



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA DE QUÍMICA Y FARMACIA



Modalidad: Investigación

TEMA:

“Evaluación de la absorción intestinal de microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya para la incorporación del gemfibrozilo”

TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO PARA OPTAR POR EL GRADO DE QUÍMICOS Y FARMACÉUTICOS

AUTORES:

Vicente David Carvajal Man-Hing

Daniela Yamileth Pincay Cedeño

TUTORA:

Carolina Del Rosario Santiago Dugarte PhD.

COTUTORA:

Fernanda Kolenyak dos Santos PhD.

2018-2019

Guayaquil – Ecuador



FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	CARVAJAL MAN-HING VICENTE DAVID PINLAY CEDEÑO DANIELA YAMILEHT		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Ileana Apodaca Rosado Ruiz, PhD (Tutor revisor) Carolina Del Rosario Santiago Dugarte, PhD (Tutor); Fernanda Kolenyak dos Santos, PhD (Cotutora)		
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil		
UNIDAD/FACULTAD:	Ciencias Químicas		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	Tercer Nivel Químicas Farmacéutico		
FECHA DE PUBLICACIÓN:		No. DE PÁGINAS:	51
ÁREAS TEMÁTICAS:	Tecnología Farmacéutica		
PALABRAS CLAVES/KEYWORDS:	Absorción intestinal, biomodelo, gemfibrozilo, microemulsiones, saco intestinal invertido		
RESUMEN/ABSTRACT (150-250 palabras): El gemfibrozilo, es un fármaco muy utilizado para el tratamiento de la hipercolesterolemia. A pesar de ello, presenta algunos problemas que limitan su uso, como la baja solubilidad en agua lo que dificulta la biodisponibilidad. Como alternativa para mejorar las limitaciones; las microemulsiones son sistemas termodinámicamente estables, de gran interés ya que pueden actuar como vehículos de liberación de fármacos. El presente trabajo tuvo como finalidad realizar un estudio experimental <i>ex vivo</i>, empleando el modelo del saco intestinal invertido. El método se realizó utilizando cobayos, los cuales fueron mantenidos en ayunas por un periodo de 8 horas con agua <i>ad libitum</i>. Los animales fueron anestesiados con ketamina/diazepam (100mg/5mg) para la remoción del intestino. Los resultados mostraron que las MEs aumentaron la absorción intestinal del GFZ tanto para el intestino delgado (ID) como en el colon. Con los resultados presentados, se sugiere que las microemulsiones son potenciales transportadores de fármacos lipofílicos.			
ADJUNTO PDF:	☒ SI	☐ NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: 0992722736 0988884502	E-mail: vicente.carvajalm@ug.edu.ec daniela.pincayc@ug.edu.ec	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: Sede Ciencias Químicas Teléfono: 052970459 E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		

Guayaquil, 16 de enero del 2019

Sr. /Sra.

Q.F. Marianita de Jesús Rendón Mariscal M.sc
DIRECTOR (A) DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación: **Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya** de los estudiantes **Daniela Yamileht Pincay Cedeño y Vicente David Carvajal Man-Hing**, indicando ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de titulación con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,



Carolina del Rosario Santiago Dugarte

C.I. 1757829237

Guayaquil, 13 de febrero de 2019

Sr. /Sra.

**Marianita de Jesús Rendón Mariscal MSc.
DIRECTOR (A) DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del Trabajo de Titulación **“Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya”** del estudiante **Vicente David Carvajal Man-Hing**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 16 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- El 75 % de los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante **Vicente David Carvajal Man** está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,



DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0959504481.

Guayaquil, 13 de febrero de 2019

Sr. /Sra.

Marianita de Jesús Rendón Mariscal MSc.
DIRECTOR (A) DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del Trabajo de Titulación **“Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya”** de la estudiante **Daniela Yamileth Pincay Cedeño**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

- El título tiene un máximo de 16 palabras.
- La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.
- El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad.
- La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.
- El 75 % de los soportes teóricos son de máximo 5 años.
- La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado, el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que la estudiante **Daniela Yamileth Pincay Cedeño** está apta para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,



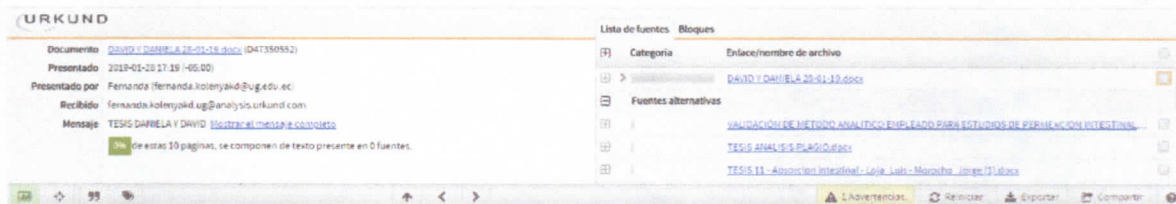
DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0959504481

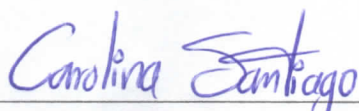
CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Carolina del Rosario Santiago Dugarte**, tutor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación ha sido elaborado por **Vicente Carvajal Man-Hing, C.C.: 0930941828** y **Daniela Pincay Cedeño, C.C.: 0931471338**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **Químico y Farmacéutico**.

Se informa que el trabajo de titulación: **Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya**, ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio (URKUND) quedando el 0% de coincidencia.

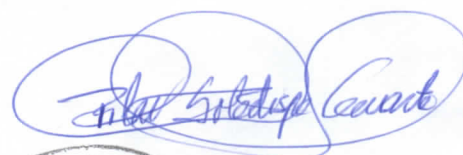


<https://secure.arkund.com/view/46271129-848527-770450#q1bKLvayio7VUSrOTM/LTMtMTsxLTIWYmMgFAA==>



Carolina del Rosario Santiago Dugarte

C.I. 1757829237



Urkund Analysis Result

Analysed Document: DAVID Y DANIELA 28-01-19.docx (D47350552)
Submitted: 1/28/2019 11:19:00 PM
Submitted By: fernanda.kolenyakd@ug.edu.ec
Significance: 0 %

Sources included in the report:

Instances where selected sources appear:

0

Carolina Santiago



Fernanda Solís de Caceres



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA**



UNIDAD DE TITULACIÓN

Guayaquil, 1 de Febrero del 2019

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutores del trabajo de titulación, Certificamos: Que hemos asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es **“Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya.”**, presentado por Carvajal Man-Hing Vicente David, con cédula de ciudadanía N° 0930941828 y Pincay Cedeño Daniela Yamileht con cédula de ciudadanía N° 0931471338, previo a la obtención del título de Química y Farmacéutica.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Anti-plagio del programa URKUND. Lo certifico-

FIRMA DE TUTOR DE TESIS

Carolina del Rosario Santiago Dugarte PhD

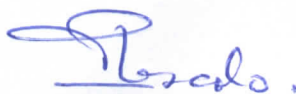
FIRMA DE CO-TUTOR DE TESIS

Fernanda Kolenyak Dos Santos PhD

Guayaquil, 13 de febrero del 2019

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado **Ileana Rosado Ruiz-Apodaca**, tutor revisor del trabajo de titulación certifico que el presente trabajo de titulación **"Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya"**, elaborado por **Vicente David Carvajal Man-Hing**, con C.I. No. **0930941828** y **Daniela Yamileht Pincay Cedeño** con C.I. No. **0931471338**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de **Químico Farmacéutico**, en la Carrera/Facultad, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.



Lcda. Ileana Rosado Ruiz-Apodaca

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. No. 0959504481

CERIFICADO DEL TRIBUNAL

Acta de Registro de la Sustentación Oral

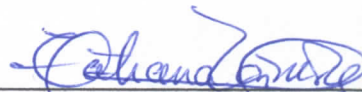
El tribunal de sustentación de **VICENTE DAVID CARVAJAL MAN-HING** con cédula de ciudadanía 0930941828 y **DANIELA YAMILEHT PINCAY CEDEÑO** con cédula de ciudadanía 0931471338, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral da por aprobado el trabajo de titulación.



Lcda. Ileana Rosado Ruiz-Apodaca, PhD.
Presidente Miembro 1 del tribunal



Q.F. María del Carmen Villacres Cevallos PhD.
Docente Miembro 2 del tribunal



Q.F. Tatiana Ivette Zamora Zamora, PhD.
Docente Miembro 3 del tribunal



Ab. Francisco Palomeque Romero
SECRETARIO GENERAL

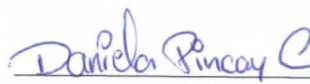
LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Yo, **Vicente David Carvajal Man-Hing** con C.I. No. **0930941828** y **Daniela Yamileht Pincay Cedeño** con C.I. No. **0931471338**, certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **"Evaluación de la absorción intestinal de microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya para la incorporación del gemfibrozilo"** son de mi absoluta propiedad y responsabilidad Y SEGÚN EL Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo, como fuera pertinente.



Vicente David Carvajal Man-Hing

C.I. No. **0930941828**



Daniela Yamileht Pincay Cedeño

C.I. No. **0931471338**

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n. 899 - Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores, e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos, u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

UNIDAD DE TITULACIÓN

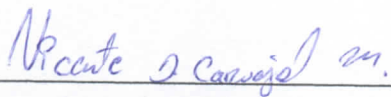
CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO DE TITULACIÓN:

"EVALUACIÓN DE LA ABSORCIÓN INTESTINAL DEL GEMFIBROZIL EN MICROEMULSIONES ESTABILIZADAS CON TWEEN 80 Y LECITINA DE SOYA"

Guayaquil, 13 de Marzo del 2019

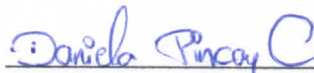
Nosotros, **VICENTE DAVID CARVAJAL MAN-HING** y **DANIELA YAMILEHT PINCAY CEDEÑO**, autores de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este **TRABAJO DE TITULACIÓN** nos corresponde a nosotras exclusivamente, y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de nuestra autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratificamos que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad Nacional, ni una extranjera.



VICENTE DAVID CARVAJAL MAN-HING

C.I. 0930941828



DANIELA YAMILEHT PINCAY CEDEÑO

C.I. 0931471338

Agradecimientos

Damos gracias en primer lugar a Dios, por guiarnos en esta etapa de nuestra vida, por darnos la sabiduría e inteligencia para culminar con éxito una de las experiencias más importante para nuestro futuro y de esta manera poder contribuir a la sociedad con los conocimientos adquiridos.

A nuestros padres y familiares, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ellos hemos logrado llegar hasta aquí y convertirnos en lo que ahora somos.

Queremos expresar nuestro más generoso y grande agradecimiento a nuestra Tutora **Dra. Carolina del Rosario Santiago Dugarte** quien con su enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que podamos crecer como profesionales, gracias por su paciencia y su dedicación y a nuestra Cotutora **Dra. Fernanda Kolenyak Dos Santos** por su enseñanza, apoyo incondicional y colaboración no solo durante el trabajo de tesis, sino también por brindarnos las herramientas necesarias para desarrollarnos profesionalmente y poder seguir cultivando nuestras virtudes.

Vicente David Carvajal Man-Hing

Daniela Yamileht Pincay Cedeño

ÍNDICE

RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XII
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PROBLEMA.....	3
I.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	4
I.2 HIPÓTESIS.....	4
I.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	5
I.4 OBJETIVOS	6
I.4.1 OBJETIVO GENERAL.....	6
I.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	6
I.5 VARIABLES.....	7
I.5.1 Variable Dependiente	7
I.5.2 Variable Independiente.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TERÓRICO	8
II.1 Las hiperlipidemias	8
No Farmacológico.....	10
Farmacológico	10
Referencia.....	10
II.2 Gemfibrozilo	11
II.3 Microemulsiones	12
II.3.1 Diagrama de fases	14
II.4 Absorción Intestinal de Fármacos	15
II.5 El sistema linfático	17
II.6 Modelo Ex Vivo del Saco Intestinal Invertido	19
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO	21
III.1 Diseño Experimental.....	21
III.2 Metodología de la Investigación	21
III.3 Equipos y Materiales.....	22
III.4 Preparación de las Microemulsiones	22
III.5 Microscopía de Luz Polarizada.....	22
III.6 Estudio de la absorción intestinal	22
III.7 Análisis estadístico.....	23
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24

IV.1	Preparación de las microemulsiones	24
IV.2	Microscopia de luz polarizada	24
IV.3	Estudio de la absorción intestinal	26
Conclusiones		30
Recomendaciones		31
Bibliografía		32
Anexos		37

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares 9

Tabla 2 Tipos de Tratamientos 10

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Microscopio de luz polarizada	37
Anexo 2. Resumen de contraste de hipótesis	38
Anexo 3. Exposición en la casa abierta de la Facultad de Ciencias Químicas...	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Estructura química del gemfibrozilo.....	11
Figura 2 Estructura interna de las microemulsiones.....	13
Figura 3 Representación esquemática de un diagrama ternario de fases.....	15
Figura 4 Representación del intestino con las vellosidades de los enterocitos. Figura adaptada de Guerrero (2018)	16
Figura 5 Representación de los posibles mecanismos de absorción de fármacos.	18
Figura 6 Representación esquemática del modelo del saco intestinal invertido.	19
Figura 7 Microemulsión con gemfibrozilo	24
Figura 8 Microscopia de luz polarizada para MEs con GFZ.	25
Figura 9 Perfil de absorción del GFZ a través del intestino delgado.	26
Figura 10 Perfil de absorción del GFZ a través del colon.....	27
Figura 11 Perfil de absorción a través del intestino delgado y colon del GFZ libre e incorporado a las MEs	28

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

BCS: Sistema de Clasificación Biofarmacéutica

cLDL: lipoproteínas de baja densidad

DE: desviación estándar

GFZ: Gemfibrozilo

HA: hipertensión arterial

HDL: lipoproteínas de alta densidad

HF: hipercolesterolemia familiar

ID: intestino delgado

KTZ: ketoconazol

LDL: Lipoproteínas de Baja Densidad

Lpa: Lipoproteína A

MEs: microemulsiones

O/W: Aceite en agua

PPAR α : Proliferadores de Peroxisomas Alfa

PZQ: praziquantel

TG: triglicéridos

W/O: Agua en aceite

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Biomodelos: consiste en practicar diversas experiencias con los animales con el objetivo de sacar un beneficio o provecho para el ser humano, puede tratarse, por ejemplo, de probar un nuevo medicamento o un tratamiento médico sobre un animal con el fin de evaluar sus eventuales efectos secundarios sobre el ser humano. Varias especies animales pueden utilizarse, pero la más frecuente es el ratón.

Citocromo P450 3A4: es una enzima importante localizada en el intestino e hígado, es responsable de la oxidación de los fármacos administrados por la vía oral.

Diagrama de fases: son representaciones gráficas de las fases que están presentes en un sistema de materiales a varias temperaturas, presiones y composiciones.

Dislipidemia: es caracterizada por elevados niveles de lípidos en la sangre como colesterol o triglicéridos, que son transportadas por las lipoproteínas.

Enterocitos: célula absorbente provista de numerosas microvellosidades en su cara libre para aumentar la superficie de absorción que se encuentra en las paredes del intestino.

Fases inmiscibles: es un término utilizado en química que se refiere a dos líquidos que poseen diferentes polaridades, debido a esto su mezcla es parcial o nula.

Hipercolesterolemia familiar: esta enfermedad provoca que el nivel de colesterol LDL (malo) sea muy alto. La afección empieza al nacer y puede causar ataques cardíacos a temprana edad.

Isotrópicas: Las sustancias isotrópicas tienen propiedades ópticas idénticas en todas las direcciones de la observación.

Microemulsiones: son sistemas coloidales transparentes, anfífilo y termodinámicamente estables. Las MEs depende de los componentes de líquidos no miscibles, como por ejemplo agua y un disolvente apolar en las

que pueden coexistir cantidades, gracias a la presencia de uno o más tensoactivos con un balance hidrofilia-lipofilia (HLB) adecuado.

Tensoactivos: Sustancia que modifica la tensión superficial del líquido en el que se halla disuelta.



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



“Evaluación de la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya”

Autor:

Carvajal Man-Hing Vicente

Pincay Cedeño Daniela

Tutor:

Carolina Santiago Dugarte

RESUMEN

El gemfibrozilo, es un fármaco muy utilizado para el tratamiento de la hipercolesterolemia. A pesar de ello, presenta algunos problemas que limitan su uso, como la baja solubilidad en agua lo que dificulta la biodisponibilidad. Como alternativa para mejorar las limitaciones; las microemulsiones son sistemas termodinámicamente estables, de gran interés ya que pueden actuar como vehículos de liberación de fármacos. El presente trabajo tuvo como finalidad realizar un estudio experimental *ex vivo*, empleando el modelo del saco intestinal invertido. El método se realizó utilizando cobayos, los cuales fueron mantenidos en ayunas por un periodo de 8 horas con agua *ad libitum*. Los animales fueron anestesiados con ketamina/diazepam (100mg/5mg) para la remoción del intestino. Los resultados mostraron que las MEs aumentaron la absorción intestinal del GFZ tanto para el intestino delgado (ID) como en el colon. Con los resultados presentados, se sugiere que las microemulsiones son potenciales transportadores de fármacos lipofílicos.

PALABRA CLAVE: Absorción intestinal, biomodelo, gemfibrozilo, microemulsiones, saco intestinal invertido



**FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN**



**“Evaluation of the intestinal absorption of gemfibrozil in
microemulsions stabilized with Tween 80 and soy lecithin”**

Author:

Vicente Carvajal Man-Hing

Daniela Pincay Cedeño

Tutor:

Carolina Santiago Dugarte PhD.

ABSTRACT

Gemfibrozil is a very suitable drug for the treatment of hypercholesterolemia. Despite this, we present some problems that limit its use, such as the low solubility in water that hinders bioavailability. As an alternative to improve the limitations; Microemulsions are thermodynamically stable systems of great interest and can act as drug delivery vehicles. The purpose of this work was to carry out an ex vivo experimental study, using the inverted intestinal sac model. The method was performed using guinea pigs, which were maintained in a time of 8 hours with water ad libitum. Animals were anesthetized with ketamine / diazepam (100 mg / 5 mg) for bowel removal. The results improved as the small intestine (ID) as in the colon. With the results of the results, the results of the microemulsions and the transporters of lipophilic drugs.

KEYWORDS: Intestinal absorption, biomodel, gemfibrozil, microemulsions, inverted intestinal sac.

INTRODUCCIÓN

El gemfibrozilo (GFZ), pertenece al grupo de los fibratos ya que es un regulador de lípidos derivado del ácido valérico el cual es el fármaco de elección para el tratamiento de la hipercolesterolemia. En Ecuador, es muy prescrito por los médicos, por esta razón se encuentra dentro del Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos. A pesar de ello, el GFZ presenta algunas limitaciones en su uso, como por ejemplo la baja solubilidad en agua lo que dificulta la biodisponibilidad (Kohli, Chopra, Dhar, Arora, & Khar, 2010; Habsi, Massarky, & Moon, 2015).

El gemfibrozilo pertenece a la clase II en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica, lo que indica que presenta una alta lipofilidad. En las últimas décadas la ciencia ha ido avanzando en la búsqueda de nuevas alternativas farmacéuticas con la finalidad de mejorar los problemas de solubilidad de fármacos (Davoodi et al., 2018).

Las microemulsiones (MEs) son sistemas ópticamente isotrópicos de aceite, agua, surfactante y cotensoactivo, que tienen una estabilidad termodinámica. En términos generales son de gran interés para la industria farmacéutica ya que pueden actuar como vehículos de liberación de fármacos cuyas moléculas activas son hidrofílicas y/o lipofílicas (Deshmukh & Tiwari, 2017; Patel, Patel, Dwivedi, & Kaurav, 2017).

En los últimos años, los estudios de absorción intestinal empleando la técnica del modelo intestinal invertido han ganado atención debido a la capacidad de mostrar los perfiles farmacocinéticos, absorción de fármacos a través de los enterocitos, conocimiento sobre el transporte de nuevos fármacos, entre otros. El método presenta una ventaja importante relacionada con el área de superficie grande disponible para la absorción (Villiger, Stillhart, Parrott, & Kuentz, 2016; Hunt et al., 2015).

En el presente proyecto se evaluó la absorción intestinal del gemfibrozilo en microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de

soya. El estudio experimental se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas, en que se utilizó cobayos como biomodelos. Los animales fueron mantenidos por 8 horas en ayunas y posteriormente anestesiados para la remoción del intestino.

Los resultados mostraron que las MEs aumentaron la absorción intestinal del GFZ tanto para el ID (intestino delgado) como en el colon. En el ID se observa un aumento de la absorción de GFZ comparado con la del colon. Con los resultados presentados, se sugiere que las microemulsiones son un potencial transportador de fármacos lipofílicos.

CAPÍTULO I. PROBLEMA

La hipercolesterolemia, es una enfermedad cardiovascular caracterizada por los niveles elevados de colesterol LDL (Lipoproteína de Baja Densidad) en la sangre. Según Rojas en el año 2015 en Ecuador se registraron alrededor de 4.200 muertes por infarto debido a esta enfermedad, lo que generó un gasto público de 227 millones de dólares aproximadamente. El fármaco más utilizado para el tratamiento de la hipercolesterolemia es el gemfibrozilo, un derivado del ácido valérico que pertenece a un grupo de medicamentos conocido como fibratos, encargados de regular los niveles de lípidos en la sangre. Debido a su eficacia terapéutica, el gemfibrozilo está presente en el Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos de Ecuador. Sin embargo, este fármaco pertenece a la clase II en la Clasificación Biofarmacéutica de Medicamentos, lo que significa que éste presenta baja solubilidad en agua, y por ende una baja biodisponibilidad. En este sentido, pacientes que realizan un tratamiento continuo generan tolerancia. Las limitaciones mencionadas del gemfibrozilo pueden acarrear otros problemas secundarios a los pacientes ya que se necesita elevadas dosis para alcanzar el mismo efecto terapéutico.

I.1 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Las microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya podrán mejorar la absorción intestinal del gemfibrozilo?

I.2 HIPÓTESIS

Las microemulsiones con diferentes tensoactivos podrán modificar la absorción intestinal del gemfibrozilo.

I.3 JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Actualmente con la finalidad de reducir las limitaciones de los fármacos nuevas alternativas tecnológicas han sido desarrolladas, tales como las microemulsiones (MEs), los cuales son sistemas termodinámicamente estables de bajo costo y fácil producción. A pesar de las ventajas que poseen las MEs, hasta el presente existe poca información que refleja la evaluación de la absorción de fármacos incorporados a estos sistemas. Los estudios de absorción de fármacos a través de la mucosa intestinal es un parámetro importante, ya que posibilita conocer la concentración del fármaco que será absorbida hacia el torrente sanguíneo. Por tal motivo en el presente proyecto se evalúa la absorción del gemfibrozilo incorporado a las MEs, a través de la mucosa intestinal, empleando el método del saco intestinal invertido.

I.4 OBJETIVOS

I.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la absorción intestinal del gemfibrozilo incorporado a microemulsiones estabilizadas con Tween 80 y lecitina de soya.

I.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Cuantificar la absorción a través de la mucosa intestinal del gemfibrozilo incorporado en las microemulsiones.
- Describir el perfil farmacocinético del gemfibrozilo empleando el modelo *ex vivo*.

I.5 VARIABLES

I.5.1 Variable Dependiente

Nivel de absorción intestinal

I.5.2 Variable Independiente

Microemulsión

	<i>Variable</i>	<i>Conceptualización</i>	<i>Indicador</i>	<i>Índice</i>	<i>Escala</i>
<i>Independiente</i>	Microemulsión	Mezclas homogéneas entre agua, aceite y tensoactivo.	Microemulsión	Concentración De Losartán	Ordinal
<i>Dependiente</i>	Nivel de absorción Intestinal	Captación de moléculas a través de membranas	Modelo <i>Ex Vivo</i>	Saco Intestinal Invertido	Nominal

CAPÍTULO II. MARCO TERÓRICO

II.1 Las hiperlipidemias

Las hiperlipidemias engloban un amplio espectro de anormalidades lipídicas, entre ellas se encuentran la hipercolesterolemia que es una enfermedad cardiovascular clasificada como de alto riesgo debido a la elevación en los niveles de colesterol LDL (Lipoproteínas de Baja Densidad). El metabolismo de los lípidos puede verse afectado por distintas vías, y dar lugar a cambios en la función y/o los niveles de las lipoproteínas plasmáticas. Las principales causas están relacionadas a factores genéricos, ambientales, mala alimentación, obesidad, sedentarismo, etc (Kong et al., 2018; Nuñez & Pérez, 2019).

La elevación plasmática de colesterol es un factor de riesgo importante, ya que este se asocia con frecuencia a otros problemas (Tabla 1), como la hipertensión arterial (HA) pudiendo provocar el aumento de lesiones vasculares. Asimismo, favorecer el desarrollo de la arterioesclerosis y sus complicaciones, además, puede llevar al individuo al óbito (Teufel, 2018; Aljeneli, Ruel, Watters, & Genest, 2018).

Tabla 1 Factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares

Tradicionales		Emergentes
No modificables o predisponentes	Modificables	
Edad (> 45 años en hombres y > 55 en mujeres)	HTA	Lpa* aumentada
	Diabetes mellitus	Hiperhomocisteinemia
	Hipercolesterolemia	HVI
Historia familiar de enfermedad coronaria (IAM o muerte súbita antes de 55 años en padre o hermanos y de 65 en madre o hermanas)	Descenso de c-HDL	Hipertrigliceridemia
	Tabaquismo	c-LDL pequeñas y densas
	Obesidad	Resistencia a la insulina
	Sedentarismo	Aumento de proteína C de alta sensibilidad
		Aumento de fibrinógeno
		Microalbuminuria
		Aumento de actividad oxidativa

*Lipoproteína A

Fuente: Teufel, 2018

La hipercolesterolemia es clasificada como familiar (HF), cuando hay un trastorno genético autosómico dominante del metabolismo de las lipoproteínas. Es caracterizado por concentraciones plasmáticas muy altas de colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL), los criterios clínicos para identificar pacientes con HF incluyen: colesterol LDL elevado, historia familiar de hipercolesterolemia, especialmente en niños, depósitos de colesterol en tejidos extravasculares como el arco corneal o xantomas tendinosos y un riesgo muy alto de enfermedad coronaria prematura (Raal, Hovingh, & Catapano, 2018; Ganjali et al., 2017).

El tratamiento para la hipercolesterolemia puede ser clasificado como farmacológico y no farmacológico (Tabla 2), siendo que el primero consiste en la orientación al paciente y el otro en el uso de medicamentos.

Tabla 2 Tipos de Tratamientos

No Farmacológico	Farmacológico	Referencia
Se puede orientar al paciente en la mejora del consumo de calorías, para prevenir y/o tratar el sobrepeso.	Con el tratamiento precoz se pueden reducir o eliminar el riesgo de enfermedad coronaria del corazón y su incidencia a la población general	(Hervas & Ascaso, 2018).
Se recomienda una ingesta de lípidos que represente entre un 30 y un 35% de las calorías totales	Los fármacos más utilizados para el tratamiento de la HF pertenecen a la clase de los fibratos, los cuales se incluyen como principales: benzafibrato, fenofibrato y el gemfibrozilo	(Caamaño, 2015; Muntoni, & Pisciotto, Bertolini, 2015).

Fuente: Autores, 2018

II.2 Gemfibrozilo

Gemfibrozilo (GFZ), cuya estructura química se ilustra en la Figura 1, es un regulador de lípidos derivado del ácido valérico que pertenece a un grupo de fármacos conocido como fibratos el cual es de elección clínica para el tratamiento de la hipercolesterolemia. Presenta como principal efecto la disminución de los niveles de colesterol LDL y de los triglicéridos (TG) en el plasma, además de aumentar la concentración de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en la sangre (Kohli, Chopra, Dhar, Arora, & Khar, 2010; Habsi, Massarky, & Moon, 2015).

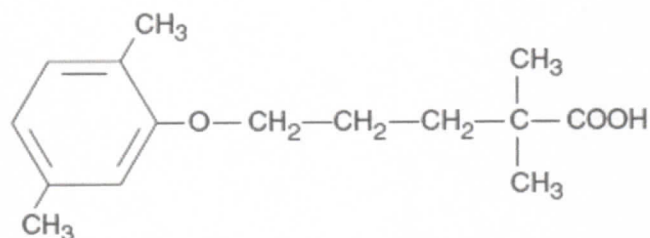


Figura 1 Estructura química del gemfibrozilo

Sus efectos están mediados por la activación de los receptores Proliferadores de Peroxisomas Alfa (PPAR α , de sus siglas en inglés) que actúan regulando la transcripción en diferentes genes, de tal forma que aumentan la actividad de la lipoproteína lipasa y aceleran el catabolismo de las lipoproteínas ricas TG, resultando una disminución entre el 25-40%, además aumentan los niveles de cHDL (Villar et al., 2013).

Según el Ministerio de Salud Pública (MSP) este fármaco es importante en el Ecuador y por esto, forma parte del Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos que contiene los medicamentos esenciales necesarios para cubrir las necesidades de salud de la mayoría de la población (MSP, 2013).

A pesar de ello, el GFZ pertenece a la clase II en el Sistema de Clasificación Biofarmacéutica (BCS), lo que indica que es un fármaco con

poca solubilidad en agua, alrededor de 0.01 mg/mL, debido a esto, presenta baja velocidad de disociación en el tracto gastrointestinal, y como consecuencia una baja biodisponibilidad (Kasim et al., 2004; Kumar, Bhargava, Thakkar, & Arora, 2013)

Los factores mencionados anteriormente corroboran las limitaciones en la absorción del gemfibrozilo después de la administración oral (Fraz, Lee, & Wilson, 2018), siendo necesarias elevadas dosis para producir el efecto terapéutico que puede ser 900 mg/día o llegar hasta 1200 mg/día divididas en dos partes de 600mg (Maiz, 1991).

En las últimas décadas, la ciencia ha avanzado en la búsqueda de nuevas alternativas con la finalidad de mejorar los problemas de solubilidad u otras limitaciones de los fármacos. Los sistemas de liberación controlada de fármacos son llamados así debido a su capacidad de liberar un fármaco a una velocidad sustentada, además de direccionar a un sitio diana específico, durante un período de tiempo determinado, en las que el principio activo se libera a una velocidad constante, para evitar las fluctuaciones de los niveles plasmáticos de principio activo. Entre estos sistemas se pueden destacar las nanopartículas, liposomas, dispersiones sólidas, sistemas flotantes y microemulsiones (Davoodi et al., 2018).

II.3 Microemulsiones

Las microemulsiones (MEs) son mezclas ópticamente isotrópicas de aceite, agua, surfactante y cotensoactivo, que presentan una estabilidad termodinámica debido a la baja tensión interfacial reducida entre las fases de agua y aceite. Pueden actuar como vehículo de liberación para diferentes fármacos (hidrofílicos y lipofílicos), por esta razón, son de gran interés científico (Deshmukh & Tiwari, 2017; Patel, Patel, Dwivedi, & Kaurav, 2017).

Como en las emulsiones, las MEs pueden ser clasificadas como agua en aceite (W/O) o aceite en agua (O/W). Son clasificadas como O/W, aquellas la cual la interna o dispersa es el aceite y la fase externa o

dispersante el agua. Al contrario de las anteriores, las MEs W/O presentan el agua como fase interna o dispersa y el aceite como fase externa o dispersante, como ilustra la **Figura 2** (Dhas et al., 2016).

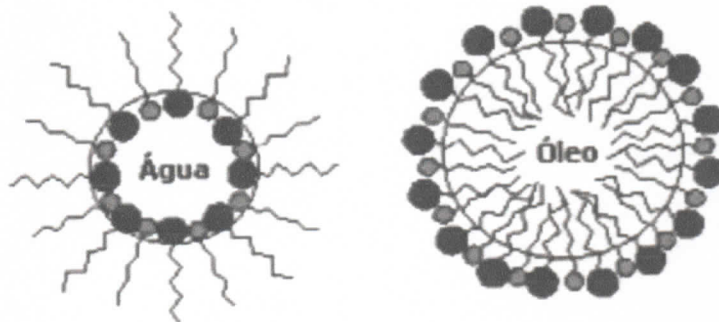


Figura 2 Estructura de las microemulsiones

Fuente: Pankajkumar-Patel et al., (2019)

Las ventajas de las MEs están asociadas con su estabilidad termodinámica, el bajo costo, facilidad de preparación, direccionamiento del fármaco a un sitio diana, aumento de la biodisponibilidad de fármacos de baja solubilidad. La dispersión de fármacos en una solución de partículas del tamaño del orden de los nanómetros aumenta la velocidad de disolución dentro de una fase acuosa, lo que normalmente resulta en un aumento en la biodisponibilidad (Anand, Gupta, & SK, 2016).

Yeevon, Sookhn, & Ketli, 2018 desarrollaron microemulsiones con la finalidad de identificar el vehículo más apropiado para la incorporación del 1-etil-3-metilimidazolio. Los resultados mostraron que la mezcla Tween80/Span20 3:2 presentaron microemulsiones con un tamaño de partícula de 111.87 nm a 202.33 nm, no se presentaron efectos citotóxicos y, además fueron termodinámicamente estables. Con lo presentado, los autores concluyeron que estos sistemas pueden ser una estrategia segura para el transporte transdérmico del principio activo.

Tiwari, Sivakimar, Mukherjee, & Chandrasekaran, 2018 utilizaron un MEs con el objetivo de mejorar las propiedades fisicoquímicas del ketoconazol (KTZ) y estudiar un posible efecto sinérgico del sistema con el fármaco utilizado contra *C. albicans*. Las MEs fueron preparadas utilizando aceite esencial de rosa, Tween 20 y agua (5:20:70), siendo sometidos a estudios para evaluar la caracterización fisicoquímica. Se pudo observar que las MEs aumentaron la solubilidad de KTZ, en este sentido, en los estudios de liberación *in vitro* mostraron que el KTZ encapsulado en la matriz del sistema, presentó un mayor perfil de liberación tanto en el medio gástrico como en el medio intestinal simulado. Los resultados también mostraron que el KTZ encapsulado al sistema presento mejor actividad frente a *C. albicans* cuando fue comparado con fármaco libre. Con lo presentado, los autores sugieren que las microemulsiones pueden ser un potencial candidato para la incorporación de KTZ para el tratamiento de manifestaciones fúngicas.

El desarrollo de las MEs es un procedimiento sencillo que no se requiere equipos modernos ni excipientes de alto costo, son necesarios agua, aceite y tensoactivos, para ello, normalmente la construcción de un diagrama de fases es de gran importancia, ya que este auxilia en el conocimiento de las proporciones adecuadas para alcanzar el sistema pretendido.

II.3.1 Diagrama de fases

El diagrama de fases es la representación gráfica de un triángulo equilátero (**Figura 3**), cada vértice A, B y C, representa la escala que recorre cada uno de los lados del triángulo y señala la fracción porcentual entre los componentes puros del sistema (Novelo & Gracia, 2010). Las variables composicionales pueden también ser estudiadas como una función de la temperatura y la presión, aunque la gran mayoría de los sistemas son evaluados con la construcción del diagrama ternario ya que esta técnica es sencilla y eficaz (Pelton, 2019).

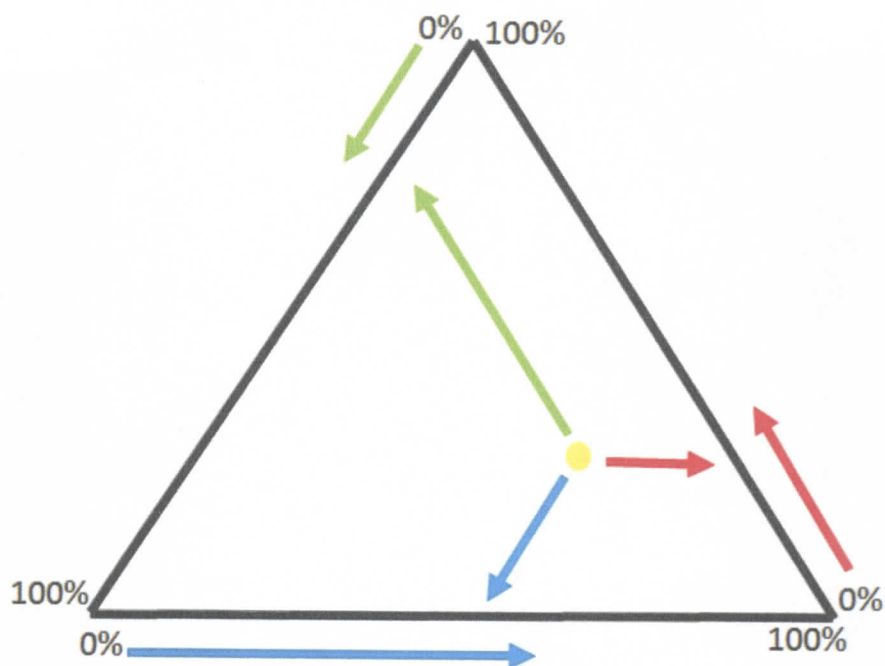


Figura 3 Representación esquemática de un diagrama ternario de fases.

Fuente: Autores

Mediante los diagramas de fases se puede conocer el rango de las concentraciones apropiadas para la formación de diferentes sistemas, tales como: las emulsiones, transición de fases, microemulsiones, cristales líquidos, entre otros (Castillo, 2012).

Un estudio realizado por Iwanaga, Higashiyama, Miyazaki, & Kakemi, (2015), los autores prepararon diagramas de fases para identificar la región de MEs, para posteriormente evaluar la biodisponibilidad del *oil blue N*. Los resultados indicaron un mejoramiento de la biodisponibilidad oral del fármaco además de un aumento de la absorción intestinal del mismo.

II.4 Absorción Intestinal de Fármacos

El intestino humano es un órgano complejo de longitud variable (3 y 8 m), esto dependerá de las características individuales, es dividido en intestino delgado y grueso con una especialización bien definida desde el punto de vista morfológico y funcional. Posee numerosos pliegues denominados vellosidades que posee alrededor de 0,5 – 1,0 mm de altura emiten sus

proyecciones hacia la luz, siendo responsable de la absorción adecuada de nutrientes. Está compuesto por más de 80% de células absortivas conocidas como enterocitos, de acuerdo con la **Figura 4** (Pierre et al, 2017; Oshima & Miwa, 2016).

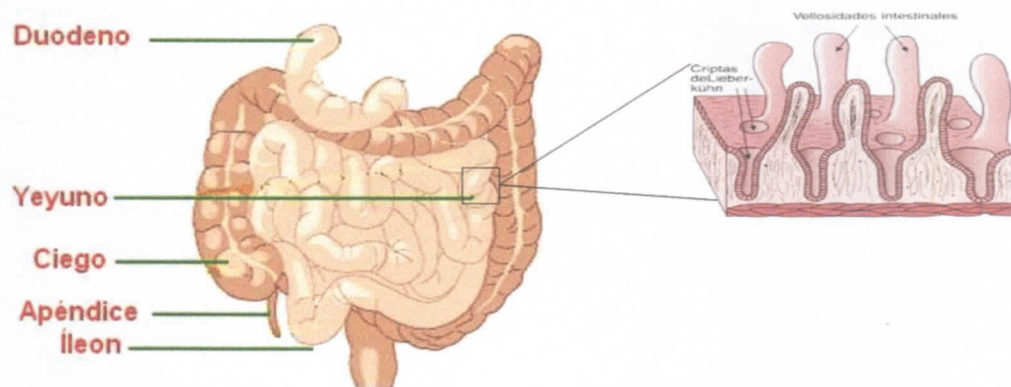


Figura 4 Representación del intestino con las vellosidades de los enterocitos. Figura adaptada de Guerrero (2018)

Después de la administración oral, la absorción de los fármacos será condicionada por el tiempo de contacto del compuesto con las distintas regiones del trato gastrointestinal. La forma farmacéutica y el tamaño de las partículas condicionan la desintegración, disgregación y disolución del fármaco e influyen extraordinariamente sobre el proceso de absorción. Algunas formulaciones que son compuestas por recubrimiento entérico son capaces de vencer el pH estomacal y son desintegradas en el intestino, este proceso retarda la velocidad de absorción (Mazák & Noszál, 2014; Liu, Wang, Xie, & Wang, 2005)

La absorción de un fármaco depende de las siguientes características:

- Características fisicoquímicas del fármaco. - Comprenden el peso molecular que condiciona el tamaño de la molécula, la liposolubilidad y su carácter ácido o alcalino, que junto con su pKa, condicionan el grado de ionización (Bolger & Technics, 2018).
- Características de la preparación farmacéutica. - Para que el fármaco se absorba, debe estar disuelto, algunas características son: la formulación (solución, polvo, cápsulas o comprimidos), el tamaño de

las partículas, la presencia de aditivos y excipientes, y el propio proceso de fabricación (Bolger & Technics, 2018).

- Características del lugar de absorción. - Dependen de la vía de administración (oral, intramuscular o subcutánea). En general, la absorción será tanto más rápida cuanto mayor y más prolongado sea el contacto con la superficie de absorción. Algunas de estas características son: la superficie y el espesor de la membrana, el flujo sanguíneo que mantiene el gradiente de concentración; en la administración oral, el pH del medio y la motilidad gastrointestinal, y en la administración intramuscular o subcutánea, los espacios intercelulares (Sharma, Koka, Yadav, Sharma, & Keservani, 2016).

II.5 El sistema linfático

La dispersión molecular de un fármaco es un requisito previo para su absorción a través de membranas biológicas. El sistema linfático (SL) presenta alta capacidad de absorción y sirve como vía de transporte de fármacos principalmente de características lipídicas. A pesar de que no está totalmente entendido el transporte intestinal de fármacos, Porter et al., 2007 sugieren que ellos pueden ser transportados hacia la sangre, por las venas porta, sin embargo, el sistema linfático presenta un papel importante en la absorción de fármacos altamente lipofílicos (Trevaski, Charman, & Porter, 2008; Yáñez et al., 2007).

La **Figura 5** exhibe los posibles mecanismos de absorción de fármacos.

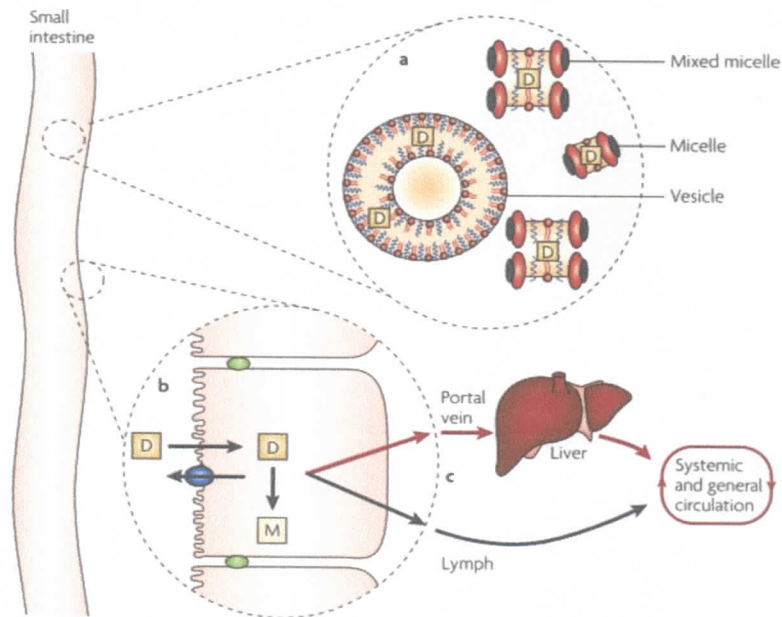


Figura 5 Representación de los posibles mecanismos de absorción de fármacos.

Fuente: Porter et al., (2007)

En este estudio, los autores comentan las ventajas de la utilización de sistemas lipídicos en la absorción de fármacos o excipientes lipofílicos y los mecanismos por los cuales ellos pueden afectar en la absorción, biodisponibilidad y eliminación, entre ellos se destacan: la alteración del medio intestinal, el transporte linfático y a través de los enterocitos. Los fármacos pueden difundirse a través de los enterocitos y ser absorbidos por la vena porta, sufrirán el efecto de primer paso hepático y llegan hasta la sangre. Sin embargo, los fármacos altamente lipofílicos pueden asociarse con las lipoproteínas linfáticas presentes en los enterocitos y llegar en la sangre sin sufrir el metabolismo pre-sistémico.

Existen algunas ventajas relacionadas al transporte linfático debido a que este sistema evita el efecto de primer paso, es posible el diseñar formulaciones adecuadas a base de lípidos y la selección de candidatos a medicamentos relevantes (Trevaskis, Kaminskas, & Porter, 2015). Estos avances son predichos en una mejor comprensión de la biología de enterocitos y los mecanismos implicado en la partición de drogas

lipofílicas durante el paso a través del enterocito. La absorción de fármacos poco solubles en agua puede estar limitado por la tasa de disolución y la medida en que la droga se disuelve (Alqahtani, Mohamed, & Kaddoumi, 2014).

II.6 Modelo *Ex Vivo* del Saco Intestinal Invertido

El modelo del saco intestinal invertido fue inicialmente introducido por Wilson y Wiseman en 1954, es un estudio realizado para predecir la absorción de fármacos a través de los tejidos epiteliales. Un segmento intestinal extirpado de rata o cobayo está montado entre dos células de difusión que separa la zona basolateral (serosa) de la apical (luminal). En la región basolateral se evalúa el flujo de salida del fármaco (Billa et al., 2016; Christiansen et al., 2016).

En la actualidad se han realizados varias modificaciones con el propósito de mejorar la viabilidad del tejido intestinal llegando así a un modelo que simula todas las condiciones *in vivo*. El modelo del saco intestinal invertido es una herramienta importante para el estudio de los perfiles farmacocinéticos, absorción de fármacos a través de los enterocitos, conocimiento sobre el transporte de nuevos fármacos, etc. El modelo del estudio está ilustrado como muestra en la **Figura 6** (Villiger, Stillhart, Parrott, & Kuentz, 2016; Hunt et al., 2015).

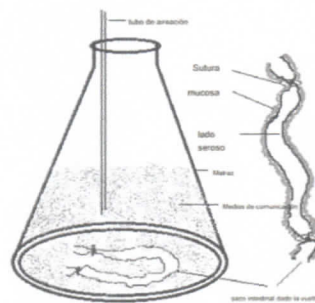


Figura 6 Representación esquemática del modelo del saco intestinal invertido

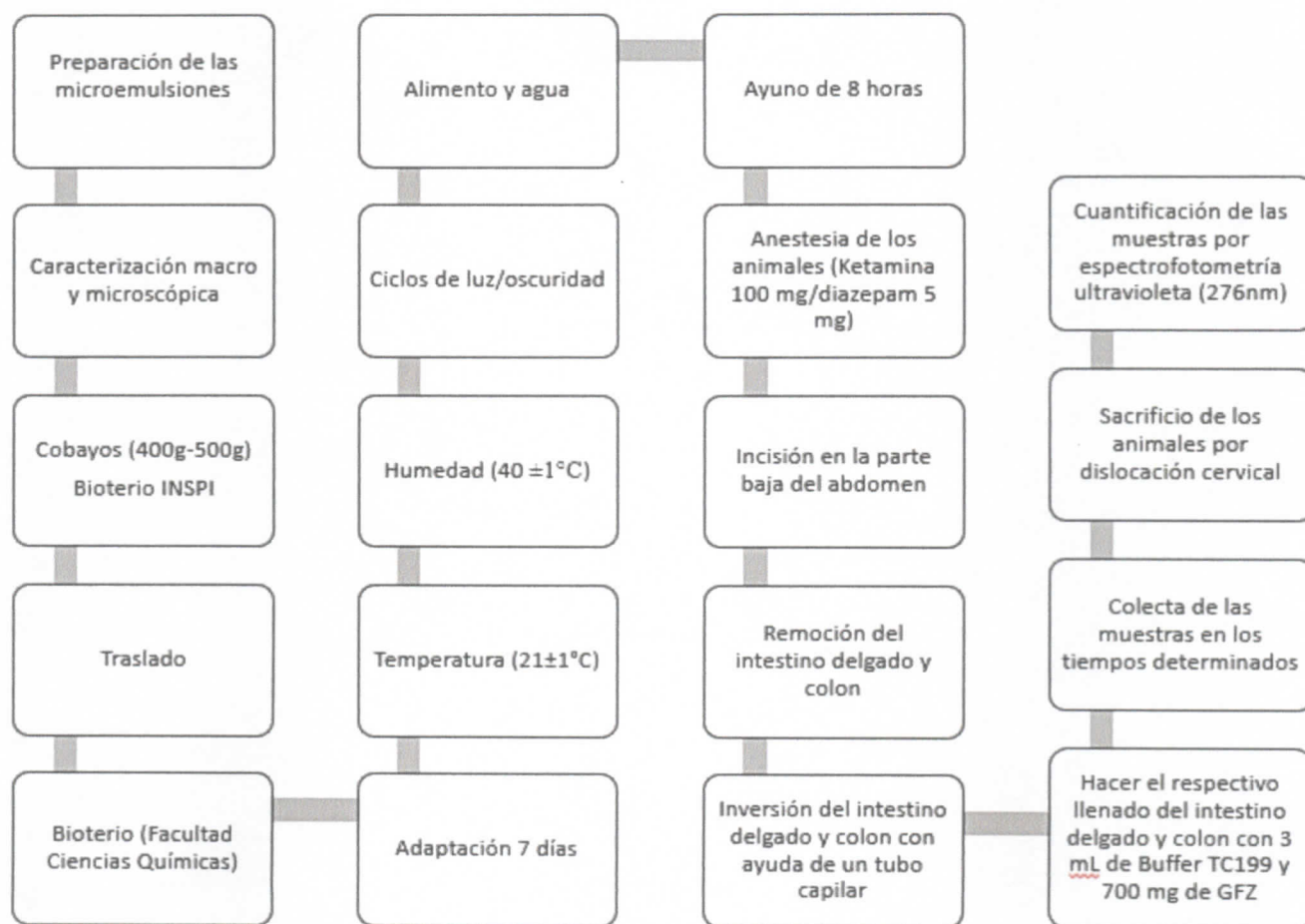
Fuente: Ferreira et al., (2009)

La técnica presenta una ventaja importante relacionada con el área de superficie grande disponible para la absorción. Sin embargo, este estudio requiere atención para mantener la viabilidad celular, ya que es necesario mantener las condiciones fisiológicas. Lo que se recomienda es que el estudio debe ser realizado en un periodo máximo de dos horas, para asegurar las mencionadas condiciones (Mondal et al., 2017; Rebmann, Grabski, Sanchez, & Britt, 2016).

En un estudio realizado por Kolenyak-Santos et al., 2014, los autores evaluaron la actividad *in vitro* del praziquantel (PZQ) incorporado a nanopartículas lipídicas. Los resultados mostraron que hubo una diferencia significativa en la absorción intestinal del PZQ incorporado a las nanopartículas comparado con el fármaco libre. Con lo presentado, los autores sugieren que el fármaco interaccionó con la matriz del sistema, modificando la absorción intestinal.

CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO

III.1 Diseño Experimental



III.2 Metodología de la Investigación

Se trató de un estudio experimental y descriptivo que se realizó en el Bioterio de la Facultad de Ciencias Químicas, mediante la extrapolación de datos. Además, se podrá evaluar la absorción intestinal del GFZ en un modelo *ex vivo* que comparte similitud con el ser humano.

III.3 Equipos y Materiales

III.3.1 Equipos

- ✓ Espectrofotómetro UV-VIS Shimadzu® UV-1700 PharmaSpec
- ✓ Balanza Analítica Mettler® Toledo
- ✓ Microscopio

III.3.2 Materiales

- ✓ Beakers (50-400 mL)
- ✓ Pipetas graduadas (10 mL)
- ✓ Auxiliar de pipetas
- ✓ Agitador de vidrio
- ✓ Espátula

III.4 Preparación de las Microemulsiones

Las microemulsiones (MEs) fueron preparadas, según el punto del diagrama de fases desarrollado por Pibaque y Ferrín (2018), con algunas modificaciones. Para ello, se utilizó Tween 80 como tensoactivo, lecitina de soya como cotensoactivo ácido oleico (aceite) y agua, se usó el gemfibrozilo como fármaco.

III.5 Microscopía de Luz Polarizada

Microscopía de luz polarizada se realizó con un fotomicroscopio (Microscopio Leica DMLP®) acoplado a una cámara y polarizadores cruzados. Para el reconocimiento de los sistemas se aplicó el software Leica IM 1000®. Los sistemas fueron caracterizados según la presencia de campo oscuro para MEs con GFZ.

III.6 Estudio de la absorción intestinal

El desarrollo experimental, fue realizado según lo descrito por Kolenyak-Santos et al (2015). Para ello, fueron utilizados 9 cobayos los cuales se mantuvieron en un período de ayuno de 8 horas con agua *ad libitum*. Para la extracción del segmento de intestino, los animales fueron anestesiados por vía intraperitoneal con la mezcla de ketamina/diazepam (100mg/5mg respectivamente). El efecto de la anestesia se verificó por la ausencia de reflejos en las extremidades posteriores. Se realizó una

incisión en la parte baja del abdomen para la remoción de 6 cm del intestino delgado y del colon. El sacrificio de los cobayos se realizó mediante dislocación cervical. Las secciones de intestino delgado y colon retiradas fueron cuidadosamente invertidas con el auxilio de un tubo capilar y llenadas con 3 mL de *buffer* TC199; sus extremos fueron cerrados con hilos de sutura. Se mantuvieron en un medio de incubación con entrada de O₂ (95 %) y salida de CO₂ (5 %), con temperatura controlada a 37 °C.

III.7 Análisis estadístico

Para el tratamiento de los datos se empleó el programa SPSS versión 22 (SPSS® software). Se expresó las concentraciones con los valores de la mediana $\pm$ desviación estándar (DE). Para comparar la mediana de los datos se realizó el análisis de los datos a través de la prueba de Kruskal-Wallis de comparaciones múltiples.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV.1 Preparación de las microemulsiones

Las MEs son sistemas caracterizados por su solución líquida simple y termodinámicamente estables. Estos sistemas actúan como vehículos de liberación de drogas que incorporan una amplia variedad de moléculas activas (Muhammad et al., 2019). En la **Figura 7** se muestra las MEs.



Figura 7 Microemulsión con gemfibrozilo

Fuente: Autores.

Es posible observar en la **Figura 7** un sistema amarillo debido al tensoactivo, la adición del GFZ no cambio el color, lo que indica que el fármaco esta disuelto en la matriz. La presencia de microemulsión fue confirmada por el análisis de microscopia de luz polarizada.

IV.2 Microscopía de luz Polarizada

La microscopía de luz polarizada (PLM) es una técnica en cristalografía y es la apariencia de un campo oscuro que puede indicar presencia de microemulsiones. Este método puede ser utilizado porque permite estudiar las interacciones fármaco-membrana y la retención de fármacos en células vivas (Haller et al., 2018; Bohme, Morales, Diederichs,

& Kerscher, 2018). La Figura 8 exhibe el resultado de la microscopia de luz polarizada para las MEs.

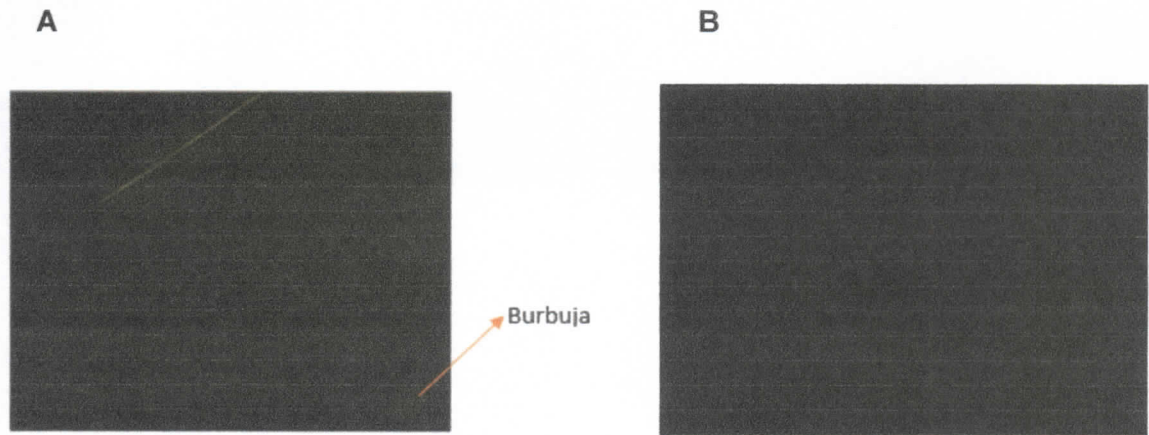


Figura 8 Microscopia de luz polarizada para las MEs control (A) y con GFZ (B)

La Figura 8A muestra el resultado del control para las MEs, siendo este un sistema sin previa agitación, se observa la presencia de burbujas que posiblemente sean del aceite no mezclado con el agua. Es posible observar la presencia de un campo oscuro para los sistemas con fármaco (Figura 8B), lo que sugiere la formación de microemulsiones. Froelich et al., 2017 indican que una característica importante en las microemulsiones, es la formación de un campo oscuro para la microscopía de luz polarizada. Sin embargo, esto no es suficiente y se requieren técnicas más detalladas como la Dispersión de Rayos X a Bajos Ángulos (SAXS, por sus siglas en inglés). Resultados semejantes fueron observados por Loja & Morocho, (2018) que desarrollaron cristales líquidos y evaluaron la absorción intestinal del gemfibrozilo. Los resultados indicaron que la adición del fármaco mostró un campo oscuro en la microscopia de luz polarizada, con esto, los autores sugieren que el GFZ forma microemulsiones. Esto puede ser debido a la lipofiliidad del GFZ que cambia la región lipofílica del sistema modificando la fase de cristales líquidos hacia microemulsiones.

IV.3 Estudio de la absorción intestinal

La absorción intestinal está ajustada estrictamente tanto localmente dentro del enterocito como sistémicamente ya que desarrolla un papel importante en el metabolismo de los fármacos (Ling et al., 2018; Negoro et al., 2018). Las células epiteliales presentes en el intestino poseen dos funciones fisiológicas consideradas primordiales:

1. Actúan como barrera de protección entre el organismo y el medio externo.
2. Son transportadores selectivos de nutrientes, electrolitos, fluidos fisiológicos y fármacos (Dey & Bradbury, 2018).

En la **Figura 9** se muestra el perfil de absorción a través del intestino delgado.

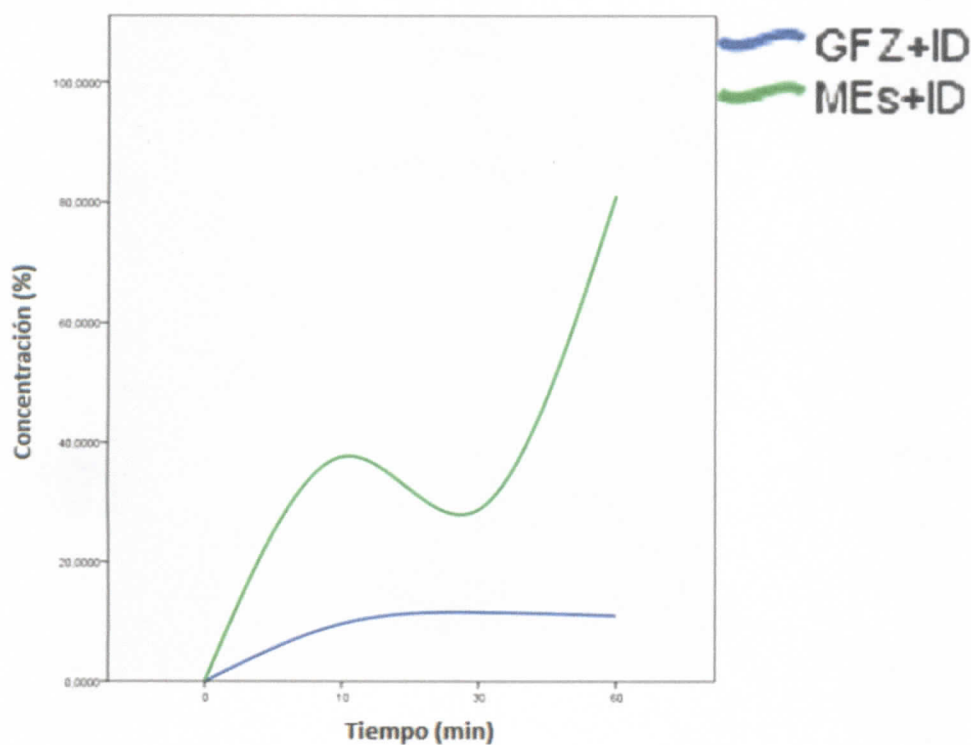


Figura 9 Perfil de absorción del GFZ a través del intestino delgado.

Los resultados del perfil de absorción del GFZ (azul) en el ID muestran una homogeneidad en la liberación del fármaco para los diferentes tiempos. Las MEs (verde) aumentaron el porcentaje de fármaco absorbido en los 3 diferentes tiempos, llegando hasta aproximadamente 80% de GFZ la absorción del fármaco del porcentaje en las MEs. Iwanaga, Higashiyama, Miyazaki, & Kakemi, (2015) mencionan que la MEs son sistemas que superan la complejidad de las emulsiones, estos ayudan a mejorar la biodisponibilidad de los fármacos. En este trabajo, los autores explican que un fármaco más lipofílico normalmente es absorbido a través del sistema linfático. Con lo expuesto, se sugieren dos hipótesis: la primera es que las MEs disminuyeron la lipofilidad del GFZ y como consecuencia aumentaron la absorción del fármaco y la segunda las MEs actuaron como transportadores del GFZ.

En La **Figura 10** se exhibe el perfil de absorción intestinal del GFZ en el colon.

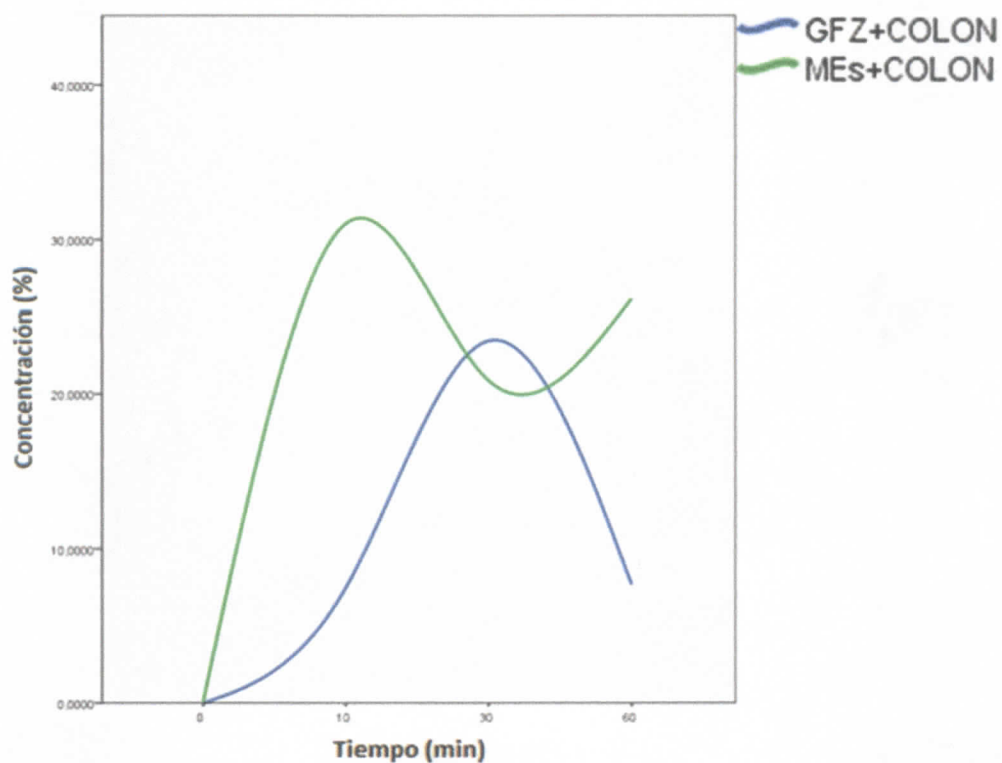


Figura 10 Perfil de absorción del GFZ a través del colon

Es posible observar que el GFZ incorporado a las MEs presentó un perfil de absorción diferente del fármaco libre. Para los tiempos de 10 y 60 minutos se observa una mayor absorción del GFZ en las MEs.

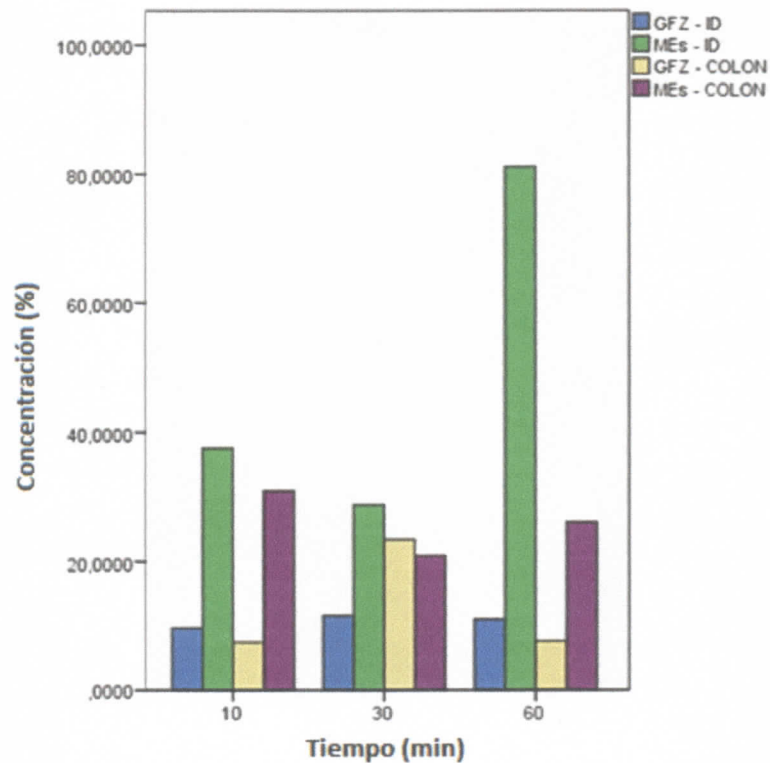


Figura 11 Perfil de absorción a través del intestino delgado y colon del GFZ libre e incorporado a las MEs

En la **Figura 11** es posible comparar el perfil de absorción en el intestino delgado y colon del gemfibrozilo incorporado a las MEs. El GFZ fue más absorbido cuando fue incorporado a las MEs tanto en el intestino delgado (ID) como en el colon. Se observa que en los primeros 10 minutos la absorción del fármaco fue mayor en las dos porciones del intestino, esto puede haber ocurrido debido a un *burst effect* que es una característica de los cristales líquidos. A los 30 minutos la absorción fue reducida, lo que pudiera ser justificado por la característica del GFZ. La semi vida es de 90 minutos, este dato puede justificar la presencia del fármaco en la sangre en los 60 minutos (mayor absorción).

Comparando el colon e intestino delgado, se observa que para los diferentes tiempos, la absorción fue mayor para el intestino delgado, esto puede ser debido a que el GFZ es más absorbido por el ID. A pesar de no haber diferencia estadística entre tiempos y porción intestinal, se observa una tendencia diferente entre GFZ libre y encapsulado a la ME. Lo que sugiere que las MEs pueden actuar como vehículo transportador de fármacos.

Conclusiones

El gemfibrozilo incorporado a MEs mostró diferencias entre la velocidad de absorción en relación con el fármaco libre para el intestino delgado y colon.

A pesar de no haber ocurrido diferencias estadísticas entre los sistemas, se observó que las microemulsiones favorecieron la absorción del gemfibrozilo.

Recomendaciones

Evaluar la actividad farmacológica del GFZ incorporado a las microemulsiones

Se recomienda continuar los estudios para evaluar la toxicidad del GFZ para en un futuro obtener una nueva forma farmacéutica.

Bibliografía

1. Aljeneli, S., Ruel, I., Watters, K., & Genest, J. (2018). Severe xanthomatosis in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Journal of Clinical Lipidology*(12), 872-877.
2. Alqahtani, S., Mohamed, L., & Kaddoumi, A. (2014). Experimental models for predicting drug absorption and metabolism. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*, 9(10), 124-154.
3. Anand, G., Gupta, R., & SK, P. (2016). Self-microemulsifying drug delivery system. *Asian J Pharm Clin Res*, 9(2), 33-38.
4. Billa et al. (2016). Multidrug resistance-associated protein 4 (MRP4) controls ganciclovir intracellular accumulation and contributes to ganciclovir-induced neutropenia in renal transplant patients. *Pharmacological Research*, 111(1), 501-508.
5. Bohme, L., Morales, L., Diederichs, S., & Kerscher, E. (2018). Crystal c-axis mapping of hcp metals by conventional reflected polarized light microscopy: Application to untextured and textured cp-Titanium. *Materials Characterization*, 145, 573-581.
6. Bolger, G., & Technics, N. (2018). Routes of Drug Administration. *Change History: March*, 1-3.
7. Caamaño. (2015, Diciembre 16). *La Alimentación en las Enfermedades Neurodegenerativas: El rol de Carbohidratos, Gluten y Grasas*.
8. Carlucci, A., Cicconi, M., & Bregni, C. (2004). Las Microemulsiones como Vehículos para Administración de Drogas. *Acta Farm. Bonaerense*, 23(4), 220-7.
9. Castillo, C. (2012). Diagramas de fase para dos y tres componentes. *Universidad de Chile - Departamento de Química y Fisicoquímica*(1), 3-57.
10. Christiansen et al. (2016). Effect of food intake and co-administration of placebo self-nanoemulsifying drug delivery systems on the absorption of cinnarizine in healthy human volunteers. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 84(10), 77-82.
11. Cuevas, A., & Alons, R. (2016). DIABETIC DYSLIPIDEMIAS. *Medical Journal. Clinical las Condes* , 27(2), 152-159.
12. Davoodi et al. (2018). Drug delivery systems for programmed and on-demand release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 35.
13. Đekić, L., & Primorac, M. (2017). *Microemulsions and nanoemulsions as carriers for delivery of NSAIDs*. Philadelphia:

Microsized and Nanosized Carriers for Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drugs.

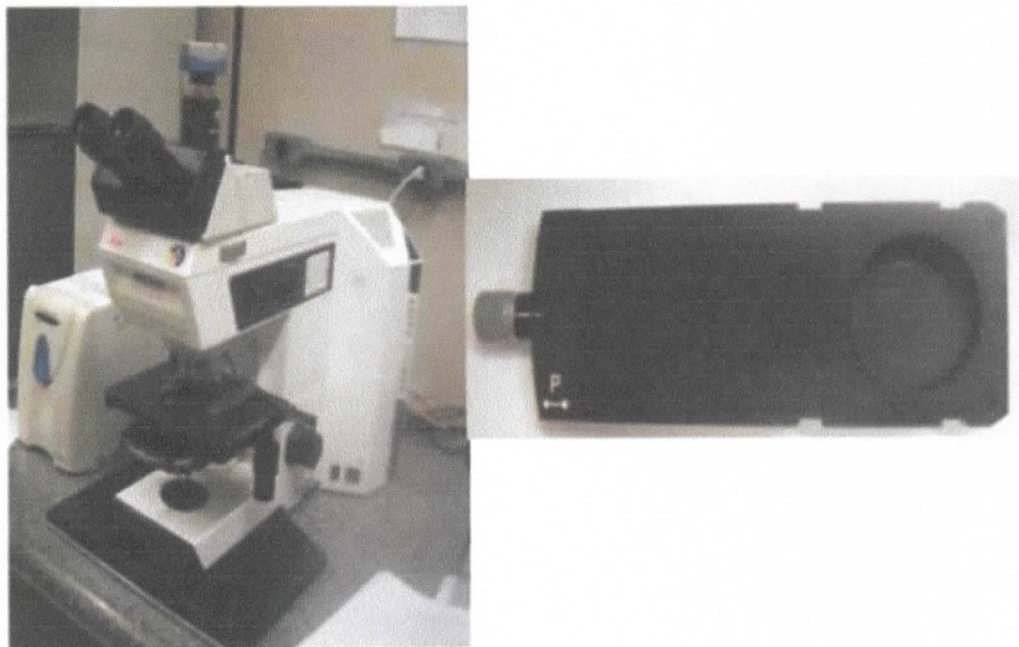
14. Deshmukh, A., & Tiwari, K. M. (2017). Solubility Enhancement Techniques for Poorly Water-Soluble Drugs. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Nanotechnology*, 10(3), 3701-3708.
15. Dey, I., & Bradbury, N. (2018). Chapter Ten - Physiology of the Gut: Experimental Models for Investigating Intestinal Fluid and Electrolyte Transport. *Current Topics in Membranes*, 81, 337-381.
16. Dhas et al. (2016). Review on nanoemulsion: a novel drug delivery system. *EJBPS*, 3(4), 156-166.
17. Ferreira et al. (2009). The intestinal permeation of didanosine from granules containing microspheres using the everted gut sac model. *Journal of Microencapsulation*, 26(6), 523-528.
18. Fraz, S., Lee, A., & Wilson, J. (2018). Gemfibrozil and carbamazepine decrease steroid production in zebrafish testes (*Danio rerio*). *Aquatic Toxicology*.
19. Froelich et al. (2017). Novel microemulsion-based gels for topical delivery of indomethacin: Formulation, physicochemical properties and in vitro drug release studies. *Journal of colloid and interface science*, 507(1), 323-336.
20. Ganjali et al. (2017). HDL functionality in familial hypercholesterolemia: effects of treatment modalities and pharmacological interventions. *Drug Discovery Today*, 10.
21. Guerrero, H. (2018). *Anatomía, histología y fisiología del intestino delgado*. Retrieved from <https://es.slideshare.net/HumbertoPereaGuerrero/anatoma-histologa-y-fisiologa-del-intestino-delgado>
22. Habsi, A., Massarky, A., & Moon, T. (2015). Exposure to gemfibrozil and atorvastatin affects cholesterol metabolism and steroid production in zebrafish. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 1096-4959.
23. Haller et al. (2018). Polarized light microscopy reveals physiological and drug-induced changes in surfactant membrane assembly in alveolar type II pneumocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1860(5), 1152-1161.
24. Hervas, S., & Ascaso, J. (2018). *Hypercholesterolemia* (Segunda ed.). Spain: Encyclopedia of Endocrine Diseases.

25. Hunt et al. (2015). The stomach in health and disease. *Gut*, 64(10), 1650-1668.
26. Iwanaga, K., Higashiyama, Y., Miyazaki, M., & Kakemi, M. (2015). Enhancing mechanism of intestinal absorption of highly lipophilic compounds using microemulsion – Quantitative analysis of the partitioning to the mesenteric lymph in intestinal cells. *Assian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 10(3), 186-193.
27. Kasim et al. (2004). Molecular properties of WHO essential drugs and provisional biopharmaceutical classification. *Mol. Pharm*, 85-96.
28. Kohli, K., Chopra, S., Dhar, D., Arora, S., & Khar, R. (2010). Self-emulsifying drug delivery systems: an approach to enhance oral bioavailability. *Drug Discov Today*, 15(21-22), 958-965.
29. Kolenyak-Santos et al. (2014). Nanostructured Lipid Carriers as a Strategy to Improve the In Vitro Schistosomiasis Activity of Praziquantel. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, XIV(20), 1-12.
30. Kong et al. (2018). Effect of lipid lowering tablet on blood lipid in hyperlipidemia model rats. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 25(4), 715-718.
31. Kumar, S., Bhargava, D., Thakkar, A., & Arora, S. (2013). Drug carrier systems for solubility enhancement of BCS class II drugs: a critical review. *Crit Rev Ther Drug Carrier Syst*, 30(3), 217-256.
32. Ling et al. (2018). Intestinal absorption differences of major bioactive compounds of Gegenqinlian Decoction between normal and bacterial diarrheal mini-pigs in vitro and in situ. *Journal of Chromatography B*, 1083, 93-101.
33. Liu, X., Wang, X., Xie, L., & Wang, G. (2005). Different effect of erythromycin on absorption kinetics of nimodipine in male and female rats. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 30(1-2), 69-73.
34. Maiz, A. (1991). Manejo Farmacologico de las Hiperlipidemias. *Revista de Ciencias Medicas*, 20(2).
35. Mazák, K., & Noszál, B. (2014). Drug delivery: A process governed by species-specific lipophilicities. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 62(1), 96-104.
36. Mondal et al. (2017). Underlying mechanism of the cyclic migrating motor complex in *Suncus murinus*: a change in gastrointestinal pH is the key regulator. *Physiological Report*, 5(1), 1-18.

37. Morocho, J., & Loja, L. (2018). Evaluación de la absorción intestinal de gemfibrozilo incorporado en cristales líquidos estabilizados con tween 80. *Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil*, 1-85.
38. MSP. (2013). *Cuadro Nacional de Medicamentos Básicos (9 revisión)*. Retrieved from Consejo Nacional de Salud Comisión Nacional de Medicamentos e Insumos.
39. Muhammad et al. (2019). Chloramphenicol Loaded Microemulsions: Development, Characterization and Stability. *Colloid and Interface Science Communications*, 28, 41-48.
40. Muntoni, S., Pisciotto, L., & Bertolini, S. (2015). Tratamiento farmacológico de un paciente sardo afectado por hipercolesterolemia autosómica recesiva (HRA). *Diario de Lipidología Clínica*, 9(1), 103-106.
41. Negoro et al. (2018). Efficient Generation of Small Intestinal Epithelial-like Cells from Human iPSCs for Drug Absorption and Metabolism Studies. *Stem Cell Reports*, 11(6), 1539-1550.
42. Novelo, A., & Gracia, J. (2010). Trayectorias en diagramas ternario. *profesores al día [termodinámica]*, 21(4), 300-305.
43. Nuñez, J., & Pérez, J. (2019). Clasificación de las hiperlipidemias y dislipidemias. *Enciclopedia de las enfermedades endocrinas (Segunda edición)*, 1, 2175-281.
44. Oshima, T., & Miwa, H. (2016). Gastrointestinal mucosal barrier function and diseases. *Journal of Gastroenterology*, 51(8), 768-778.
45. Pankajkumar-Patel et al. (2019). Modulation of retention and selectivity in oil-in-water microemulsion liquid chromatography: A review. *Journal of Chromatography A*, 10.
46. Patel, A., Patel, S., Dwivedi, N., & Kaurav, N. (2017). Solubility Enhancement Technologies and Research Emerged. *International Journal of Pharmaceutical & Biological Archives*, 8(2), 01-11.
47. Pierre et al, .. (2017). Models for drug absorption from the small intestine: where are we and where are we going? *Drug Discovery Today*, 22(5), 761-775.
48. Porter et al. (2007). Lipids and lipid-based formulations: optimizing the oral delivery of lipophilic drugs. *Nature Publishing Group*, 6, 231-245.

49. Raal, F., Hovingh, G., & Catapano, A. (2018). Familial hypercholesterolemia treatments: Guidelines and new therapies. *Atherosclerosis*, 483-492.
50. Rebmann, G., Grabski, R., Sanchez, V., & Britt, W. (2016). Phosphorylation of Golgi Peripheral Membrane Protein Grasp65 Is an Integral Step in the Formation of the Human Cytomegalovirus Cytoplasmic Assembly Compartment. *American Society for Microbiology*, 7(5), 1-15.
51. Sharma, V., Koka, A., Yadav, J., Sharma, A., & Keservani, R. (2016). Self-Micro Emulsifying Drug Delivery Systems: A Strategy to Improve Oral Bioavailability. *Ars Pharm*, 57(3), 97-109.
52. Teufel, E. (2018). Risk Factors for Cardiovascular Disease. *Encyclopedia of Cardiovascular Research and Medicine*, 307-314.
53. Tiwari, N., Sivakimar, A., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2018). Enhanced antifungal activity of Ketoconazole using rose oil based novel microemulsion formulation. *Drugs Delivery Science and Technology*.
54. Trevaskis, N., Charman, W., & Porter, C. (2008). Lipid-based delivery systems and intestinal lymphatic drug transport: A mechanistic update. *Advanced DRUG DELIVERY Review*, 60, 702-716.
55. Trevaskis, N., Kaminskis, L., & Porter, C. (2015). From sewer to saviour — targeting the lymphatic system to promote drug exposure and activity. *NATURE REVIEWS | DRUG DISCOVERY*, 14, 781-799.
56. Villar et al. (2013). Método espectrofluorométrico validado para la determinación de gemfibrozilo en sistemas de administración de fármacos auto nanoemulsificantes (SNEDDS). *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 113(1), 22-27.
57. Villiger, A., Stillhart, C., Parrott, N., & Kuentz, M. (2016). Using Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling to Gain Insights into the Effect of Physiological Factors on Oral Absorption in Paediatric Populations. *American Association of Pharmaceutical Scientists*, 18(4), 933-947.
58. Yáñez et al. (2007). Intestinal lymphatic transport for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 63, 923-942.
59. Yeevon, P., Sookhn, N., & Ketli, H. (2018). Formulation and characterisation of 1-ethyl-3-methylimidazolium acetate-in-oil microemulsions as the potential vehicle for drug delivery across the skin barrier. *Journal of Molecular Liquids*, 273, 339-345.

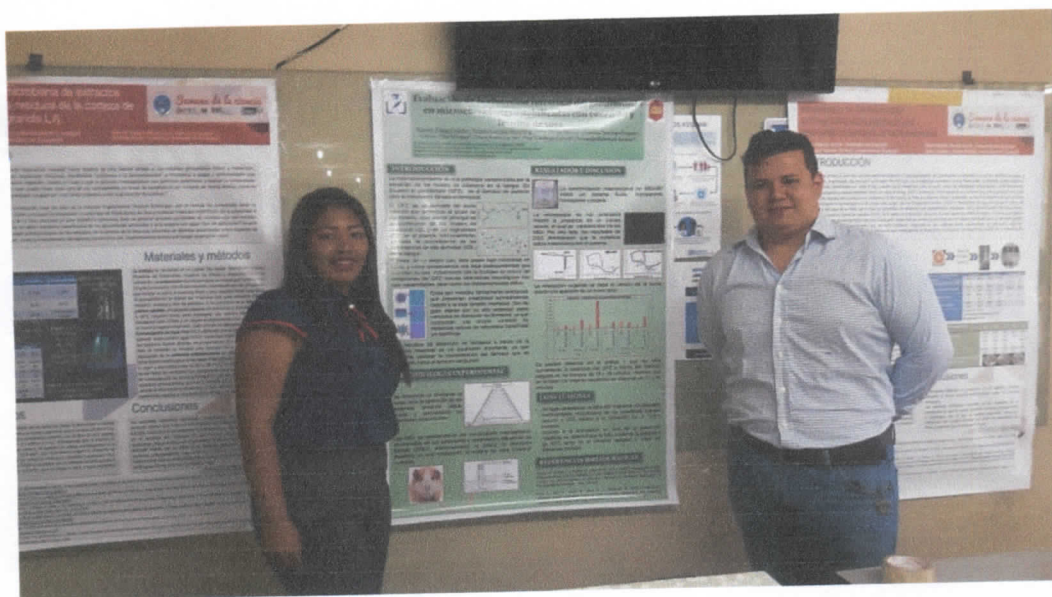
Anexos



Anexo 1. Microscopio de luz polarizada

	Hipótesis nula	Prueba	Sig.	Decisión
1	La distribución de GFZ+ID es la misma entre las categorías de TIEMPO.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,392	Conserve la hipótesis nula.
2	La distribución de MEs+ID es la misma entre las categorías de TIEMPO.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,392	Conserve la hipótesis nula.
3	La distribución de GFZ+COLON es la misma entre las categorías de TIEMPO.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,392	Conserve la hipótesis nula.
4	La distribución de MEs+COLON es la misma entre las categorías de TIEMPO.	Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes	,392	Conserve la hipótesis nula.

Anexo 2. Resumen de contraste de hipótesis



Anexo 3. Exposición en la casa abierta de la Facultad de Ciencias Químicas