



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

TESIS

“Desarrollo y caracterización de un arreglo de microagujas de metacrilato cargado con ceftriaxona como novedosa propuesta para tratamiento de quemaduras”.

PRESENTA

LUIS FERNANDO CASTILLO CARMONA

ASESOR DE TESIS

Dr. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ

CO ASESOR DE TESIS

Dr. PABLO SERRANO CASTAÑEDA

Cd. Mx. Enero 2022



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE TITULACIÓN



UNAM
CUAUTITLÁN

DEPARTAMENTO
DE TITULACIÓN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

DR. DAVID QUINTANAR GUERRERO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: DRA. MARÍA DEL CARMEN VALDERRAMA BRAVO
Jefa del Departamento de Titulación
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis y examen profesional**

Desarrollo y caracterización de un arreglo de microagujas de metacrilato cargado con ceftriaxona como novedosa propuesta para el tratamiento de quemaduras.

Que presenta el pasante: **Luis Fernando Castillo Carmona**
Con número de cuenta: **417070362** para obtener el título de: **Licenciado en Farmacia.**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 01 de Junio de 2023.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Dra. Sofía Piña Olmos	
2do. SUPLENTE	Dra. Lizbeth Martínez Acevedo	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional.

Agradecimientos.

A mi país que me brindó de los recursos, instituciones e inspiración para ser un gran mexicano.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de ser parte de la máxima casa de estudios, por brindarme herramientas y oportunidades para desenvolverme y desarrollarme en mi área.

A la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, por brindarme de las enseñanzas de grandes docentes que guiaron mi trayectoria en la carrera todo el tiempo y darme la oportunidad de pertenecer a la maravillosa comunidad de alumnos muy unida que siempre brindo de su apoyo.

Al Doctor José Juan Escobar Chávez, por aceptarme en el laboratorio de investigación, por su paciencia y consejos del como elaborar este trabajo además de ser un gran asesor de tesis, un gran maestro y una excelente persona.

Al Doctor Pablo Serrano Castañeda, por impulsar el deseo de la investigación y ayudarme en el planteamiento del presente proyecto.

Al Doctor Rodrigo Escobar, por ayudarnos con la resolución de problemas y ser un buen amigo.

A mi familia, por brindarme refugio, apoyo, alimento durante mis días más difíciles y las múltiples oportunidades para superarme y en especial por nunca abandonarme.

A mi abuela Julieta que me busco y recibió con los brazos abiertos brindándome de un amor incondicional.

A mi abuela Chavelita que me cuido desde que era un niño.

A Salvador Carmona, Saul Carmona y Erick Santillán que fueron mis figuras paternas sin tener la obligación de serlo inculcándome valores y apoyándome en cada ocasión.

Un especial agradecimiento a mi madre Georgina Carmona que con todas las dificultades que la vida le planto velo por mi educación y mi salud.

A mis amigos Lía Burstin, Cassandra Valdez, Fernanda Ramos y en especial a Diego Pérez que estuvieron allí cada vez que lo necesite y me demostraron una verdadera amistad y apoyo durante toda la carrera.

A Adriana Monroe que fue mi más grande pilar emocional durante mis años más turbulentos.

Investigación realizada gracias al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT) de la UNAM clave: CG100220 Folio: 018822. Agradezco a la DGAPA-UNAM por la beca recibida.

A los **proyectos CI 2206**: *“Sistemas transdérmicos con base en microagujas, apósitos y nanofibras poliméricas cargados con sustancias de interés terapéutico para regeneración tisular de heridas por quemaduras y para tratamiento de pie diabético”*, **CONACyT CF 140617**: *Desarrollo y fabricación de nuevos materiales poliméricos nanoestructurados para ingeniería de tejidos y liberación controlada de agentes terapéuticos* y **PAPIT IG CG100220**: *Síntesis y manufactura de nanoestructuras poliméricas para el desarrollo y fabricación de materiales biomédicos útiles en ingeniería de tejidos y liberación controlada de agentes terapéuticos.*

Dedicatoria

A mi madre Georgina Carmona, a mi abuela Julieta y a mi tío Salvador Carmona que no pudo estar presente, en paz descanse.

Participaciones

El presente trabajo participó en los siguientes congresos:

- XXX Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica y a la XXVI Reunión de Estudiantes de Farmacia.
- XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

Los certificados correspondientes se pueden encontrar en los anexos 1 y 2

La validación del método de cuantificación de ceftriaxona ocupado para el trabajo fue publicada en la Pharmaceutical Chemistry Journal y se puede encontrar en el anexo 3

Contenido

1. Introducción	1
2. Marco teórico.....	3
2.1. La piel.....	3
2.1.1. Sistema tegumentario.....	3
2.1.2. Histología de la piel.....	3
2.1.3. La epidermis.....	4
2.1.4. La dermis.....	5
2.1.5. Colágeno.....	6
2.1.6. La hipodermis o tejido subcutáneo.....	8
2.2. Proceso de regeneración de la piel.....	8
2.2.1. Respuesta vascular y hemostasia.....	8
2.2.2. Proceso de coagulación.....	9
2.2.3. Inflamación.....	10
2.2.4. Proliferación.....	10
2.2.5. Remodelación.....	11
2.3. Factores que afectan la regeneración.....	12
2.3.1. D-Pantenol como promotor de la regeneración de heridas.....	14
2.4. Heridas cutáneas.....	15
2.4.1. Heridas agudas.....	15
2.4.2. Heridas crónicas.....	16
2.4.3. Úlceras.....	16
2.4. Quemaduras.....	17
2.4.1. Causas de las quemaduras.....	17
2.4.2. Clasificación de Quemaduras.....	18
2.5. Tratamiento de las quemaduras.....	21
2.5.1. Seguimiento.....	21
2.5.2. Complicaciones de las quemaduras (Profilaxis antimicrobiana).....	22
2.6. Vías de entrada de un fármaco.....	23
2.7. Vía tópica.....	24
2.8. Paso del fármaco a través de la piel.....	24
2.8.1 Vía transepidérmica.....	25
2.8.2. Vía transapendicular.....	26

2.9. Factores biológicos que afectan la absorción por vía tópica.	26
2.10. Transdérmicos.	28
2.10.1. Primera generación de transdérmicos.	29
2.10.2. Segunda generación de transdérmicos.	31
2.10.3. Tercera generación de transdérmicos.	32
2.11. Arreglos de Microagujas.	32
2.11.1. Características de las microagujas.	32
2.11.2. Tipos de microagujas.	33
2.11.3. Materiales para microagujas.	35
2.11.4. Técnicas de fabricación con microagujas.	37
2.11.5. Ventajas y desventajas de las microagujas.	41
2.12. Ventajas regenerativas de las microagujas.	42
2.13. Ceftriaxona.	43
3. Justificación.	45
4. Hipótesis.	46
5. Objetivos.	46
5.1 Objetivo general.	46
5.2 Objetivos específicos.	46
6. Metodología.	47
6.1 Plan de trabajo.	47
6.2 Reactivos.	48
6.3 Material y equipos.	48
6.4 Métodos.	49
6.4.1 Preformulación.	49
6.4.2 Formulación (diseño de experimentos).	49
6.4.3 Elaboración de 1 arreglo de microagujas.	50
6.4.4 Evaluaciones del diseño de experimentos.	51
6.4.5 Optimización de la formulación.	55
6.4.6 Caracterización física y química de la formulación.	56
7. Resultados y análisis de resultados.	59
7.1. Resultados de la Preformulación.	59
7.2. Resultados y discusión del diseño de experimentos.	60
7.2.1 Factores que muestran un efecto significativo en el diseño de experimentos.	61

7.2.2 Formulación óptima.....	64
7.3. Resultados y discusión de la caracterización física y química de la formulación.....	65
7.3.1. Caracterización física de la formulación.	65
7.3.2. Caracterización química de la formulación.....	74
8. Conclusiones.	83
9. Perspectivas.	84
10. Referencias.....	85
11. Anexos.....	1
11.1. Anexo 1: Certificado de la participación en el XXX Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica y a la XXVI Reunión de Estudiantes de Farmacia.	1
11.2. Anexo 2: Certificado de la participación en el XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas	2
11.3. Anexo 3: Validación del método de cuantificación de ceftriaxona.....	2

Índice de ilustraciones

Ilustración 1 Capas de la piel (Meditip, 2022).....	3
Ilustración 2 Capas de la epidermis (Meditip, 2022).	4
Ilustración 3 representación que cuantifica porcentualmente el valor de las zonas afectadas por una quemadura en adultos e infantes (Artz, 1969).....	18
Ilustración 4 Ejemplificación de las 2 formas de absorción de la vía transepidérmica	25
Ilustración 5 Vía trans apendicular (Moral, 2017).	26
Ilustración 6 La composición de los parches transdérmicos.....	29
Ilustración 7 Forma de las microagujas reportadas en la literatura.	32
Ilustración 8 Funcionamiento de las microagujas sólidas, recubiertas, solubles y dehidrogel (Yu J, Zhang Y, Ye Y, DiSanto R, Sun W, Ranson D, Gu Z, 2015).	34
Ilustración 9 funcionamiento de las microagujas huecas (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016).	35
Ilustración 10 Estructura química del Kollicoat® MAE 100P (BASF, 2022).....	36
Ilustración 11 Microscopia electrónica de barrido de una sección de la matriz de 50 microagujas. (Gupta J, Gill S, Andrews N, Prausnitz R,, 2011).	37
Ilustración 12 Micrografía de campo claro de una matriz de 50 microagujas. Microagujas sólidas compuestas de acero inoxidable (i y ii) (Gupta J, Gill S, Andrews N, Prausnitz R,, 2011).	37
Ilustración 13 Grabado en seco por fotolitografía (i y ii) (McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M, 2003).....	38
Ilustración 14 grabado en húmedo (McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M, 2003).....	39
Ilustración 15 Microagujas fabricadas por impresión 3D (Krieger, 2019).	39
Ilustración 16 Proceso de fabricación por producción continua de interfaz líquida (Clip) (Johnson R, Caudill L, Tumbleston R, Bloomquist C, Moga A, Ermoshkin A, DeSimone M, 2016).	40
Ilustración 17 Microagujas fabricadas a partir de la polimerización de dos fotones (TPP) (Balmert, C, Carey, D, Falo D, Sethi K, Erdos G, Korkmaz E, Falo D, 2020).....	41
Ilustración 18 diagrama del plan de trabajo	47
Ilustración 19 Ejemplificación de la posición correcta del brazo en prueba de bioadhesión.	51
Ilustración 20 Ejemplificación del proceso de humectación.....	52
Ilustración 21 Ejemplificación de cómo colocar el arreglo de microagujas en el texturómetro.	52
Ilustración 22 Skin pH Meter.....	53
Ilustración 23 Mexameter.....	53
Ilustración 24 Tewameter.	54
Ilustración 25 Corneometer.	54
Ilustración 26 Aparato disolutor USP tipo II.....	55
Ilustración 27 Espectrofotómetro.....	56
Ilustración 28 esquema del montaje de las celdas de Franz.....	58
Ilustración 29 Gráfica de Efectos principales para resistencia a la ruptura.	62
Ilustración 30 Gráfica de Efectos principales para pH.	63
Ilustración 31 Reacción de oxidación y activación de D-Pantenol a ácido pentanoico.	63

Ilustración 32 Arreglo de microagujas finalizado.....	65
Ilustración 33 Fotografía de una aguja a 100X.....	66
Ilustración 34 Diagrama de Pareto estandarizada para bioadhesión.....	67
Ilustración 35 Diagrama de Pareto estandarizada para bioadhesión post humectación.	68
Ilustración 36 Diagrama de Pareto estandarizada para eritema.	70
Ilustración 37 Ejemplificación de los componentes de un arreglo de microagujas.....	71
Ilustración 38 Diagrama de Pareto estandarizado para TEWL.....	73
Ilustración 39 Gráfico del modelo cinético de orden 0 donde $Q_t = Q_0 + K_0t$ siendo Q_t la cantidad de fármaco disuelto en un tiempo t , Q_0 es la concentración inicial y K_0 es la constante de orden 0 que expresa unidades de concentración/tiempo.....	77
Ilustración 40 Gráfico del modelo cinético de orden 1 donde $\text{Log } C = \text{log } C_0 - Kt/2.303$, siendo K la constante de primer orden expresada con las unidades de tiempo-1, C_0 es la concentración inicial del fármaco.	77
Ilustración 41 Gráfico del modelo matemático de Korsmeyer-Peppas donde $\text{Log } C = n \cdot \text{Log } t - \text{Log } K$, siendo K es la constante de liberación, t es tiempo, c es la concentración y n el exponente que determina el mecanismo de liberación.	79
Ilustración 42 Grafico del modelo matemático de Higuchi donde $Q_t = K_H \cdot t^{1/2}$, siendo K_H es la constante de disolución de Higuchi, t es tiempo, Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t	80
Ilustración 43 Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel sana.....	81
Ilustración 44 Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel herida.....	81

Índice de Tablas

Tabla 1 Tabla de tipos de colágenos y sus características (Meisenberg G, Simmons W, 2017).	7
Tabla 2 Factores biológicos que afectan la absorción de una formulación tópica	27
Tabla 3 Ventajas y desventajas de las formulaciones transdérmicas.	28
Tabla 4 Ventajas y desventajas presentes en el uso de microagujas.	41
Tabla 5 Reactivos utilizados en la experimentación.	48
Tabla 6 Material y equipos utilizados durante la experimentación.....	48
Tabla 7 Formulaciones propuestas para la base polimérica del arreglo de microagujas de ceftriaxona.	49
Tabla 8 Planteamiento de las variables y niveles del diseño de experimentos.	49
Tabla 9 Corridas obtenidas al someter la formulación al diseño de experimentos.....	50
Tabla 10 Valores de comparación de eritema.	53
Tabla 11 Valores de comparación de la pérdida de agua transepidermal.	54
Tabla 12 Valores de comparación de humectación.	54
Tabla 13 Resultados de las pruebas del diseño de experimentos.	60
Tabla 14 Resumen del valor de probabilidad de las variables de respuesta significativas con respecto a los factores estudiados para la formulación Kollicoat® MAE 100P.....	61
Tabla 15 Metas elegidas para aumentar la deseabilidad de la formulación optima.	64
Tabla 16 Optimización de los factores para la formulación.....	64
Tabla 17 Formulación óptima.	64
Tabla 18 Pesos registrados para cada arreglo.....	65
Tabla 19 Gramos fuerza necesarios en promedio para generar una ruptura en la formulación optima.	66
Tabla 20 Fuerza de adhesión promedio obtenida en la formulación óptima.....	67
Tabla 21 Fuerza de adhesión post humectación promedio obtenida en la formulación óptima.	68
Tabla 22 pH promedio obtenido en la formulación optima.	69
Tabla 23 Daño tisular causado en promedio por la formulación óptima.	71
Tabla 24 Diferencia encontrada de TEWL entre la piel eudérmica y piel tratada con la formulación óptima en promedio.....	72
Tabla 25 Diferencia encontrada de humectación entre la piel eudérmica y piel tratada con la formulación óptima en promedio.....	74
Tabla 26 cantidad de ceftriaxona real contenidos en los arreglos de microagujas.	74
Tabla 27 Contenido químico y rendimiento obtenido en las microagujas óptimas.	75
Tabla 28 Registro de las absorbancias, concentraciones y mg disueltos durante la prueba de liberación.....	76
Tabla 29 Relación entre el valor del exponente "n" con forme a mecanismo de transporte y la tasa en función del tiempo.....	78
Tabla 30 Parámetros obtenidos de la prueba de permeación ex vivo en tejido de abdomen.	82

Abreviaturas

m metros	µg microgramos	min minutos
cm centímetros	L litros	s segundos
mm milímetros	mL mililitros	M concentración molar
µm micrómetros	µL microlitros	mol moles
nm nanómetros	gf gramos fuerza	mmol milimolar
m² metros cuadrados	V voltios	% porcentaje
m³ metro cubico	Da Daltons	°C grado Celsius
kg kilogramos	Vol volumen	Na sodio
g gramos	t tiempo	K potasio
mg miligramos	h hora	Núm. número

%CV Coeficiente de Variación	GH Gen Humano
%SCQ porcentaje superficial corporal quemada	LR Lacto Ringer
µSL Micro estereolitografía	pH Potencial Hidrogeno
ANOVA análisis de la Varianza	PVA alcohol polivinílico
ATPasa Enzima Trifosfato de Adenosina	SC Superficie Corporal
CLIP Producción Continua de Interfaz Líquida	TEWL Pérdida de Agua Transepidermal
CMC Carboximetilcelulosa	TGF Factor de Crecimiento Transformador
CO₂ Dióxido de Carbono	TPP Polimerización de dos fotones
DESV. Std. Desviación Estándar	USP United States Pharmacopeial
DLP Procesamiento de Luz Digital	UV ultravioleta
FDM Modelado por Deposición Fundida	Vis visible

FEUM Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

OMS Organización Mundial de la Salud

COFEPRIS Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitario

Resumen

Teniendo en cuenta que a nivel mundial en el 2004 más de 11 millones de personas sufrieron de quemaduras y en el 2021 México reportó 13 mil casos de quemaduras se propuso el desarrollo de una formulación transdérmica compuesta de un arreglo de microagujas poliméricas de tipo matricial cargadas con ceftriaxona y factores de regeneración como una alternativa al tratamiento, se decidió ocupar un polímero en base al metacrilato debido a que las microagujas que genera son de tipo reservorio y estas liberarían el fármaco de forma inmediata por lo que sería beneficioso para el usuario.

Para el diseño de experimentos se planteó una formulación con metacrilato de nombre comercial Kollicoat® MAE 100P siendo el polímero base o matriz y propilenglicol con la función de plastificante, además a esta formulación se le agregaron colágeno y D-Pantenol como factores de regeneración y por último se adicionó el principio activo en este caso la ceftriaxona para evitar las infecciones en el área y para proteger al fármaco de la oxidación se ocupó el metabisulfito.

Se validó el método de cuantificación de ceftriaxona por espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 274 nm y se determinó que el D-Pantenol y el propilenglicol serían las variables del diseño experimental debido a que estas afectan directamente la dureza y firmeza de las microagujas finales. Para evaluar el impacto que tendrían estas variables en la formulación se realizaron las pruebas de resistencia a la ruptura, bioadhesión, bioadhesión posthumectación, pH, eritema, pérdida de agua transepidermal, humectación y liberación.

Una vez se tuvo la formulación óptima se procedió a la caracterización de la misma forma, realizando las pruebas anteriormente mencionadas y evaluando, además, el contenido químico, absorción percutánea a través de la piel y microscopia 100X.

Conociendo los datos de las pruebas se realizaron los cálculos para conocer el modelo de liberación y los cálculos de los parámetros cinéticos de permeabilidad de ceftriaxona a través de la piel.

Los resultados obtenidos de las formulaciones del diseño de experimentos se analizaron con la prueba de ANOVA ocupando un alfa del 0.05% y se consideró como un factor significativo aquellos valores cuyos valores de P sean menores a 0.05 resaltando 2 factores el D-Pantenol que tiene un efecto directo en el pH de la formulación esto ya que al ser una provitamina y activarse durante la preparación del arreglo adquiere propiedades ácidas y el propilenglicol que tiene la capacidad de disminuir la resistencia a la ruptura de las microagujas por ser un plastificante.

La formulación óptima fue evaluada mediante las pruebas anteriormente mencionadas dándonos como resultado que el arreglo es ligero con apenas 0.8892 g de peso, la formulación genera microagujas de 500 μm de longitud y son capaces de aguantar 385 gf antes de romperse lo cual es más que suficiente para poder atravesar el epitelio de la piel además, tienen una gran adhesión y esta es aumentada al humedecerse la piel a causa de la transpiración alcanzado los 630 gf de adhesión, este valor permite realizar tareas sin el riesgo de un retiro accidental. Esta formulación cuenta con un pH de 4.85 parecido al pH de la piel el cual ronda de 4.5 – 5.75, es capaz de bajar el nivel de eritema y aumentar un 300% la humectación de la zona de aplicación, además de permitir la oxigenación de la piel a través la base del arreglo.

En cuanto a la liberación del fármaco, refiriendo con que el Kollicoat® MAE 100P es un copolímero de ácido metacrílico con acrilato de etilo se sabe que forma una matriz inerte y por lo mismo genera una red sólida porosa que al estar en contacto con la piel la cara expuesta sufre de un proceso de hinchamiento y difusión acompañado de una relajación viscoelástica de las cadenas poliméricas, la difusión que presenta del fármaco juega un papel crucial en su liberación a tal grado que la difusión es constante con respecto al tiempo de exposición a la piel.

En cuanto a la permeación transdérmica el arreglo puede generar es de apenas 233.93 μg de ceftriaxona en circulación a lo largo de 24 h esto permite que el principio activo mantenga su acción de forma localizada y no pase a la circulación general, al paso de 1 hora desde su aplicación. La liberación de fármaco en la zona sería de 4.26 +/- 0.49 mg del activo.

Con base en los resultados anteriores las microagujas generadas tienen las características físicas y químicas para ser utilizadas en quemaduras promoviendo la regeneración del tejido epitelial y protegiendo de infecciones cutáneas.

Palabras clave

Sistema transdérmico, microagujas, regeneración, quemaduras, metacrilato, ceftriaxona

1. Introducción

Las quemaduras son un problema muy serio de salud pública, a nivel mundial cerca de 11 millones de personas sufrieron quemaduras graves con secuelas en 2004 y 267,885 personas fallecieron por quemaduras letales en 2012 (OMS, 2018) En México, durante el día nacional de la prevención de quemaduras en niños, niñas y adolescentes del 2021 se reportaron un total de 13 mil personas afectadas. Las quemaduras pueden dejar cicatrices, desfigurar la zona afectada y puede generar la pérdida parcial o total de la movilidad en la zona afectada ((Postan D, SereDay C, E., 2020).

Al sufrir de una quemadura grave de al menos un 60 por ciento del total de la piel del cuerpo existía apenas un 40 por ciento de éxito con el tratamiento clásico con ungüentos y cremas que ablandaban la escara deformada para posteriormente retirar las laceraciones. La probabilidad de éxito incremento al 90 por ciento al realizar intervenciones quirúrgicas de alto costo. En promedio una quemadura de segundo grado de un área menor puede tardar en curarse aproximadamente de 2 a 3 semanas dependiendo del paciente (Martínez R, J, Casado R, 2014), y durante este tiempo el tratamiento sugerido es ocupar un paño mojado embebido con agua fría aplicado sobre la piel para aliviar el dolor y ocupar una crema antibacteriana para ayudar a prevenir infecciones.

El uso de antibióticos durante el tratamiento de heridas y quemaduras no es recomendado por las organizaciones de salud debido al alto riesgo que se tiene de generar resistencia ante el fármaco, sin embargo, estudios afirman que el uso de antibióticos durante las heridas crónicas expuestas favorece la regeneración de estas (Tarnuzzer R W, Schultz G S, 1996), debido a que las infecciones bacterianas son la principal causa por la cual la regeneración se pueda agravar. Por lo mismo, es común en la clínica el uso de un antibiótico sistémico durante el tratamiento de las heridas por quemaduras.

Actualmente se han desarrollado nuevas formas de administrar fármacos a través de la piel evitando por completo los inconvenientes que una formulación tópica presenta otorgándoles el nombre de formulaciones transdérmicas, entre ellas se puede resaltar el uso de las microagujas.

Las microagujas son una forma farmacéutica compuesta por pequeñas agujas de entre 100 a 1000 μm de longitud y de 200 a 300 μm de anchura con la capacidad de perforar la epidermis permitiendo la administración de un fármaco de forma intradérmica controlando su liberación.

Se conoce que el tejido de una laceración por quemadura es seco y cuenta con poca permeabilidad además de ser fácilmente infectable por la carencia de un manto protector, durante el tratamiento convencional las pomadas y cremas ocupadas tienen dificultad para permear a través de la costra. Por otro lado, la formación de ampulas donde se tiene un medio rico en nutrimentos y muy húmedo se vuelven el medio perfecto para la proliferación de bacterias.

El arreglo de microagujas desarrollado en el presente trabajo está diseñado para ser de gran utilidad en pacientes con quemaduras y otras heridas debido a sus propiedades como el reacomodo celular al generar microcanales que permitan el paso de los factores de regeneración, el incremento de la humedad en la zona que permita la activación de las plaquetas de forma más activa, y el generar un medio libre de bacterias que reduzcan la velocidad o impidan la regeneración.

El arreglo de microagujas presentan muchas ventajas con respecto al tratamiento tradicional de hacer curaciones como lo son:

- Promover la absorción de los factores de regeneración haciendo que el proceso de sanación sea más rápido.
- Debido a la baja permeabilidad de la ceftriaxona esta no será absorbida de forma sistémica, pero se mantendrá en la herida de forma tópica llevando a cabo su función protectora sin tener repercusiones sistémicas como interacciones o su metabolización.
- El D pantenol ocupado en la formulación del arreglo mantendrá humectada la piel del paciente de la misma forma, además, esta sustancia es ocupada generalmente para molestias de irritación y descamación evitando que esto ocurra.
- Es fácil de retirar en caso de existir algún problema.
- Cuenta con propiedades adhesivas que le permiten quedarse en la zona aplicada.
- Reduce la probabilidad de desarrollar una resistencia bacteriana debido al uso tópico y no sistemático del antibiótico.
- Permite vías alternas de administración de fármacos evitando el efecto del primer paso muy común en vía oral.
- Se ocupa una menor dosis de antibiótico debido a que no se requiere un efecto sistémico, sino que se tiene un efecto tópico localizado.

Las microagujas poliméricas desarrolladas pueden ser cargadas con diferentes principios activos por lo que el uso no está limitado únicamente a heridas por quemaduras, sino que es perfectamente funcional en heridas crónicas como úlceras diabéticas y cortaduras. De la misma forma la longitud del arreglo depende únicamente del molde ocupado. En el presente trabajo se planeó desarrollar una forma farmacéutica que fuera capaz de ayudar a los pacientes aprovechando la condición transdérmica de poder impregnar a profundidad factores de regeneración a los pacientes y así ayudar tanto al reacomodo de sus células, como generar andamios donde las propias células regeneradoras de la piel del individuo sean capaces de regenerarse de forma más rápida.

2. Marco teórico.

2.1. La piel.

La piel es el órgano más grande de todo el cuerpo humano tiene una área superficial de entre 1.5 y 2 m² este manto protector consta de un 6 al 10% de todo el peso corporal, suele ser suave, tersa y muy resistente ante factores externos como la temperatura y la humedad, factores como la exposición al sol, la humectación del individuo, las lesiones y traumatismos así como propios factores genéticos hacen que nuestra piel sea diferente entre cada individuo sin embargo, la cutis de cada humano es estructuralmente idéntica entre unos y otros contando con valores similares de permeación, resistencia y velocidad de regeneración. (Tortora, 2018).

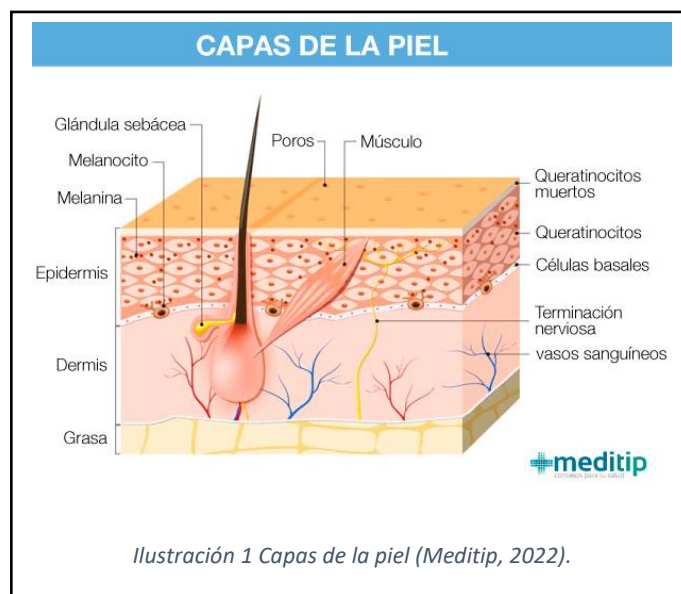
2.1.1. Sistema tegumentario.

La piel junto con las uñas, glándulas, pelos además de los receptores térmicos y de presión componen el sistema tegumentario. Este en total tiene un peso aproximado de 10 kg en un adulto promedio y recubre todo el cuerpo y su función principal es ser la barrera que protege y regula el cuerpo del medio ambiente y de agentes patógenos como bacterias. La percepción de nuestro alrededor se lleva a cabo mediante los receptores que se encuentran en la dermis. Estos recaban y conducen sensaciones desde la piel hasta nuestro cerebro el cual interpreta y nos da una percepción general del entorno, así logramos reconocer los diferentes tipos de texturas y temperaturas a nuestro alrededor (Daza, 2007).

Otra función que este sistema realiza es la regulación de la temperatura o también llamada termorregulación, el cuerpo humano se encuentra a 36 °C de forma regular sin embargo el realizar tareas extenuantes, así como una activación física generan que nuestro cuerpo se sobrecaliente, este incremento térmico interfiere con ciertas reacciones y procesos naturales del cuerpo por lo que es necesario liberar el calor extra que se está generando abriendo poros y liberando agua en forma de vapor a través de las glándulas sudoríparas y de esta forma disipar el calor al medio ambiente y que como resultado hace que se enfríe el cuerpo (Tortora, 2018).

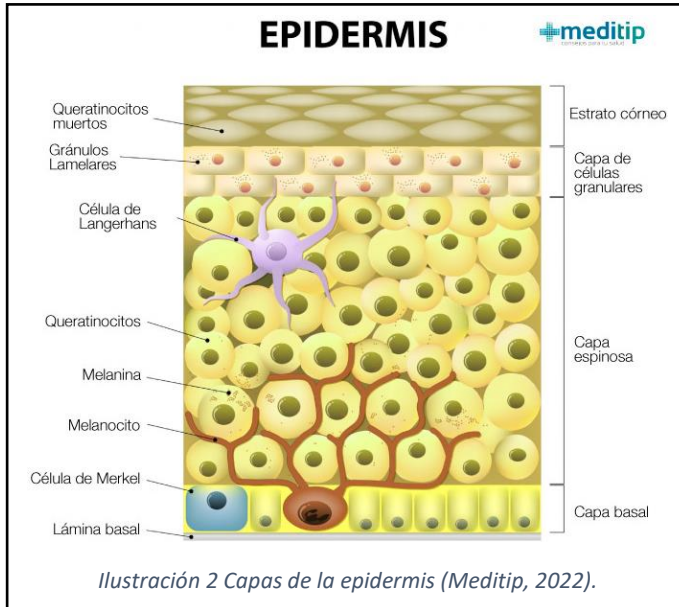
2.1.2. Histología de la piel.

Estructuralmente hablando la piel se compone de 3 capas, la epidermis, dermis y el tejido subcutáneo o hipodermis estas capas se pueden apreciar mejor en la Ilustración 1.



2.1.3. La epidermis.

La epidermis a menudo es descrito como un epitelio estratificado y queratinizado con ligeros desniveles, cuenta con un pH de 5.5 y está ubicada en la parte superior de la piel y tiene un grosor de 50 a 100 μm (Prausnitz M, Langer R, 2008), se encuentra en constante renovación por lo que posee una rápida regeneración, esta capa brinda de una



capa semipermeable selectiva y cumple con funciones antibacterianas al estar cubierta de lisozimas que rompen la pared celular de las bacterias permitiendo a los anticuerpos fagocitar con mayor facilidad las bacterias.

Como se observa en la Ilustración 2, la epidermis se compone de 5 secciones o estratos que de menor a mayor profundidad son:

1. **Estrato basal:** Es la capa más profunda de la epidermis se compone de queratinocitos y melanocitos que forman un tejido epitelial. El color de la piel se determina en esta capa por la cantidad de melanina y no de melanocitos ya que todos los humanos tienen la misma cantidad de melanocitos, el aumento de melanina genera una pigmentación más oscura que es capaz de absorber y proteger de la radiación del sol. La capa basal produce citoqueratonina también llamada tonofibrilla la cual es una de las proteínas fibrosas que forman los filamentos intermedios del citoesqueleto intracelular de las células epiteliales que dan resistencia a la capa externa (Londoño Á, Pérez C, Restrepo R, Morales N, Martínez M, Morales D., 2021). La característica más importante de esta capa es que tiene una división celular muy rápida y al nacer nuevas células van empujando a las más viejas hacia arriba.

2. **Estrato espinoso:** llamado espinoso por su histología en forma de estrella esta capa presenta uniones entre los queratinocitos a través de desmosomas, las cuales le dan su peculiar forma, en esta se encuentran células de Langerhans las cuales forman parte del sistema inmunitario y fagocitan a cualquier intruso que se haya colado hasta esta capa.

3. **Estrato granuloso:** Se caracteriza por tener queratinocitos con evidentes gránulos de queratohialina los cuales están llenos de proteínas que ayudan a manejar la queratina alrededor de la célula. Esta capa libera cuerpos laminares lipídicos que al unirse forman una capa lipídica firme en la parte posterior de la piel, la capa lipídica le da propiedades impermeables a la piel y confiere protección ante agentes exógenos que puedan invadir la profundidad de la piel y llegar hasta sangre.

4. **Estrato lúcido:** también llamado estrato claro está compuesto de queratinocitos muertos que perdieron su núcleo, organelos y gránulos en el estrato anterior que al no tener nada en su interior comienzan a exudar lípidos intercelulares además de aplastarse y apelmazarse en la siguiente capa.

5. **Estrato córneo:** Esta barrera natural está compuesta de un 75 a 80% de proteína en su mayoría queratina, de un 5 a 15% de lípidos como lo son ácidos grasos, ceramidas y colesterol y un 5 a 10% de material aún sin identificar (Moral, 2017). Es bien conocido que al ser la primera barrera de la piel confiere la propiedad impermeable de la misma, se compone de alrededor de 15 a 20 capas de queratinocitos muertos estratificados y comprimidos con un grosor en su conjunto de entre 10 a 20 μm (Prausnitz M, Langer R, 2008) y estos se van desprendiendo de manera aleatoria y constante a medida que la piel se va renovando.

2.1.4. La dermis

Como se aprecia en la Ilustración 1, la dermis es la capa interna de la piel y esta cuenta con un pH neutro de 7 a 7.2 con un grosor aproximado de 0.1 – 0.5 cm (Prausnitz M, Langer R, 2008). la misma alberga glándulas y receptores además extensa red vascular lo cual permite la regulación de la temperatura además de ser el soporte nutricional de la epidermis. A diferencia de la epidermis que está compuesta de un tejido epitelial la dermis es un tejido conectivo por lo que sus principales componentes son las células, la sustancia fundamental y las proteínas fibrosas o estructurales a su vez se encuentra separada en 2 estratos

1. **Estrato papilar:** Localizado en la parte superior de la dermis se caracteriza por su tejido conectivo laxo donde predominan las células y la sustancia fundamental permitiendo una gran movilidad para cambiar de forma y posición, en esta capa se encuentran los capilares que prevén de nutrientes y oxígeno a la epidermis y la propia dermis, así como terminaciones nerviosas que perciben el dolor y nos dan el sentido del tacto mandando señales a través del nervio hasta el cuerpo celular de una neurona en un lugar muy lejos de la piel así mismo en esta región está localizada una red densa y plana que pertenece al sistema linfático la cual regula la presión intersticial, la movilización de los mecanismos de defensa y eliminación de desechos de la piel.

2. **El estrato reticular:** es un tejido conectivo grueso y denso que permite la estabilidad en donde se pueden anclar y mantener quietos componentes como lo son las glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas encargadas de regular la temperatura corporal y los folículos pilosos donde emergen los pelos y se extienden hasta la superficie, junto a ellos se encuentra las glándulas sebáceas que mantienen la piel humectada y un bloque muscular apodado músculo erector del pelo que permite extender o mantener el pelo firme en el frío como se observa en la Ilustración 1.

Las células dérmicas son y llevan las funciones de:

1. **Fibroblastos:** son células productoras de fibras reticulares, elásticas, sustancia intersticial además de colágeno.
2. **Histiocitos:** son células inmunodefensoras producidas por el sistema reticuloendotelial que no viajan a través de la sangre y destruye sustancias exógenas (Svarch, Eva, Arteaga, Rafael, Pavón Morán, Valia, & González Otero, Alejandro., 2001).
3. **Mastocitos:** son mediadores de la inflamación producen histamina y heparina.

2.1.5. Colágeno.

Las proteínas estructurales abarcan hasta un 70% de la dermis estas son producidas por los fibroblastos los cuales producen un precursor del colágeno llamado procolágeno el cual tiene entre 300 – 400 aminoácidos adicionales en cada cadena y estos se pierden una vez que son secretados y especializados en una de las 28 formas proteicas de esta.

Los fibroblastos también sintetizan la actina y desmina, así como la elastina que a diferencia del colágeno representa el 1% de la dermis y consta del 4% del peso seco de la dermis, esta proteína se sintetiza con 2500 aminoácidos y genera fibras frágiles en línea recta las cuales se encuentran muy ramificadas teniendo la capacidad de alargarse el doble de su tamaño y ser capaces de regresar a su posición original (Saúl G, Martínez G, 2015).

El colágeno representa el 25% de la proteína corporal total del cuerpo humano (Meisenberg G, Simmons W, 2017) Alcanza el 75% del peso seco de la dermis siendo un 18 a 30% del volumen de esta, confiriéndole su característica fibrosidad, haciendo uso de técnicas como el microscopio electrónico se determinó que esta proteína forma fibrillas sin ramificar de aproximadamente 100 μm a 1000 \AA de ancho y forma una característica disposición estriada cruzada con una periodicidad de 60 – 70 micrómetros.

El colágeno ubicado en la piel tiene un elevado nivel de glicina, prolina e hidrolina. La glicina constituye por sí misma un 33% de los restos. Las moléculas de tropocolágeno constan de 3 cadenas poliméricas de aproximadamente 1000 aminoácidos.

Como se puede observar en la Tabla 1 se tiene registro de 28 tipos diferentes y 42 genes que codifican cadenas de colágeno, cada uno de estos tipos tienen funciones diferentes por lo que se encuentran en sitios diferentes del cuerpo sin embargo los que se presentan en la piel y más específicamente en la dermis son el colágeno tipo I, III, IV, VII y XVI.

Tabla 1 Tabla de tipos de colágenos y sus características (Meisenberg G, Simmons W, 2017).

Tipo	Composición	Distribución en tejidos
I	$\alpha 1(I)2, \alpha 2(I)$	Tipo más abundante, en la mayoría de los tejidos conectivos
II	$(\alpha 1(II))3$	Cartílago, humor vítreo
III	$(\alpha 1(III))3$	Tejidos fetales, piel, sangre, vasos sanguíneos, pulmones, útero, intestino, tendones, cicatrices recientes
IV	$(\alpha 1(IV))2, \alpha 2(IV)$	Todas las membranas basales
V	$(\alpha 1(V))2, \alpha 2(V)$	Mayoría de los tejidos, componente secundario asociado a colágeno de tipo I
VI	$\alpha 1(VI), \alpha 2(VI), \alpha 3(VI)$	Mayoría de los tejidos incluyendo cartílago
VII	$(\alpha 1(VII))3$	Debajo de las membranas basales en la dermis y en la vejiga
VIII	$(\alpha 1(VIII))2, \alpha 2(VIII)$	Formando por células endoteliales, en la membrana de Descemet
IX	$A1(IX), \alpha 2(IX), \alpha 3(IX)$	Sobre la superficie de las fibrillas de colágeno de tipo II en el cartílago
X	$(\alpha 1(X))3$	Cartílago en calcificación
XI	$(\alpha 1(XI), \alpha 2(XI), \alpha 3(XI))$	Cartílago
XII	$(\alpha 1(XII))3$	Sobre la superficie de las fibrillas de colágeno de tipo I
XIII	$(\alpha 1(XIII))3$	Colágeno minoritario en la piel, intestino
XIV	$(\alpha 1(XIV))3$	Igual que el tipo XII
XV	$(\alpha 1(XV))3$	Capilares, testículos, riñón, corazón
XVI	$(\alpha 1(XVI))3$	Dermis, riñón
XVII	$(\alpha 1(XVII))3$	Hemidesmosomas de la piel
XVIII	$(\alpha 1(XVIII))3$	Hígado, riñón, músculo esquelético
XIX	$(\alpha 1(XIX))3$	En la membrana basal

2.1.6. La hipodermis o tejido subcutáneo.

El tejido subcutáneo como su nombre lo indica hace referencia al tejido que se encuentra por debajo de nuestra piel. La hipodermis se compone principalmente de adipocitos de entre 10 a 200 micras (Birbrair, A, Zhang, T, Wang, Z-M, Messi, M. L., Enikolopov, G N, Mintz, A, Delbono, O, 2013) estas se juntan conformando una red de células grasas dispuestas en lóbulos las cuales albergan el 50% de la grasa corporal, estas están unidas a la dermis por la interconexión de fibras de colágeno y elastina, teniendo en su conjunto el grosor variable para cada persona por la cantidad de grasa corporal que se tenga, esta capa lipídica sirve de almacenamiento energético y brinda amortiguación, así como de un aislamiento térmico de los músculos (Laguna, 2022).

2.2. Proceso de regeneración de la piel.

EL sistema tegumentario al ser la barrera que protege nuestro cuerpo del medio ambiente es susceptible a traumatismos por objetos punzocortantes, radiación, fuego y abrasiones químicas. El estrato córneo en su proceso de renovación va generando nuevas células que remplazan a todas aquellas que fueron dañadas al proteger nuestro cuerpo, sin embargo, si el daño es tal que llegue a la dermis el cuerpo no logra reemplazar células tan especializadas y este espacio es ocupado por tejido conectivo (Arenas, 2003).

El mecanismo de regeneración de la piel es activado al instante en el que se sufre de un traumatismo, la literatura reporta 3 etapas principales en las que se lleva a cabo sin embargo algunos autores pueden considerar la respuesta vascular y coagulación como un 4 paso antes incluso del proceso inflamatorio, quedando las etapas de la siguiente forma:

1. Respuesta vascular y Hemostasia.
2. Fase inflamatoria.
3. Fase de proliferación.
4. Fase de remodelado del tejido cicatricial.

2.2.1. Respuesta vascular y hemostasia.

Al existir una separación de la continua vascularización localizada en la dermis existe la fuga sanguínea sobre el área, los vasos sanguíneos dañados liberan la sangre que en su fluir arrastran los cuerpos exógenos como bacterias y virus dando como resultado un primer mecanismo de limpieza.

Al cabo de 2 segundos aproximadamente los vasos sanguíneos comienzan una vasoconstricción propia de la injuria que dura un aproximado de 5 a 10 minutos, durante este proceso comienza la hemostasia primaria y secundaria conocida como la coagulación.

2.2.2. Proceso de coagulación.

Debajo del endotelio vascular existe una capa de colágeno subendotelial que al momento de ser dañada esta barrera el colágeno contenido es liberado a la matriz extracelular y las moléculas del factor de Bembel y bra localizadas dentro de las células endoteliales liberan la glicoproteína B1 que agrega a las plaquetas en circulación.

La primera placa hemostática se forma en los primeros 2 minutos y comienza cuando las plaquetas se agregan en el sitio de la lesión liberan tromboxano A2 el cual llama a más plaquetas y con ayuda de la glicoproteína 2b y 3a estas se unen entre si ocupando una sustancia pegajosa entre cada una llamada fibrinógeno, al pegarse ente si formar una placa cada vez más grande a este segundo mecanismo se le llama proceso de adhesión porque las segunda capa de plaquetas se adhieren a las primeras en lugar de solo juntarse como la primera capa plaquetaria, que atrae a otras células y forman un tapón plaquetario.

Después de taponear la zona es liberado el factor de coagulación III y el calcio activan al Factor VIIa dando paso a la vía extrínseca de la coagulación. Simultáneamente los diseños celulares causados por la lesión activan al factor XIIa y este activa al factor XIa actuando ambos sobre el factor IXa que al combinarse con el factor VIIIa da paso a la vía extrínseca de coagulación.

Ambas vías conjugan en la llamada vía común actuando los factores X y V que junto con el calcio y el factor plaquetario III convierten la protrombina (Factor II) a trombina (Factor IIa) y así cambiar el fibrinógeno (factor I) a fibrina (factor Ia) haciendo que la placa sea rígida.

La trombina activa el fibrinógeno para convertirlo en fibrina y generar lazos sobre el tapón plaquetario, el factor XIII promueve la construcción de enlaces covalentes que estabiliza la fibrina, durante este proceso los eritrocitos circulantes quedan atrapados en la red formando un coagulo. Mediante el proceso de la fibrinólisis se disuelve el coagulo por el efecto de sustancias fibróticas como la plasmina los restos de fibrina son fagocitados por los macrófagos y eosinófilos (Guerrero B, López M, 2015).

2.2.3. Inflamación.

Los procesos de regeneración y reconstrucción de tejido celular requieren de una gran oxigenación y muchos nutrientes por lo que una vez el sangrado es detenido existe un vaso dilatación que da comienzo a la fase de inflamación.

La dilatación de los capilares permite un aumento de la permeabilidad del suero y glóbulos blancos en el foco de la herida. Al paso de 6 horas las células polimorfonucleares se especializan haciéndose neutrófilos y macrófagos y estas al estar atraídas por los restos celulares de la zona dañada y bacterias comienzan a fagocitar el tejido muerto y agentes exógenos.

Por lo regular este proceso inicia en el momento de la injuria hasta aproximadamente los primeros 3 días después de la misma y durante este proceso existe un incremento en la fibronectina en la matriz de la herida.

2.2.4. Proliferación.

Como su propio nombre sugiere en esta fase existe una gran actividad celular y tiene una duración aproximada desde los primeros 3 días hasta 7 Días después de la injuria, aunque este periodo se puede extender hasta 3 semanas por factores como el tipo de herida, el área involucrada e incluso las dimensiones de la herida, durante esta etapa la herida en cuestión es capaz de recuperar una fuerza tensil del 30%. A su vez la proliferación se puede encasillar en 5 sub-fases:

2.2.4.1. Sub-fase de granulación.

Esta sub-fase se refiere a la transformación de tejido fibroso en tejido de granulación en el lecho de la herida, el tejido de granulación consta de capilares recién formados y tejido conectivo, a su vez esta sub-fase se lleva a cabo mientras se realizan los procesos de la angiogénesis y la fibroplasia ya que durante la remodelación vascular los macrófagos ayudan a que se estimule el proceso de granulación y la acumulación de fibroblastos.

2.2.4.2. Angiogénesis.

Siendo un paso crucial en la regeneración de las heridas profundas este proceso consiste en la creación de nuevos vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes durante los primeros 3 días o 72 horas asegurando que los nutrientes sean suministrados.

2.2.4.3. Sub-fase de fibroplasia.

En esta etapa fibroblastos y otros predominantes migran al lecho de la herida desde el tejido circundante y comienzan a multiplicarse desde los 7 días hasta las 3 semanas aumento en el volumen total de fibroblastos en la zona dañada, los fibroblastos van a producir el colágeno III dando un gran aumento en la fuerza tensil de la cicatrización.

2.2.4.4. Sub-fase de contracción.

La contracción de la herida se produce gracias las Miofibrillas que son los Miofibroblastos estos a su vez son fibroblastos especializados con propiedades contráctiles. En esta etapa el colágeno tipo III es reemplazado por colágeno tipo I el cual cuenta con mayor flexibilidad lo que permite la reducción del tamaño de la herida, lo normal es la reducción de 0,7 mm por día.

2.2.4.5. Sub-fase de epitelización.

En este proceso se restaura la epidermis haciendo uso de los queratinocitos, estos migran en las 6 primeras horas desde los bordes o anejos de la herida multiplicándose y especializándose mientras hacen una fina capa que se detiene cuando se logra llegar al otro extremo o tocar a otro queratinocito, esta migración ayuda a evitar la pérdida electrolítica en caso de las quemaduras y brinda una protección leve a la piel expuesta ante infecciones, a partir del quinto día y con ayuda de la nueva vascularización se realiza la proliferación de los queratinocitos desde su lugar sin la necesidad de migrar.

2.2.5. Remodelación.

La transición de tejido granulado a tejido propio de una cicatriz implica la reorganización, maduración y complejización de la red de miofibrillas que se entrecruzan y refuerzan a lo largo de las fibras de tensión permitiendo un aumento en la fuerza tensil hasta llegar a un 99% al cabo de 2 años de la herida.

2.3. Factores que afectan la regeneración.

La renovación y reparación de la piel es un proceso altamente susceptible a factores externos e internos de cada individuo Francisca Muñoz en su manual titulado “Cuidados para la curación de heridas y quemaduras” narra que los factores que pueden afectar la regeneración de las heridas son:

- **Edad:** A lo largo del tiempo nuestra piel resiente los años tardándose cada vez más para cicatrizar una herida, así como su densidad y elasticidad, esto se debe a la disminución de colágeno y elastina contenida causando que la dermis no sea capaz de regresar a su estado normal.
- **Hormonas:** Los andrógenos, así como la GH favorecen el proceso de cicatrización esto al aumentar los niveles sanguíneos al ocurrir la herida. La testosterona favorece la síntesis de colágeno.
- **Minerales:** Niveles por debajo de 100µg/ml de zinc generan la inhibición de la proliferación epitelial y fibroblástica. La deficiencia de magnesio y cobre alteran el proceso de la cicatrización.
- **Vitaminas:** El ácido ascórbico por encima de la dosis normal acelera la cicatrización de la misma forma la vitamina A favorece el proceso de epitelización y funge como cofactor en la síntesis de colágeno. La vitamina E actúa como un antiinflamatorio en dosis bajas, pero en dosis altas disminuye la concentración de colágeno.
- **Oxigenación:** La síntesis del colágeno y la creación de puentes intermoleculares requieren de una buena oxigenación a si mismo la oxigenación promueve la acción leucocitaria, la migración y multiplicación celular.
- **La alimentación:** si el paciente sufre una pérdida del peso corporal del 30% se genera una deficiencia de aminoácidos como la cistina y la lisina y se tendrá un retardo en el proceso de neurovascularización, además de una baja considerable en la síntesis del colágeno y la remodelación final.
- **La humedad:** durante el proceso de regeneración el nivel de humedad en el lecho de la herida es fundamental en la velocidad de migración de las células a lo largo de la herida, una herida seca va a tardar más que una herida húmeda.
- **Medicación:** dependiendo del fármaco usado su farmacodinamia y farmacocinética pueden afectarla regeneración de una herida.
- **Corticoides:** al tener una actividad antiinflamatoria fuerte disminuyen la colagenogénesis e interfieren con la epitelización por lo que su uso es recomendable después de los primeros 3 días después de sufrir una herida u proceso quirúrgico.
- **Penicilina:** Favorece la destrucción de colágeno.
- **Adrenalina:** Altera la acción de las defensas a nivel local y favorece los procesos infecciosos.
- **Fumar:** La nicotina interfiere con el cambio de las células precursoras a fibroblastos influyendo negativamente en los procesos de reparación y entorpeciendo la migración al nivel capilar más fino.

- infecciones: las bacterias situadas en la herida consumen oxígeno y nutrientes que requieren las células para la reparación tisular, las bacterias excretan sustancias que destruyen el colágeno además de alimentarse del tejido restaurado y el gasto energético de producir más anticuerpos para atacar a los invasores.
- Hipovolemia: Al tener una pérdida sanguínea muy grave se interfiere con la perfusión tisular en todos los procesos del cuerpo incluyendo la herida, al impedir o limitar el intercambio de nutrientes provoca que la herida tarde más en regenerarse además de una pérdida final de la cicatriz final.
- Alteraciones tiroideas: Mecanismos propios del hipertiroidismo generan un aumento en la degradación del colágeno y una disminución de la colagenogénesis, por otro lado, el hipotiroidismo retrasa ambas fases.
- Alteraciones cutáneas: la presencia de glándulas sebáceas hiperactivas, psoriasis, dermatitis seborreica y/o eccemas al momento de regenerarse generan cicatrices anchas e irregulares.
- Enfermedades crónicas:
- Enfermedades como la diabetes acomplejan las heridas por la presencia de moléculas de glucosa en la sangre que impide la correcta unión de plaquetas, así como de miofibrillas además de volver más densa la matriz disminuyendo la motilidad de todas las células involucradas en la regeneración, el alto nivel de glucosa puede ser una gran fuente nutricional a las bacterias promoviendo su proliferación haciendo que la zona en cuestión sea fácilmente infectable.
- La presión arterial baja y afecciones en la tiroides afectan la oxigenación de la sangre y su bajo aporte nutricional puede disminuir a síntesis de colágeno.
- Los cuidados de la herida: es importante que no se esté continuamente infectando la zona afectada ya que el cuerpo gastara recursos en combatir las bacterias alojadas en la zona continuamente y tardara más en cicatrizar.

2.3.1. D-Pantenol como promotor de la regeneración de heridas.

También conocido como vitamina B5 es una vitamina hidrosoluble que a su vez es un precursor en la síntesis de la coenzima A. La coenzima A es un cofactor orgánico no proteico, termoestable que se encuentra unido a una apoenzima que tiene acción en la biosíntesis y la oxidación de ácidos grasos, así como la descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico.

Al reaccionar con ácidos carboxílicos con el ácido pantoténoico forma tioésteres fungiendo como portador del grupo acilo adoptando el nombre de acetil-CoA y sus derivados como succinil-CoA, malonil-CoA, y 3-hidroxi-3-metilglutaril (HMG)-CoA.

La coenzima A y sus derivados generan energía a partir de la degradación de grasas, carbohidratos y proteínas dietarias. Además de estar involucradas en el ciclo del ácido cítrico, en la síntesis de grasas esenciales, colesterol, hormonas esteroideas, vitamina A y D, el neurotransmisor acetilcolina, y en la ruta de β -oxidación de ácidos grasos. (Weimann B, Hermann D, 1999) (Wiederholt T, Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Jousen S, Erdmann K, Schroder H, Merk H, Baron J, 2009).

En la clínica el uso tópico de calcio D-pantotenato o Pantotenol también conocido como D-Pantenol o Dexpantenol por medio de ungüentos sobre la piel ha mostrado que acelera el cierre de las heridas de la piel y aumentan la fuerza del tejido cicatricial en animales (Miller J Rucker R, 2012).

Se han reportado casos en los que la deficiencia de ácido pantoténico indujo la expresión de marcadores de diferenciación en la proliferación de fibroblastos cutáneos e inhibió la proliferación en queratinocitos humanos (Kobayashi D, Kusama M, Onda M, Nakahata N, 2011) Se encontró que la adición de D-pantotenato de calcio y/o Pantotenol al medio de cultivo de fibroblastos cutáneos con una herida artificial aumentó la proliferación y migración celular, acelerando así el proceso de cicatrización in vitro (Weimann B, Hermann D, 1999) (Wiederholt T, Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Jousen S, Erdmann K, Schroder H, Merk H, Baron J, 2009).

En un estudio controlado con placebo que incluyó 12 voluntarios sanos, la aplicación de un ungüento que contenía Dexpantenol (cada 12 horas por 1 a 6 días) en un modelo de cicatrización de herida cutánea fue asociada con una expresión mejorada de los marcadores de proliferación, inflamación, y reparación de tejidos (Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Czaja K, Sebastian K, Kurschat P, Baron J, 2012).

2.4. Heridas cutáneas.

La herida es una pérdida de la integridad de los tejidos blandos como piel y mucosas, producida por agentes físicos o químicos provenientes del exterior o interior del cuerpo (Salem Z, 2000). Comúnmente se atribuyen a agresiones físicas con objetos punzocortantes sin embargo existen muchas formas de lesionar el cuerpo y dependiendo de la evolución de la regeneración de la zona afectada se pueden catalogar en 2 grandes grupos (Esteva, 2006).

2.4.1. Heridas agudas.

- Son las heridas de curación completa donde se puede recuperar hasta de un 99% de las capacidades motrices y elásticas en el tiempo previsto sin presentar complicaciones, de la misma forma las heridas agudas pueden ser separadas por su origen como:
- Heridas por objetos cortantes: caracterizado por ser heridas limpias y lineales provocan una hemorragia leve a grave dependiendo de la zona del corte, puede ser producida por objetos afilados como vidrios y metales como cuchillos y bisturís.
- Heridas por objetos punzantes: causado por la perforación de objetos puntiagudos, esta lesión es profunda y causa hemorragias internas siendo el principal peligro las infecciones que esta puede generar al no existir un barrido con sangre de las bacterias presentes.
- Heridas por raspaduras, excoriaciones o abrasiones: esta herida genera poca o nula hemorragia y son caracterizado por el desprendimiento de la epidermis a causa de una fricción entre esta y alguna superficie dura.
- Heridas contusas: causado por objetos contundentes este tipo de heridas generan hematomas y lesiones en los tejidos blandos.
- Heridas avulsivas: Son heridas donde existe el desprendimiento de un trozo de piel son muy peligrosas por el grado de hemorragia que generan.
- Heridas por magulladuras: comúnmente conocidas como “moretones” son producidas por golpes contundentes que rompen vasos sanguíneos de la piel.
- Heridas por aplastamientos: causado por un incremento de la presión en una parte del cuerpo generan fracturas óseas, lesiones en órganos externos y a veces hemorragia externa e interna abundante.
- Heridas por quemaduras: causada principalmente por el calor o la radiación, la radioactividad, la electricidad, la fricción o el contacto con productos químicos, ocasiona destrucción celular, edema (inflamación) y pérdida de líquidos por destrucción de los vasos sanguíneos. (OMS, 2018).

2.4.2. Heridas crónicas.

Se refiere a las heridas que tienen un retraso o periodo de curación mayor al estimado por la ausencia o bajo crecimiento de los tejidos, este tipo de heridas se caracteriza por tener una prolongada fase de inflamación y pobre fase de proliferación que limita la nutrición y oxigenación en el lecho de la herida.

Por lo regular herida crónica es la acomplejación de una herida aguda a causa de algún factor propio de la injuria estos factores pueden ser la falta de oxigenación, contantes reinfecciones, cuerpos extraños en la lesión, insuficiencia venosa e incluso el pH del lecho. Factores propios del paciente como la edad, el estrés, la higiene, la obesidad y el estilo de vida afectan directamente la velocidad de la regeneración sin embargo los factores que más interfieren son las enfermedades crónicas como la diabetes, fibrosis, cirrosis e insuficiencia cardiaca.

2.4.3. Úlceras

La OMS cataloga como una ulceración a toda laceración epitelial causada por la pérdida de sustancia y que presenta problemas de regeneración, la zona afectada requiere de una atención continua durante periodos prolongados, este tipo de heridas presentan una cronicidad a causa de mucho factores entre ellas el más común es la postración sobre todo en persona mayores y pacientes con enfermedades crónicas, este efecto es causado la presión de los huesos sobre la piel que produce un bloqueo en los vasos sanguíneos y la consiguiente degradación de tejidos (Bosch, 2001). Los 4 tipos de úlceras más comunes son:

- Úlceras por presión: Causadas por un poco o nula movilidad son producidas por la presión constante sobre una zona determinada de la piel disminuyendo la oxigenación y nutrición en esa área causando necrosis (Esteva, 2006).
- Úlceras vasculares: provocado por un funcionamiento anormal de las venas o arterias por una mala coagulación provoca una pérdida de la integridad cutánea normalmente en la zona comprendida entre la pierna y el pie (Gómez, 2008).
- Úlceras neuropáticas: Normalmente acompañan a las enfermedades como Diabetes mellitus o cirrosis en este tipo de ulceración la zona afectada presenta un gran volumen y perdidas en la sensibilidad de la presión, calor y dolor.
- Úlceras neoplásicas: heridas tumorales que requieren de un bordaje quirúrgico o radioterapia.

2.4. Quemaduras.

Una quemadura es una lesión a la piel u otro tejido orgánico generado por el contacto directo con un objeto a alta temperatura, ser expuesto a altas dosis de radiación, el paso de un alto voltaje, el contacto con productos químicos abrasivos o por la propia fricción de la piel con otro objeto a alta velocidad (OMS, 2018).

2.4.1. Causas de las quemaduras.

Las quemaduras pueden formarse por 2 factores imprescindibles el tiempo de exposición y el agente causante. Los agentes causantes pueden separarse en:

- Agentes térmicos: pueden ser consecuencia de la aplicación de cualquier fuente externa de calor (llamas, líquidos, objetos sólidos o gases calientes), estas quemaduras desnaturalizan las proteínas.
- Agentes radiactivos: Se generan a causa de una exposición prolongada a la radiación ultravioleta sola, pero también pueden ser causadas por una exposición prolongada o intensa a otras fuentes de radiación ultravioleta como camas solares o fuentes de rayos X.
- Agentes eléctricos: Estas quemaduras son el producto del calor y electroporación de las membranas celulares por el paso a través de ellas por corrientes eléctricas de alto voltaje (>1000 volts), suelen causar un daño profundo y extenso a los tejidos conectivos que son capaces de conducir la electricidad como lo son los músculos, nervios y vasos sanguíneos además de provocar un flujo de los electrolitos y metabolitos de la célula y de causar una lesión vascular trombótica (MSD, 2021).
- Agentes químicos: Son quemaduras muy agresivas causadas por el contacto con ácidos fuertes, álcalis fuertes como lo son lejía, cemento, fenoles, gas mostaza o fósforo, dependiendo de su pH y acción se pueden dividir en:
 - Agentes ácidos: que generan necrosis y coagulación.
 - Agentes alcalinos: forman saponificación de los lípidos de la capa lipídica además de causar necrosis por licuefacción.
- El frío Genera la cristalización de los elementos intracelulares y extracelulares además de provocar una oclusión vascular reactiva.

2.4.2. Clasificación de Quemaduras.

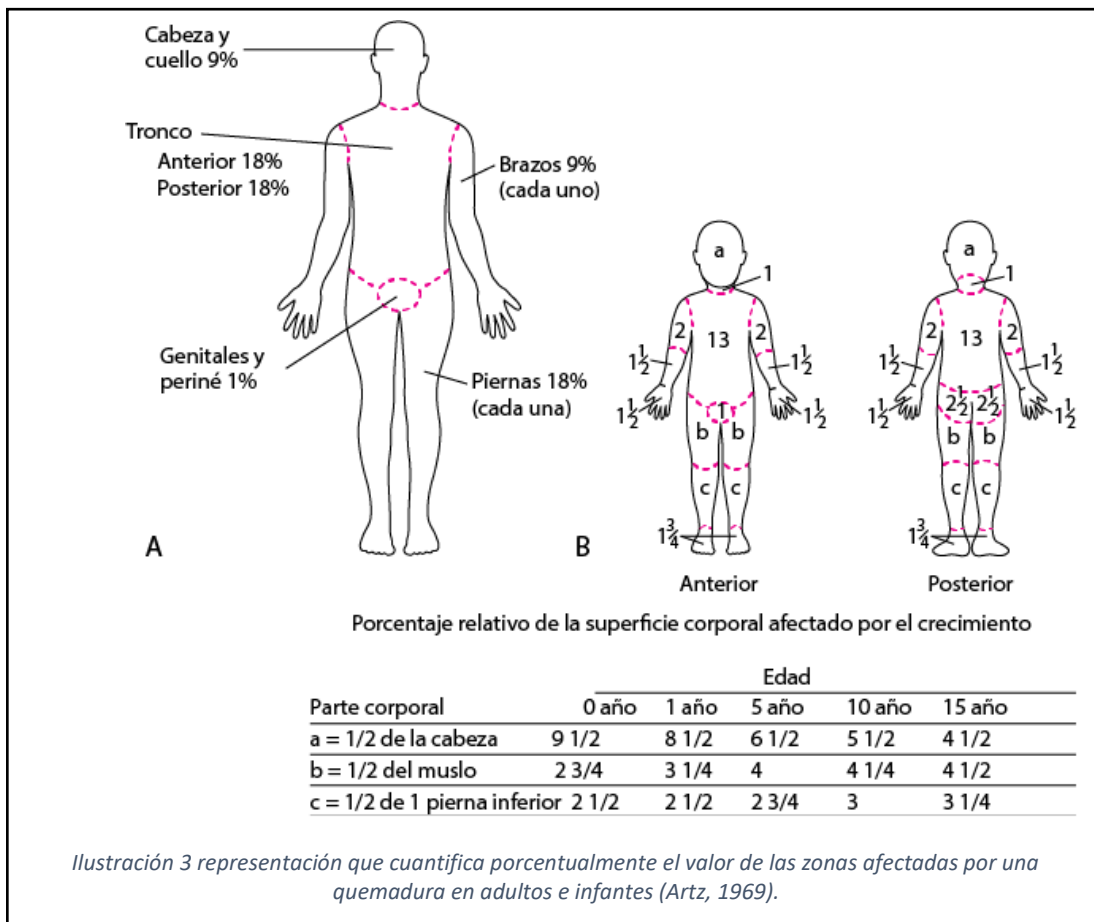
Las quemaduras pueden ser clasificadas de 3 formas diferentes dependiendo de las características que están tengan.

2.4.2.1. Superficie afectada.

Esta clasificación se ocupa para saber cuántos mL de lactato Ringer (LR) se van a administrar a un paciente en emergencia haciendo uso de la fórmula de Parkland.

$$(4 \text{ mL de LR} * \text{Kg del paciente} * \%SCQ) = \text{volumen necesario de LR}$$

Para conocer la superficie corporal quemada (%SCQ) de la lesión se pueden ocupar 2 métodos.



- Método de la mano o del 1%: se utiliza la palma y los dedos para marcar la superficie dañada igualando el área de la mano al 1%, este método se utiliza en superficies pequeñas.

- Regla de los 9: este método establece que cada segmento corporal equivale a un total de 9% lo que nos indica que el tronco y el abdomen tanto anterior como posterior valen cada uno 9% y las extremidades superiores como son la cabeza y brazos valen cada uno 9% en su total por lo que al ser divididas en su parte posterior y anterior tienen un valor de 4.5%, las extremidades inferiores como son las piernas tienen un valor de 9% tanto en la parte anterior como en la parte posterior y por último la ingle por sí misma vale un 1%.

El método que ocupa la regla del 9 es distinto para niños ya que estos tienen un mayor porcentaje en la cabeza representando un área total de 18% y lo mismo con el tronco y abdomen que pasan a tener 18% cada uno además de no considerarse los genitales por último las piernas pasan a representar un 14%. Una mejor ejemplificación se puede observar en la Ilustración 3.

2.4.2.2. Profundidad.

Una quemadura independientemente de su causa origen puede dañar la piel en diferentes niveles, dependiendo de la capa tisular que ha dañada es la profundidad o grado que esta tendrá por lo que la clasificación queda de la siguiente forma (Bosch, 2001).

2.4.2.2.1. Quemaduras de primer grado o superficiales.

Existe un daño a nivel de epidermis y normalmente son causadas por la exposición prolongada al sol o por un contacto breve con una fuente de calor, las altas temperaturas provocan que exista un vaso mayor del volumen sanguíneo como un intento de bajar la temperatura dando un aspecto rojizo y seco a la piel, aunque se presenta inflamación (eritema) la piel se encuentra intacta pero se tiene un dolor no intenso y sensación de calor en la zona, por lo regular este tipo de quemaduras tardan de 3 a 5 días en recuperarse.

2.4.2.2.2. Quemaduras de segundo grado, dérmicas o de grosor parcial.

Estas quemaduras dependiendo de la región de la dermis a la que se ha llegado se clasifican en:

2.4.2.2.2.1. Quemaduras de segundo grado A o Dérmica superficial.

Se tiene un daño total de la epidermis llegando a dañar el estrato papilar de dermis abarcando aproximadamente un tercio de la misma, está relacionado generalmente con las quemaduras por líquidos calientes, llama directa o contacto con sustancias químicas pero por un periodo breve, este tipo de quemaduras desarrolla una piel rojiza y seca en la cual aparecen cicatrices blanquecinas además se da una separación entre la epidermis y la dermis por la acumulación de líquido seroso en un intento de la piel de rehidratarse y protegerse llamadas ampollas o flictenas, al tener los nervios de la dermis expuestos este tipo de quemaduras son las más dolorosas e incluso el aire puede presentar molestias, la reparación tisular no suele dejar cicatrices a menos de que se esté en una constante fricción y tardan menos de 3 semanas en su curación.

2.4.2.2.2. Quemaduras de segundo grado B o Dérmica profunda.

Al igual que el grado A existe un daño dérmico, sin embargo en este caso la profundidad de la quemadura es tal que el daño se encuentra en la totalidad del estrato reticular, se considera que este tipo de daños son causados por mantener un contacto directo y prolongado con una llama o una sustancia química abrasiva, Las quemaduras dérmicas profundas se diferencian de las dérmicas leves por presentar una piel color blanco-amarronado, hundida y con aspecto de costra cérea y en esta se presentarán una menor cantidad de ampollas y aquellas que salgan se verán de una forma pálida, al tener los nervios quemados solo presentan dolor al tacto o presión, la cicatrización de esta quemadura es más lenta y tarda más de 3 semanas en reparar los daños por esta quemadura.

2.4.2.2.3. Quemaduras de tercer grado o de espesor total o de grosor total.

afecta de epidermis, dermis e hipodermis y es capaz de alcanzar tejidos profundos como musculo, tendones, nervios y huesos. Normalmente es causado por una llama directa o sustancia química por tiempos prolongados o por una corriente eléctrica, tienen un aspecto oscuro, sucio y muy infectable también emite un olor desagradable, el tejido necrótico forma costras o escaras oscuras que no son más la carbonización de los tejidos que se tenían en la zona, estas quemaduras tienen fibras nerviosas por lo que no presentan dolor pero suelen dejar secuelas como deformidades y cicatrices hasta llegar a la amputación del miembro, al tener un daño total en la piel no capaz de regenerarse por lo que se necesitan de un injerto (Mark A, Matthew L, 2003).

2.4.2.3. Gravedad.

2.4.2.3.1. Quemadura leve.

a menudo clasificado como quemadura de primer grado y grosor parcial y representa un 15% de la superficie corporal (SC) en adultos y un 10% en niños y 2% en niños menores de 6 años.

2.4.2.3.2. Quemadura moderada.

normalmente clasificado como de grosor parcial representa un 15-25% de SC en adultos, 10-20% en niños y 10% en niños menores de 6 años.

2.4.2.3.3. Quemadura grave.

quemadura clasificada como de grosor parcial representa una quemadura del 20-25% en adultos de SC, de 20% en niños y de 10% en niños menores de 6 años.

En quemaduras severas existen zonas en función del daño causado la más afectada se le llama zona de coagulación, esta zona se caracteriza por un color oscuro además de tener la sangre coagulada y una oclusión total de los vasos además de tener una muerte celular total.

La siguiente región se le llama zona de estasis por el estancamiento de líquidos entre ellos la sangre, el daño es intermedio y aunque se considera que se tiene un estancamiento de la sangre aún hay un poco de circulación en la zona evitando la completa muerte celular, la piel de esta área adquiere un color más pálido por la disminución del riego sanguíneo.

Por último, la zona de hiperemia es la parte donde se tiene menos daño y se produce un aumento de la irrigación sanguínea en un intento de refrigerar la quemadura y por ello adquiere un color más rojo (Guillamás, 2017).

2.5. Tratamiento de las quemaduras.

El procedimiento que se lleva a cabo cuando se tiene una quemadura inicia al momento de cubrir las heridas con una gasa empapada en suero fisiológico esto con el fin de reduce en dolor al paciente y posteriormente se administra un analgésico lave con jabón neutro y agua. Una vez la quemadura se haya enfriado y limpiado se retirar la piel necrótica y suelta además de todo material extraño, al pasar los días se generarán ampullas con suero adentro que se tendrán que retirar solo en caso de ser muy grandes y se lavara con suero fisiológico para mantener una zona limpia. (OMS, 2018).

Es común acompañar las curaciones con sulfadiazina argéntica al 1% como bactericida y tapar la zona con gasas.

2.5.1. Seguimiento.

Se deben realizar curaciones de 1 o 2 al día, el lavado se realiza con jabón neutro, se retiran los tejidos necróticos y escaras se aplica ácido acético al 0.25% como profilaxis contra pseudomonas.

Se deben observar todas las heridas en un plazo de 24 horas del tratamiento inicial y si hay cualquier síntoma de infección se deben hacer cultivos y considerar la hospitalización.

En caso de pacientes inmunocomprometidos y pacientes de alto riesgo de endocarditis o pacientes con articulaciones artificiales se recurre a una protección de amplio espectro con cefalosporina de primera generación o una penicilina resistente a la penicilinas más un aminoglucósido si es necesario.

2.5.2. Complicaciones de las quemaduras (Profilaxis antimicrobiana)

En el caso de las quemaduras a mayor %SCQ, mayor es el riesgo de desarrollar complicaciones como invasión bacteriana, pérdida externa de líquido y alteraciones termo regulatorias (MSD, 2021).

Al estar desprotegida la piel sin importar la herida causante siempre se está en contacto con bacterias, se ha encontrado que a partir de una concentración mayor a 10⁵ bacterias por gramo de tejido se puede considerar como una infección (Siddiqui A, Bernstein J, 2010). El Estafilococo. P. aeruginosa y Staphylococcus son las bacterias que con mayor medida afectan heridas y en caso de las heridas abiertas pueden presentar cronicidades, entre un 8 y 10% de los pacientes hospitalizados pueden presentar complicaciones en la recuperación de heridas a causa de alguna de estas 3 bacterias (Bjarnsholt T, Kirketerp K, Jensen P, Madsen K, Phipps R, Kroghfelt K, Givskov M, 2008).

Se ha observado que la profilaxis antibiótica en quemaduras reduce la infección de las áreas quemadas (Cabrera M, Susana A, Sanz A, Mariano, Quirino B, Carlos T, 2006) (Nieto L, Acosta L, Bedoya M, Tapias V, 2011). Francisca Muñoz en su manual titulado “Cuidados para la curación de heridas y quemaduras” describe que el uso de antibióticos está limitado a los casos en los que se tiene un riesgo potencial de infección o cuando existen signos clínicos de infección ya instaurada en el último de los casos se realiza un cultivo y antibiograma para seleccionar el antibiótico más adecuado.

Por otro lado es común en los pacientes ambulatorios ocupen junto a su tratamiento normal un antibiótico sistemático como preventivo a las infecciones, el ocupar antibióticos tópicos presentan ventajas como tener una concentración alta y sostenida del fármaco en la herida, reducción del desarrollo de resistencia antibacteriana, una menor metabolización de antibiótico por parte del hígado reduciendo el desarrollo de daño hepático, una fácil aplicación y por ende una mejora en la adherencia al tratamiento y evita el efecto del primer paso (Lipsky B, Hoey C, 2009).

El uso de antibióticos tópicos también presenta grandes desventajas al compararlos con antibióticos sistemáticos, esto ocurre al no tener en cuenta el proceso regenerativo de una herida e ignorar tanto las escaras como el tejido necrótico presente en ellas, durante los lavados y curaciones así como el exudado de la herida retira pueden retirar el agente terapéutico además las escaras y la piel dañada presentan una menor permeación ante las moléculas complejas como los antibióticos de esta forma la absorción y la acción del principio activo se ve reduciendo (Derakhshandeh H, Aghabaglou F, McCarthy A, Mostafavi A, Wiseman C., Bonick Z., Tamayol A., 2020).

El uso de agentes transdérmicos de tercera generación como son una alternativa al uso tópico y sistemático de antibióticos al formar microcanales en las escaras evadiendo así la limitante de la poca o nula permeabilidad de la zona y manteniendo las ventajas tópicas. (Barnum L, Samandari M, Schmidt T, Tamayol A , 2020).

2.6. Vías de entrada de un fármaco.

La vía de administración es la puerta de entrada del medicamento a nuestro cuerpo, el proceso mediante el cual el fármaco llega a su sitio de acción general a partir de su sitio de administración a esto se le conoce como el proceso de la (Aguilar A, Caamaño M, Martín F, Montejo M, 2014), dependiendo de la ruta elegida su velocidad de absorción puede verse incrementada o retrasada de igual forma esta variación modifica la entrega del fármaco al sistema circulatorio cambiando la duración de los efectos de un fármaco.

En general existen 2 rutas de acceso para un fármaco dependiendo si este llega al torrente sanguíneo pasando por el sistema gástrico o no y dependiendo de eso se clasifican en:

1. **Ruta entérica:** Abarca a todo fármaco que llegue a circulación sistemática a través de la mucosa oral, gástrica, intestino delgado o recto, presenta varias ventajas como la fácil aplicación, es un método de administración de bajo costo, es cómodo para el paciente, es de fácil extracción, se puede controlar la liberación del fármaco y es indoloro. Sin embargo, el uso de esta vía puede irritar la mucosa gástrica, tiene por lo general una absorción y un efecto lento y presenta serios problemas de baja absorción y destrucción del fármaco por efecto del primer paso (Lane, 1999).

El efecto del primer paso es un problema serio presente en formulaciones enterales ya que estos se absorben por el tracto gastrointestinal en la circulación portal, dependiendo del fármaco puede metabolizarse parcial o completamente en el hígado antes de alcanzar la circulación sistemática generando una biotransformación del principio activo que puede cambiar las propiedades farmacológicas del mismo (Barrueco N, Martínez L, Llamazares C, Durán E, Martínez M, María T, Relaño C, 2008).

2. **Ruta parenteral:** Se caracteriza por el paso del fármaco por cualquier ruta que no pase por el sistema gástrico. Debido a que esta ruta es muy amplia se separa en 2 grupos:

I. **Vías parenterales:** Se refiere a la introducción del medicamento mediante la ruptura de barreras con un mecanismo que habitualmente es una aguja de uso parenteral, en esta ruta se presentan vías como la intravenosa, intraarterial, intramuscular y subdérmica. Esta vía presenta grandes ventajas como lo son la entrega inmediata y completa de la dosis administrada, un control de la dosis efectiva y se puede administrar a pacientes inconscientes. Sin embargo, puede promover la infección local, precisa de personal capacitado para su administración, los utensilios para su administración deben estar libres de pirógenos, en caso de presentar alguna reacción adversa la intensidad de esta es mayor y no se puede revertir (MSD, 2021).

II. **Vías tópicas:** En esta vía el fármaco pasa a través de la piel y mucosas para llegar a la célula diana, por lo regular se asocia la vía tópica con los efectos locales, sin embargo, esto no es correcto debido a la existencia de formulaciones de este tipo con un efecto sistémico, la vía solo nos indica la entrada del fármaco la acción que esta tiene en el organismo no se ve limitada por esto.

2.7. Vía tópica.

Las vías tópicas ocupan cualquier área perimetral del cuerpo por lo que limitarse exclusivamente a la piel suele ser un error usual en los autores, esta vía de administración es tan amplia que se han subdividido en administraciones óticas, oftálmicas, inhalatorias y las clásicas formulaciones tópicas, todas ellas comparten un método de absorción similar en el que el fármaco se queda en su sitio de absorción dando un efecto farmacológico tópico en la mayoría de los casos o sistémico en caso que la formulación llegue al sistema circulatorio.

Las formulaciones tópicas en su mayoría tienen como primer y más grande obstáculo el paso a través del estrato córneo debido a la conformación estructural de esta barrera además de la resistencia a la difusión de la estructura lipídica extracelular (Moral, 2017) el cual favorecen soluciones oleosas y provoca que el paso de formulaciones acuosas sea muy complicada, para poder incrementar el paso de sustancias polares se ocupan excipientes que forman una interfase agua-aceite llamados emulsificantes que mejoran las condiciones de la misma y así lograr el paso a través de la piel. La vía tópica también presenta otras desventajas como la lenta velocidad de absorción, los múltiples factores externos que pueden afectar la cantidad de fármaco administrado y por lo mismo también carecen de un control en la dosis.

2.8. Paso del fármaco a través de la piel.

Para que una formulación tópica pueda atravesar la piel y sea absorbida es necesario que esta atraviese la epidermis y logre llegar a los capilares que se encuentran en la dermis, para esto es necesario saber que el estrato córneo es una estructura ampliamente especializada e impermeable al agua, excepto por un pequeño flujo que sirve para mantener su humectación y su flexibilidad.

Los queratinocitos que componen esta capa están rodeados de lípidos principalmente ceramidas, ácidos grasos y colesterol que sirven de barrera hidrofóbica, los lípidos en el espacio intercelular se organizan en forma de capas dobles cuyas porciones lipídicas están separadas entre sí por un espacio hidrofílico. El uso de promotores químicos es muy ocupado y recomendado en este tipo de formulaciones.

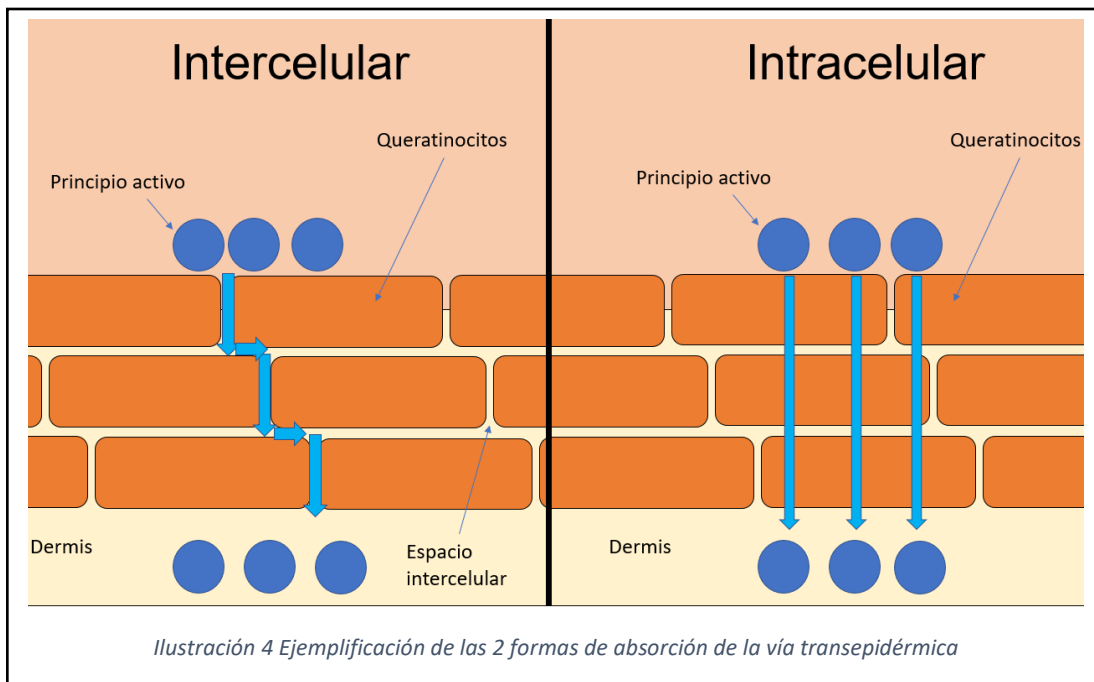
Cuando se administra un fármaco mediante la vía tópica este puede llegar a la circulación general por 2 rutas fundamentales de acceso: la vía transepidérmica y la vía transapendicular.

2.8.1 Vía transepidérmica.

Consiste en la difusión de las moléculas polares y no polares a través del estrato córneo mediante los siguientes mecanismos:

1. **Intracelular:** esta vía se refiere al paso del principio activo a través de las dobles membranas corneolíticas de sustancias hidrofílicas, la penetración de los compuestos a través de los corneocitos no puede ser exudada. El estrato córneo al humectarse acumula agua y es a través de estas pequeñas moléculas de agua inmóviles que las sustancias polares pueden atravesar la piel (Herrera D, Hernández B, Espinosa L, Martínez L, Torres B, Adela A, Martínez A, 2012).
2. **Intercelular:** La difusión se da principalmente por sustancias lipofílicas en los espacios intercelulares por medio de los canales lipídicos que hay entre los corneocitos (Ilustración 4).

Las sustancias lipídicas de bajo peso molecular permearan rápidamente a través del estrato córneo y por los lípidos de las glándulas sebáceas. En cuanto las sustancias iónicas y compuestos polares tendrán una mejor difusión por los anejos cutáneos durante los estadios iniciales antes de establecer un equilibrio en la difusión a lo largo de la capa córnea.



2.8.2. Vía transapendicular.

Esta ruta de absorción del cuerpo se lleva a cabo por los anexos de la piel como se puede ver en la Ilustración 5 Las glándulas sudoríparas indicadas en la Ilustración con una flecha y el número 3 y el sistema pilosebáceo con el número 2, ambos parten de la dermis hacia la capa más externa genera un acceso más rápido de la sustancia activa facilitando el paso al sistema circulatorio. Sin embargo, el área ocupada por estos anexos es baja por lo que algunos autores no toman en cuenta esta ruta. En general existen las rutas:

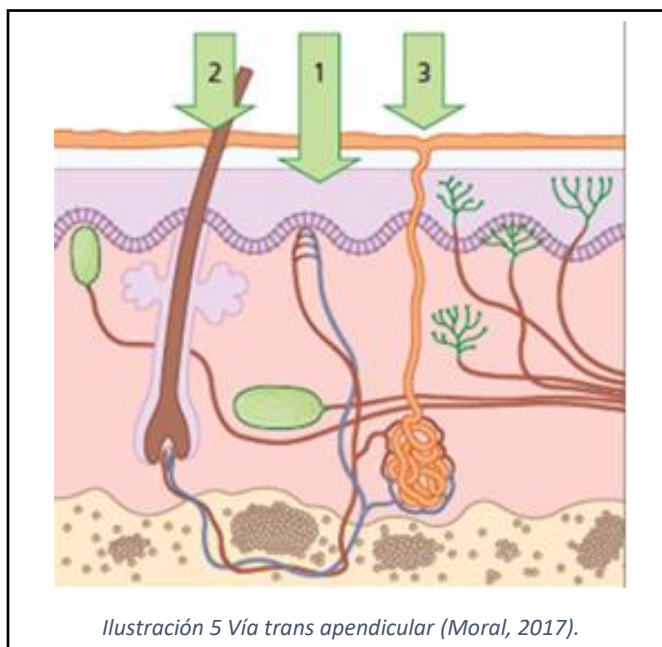


Ilustración 5 Vía transapendicular (Moral, 2017).

1. **Transfolicular:** ocupada en su mayoría por especies animales por la mayor cantidad de pelos que estos tienen en su piel esta ruta consiste en la administración tópica del fármaco a través de los folículos pilosos y glándulas sebáceas, en esta vía el fármaco solo debe atravesar la capa basal del folículo evitando por completo la epidermis.

2. **Transsudorípara:** consiste en el paso del fármaco por los tubos excretorios de las glándulas sudoríparas eccrinas. A través de esta ruta sustancias de carácter polar, hidrófilas de bajo peso molecular pueden llegar a la base de la glándula sudorípara que al no ser queratinizada no genera resistencia a ser atravesada, sin embargo, esta ruta ofrece apenas un 0.1% de absorción debido a la poca área que abarca (Blanco, 2020).

2.9. Factores biológicos que afectan la absorción por vía tópica.

Como se ha dicho con anterioridad estructuralmente la piel de todo ser humano es igual, pero el medio ambiente, así como el estilo de la vida y la genética del individuo provocan que existan cambios del cutis y por ende una permeación diferente, a estos factores intrínsecos de cada persona se le conocen como factores biológicos que afectan en la absorción percutánea. La Tabla 2 muestra los factores más conocidos y cómo afectan a la absorción por la vía tópica.

Tabla 2 Factores biológicos que afectan la absorción de una formulación tópica

Factores	
Humectación	Las células que cuentan con una buena humectación tienen una mayor cantidad de moléculas de agua en su interior, así como en la periferia esto ayuda a las sustancias polares a abrirse paso entre ellas así mismo la difusión celular se ve incrementada favoreciendo la absorción.
Flujo sanguíneo	La irrigación de la dermis es diferente en cada zona del cuerpo siendo zonas más irrigadas los brazos y los glúteos por lo que su uso para la aplicación de fármacos en esta zona es muy común, cuando se tiene una gran cantidad de capilares y venas en la zona el área de absorción se ve incrementada lo que favorece la absorción.
Estado de la piel	<p>Traumatismos, quemaduras, callosidades, así como cualquier patología presente en el área donde es aplicado un medicamento altera tanto la estructura como la composición del cutis generando un decremento en la absorción en ese sitio.</p> <p>Un ejemplo de esto son las heridas abiertas las cuales generan una costra plaquetaria impermeable que sirve de barrera en lo que se lleva a cabo la regeneración y mantiene afuera a cualquier sustancia exógena como lo es un fármaco, otro ejemplo son las cicatrices las cuales están rellenas en su mayoría de proteína estructural, así como sustancia fundamental ya que las células que ocupaban este lugar fueron eliminadas, al tener pocas células en estas zonas se reduce la absorción.</p>
Zona de aplicación	El estrato córneo tiene un mayor espesor en zonas específicas del cuerpo como lo son las palmas de las manos haciendo que el paso a través de este sea mucho más tardado.
Temperatura	<p>El coeficiente de difusión es un valor representativo de la facilidad con la que un soluto se mueve en un disolvente, la hipótesis que se tiene de este comportamiento es por la energía cinética que se tiene entre las partículas del soluto que al estar concentradas chocan entre ellas, pero al ser liberadas en un disolvente los choques entre las mismas van repartiendo el soluto en zonas cada vez más alejadas unas de otras hasta abarcar todo el espacio del disolvente (Espino G, Martínez C, Martínez S, Hernández S, 2007).</p> <p>Debido a esto, al bajar la temperatura se baja la velocidad cinética del soluto que en este caso sería el fármaco lo que disminuye su coeficiente de difusión y por lo mismo la absorción de la piel.</p>
Edad	Es bien conocido que la absorción de un individuo se ve disminuida al pasar de los años este fenómeno es causado por el incremento de la grasa de manera que el contenido corporal total del agua se ve disminuido y como se dijo con anterioridad esto disminuye su absorción (MSD, 2021).
Raza	Las personas de color por lo regular cuentan con un mayor espesor en la piel esto por un proceso adaptativo por vivir en regiones con mayor radiación solar sus cuerpos han generado una gruesa capa y genera mucha más melanina para evitar quemaduras y mutaciones por el sol.

2.10. Transdérmicos.

El desarrollo de la ciencia a la par de la tecnología farmacéutica ha permitido el desarrollo de nuevas formas farmacéuticas que dan solución a la problemática del paso a través del estrato córneo mejorando y controlando la velocidad de administración de los fármacos sin importar la epidermis, ya que estos pasan a través de esta permitiendo la llegada del fármaco directamente a la dermis ganándose el nombre de transdérmicos que significa a través de la dermis por la facilidad que estos tienen de atravesar esta barrera.

Las formulaciones transdérmicas por definición son sistemas destinados a la aplicación en zonas determinadas de la piel con una función de soporte o vehículo para uno o varios principios activos de efecto general una vez que sea o sean liberados en la dermis (Lastres J, Vila J, 2008).

El uso de formulaciones transdérmicas presenta ventajas sobre las vías de administración convencionales algunas de estas ventajas se muestran a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3 Ventajas y desventajas de las formulaciones transdérmicas.

Ventajas	Desventajas
Es de fácil aplicación y no requiere asistencia médica.	Requiere de fármacos con una masa molar baja.
Se tiene un control en la liberación.	Existe la posibilidad de una metabolización del medicamento por enzimas de la piel.
Se puede ocupar en administraciones prolongadas.	Factores como piel dañada pueden alterar la liberación mediante esta vía.
No genera desechos médicos peligrosos.	Se tiene un riesgo a reacción alérgica.
Se puede administrar en pacientes inconscientes.	
Evita el efecto del primer paso.	
Es reversible.	
Cuenta con una mínima toxicidad.	
Mejoran la adherencia de los tratamientos.	

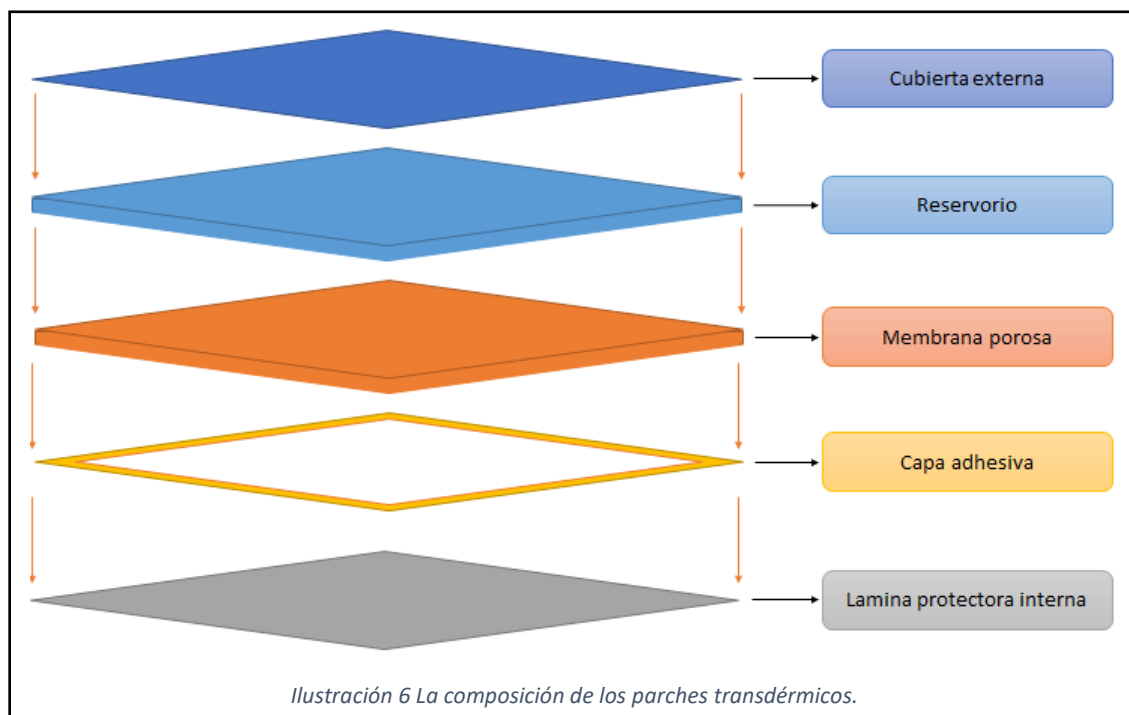
2.10.1. Primera generación de transdérmicos.

Al paso de los años, el surgimiento de nuevas formas en las que los transdérmicos pueden pasar el estrato córneo ha provocado que estos sean clasificados por etapas o generaciones siendo la primera de estas la que dio popularidad a los parches por el especial uso que se hizo de ellos.

2.10.1.1. Los parches transdérmicos.

El uso de los parches transdérmicos permitió un mayor control de la posología a diferencia de las clásicas formulaciones tópicas, este control permitió formular principios activos que se necesitan mantener con niveles plasmáticos bajos durante periodos prolongados, algunos ejemplos de los fármacos que se han ocupado para ese tipo de casos son la nitroglicerina, la clonidina, escopolamina, insulina, etc. (Prausnitz, 2017).

La composición de los sistemas transdérmicos esta principalmente dada por la complejidad de esta, las principales capas que contienen son apreciadas en la Ilustración 6:



1. Cubierta externa (protectora): consiste en un recubrimiento polimérico impermeable al agua y a los componentes del sistema.
2. Reservorio: se refiere al compartimento donde se almacena el principio activo en forma de gel, suspensión, emulsión, film rígido u otro que pasara a través de la piel.
3. Membrana porosa o no porosa: controla la liberación del principio activo contenida en el reservorio.

4. Capa adhesiva: Puede presentarse en la totalidad de la superficie del sistema o restringirse a los bordes, en caso de que el reservorio o membrana tengan propiedades adhesivas esta capa no es necesaria.

5. Lámina protectora interna: Protege al sistema antes de su uso, es necesario que se retire para su posterior aplicación sobre la piel.

2.10.1.2. Clasificación de los parches transdérmicos.

Dependiendo de sus características estructurales se pueden clasificar en 4 tipos de formulaciones.

1. De tipo reservorio: esta formulación ocupa una membrana encargada del paso directo del principio activo por procesos de permeación por lo mismo esta liberación es controlada y puede ser modificada dependiendo de las características que se deseen.

2. Sistema matricial: consiste en una base adhesiva con un espesante, como el principio activo está en el espesante su liberación se da a partir de la función de la raíz cuadrada del tiempo aplicado.

3. Sistema matricial con gradiente de difusión: en este sistema se crea un gradiente de concentración del principio activo al seno de la matriz polimérica formando dientes capas de concentración. Estos sistemas permiten la liberación controlada de gran concentración de fármaco.

4. Sistema de micro reservorio con dilución controlada: Tiene muchos microcomponentes hidrofílicos de entre 10 a 40 μm dispersas en la matriz polimérica hidrófoba. Tiene una velocidad de liberación variable, pero de concentración constante durante días.

2.10.1.3. Ventajas de los parches transdérmicos.

- Evita los riesgos y los inconvenientes derivados de una administración I.V.
- Incrementa la biodisponibilidad y eficacia de muchos medicamentos que sufren un efecto de primer paso por vía oral.
- Mantiene de forma prolongada y constante los niveles plasmáticos dentro de intervalos terapéuticos.
- Permite una excelente colaboración por parte del paciente.
- Posibilita el cese de la administración del medicamento tras la retirada del sistema de la piel.

Sin embargo, esta generación se vio limitada por el estrato córneo (Prausnitz M, Langer R, 2008) haciendo que las moléculas que se podían integrar forzosamente debían cumplir con:

- Un peso molecular menor a los 400 Da.
- No estar ionizado.
- Ser de carácter lipófilo.
- Ser termo resistente.
- Resistente a la oxidación.
- Contar con un coeficiente de partición de 1-3 (Lucia I, Della M, Pinto G, 2017).

2.10.2. Segunda generación de transdérmicos.

La segunda generación hizo uso de los promotores químicos, iontoforesis y ultrasonido para mejorar la administración de moléculas pequeñas en zonas localizadas esto logró ampliar el catálogo de fármacos ocupados.

2.10.2.1 Agentes promotores de la permeación cutánea.

El incrementar la permeación de fármacos a través de la piel amplia el número de fármacos candidatos a ser integrados a un medicamento transdérmico, una gran parte del éxito que han tendido los transdérmicos se debe a que estos emplean promotores químicos de absorción y métodos físicos con el objetivo de romper la estructura continua de la piel y de esta forma incrementar el paso a través de ella (Moral, 2017).

Un agente promotor de la permeación percutánea se refiere a toda sustancia que disminuya de forma temporal y reversible la cualidad impermeable de la piel aumentando el flujo de principios activos a través de ella. Por lo general se busca que un promotor de absorción cuente con estas 3 cualidades (Prausnitz M, Langer R, 2008).

1. Aumentar la permeabilidad de forma reversible en la zona aplicada del estrato córneo.
2. Impulsar el transporte del sustrato deseado a través de la piel.
3. No generar daños graves o profundos en los tejidos.

La teoría general de su funcionamiento menciona que estas sustancias tienen la propiedad de desorganizar los lípidos que rodean los corneocitos incrementando la polaridad de la zona. Sin embargo, también se tiene la teoría de que pueden interactuar con la queratina de los corneocitos desacomodando la densa capa estructural proteica aumentando el coeficiente de difusión de los principios activos y de esta forma cambiar las propiedades del estrato córneo mejorando el coeficiente de reparto de un compuesto en esta capa (Moral, 2017). Los excipientes más utilizados para llevar a cabo esta función han sido en su mayoría aceites esenciales/terpenos y terpenoides.

2.10.3. Tercera generación de transdérmicos.

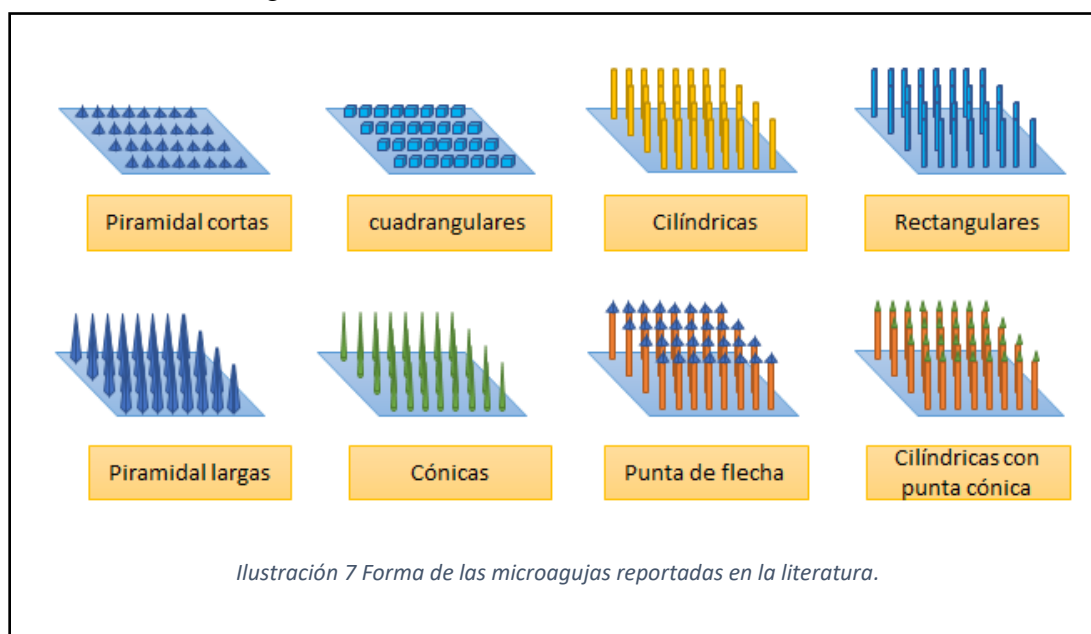
La tercera generación se enfocó directamente en el estrato córneo y encontró nuevas formas de evadir esta capa, hizo uso de electroporación, ultrasonido cavitacional y microagujas para crear microcanales por donde moléculas de gran tamaño puedan pasar (Prausnitz M, Langer R, 2008).

2.11. Arreglos de Microagujas.

Las agujas hipodérmicas son construcciones biomédicas tridimensionales poco invasivas cuya función es la de penetrar la epidermis y otorgar un efecto farmacológico sistémico y o localizado, al poder atravesar el estrato córneo con facilidad la entrega del fármaco al sitio de absorción (dermis) permite incrementar la velocidad de absorción de un fármaco si se requiere de una acción inmediata, además el uso de polímeros entre otras sustancias permite realizar diversas matrices con las cuales se obtiene un control sobre la liberación del fármaco (Lastres J, Vila J, 2008).

2.11.1. Características de las microagujas.

No existe una forma fija e inamovible de una microaguja, su estructura está adaptada por el material con el que se fabrica, su técnica de fabricación y el uso que esta tendrá entre otros parámetros por lo que el diseño final es diferente entre formulaciones (McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M, 2003).



Las puntas de las agujas pueden ser cilíndricas, cónicas, rectangulares, octogonales y cuadrangulares como se puede observar en la Ilustración 7 siendo las más populares de estas configuraciones la piramidal ya que se considera que cuenta con un mayor filo (Banga, 2009).

El estudio titulado “Aplicaciones de microporación para mejorar la administración de fármacos” realizado por Ajay K. Banga, Gaurav Bhatia y Yingcong Zhou nos menciona que la geometría de las agujas afectan las propiedades mecánicas que estas tienen encontrando que las agujas de forma piramidal presentan una mayor resistencia que las agujas de forma cónica esta diferencia fue justificada en el estudio por el área transversal la cual tiene un área mayor en esta figura, también se reportó que el ancho de las mismas tiene un efecto sobre la fuerza requerida para la penetración de la piel argumentando que las puntas más anchas requieren de una mayor fuerza para su aplicación.

Una sola microaguja no puede administrar todo el fármaco en su sitio de absorción es necesario un conjunto de las mismas ordenadas en un arreglo para lograr este fin, la distancia que se tiene entre cada pincho afecta la fuerza que puede resistir el sistema, así como la fuerza necesaria para su penetración a mayor sea la distancia entre cada una la fuerza requerida para la aplicación es menor pero la resistencia es menor.

Por lo regular se busca que la forma final se encuentre entre los siguientes valores (McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M, 2003).

Las medidas más ocupadas son:

- longitud de entre 150 a 1500 μm .
- ancho de entre 50 a 250 μm .
- diámetro de 1 a 25 μm

2.11.2. Tipos de microagujas.

Debido a las características que pueden tener se clasifican en 4 tipos de microagujas.

2.11.2.1. Microagujas sólidas.

Estas agujas están elaboradas por un solo material resistente principalmente de metal o silicio, en ellas no se contiene el fármaco a ocupar, sino que están sujetas a un rodillo o placa que permite su manipulación, los pinchos se insertan en la piel atravesando con facilidad el estrato córneo formando microcanales en la zona de interés aumentando la biodisponibilidad del área (Hoang M, Ita K, Bair D, 2015). Una vez se haya terminado de realizar la inserción se aplica el principio activo ya sea en un parche transdérmico convencional u otra forma farmacéutica tópica que lo contenga.

2.11.2.2. Microagujas recubiertas.

Similares a las microagujas sólidas estas no contienen la sustancia activa en su interior, pero si cuentan con una matriz soluble en agua con dicho activo sobre ellas como se muestra en la Ilustración 8. Estas microagujas están sujetas a una base de un material inerte el cual sirve de soporte y es el que marca el área final que cubrirá el arreglo. El recubrimiento debe formar una película delgada de gran viscosidad sobre la superficie de cada alfiler, este a su vez se quedará adherido en la zona de aplicación dentro de los micro canales una vez sean retiradas las agujas (Jiang J, Gill H, Ghate D, McCarey B, Patel S, Edelhauser H, 2007).

2.11.2.3. Microagujas solubles.

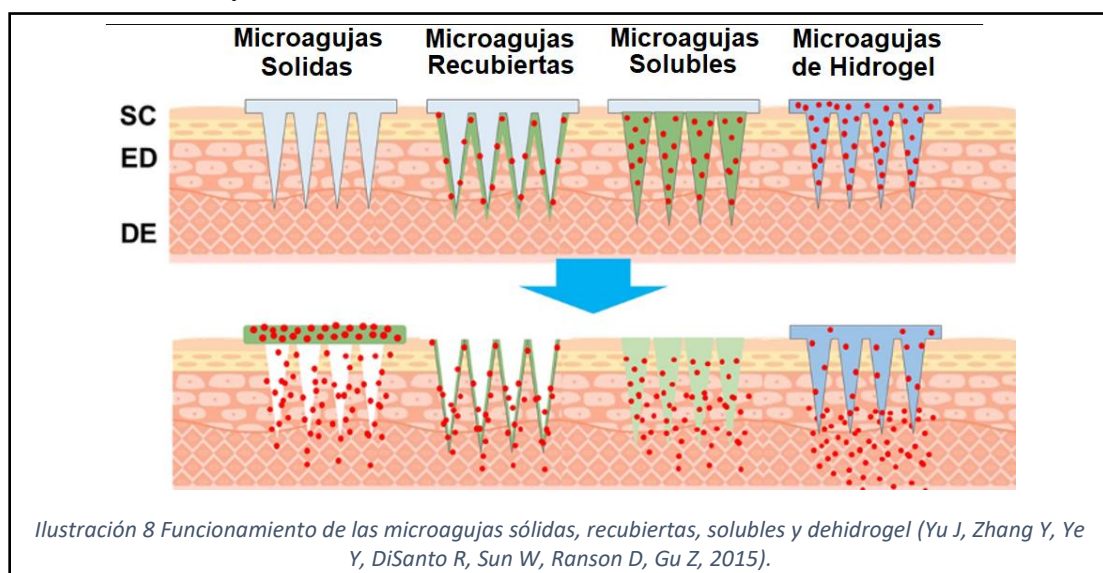
Estas agujas están elaboradas con materiales biodegradables y compatibles con el cuerpo humano normalmente fabricadas a partir de celulosa como la carboximetilcelulosa (CMC) y la metilcelulosa (Mistilis M, Bommarius A, Prausnitz M, 2015)(Raphael A, Crichton M, Falcone R, Meliga S, Chen, X, Fernando G Kendall M, 2016) con una técnica de micromoldeo en donde la formulación es vertida en un molde que contiene canales microscópicos donde se formaran las microagujas.

A diferencia de los agujas sólidas y recubiertas el principio activo se alberga dentro de las propias agujas, pero no en la base por lo que el material de la base puede estar conformado de algún material que de soporte al arreglo. Una vez se logra penetrar la piel se comienza a liberar de forma controlada el fármaco, por lo que es necesario que la composición del arreglo y el principio activo sean compatibles. La formulación debe proporcionar resistencia mecánica y tener una viscosidad suficientemente baja para llenar bien el espacio del molde a microescala sin burbujas de aire (Prausnitz, 2017)

El arreglo no es retirado inmediatamente como en los casos anteriores ya que este va liberando el fármaco periódicamente mientras se encuentre en la piel como se muestra en la Ilustración 8, ya liberado todo el fármaco se retira el arreglo o bien este mismo se solubiliza completamente en la piel sin generar residuos afilados.

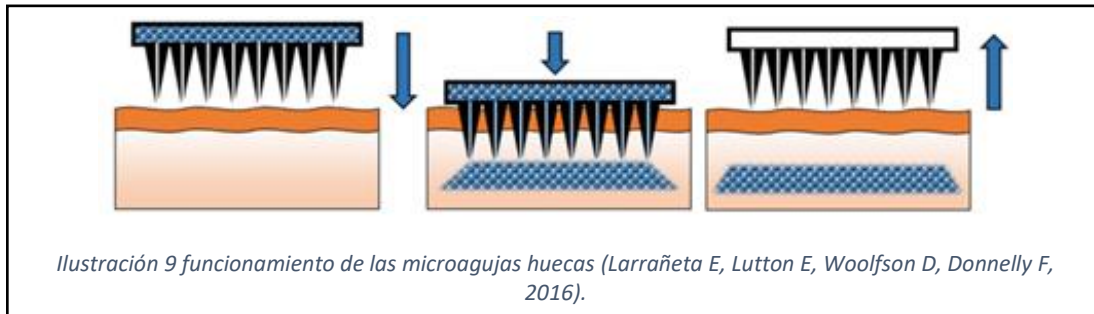
2.11.2.4. Microagujas de hidrogel.

Estas agujas se caracterizan por que el fármaco está contenido en todas partes del arreglo tanto en la punta de las microagujas y el sustrato base como se muestra en la Ilustración 8. Estas están compuestas de un hidrogel que se hidrata con los fluidos en la piel, pero no se disuelven (Sulaiman D, Chang J, Bennett N, Topouzi H, Higgins C, Irvine D, Ladame S , 2019)(He, 2020), (Yu J, Zhang Y, Ye Y, DiSanto R, Sun W, Ranson D, Gu Z, 2015). Dado a que su material no es soluble la liberación del fármaco esta dado principalmente por difusión lo que permite el manejo de grandes dosis en periodos prolongados (Migdadi E, Courtenay A, Tekko I, McCrudden M, McAlister E, 2018)(Courtenay A, McAlister E, McCrudden C, Vora L, Steiner L, Levin G, 2020).



2.11.2.5. Microagujas huecas.

Este tipo de microagujas son de un material sólido capaz de perforar la piel sin perder la forma de la punta entre los materiales más ocupados se tienen la silicona, cerámica y polímero, cuentan con un microcanal que conecta al reservorio de la base con la punta de la aguja tomando una forma parecida a las agujas hipodérmicas de calibre 30 con una longitud de 300 μm como se muestra en la Ilustración 9 por donde el fármaco es inyectado y pasa por difusión pasiva a la dermis (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016)



2.11.3. Materiales para microagujas.

Una característica propia de las microagujas es la capacidad de ser fabricadas de diversos materiales con el fin de realizar diversas funciones. Las microagujas que se han reportado en la literatura han sido fabricadas con:

- Silicio: Este tipo de agujas cuentan con una gran flexibilidad en el procesamiento y la producción de diferentes formas y tamaños, las agujas que se realizan con este material (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016) son de estructura cristalina y naturaleza anisótropa que por lo regular cuentan con una altura de 158 μm una base de 110.5 μm un ángulo de punta de 19.4° y un diámetro de punta de 0.40 μm (Khanna P, Luongo K, Strom A, Bhansali S, 2010).
- Metales o Rieles: se caracterizan por ser de acero inoxidable, titanio, paladio, níquel y aleaciones de paladio y cobalto por lo que cuentan con una gran resistencia además de buenas propiedades biocompatibles (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016) estas agujas se ocuparon con fármacos secos y las agujas formadas contaron con un radio de 20, una altura de 467,8 μm y un diámetro de 268 μm .
- Cerámica: realizadas mediante micromoldeo y principalmente realizadas con alúmina estas microagujas son de bajo costo y resisten sustancias oxidantes y corrosivas por lo que se han ocupado en la administración en huesos (Ginebra P, Traykova T, Planell, A, 2006).
- Carbohidratos: Ocupa plantillas de microagujas de silicona y metal por lo que son ajustables al tamaño y forma que se desee dependiendo del molde ocupado y son altamente ocupadas como alternativas a los otros materiales por su bajo costo, seguridad y principalmente su amplia gama de grupos funcionales, los

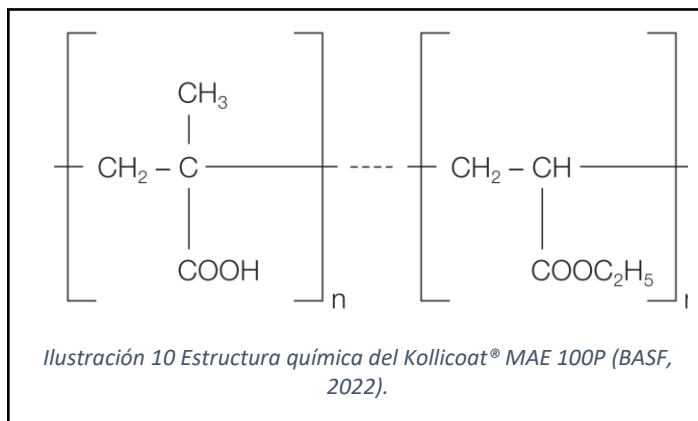
carbohidratos permiten el diseño y desarrollo de propiedades y funcionalidades ajustables.

- Polímeros: Actualmente son las microagujas de mayor interés en la investigación ya que exhiben una gran biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad y un bajo costo, consta de un micromoldeo que genera agujas igual de resistentes que las de cerámica (Yuan W, Xiaoyun H, Zaozhan W, Chen L, Liu Z, Fei W, 2013) y de materiales diversos como PVA y el PEG-PMVE (Nguyen H, Bozorg B, Kim Y, Wieber A, Birk G, Lubda D, Banga A, 2018).

2.11.3.1. Kollicoat® MAE 100P como posible material para la fabricación de microagujas

El Copolímero de ácido metacrílico-acrilato de etilo (1:1) Tipo B también llamado Kollicoat® MAE 100P apreciable en la Ilustración 10, es un copolímero débilmente ácido que se disuelve a un pH superior a 5.5, es soluble en metanol y soluciones alcalinas diluidas, gracias a la incorporación de grupos carboxilo parcialmente neutralizados dentro de su formulación es miscible en agua, también posee un 0,7 % de lauril sulfato de sodio y un 2,3 % de polisorbato 80 como agentes emulsionantes. (USPNF, 2022)

Comúnmente es ocupado como material de alto rendimiento en formulaciones orales teniendo la función de recubrimiento entérico por no tener toxicidad, no irritabilidad y gracias a su resistencia a fluidos gástricos y liberación rápida en pH superiores a 5.5. Su



funcionamiento consiste en la formación de poros en su matriz lo que da paso a una liberación sostenida para fármacos altamente solubles en agua (BASF, 2022).

El Kollicoat® MAE 100P es un polvo blanco con un ligero olor característico que al ser re suspendido y secado forma una película polimérica de gran dureza y un aspecto e inerte, estas características llaman la atención por la posibilidad de ser ocupado como matriz polimérica y base para una formulación transdérmica como parches y microagujas. Otros polímeros como el caso de Kollicoat IR (polietilenglicol) ha sido ocupado en conjunto con alcohol polivinílico (PVA), etilenglicol y gelatina en formulaciones para microagujas con buenas permeaciones de alrededor del 74% (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016).

2.11.4. Técnicas de fabricación con microagujas.

Existen diferentes técnicas para la fabricación de las microagujas el uso de uno o de otro varía dependiendo del diseño final deseado, el material con el que se cuenta, el uso que se le va a dar y el precio que este tendrá. Las diferentes técnicas se pueden separar por:

2.11.4.1. Técnicas de fabricación medida por láser

2.11.4.1.1. Corte por láser

La técnica es ocupada para agujas metálicas. Consiste en el corte con un rayo láser de CO₂ sobre una sobre una lámina polimérica o de metal por lo regular acero inoxidable y posteriormente estos cortes son levantados teniendo una apariencia similar a la Ilustración 11.



Ilustración 11 Microscopia electrónica de barrido de una sección de la matriz de 50 microagujas. (Gupta J, Gill S, Andrews N, Prausnitz R., 2011).

2.11.4.1.2. Ablación laser

Técnica muy similar al corte láser con la diferencia que la radiación del láser sobre el material provoca la sublimación o evaporación de este lo que provoca que este se doble en una forma predeterminada en 2D como se muestra en la Ilustración 12.

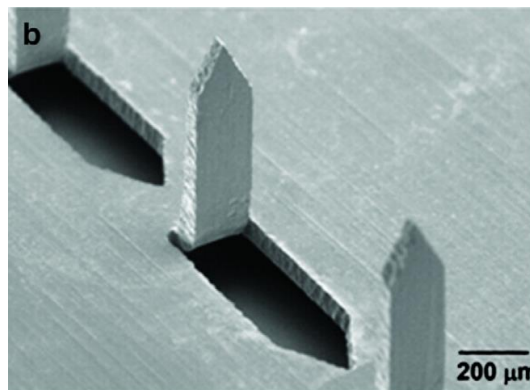


Ilustración 12 Micrografía de campo claro de una matriz de 50 microagujas. Microagujas sólidas compuestas de acero inoxidable (i y ii) (Gupta J, Gill S, Andrews N, Prausnitz R., 2011).

2.11.4.2. Micromoldeado

Esta técnica es ocupada para realizar agujas poliméricas en su mayoría y resulta ser muy práctica, aunque tarda más tiempo que otros métodos. Para Formar las microagujas es necesario imprimir un molde tridimensional de un material sólido que contenga las agujas que se quieran conseguir, a este molde madre se le llenará con silicona y una vez seco se separarán, una vez separado el molde de silicona contendrá poros con la forma final de las microagujas. Al molde de silicona se le vierten la formulación polimérica y se le aplica vacío para que la formulación llegue a todos los rincones del molde, una vez seco se retira el polímero del molde con la forma final que tendrán las microagujas.

2.11.4.3. Fotolitografía

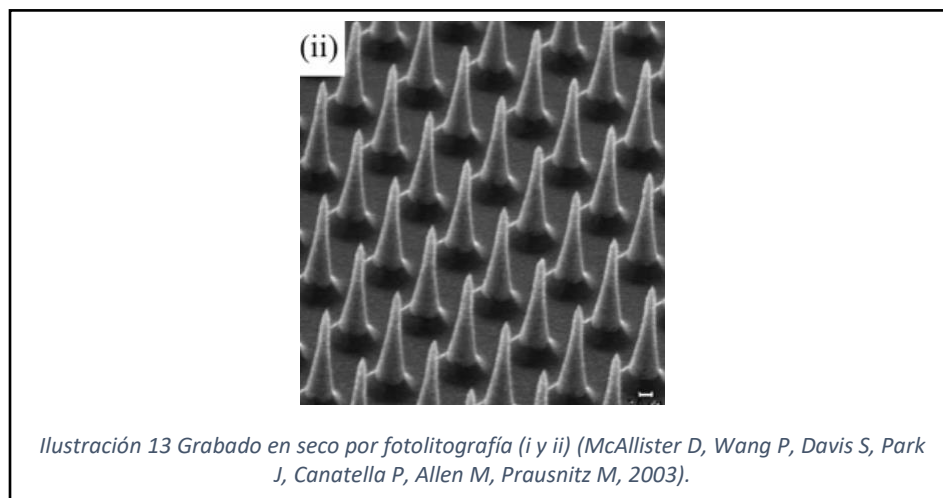
Esta técnica genera microagujas sólidas o huecas principalmente de silicio, aunque también es ocupada para la fabricación de microagujas de hidrogel. El arreglo se forma en la fotoprotección mediante continuas irradiaciones UV después, el sustrato expuesto sin la fotoprotección se graba mediante un proceso de grabado.

El grabado es el proceso en el cual se forma la punta de la aguja en los métodos fotográficos y puede ser grabado por un método isotrópico o anisotrópico

2.11.4.3.1 Grabado en seco

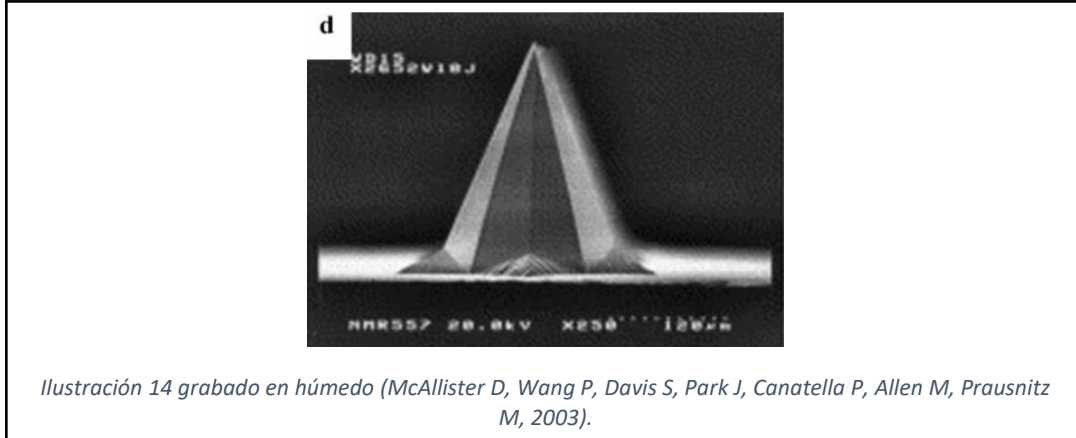
Se clasifica en métodos físicos y métodos químicos.

- **Físicos:** Consta de la molienda iónica y la pulverización catódica, la primera los iones impactan al sustrato de silicio a alta velocidad en una sola dirección.
- **Químicos:** el grabado se realiza con plasma a alta presión El plasma reacciona con la superficie del sustrato y se convierte en un material volátil, que es expulsado por la corriente del aire dando como es apreciable en el un grabado isotrópico cónico del sustrato apreciable en la Ilustración 13.



2.11.4.3.2. Grabado en húmedo

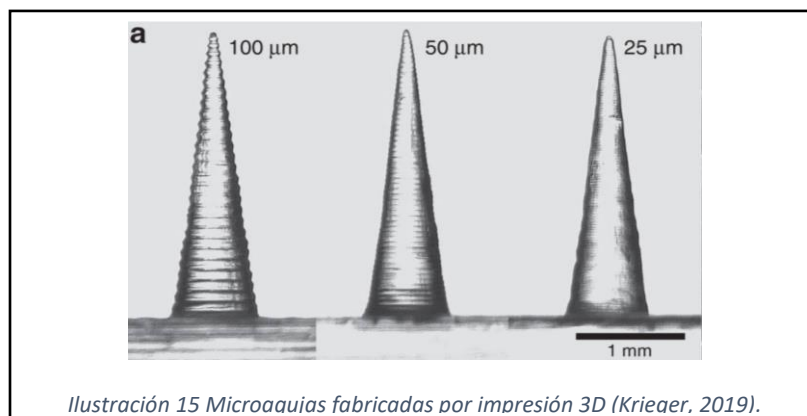
Se realiza mediante un grabador químico donde se utiliza una solución acuosa de hidróxido de potasio para producir una punta afilada, este grabado se realiza con mayor rapidez que el grabado en seco y su precio es más bajo, sin embargo, carece de una gran precisión en la fabricación de patrones finos como se aprecia en la Ilustración 14.



2.11.4.4. Impresión 3D

La impresión tridimensional es una técnica novedosa en la producción de microagujas (Park J, Choi J, Moon S, Kim S, Bajracharya R, Min J, Han K., 2018) (Economidou N, Lamprou A, Douroumis D. , 2018) son creadas a partir de un modelo diseñado por ordenador mediante programas CAD (Computer Aided Design) (Suardíaz J, Pérez M, Cabrera A, Carmo R, 2021) su fabricación es de bajo costo y alto rendimiento con la limitante de producir solo agujas hipodérmicas simples en la mayoría de los casos aunque se ha afinado esta técnica para producir agujas más sofisticadas (Han D, Morde S, Mariani S, Mattina A, Vignali E, Yang C, Lee H, 2020) apreciables en la Ilustración 15.

La impresión de estas construcciones biomédicas consta de una estereolitografía de alta precisión ya sea por un método de procesamiento de luz digital (DLP) o modelado por deposición fundida (FDM) (Krieger J, Bertollo N, Dangol M, Sheridan T, Lowery M, Cearbhaill D, 2019) (Johnson R, Caudill L, Tumbleston R, Bloomquist C, Moga A, Ermoshkin A, DeSimone M, 2016) (Luzuriaga A, Berry R, Reagan C, Smaldone A, Gassensmith J, 2018).

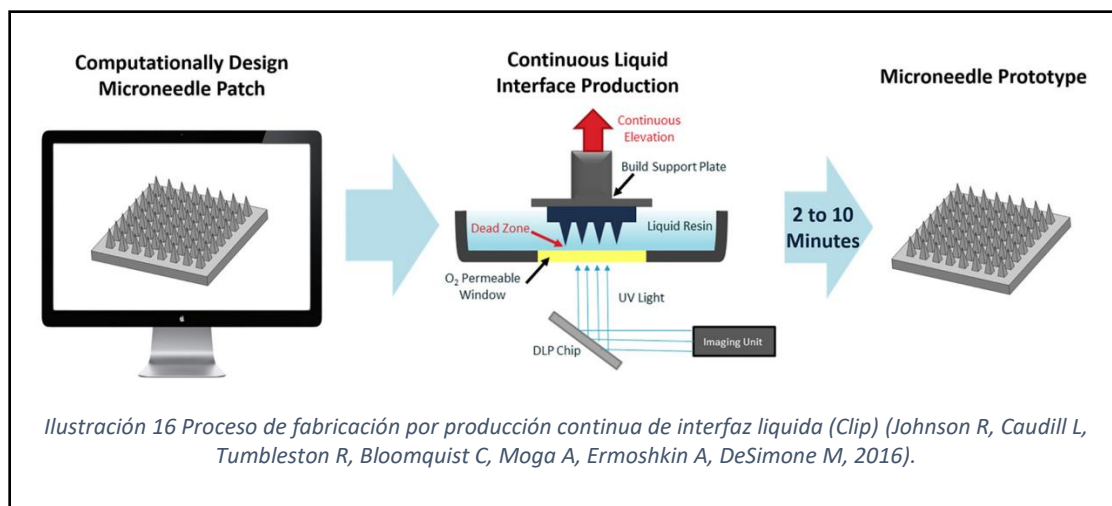


2.11.4.5. Micro estereolitografía (μ SL)

Es una técnica que hace uso de la fotopolimerización de una resina líquida utilizando una fuente de luz como la radiación UV y construyendo el arreglo capa a capa siendo un procedimiento muy confiable y capaz de producir microagujas de alta complejidad y gran precisión. Es capaz de manejar materiales poliméricos para administraciones controladas (Krieger J, Bertollo N, Dangol M, Sheridan T, Lowery M, Cearbhail D, 2019) (McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M, 2003).

2.11.4.6. Producción continua de interfaz líquida (CLIP):

Técnica ocupada para microagujas poliméricas compatibles como el triacrilato de trimetilolpropano, dimetacrilato de polietilenglicol, trimetacrilato de policaprolactona y ácido poliacrílico. Esta técnica es de 25 a 100 veces más rápido que el método de procesamiento de luz digital de la impresión 3D debido al uso del CLIP. El CLIP tiene una mayor capacidad de desprendimiento de la capa de resina curada que un chip DLP convencional. Johnson, AR en su investigación “Single-Step Fabrication of Computationally Designed Microneedles by Continuous Liquid Interphase Production” representa la fabricación microagujas con este método en la Ilustración 16, Esta relata el proceso desde el diseño del arreglo computacionalmente utilizando un archivo CAD para su posterior fabricación con el CLIP que produce un prototipo de microaguja en dos a diez minutos a través de la fotopolimerización de una resina fotorreactiva líquida utilizando la luz que se refleja en un chip DLP. Continuo en lugar de capa por capa (Johnson R, Caudill L, Tumbleston R, Bloomquist C, Moga A, Ermoshkin A, DeSimone M, 2016).



2.11.4.7. Polimerización de dos fotones (TPP)

A diferencia de otras técnicas aditivas esta la polimerización de la resina está dada por un láser de longitud de onda infrarroja y no UV lo que permite la reacción del curado en el punto focal (Serbin J, Egbert A, Ostendorf A, Chichkov B, Houbertz R, Domann G, Schulz J, Cronauer C, Fröhlich L, Popall M, 2003) y no en la trayectoria de iluminación de todo el rayo láser ganando con esto una mayor resolución y por ende es posible fabricar estructuras complejas de aproximadamente 100 nm como se aprecia en la Ilustración 17. (Takada K, Sun B, Kawata S, 2005).



2.11.5. Ventajas y desventajas de las microagujas.

Como se mencionó con anterioridad existe una diversidad entre las propias microagujas ventajas que presentan agujas sólidas de titanio son diferentes a las ventajas que presentan las huecas de polímero de igual forma los costos de fabricación cambian entre los métodos y los diferentes equipos, sin embargo, como se muestra en la Tabla 4 existen algunas ventajas que todas las microagujas exhiben, así como sus desventajas.

Tabla 4 Ventajas y desventajas presentes en el uso de microagujas.

Ventajas	Desventajas
Aumenta la permeabilidad de la zona de aplicación.	Irritantes en algunos en zona de aplicación.
Permite el paso de fármacos de gran tamaño.	Requiere tecnología especializada para su producción.
Proporciona un tratamiento localizado.	
Es mínimamente invasivo.	
Mejora la adherencia del tratamiento.	
Se tiene un control en la liberación del fármaco.	
Son de bajo costo.	

2.12. Ventajas regenerativas de las microagujas.

El uso de microagujas sólidas como tratamiento en la recuperación de heridas crónicas, así como su cicatrización es un método que se empezó a estudiar desde el 2010, el autor Bal nos menciona que cuando ocurre un traumatismo leve en la piel se desemboca una respuesta inflamatoria leve, causado por la liberación de bradicininas e histamina de los mastocitos en la zona.

Cuando se introduce una aguja hipodérmica de acero inoxidable en la piel la bomba Na/K se activa para reestablecer el potencial eléctrico intra y extra celular, la proteína transmembranal ATPasa carga el Na liberando Na^{+1} en el electrolito intercelular y recoge iones K^{-1} y los transporta al interior de la célula, este proceso se lleva a cabo en apenas 3 milisegundos lo que el cuerpo percibe pero no cataloga como traumatismo sin embargo, el realizar este procedimiento varias veces por medio de la técnica microneedling genera que los receptores detecten las penetraciones recurrentes formando un continuo cambio de voltaje que conduce al cuerpo a una constante estado de alerta en el que se reactiva las primeras 2 etapas de la regeneración aún en heridas cicatrizadas provocando una motilidad mejorada de células epiteliales y endoteliales en el área herida y posteriormente a la expresión génica de factores de crecimiento que facilitan la cicatrización (Liebl H, Kloth C, 20123).

Cuando este proceso ocurre el TGF- β 3 controla la integración de las fibras en la matriz de la piel y la matriz metalo-proteica se controla por inhibidores, los capilares y fibroblastos migran a la parte inferior de la herida y las fibras de colágeno III se integran en la matriz de la piel (Aust M, Reimers K, Vogt P, 2009).

La inflamación presente en un daño cutáneo se puede percibir durante 48 horas, sin embargo, ocupando la técnica de microagujas este efecto se reduce a la mitad en apenas 4 a 6 horas, esta técnica es acompañada con ácido hialurónico y otros compuestos regenerativos acortando el tiempo en apenas 30 minutos.

En el caso de microagujas solubles y de hidrogel, así como las poliméricas se mantienen en la misma zona durante un tiempo considerable lo que genera un microentorno flexible (Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F, 2016) y controlado donde es fácil para ellas favorecer procesos de absorción, reconstrucción de tejido de neo cartílago (Grogan P, Dorthé W, Glembotski E, Gaul F, Lima D, 2019) y humectación de la zona esto implica que las microagujas tienen una función secundaria como sistema de andamiaje transitorio (Moldovan I, Hibino N, Nakayama K, 2017).

2.13. Ceftriaxona

Las cefalosporinas son agentes antibacterianos que pertenecen al grupo de los β -lactámicos, son muy similares químicamente hablando a las penicilinas además de presentar similitudes tanto en su toxicidad así como en su mecanismo de acción ya que estas inhiben la síntesis de peptidoglicano lo que conlleva a la lisis bacteriana, sin embargo estas presentan una mayor actividad debido a que cuentan con una mayor estabilidad en comparación con las penicilinas, sin embargo su efectividad decae contra *enterococos* y *Listeria monocytogenes* (Mella M, Zemelman C, Bello H, Domingez M., Gonzalez G, Zemelman R, 2001).

Las cefalosporinas presentan un peso promedio de 400 a 450 g/mol y presentan una afinidad al agua, también presentan una resistencia relativa a cambios de pH y temperatura lo que a permitido la clasificación en 4 grupos.

El primer grupo formado por cefadroxil, cefalozina, cefalexina, cefalotina, cefapirina y cefradina son muy activos contra cocos Gram (+) incluyendo *neumococo*, *estreptococos* y *estafilococo*. Generalmente son para la administración oral y parental. Este grupo de antibacterianos incluye sustitutos de la penicilina G que son resistentes a las penicilinasas de los *Staphylococcus*, por tanto, tienen una buena actividad contra bacterias aerobias Gram (+).

Las cefalosporinas de segunda generación ofrecen una mayor cobertura frente a los bacilos gran – en especial contra *Haemophilus influenzae* y *Neisseria sp* derivado de este grupo la cefoxitina, cefotetan y cefmetazole son activos contra el grupo de *B. fragilis*. No se recomienda el uso de las cefalosporinas de segunda generación en caso de presentarse una meningitis con excepción de la cefuroxima (Rivas K, Rivas M, Dávila E, Rodríguez M., 2002).

La tercera generación es más eficaz *in vitro* frente a los bacilos Gram (-) y frente a los cocos Gram (+) (con excepción de *S. Aureus*) que los de generaciones pasadas, por lo regular son el tratamiento de elección en la meningitis por bacilos gramnegativos y bacilos gramnegativos además de ser extremadamente activas contra la mayoría de las bacterias Gram (-).

Algunos autores consideran una cuarta generación en donde incluyen el cefepime y el cefpirone, este grupo se separa por tener una gran estabilidad contra Beta-lactamasas mediadas cromosomalmente y por plásmidos, además de poca o ninguna capacidad para inducir la producción de Beta-lactamasas tipo I (Baldo, 1999) y son ampliamente ocupadas en el tratamiento de infecciones debidas a bacilos aerobios Gram (-) resistentes a cefalosporinas de tercera generación con lo cual se logra su erradicación y tienen mejor actividad contra algunos Gram (+) (Bonfiglio G, Marchetti F, 2000).

La ceftriaxona es una cefalosporina de la tercera generación semisintético de amplio espectro y de actividad bactericida, tiene una acción inhibitoria de las síntesis en la pared celular.

La ceftriaxona o cefaxona como también se le conoce se encuentra comercialmente en frasco con ampula de 500 y 100mg de ceftriaxona disódica hemiheptahidratada equivalente a ceftriaxona, con un contenido de sodio de 83mg (3.6 mEq) por cada gramo de ceftriaxona.

El uso de ceftriaxona es requerido en infecciones moderadas a graves o mixtas causadas por sepsis sensibles como son:

- Aerobios Gram + (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus* del grupo A y B, *Staphylococcus Alcaligenes spp*, *E. Coli*, *H. Influenzae*, *H. Parainfluenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *Plesiomonas shigelloides*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Serratia spp*, *Shigella spp*, *Vibrio spp*, *Yersinia spp*.

Anaerobios como *Bacteroides spp*, *Clostridium spp*, *Fusobacterium spp*, *Peptococcus spp*, *Peptostreptococcus* (Bertram G, Todd W, 2020).

La ceftriaxona no es útil en el caso de infecciones por *Cándida albicans* y *Enterococos*.

Es recomendado el uso de ceftriaxona cuando se presentan infecciones en vías respiratoria, infecciones en vías urinarias, infecciones intraabdominales, meningitis, septicemia, infecciones óseas y de articulaciones además de su participación en coadyuvante en el tratamiento de infecciones de la piel y tejidos blandos.

Al unirse de forma reversible a la albumina es capaz de mantenerse en el líquido intersticial de forma prolongada teniendo una concentración bactericida alta durante 24 horas y en el espacio intersticial consigue una concentración libre mayor a la del plasma.

Se logra excretar en mayor medida por la vía renal, también se excreta por medio de la bilis al paso de 12 a 24 horas de su aplicación.

Las personas con alergia o hipersensibilidad a las cefalosporinas no pueden ocupar este medicamento de igual forma los pacientes con hipersensibilidad a la penicilina presentan reacciones cruzadas.

La administración sistemática puede generar reacciones como el dolor en la zona de aplicación, flebitis, urticaria, edema, diarrea, náuseas, vómitos, trombocitopenias, elevaciones en el nitrógeno úrico y en menor frecuencia la presencia de elevaciones en la creatina y oliguria (Reyes, Solis J., 2006).

3. Justificación.

Según la OMS las quemaduras constituyen un problema de salud pública a nivel mundial y provocan alrededor de 180,000 muertes al año, la secretaria de salud de México reporto en el día nacional de la prevención de quemaduras en niños, niñas y adolescentes del 2021 un total 13 mil personas afectadas por quemaduras de los cuales mil casos afectaron a niños esta cifra nos ubica un nivel intermedio a nivel mundial con este problema al compararnos con países de altos y bajos recursos (Secretaria de salud, 2021) Las quemaduras son un problema serio que ha aquejado a 11 millones de personas tan solo en 2004 (OMS, 2018)

Las lesiones tisulares causadas por las quemaduras son difíciles de tratar debido a la sensibilidad a la manipulación que les provoca a los afectados cada vez que se tiene que realizar una curación, las constantes curaciones que se tienen que realizar para poder tratar las heridas además del tiempo requerido que en quemaduras leves de 1 grado pueden tardarse hasta 3 semanas provocan en los afectados mucha incomodidad.

Los daños derivados de las quemaduras provocan un malestar físico provocado por el ardor, comezón, incomodidad en la zona afectada y limitaciones en la movilidad. De igual forma generan malestares psicológicos y sociales debido a el aspecto que generan en la piel una vez que ha sido tratada. Las cicatrices que deja una quemadura dependiendo de su severidad además del cuidado que se tuvo durante el tratamiento pueden provocar un mal reacomodo celular provocando en el afectado un notorio cambio de la coloración de la piel y una constante molestia.

La piel es la protección que el ser humano tiene contra el medio que ayuda a regular procesos necesarios en nuestro día a día, sin embargo, una de sus funciones más importante es la protección ante patógenos de nuestro ambiente, pero, al existir una herida como lo es una quemadura se abre un abanico de posibilidades por donde las bacterias pueden entrar y desencadenar serios problemas de infecciones.

En el tratamiento general de una quemadura es común integrar un antibiótico como forma preventiva ante estas posibles afecciones, si el antibiótico fuese administrado de forma sistemática como lo sería con una inyección intramuscular, este circulará por todo el sistema hasta llegar a la piel y la zona de la quemadura, al ocurrir esto también llegará a otros órganos incluyendo órganos que no requieren de antibiótico como lo son el estómago y el intestino provocando la eliminación de la flora de intestinal además tener antibiótico en la sangre obliga al hígado a biotransformar el antibiótico teniendo el riesgo de generar algún daño hepático. Si por otro lado el antibiótico se administra de forma tópica como con un ungüento o pomada se tiene un problema en la absorción de este debido al daño celular que se tiene en la zona y la posible callosidad además de la aparición de ampollas generan que sea más difícil para el fármaco la absorción de este generando una gran pérdida de activo.

La implementación de un arreglo de microagujas representa una alternativa al tratamiento gracias a que soluciona los 2 problemas antes mencionados los cuales fueron la administración ya que al ser transdérmico el fármaco logra ingresar al cuerpo directamente en la zona afectada evitando el paso hepático y evitando la posible resistencia bacteriana ya que solo se encuentra en la zona afectada y la absorción del fármaco ya que al abrirse paso a través de la dermis logra aumentar la biodisponibilidad del fármaco aumentando con esto la efectividad del tratamiento.

4. Hipótesis.

Si se desarrolla y caracteriza un arreglo de microagujas poliméricas ocupando factores de regeneración y ceftriaxona se tendrá una novedosa propuesta de tratamiento para la regeneración de la piel en quemaduras.

5. Objetivos.

5.1 Objetivo general.

Diseñar, evaluar y caracterizar un arreglo de microagujas poliméricas cargadas con ceftriaxona preparadas mediante la técnica de micromoldeo como una alternativa para la regeneración tisular en quemaduras.

5.2 Objetivos específicos.

- Seleccionar el polímero y excipientes adecuados para el arreglo de microagujas con los reactivos del laboratorio para ocupar el que tenga las mejores características físicas.
- Realizar un diseño experimental con el polímero y ceftriaxona variando los niveles de plastificante y factores de regeneración para obtener una formulación óptima.
- Preparar experimentalmente las formulaciones dadas por el diseño de experimentos con los materiales y equipo del laboratorio para realizarles pruebas físicas y químicas con ellos y anotar sus resultados.
- Analizar los resultados del diseño experimental con el software estadístico statgrafics y obtener la formulación con la deseabilidad máxima.
- Evaluar la formulación óptima con pruebas fisicoquímicas para caracterizar la formulación.
- Realizar una validación del método de cuantificación de contenido químico con un espectrofotómetro UV-Vis que compruebe y valide los resultados obtenidos durante la experimentación.

6. Metodología.

6.1 Plan de trabajo.

Como se puede apreciar en la Ilustración 18 el presente trabajo se llevó a cabo mediante bloques iniciando con la investigación fisiopatológica de las quemaduras y las propiedades regenerativas del Colágeno y el D-Pantenol así como del uso profiláctico de ceftriaxona en quemaduras y el efecto regenerativo de las microagujas, con la información recopilada se planteó una formulación base la cual se sometió a un diseño de experimentos multifactorial donde se realizaron pruebas en físicas y químicas para evaluar y optimizar la formulación, se realizaron nuevos arreglos hechos con la formulación optimizada a las cuales se les realizaron pruebas para caracterizar las propiedades que estas tienen, por último se planteó una validación del método espectrofotométrico para dar tener seguridad de los resultados obtenidos.

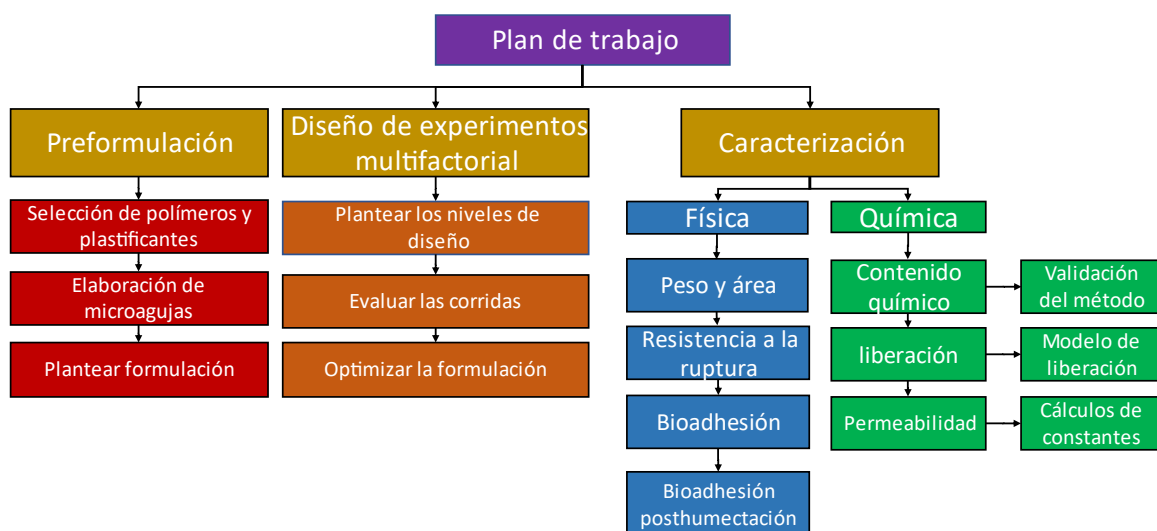


Ilustración 18 diagrama del plan de trabajo

6.2 Reactivos.

A continuación, en la Tabla 5 se muestran los reactivos usados para la realización del arreglo de microagujas:

Tabla 5 Reactivos utilizados en la experimentación.

Reactivo	Procedencia
Buffer HEPES	SIGMA
Buffer de fosfatos	JT-Baker
Agua des ionizada	-
Kollicoat® MAE 100P	BASF
Kollicoat® MAE 100-55	BASF
Kollicoat® MAE 100P	BASF
Colágeno	Droguería cosmopolita
D-Pantenol	Droguería cosmopolita
Ceftriaxona disódica hemipentahidratada	Laboratorios farmacéuticos AMSA
Propilenglicol	Droguería cosmopolita
Metabisulfito	Droguería cosmopolita

6.3 Material y equipos.

En la Tabla 6 se observa el material y los equipos utilizados durante la realización del proyecto:

Tabla 6 Material y equipos utilizados durante la experimentación.

Material/Equipo	Procedencia	Modelo
Espectrofotómetro UV/VIS	Científica Vela Quin S.A. de C.V.	VE5100UV
Disolutor	MAYASA	
Corneometer	Courage+Khazaka electronic Gmbh	CM8020
Mexameter	Courage+Khazaka electronic Gmbh	NX18
Skin-pHmeter	Courage+Khazaka electronic Gmbh	PH9005
Tewameter TM 300	Courage+Khazaka electronic Gmbh	TM300
Texturómetro	BROOKFIELD	CT3 4500
Balanza analítica	RADWAG	AS200.R2
Parrilla C/Termoagitación	Science MED	MS-H-S10
Micropipeta	Steinberg Systems	SBS-PIP 100
Celdas de difusión	-	FRANZ (7mL)
Matraz volumétrico	KIMAX	25, 100 mL
Pipeta volumétrica	KIMAX	1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, mL
Vaso de precipitados	KIMAX	5, 10, 25, 50, 100, 150, 250, 500, 1000 mL
Probeta	KIMAX	10, 50, 1000 mL
Espátula	KIMAX	-
Varilla de vidrio	KIMAX	-
Celdas de cuarzo para espectrofotómetro	Agilet Technologies	Cuarzo, 1cm ²
Barra magnética	PROGENES	-

6.4 Métodos.

6.4.1 Preformulación.

6.4.1.1 Selección de componentes de la formulación.

Para la selección de los componentes de la formulación se inició con 4 posibles polímeros (Kollicoat® MAE 100P, Kollicoat® MAE 100-50, Quitosan, PVA) y estos se les añadió 80 µL de Propilenglicol como plastificante.

Las formulaciones se pueden ver en la Tabla 7.

Tabla 7 Formulaciones propuestas para la base polimérica del arreglo de microagujas de ceftriaxona.

Formulación	Polímero	Mg de polímero	µL de propilenglicol	Volumen de agua
1	Kollicoat® MAE 100P	500 mg	80 µL	10 mL
2	Kollicoat® MAE 100-50	500 mg	80 µL	10 mL
3	Quitosan	500 mg	80 µL	10 mL
4	PVA	500 mg	80 µL	10 mL

6.4.2 Formulación (diseño de experimentos).

De acuerdo con la evaluación física de las películas formadas con respecto a la Tabla 7 se decidió ocupar el polímero metacrílico de nombre comercial Kollicoat® MAE 100P con propilenglicol esto dadas sus características físicas y consistencia al tacto. Posteriormente se agregó a la formulación el principio activo (Ceftriaxona), agentes de regeneración (D-Pantenol y Colágeno) y un antioxidante (metabisulfato).

Para la elaboración del diseño experimental se ocupó el software estadístico Statgraphics Centurion y se estableció un valor de $P = 0.5$ ocupando la función de deseabilidad.

Esta formulación se puso a prueba ocupando un diseño central compuesto de 3 a la K completamente aleatorizado esto con el fin de analizar si la cantidad de humectante (D-Pantenol) indicado en la Tabla 8 como “X1” y del plastificante (propilenglicol) indicado como “X2” son capaces de tener un efecto significativo en la formación del arreglo de microagujas. Se eligieron estos 2 factores debido a que son capaces de reblandecer las microagujas, evitar el secado de estas y deformar el arreglo evitando

Tabla 8 Planteamiento de las variables y niveles del diseño de experimentos.

Variables independientes	Niveles codificados		
	-1	0	1
X1 D-Pantenol (mg)	50	100	150
X2 Propilenglicol (µL)	40	80	120

El valor de 0 se tomó de valores cercanos al ocupado en la película polimérica formada por el Kollicoat® MAE 100P y propilenglicol para los valores de -1 y 1 se tomaron de forma proporcional a la mitad del valor 0.

Para plantear el diseño de experimentos se decidió ocupar dos niveles, bajo y alto denotados por los valores codificados como “-1” y “1” indicados en la Tabla 8. Estos serán los límites que el diseño podrá abarcar durante la experimentación de la misma forma se ocupó el valor “0” para indicar los valores de D-Pantenol y propilenglicol usualmente ocupados en la formulación primaria.

Al hacer el diseño se obtuvieron 11 corridas apreciables en la Tabla 9 las cuales se sometieron a las diferentes pruebas (respuestas) y posteriormente se observaron sus valores de significancia de cada uno. El diseño se corrió en un solo bloque evitando de esta forma errores por factores externos como el día o analista y con el orden de los experimentos completamente aleatorizado esto aportó protección contra el efecto de variables ocultas.

Tabla 9 Corridas obtenidas al someter la formulación al diseño de experimentos.

Corrida	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
D-Pantenol	100	100	50	170.71	100	29.28	150	100	50	150	100
Propilenglicol	136.56	80	120	80	23.43	80	40	80	40	120	80

6.4.3 Elaboración de 1 arreglo de microagujas.

La metodología descrita es ajustable dependiendo de la cantidad de arreglos que se necesiten fabricar. La elaboración del arreglo de microagujas se realizó con la metodología descrita por Serrano-Castañeda et. al, 2021, describiéndose a continuación:

1. Verificar que el área de trabajo se encuentre limpia y el material en óptimas condiciones.
2. Pesar aproximadamente bien conocido los mg mencionados en la formulación en un vaso de precipitados.
3. Agregar agua desionizada suficiente para tener un volumen final de 3 mL al vaso de precipitados.
4. Con ayuda de un agitador magnético mantener en agitación constante durante 15 minutos.
5. Una vez la solución se encuentre totalmente homogeneizada tomar 1mL de la solución y colocarlo en el molde de arreglo de microagujas.
6. Colocar el molde a vacío durante 10 minutos.
7. Sacar del vacío y dejar secar durante 1 día.
8. Rellenar el molde hasta el volumen máximo y dejar secar.
9. Repetir el paso 8 hasta haber colocado 3 mL de la solución.
10. Una vez el arreglo se encuentre seco retirar del molde para su examinación.

6.4.4 Evaluaciones del diseño de experimentos.

Las pruebas necesarias para evaluar las microagujas consiste en su resistencia a la ruptura, sin embargo, la guía de parches transdérmicos publicada el 2015 por la secretaria de la salud y COFEPRIS establece que para asegurar la eficacia, seguridad e intercambiabilidad de las formulaciones transdérmicas se deben de realizar pruebas de adhesividad a la piel, sensibilización e irritación cutánea. En este caso en particular se desea conocer el efecto humectante, el pH y la pérdida de agua transepidermal que la formulación otorga por lo que las pruebas que se realizaron a los arreglos de microagujas fueron las siguientes:

1. Prueba de Bioadhesión.
2. Prueba de Bioadhesión post humectación.
3. Prueba de Resistencia a la ruptura.
4. Prueba de pH de la formulación.
5. Prueba de sensibilización e irritación cutánea.
6. Pérdida de agua transepidermal.
7. Prueba de Humectación.
8. Prueba de Liberación.

Para cada prueba se realizó la metodología específica descrita por el Dr. Serrano-Castañeda.

6.4.4.1 Prueba de bioadhesión.

1. Encender el texturómetro y abrir el programa.
2. Colocar el brazo con la parte posterior hacia arriba sobre la base.
3. Subir el pistón y colocar una cinta adhesiva de doble cara en la cara que tendrá contacto con el arreglo de microagujas.
4. Colocar el arreglo de microagujas en el brazo con la base hacia arriba donde ejercerá presión el pistón.
5. Bajar el pistón de manera que el arreglo se adhiera en la piel sin lastimar al usuario como se muestra en la Ilustración 19.
6. Iniciar prueba desde el programa.
7. Una vez finalizada la prueba se retira el arreglo del brazo si continúa adherido y retirar la cinta doble cara del pistón.

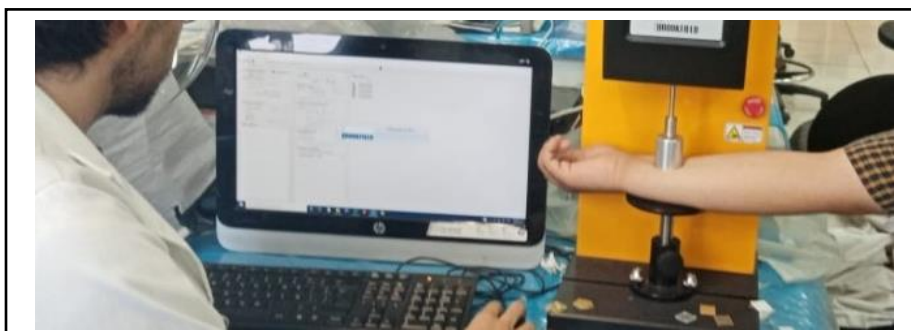


Ilustración 19 Ejemplificación de la posición correcta del brazo en prueba de bioadhesión.

6.4.4.2 Prueba de bioadhesión posthumectación.

1. Encender el texturómetro y abrir el programa.
2. Humectar el arreglo de microagujas con atomizador dando 3 rociadas a 30 cm de distancia para simular el sudor corporal y esperar 10 minutos como se muestra en la Ilustración 20.
3. Colocar el brazo con la parte posterior hacia arriba sobre la base.
4. Subir el pistón y colocar una cinta adhesiva de doble cara en la cara que tendrá contacto con el arreglo de microagujas.
5. Colocar el arreglo de microagujas en el brazo con la base hacia arriba donde ejercerá presión el pistón.
6. Bajar el pistón de manera que el arreglo se adhiera en la piel sin lastimar al usuario.
7. Iniciar prueba desde el programa.
8. Una vez finalizada la prueba se retira el arreglo del brazo si continúa adherido y retirar la cinta doble cara del pistón.



Ilustración 20 Ejemplificación del proceso de humectación.

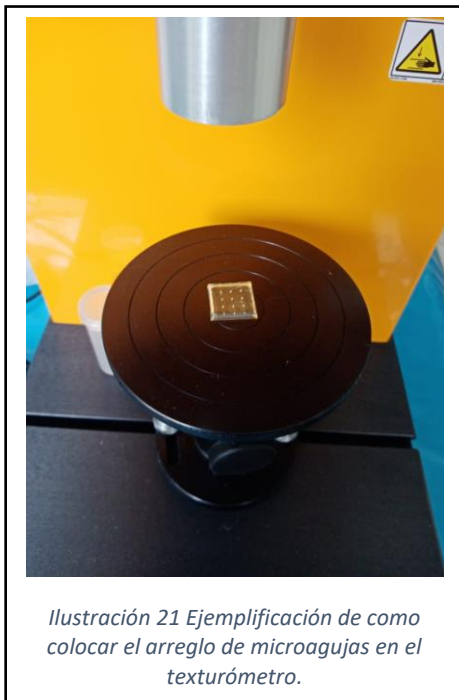


Ilustración 21 Ejemplificación de como colocar el arreglo de microagujas en el texturómetro.

6.4.4.3 Prueba de resistencia a la ruptura.

1. Encender el texturómetro y abrir el programa.
2. Colocar el arreglo de microagujas en la base de forma centrada en donde va a bajar el pistón como se ve en la Ilustración 21.
3. Iniciar prueba desde el programa.
4. Una vez finalizada la prueba retirar el arreglo de la base y limpiar residuos.

6.4.4.4 Prueba de pH.

1. Conectar el Skin pH meter (Ilustración 22) a la computadora y abrir el programa.
2. Destapar el Skin pH meter y colocar el sensor del aparato en la base del arreglo.
3. Presionar el botón del Skin pH para tomar el pH.
4. Realizar por triplicado.
5. Registrar y sacar promedio de las mediciones.
6. Evaluar el pH obtenido tomando en cuenta que la regeneración de una herida abierta es acelerada en pH cercanos a 7 y el manto ácido protector de la piel maneja un pH de entre 4.5 – 5.75



6.4.4.5 Prueba de eritema.

1. Colocar el arreglo de microagujas en la parte anterior del brazo durante 1 hora.
2. Conectar el Mexameter (Ilustración 23) a la computadora y abrir el programa.
3. Destapar el Mexameter y colocar el sensor en la parte anterior del brazo donde no tuvo contacto el arreglo.
4. Presionando el botón medir el nivel de eritema de la piel sana del usuario y registrar.
5. Retirar el arreglo de microagujas y colocar el sensor en el área donde estuvo el arreglo.
6. Presionando el botón medir el nivel de eritema.
7. Registrar y restar al valor de la piel sana.
8. Clasificar el resultado dependiendo de la Tabla 10.

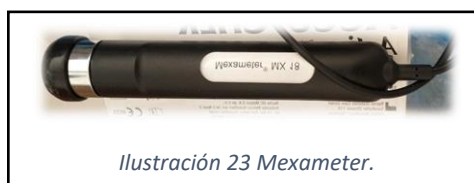


Tabla 10 Valores de comparación de eritema.

Intervalo marcado	Daño de eritema
0-170	No eritema
170 – 330	Eritema mínimo
330 – 450	Enrojecimiento difuso
450 – 570	Alto eritema
>570	Eritema extremo

6.4.4.6 Prueba de TEWL (pérdida de agua transepidermal).

1. Colocar el arreglo de microagujas en la parte anterior del brazo.
2. Conectar el Tewameter (Ilustración 24) a la computadora y abrir el programa.
3. Destapar el Tewameter y colocar el sensor en la parte anterior del brazo donde no tuvo contacto el arreglo.
4. Presionando el botón medir el nivel de pérdida de agua transepidermal de la piel sana del usuario y registrar.
5. Colocar el sensor en la base del arreglo ubicado en el brazo.
6. Presionando el botón medir y registrar el nivel de pérdida de agua transepidermal.
7. Comparar al valor de la piel sana con el valor con el parche.
8. Clasificar el resultado dependiendo de la Tabla 11.



Ilustración 24 Tewameter.

Tabla 11 Valores de comparación de la pérdida de agua transepidermal.

Intervalo marcado ($g \cdot h \cdot m^3$)	Pérdida de agua transepidermal
0-10	Muy saludable
10 – 15	Saludable condición
15- 25	Piel tensa
>30	Condición crítica

6.4.4.7 Prueba de humectación.

1. Colocar el arreglo de microagujas en la parte anterior del pazo durante 1 hora.
2. Conectar el corneometer (Ilustración 25) a la computadora y abrir el programa.
3. Destapar el corneometer y colocar el sensor en la parte anterior del brazo donde no tuvo contacto el arreglo.
4. Presionando el botón medir y registrar el nivel de humectación de la piel sana del usuario.
5. Retirar el arreglo de microagujas y colocar el sensor en el área donde estuvo el arreglo.
6. Presionando el botón medir el nivel de humectación y registrar la humectación de la zona que tuvo contacto con el arreglo.
7. Restar al valor de la piel sana al valor de la humectación.
8. Clasificar el resultado dependiendo de la Tabla 12.



Ilustración 25 Corneometer.

Tabla 12 Valores de comparación de humectación.

Intervalo marcado	Nivel de humectación
<30	Muy seco
30 – 40	Seco
>40	Suficientemente humectado

6.4.4.7 Prueba de liberación.

1. Encender y dejar calentar el foco del espectrofotómetro durante 30 min.
2. Llenar de agua el aparato disolutor USP tipo II (Ilustración 26) y ajustar la temperatura a 37°C.
3. Agregar a los vasos del disolutor 500mL de solución buffer de fosfatos pH = 7.4.
4. Colocar los aditamentos que dejan expuesta solo una cara del arreglo de microagujas.
5. Ajustar las revoluciones del aparato a 50 rpm.
6. Realizar un muestreo tomando 2mL a los tiempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 210, 240, 270 y 300 min.
7. Leer las muestras ocupando en método analítico presente en el anexo 3.



Ilustración 26 Aparato disolutor USP tipo II.

6.4.5 Optimización de la formulación.

1. Abrir el programa Statgraphics.
2. Añadir los valores obtenidos en las pruebas.
3. Realizar el análisis de los resultados.
4. Ajustar los valores de las respuestas tratando de tener el nivel más alto de deseabilidad.
5. Anotar la formulación óptima dada por el sistema.

6.4.6 Caracterización física y química de la formulación.

La caracterización de la formulación óptima describe las propiedades exactas que esta tiene y contempla su reproducibilidad reflejado en la prueba de peso promedio, los procesos de liberación controlada está limitada por la liberación y los procesos de difusión del fármaco a través del arreglo y a través de la piel (Mistilis M, Bommarius A, Prausnitz M, 2015) debido a esto en la caracterización se contempla el contenido químico, la liberación, la determinación de la cinética de liberación y la permeabilidad *in vivo* a través de la piel.

6.4.6.1 Determinación de bioadhesión, bioadhesión posthumectación, resistencia a la ruptura, pH, eritema, TWEL, humectación y liberación.

Realizar por triplicado las pruebas indicadas en la metodología del apartado 6.4.4.1 al 6.4.4.7.

6.4.6.2 Determinación de peso.

1. Conectar la balanza analítica.
2. Verificar que se encuentre en óptimas condiciones y calibrar.
3. Colocar 1 arreglo de microagujas.
4. Registrar el peso de este.
5. Realizar por triplicado los pasos 3 y 4.
6. Calcular su promedio desviación estándar y %CV.

6.4.6.3 Examinación debajo microscopía óptica.

1. Conectar el microscopio.
2. Cortar una aguja del arreglo y colocarla en una portamuestra.
3. Colocar el portamuestra en el microscopio y proceder con la observación con el lente de menor aumento.
4. Ajustar la Ilustración 27 hasta tener una visión nítida de la aguja.
5. Cambiar la lente a una de mayor aumento y repetir hasta el aumento máximo
6. Fotografiar.
7. Quitar la muestra y guardar el equipo.



6.4.6.4 Determinación de la cinética de liberación de ceftriaxona en el arreglo de microagujas.

1. Encender y dejar calentar el foco del espectrofotómetro (Ilustración 27) durante 30 min.
2. Llenar de agua el aparato disolutor USP tipo II y ajustar su temperatura a 37°C.
3. Agregar a los vasos del disolutor 500mL de solución buffer de fosfatos pH = 7.4.
4. Colocar los aditamentos que dejan expuesta solo una cara del arreglo de microagujas.
5. Ajustar las revoluciones del aparato a 50 rpm.
6. Realizar un muestreo tomando 2mL a los tiempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 40, 50, 60, 80, 100, 120, 150, 180, 210, 240, 270 y 300 min.
7. Leer las muestras ocupando en método analítico del anexo 3.
8. Ajustar los valores obtenidos en la liberación con respecto a la ecuación de Peppas, Higuchi y sinéctica 0 y 1.

6.4.6.5 Determinación de contenido químico.

Realizar la metodología descrita en el anexo “Validación del método analítico para cuantificación de ceftriaxona en microagujas poliméricas de 20 mg mediante el uso espectrofotometría UV/Visible”.

1. Disolver 1 arreglo en 10 mL de metanol.
2. Llevar a un volumen de 25mL con agua destilada.
3. Tomar 2 mL de la solución anterior y aforar a 25 mL.
4. Leer en el espectrofotómetro a 274 nm.
5. Realizar esta prueba por triplicado.
6. Calcular el promedio, desviación estándar y %CV.

6.4.6.6 Estudio *in vitro* de permeación a través de piel animal de ceftriaxona en el arreglo de microagujas.

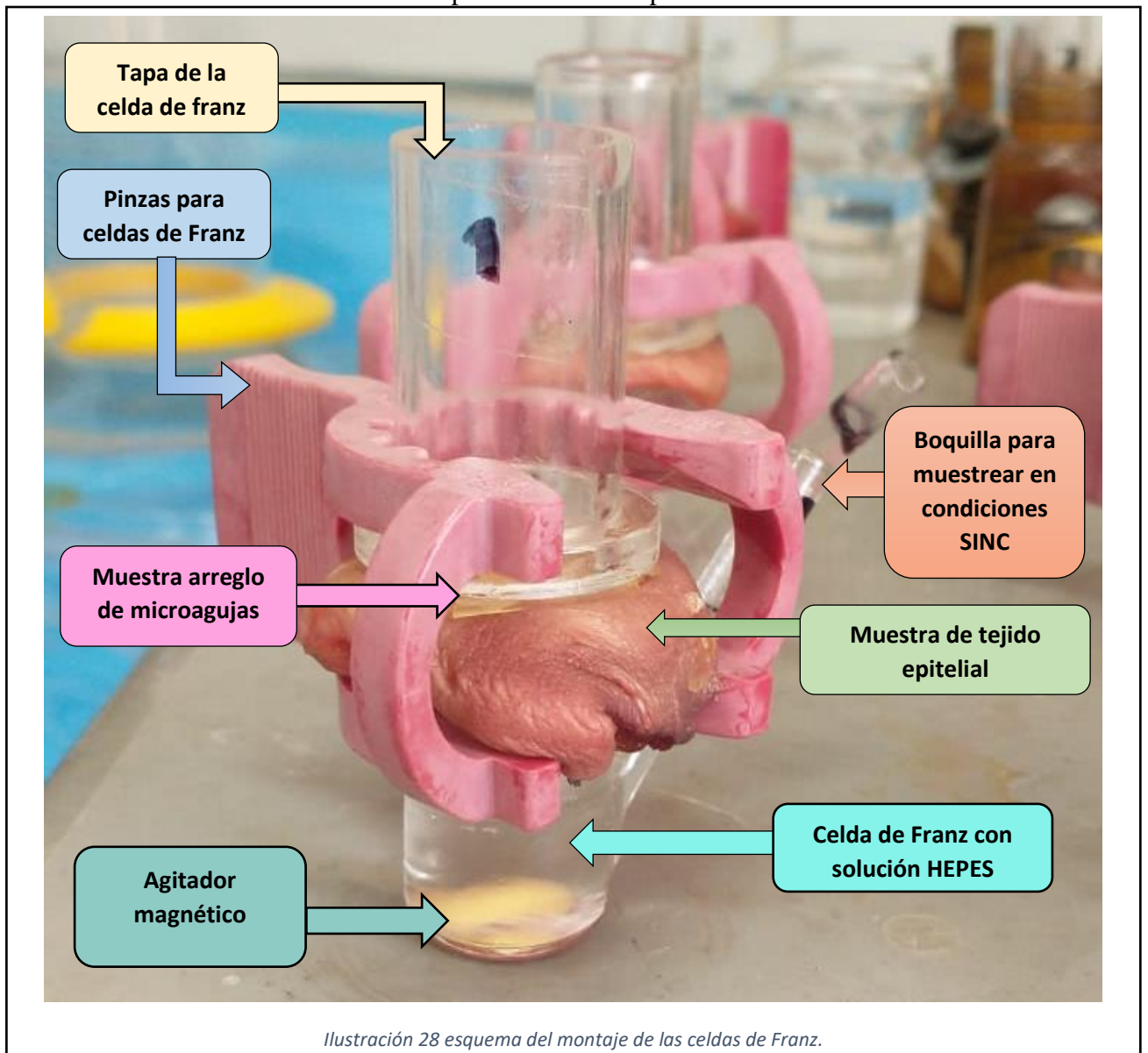
6.4.6.6.1 tratamiento de la piel animal.

La piel obtenida fue parte de una donación médica la cual fue congelada para su preservación.

1. Con ayuda de un bisturí cortar y remover la grasa adiposa que se encuentra pegada a la piel.
2. Cortar cuadrados en la piel de 3.2 x 3.2 cm.
3. Guardar en papel aluminio paquetes de 8 cuadros.

6.4.6.2 Estudio *in vitro* mediante el uso de celdas verticales tipo Franz.

1. Sacar la piel del congelador.
2. A cuatro cuadros de piel realizarle 3 raspados de forma ascendente, descendente y a los laterales que simulen piel dañada.
3. Colocar 3 parches cargados y 1 de placebo sobre los cuadros de piel herida y 3 cargados y 1 placebo en piel sana.
4. Poner una barra magnética pequeña dentro de la celda de Franz.
5. Colocar los cuadros de piel sobre la celda de Franz y colocarles la tapa como se muestra en la Ilustración 28.
6. Llenar las celdas de Franz con buffer de HEPES pH=7.2 como se muestra en la Ilustración 28.
7. Colocar las celdas en agitación constante a 37°C.
8. Tomar muestras de 2 mL a las 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30 y 36 horas.
9. Leer las muestras a 274 nm ocupando la muestra placebo como blanco.



7. Resultados y análisis de resultados.

7.1. Resultados de la Preformulación.

Una formulación de un arreglo de microagujas poliméricas está compuesta mayoritariamente por un plástico polimérico este puede corresponder del 60 al 99% de una formulación, teniendo en cuenta que el polímero se encuentra en mayor proporción con respecto a otros principios activos este puede imponer ciertas características en las agujas formadas.

Se buscó que los arreglos formados con respecto a las formulaciones de la Tabla 7 fueran capaces de retirarse de su molde sin pérdidas de agujas, así mismo que soportarán la manipulación sin que se quebraran las agujas y que fueran capaces de resistir la fuerza necesaria para su aplicación en la piel.

El arreglo está pensado para ayudar en la regeneración tisular en laceraciones profundas y poco profundas esto incluye los daños por quemaduras e incluso en el caso de heridas crónicas causadas por enfermedades como la diabetes. La necesidad ayudar a los pacientes con estos daños en la piel hace que sea una necesidad el poder disminuir el nivel de eritema en la zona dañada y de igual forma incrementar la humedad del lecho, así como aumentar la velocidad de agregación y cierre de la herida. Por último, la formulación no debe tener interacciones con el principio activo, en este caso ceftriaxona.

Conociendo las necesidades del arreglo de microagujas se puede dividir en 3 factores clave que requiere la formulación. El cuerpo de arreglo dado por el polímero y su respectivo plastificante, los factores de regeneración compuestos por colágeno y D-Pantenol que ayudarán de forma directa en la regeneración de nuevo tejido en las heridas y el principio activo (Ceftriaxona) el cual será encargado de proteger las heridas de una posible infección, así como un agente antioxidante que evite la oxidación de este.

Para la selección del polímero y plastificante se evaluaron diferentes películas cuya combinación de los excipientes se muestra en la Tabla 7.

Se seleccionó la formulación de Kollicoat® MAE 100P con propilenglicol debido a que estas formaron una película incolora, no se deformó ni se deshidrató, además fue capaz de generar microagujas resistentes al tacto.

La formulación se probó ocupando los factores de regeneración y el principio activo obteniendo así un arreglo de microagujas translúcidas ligeramente amarillentos resistentes al tacto y sin presencia de interacciones entre sus componentes.

7.2. Resultados y discusión del diseño de experimentos.

Las 11 formulaciones mostradas en la Tabla 9 del método experimental fueron probadas en 11 diferentes corridas realizándose por triplicado y obteniendo los resultados de la Tabla 13, en esta tabla se pueden observar las diferentes variaciones en cuanto a las características físicas y químicas.

Tabla 13 Resultados de las pruebas del diseño de experimentos.

Prueba	Número de formulación										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Bioadhesión (g. F.)	862	833.5	876.5	854	539	557	572	572	572	518	420
Bioadhesión posthumectación (g. F.)	450	453	500	750	500	907	1100	860	868	560	570
Resistencia a la ruptura (g. F.)	316.5	393.5	329	393	404	466.5	372.5	341	440	311.5	431
pH	5.29	4.64	5.52	4.41	6.31	5.99	5.11	4.67	7.4	5.83	5.77
Eritema	108.6	33	41.33	53	20.66	35	35.66	104	25	8	-51
Humectación	3.46	3.83	3.8	0.56	1.26	1.6	0.4	1.36	6.26	3.26	3.6
TEWF (g*h*m ³)	3.46	3.83	3.8	0.56	1.26	1.6	0.4	1.36	6.26	3.26	3.6
Liberación (%)	9.97	8.87	7.8	9.2	8.02	9.41	8.64	8.2	7.89	4.54	5.5

7.2.1 Factores que muestran un efecto significativo en el diseño de experimentos.

Los resultados de cada prueba de las 11 formulaciones mostradas en la Tabla 13 se analizaron de forma estadística con la prueba de ANOVA ocupando un alfa del 0.05% de tal forma que para que se considere que un factor cuenta con un efecto significativo para cierta prueba este debe tener un valor de P menor a 0.05 de no ser el caso se considera que el factor no tiene ningún impacto (Prieto L, Hernandez I, 2015).

El variar las cantidades de los factores generaron variaciones en los resultados de las pruebas en las 11 formulaciones como se puede ver en la Tabla 14 sin embargo, de entre estos cambios los factores que tuvieron una alteración estadísticamente significativa fueron el D-Pantenol y el Propilenglicol alterando el pH y la resistencia a la ruptura respectivamente.

La Tabla 14 muestra los valores de P de los factores A: D-Pantenol y B: Propilenglicol, así como su combinación y su efecto cuadrático, los valores menores a 0.05 están resaltados de color negro.

Tabla 14 Resumen del valor de probabilidad de las variables de respuesta significativas con respecto a los factores estudiados para la formulación Kollicoat® MAE 100P.

	Valores de P							
Fuente	Bioad.	Bioad. Posth.	Resis. Rupt.	pH	Eritema	TEWL	Humecta -ción	Libera -ción
A	0.91	0.91	0.12	0.03	0.98	0.15	0.72	0.72
B	0.24	0.16	0.03	0.12	0.51	0.48	0.08	0.08
AA	0.70	0.21	0.43	0.38	0.96	0.50	0.83	0.83
AB	0.38	0.70	0.51	0.05	0.71	0.16	0.37	0.37
BB	0.73	0.60	0.20	0.06	0.65	0.84	0.94	0.93

7.2.1.1 Resultado del diseño de experimentos: Prueba de resistencia a la ruptura.

La resistencia a la ruptura es un parámetro crítico de calidad de este depende directamente la capacidad de las agujas de penetrar la dermis y entregar al fármaco a su sitio de absorción.

En la formulación el uso de un plastificante es necesario para incrementar la plasticidad del arreglo y disminuir su fragilidad aumentando la resistencia de la aguja, el uso del propilenglicol en las formulaciones farmacéuticas como plastificante es recomendado por su gran compatibilidad con polímeros, sin embargo de excederse con la cantidad de propilenglicol el polímero pierde por completo su rigidez lo que provoca que el polímero sea muy flexible y el arreglo generado no conserve su forma y no logre penetrar la piel (Barel A, Paye M, Maibaich H, 2006).

En la formulación piloto se ocuparon valores de 75 μ L de propilenglicol y en las pruebas se ocuparon valores desde 40 hasta 136.56 μ L lo que generó en las cantidades mayores a 80 μ L un exceso de plastificante que provocó una falta de firmeza y una apariencia viscosa.

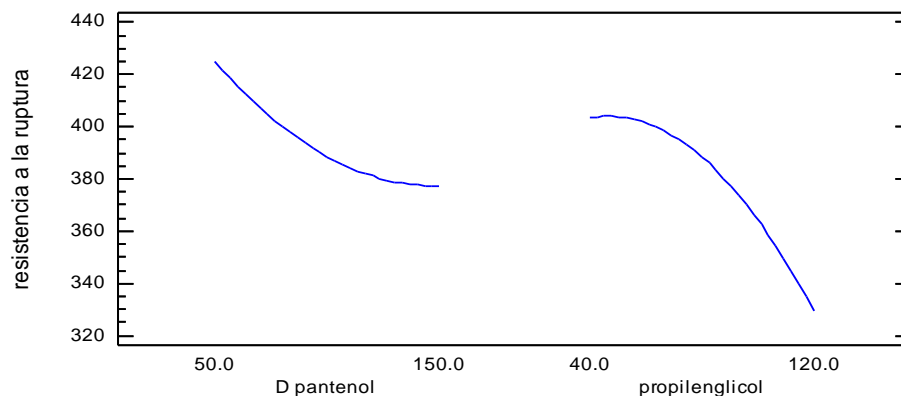


Ilustración 29 Gráfica de Efectos principales para resistencia a la ruptura.

La Ilustración 29 muestra que aun cuando el principal problema de la dureza de las agujas es causado por el propilenglicol el D-Pantenol al ser una sustancia viscosa que absorbe humedad del medio ambiente generaron que la formulación tardara más en secar y perdiera su resistencia por lo que al sumar los factores del D-Pantenol y el propilenglicol hacen que sus valores medios y máximos quedaran con la consistencia no deseada.

7.2.1.2 Resultado del diseño de experimentos: Prueba de pH.

Esta prueba evalúa la acidez que se tienen los arreglos debido a que al ser una formulación transdérmica para el daño tisular se necesita que tenga un pH que no interfiera con la regeneración de esta (Orlandi, 2004). En heridas abiertas el pH observado es de 7.15 a 8.9 mientras que de la dermis es de 7 a 7.2 cuando se tienen valores cercanos a 7 la regeneración se ve incrementada en las primeras 2 fases de la regeneración hasta llegar la reepitelización donde la herida se cierra y recupera el pH de la epidermis el cual es de 5.5. Se desea que la formulación maneje pH cercanos a 7, sin embargo, un pH cercano a 5.5 beneficiaría a la piel al contar con un recubrimiento que cumpla funciones bactericidas. La Ilustración 30 nos habla de que al aumentar la cantidad de D-Pantenol en la formulación el pH de esta descende lo que genera un valor de pH de 4.7 en el peor de los casos.

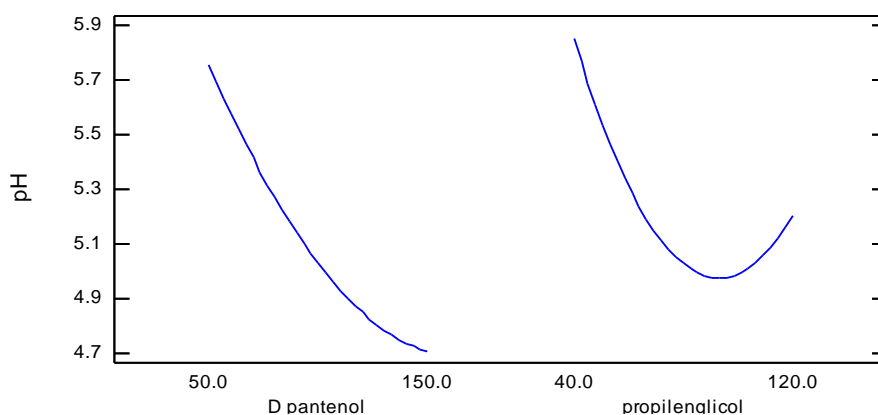


Ilustración 30 Gráfica de Efectos principales para pH.

La acidificación de la formulación a causa del D-Pantenol es generado por el humectante ocupado, este excipiente es una provitamina cuya estructura es mostrada en la Ilustración 31, durante su activación sufre de un proceso de oxidación a causa del medio acuoso donde se disuelven todos los excipientes, esta reacción de oxidación genera que el alcohol sea transformado en un ácido carboxílico alterando su estructura como se puede ver en la Ilustración 31 y generando que el D-Pantenol se convierta en el ácido pentanoico el cual es la forma activa de la vitamina por lo mismo el pH baja a mayor sea la cantidad de D-Pantenol ocupado ya que es transformado en ácido pentanoico.

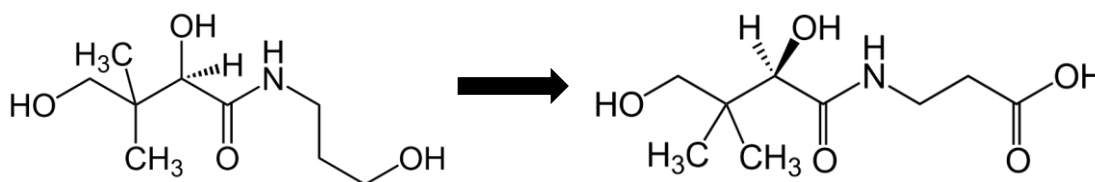


Ilustración 31 Reacción de oxidación y activación de D-Pantenol a ácido pentanoico.

7.2.2 Formulación óptima.

Apoyado con los datos de la optimización y tomando en cuenta los factores que conlleva una herida por quemadura se procedió a ajustar los valores de la deseabilidad con respecto a las características que se quisieron del arreglo (Tabla 15) y con esto se pudieron establecer los valores optimizados para la formulación con una deseabilidad de 0.7 (Tabla 16).

Tabla 15 Metas elegidas para aumentar la deseabilidad de la formulación óptima.

	Deseabilidad		Deseabilidad
Respuesta	Baja	Alta	Meta
Bioadhesión	420	876.5	530
Eritema	0	108.6	0
Humectación	33.4	99.3	100
Liberación	4.5	8	0
pH	4.41	7.4	5
Resistencia a la ruptura	311.5	466.5	500
TEWF	0.4	6.2	3.3
Bioadhesión posthumectación	450	1100	700

La Tabla 16 muestra los valores óptimos obtenidos en el diseño de experimentos para los factores estudiados, estos valores fueron otorgados por el software estadístico statgrafics tomando en cuenta el valor de la deseabilidad con base en las directrices de Harrington, dando un valor “Aceptable y bueno” (Rudnykh S, López V, 2018).

Tabla 16 Optimización de los factores para la formulación.

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
D-pantenol (g)	29.2893	170.711	64.0477
Propilenglicol(μL)	23.4315	136.569	73.7304
Deseabilidad = 0.7402			

Los g y μL mostradas en la Tabla 16 representan la cantidad de humectante y plastificante contenidas en 1 arreglo de microagujas, al momento de preparar un lote de estas, para la elaboración de un lote de 13 arreglos se ocuparon proporciones porcentuales de la formulación como se muestra en la Tabla 17 tomando en cuenta que el agua para solubilizar la formulación no forma parte de la forma farmacéutica final.

Tabla 17 Formulación óptima.

Formulación óptima	
Ceftriaxona	2.8%
D-Pantenol	8.8%
Colágeno	19.3%
Polímero	69%
Propilenglicol	0.01%
Metabisulfito	0.15%

7.3. Resultados y discusión de la caracterización física y química de la formulación.

7.3.1. Caracterización física de la formulación.

7.3.1.1. Apariencia, uniformidad de peso y área total.

Tabla 18 Pesos registrados para cada arreglo.

Peso promedio	
Núm. Arreglo	Peso (g)
1	0.8892
2	0.8866
3	0.9120
4	0.9150
5	0.9101
6	0.8880
7	0.8106
8	0.8695
9	0.8562
10	0.9004
11	0.9022
12	0.8606
13	0.9143
Promedio	0.8892
Desv. Std	0.03
%CV	3%

Se realizaron un total de 13 arreglos de microagujas y estos fueron pesados obteniendo los resultados mostrados en la Tabla 18. El peso promedio de cada arreglo es de 0.8892g tendiendo una desviación estándar del 0.030101 y %CV del 3% señalando que se tiene un método de fabricación robusto y reproducible.

Se puede observar en la Ilustración 32 uno de los arreglos de microagujas finalizado antes de que se le realizasen las pruebas correspondientes optimizado, en esta se puede percibir sus características físicas más notables como su color el cual es translucido con una tonalidad ligeramente amarillenta debido al principio activo y no emite ningún olor.

El arreglo cuenta con firmeza suficiente para retirarse del molde sin perdidas de agujas y resiste la manipulación, posee una base igual de firme de un grosor aproximado de 2 mm y un alto y largo de 2 cm * 2 cm, aunque al ser fabricado mediante la técnica de micro moldeado puede adaptarse a cualquier tamaño o forma dependiendo del molde que se elija.

Estructuralmente cada aguja cuenta con una altura total de 500 μm y cuenta con una forma cónica.

El diseño de las agujas estuvo preestablecido por el molde y este a su vez por anteriores investigaciones por parte del Doctor Escobar Chávez que comprobaron su efectividad para atravesar la piel.

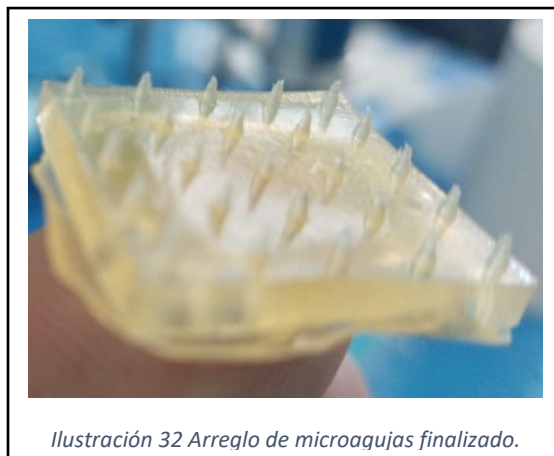


Ilustración 32 Arreglo de microagujas finalizado.

7.3.1.2. Microscopia 100X.

La forma de las agujas que el arreglo es capaz de realizar es un parámetro crítico de calidad de este dependen características básicas como es el poder penetrar la piel de forma no invasiva en esta prueba se puede confirmar características como lo es el grueso y el largo de las agujas formadas y si la formulación es capaz de retirarse del molde sin perder agujas en el proceso.

Se considera que pasa la prueba si la aguja en cuestión está completa, no tiene deformidades o esta chata y si es capaz de salir del molde sin romperse debido a que de ser el caso las se dificultarían su utilización y la penetrabilidad que estas tienen en la piel.

Se retiraron las agujas de 3 parches diferentes del mismo lote y se observaron en el microscopio a 10X, 40X y 100X teniendo una imagen como se observa en la Ilustración 33, el arreglo formado se compone de agujas con forma de cono con una punta definida y un largo de 500 μm .



Ilustración 33 Fotografía de una aguja a 100X.

7.3.1.2. Resistencia a la ruptura.

La fractura es la separación o fragmentación de un sólido a causa de una fuerza externa (Velázquez, 2004) esta fuerza tiene por nombre fuerza de fractura. La resistencia a la ruptura se refiere a la fuerza que opone el objeto ante la fuerza de fractura y en el caso de las microagujas es un atributo crítico de calidad debido a la necesidad que estas tienen para poder atravesar el estrato córneo sin que estas se rompan.

En el caso de las heridas expuestas el arreglo no tiene la necesidad de atravesar la epidermis, sin embargo, en el caso de las quemaduras las lesiones pueden tener una capa de piel dañada que si bien no es piel necrótica tiene una menor permeabilidad que la piel normal por lo que en estos casos el arreglo necesita poder atravesar el epitelio dañado para entregar la ceftriaxona a su sitio de acción.

Tabla 19 Gramos fuerza necesarios en promedio para generar una ruptura en la formulación óptima.

Resistencia a la ruptura	
Núm.	g fuerza
1	385
2	371
3	387
Promedio	385
Desv. Std	8.71
%CV	2%

La fuerza necesaria para penetrar la piel en perfectas condiciones según estudios de calidad de las agujas es de 8 gramos fuerza (Makvandi P, Kirkby M, Hutton A, Shabani M, Yiu C, Baghbantaraghdari Z, Donnelly F, 2021). Al comparar la resistencia obtenida en la Tabla 19 se observa que este supera por mucho la fuerza necesaria para lograr la penetración en la piel, la formación de flictenas en las quemaduras de segundo grado promueve la proliferación de infecciones el retirar las ampollas cuando son de un gran tamaño es necesario para la curación, la ruptura del epitelio dañado mediante el uso de los microcanales formados por las agujas permite la filtración del líquido ayudando así la regeneración.

7.3.1.3. Bioadhesión.

La fuerza cohesiva es la fuerza interna que tiene un adhesivo y nos permite medir la capacidad de una sustancia de resistir la separación a un área u objeto, a mayor sea esta fuerza necesaria para que esta sustancia se separe mayor será la adhesión de la sustancia (Miravete, 2002). Los arreglos de microagujas deben poseer la capacidad de fijarse en la piel tanto por la fuerza mecánica que ejercen las microagujas, así como por las propiedades químicas de la formulación. La adhesión confiere al arreglo la capacidad de quedarse fijo sobre un área determinada y evita que este se retire de forma accidental con algún movimiento brusco.

Tabla 20 Fuerza de adhesión promedio obtenida en la formulación óptima.

Bioadhesión	
Núm.	g fuerza
1	504.5
2	510.5
3	514.5
Promedio	510.5
Desv. Std	5.03
%CV	1%

En anteriores investigaciones la fuerza mínima necesaria para que un arreglo se quede fijo en la piel es de 200 gramos fuerza (Rios, 2019) como podemos observar en la Tabla 20 la adhesión del arreglo óptimo es de 510.5 g fuerza por lo que se infiere que el arreglo tiene propiedades adhesivas, esto lo podemos atribuir al propilenglicol que si bien no tiene un efecto significativo en conjunto con el polímero metacrílico y el colágeno aumentan la adhesión como se puede ver en la Ilustración 34.

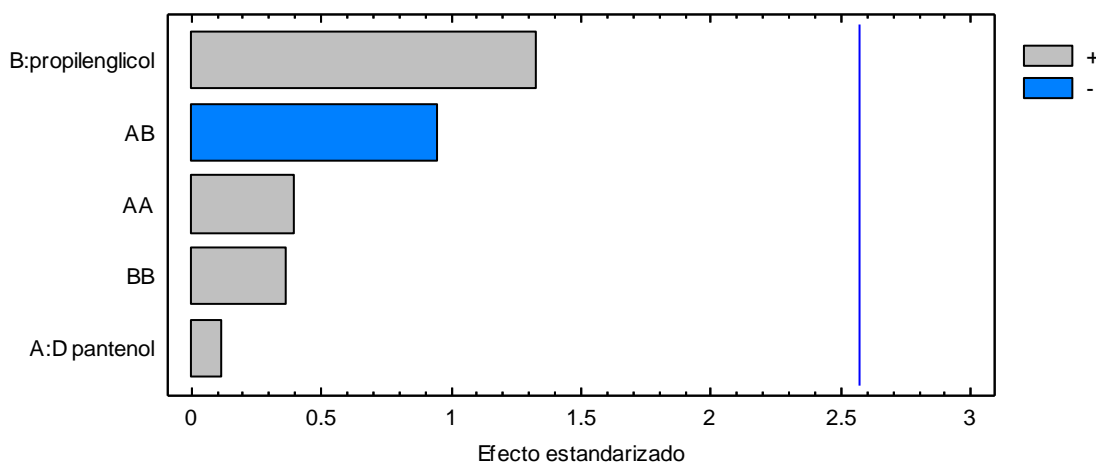


Ilustración 34 Diagrama de Pareto estandarizada para bioadhesión.

7.3.1.4. Bioadhesión posthumectación.

La transpiración es una función que lleva a cabo la piel en la cual el cuerpo libera sudor y reduce la temperatura corporal, sin embargo, este sudor puede generar que el arreglo se humedezca y pierda o gane fuerza su adhesión por lo que evaluar la adhesión bajo este contexto es necesario para evaluar su posible función en pacientes reales.

Tabla 21 Fuerza de adhesión post humectación promedio obtenida en la formulación óptima.

Bioadhesión post humectación	
Núm.	g fuerza
1	628
2	630.5
3	639.5
Promedio	630.5
Desv. Std	6.05
%CV	1%

Como se puede observar en la Tabla 21 la adhesión del arreglo fue afectada de forma positiva al aumentar su adhesión de 510.5 g fuerza a 630.5 gramos fuerza, este aumento en su adhesión se debe al D- pantenol ya este al humectarse recobra un poco de su adhesión original. Sin embargo, este valor solo se suma a las propiedades antes dichas ya que por sí solo no es capaz de dar un efecto significativo como lo podemos ver en la Ilustración 35.

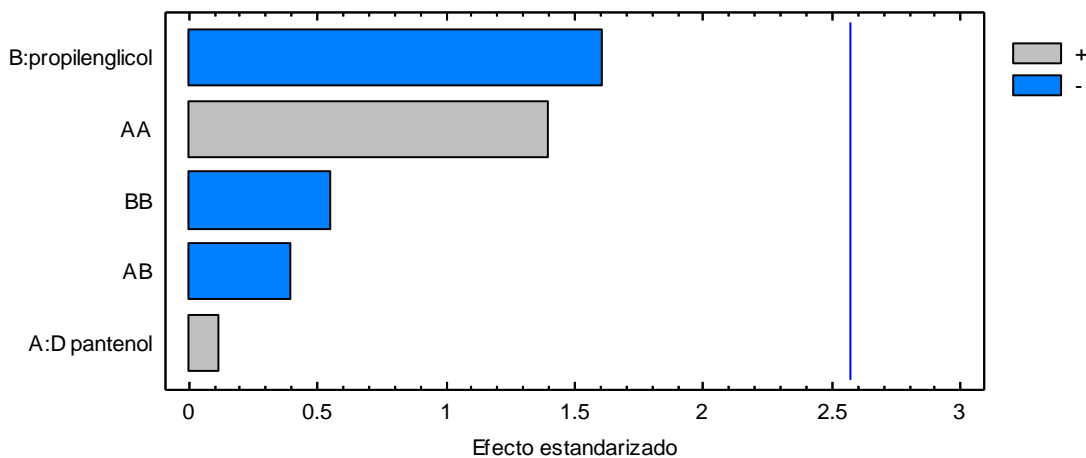


Ilustración 35 Diagrama de Pareto estandarizada para bioadhesión post humectación.

7.3.1.5. pH.

El potencial de hidrógeno o pH es un coeficiente que indica la capacidad de una sustancia de ionizarse y simboliza el grado de acidez de una sustancia (Christian, 2009). El pH en la piel tiene la importante tarea de neutralizar agentes agresivos, así como inhibir el crecimiento de bacterias y generar el medio para la flora de la piel. Si el pH de la piel se vuelve alcalina no se podrán sintetizar lípidos esenciales de la epidermis y la piel pierde agua provocando una deshidratación (Cristóbal, 2018), en el caso contrario si la piel adquiere propiedades ácidas se produce inflamación y enrojecimiento de la piel.

La piel en un estado saludable tiene un pH que ronda de los 4.5- 5.75 (Eucerin, 2022) este pH ligeramente ácido se debe al manto ácido de la piel que recubre y protege de bacterias. Cuando se tiene una herida abierta el pH pasa de ser de la piel al tejido que se encuentra en el lecho de la herida, existen estudios como el de “Early and Sequential Punch Grafting in the Spectrum of Arteriopathy Ulcers in the Elderly”, “Ulcerative necrobiosis lipoidica diabetorum successfully treated with topical sevoflurane and punch grafting” y “Efficacy and safety of a rosehip seed oil extract in the prevention and treatment of skin lesions in the hands of patients with type 1 diabetes mellitus caused by finger prick blood glucose monitoring; a randomized, open-label, controlled clinical trial” los cuales mencionan que en casos de heridas abiertas el pH es de 7.15 – 8.9 y a medida que estas se van curando su acidez va disminuyendo por la recuperación del manto ácido.

Como se mostró en los resultados D-Pantenol confiere una propiedad ácida al pasar de provitamina a vitamina y esto genera que el pH baje hasta 4.85 como se muestra en la tabla 22 el cual si bien es muy bajo para una formulación tópica en el caso del arreglo puede actuar como la mencionada capa protectora que junto a la ceftriaxona evita la proliferación de bacterias.

Tabla 22 pH promedio obtenido en la formulación óptima.

pH	
Núm.	pH
Valor de piel	5.34
1	4.93
2	4.85
3	4.77
Promedio	4.85
Desv. Std	0.08
%CV	2%

7.3.1.6. Eritema.

Cuando existe algún factor externo o interno que provoque el estrés o la muerte celular, las células inflamatorias se acumulan en la zona afectada causando un enrojecimiento, un aumento en la temperatura y en general una sensación de incomodidad a este proceso se le llama eritema (Mascaro, 2017).

El nivel del eritema es un indicador de la irritación de la piel y puede ser un impedimento en formulaciones que se administren de forma tópica debido al daño que producen, en el caso de las quemaduras la piel se encuentra afectada, es muy sensible a los cambios de pH, salinidad, humedad, etc. provocando incomodidad y ardor en la zona afectada (Gemoll W, Vretska K, 2017).

Las formas farmacéuticas que se aplican en la piel como es el caso de las cremas, geles, ungüentos etc. tratan de ser lo menos abrasivos con la piel, sin embargo, el funcionamiento de las microagujas depende de poder generar micro abrasiones en la epidermis al momento de perforar esta capa, el daño generado es mínimo al compararlo con el daño que puede generar una herida por lo que el aumento del eritema es un factor crítico de calidad ya que no se busca generar un daño severo al momento de aplicarse la formulación (Pizarro, 2019).

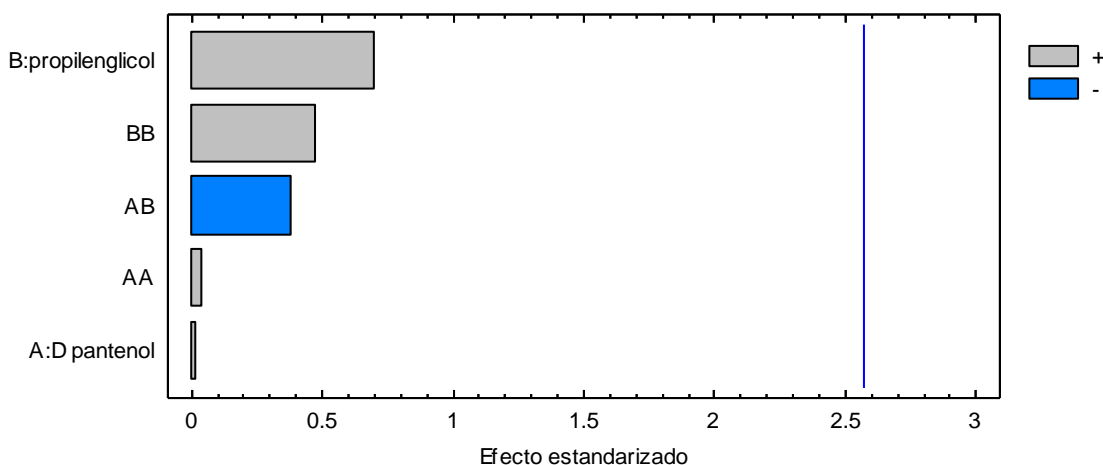


Ilustración 36 Diagrama de Pareto estandarizada para eritema.

El arreglo optimizado tiene en su formulación el D-Pantenol y el propilenglicol que ayudan a bajar el nivel de eritema de la piel esto respaldado por el diseño de experimentos como se muestra en la Ilustración 36 en esta se ve como el D-Pantenol en conjunto con el propilenglicol bajan el nivel de eritema en la formulación (Barel A, Paye M, Maibaich H, 2006).

Para el correcto uso del mexameter se hace uso de la Tabla 23 que muestra de referencias con el valor de eritema que se tiene en la piel dependiendo de la raza, este valor se resta al valor que se toma después de usarle la formulación para mostrar el verdadero cambio en el eritema de la piel.

Tabla 23 Daño tisular causado en promedio por la formulación óptima.

Eritema			
Núm.	valor de la piel	Eritema	valor real
1	221	189	-32
2	221	188	-33
3	221	187	-34
Promedio		188	-33
Desv. Std		1	1
%CV		1%	-3%

Se puede observar en la Tabla 23 el valor de eritema original en la piel antes de la aplicación, así como el valor después de aplicarse la formulación mostrando que las microagujas bajan el valor de eritema esto nos indica que al momento de aplicarse en las quemaduras y heridas en general bajara el eritema y de la misma forma la incomodidad e irritación del usuario.

7.3.1.7. Pérdida de agua transepidermal.

La pérdida de agua transepidermal (TEWL) es un proceso natural que lleva a cabo el estrato córneo, es un proceso pasivo en el cual el agua de las capas más profundas de la epidermis permea hasta las capas superiores permitiendo regular la humedad y la temperatura de la piel. Si el estrato córneo es alterado por una agresión externa ya sea por el medio ambiente o una dermatitis se produce un desequilibrio en el cutis que desemboca en un aumento en el valor de la TEWL.



Ilustración 37 Ejemplificación de los componentes de un arreglo de microagujas.

Como se ilustra en la Ilustración 37 las microagujas poliméricas se componen de 2 partes esenciales, las microagujas en este caso iluminadas de color azul tienen la función de perforar la piel permitiendo la administración del fármaco y de color verde se representa la base del arreglo que brinda de soporte y resistencia para su manipulación y aplicación.

El autor Enrich L. en su libro catálogo de apósitos estériles menciona que un apósito es cualquier producto sanitario que cubra y proteja una herida con la finalidad de reepitelizar el tejido dañado y acelerar la cicatrización de una herida por lo que la base de las microagujas al cubrir y proteger una herida en este caso de quemaduras cumple con esta condición y se puede considerar como un apósito.

La prueba de pérdida de agua transepidermal nos permite conocer si la base del arreglo tiene la capacidad de dejar transpirar la piel o si tiene propiedades oclusivas y evitan la pérdida de agua en la herida, la piel sana debe perder de entre 0 a 10 g de agua por cada hora en 1 metro cubico esto cuando está en reposo si la pérdida es de entre 10 y 15 $g \cdot h \cdot m^3$ es una señal de un desequilibrio que da a lugar al inicio de la transpiración, la piel tersa presenta una constante traspiración y humectación, tiene una pérdida de agua de entre 15 a 25 $g \cdot h \cdot m^3$, valores superiores a 30 $g \cdot h \cdot m^3$ de agua perdida se considera una deshidratación.

Tabla 24 Diferencia encontrada de TEWL entre la piel eudérmica y piel tratada con la formulación óptima en promedio.

TEWL	
Núm.	valor de piel ($g \cdot h \cdot m^3$)
valor de piel sana	1.4
1	5.4
2	5.2
3	4.8
Promedio	5.2
Desv. Std	0.30
%CV	6%

Como se puede observar en la Tabla 24 la TEWL en piel eudérmica era de 1.4 $g \cdot h \cdot m^3$ este valor se incrementó en promedio a 5.2 $g \cdot h \cdot m^3$ esta disminución de humedad se puede vincular con un desacomodo de las células epiteliales causado por microagresión de las microagujas lo que permite una salida fácil de agua, se observa en la Ilustración 38 extraído del diseño de experimentos que la suma de factores A y B causan que este valor se incremente sumado a esto en la Tabla 13 del diseño de experimentos se observa que los valores altos D-Pantenol tienden a subir los niveles de TEWL se intuye que este proceso se debe a la propiedad del D-Pantenol a captar la humedad del medio ambiente el agua que es atraída y absorbida por la formulación es captada por el sensor del TEWLmeter y registra un aumento en el TEWL.

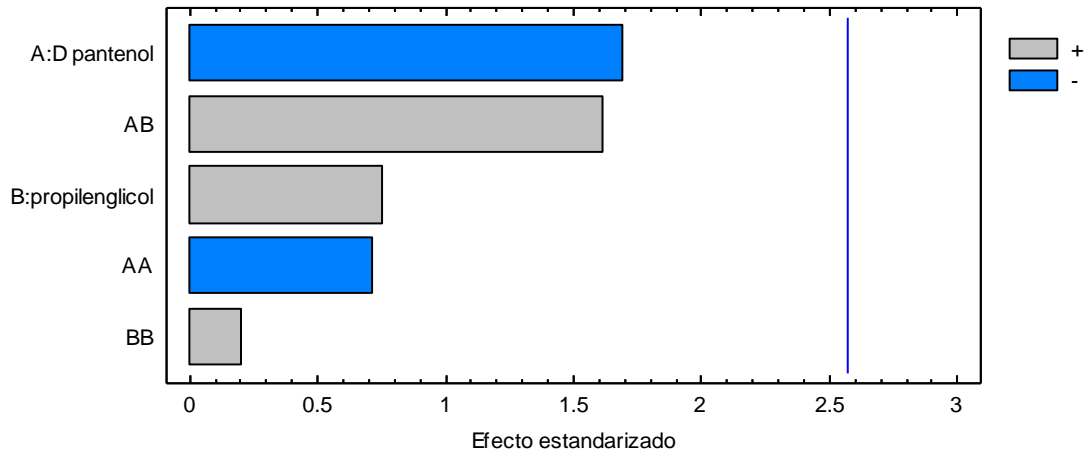


Ilustración 38 Diagrama de Pareto estandarizado para TEWL

Aun cuando se tiene un aumento en el TEWL la formulación óptima no llega a aumentar más los $10 \text{ g}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^3$ por lo que se mantiene dentro del margen seguro de utilización esto se ve respaldado en las respuestas de humectación y eritema en la cual se muestra como la zona de aplicación tubo un gran aumento de humedad y el nivel de eritema disminuyo considerablemente.

7.3.1.8. Humectación.

La humectación es la incorporación de agua al organismo, este término generalmente se asocia con la ingesta de agua, sin embargo, en cuestiones cosméticas se refiere a la reincorporación de agua a través de la piel este con el fin de suavizarla y darle propiedades elásticas, así como un aspecto brillante y jovial.

Como se describió en el marco teórico la regeneración depende de la velocidad en la que las plaquetas y otros factores se mueven a través del lecho, si este se encuentra húmedo la velocidad de agregación será mayor así como la renovación celular se verá favorecida y al llevarse a cabo de forma rápida este proceso la activación de las plaquetas y la liberación de fibrinógeno se llevará a cabo más rápido por lo que se puede inferir que a mayor humedad mayor es la velocidad de agregación y la velocidad de la regeneración se ve incrementada (Arenas, 2003).

La industria cosmética ha generado cremas para el cuidado de la piel usando sustancias como el ácido hialurónico o el D-Pantenol como humectantes con el fin de rehidratar el cutis, estos cosméticos por lo regular ocupan de 5% del humectante para humectar la piel y dar una apariencia tersa (Barel A, Paye M, Maibaich H, 2006). En el caso de arreglo se desea generar un lecho muy húmedo que permita la regeneración acelerada de las heridas por lo que se optó por maximizar este factor en el diseño de experimentos.

La humectación que el arreglo puede generar es muy importante debido a los beneficios que se tiene al tener húmeda la zona lacerada.

Como se ha mencionado antes el D-Pantenol tiene la función de captar la humedad del ambiente y proporcionársela a la zona de aplicación por lo que se esperaba un incremento de la humedad en la piel cuando el arreglo se tiñera. Este incremento se logra observar en la Tabla 25 donde se muestra que la piel eudémica tenía un valor de humedad de 20.23 y este fue aumentado en un 300% al aplicarse durante 1 hora.

Tabla 25 Diferencia encontrada de humectación entre la piel eudémica y piel tratada con la formulación óptima en promedio.

Humectación	
valor de piel	20.23
1	84.2
2	83.3
3	83.5
Promedio	83.5
Desv. Std	0.47
%CV	1%

La humectación generada a partir de su aplicación refleja un incremento de 300% con respecto a la humedad inicial de la prueba por lo que el objetivo de generar una gran humectación en la zona aplicada fue cumplido de forma abismal.

7.3.2. Caracterización química de la formulación.

7.3.2.1. Contenido químico.

La prueba de contenido químico o uniformidad de contenido es un examen que determina la variabilidad en cantidad de principio activo presente en un medicamento de un determinado lote (Durán, 2011), como se ha mencionado antes la ceftriaxona es un antibiótico de amplio espectro el cual sufre de procesos de oxidación al encontrarse en solución (Drugbank, 2022). La utilización de un antioxidante que proteja de la pérdida por degradación es indispensable para incrementar el contenido químico del arreglo de microagujas.

Tabla 26 cantidad de ceftriaxona real contenidos en los arreglos de microagujas.

Sistema	Absorbancia	Concentración (M)	mg en arreglo
1	1.7190	859.6035	21.49009
1	1.7293	864.7623	21.61906
1	1.7224	861.3064	21.53266
2	1.3130	656.2579	16.40645
2	1.3074	653.4531	16.33633
2	1.3243	661.9175	16.54794
3	1.5762	788.0820	19.70205
3	1.5819	790.9368	19.77342
3	1.5835	791.7382	19.79345

La prueba de contenido químico se llevó a cabo mediante la metodología descrita en el anexo 3 “Validación del método analítico para cuantificación de ceftriaxona en microagujas poliméricas de 20mg mediante el uso espectrofotometría UV/Visible obteniendo los resultados de la Tabla 27, esta muestra el promedio de los mg de ceftriaxona contenida en 3 arreglos de un mismo lote.

Al hacerse la prueba por triplicado se pudieron obtener la desviación estándar y el coeficiente de variación de los resultados obtenidos como se muestra en la Tabla 27. Esta tabla nos permite observar que los arreglo cuentan con un rendimiento del 98.9% demostrando que el principio activo fue protegido y se encuentra estable.

Tabla 27 Contenido químico y rendimiento obtenido en las microagujas óptimas.

Contenido químico	
Dosis teórica	20 mg
dosis real	19.7734 mg
% contenido químico	98.867%
PROMEDIO	19.77342 mg
DESV EST	2.249744
CV	11%

Esta prueba nos ayuda a aseverar que la pérdida de ceftriaxona por oxidación es apenas del 0.33%, este valor es muy adecuado debido a que no se encuentra en el mercado otra forma farmacéutica que ocupe ceftriaxona en solución ya preparada (Drugbank, 2022) debido a su rápida degradación, sin embargo, con esto se logra comprobar que el uso de ceftriaxona en parches transdérmicos y arreglos de microagujas es viable.

7.3.2.2. Perfil cinético de liberación.

La cinética de liberación sirve para conocer la cantidad de fármaco liberado en la zona de aplicación con respecto al tiempo, las formulaciones transdérmicas por lo general intentan mantener un control sobre la concentración de fármaco en la sangre o en los tejidos diana en un valor deseado el mayor tiempo posible (Dash S, Narasimha P, Nath L, Chowdhury P, 2010).

Las cinéticas de liberación son modelos matemáticos que comprenden, predicen y ejemplifican los mecanismos que se llevan a cabo en un medicamento durante su liberación (Andretta, 2003). Existen varios modelos cinéticos que explican el comportamiento de la velocidad de liberación tales como orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas.

La afinidad que se tiene por el modelo cinético está dada por la pendiente obtenida, a mayor sea su cercanía a 1 el modelo describe mejor la liberación que se tiene.

Se pueden observar en la Tabla 28 las concentraciones de ceftriaxona liberada con respecto a los tiempos descritos en el apartado 6.4.4.7 Prueba de liberación.

Tabla 28 Registro de las absorbancias, concentraciones y mg disueltos durante la prueba de liberación.

Tomas	Tiempo	Absorbancias			Volumen	Concentración (µg)			mg disueltos			Promedio	DESV	
		sistema 1	sistema 2	sistema 3		mL	C1	C2	C3	mg 1	mg2			mg3
1	5	0.1224	0.0999	0.0932	500	2.40	1.95	1.81	1.20	0.97	0.91	0.97	0.15	
2	10	0.2094	0.1807	0.1621	498	4.14	3.57	3.19	2.06	1.78	1.59	1.78	0.24	
3	15	0.2477	0.2481	0.2103	496	4.91	4.92	4.16	2.43	2.44	2.06	2.43	0.22	
4	20	0.2899	0.2489	0.2184	494	5.75	4.93	4.32	2.84	2.44	2.13	2.44	0.36	
5	25	0.3398	0.2847	0.2530	492	6.75	5.65	5.01	3.32	2.78	2.47	2.78	0.43	
6	30	0.3751	0.3107	0.2814	490	7.46	6.17	5.58	3.66	3.02	2.74	3.02	0.47	
7	40	0.4246	0.3433	0.3178	488	8.45	6.82	6.31	4.12	3.33	3.08	3.33	0.55	
8	50	0.4813	0.3964	0.3754	486	9.59	7.89	7.47	4.66	3.83	3.63	3.83	0.55	
9	60	0.5145	0.4423	0.4151	484	10.25	8.81	8.26	4.96	4.26	4.00	4.26	0.50	
10	80	0.6040	0.5334	0.4944	482	12.05	10.63	9.85	5.81	5.12	4.75	5.12	0.54	
11	100	0.6892	0.6157	0.5658	480	13.75	12.28	11.28	6.60	5.89	5.41	5.89	0.60	
12	120	0.7769	0.7003	0.6398	478	15.51	13.98	12.76	7.41	6.68	6.10	6.68	0.66	
13	140	0.8416	0.7614	0.6885	476	16.81	15.20	13.74	8.00	7.23	6.54	7.23	0.73	
14	160	0.9243	0.8410	0.7635	474	18.46	16.79	15.24	8.75	7.96	7.22	7.96	0.76	
15	180	0.9895	0.9121	0.8203	472	19.77	18.22	16.38	9.33	8.60	7.73	8.60	0.80	
16	210	1.0917	1.0095	0.9021	470	21.82	20.17	18.02	10.25	9.48	8.47	9.48	0.90	
17	240	1.1831	1.0364	1.0588	468	23.65	20.71	21.16	11.07	9.69	9.90	9.90	0.74	
18	300	1.2268	1.1521	1.1162	466	24.52	23.03	22.31	11.43	10.73	10.40	10.73	0.53	
19	360	1.2923	1.2255	1.1045	464	25.84	24.50	22.07	11.99	11.37	10.24	11.37	0.88	
									PROMEDIO	5.81	5.12	4.75	5.12	5.12
									DESV EST	3.44	3.25	3.08	3.27	0.18
									CV	59%	64%	65%	64%	0.03

El modelo matemático ocupado al elaborar el gráfico de la Ilustración 39 corresponde a la cinética de orden 0 que describe sistemas en donde la velocidad de liberación del fármaco es constante por lo tanto es independiente de la concentración.

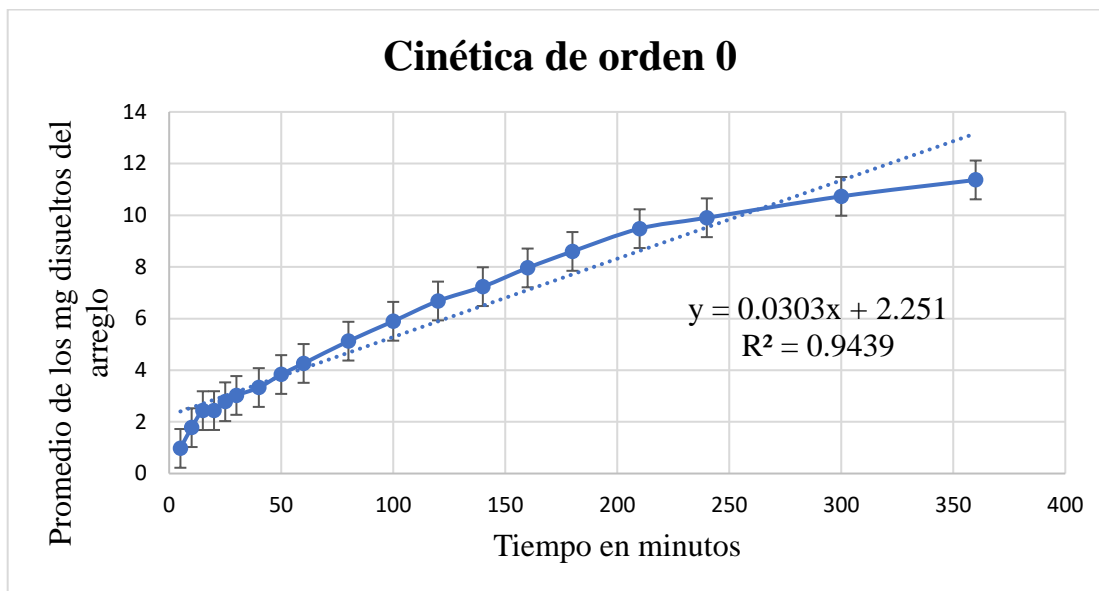


Ilustración 39 Gráfico del modelo cinético de orden 0 donde $Q_t = Q_0 + K_0t$ siendo Q_t la cantidad de fármaco disuelto en un tiempo t , Q_0 es la concentración inicial y K_0 es la constante de orden 0 que expresa unidades de concentración/tiempo.

En la Ilustración 40, se muestra el gráfico del modelo cinético de liberación de primer orden, en este la velocidad del fármaco depende de la concentración del sistema.

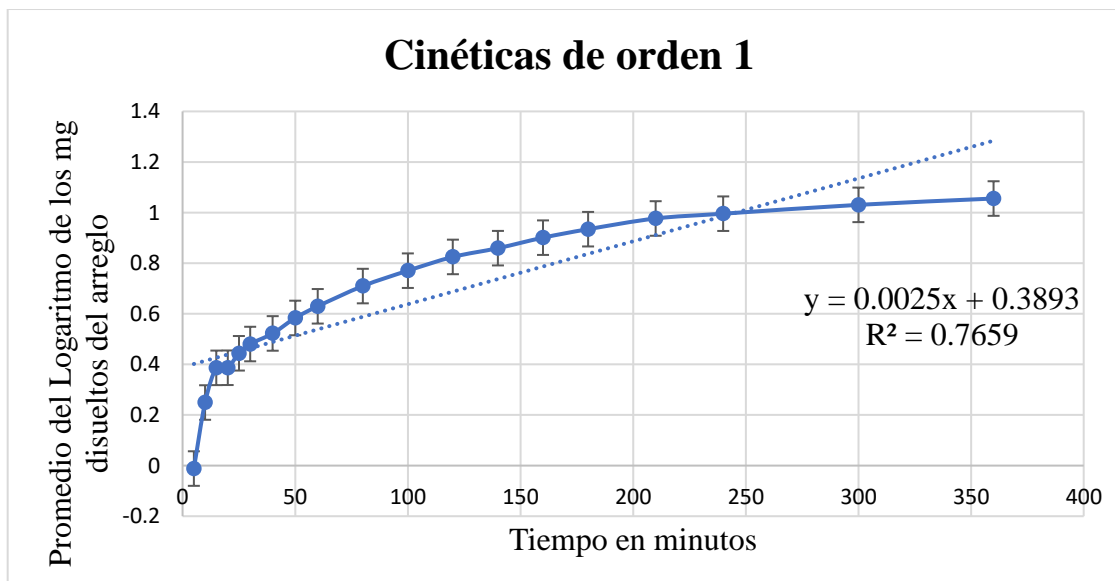


Ilustración 40 Gráfico del modelo cinético de orden 1 donde $\text{Log } C = \text{log } C_0 - Kt/2.303$, siendo K la constante de primer orden expresada con las unidades de tiempo⁻¹, C_0 es la concentración inicial del fármaco.

Como se pudo observar en los gráficos de las Ilustraciones 39 y 40, el modelo matemático que mejor describe la liberación de las microagujas es el presentado por el orden 0 lo cual nos da un indicio sobre el mecanismo que se lleva a cabo, es altamente probable que ocurran procesos de difusión continua por un periodo prolongado dando así una concentración sostenida.

Los polímeros ocupados en una formulación tienen la capacidad de modificar la liberación del principio activo mediante 3 mecanismos, la difusión, el hinchamiento y la erosión (Makvandi P, Kirkby M, Hutton A, Shabani M, Yiu C, Baghbantaraghdari Z, Jamaledin R, Carlotti M, Mazzolai B, Mattoli V, Donnelly R, 2021), ya sea erosión superficial por la acción enzimática, hidrolítica, ionización o solubilización de la capa externa o por erosión de tipo bulk donde el agua entra en el seno del polímero degradando las moléculas del interior (Uhrich K, Cannizzaro S, Langer R, Shakesheff K, 1999).

Korsmeyer-Peppas describe la liberación del fármaco a partir de una ecuación de sistema polimérico, este modelo predice el mecanismo de liberación ocupado por el fármaco, en su famosa ecuación $M_t/M_\infty = Kt^n$ se le toma una gran importancia al valor que tiene el exponente “n” debido a que este indica que tipo de mecanismos de liberación se dan en el sistema (similarmore, 2022).

La Tabla 29, explica que cuando “n” es igual o mayor que 0.45 se considera que el mecanismo ocupado para liberación es mediante la difusión fickiana del principio activo, mientras que al “n” encontrarse entre 0.45 y 0.89 se considerara que sufre de un proceso no fickiano o también llamado mixto o anómalo en donde la difusión del fármaco está acompañado de otros factores que interfieren en la liberación a partir de la matriz polimérica, estos procesos son el hinchamiento, la erosión superficial o de bulk, en el caso de que el valor de “n” sea 0.89 quiere decir que ocupa un transporte Caso II y si “n” es mayor a 0.98 se refiere como un transporte super caso II. (Dash S, Narasimha P, Nath L, Chowdhury P, 2010).

Tabla 29 Relación entre el valor del exponente "n" con forme a mecanismo de transporte y la tasa en función del tiempo.

Exponente “n”	Mecanismo de transporte del fármaco	Tasa en función del tiempo
$0.45 > \text{“n”}$	Difusión Fickiana	$t^{-0.5}$
$0.45 < \text{“n”} < 0.89$	Difusión no fickiana (transporte mixto)	t^{n-1}
$\text{“n”} = 0.89$	Transporte caso II	Liberación orden 0
$0.89 < \text{“n”}$	Transporte super caso II	t^{n-1}

La Ilustración 41 presenta un gráfico que describe el comportamiento que tiene el arreglo de microagujas con respecto al modelo matemático de Korsmeyer-Peppas en donde se aprecia una linealidad de 0.991 siendo este modelo uno de los que plantea mejor la liberación del sistema, la ecuación nos indica que el valor obtenido de n es 0.5638 por lo que su mecanismo de liberación corresponde a un transporte no fickiano dando a entender que la difusión de la ceftriaxona está acompañada por el hinchamiento y la erosión de la matriz polimérica del arreglo de microagujas.

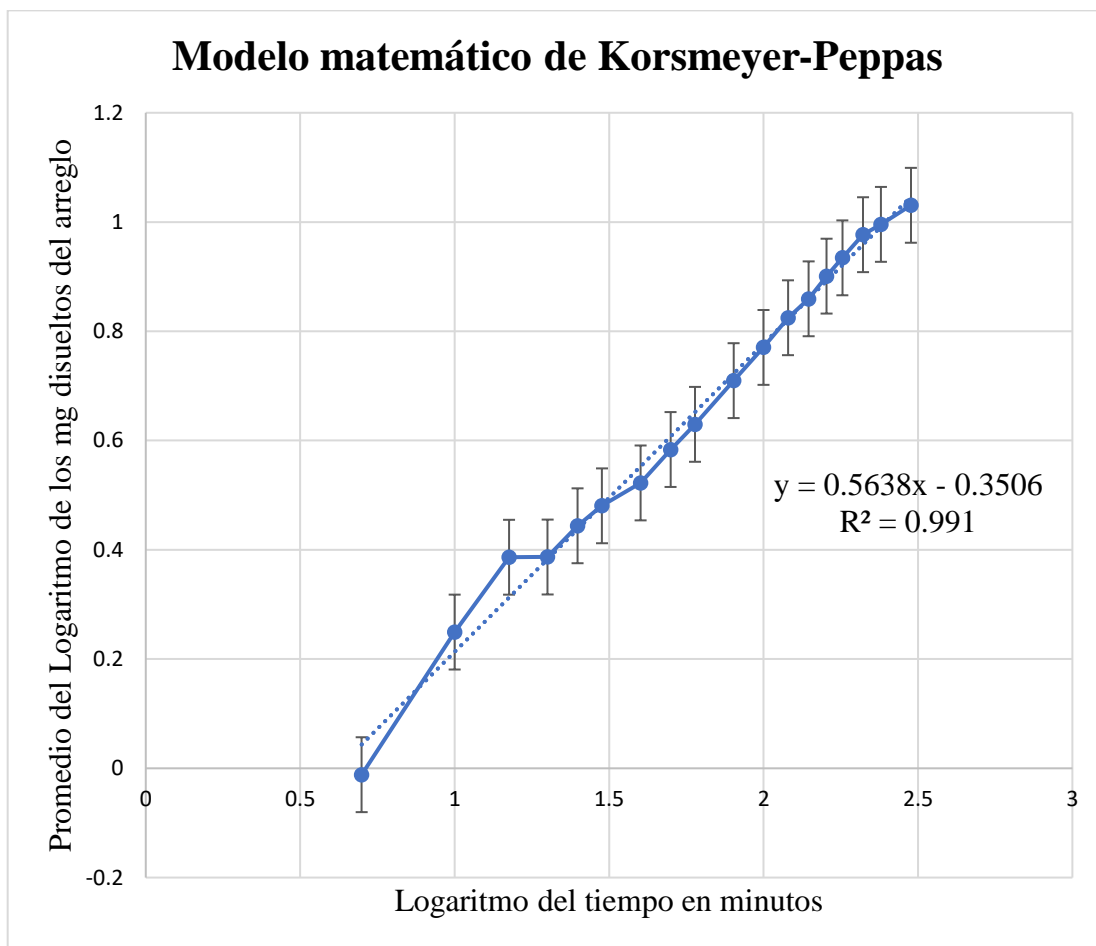


Ilustración 41 Gráfico del modelo matemático de Korsmeyer-Peppas donde $\text{Log}C = n \cdot \text{Log}t - \text{Log}K$, siendo K es la constante de liberación, t es tiempo, c es la concentración y n el exponente que determina el mecanismo de liberación.

La ecuación de Higuchi describe la velocidad de liberación que se da en medicamentos de liberación controlada, en un sistema matricial la cantidad de principio activo liberado es directamente proporcional a la raíz cuadrada del tiempo. (Andreetta, 2003) Los factores tecnológicos que afectan a la cinética de liberación son, entre otros, el tamaño de partícula, la relación cuantitativa polímero/principio activo y los excipientes empleados en la formulación (Suñé, 2020).

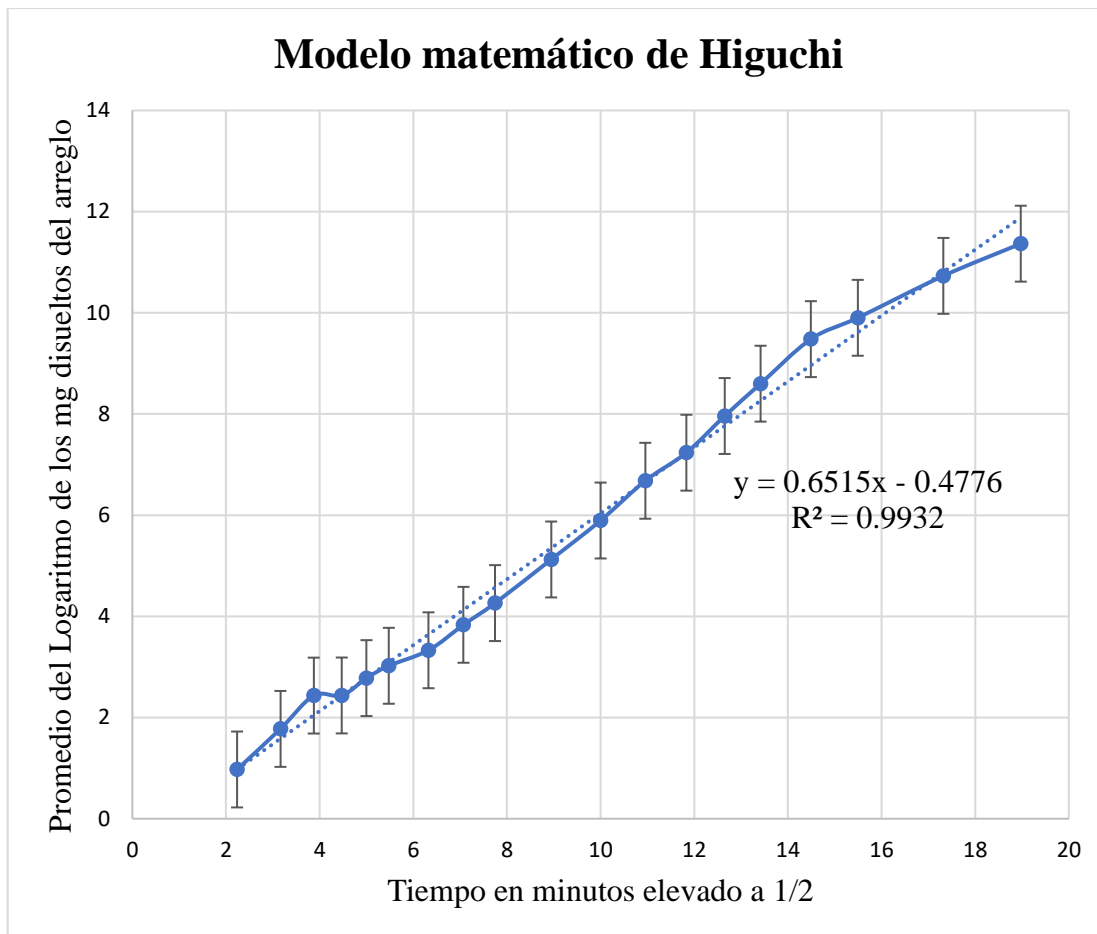


Ilustración 42 Gráfico del modelo matemático de Higuchi donde $Q_t = K_H \cdot t^{1/2}$, siendo K_H es la constante de disolución de Higuchi, t es tiempo, Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t .

En la Ilustración 42, se aprecia la gráfica de la liberación con respecto al modelo matemático de Higuchi, en este podemos apreciar que nuestra formulación obedece el modelo planteado por la misma dando a entender que los procesos de hinchamiento y disolución de la matriz polimérica no son relevantes para la liberación lo que implica que la matriz polimérica formada a partir del polímero de metacrilato es inerte al medio.

El Kollicoat® MAE 100P es un copolímero de ácido metacrilico con acrilato de etilo que forma una matriz inerte por lo que genera una red sólida porosa donde ocurren procesos de difusión por medio de los poros.

Al tomar en cuenta tanto el modelo presentado por Korsmeyer-Peppas como el presentado por Higuchi encontramos que el mecanismo de liberación del arreglo de microagujas es una liberación sostenida principalmente dada por la difusión del principio activo a través de los poros y está apoyado en menor medida por el hinchamiento y la erosión de tipo bulk, que causan una relajación viscoelástica en la red polimérica del propio arreglo.

7.3.2.3. Estudio *in vitro* de absorción percutánea a través de la piel animal

El paso a través de la piel desde la epidermis hasta llegar a la dermis se considera parte de la absorción percutánea y que está dada por un gradiente de concentración y su constante de difusión en todas las capas de la piel, esta penetración molecular está limitada por la resistencia difusional que ofrece cada estrato y la oposición que ofrece la microvasculatura a la liberación sistemática del principio activo (Rodríguez, 1998).

El arreglo de microagujas diseñado en el presente trabajo tiene la finalidad de ser ocupado en quemaduras y heridas abiertas teniendo un sitio de acción entre la epidermis y la dermis por lo que la absorción sistemática no está deseada, sin embargo, al emplearse un promotor físico como lo son las agujas se torna inevitable el paso del principio activo al torrente sanguíneo.

Al realizarse un estudio *in vitro* de absorción percutánea a través de la piel animal como lo indica el apartado 6.4.6.6.2 “Estudio *in vitro* mediante el uso de celdas verticales tipo Franz” de la metodología se encontró la cantidad acumulada y la cantidad por área expuesta de ceftriaxona con las cuales se realizaron las ilustraciones 43 y 44.

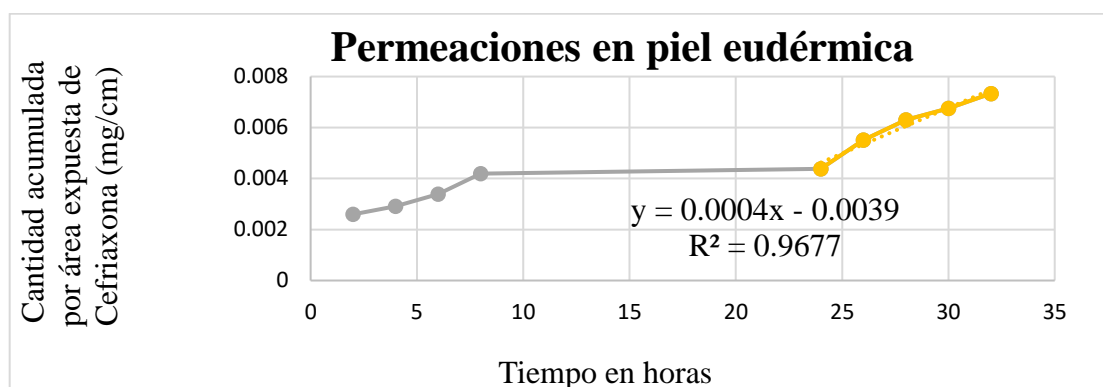


Ilustración 43 Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel sana.

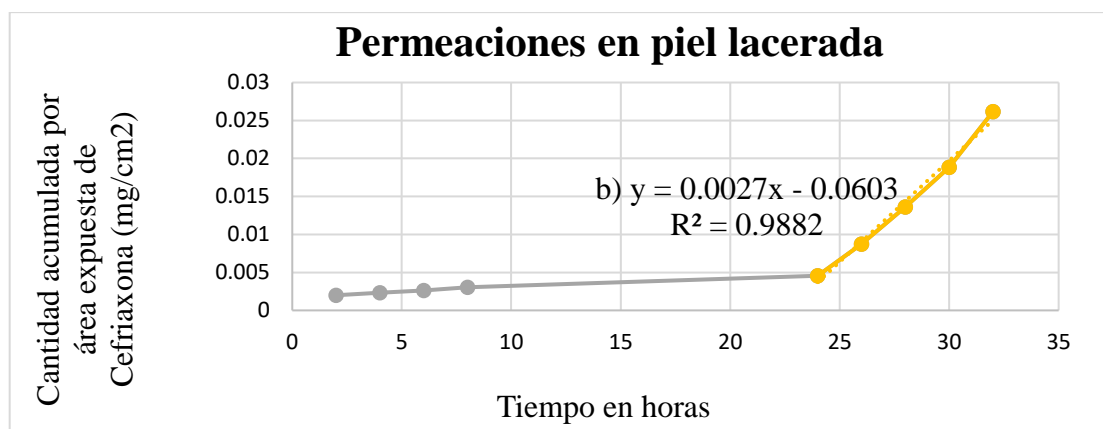


Ilustración 44 Gráfica de cantidad acumulada por área expuesta de Ceftriaxona vs Tiempo para la condición de piel herida.

La constante de permeación o K_p representa la cantidad de sustancia activa que se encuentra contenida en el arreglo que pasa por cada cm^2 de la piel en un momento dado que se expresa en unidades de (cm^2/t) . A mayor sea la K_p es más fácil para el fármaco llegar a la circulación general, como se logra apreciar en la Tabla 30 la integridad de la piel juega un papel importante en el valor de la K_p siendo más grande cuando la piel se encuentra lacerada.

Tabla 30 Parámetros obtenidos de la prueba de permeación ex vivo en tejido de abdomen.

Condición	Flujo	Constante de permeación	Tiempo de latencia
	$(\mu\text{g}/\text{cm}^2*\text{h})$	cm^2*h	(h)
piel eudérmica	0.0004	2.34E-05	9.75
piel lacerada	0.0027	0.000158	22.33333

El tiempo de latencia es el tiempo necesario para que la difusión sea constante y uniforme el TL (tiempo de latencia) representa el tiempo necesario para que el flujo del fármaco sea continuo a través de la piel gráficamente se puede observar en la Ilustración 43 y 44 en la intersección de la línea color gris y la amarilla y matemáticamente se puede conseguir al extrapolar la porción lineal de permeación al eje de tiempo, a partir de ese punto es que se puede considerar una permeación constante al torrente sanguíneo. El flujo es la cantidad de fármaco que atraviesa por unidad de superficie de piel y tiempo, esta toma en consideración el área cubierta por la formulación y nos permite conocer la cantidad de fármaco que permea al paso de un determinado tiempo.

Se sabe que la ceftriaxona tiene una acción inhibitoria del 90% en el *Staphylococcus aureus* al llegar a una concentración de $38.5\mu\text{g}/\text{mL}$ (Marquilles C, Alexandre S, Real J, 2015). Si esta cantidad se compara con la Tabla 28 del perfil de liberación se logra observar que en la primera toma de muestra después de los 5 minutos ya se alcanza esta concentración.

La base del arreglo de microagujas tiene un área total de 3.61 cm^2 al ser aplicado en la piel lacerada y tomando en cuenta el flujo indicado en la Tabla 28 se tendría una cantidad de $9.74\mu\text{g}$ de ceftriaxona en sangre al pasar 1 hora mientras que en el lecho de la herida contraria con una concentración promedio de $4.26 \pm 0.49\text{ mg}$ del activo para generar el efecto localizado esto si lo comparamos con los perfiles de liberación.

Si la formulación permaneciese en la quemadura durante 24 horas se generaría una absorción sistemática de apenas de $233.93\mu\text{g}$ de ceftriaxona, sin embargo en un tratamiento normal de una quemadura de 2 grado se realizan limpiezas de la zona lesionada cada 8 horas en estas curaciones se retiran todos los medicamentos y la piel necrótica y se vuelve a colocar los medicamentos, en el caso del arreglo de microagujas al paso de 8 horas la absorción sería de $77.92\mu\text{g}$ de ceftriaxona además solo se requiere de 4.69 horas para que el arreglo libere todo el fármaco.

8. Conclusiones.

En el desarrollo del presente trabajo se diseñó, evaluó y caracterizó un arreglo de microagujas poliméricas cargadas con ceftriaxona como una alternativa para la regeneración tisular en quemaduras tomando como base el un polímero de metacrilato por sus excelentes características físicas y químicas al formar agujas y películas poliméricas.

El diseño de experimentos realizado permitió seleccionar de las múltiples formulaciones posibles a la mejor opción que cuenta con las mejores características fisicoquímicas para otorgar una rápida regeneración a un paciente con un daño tisular.

La formulación óptima destacó por sus excelentes resultados tanto en las pruebas físicas, así como las químicas teniendo en general un arreglo de microagujas capaz de penetrar con facilidad la piel, permanecer adherido por horas, disminuir el eritema y aumentar hasta un 300% la humectación de la zona. Además de liberar desde los primeros 5 minutos de su aplicación una dosis inhibitoria de las bacterias más frecuentes en las infecciones tópicas y permanecer con una liberación sostenida durante al menos 6 horas sin presentar una gran absorción sistemática aún en heridas comprometidas y por lo tanto disminuyendo el daño hepático de los pacientes.

Tomando en cuenta las características antes dichas permite aceptar la hipótesis planteada en un inicio logrando así proponer una formulación estable ceftriaxona de uso tópico con pocas repercusiones sistemáticas y grandes ventajas en su uso clínico para la regeneración de la piel en quemaduras.

9. Perspectivas.

El desarrollo de esta formulación permite cargarse con diversos fármacos y dar rienda suelta nuevos y novedosos medicamentos para la vía transdérmica.

Se requiere de investigar otros principios activos que se puedan acoplar a la formulación propuesta en el presente trabajo debido a que el metacrilato cuenta con una matriz inerte que permite su uso con una gran gama de fármacos.

El método de fabricación al ser dependiente del molde y no de una impresión permite el ajuste tanto de las dimensiones de las agujas como de las dimensiones del arreglo permitiendo que este se adapte al paciente dependiendo de sus necesidades sin embargo se requiere de una investigación más detallada para acelerar esto.

Es necesario realizar un estudio *in vivo* donde se evalúe su biodisponibilidad de esta formulación para dictaminar si en efecto esta propuesta al tratamiento de heridas es mejor que los tratamientos comerciales actualmente disponibles.

10. Referencias

- Aguilar A, Caamaño M, Martín F, Montejo M. (2014). *Biofarmacia y farmacocinética: ejercicios y problemas resueltos*. Barcelona España: ELSEVIER.
- Andreetta, A. (2003). Fármacos de Acción Prolongada: Mecanismos de Liberación. Usos dedistintos modelos. *Acta Farm. Bonaer.*, 22, 355–363 .
- Arenas, J. (2003). Las heridas y su cicatrización. *ELSEVIER*, vol. 22(5) 126-132.
- Artz, C. (1969). *Moncrief: The Treatment of Burns 2ed*. Philadelphia: WB Saunders Company.
- Aust M, Reimers K, Vogt P. (2009). *Medical needling: improving the appearance of hypertrophic burn-scars*. *GMS Verbrennungsmedizin*. Obtenido de Doc 3: <http://www.egms.de/static/en/journals/vmed/2009-3/vmed000007.shtml>].
- Baldo, A. (1999). Penicillins and cephalosporins as allergens - structural aspects of recognition and cross-reactions. *Clinical Experimental Allergy.*, 29(6), 744–749. doi:10.1046/j.1365-2222.1999.00575.x.
- Balmert, C, Carey, D, Falo D, Sethi K, Erdos G, Korkmaz E, Falo D. (2020). Dissolving undercut microneedle arrays for multicomponent cutaneous vaccination. . *Journal of Controlled Release.*, 317, 336–346. doi:10.1016/j.jconrel.2019.11.023 .
- Banga A, Gaurav B, Yimgcong Z. (2013). Adapalene microemulsion for transfollicular drug delivery. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 102(8) 2622-2631.
- Banga, K. (2009). Microporation applications for enhancing drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery.*, 6(4), 343–354. doi:10.1517/17425240902841935 .
- Barel A, Paye M, Maibaich H. (2006). *Handbook of Cosmetic Science and Technology 2ed*. U.S.: CRC Press ISBN 9780429135231.
- Barnum L, Samandari M, Schmidt T, Tamayol A . (2020). Microneedle arrays for the treatment of chronic wounds. . *Expert Opinion on Drug Delivery.*, doi:10.1080/17425247.2020.1819787 .
- Barrueco N, Martínez L, Llamazares C, Durán E, Martínez M, María T, Relaño C. (2008). *Scielo*. Obtenido de Administración de medicamentos por vía oral: Interacciones medicamento - alimento. Index de Enfermería: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1132-12962008000100012&lng=es&tlng=es.
- BASF. (2022). *BASF Pharma* . Obtenido de Kollicoat® MAE 100 P.: <https://pharma.basf.com/products/kollicoat-mae-100-p>
- Bertram G, Todd W. (2020). *Farmacología básica y clínica 15ed*. San Francisco : McGraw Hill Education Inc.
- Birbrair, A, Zhang, T, Wang, Z-M, Messi, M. L., Enikolopov, G N, Mintz, A, Delbono, O. (2013). Role of Pericytes in Skeletal Muscle Regeneration and Fat Accumulation. *Stem Cells and Development*, 22(16), 2298–2314. doi:10.1089/scd.2012.0647.

- Bjarnsholt T, Kirketerp K, Jensen P, Madsen K, Phipps R, Krogfelt K, Givskov M. (2008). Why chronic wounds will not heal: a novel hypothesis. . *Wound Repair and Regeneration*, 16(1), 2–10. doi:10.1111/j.1524-475x.2007.00283.x .
- Blanco, S. (25 de abril de 2020). *Fitoaromaterapia veterinaria y bienestar*. Obtenido de ¿Cómo atraviesan la piel los aceites esenciales? Perfusión aromática. Recuperado en: <https://aromanimalia.com/2020/04/25/como-atraviesan-la-piel-los-aceites-esenciales-perfesion-aromatica/>
- Bonfiglio G, Marchetti F. (2000). In vitro Activity of Ceftazidime, Cefepime and Imipenem on 1,005 Pseudomonas aeruginosa Clinical Isolates either Susceptible or Resistant to Beta-Lactams. *Chemotherapy.*, 46(4), 229–234. doi:10.1159/000007294 .
- Bosch, A. (2001). Las heridas y su tratamiento. *Elsevier*, 20 (7) 89-92.
- Cabrera M, Susana A, Sanz A, Mariano, Quirino B, Carlos T. (2006). *Scielo*. Obtenido de Profilaxis antimicrobiana en Estomatología y su aplicación en periodoncia: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072006000100006&lng=es&tlng=es.
- Conde E, Pérez L, Peral A, Recarte L, Sanabria P, Cueva P. (2020). Early and Sequential Punch Grafting in the Spectrum of Arteriolopathy Ulcers in the Elderly. *Wound Care Learning Network*, 32(8):E38-E41. PMID: 33166269.
- Courtenay A, McAlister E, McCrudden C, Vora L, Steiner L, Levin G. (2020). Hydrogel-forming microneedle arrays as a therapeutic option for transdermal esketamine delivery. . *Journal of Controlled Release.* , doi:10.1016/j.jconrel.2020.03.026 .
- Cristóbal. (2018). *institutedermocosmetica.com*. Obtenido de El PH de la piel y de los cosméticos: <https://www.institutedermocosmetica.com/el-ph-de-la-piel-y-de-los-cosmeticos/>
- Dash S, Narasimha P, Nath L, Chowdhury P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm*, 67(3):217-23. PMID: 20524422.
- Daza, L. (2007). *Evaluación clínico-funcional del movimiento corporal humano*. México: Médica. Panamericana.
- Derakhshandeh H, Aghabaglou F, McCarthy A, Mostafavi A, Wiseman C., Bonick Z., Tamayol A. (2020). A Wirelessly Controlled Smart Bandage with 3D-Printed Miniaturized Needle Arrays. . *Advanced Functional Materials*, 1905544. doi:10.1002/adfm.201905544 .
- Drugbank. (2022). *go.drugbank.com*. Obtenido de Ceftriaxone: <https://go.drugbank.com/drugs/DB01212>
- Durán, D. (2011). *Ánisis fisicoquímico de productos farmacéuticos en las diferentes etapas del proceso de la industria farmacéutica*. Carabobo: Universidad de Carabobo.

- Economidou N, Lamprou A, Douroumis D. . (2018). 3D printing applications for transdermal drug delivery. . *International Journal of Pharmaceutics*, , 544(2), 415–424. doi:10.1016/j.ijpharm.2018.01.031 .
- Enrich L. y Negre S. . (2000). *Propuesta de clasificación de los apósitos estériles modernos*. . Barcelona: Universidad de Barcelona.
- Espino G, Martínez C, Martínez S, Hernández S. (2007). *Diccionario de hidrología y ciencias afines* . México: Plaza y Valdez Editores .
- Esteva, E. (2006). El tratamiento de las heridas. *ELSEVIER*, 25(8) 54-60.
- Eucerin. (2022). *eucerin.es*. Obtenido de Comprender la piel – PH de la piel: <https://www.eucerin.es/acerca-de-la-piel/conocimientos-basicos-sobre-la-piel/ph-de-la-piel#:~:text=El%20manto%20%C3%A1cido%20es%20clave,flora%20natural%20de%20la%20piel>.
- Gemoll W, Vretska K. (2017). Griechisch-Deutsches Schul- und Handwörterbuch. *Verlag Holder-Pichler-Tempsky*, (9) ISBN 3-209-00108-1.
- Ginebra P, Traykova T, Planell, A . (2006). Cementos de fosfato de calcio como sistemas de administración de fármacos óseos: una revisión. *Revista de publicación controlada*, 113(2), 102–110. doi:10.1016/j.jconrel.2006.04.007 .
- Gómez, A. (2008). Úlceras vasculares. Factores de riesgo, clínica y prevención. *ELSEVIER*, 22 (6) 33-38.
- Grogan P, Dorthé W, Glembotski E, Gaul F, Lima D. (2019). Cartilage tissue engineering combining microspheroid building blocks and microneedle arrays. . *Connective Tissue Research*, 1–15. doi:10.1080/03008207.2019.1617280 .
- Guerrero B, López M. (2015). *Scielo*. Obtenido de Generalidades del sistema de la coagulación y pruebas para su estudio: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0535-51332015000400010&lng=es&tlng=es.
- Guillamás, C. (2017). *Primeros auxilios I (técnicas básicas de enfermería) Ciclos Formativos*. México: Editex ISBN 8491612025, 9788491612025.
- Gupta J, Gill S, Andrews N, Prausnitz R,. (2011). Cinética del resellado de la piel después de la inserción de microagujas en sujetos humanos. *Revista de publicación controlada*, 154(2), 148–155. doi:10.1016/j.jconrel.2011.05.021 . Obtenido de 154(2), 148–155. doi:10.1016/j.jconrel.2011.05.021
- Han D, Morde S, Mariani S, Mattina A, Vignali E, Yang C, Lee H. (2020). . (2020). Impresión 4D de una matriz de microagujas bioinspiradas con púas orientadas hacia atrás para mejorar la adherencia al tejido. *Materiales funcionales avanzados*, 1909197. doi:10.1002/adfm.201909197.

- Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Czaja K, Sebastian K, Kurschat P, Baron J. (2012). Dexpanthenol Modulates Gene Expression in Skin Wound Healing in vivo. *Skin Pharmacology and Physiology*, 25(5), 241–248. doi:10.1159/000341144.
- Herrera D, Hernández B, Espinosa L, Martínez L, Torres B, Adela A, Martínez A. (2012). Técnicas de complejidad variable para evaluar la absorción de fármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(1) 18-32. Obtenido de , 43(1), 18-32.
- Hoang M, Ita K, Bair D. (2015). Microagujas sólidas para administración transdérmica de clorhidrato de amantadina y diclorhidrato de pramipexol. *Farmacéutica.*, 7(4), 379–396. doi:10.3390/farmacéutica7040379 .
- Jiang J, Gill H, Ghate D, McCarey B, Patel S, Edelhofer H. (2007). Coated Microneedles for Drug Delivery to the Eye. *Investigative Ophthalmology & Visual Science.*, 48(9), 4038. doi:10.1167/iovs.07-0066 .
- Johnson R, Caudill L, Tumbleston R, Bloomquist C, Moga A, Ermoshkin A, DeSimone M. (2016). Single-Step Fabrication of Computationally Designed Microneedles by Continuous Liquid Interface Production. *PLOS ONE* , 11(9), e0162518. doi:10.1371/journal.pone.0162518 .
- Khanna P, Luongo K, Strom A, Bhansali S. (2010). Afilado de microagujas de silicona huecas para reducir la fuerza de penetración en la piel. *Micromech. Microing.* , 20 , 045011.
- Kobayashi D, Kusama M, Onda M, Nakahata N. (2011). The Effect of Pantothenic Acid Deficiency on Keratinocyte Proliferation and the Synthesis of Keratinocyte Growth Factor and Collagen in Fibroblasts. *Journal of Pharmacological Sciences*, 115(2), 230–234. doi:10.1254/jphs.10224sc.
- Krieger J, Bertollo N, Dangol M, Sheridan T, Lowery M, Cearbhaill D. (2019). Simple and customizable method for fabrication of high-aspect ratio microneedle molds using low-cost 3D printing. *Microsystems & Nanoengineering.*, 5(1). doi:10.1038/s41378-019-0088-8 .
- Laguna, M. (21 de Abril de 2022). *KENHUB*. Obtenido de Tejido adiposo: <https://www.kenhub.com/es/library/anatomia-es/tejido-adiposo>
- Lane, L. (1999). *Farmacología en Enfermería, Volumen 7*. España: Elsevier .
- Larrañeta E, Lutton E, Woolfson D, Donnelly F. (2016). Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development. *Materials Science and Engineering: R: Reports.*, 104, 1–32. doi:10.1016/j.mser.2016.03.001 .
- Lastres J, Vila J. (2008). *Tecnologías Farmacéuticas II*. Síntesis Editorial México: ISBN: 9788477385387, 8477385386.

- Liebl H, Kloth C. (20123). Skin Cell Proliferation Stimulated by Microneedles. *Journal of the American College of Clinical Wound Specialists.*, 4(1), 2–6. doi:10.1016/j.jccw.2012.11.001 .
- Lipsky B, Hoey C. (2009). Topical Antimicrobial Therapy for Treating Chronic Wounds. *Clinical Infectious Diseases*, 49(10), 1541–1549. doi:10.1086/644732 .
- Londoño Á, Pérez C, Restrepo R, Morales N, Martínez M, Morales D. (2021). Exogenous pigmentation by silver nitrate: Dermatological and toxicological aspects, case report. *Biomedica.*, 41(2):234-239 doi: 10.7705/biomedica.5876. PMID: 34214264; PMCID: PMC8390001. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8390001/>
- Lucia I, Della M, Pinto G. (2017). La vía de absorción transdérmica Fármacos y profarmacos. *Médica dermatóloga*, 1-11.
- Luzuriaga A, Berry R, Reagan C, Smaldone A, Gassensmith J. (2018). Biodegradable 3D printed polymer microneedles for transdermal drug delivery. . *Lab on a Chip.*, 18(8), 1223–1230. doi:10.1039/c8lc00098k .
- Makvandi P, Kirkby M, Hutton A, Shabani M, Yiu C, Baghbantaraghdari Z, Donnelly F. (2021). Engineering Microneedle Patches for Improved Penetration: Analysis, Skin Models and Factors Affecting Needle Insertion. . *Nano-Micro Letters.*, 13(1). doi:10.1007/s40820-021-00611-9 .
- Makvandi P, Kirkby M, Hutton A, Shabani M, Yiu C, Baghbantaraghdari Z, Jamaledin R, Carlotti M, Mazzolai B, Mattoli V, Donnelly R. (2021). Engineering Microneedle Patches for Improved Penetration: Analysis, Skin Models and Factors Affecting Needle Insertion. . *Nano-Micro Letters.*, 13(1). doi:10.1007/s40820-021-00611-9 .
- Mark A, Matthew L. (2003). *Manual de medicina de familia. 4 ed.* España: ELSEVIER.
- Marquilles C, Alexandre S, Real J. (2015). Prevalence of infection with Staphylococcus aureus methicillin resistant in chronic wounds in primary care of Lleida: retrospective study. *Gerokomos.*, 26(4), 157-161. ISSN 1134-928X.
- Martínez R, J, Casado R. (2014). Manual práctico de enfermería comunitaria . *ELSERVIER.*, 2a ed., P. 563.
- Mascaro, J. (2017). *Claves para el diagnóstico clínico en dermatología.* España: ELSEVIER.
- McAllister D, Wang P, Davis S, Park J, Canatella P, Allen M, Prausnitz M. (2003). Microfabricated needles for transdermal delivery of macromolecules and nanoparticles: Fabrication methods and transport studies. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 100(24), 13755–13760. doi:10.1073/pnas.2331316100 .
- Meditip. (2022). *Consejos médicos para tu salud.* Obtenido de Análisis de las tres capas de la piel: estructura, función y trastornos de Meditip consejos para tu salud: <https://www.meditip.lat/el-cuerpo-humano/tres-capas-de-la-piel/>

- Meisenberg G, Simmons W. (2017). *Principios de bioquímica médica, 4e*. Barcelona España: ELSEVIER.
- Mella M, Zemelman C, Bello H, Domingez M., Gonzalez G, Zemelman R. (2001). Propiedades microbiológicas, clasificación y relación estructura-actividad de cefalosporinas e importancia de las cefalosporinas de cuarta generación. *Revista Chilena de Infectología.*, 18(1). doi:10.4067/s0716-10182001000100002 .
- Migdadi E, Courtenay A, Tekko I, McCrudden M, McAlister E. (2018). Hydrogel-forming microneedles enhance transdermal delivery of metformin hydrochloride. *Journal of Controlled Release.*, 285, 142–151. doi:10.1016/j.jconrel.2018.07.009 .
- Miller J Rucker R. (Pantothenic acid. In: Erdman JWJ, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. 375-390 de 2012). *Pantothenic acid. In: Erdman JWJ, Macdonald IA, Zeisel SH, eds. Present Knowledge in Nutrition. 10th ed.* Europe: Wiley-Blackwell. Obtenido de Pantothenic Acid: <https://lpi.oregonstate.edu/mic/vitamins/pantothenic-acid>
- Miravete, A. (2002). *Los nuevos materiales en la construcción*. México: REVERTÉ.
- Mistilis M, Bommarius A, Prausnitz M. (2015). Development of a Thermostable Microneedle Patch for Influenza Vaccination. . *Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 104(2), 740–749. doi:10.1002/jps.24283 .
- Moldovan I, Hibino N, Nakayama K. (2017). Principles of the Kenzan Method for Robotic Cell Spheroid-Based Three-Dimensional Bioprinting. . *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 23(3), 237–244. doi:10.1089/ten.teb.2016.0322 .
- Moral, E. (2017). *Desarrollo de formulaciones transdérmicas III* . Obtenido de Trabajo de Grado, Facultad de farmacia universidad complutense: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/EVA%20MORAL%20FERRES.pdf>
- MSD. (2021). *Manual de la Deficiencia Múltiple de Sulfatasa versión para profesionales*. Obtenido de Quemaduras.: <https://www.msmanuals.com/es-mx/professional/geriatr%C3%ADa/farmacoterapia-en-los-ancianos/farmacocin%C3%A9tica-en-los-ancianos#:~:text=efectos%20adversos%20gastrointestinales.-,Distribuci%C3%B3n,la%20vida%20media%20de%20eliminaci%C3%B3n>.
- Nguyen H, Bozorg B, Kim Y, Wieber A, Birk G, Lubda D, Banga A. (2018). Poly (vinyl alcohol) microneedles: Fabrication, characterization, and application for transdermal drug delivery of doxorubicin. *European Journal of Pharmace*, 129, 88–103. doi:10.1016/j.ejpb.2018.05.017.
- Nieto L, Acosta L, Bedoya M, Tapias V. (2011). Profilaxis antibiótica en quemaduras. *Universitas Medica*, 52(4) 399-408.
- OMS. (2018). *Organización Mundial de la Salud*. Obtenido de Quemaduras: Datos y cifras: <http://www.who.int/es/mews-room/fact-sheets/detail/burns>
- Orlandi, M. (2004). Piel sana y manto ácido. *Dermatología cosmética*, 121-124.

- Park J, Choi J, Moon S, Kim S, Bajracharya R, Min J, Han K. (2018). Aplicaciones farmacéuticas de la tecnología de impresión 3D: comprensión actual y perspectivas futuras. *Revista de Investigación Farmacéutica.*, doi:10.1007/s40005-018-00414-y .
- Pizarro, M. (2019). *Formulaciones tópicas y transdérmicas*. Madrid: Universidad Complutense .
- Postan D, SereDay C, E. (2020). reconstrucción de pulgar quemado con colágeno de la primera arteria metacarpiana dorsal. *Cirugía Plástica Ibero-Latinoamericana*, 46(2), 133-137.
- Prausnitz M, Langer R. (2008). Entrega transdérmica de fármacos. *Nature Biotechnology*, 26(11), 1261–1268 doi:10.1038/nbt.1504.
- Prausnitz, M. (2017). Engineering Microneedle Patches for Vaccination and Drug Delivery to Skin. *Annual Review of Chemical and Biomolecular Engineering.*, 8(1), 177–200. doi:10.1146/annurev-chembioeng-060816-101514.
- Prieto L, Hernandez I. (2015). *¿Qué significa estadísticamente significativo? La falacia del criterio del 5% en la investigación científica*. Madrid España: Díaz de Santos.
- Raphael A, Crichton M, Falcone R, Meliga S, Chen, X, Fernando G Kendall M. (2016). Formulations for microprojection/microneedle vaccine delivery: Structure, strength and release profiles. *Journal of Controlled Release.*, 225, 40–52. doi:10.1016/j.jconrel.2016.01.027 .
- Reyes, Solis J. (2006). *Diccionario de especialidades Farmacéuticas*. . THOMSON. .
- Rios, A. (2019). *Diseño, desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de glibenclamida usando microagujas y un promotor químico como posible alternativa para el incremento de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo II*. México: (Tesis Doctoral) UNAM.
- Rivas K, Rivas M, Dávila E, Rodríguez M. (2002). Cefalosporinas: De la Primera a la Cuarta Generación. *Revista de la Facultad de Medicina.*, 25(2): 142-153 ISSN 0798-0469.
- Rodríguez, I. (1998). Agentes promotores de la permeación percutánea. *Revista Cubana de Farmacia.*, 32(1), 68-75 ISSN 1561-2988.
- Rudnykh S, López V. (2018). Elección de la función de deseabilidad para diseños óptimos bajo restricciones. *Escuela de Ingeniería de Antioquia*, 15 (30) 13-24 doi.org/10.24050/reia.v15i30.903.
- Salem Z, P. J. (2000). Heridas. Conceptos generales. . *Cuadernos de Cirugía*, 14(1) 90-99. Doi:10.4206/cuad.cir.2000.v14n1-15.
- Saúl G, Martínez G. (2015). *Lecciones de dermatología, 16e*. México: MCGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V. ISBN: 978-607-15-1283-3.
- Secretaria de salud. (27 de abril de 2021). www.gob.mx. Obtenido de Cuenta México con centro de alta especialidad para atender quemaduras graves.:

<https://www.gob.mx/salud/prensa/170-cuenta-mexico-con-centro-de-alta-especialidad-para-atender-quemaduras-graves>

- Serbin J, Egbert A, Ostendorf A, Chichkov B, Houbertz R, Domann G, Schulz J, Cronauer C, Fröhlich L, Popall M. (2003). "Femtosecond laser-induced two-photon polymerization of inorganic-organic hybrid materials for applications in photo. *Optics Letters*, 28(5), 301. doi:10.1364/ol.28.000301 .
- Siddiqui A, Bernstein J. (2010). Chronic wound infection: Facts and controversies. *Clinics in Dermatology*, 28(5), 519–526. doi:10.1016/j.clindermatol.2010.03.009 .
- similarmore. (2022). *similarmore.es*. Obtenido de ¿Qué es el modelo Peppas de Korsmeyer?: <https://www.similarmore.es/que-es-el-modelo-peppas-de-korsmeyer/>
- Suardíaz J, Pérez M, Cabrera A, Carmo R. (2021). Combinando Impresión 3D y electrónica como estrategia para mejorar la experiencia de aprendizaje. *RIED-Revista Iberoamericana De Educación a Distancia.*, 24(1), 115–135. <https://doi.org/10.5944/ried.24.1.27596>.
- Sulaiman D, Chang J, Bennett N, Topouzi H, Higgins C, Irvine D, Ladame S . (2019). Hydrogel-Coated Microneedle Arrays for Minimally-Invasive Sampling and Sensing of Specific Circulating Nucleic Acids from Skin Interstitial Fluid. *ACS Nano.*, doi:10.1021/acsnano.9b04783 .
- Suñé, J. (2020). *Nuevas aportaciones galénicas a las formas de administración*. México: PROMEDIC.
- Svarch, Eva, Arteaga, Rafael, Pavón Morán, Valia, & González Otero, Alejandro. (2001). Las histiocitosis. . *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.*, 17(3), 151-163. Obtenido de <http://scielo.sld.cu/scielo.php>
- Takada K, Sun B, Kawata S. (2005). Improved spatial resolution and surface roughness in photopolymerization-based laser nanowriting. . *Applied Physics Letters.*, 86(7), 071122. doi:10.1063/1.1864249 .
- Tarnuzzer R W, Schultz G S. (1996). Biochemical analysis of acute and chronic wound environments. *Wound Repair Regen*, 4, 321–325 .
- Tortora, G. (2018). *Principios de anatomía y fisiología, Editorial*. México: Médica Panamericana.
- Uhrich K, Cannizzaro S, Langer R, Shakesheff K. (1999). Polymeric Systems for Controlled Drug Release. . *Chemical Reviews.*, 99(11), 3181–3198. doi:10.1021/cr940351u .
- Velázquez, G. (2004). *Mecánica de fractura 2ed*. México: LIMUSA.
- Waghule T, Singhvi G, Dubey S, Pandey M, Gupta G. (2019). Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system. *Biomedicine & Pharmacotherapy.*, 109, 1249–1258. doi:10.1016/j.biopha.2018.10.078.

- Weimann B, Hermann D. (1999). Estudios sobre cicatrización de heridas: efectos del D-pantotenato de calcio sobre la migración, proliferación y síntesis de proteínas de fibroblastos dérmicos humanos en cultivo. *Revista internacional de investigación sobre vitaminas y nutrición*, 69(2), 113–119. doi:10.1024/0300-9831.69.2.113.
- Wiederholt T, Heise R, Skazik C, Marquardt Y, Jousen S, Erdmann K, Schroder H, Merk H, Baron J. (2009). Calcium pantothenate modulates gene expression in proliferating human dermal fibroblasts. *Experimental Dermatology*, 18(11), 969–978. doi:10.1111/j.1600-0625.2009.00884.x .
- Yu J, Zhang Y, Ye Y, DiSanto R, Sun W, Ranson D, Gu Z. (2015). (2015). Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery. *Proceedings of the National Academy of Sciences.*, 112(27), 8260–8265. doi:10.1073/pnas.1505405112 .
- Yuan W, Xiaoyun H, Zaozhan W, Chen L, Liu Z, Fei W. (2013). Liangming W Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. *Drug Design, Development and Therapy.*, 945. doi:10.2147/dddt.s44401.
- Yung K, Xu Y, Kang C, Liu H, Tam K, Ko S, Lee T. (2011). Sharp tipped plastic hollow microneedle array by microinjection moulding. *Journal of Micromechanics and Microengineering.*, 22(1), 015016. doi:10.1088/0960-1317/22/1/0150.

11. Anexos

11.1. Anexo 1: Certificado de la participación en el XXX Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica y a la XXVI Reunión de Estudiantes de Farmacia.

 	<p>F-07809</p> <p>El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.</p> <p>y la Universidad Internacional de las Américas, San José, Costa Rica</p>
<p>Otorgan la presente</p>	<p>CONSTANCIA</p> <p>a: pLic. en Farmacia Luis Fernando Castillo Carmona, Dr. Pablo Serrano Castañeda, Dr. José Juan Escobar Chávez.</p>
	<p>Por su participación como PONENTES del trabajo titulado: “Desarrollo y caracterización de microagujas cargadas con ceftriaxona como novedoso tratamiento para pie diabético y cicatrización de heridas” en el XXX Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica y a la XXVI Reunión de Estudiantes de Farmacia, realizado los días 22 al 25 de marzo de 2022.</p>
<p>Ciudad de México, a 25 de marzo de 2022</p> <p>QUÍMICOS FARMACÉUTICOS BIÓLOGOS MÉXICO, A.C.</p>	<p> Dr. Ricardo Sancho Calvo Director de Farmacia de la UIA.</p> <p> DAR Juan José Díaz Esquivel Presidente Comisión de Educación del CNQFEBM, A.C.</p> <p> DESS Rosalío Cruz Rodríguez Presidente Comisión de Reunión Nacional de Estudiantes de Farmacia del CNQFEBM, A.C.</p> <p> QFB María Catalina Díaz Gutiérrez Presidente Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.</p>
<p>CRC's = Créditos para el Refrendo de la Certificación (0.6 Crc's por hora de capacitación), avalado por la Subcomisión de Educación Continua del COMECEP. Registro de Idoneidad DGP-SEP: SEP/DGP/CP089/17. NOTA: Para ser válida en términos de certificación, esta constancia deberá estar impresa, contar con el sello del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C. y cuando menos, una firma autógrafa.</p>	

11.2. Anexo 2: Certificado de la participación en el XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

 UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

Departamento de Ciencias Médicas, División de Ciencias de la Salud
Universidad de Guanajuato, Campus León

XXII Reunión Internacional de Ciencias Médicas

24-26 Agosto 2022

OTORGA LA PRESENTE
CONSTANCIA

A:
LUIS FERNANDO CASTILLO CARMONA

POR SU PARTICIPACIÓN CON EL TRABAJO LIBRE:
DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROAGUJAS CARGADAS CON CEFTRIAXONA COMO NOVEDOSO TRATAMIENTO DE HERIDAS CRÓNICAS

EN COAUTORÍA CON:
JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ . PABLO SERRANO CASTAÑEDA .

24, 25 y 26 de Agosto del 2022 en León, Gto.
"LA VERDAD OS HARÁ LIBRES"


Dr. Tonatiuh García Campos
Director de División de Ciencias de la Salud


Dra. Claudia Lúévano Contreras
Directora del Departamento de Ciencias Médicas


Dra. Lorena del Rocio Ibarra Reynoso
Coordinadora de la Maestría en Ciencias Médicas


Dra. María Luisa Lazo de la Vega Monroy
Coordinadora del Doctorado en Ciencias Médicas

11.3. Anexo 3: Validación del método de cuantificación de ceftriaxona

DEVELOPMENT OF A SPECTROPHOTOMETRIC ANALYTICAL METHOD TO QUANTIFY CEFTRIAXONE CONTENT IN POLYMERIC MICRONEEDLES

Pablo Serrano-Castañeda,¹ Diego Alonso Pérez-Gutiérrez,¹
Luis Fernando Castillo-Carmona,¹ Ericka Anguiano-Almazán,¹
and José Juan Escobar-Chávez^{1,*}

Original article submitted October 30, 2021.

Ceftriaxone is a third-generation antibiotic which has a broad spectrum of activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms. Normally, microorganisms that are present in wounds include *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis*, and *E. coli*, which do not allow tissues to regenerate. This work was aimed at developing a spectrophotometric method to determine ceftriaxone loaded in polymeric microneedles for the treatment of chronic wounds. Regression equation of the method is linear in a concentration range of 16 – 48 µg/mL (correlation coefficient of 0.9998) at a selected detector wavelength of 274 nm. The detection and quantification limits are 2.57×10^{-3} and 8.59×10^{-3} µg/mL, respectively. The developed method demonstrated good inter-day and intra-day precision with an RSD < 2. The percentage recovery of ceftriaxone was 98.53%. In conclusion, the spectrophotometric method with detection at 274 nm is specific, reproducible, accurate and robust for the determination of ceftriaxone in polymeric microneedles of polymethyl vinyl ether-alt-maleic anhydride (PMVE/MA) at 95% confidence interval.

Keywords: ceftriaxone; polymeric microneedles; PMVE/MA; spectrophotometric determination.

1. INTRODUCTION

Ceftriaxone is a third-generation cephalosporin approved by the US FDA for intravenous or intramuscular administration, which has a broad spectrum of activity against Gram-positive and Gram-negative microorganisms. Ceftriaxone (Fig. 1) has been used for the treatment of infections like meningitis, gonorrhoea, and pneumonia [1 – 3]. The available literature described some methods for the analysis of ceftriaxone sodium such as bioassay [4], HPLC [5 – 8], capillary electrophoresis [9], mass spectrometry [10], fluorimetry [11, 12], spectrophotometry [13 – 15]. However, none of these has been applied for the spectrophotometric analysis of ceftriaxone microneedles. In this work, we developed a method to determine the ceftriaxone loaded in microneedles made of poly[methyl vinyl ether-alt-maleic acid] (PMVEMA). The use of polymeric microneedles in wound

treatment offers an interesting alternative with a more localized way. Normally, the microorganisms that are present in wounds are *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *P. mirabilis* and *E. coli*, which do not allow tissues to regenerate rapidly [16]. Polymeric microneedles are feasible to produce on an industrial level and can also be used as a physical drug penetration enhancer [17 – 19], which allows for microinjections, and this increases the diffusion of drugs through the skin. Another important advantage of the use of microneedles is that it allows cell proliferation [20] and when they are loaded with ceftriaxone, which is a broad-spectrum antibiotic, it allows their release in a more localized way compared to the intravenous or intramuscular route.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1. Chemicals and Reagents

We used analytical grade reagents that met the specifications of the Analytical Chemistry Society (ACS) and were as follows: Ceftriaxone disodium salt hemi(heptahydrate) (Sigma Aldrich analytical standard), Ceftriaxone (AMSA, Mexico), Milli-Q quality distilled water (Millipore Inc), pro-

¹ Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Investigación Multidisciplinaria, Laboratorio 12: Sistemas Transdérmicos, Carretera Cuautitlán Teoloyucan, km 2.5 San Sebastián Xhala, Cuautitlán Izcalli, Estado de México, C. P 54714, México.

* e-mail: josejuanesobcar@comunidad.unam.mx

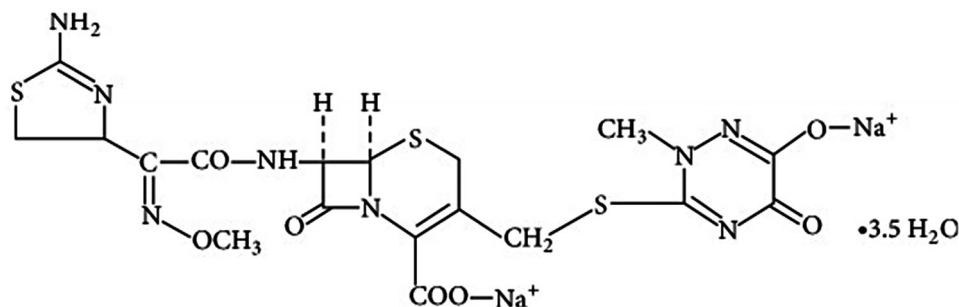


Fig. 1. Chemical structure of ceftriaxone.

polyethylene glycol (BASF Mexico), D-panthenol (BASF Mexico), collagen (Lubrizol Mexico), Poly [methyl vinyl ether-maleic acid] Mw ~216000 (Sigma Aldrich Mexico).

2.2. Instrumentation

The optical absorption spectra were measured from 500 nm to 250 nm in scan mode, at a scanning speed of 0.2 nm/s, at 25°C in a Velab VE-5100 UV-Vis spectrophotometer, using quartz cells with a 1 cm optical path. A reference solution was ceftriaxone disodium salt hemi(heptahydrate).

2.3. Microneedle Array Preparation

Ceftriaxone-loaded polymeric microneedles were prepared by the micromoulding method [1]. Results of the characterization of microneedles loaded with ceftriaxone are shown in Table 1. Figure 2 shows an image of the microneedle polymeric array generated. Table 1 presents data on 12 formulations according to the Box-Behnken design: the

TABLE 1. Results of Characterization of the Polymeric Microneedles Loaded with ceftriaxone

Formulation	Bioadhesion	Post wetting bioadhesion	Breaking strength	Drug release
	g.f	g.f	g. f	%
1	479	939.5	0	27.91
2	655	760	4491	24.45
3	569	677.5	4494	30.12
4	656.5	702.5	4459	21.32
5	684	701	0	25.88
6	584	918.5	0	34.09
7	610.5	913	4551	32.74
8	565	1130	4549	32.44
9	548.5	1038	4528	54.50
10	811.5	1347	4450	29.43
11	572	1203.5	4460	31.18
12	954	1081	4567	41.37

factors were the concentration of d- panthenol and collagen and the evaluated variables included bioadhesion, post-wetting bioadhesion, breaking strength and drug release. These formulations were previously characterized using the Brookfield CT3 texture analyzer.

The test conditions for bioadhesion and post wetting bioadhesion were as follows: with a cylindrical probe (10,18 cm² perplex cylinder) a preliminary test speed of 2 mm/s until contacting the microneedle array (4 cm²), a loading force of 6.8 g was applied at a speed of 0.5 mm/s. Finally, the probe was withdrawn at a speed of 4.5 mm/s until a separation distance of 100 mm was obtained (thus, providing a measure of the bioadhesion force). Regarding the post wetting bioadhesion test, the microneedle arrays were hydrated with distilled water (3 mL) for 10 min before performing the test. Finally, to determine the resistance to breakage of the microneedle arrays, the determinations were made with a 4.5 kg load cell. The microneedle arrays were fixed on the base of the texturometer and the determinations were made with a pre-test speed of 2 mm/s, an activation load of 304 g and a test speed of 0.5 mm/s, removing the probe at a speed of 4.5 mm/s, determining the necessary force at which the microneedle arrays break or fracture.

2.4. Analytical Procedure

Standard stock solution. Aliquots (10 mg) of ceftriaxone disodium salt were accurately weighed and transferred to 100 mL volumetric flask and dissolved in distilled water. The volume was adjusted to the mark to finally obtain a concentration of 100 µg/mL. The systems were prepared to

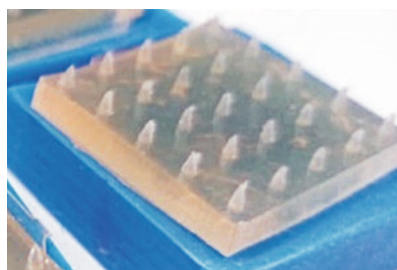


Fig. 2. Polymeric microneedle array loaded with ceftriaxone.

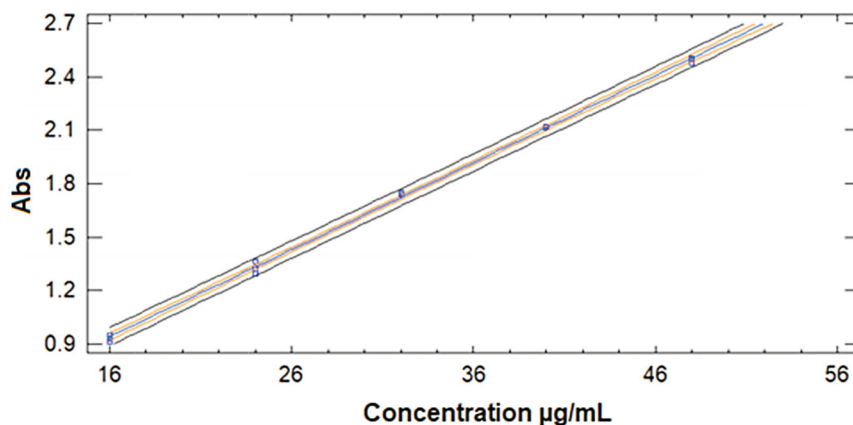


Fig. 3. Calibration curve of ceftriaxone at 274 nm.

take different volumes of stock solution and adjust the volume with distilled water. The concentrations of the solutions to prepare the calibration curves were in a range of 16 $\mu\text{g/mL}$ to 48 $\mu\text{g/mL}$.

Selection of wavelength for florfenicol analysis. 10 mg of ceftriaxone disodium salt accurately weighed were transferred to a 100 mL volumetric flask and dissolved. Finally, the volume was adjusted to the mark (solution A), then 5 mL of solution A were taken and added to a 10 mL volumetric flask, the volume was adjusted to the mark. The resulting solution with a concentration of 50 $\mu\text{g/mL}$ was scanned in the UV range of 200 to 400 nm obtaining the ceftriaxone spectrum and selecting a wavelength of 274 nm as maximum absorption length.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Method Validation

The proposed method was validated in terms of linearity, accuracy, precision, sensitivity, repeatability, and ruggedness according to ICH guidelines.

Stability of analytical solutions. The stability of ceftriaxone solution at a concentration of 32 $\mu\text{g/mL}$ was stored at 4°C protected from the light and it was evaluated by measuring the absorbance of ceftriaxone at 0, 1, 2, 3, and 4

days (Table 2). No changes in the absorbance were observed when the solution was analyzed.

Linearity study. Calibration curves were measured in triplicate by taking aliquots of ceftriaxone stock solution. These aliquots were transferred into a series of 10 mL volumetric flasks and the volume was made up to the mark with distilled water to get concentrations of 16, 24, 32, 40, and 48 $\mu\text{g/mL}$ (Fig. 3). The test's lack of fit was treated with the Statgraphics Centurion XV software at 274 nm (Table 3). The obtained results fit the linear model.

The lack of fit in Table 3 gives details of the model if it fits the data well. The test involves an estimate of pure error based on a sum of squares, using these replicated observations. The difference between the error sum of squares from

TABLE 2. Stability of the Analytical Solution of Ceftriaxone on Storage

Day	Concentration ($\mu\text{g/mL}$)
0	32
1	32
2	32
3	32
4	32

TABLE 3. Analysis of Variance with the Lack of Fit at 270 nm

	Sum of squares	Gl	Middle square	F	P-value
Model	4.61392	1	4.61392	9791.49	0
Residue	0.00612582	13	0.000471217		
Lack of fit	0.00247324	3	0.000824414	2.26	0.1442
Pure error	0.00365258	10	0.000365258		
Total	4.62005	14			

TABLE 4. Linearity of ceftriaxone Determination

Concentration (µg/mL)	Absorbance (mean ± SD) <i>n</i> = 3	% RSD
16	0.92 ± 0.020	0.022
24	1.32 ± 0.034	0.026
32	1.74 ± 0.006	0.004
40	2.11 ± 0.005	0.002
48	2.49 ± 0.014	0.006

the model and the pure error sum of squares is called the lack of fit sum of squares. The lack of fit variation can be significantly greater than the pure error variation if the model is not adequate.

The regression equation showed good linear relationship over the florfenicol concentration range from 16 to 48 µg/mL for (Table 4). The linear regression equation obtained was as follows:

$$\text{Abs} = 0.153247 + 0.0490213 * [\text{Ceftriaxone}], (r^2 = 0.9986).$$

Accuracy. The accuracy was estimated using drug solutions with various concentrations prepared from standard stock solution covering the range of 10 – 30 µg/mL. The results of recovery studies (Table 5) showed that the % amount

TABLE 5. % Recovery of Ceftriaxone Additions

Drug concentration loaded, µg/mL (<i>n</i> = 3)	Drug concentration recovered, µg/mL (<i>n</i> = 3)	% Recovery	%RSD
10.14	9.94	98.04	0.001
15.20	14.97	98.50	0.010
20.28	19.82	98.22	0.007
25.35	25.19	99.38	0.005
30.37	29.92	98.5	0.002

TABLE 6. Evaluation of Precision of the Method of Ceftriaxone Analysis

Concentration (µg/mL)	Intra-day precision (<i>n</i> = 3)		Inter-day precision (<i>n</i> = 3)	
	Concentration found (µg/mL)	%RSD	Concentration found (µg/mL)	%RSD
32	31.54	0.006	31.53	0.012
32	31.35	0.006	31.87	0.006
32	31.5	0.006	31.87	0.002

TABLE 7. Estimation of the Accuracy of Drug Analysis

Sample of florfenicol µg/mL (<i>n</i> = 6)	Amount taken (%)	%RSD
32	100.28 ± 0.30	0.009

* Average of six measurements

found was between 98.04% and 99.38% with a % RSD < 2. The obtained results indicate that the proposed method is accurate.

Precision. The Intra-day and inter-day precision was estimated by analyzing ceftriaxone sample solutions of 32 µg/mL concentration. Percentage relative standard deviation (% RSD), showed that reproducibility of the assay was <2, indicating that this method was precise (Table 6).

Sensitivity. The sensitivity of florfenicol concentration measurements was estimated in terms of the limit of quantification and limit of detection (LOQ and LOD) given by the following equations:

$$\text{LOD} = 3.3 \times \sigma/S$$

$$\text{LOQ} = 10 \times \sigma/S$$

where σ is the standard deviation of the response (*n* = 6) taken as a measure of noise and *S* is the slope of the corresponding calibration curve. It was found that

$$\text{LOD} = 2.57 \times 10^{-3} \text{ µg/mL}$$

and

$$\text{LOQ} = 8.59 \times 10^{-3} \text{ µg/mL}.$$

Repeatability. The method accuracy was estimated by repeated analysis of the solution of ceftriaxone with a concentration of 32 µg/mL. The test was repeated six times and the mean square deviation found was between 99.98% and 100.58% with % RSD < 2 (Table 7).

Robustness. Robustness was estimated for a set of solutions with drug concentrations of 32 µg/mL by analysis of aliquots from a homogenous slot by two analysts using otherwise the same operational and environmental conditions. The determinations for each analyst were developed by sextuplicate. The results are given in Table 8. As can be seen,

TABLE 8. Robustness Evaluation

Concentration taken (µg/mL) (<i>n</i> = 6)	Amount found (%)	
	Analyst I SD	Analyst II SD
32	98.88 ± 0.85	101.02 ± 1.59

TABLE 9. Summary of Method Validation Parameters

Validation parameter	Acceptance criteria	Result	Acceptance
		274 nm	274 nm
Repeatability	% RSD < 3%	0.009	Yes
System linearity	$y = mx + b$	$A = 0.153247 + 0.0490213 * [\text{Ceftriaxone}]$	Yes
	$R^2 > 0.98$	0.9986	
Method linearity	$y = mx + b$	$A = -0.102649 + 0.991306 * [\text{Ceftriaxone mg/mL}]$	Yes
	$R^2 > 0.98$	0.9996	
Precision	% RSD for the recovery < 3%	0.2 – 0.12%	Yes
Accuracy	%RSD %	%RSD < 2%	Yes
Sensibility Informative	LOD	$2.57 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$	Yes
	LOQ	$8.59 \times 10^{-3} \mu\text{g/mL}$	Yes
Robustness Informative	%RSD < 2%	%RSD < 2%	Yes

the % RSD of each analyst was less than 2%, thus indicating of the proposed robustness method.

Quantification of ceftriaxone in microneedles. The microneedle array samples loaded with ceftriaxone (20 mg/microneedle array) were dissolved in 25 mL water, then the solution was transferred to a 100 mL volumetric flask, from which 4 mL sample was taken and transferred to a 25 mL volumetric flask and the volume made up of distilled water. The concentrations were calculated from the linear regression equation. The % drug amount found was between 98.13% and 103.02%. The validation parameters are summarized in Table 9.

In concluding, a simple, accurate, reproducible, precise, and sensitive spectrophotometric analytical method has been developed to determine the concentration of ceftriaxone loaded in polymeric microneedle arrays.

FUNDING

Dr. Serrano Castañeda wants to acknowledge Conacyt and BASF México. Dr. Escobar Chávez wants to acknowledge PAPIIT IG 100220, PAPIME PE 201420, Cátedra de Investigación: CI-2206 and CONACYT CF 140617.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that they have no conflicts of interest.

REFERENCES

- N. A. Alhakamy, G. Caruso, B. Eid, et al., *Pharmaceutics*, **13**(10), 3 – 19 (2021).
- A. Takahiro, M. Daisuke, M. Takano, et al., *IDSA*, **73**(8), 1452 – 1458 (2021).
- C. Venturini, B. Bowering, A. Fajardo, et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **65**(2), 1504 – 1520 (2021).
- M. Kan, H. Y. Shi., B. Han, et al., *Antimicrob. Agents Chemother.*, **65**(1), 1 – 10 (2020).
- M. A. Akl, M. A. Ahmed, A. Ramadan, et al., *J. Pharm. Biomed.*, **55**(2), 247 – 252 (2011).
- A. Salman, *Egypt. J. Chem.*, **64**(9), 4901 – 4906 (2021).
- K. Y. Patel, Z. R. Dedania, R. R. Dedania, *FJPS*, **7**(1), 141 – 151 (2021).
- M. T. da Trindade, A. C. Kogawa, H. R. Nunes, *J. Chromatogr. Sci.*, **60**(3) 1 – 7 (2021).
- G. Pajchel, S. Tyski, *J. Chromatogr. A*, **895**(1), 27 – 31 (2000).
- M. Ongas, J. Standing, B. Ogutu, et al., *Wellcome Open Res.*, **2**(43), 1 – 34 (2017).
- L. I. Bebaawy, K. El Kelani, L. A. Fattah, et al., *J. Pharm. Biomed.*, **32**(6), 1219 – 1225 (2003).
- J. Shah, M. R. Jan, S. Shah, et al., *J. Fluoresc.*, **21**(6), 2155 – 2163 (2011).
- H. Assaf, B. Bushra, *J. Pharm. and Tech.*, **14**(4), 1928 – 1932 (2021).
- W. Zhao, Y. Zhang, Q. Li, *Clin. Chim. Acta*, **391**(1 – 2), 80 – 84 (2008).
- M. T. da Trindade, H. R. N. Salgado, *Crit. Rev. Anal. Chem.*, **48**(2), 95 – 101 (2018).
- L. J. Bessa, P. Fazii, G. Giulio, et al., *Int. Wound J.*, **12**(1), 47 – 52 (2015).
- P. Serrano, C. L. Dominguez, I. M. Rodriguez, et al., *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **21**(9), 852 – 861 (2020).
- P. Serrano-Castañeda, J. J. Escobar-Chavez, I. M. Rodriguez, et al., *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **21**(1), 73 – 93 (2018).
- M. I. Morales-Flrido, J. E. Miranda-Calderón, M. A. Gómez-Sámamo, and J. J. Escobar-Chavez, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, **25**, 93 – 109 (2022).
- J. Xu, D. Xu, X. Xuan, et al., *MDPI*, **26**(19), 5912 (2012).