ dos colas	0.994	
Valor crítico de t (dos colas)	2.446	

Criterios de aceptación

Si t calculada $< t$ crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto no hay diferencia significativa entre las medias.

Si t calculada es $< t$ crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe diferencia significativa entre las medias.

Como t calculada es $< t$ crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe diferencia significativa entre las medias.

Tabla 47. Prueba de t de Student para la cantidad de IVM retenida en piel bovina (μg) de los dos sistemas semisólidos.

	VARIABLE 1	VARIABLE 2
Media	231.372	141.265
Varianza	7675.220	2269.662
Observaciones	6	4
Diferencia hipotética de las medias	90	
Grados de libertad	8	
Estadístico t	0.003	
$P(T \leq t)$ una cola	0.499	
Valor crítico de t (una cola)	1.860	
$P(T \leq t)$ dos colas	0.998	
Valor crítico de t (dos colas)	2.306	

Criterios de aceptación

Si t calculada $< t$ crítica no se rechaza H_0 , por lo tanto no hay diferencia significativa entre las medias.

Si t calculada es $< t$ crítica se rechaza H_0 , por lo tanto existe diferencia significativa entre las medias.

Como t calculada es $< t$ crítica se acepta H_0 , por lo tanto no existe diferencia significativa entre las medias.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. CONACYT - SAGARPA, Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodicidas en el sureste de México (2002).
2. George J.E., Kammalah, D.M., Powd J.M., Davey R.B. The impact of acaricide resistance ticks on the exportation of cattle from México into the U.S. V. Int. Seminar in Animal Parasitology (2003).
3. Rodriguez-Vivas R.I., Alonso-Díaz M.A., Rodríguez-Arévalo F.,Fragoso-Sánchez H., Santamaría V.M., Rosario-Cruz R. Prevalence and potential risk factors for organophosphates and pyrethroids resistance in *Boophilus microplus* ticks in cattle ranches from the State of Yucatan (2005).
4. Gurny R., Simmons S.P., Banker, G.S. Meeker, R. and Myers, R. D. New biocompatible drug delivery system for chronic implantation in animal brain. Part 1. (2005).
5. Hennesy D.R. Modifying the formulation or delivery mechanism to increase the activity of antihelmintic compounds. Veterinary Parasitology (1997).
6. Sumano L.H. y Ocampo C.L. Efectos del closanten y la ivermectina sobre la densidad de *Boophilus microplus* resistentes a organofosforados en bovinos. (1992).
7. López Seco Jorge. Temas de bovinos de carne. Fascículo 2. Bioseguridad en bovinos. Prevención de Enfermedades. Editorial Hemisferio Sur. Argentina, 1995. pág. 23 - 25.
8. Aguilero Lozoya Saldaña Aguilero. Apuntes de entomología. Biología y Hábitos de las garrapatas de los Animales domésticos en el área de influencia. UNAM (1985).
9. web2.senasica.sagarpa.gob.mx (2007).
10. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícola y Pecuarias. Manual técnico para el control de las garrapatas en el ganado bovino (2006).
11. Dr. Bárnés de Castro Francisco. Sistema de Producción Animal 1. Vol. II. UNAM, 1998, pág. 199 - 204.
12. Guglielmone, Atilio J. M. Garrapata común de los bovinos. Prev. Vet. Med. (2000).

13. Gerrit D., Hans Dieter-Gründer, Matthaeus S. Medicina Interna y cirugía del bovino. Vol. I. 4° ed., Editorial Inter-Medica, Argentina, 2005. pág. 63 - 67, 202 - 205.
14. Ozamu S., Tetsuo H., Fukunori K., Atsushi S. Macrolide Antibiotics. Chemistry, Biology and practice. Editorial Academic Press, second edition. Amsterdam, 2002, pág. 403 - 414.
15. Figueroa Milán J.V., Alvarez Martinez J.A., Investigaciones sobre la aplicación de técnicas moleculares en el diagnóstico y control de la babesiosis bovina (2003).
16. Manual técnico para el control de las garrapatas del ganado bovino. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícola y Pecuarias. (2006).
17. Aguirre J.A. Resistencia hacia productos organofosforados en garrapatas *Boophilus microplus* de la región noreste de México: Diagnóstico y evaluación de productos. Proyecto especial CENAPA. Dirección General de Salud Animal. México (1986).
18. Servicio Nacional de inocuidad y Calidad Agroalimentaria Dirección general de Salud Animal Dirección de campañas Zoonosanitarias. Resistencia de las garrapatas a los productos ixodícos (2009).
19. Rathbone M.J., Gurny R., Controlled Release Veterinary Drug Delivery: Biological and Pharmaceutical Considerations. Pharmaceutical Science (2000).
20. The Merck Index. Merck and Co., 10° ed, USA, 1983, pp. 5089.
21. Rozman Farreras. Therapeutics Drugs (1999).
22. Veronica Lobato, Susanne Rath , Felix G.R. Reyes. Toxicology Letters.(2006).
23. Alonso-Díaz M.A., Rodríguez-Vivas R.I., Fragoso-Sánchez H., Rosario-Cruz R. Resistencia de la garrapata *Boophilus microplus* a los ixodícos. Arch. Med. Vet., Vol. XXXVIII N° 2, 2006, pág. 105-113.
24. Drumond R.O., Resistance in ticks and insects of veterinary importance. Pesticide Management and Insecticide Resistance (1977).
25. Castellanos H.J.L., Seguimiento a predios con garrapata resistente hacia los ixodícos y alternativas para su control, Universidad Autónoma de Tamaulipas (1998).
26. Soberanes C.N., Santamarina V.M., Fragoso S.H., García V.Z. Primer caso de resistencia al amitraz en la resistencia del ganado *Boophilus microplus* en México (2002).

27. Armendáriz González Ignacio. Informe de un caso de resistencia múltiple a ixodicidas en *Boophilus microplus* Canestrini (Acari: Ixodidae) en Tamaulipas, México (2003).
28. Metcalf R.L. Insect resistance to insecticides. Pesticide (1989).
29. Georghiou G.P., Taylor C.E. Genetic and biological influences in the evolution of insecticide resistance. *J. Econ. Entomol.*, 1977, Jun 15:70 (3), pág 319-323.
30. Fragoso S H, C N Soberanes. 2001. Control de la resistencia a los ixodicidas a la luz de los conocimientos actuales. Memorias de XXV Congreso Nacional de Buiatria. Veracruz, Veracruz, México. Asociación Mexicana de Médicos especialistas en Bovinos, A.C. pág. 40-48.
31. Norma Oficial Mexicana NOM-019-ZOO-1994 (2007).
32. Norma Oficial Mexicana NOM-006-ZOO-1993 (2007).
33. Hardee Gregory E., Baggot J. Desmond. Development and Formulation of Veterinary Dosage Forms, Second edition, Vol 88, 1998, 488 pp.
34. Lopez Cervantes Miriam. Estudio del efecto del laurocapram (Azona®) y 4-deciloazolidin-2-ona (dermac®) sobre la barrera de permeabilidad de la piel mediante pruebas de infrarrojo, pérdida de agua transepidermal y estudios de permeación in Vitro. Tesis de Maestría. UNAM (2003).
35. Ganem Rondero Adriana. Caracterización de la velocidad de liberación de un fármaco hidrofílico y uno lipofílico contenidos en bases lipo e hidrosolubles. Tesis de Licenciatura. UNAM (1991).
36. Shirzad Azarmi, Wilson Roa, Raimar Löbenberg. Current perspectives in dissolution testing of conventional and novel dosage forms (2006).
37. Escobar Chávez José Juan. Estudio de la penetración a través de la piel de naproxeno sódico utilizando agentes promotores de penetración (Azona® y Transcutol®) y de digluconato de clorhexidina mediante iontoforesis. Tesis de doctorado (2006).
38. Marcel Dekker. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, New York, Vol. VI, 2 ed., (2002).
39. Figueroa Pérez Miguel Angel. Geles termorreversos como sistemas de liberación de fármacos. Tesis de Licenciatura. UNAM (2006).

40. Convention U.S.P. Pharmacopea (2000).
41. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Octava edición. (2004).
42. Sánchez Fuentes María Guadalupe. Tesis de Licenciatura. UNAM (2000).
43. Mohamed Magdy I. Optimization of Chlorphenesin Emulgel Formulation. AAPS Journal, 6, 2003, pág. 81-87
44. Sanz Egaña, Cesáreo. Apreciación en vivo del ganado vacuno para carne, en diez temas sobre ganado vacuno de carne, Ministerio de Agricultura, Madrid (1966).
45. Dyce KM, Sack WO, Wensing CJG. Anatomía veterinaria. 2 ed. México: Mac Graw-Hill, (1999).
46. Wilkinson J.B., Moore R.J., Cosmetología de Harry, Ed. Díaz de Santos, S.A. Madrid, España, 1990. pág. 3-17.
47. Kenneth A. Arndt. M. D. Cutaneous Medicine and Surgery: an integrated program in dermatology, Ed. Saunders, Philadelphia, 1996.
48. Stashak TS. Piel y tejido subcutáneo. En: Jennings PB (ed). Texto de cirugía de los grandes animales. España: Salvat, 1989, pág. 233-235.
49. Nesbitt GH, Ackerman LJ. Canine and feline dermatology, diagnosis and treatment. USA: Veterinary learning systems, 1998, pág. 6-23.
50. Aïache j. M. Devissaguet J. Ph Guyot- Herman A.M. Biofarmacia. El Manual Moderno, México, 1983, pág. 127-135.
51. Doménech B.J. Martínez L. J. Plá D. J. Biofarmacia y Farmacocinética, Ed. Síntesis. Madrid, España (1998). pág. 408 - 412.
52. Domínguez Delgado Clara Luisa. Estudio comparativo de la absorción percutánea in vitro de triclosán a partir de un sistema nanoparticulado y dos formas comerciales, destinados al tratamiento de acné Tesis de Licenciatura. UNAM (2007).
53. C.E. Aguilera, A. Peña Romero, O.R.A. Cervantes, G.R. Villalobos and D. Quintanar Guerrero. Development of a new method to measure polymer bioadhesion exposure area and humectation time effect on adhesion force. Biomaterials. 2001, pág. 957-961.
54. Rafael Villalobos García. Aplicacion de la teoria fractal al modelo de Hixson-Crowell para el estudio de la disolucion de fármacos. Tesis de Maestría. UNAM (1996).

55. Zetazizer nanoseries, Usual Manual Malvern Instrument, Cap. Z potential theoretic, England (2003).
56. Zetazizer nanoseries, Usual Manual Malvern Instrument, Cap size globule theoretic, England (2003).
57. A Ganem-Quintanar, C. Laffotgue, F. Falson- Rieg, P. Buri. Evaluation of the epidermal permeation of diethyleneglycol monoethyl ether and skin water loss. *International Journal of Pharmaceutics*. 1997, pág. 165-171.
58. J. das Neves, M.F. Bahia. Gels as vaginal drug delivery systems. *International Journal of Pharmaceutical*, 318, 2006, pág. 1-14.
59. Figueroa Pérez Miguel Angel. Geles termoreversos como sistemas de liberación de fármacos. Tesis de Licenciatura. UNAM (2006).
60. The veterinartan's PDR, *Veterinary Pharmaceuticals and Biologicals*, Ed Intern, 10° ed, U.S.A., 1998, 1373 pp.
61. Zamacona Muciño Adriana. Estudios de Estabilidad Acelerada para tres emulsiones cosméticas. Tesis de Licenciatura. UNAM (2001).
62. www.acofarma.com/bd/ficheros/fds/Miglyol-812.pdf
63. Lembo García Uriel. Puntos críticos en el proceso de manufactura de emulsiones (cremas faciales). Tesis de Licenciatura. UNAM (2000).
64. Loera Rivera Raquel. Efecto de la relación proteína-hidrocoloide en la estabilidad de emulsiones aceite-agua. Tesis de Licenciatura. UNAM (2006).
65. Martínez Gómez Edgar. Formulación y evaluación de una microemulsión para la administración tópica del triclosán. Tesis de Licenciatura. UNAM (2007).
66. Jonh D. Smart. The basics and underlying machanisms of mucoadhesion. *Advanced Drugs Delivery Reviews*, 57, 2005, pág 1556-1568.
67. Flores Serralde Talia Adriana. Propiedades viscoelásticas de geles de Kappa-Carragenina. Tesis de Licenciatura. UNAM (2006).
68. Norma Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-1993 (2007).

69. Castañeda Gallardo Liliana. Estudio de la factibilidad para la aplicación de alginatos en la elaboración de sistemas matriciales para controlar la liberación de fármacos. Tesis de Licenciatura. UNAM (2002).
70. Adams R. H. Farmacología y terapéutica veterinaria. Ed. Acribia, 2ª ed, España, 2003.
71. Andreetta Héctor A., Fármacos de acción prolongada: Mecanismos de liberación. Uso de distintos modelos. *Lat. Am. J. Pharm.*, 26, 2003, pág. 468-474.