



División de Ciencia Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica.

Informe de actividades del servicio social:
Caracterización del extracto acuoso del hueso de mamey

Alumna:

Lorena Castillo Valtierra

Matrícula:

2133028825

Asesora:

M. en C. María Luisa Vázquez Ramírez

**Lugar de realización: Laboratorio 107 Edificio N, UAM Xochimilco,
CDMX**

Fecha de inicio: 7 Enero 2019

Fecha de término: 7 Julio 2019

Diciembre 2019

INDICE

1. Objetivo	3
1.1 Objetivos específicos	3
2. Justificación	3
3. Introducción	3
3.1 Mamey.....	3
3.2 Polisacáridos	4
3.3 Generalidades de liberación controlada	5
4. Metodología	5
4.1 Análisis de Infrarrojo.....	6
4.2 Prueba de solubilidad.....	6
4.3 Cromatografía de capa fina	6
4.4 Prueba de adhesión.....	6
4.5 Angulo de contacto.....	7
4.6 Nanodrop	7
4.7 Índice de refracción.....	7
4.8 Toxicidad	7
5 Resultados y discusión de resultados	8
5.1 Análisis de infrarrojo	8
5.2 Prueba de solubilidad.....	8
5.3 Cromatografía de capa fina	8
5.4 Prueba de adhesión.....	9
5.5 Angulo de contacto.....	12
5.6 Nanodrop	12
5.7 Índice de refracción.....	12
5.8 Toxicidad	14
6 Análisis de resultados	17
7 Conclusiones.....	17
8 Bibliografía	18
9 Anexos	19
10 Resumen.....	23

Objetivo

- Caracterizar el extracto acuoso del hueso de mamey

Objetivos específicos

- Obtener el extracto acuoso del hueso del mamey
- Determinación del infrarrojo del extracto
- Desarrollar la cromatografía en placa fina del extracto
- Prueba de adhesión por contrapeso
- Realizar prueba de índice de refracción
- Establecer la solubilidad de la muestra
- Evaluar la toxicidad del extracto acuoso del hueso de mamey
- Realizar pruebas de ángulo de contacto
- Calcular la concentración de proteínas de la muestra

Justificación

Las formas farmacéuticas de liberación inmediata proveen una concentración plasmática del fármaco, de forma que sus niveles crecen rápidamente y luego decaen a medida que es metabolizado y/o excretado. El tiempo en el que se sostiene el nivel efectivo mínimo puede extenderse aumentando la cantidad de dosis administrada o el número de dosis. Sin embargo, este fenómeno puede producir efectos negativos en el paciente, ocasionando fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas, riesgo de acumulación tóxica o sin efecto terapéutico por olvido de administraciones.

Los medicamentos de liberación prolongada pueden evitar estos problemas ya que liberan el principio activo lentamente, la administración es más espaciada y por lo tanto se evitan riesgos de olvido de la toma.

El presente trabajo estudia el extracto acuoso del hueso de mamey como un excipiente potencialmente interesante en la aplicación de formas farmacéuticas de liberación controlada y así evitar dichos problemas

INTRODUCCIÓN

Mamey

El mamey es el fruto de un árbol originario del Sur de México. Pertenece a la familia de las sapotáceas, científicamente se le conoce como *Calocarpum mammosa*, existen algunos sinónimos, entre ellos se mencionan: *Lucuma mammosa*, *Cintellaria mammosa* y *Pouteria mammosa*. Se le conoce con otros nombres según el idioma o dialecto de los habitantes de la región donde se encuentra.

Se consume por igual fresco como fruta de temporada, y en la industria, que elabora conservas, mermeladas y helados. El árbol también es una especie muy apreciada por su porte; con su madera pueden fabricarse muchos utensilios. Se trata de un fruto ovoide, de unos 15 centímetros de diámetro. La corteza es café claro con tonalidades rosas, es rugosa y delgada; se desprende con facilidad. La pulpa es color salmón, muy dulce, y las flores color rosado.

Es un árbol muy grande de hoja perenne, que puede alcanzar treinta metros de altura; tiene una copa piramidal, densa, y corteza marrón grisácea, áspera, escamosa o agrietada. Sus hojas nacen opuestas, simples, de forma redondeada elíptica. Miden entre 15 y 25 centímetros de largo y entre cinco y diez de ancho. Se encuentran redondeadas en el ápice y en la base. El árbol del mamey se adapta muy bien al clima tropical y subtropical con un periodo seco de tres meses. No tolera las heladas y se desarrolla por lo general en suelos arenosos y limosos ubicados a menos de mil metros sobre el nivel del mar. Prefiere suelos profundos, sueltos, sin encharcamientos, con buena fertilidad.

En la siguiente tabla se muestra el contenido del fruto

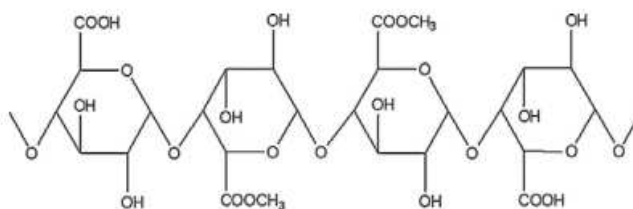
Promedio del fruto es de 62 % de pulpa, 20% de semilla y 18 % cascara

Valor nutritivo	Cantidad
Calorías	44.5-45.3
Agua	85.5-87.6 g
Carbohidratos	11.52-12.67 g
Grasas	0.15-0.99 g
Proteínas	0.470-0.088 g
Fibra	0.80-1.07 g
Cenizas	0.17-0.29 g
Calcio	4.0-19.5 mg
Fosforo	7.8-14.5 mg
Hierro	0.15-2.51 mg
Tiamina	0.017-0.030 mg
Riboflavina	0.025-0.030 mg
Niacina	0.160-0.738 mg
Ácido ascórbico	10.2-22.0 mg

Polisacáridos

La pectina es una mezcla compleja de polisacáridos que constituye aproximadamente un tercio de las paredes celulares de las plantas. En los últimos años ha adquirido gran interés pues sus aplicaciones pueden ser muy diversas con base a sus parámetros físico-químicos y a su biodegradabilidad¹.

Se extrae de cáscaras de cítricos y de pulpa de manzana en condiciones ligeramente ácidas. Fuentes alternativas para la obtención de pectina son los residuos provenientes de la industria azucarera (remolacha), aceitera (semillas de girasol), etc².



Estructura química de la pectina³

Las pectinas se dividen en dos grupos principales, en función de su grado de esterificación, clasificándolas en: pectinas de alto grado de metoxilación (HM), pectinas de bajo grado de metoxilación (LM)⁴

La pectina se encuentra inscrita en la FDA como un aditivo seguro sin límites de consumo diario, por lo que ha sido ampliamente utilizada como excipiente en la formulación de comprimidos matriciales, geles, cubiertas de formas farmacéuticas, etc.

Generalidades de liberación controlada

La Real Farmacopea Española describe las formas farmacéuticas de liberación controlada como aquellas preparaciones en las que la velocidad de liberación de la sustancia o sustancias activas, es diferente al de la forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía⁵

Así, las formas farmacéuticas de liberación controlada presentan numerosas ventajas con respecto a las formas farmacéuticas convencionales, entre las que destacan⁶:

- Mejor cumplimiento del tratamiento por parte del paciente gracias a una administración más fácil, más adecuada menos frecuente.
- Reducción de los efectos secundarios relacionados con dosis elevadas, es decir, incremento en la seguridad del fármaco al emplearse, en muchos casos, dosis menores y menor distribución del fármaco hacia órganos o tejidos no involucrados en la respuesta farmacológica y reducción de la formación de metabolitos tóxicos.
- Disminución de la fluctuación de niveles plasmáticos al tener la posibilidad de conseguir la velocidad de liberación más adecuada al lugar y al mecanismo de acción del fármaco.
- Efecto terapéutico más uniforme.
- Disminución de trastornos asociados con la intolerancia gástrica cuando se recurre a la administración oral.

Dentro de las diferentes vías de administración de medicamentos, la vía de administración oral sigue siendo la más utilizada en el ser humano. En la actualidad varios trabajos de investigación han centrado su atención en el desarrollo de matrices hidrofílicas o comprimidos matriciales para la liberación controlada de fármacos, debido a que estas formulaciones son sencillas, económicas y de fácil escalado a nivel industrial, además presentan buena correlación de los estudios in vitro-in vivo^{7,8}

Los comprimidos matriciales se obtienen mezclando el principio activo (p.a.) con polímeros hidrófilos, que en presencia de fluidos acuosos deben ser capaces de formar geles. Se usa la denominación de comprimidos matriciales porque muchas de estas formulaciones se obtienen por compresión, utilizando las mismas operaciones básicas que en la elaboración de comprimidos convencionales. Además, en algunos casos es necesario el empleo de diluyentes, lubricantes y antiadherentes⁹.

METODOLOGÍA

Primer Lote

Pesar las semillas, cortarlas en rodajas de aproximadamente 0.5 cm

Hervir 540 ml de hexano y verterlo en caliente a las semillas, mover con una espátula y decantar, repetir el lavado con 450 ml de hexano y decantar. Hervir 450 ml de tolueno y verterlo en caliente a las semillas, mover y decantar.

Agregar a las semillas 300 ml de agua destilada y llevar a ebullición, seguir hirviendo y agitando de vez en vez durante 5 min

Decantar el agua y dejar enfriar toda la noche, agregar a la fase acuosa etanol al 96% en diferentes fracciones y diferentes tiempos de centrifugada

Sobrenadante 1

EtOH 1:1 extracto acuoso 1.5 min a 2000 rpm casi no se formó el residuo

EtOH 2:1 extracto acuoso 2 min a 2000 rpm se formó un pequeño residuo

EtOH 2:1 extracto acuoso 3 min a 2000 rpm se formó mejor el residuo

Sobrenadante 2

100 ml de extracto acuso l+ 200 ml de EtOH al 96%

Muestra	Extracto acuoso	EtOH 96%	Tiempo(min) /RPM	Observaciones
Sobrenadante 1	100 ml	200 ml	3 min a 2000 rpm	Se dejo la muestra de sobrenadante a vacío la cual formo textura de caramelo de color anaranjado y pegajoso
Sobrenadante 2	100 ml	200 ml	3 min a 2000 rpm	Sobrenadante color verdoso, se evaporo el EtOH y se hizo viscoso color anaranjado
Sobrenadante 3	200 ml	200 ml	3 min a 4000 rpm 3 min a 6000 rpm 3 min a 6000 rpm 3 min a 6000 rpm	Sobrenadante ámbar (como concentrado) se filtró con silica y se puso a vacío, formo una capa blanca la cual no es pegajosa y en él, momento de centrifugado hizo espuma. Solución color ámbar claro. NOTA: esta muestra presento espuma
Sobrenadante 4	150 ml	300 ml	3 min a 2000 rpm 5 min a 4000 rpm	Sobrenadante amarillento, se filtro con sílice y se dejó en vacío al igual que el 3 se formó la capa blanca. Pero la solución fue de color ámbar más fuerte que la 3

Segundo lote

Se lavaron con hexano y agua destilada, después se agregó 2 EtOH:1 muestra se centrifugo por 3 min a 2000 rpm y esta muestra se liofilizo

Análisis de IR

La espectrometría de infrarrojos es un tipo de espectrometría de absorción que utiliza la región infrarroja del espectro electromagnético. Como las demás técnicas espectroscópicas, puede ser utilizada para identificar un compuesto o investigar la composición de una muestra.

La espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y, posiblemente, el acoplamiento vibracional.-mm

Si la molécula recibe luz con la misma energía de esa vibración, entonces la luz será absorbida si se dan ciertas condiciones. Para que una vibración aparezca en el espectro infrarrojo, la molécula debe someterse a un cambio en su momento dipolar durante la vibración

Prueba de solubilidad

Se pondrá la muestra en tubos de ensayo para probar la solubilidad de esta en acetona, etanol, buffer de fosfatos pH 7.2 y DMSO

Cromatografía en capa fina

La cromatografía se define como la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases inmiscibles: una fase móvil, llamada también activa, que transporta las sustancias que se separan y que progresa en relación con la otra, denominada fase estacionaria. La fase móvil puede ser un líquido o un gas y la estacionaria puede ser un sólido o un líquido. Todas las técnicas cromatográficas dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre esas dos fases

Este tipo de cromatografía es especialmente popular para el monitoreo de reacciones, la purificación de muestras, la identificación de compuestos y contaminantes en las mezclas.

Prueba de adhesión

Un adhesivo es un material que permite la unión entre dos superficies o sustratos en el que actúan dos fuerzas esenciales, la adhesión y la cohesión: la adhesión es la fuerza de unión que se produce entre el adhesivo y el sustrato, la cohesión es la resistencia ejercida en el interior del adhesivo

Los adhesivos son puentes entre las superficies de los sustratos, tanto si son del mismo, como si son de distinto material. El mecanismo de unión depende de:

- La fuerza de unión del adhesivo al sustrato o la fuerza interna del adhesivo o cohesión

Ángulo de contacto

El valor del ángulo de contacto depende principalmente de la relación que existe entre las fuerzas adhesivas entre el líquido, el sólido y las fuerzas cohesivas del líquido. Cuando las fuerzas adhesivas con la superficie del sólido son muy grandes con relación a las fuerzas cohesivas, el ángulo de contacto es menor de 90 grados

Mientras mayor sea el ángulo de la gota de agua con la superficie, menor será su energía de superficie y, por lo tanto, menor también su capacidad de adhesión

Nanodrop

La tecnología NanoDrop se basa en un innovador sistema de retención de muestras que utiliza la tensión superficial para mantener y medir muestras de micro volúmenes entre dos pedestales ópticos sin el uso de cubetas o capilares.

Thermo Scientific NanoDrop 2000 son espectrofotómetros UV-Vis de espectro completo para cuantificar y evaluar la pureza del ADN, ARN, proteína y más.

El índice de refracción

Un refractómetro mide la medida en que la luz se curva (es decir, se refracta) cuando se mueve desde el aire a una muestra y se usa normalmente para determinar el índice de refracción de una muestra líquida.

El índice de refracción es un número sin unidades, entre 1.3000 y 1.7000 para la mayoría de los compuestos, y normalmente se determina con una precisión de cinco dígitos

El índice de refracción se determina comúnmente como parte de la caracterización de muestras líquidas. También se usa comúnmente para ayudar a identificar o confirmar la identidad de una muestra comparando su índice de refracción con valores conocidos, evaluar la pureza de una muestra comparando su índice de refracción con el valor de la sustancia pura.

-Factores que afectan la medición del índice de refracción

Temperatura: Es una medida del cambio de densidad. La temperatura debe ser controlada para poder obtener mediciones precisas de índice de refracción.

Presión: En General para los líquidos un aumento en la presión aumenta la densidad y por ende aumenta el índice de refracción.

Longitud de Onda: El índice de refracción en un medio transparente disminuye gradualmente al aumentar la longitud de onda

Toxicidad

Aunque inicialmente la Artemia era utilizada en ensayos de toxicidad que involucraban compuestos bioactivos de extractos de plantas, hoy en día podemos ver extendido su uso a otros ensayos que buscan detectar la toxicidad de nuevos productos naturales.

Resultados y Discusión de resultados

Análisis de IR

Para el análisis de infrarrojo se analizó la fracción a, s1, s2 y el liofilizado (mostrados en los anexos)

Donde en la fracción a, se observa a 3447 una banda de O-H

A 2924, 2854, 1818, 787, 877, 779 y 669 bandas de C-H

A 1741 se muestra una banda de C=O

A 1653 y 1618 se muestran bandas de C=C

Para el s1 se observan a 3592 y 3564 bandas intensas de O=H

A 1682 y 1651 bandas de C=C

1456, 1416, 923 y 669 bandas de C-H

En el infrarrojo de s2 se muestra una banda exageradamente grande de -OH de 3608 a 2918 la cual suponemos que se debe a mucha humedad en la muestra, a 1647 se muestra una banda de C=C

Y a 1132 y 665 se muestra una banda de C-H

Por último, esta muestra localizada en 3397 muestra una banda de -OH

1653 y 1626 se muestra una banda de C=C

A 1456, 1420, 1406, 991 y 921 se muestran bandas de C-H

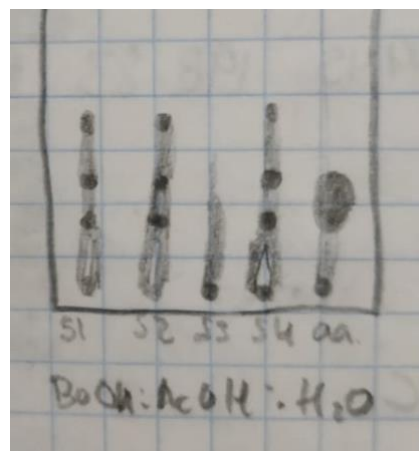
Pruebas de solubilidad

En 4 tubos de ensayo se puso un poco de la muestra, se agregaron diferentes disolventes como acetona, etanol, buffer de fosfatos pH 7.2 y DMSO. Seguido de esto se agitaron con un vortex, se mostró que en el acetona y etanol no tenía nada de solubilidad en cambio en el DMSO tenía poca, pero en el buffer de fosfatos se disolvió bien

Cromatografía en capa fina

La cromatografía en capa fina se realizó para las muestras s1, s2, s3, s4 y una muestra de aminoácido que es treonina en agua.

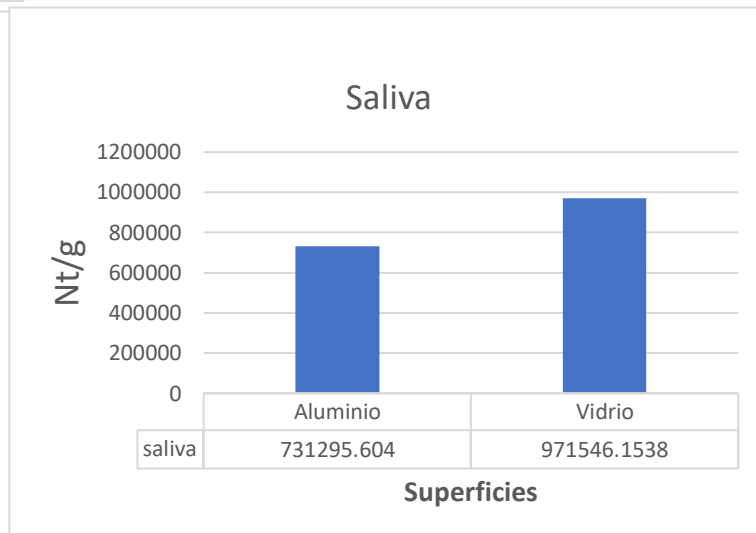
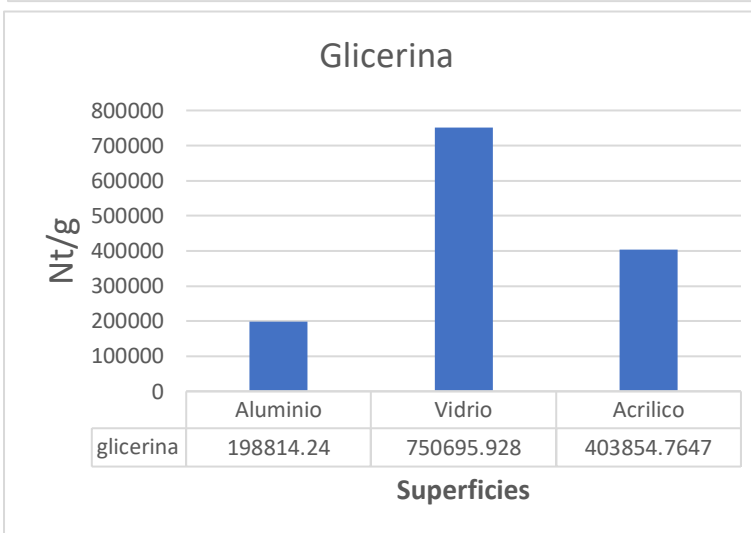
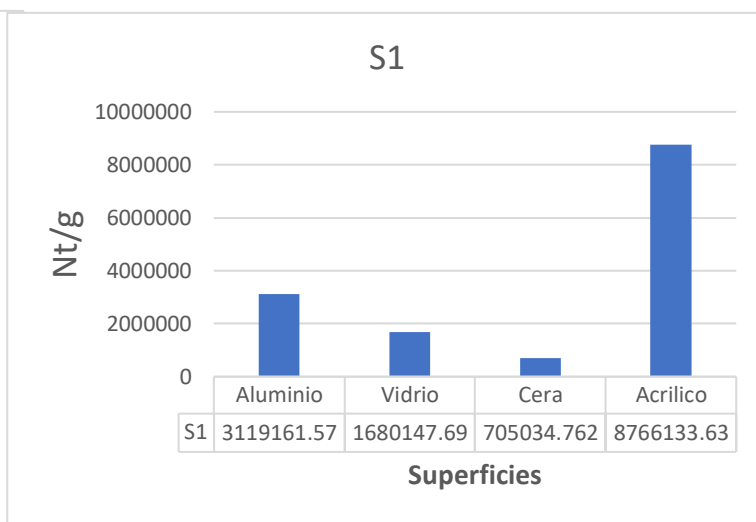
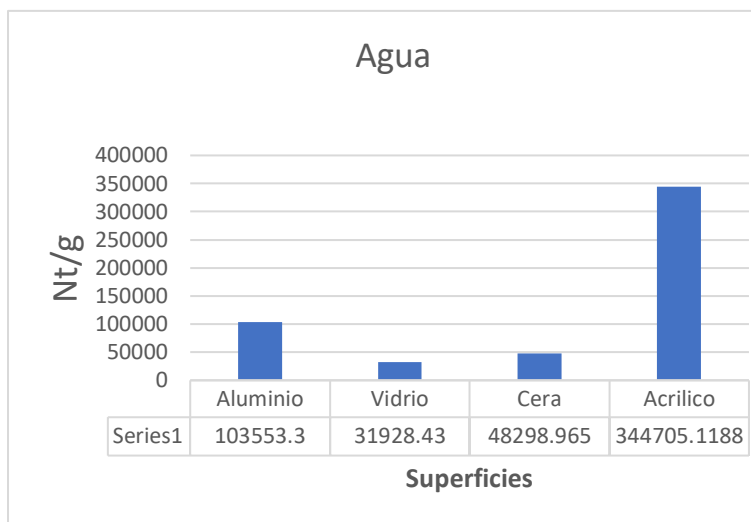
Como fase móvil se ocupó butanol, ácido acético y agua en fracciones 5:2:0.3 respectivamente. Se corrieron las muestras, observamos que el s1, s2, s4 corrieron igual por lo que podemos suponer que son lo mismo, en cambio el s3 corrió diferente. Hablando de la muestra de aminoácido se observa una mancha grande y en las muestras se observan dos manchas a la misma distancia que esta. Por lo que podemos decir que las muestras pueden contener aminoácidos.



Prueba de adhesión

Para esta prueba se utilizó un aparato donde se ponen diferentes superficies, se agregan las muestras y por medio de una polea se van agregando diferentes barras de plomo antes pesadas, ya que se separen las dos superficies esos eran los plomos que se tomaban en cuenta, se hicieron los cálculos pertinentes y de los resultados se obtuvieron las siguientes graficas. Donde Nt/g es newtons/gramos

Estas primeras cuatro graficas son de las diferentes muestras ocupadas comparando cada una con las diferentes superficies

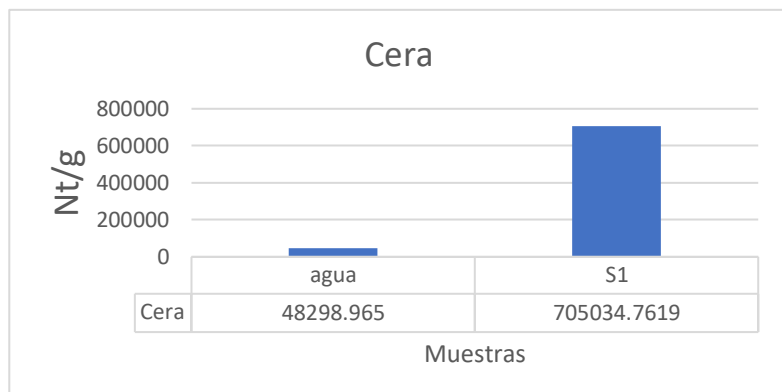
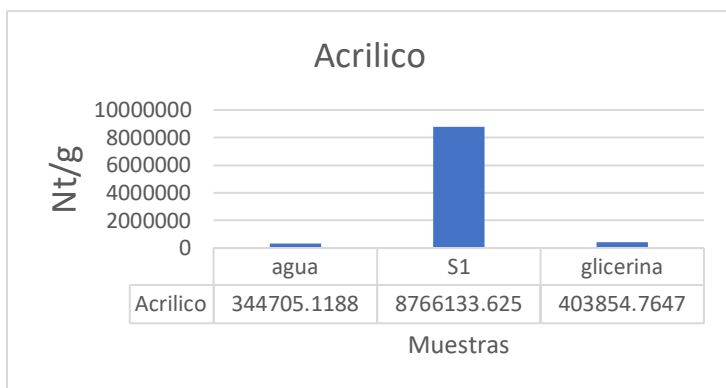
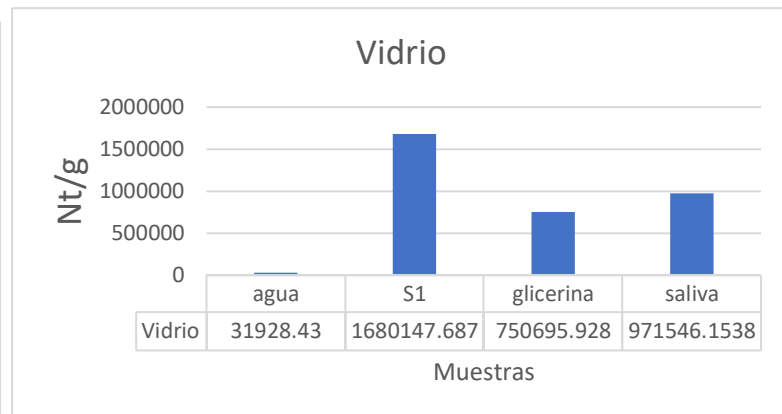
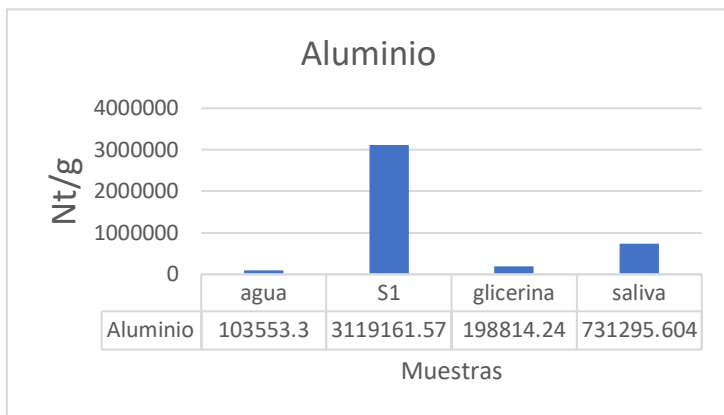


La primera sustancia ocupada es el agua en dónde se muestra que para el acrílico tiene mayor fuerza de adhesión a comparación del aluminio, cera y vidrio este último es el que tiene la menor fuerza de adhesión

La siguiente muestra s1 en donde igualmente el acrílico es donde hay más adhesión, pero en este la cera es el que tiene menos fuerza de adhesión

La glicerina en este caso sólo se hizo en aluminio, vidrio, acrílico donde el vidrio es el que tiene la mayor fuerza de adhesión y el aluminio menor

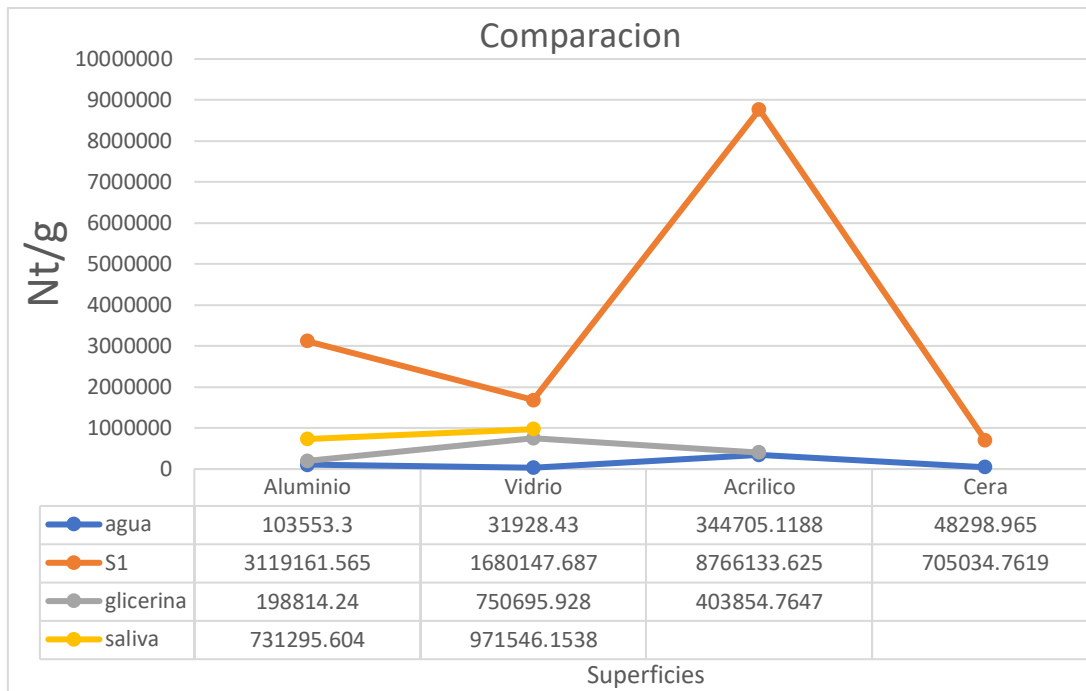
Por último, la saliva sólo se hizo en las superficies de aluminio y vidrio, donde el vidrio es donde tiene mayor adhesión, pero no muy considerable al aluminio



En las siguientes cuatro gráficas se dividieron por superficies y se va a mostrar en cada una cuál fue el que tuvo más fuerza de adhesión en cada una de estas

Como se muestra en las gráficas el s1 es la muestra que tiene mayor adhesión en todas las superficies

Hablando del aluminio y vidrio el segundo con mayor fuerza de adhesión fue la saliva, en caso del agua fue la muestra que tiene menor fuerza de adhesión en todas las superficies



Por último, se muestra una gráfica de comparación sobre todas las muestras y superficies donde significativamente el S1 es la muestra que tiene mayor fuerza de adhesión en todas las superficies y más notoriamente en el acrílico, con menos fuerza en la cera, de ahí la saliva es la segunda con mayor fuerza de adhesión tanto en aluminio como vidrio

El agua es la muestra con menor adhesión en todas las superficies que se ocuparon

Por lo cual podemos concluir con esta prueba que nuestra muestra S1 que es parte del extracto del hueso de mamey tiene propiedades adhesivas

Ángulo de contacto

Esta prueba se realizó con ayuda de una cámara conectada a una computadora, sin luz. Se puso la placa de las diferentes superficies seguido de agregar una gota de cada una de las muestras, y tomar foto de cada una de estas, después con ayuda de un transportador se determinó el ángulo de contacto.

Se ocuparon las muestras de sobrenadante 1, 2, 3, 4 diferentes concentraciones aproximadamente una de 30 y 0.40 gramos varían un poco ya que la muestra era como caramelo y era difícil tomar la muestra, agua como blanco en dos diferentes superficies que son cera y vidrio en el caso del agua en lugar de vidrio se ocupó teflón donde se hicieron varias repeticiones, después se hizo un promedio de las medidas de ángulos cercanos

Muestra	Cantidad (g)	Superficie	Ángulos de contacto								Promedio
S1	30	Vidrio	55	56							55.5
S4	34.5	Vidrio	32	33	36	34	37				34.4
S2	0.42	Vidrio	59	63							61
S1	30	Cera	76	77	75	78	77	80	79	79	77.5

S2	0.40	Cera	74	80								77
S3	0.42	Cera	64	63	63							63.3
S4	39.5	Cera	71	69	71							70.3
Agua		Cera	89	87	86							87.3
Agua		Teflón	73	76	70	73	71	70				72.5

En la tabla se muestra el mayor promedio de ángulos de contacto para el agua en cera con un promedio de 87.3 después el s1, s2 igualmente en cera con 77.5 y 77 respectivamente después el agua con un promedio de 72.5 esto quiere decir que tienen menos capacidad de adhesión puesto que es muy grande su ángulo de contacto

El s4 y s2 son los que tienen menor ángulo de contacto lo cual hace que tengan más adhesión a la superficie de vidrio

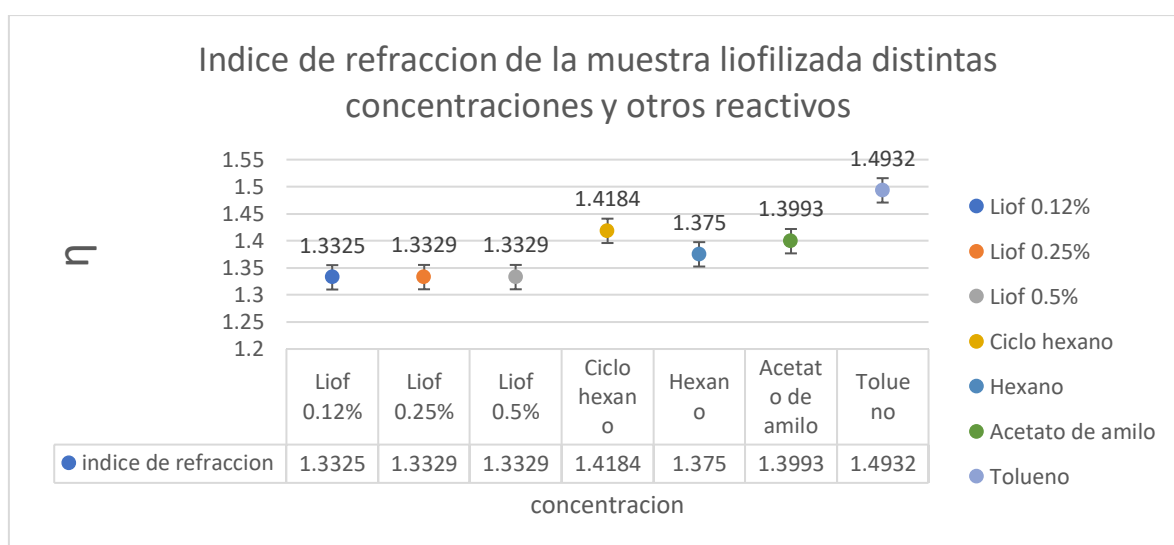
En conclusión, se puede ver que las muestras tienen mayor adhesión a la superficie de vidrio por su menor promedio de ángulo de contacto.

Nanodrop

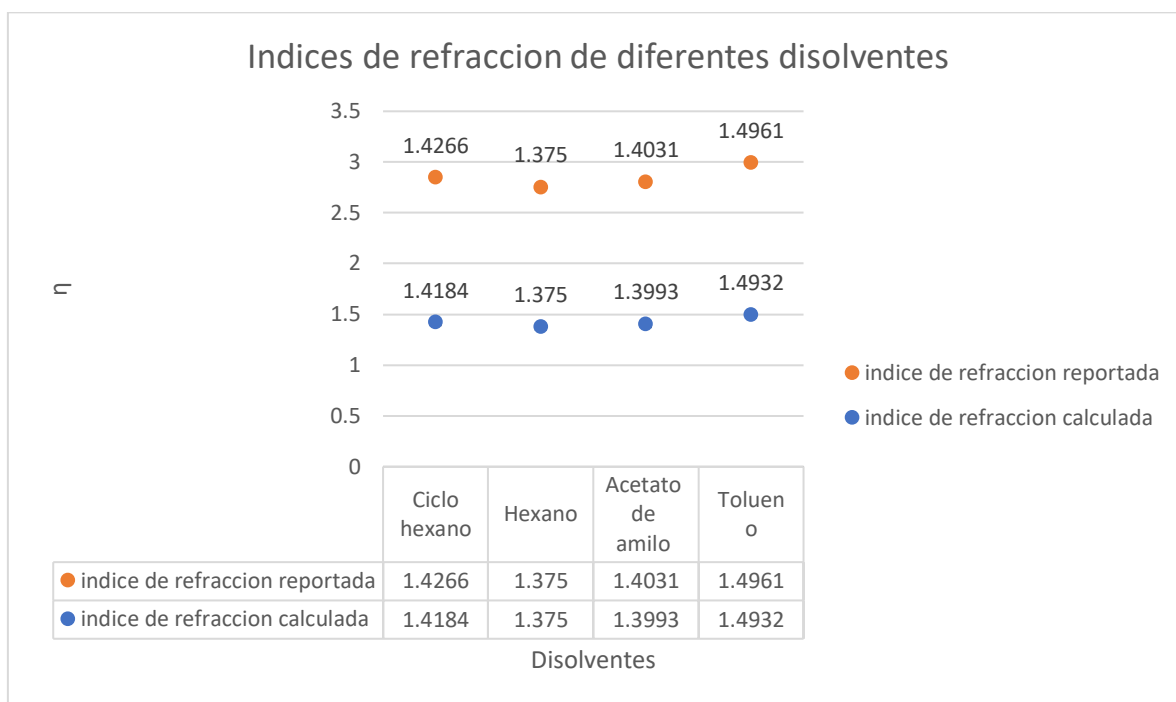
Muestra	Peso muestra (mg/μL)	Peso muestra (mg/mL)	Lectura (mg/mL)	%w/w
S1	9.9	99	54.201	54.748 %
S2	10.7	107	68.980	64.467 %
S3	10.6	106	65.720	62 %
S4	10.3	103	60.022	58.274 %

En la prueba de nanodrop se observa que las muestras tienen más del 50 % de proteínas en su composición, donde la s2 es aquella que tiene mayor concentración de proteínas y menor la s1

El índice de refracción



La primera gráfica muestra el índice de refracción de diferentes disolventes, este sólo se hizo para confirmar que el refractómetro estaba calibrado ya que tanto la refracción reportada como la calculada fueron similares



En esta otra gráfica se muestran los índices de refracción de las muestras liofilizadas a distintas concentraciones y 4 diferentes reactivos en donde se muestra que ninguna de las muestras liofilizadas contiene estas sustancias ya conocidas lo cual se descarta que tengan restos de las de los reactivos ocupados para la extracción del hueso de mamey.

Toxicidad

Para la realización de esta prueba se hicieron 4 soluciones de diferentes muestras a diferentes concentraciones y como blanco se ocupó el agua. Se utilizaron blíster de medicamentos y en cada agujero antes llenados con cada una de las muestras (S2 a concentraciones de 0.19%, 0.42% y la muestra liofilizada a concentraciones de 0.5%, 0.25%, 0.12%), se pusieron 5 artemias con ayuda de una pipeta Pasteur en el blíster y el experimento se hizo por triplicado con cada muestra

Y nos arrojó los siguientes resultados donde se calculó el % de toxicidad con la siguiente fórmula: donde los valores positivos del porcentaje de toxicidad quieren decir que hubo más artemias vivas que muertas y los porcentajes negativos que hay más muertas que vivas

$$1 - \frac{\text{Numero de artemias muertas}}{\text{Numero de artemias vivas}} \times 100$$

La primera prueba se hizo en agua y la muestra liofilizada a concentración de 0.5%, 0.25%, 0.12%. Hablando del agua en una de las repeticiones tuvo dos muertas, tres vivas con un 33% de toxicidad y las otras repeticiones ninguna murió

En la muestra de liofilizado la que tuvo mayor toxicidad fue la de concentración 0.5% ya que dos de las repeticiones tuvieron -50% de toxicidad lo cual significa que tiene mayor toxicidad a comparación del agua

La muestra liofilizada al 0.25% en una de las repeticiones se murió una artemia y en las otras dos repeticiones ninguna por lo cual en esta concentración de 0.25% y 0.12% como se muestra en la tabla no son tóxicas para las artemias con un intervalo de 6 horas

Agua					Liofilizado 0.5 %				
inicio	muerte	vivas	muertas	Toxicidad %	inicio	muerte	vivas	muertas	Toxicidad %
10:36		5	0	100	11:36	03:00	2	3	-50
10:37					11:36				
10:38					11:37				
10:39					11:38	03:00			
10:39					11:38	03:00			
10:39		5	0	100	11:39		5	0	100
10:40					11:40				
10:41					11:41				
10:41					11:42				
10:42					11:43				
10:43		3	2	33.33333333	11:44		2	3	-50
10:43	04:35				11:45	03:00			
10:44					11:45	03:00			
10:44					11:46	05:46			
10:45	04:35				11:46				

Liofilizado 0.25 %					Liofilizado 0.12 %				
inicio	muerte	vivas	muertas	toxicidad	inicio	muerte	vivas	muertas	Toxicidad
11:18		4	1	75	10:56		5	0	100
11:18					10:56				
11:19					10:57				
11:20	05:29				10:58				
11:21					10:59				
11:22		5	0	100	11:00		5	0	100
11:23					11:00				
11:24					11:01				

11:24					11:02				
11:25					11:03				
11:25		5	0	100	11:04		5	0	100
11:26					11:05				
11:27					11:06				
11:28					11:07				
11:29					11:08				

Las siguientes tres tablas muestran otra prueba del agua y muestra del s2 a dos concentraciones que es 0.19% y 0.42%, igualmente observadas por 6 horas las artemias. Se muestra que el agua en la primera repetición hubo tres vivas, dos muertas en la siguiente repetición dos vivas, tres muertas, por último cuatro vivas y una muerta por lo cual podemos decir que sí tiene un poco de toxicidad el agua a estas artemias en comparación a las muestras en caso de la s2 a 0.19% en una repetición no tuvo toxicidad, las otras dos repeticiones, en una hubo dos vivas, tres muertas en la otra tres vivas, dos muertas por lo que podemos decir que tiene un poco de toxicidad la muestra en las artemias. La última muestra que fue s2 a una concentración de 0.42% en dos de las repeticiones sí hubo toxicidad ya que dos artemias vivieron y tres murieron, la tercera repetición ninguna murió. En conclusión, podemos decir que a esta concentración si tiene toxicidad la muestra en las artemias de igual manera se vio en la muestra liofilizada a concentración de 0.5 %.

Agua					Muestra S2 0.19%				
inicio	muerte	vivas	muertas	toxicidad %	inicio	muerte	vivas	muertas	toxicidad %
11:30		3	2	33.3333333	01:30		2	3	-50
11:32	04:31				01:32	04:30			
11:33					01:33				
11:32	01:21				01:33	05:30			
11:35					01:32	03:29			
11:37	01:13				01:34	03:29	3	2	33.3333333
11:38		2	3	-50	01:35	04:30			
11:39	05:14				01:35				
11:40					01:36				
11:40	03:12				01:36				
11:42		4	1	75	01:37		5	0	100
11:44						01:37			
11:44	02:20	03:24				01:38			
11:45						01:39			
11:46						01:39			

Muestra S2 0.42%				
inicio	muerte	vivas	muertas	toxicidad %
01:17	04:15	2	3	-50
01:18				
01:18	01:15			
01:19	06:28			
01:19				
01:20	05:38	2	3	-50
01:20				
01:21	05:38			
01:22	04:44			
01:22				
01:23		5	0	100
01:23				
01:24				
01:25				
01:25				

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Dados los resultados de la espectrometría infrarroja nos damos cuenta que todos los lotes y muestras tienen bandas iguales, lo cual quiere decir que no importaron las diferentes extracciones de la muestra (vacío y liofilización), ya que tienen varias bandas iguales lo que quiere decir que tenemos la misma muestra, al igual que en las otras pruebas que se realizaron para afirmar lo antes mencionado como cromatografía en capa fina, índice de refracción.

Hablando de las pruebas para evaluar la propiedad de adhesión del extracto del hueso de mamey nos damos cuenta que en la prueba de adhesión por contrapeso fue la muestra que más tuvo adhesión y con base a los resultados del ángulo de contacto podemos ver que fue mayor el ángulo de la gota con las superficies, esto quiere decir que tiene mayor capacidad de adhesión a comparación de las demás muestras.

Por último la toxicidad probada en artemias nos damos cuenta que no es potencialmente tóxica.

Conclusiones

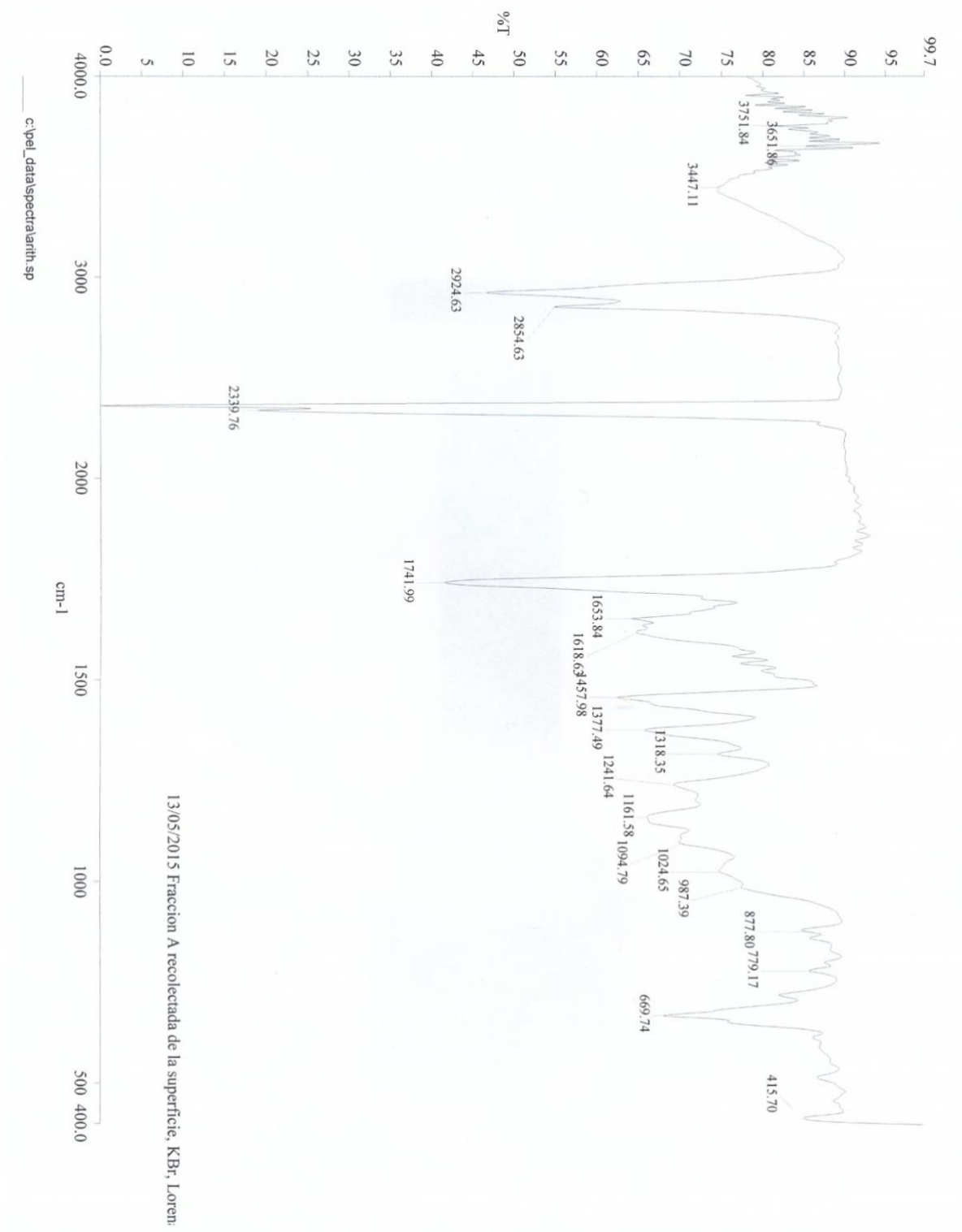
En conclusión, gracias a los resultados obtenidos de la prueba de adhesión y ángulo de contacto podemos decir que el extracto del hueso de mamey tiene propiedades adhesivas, que todas las muestras obtenidas son iguales. En la prueba de toxicidad los resultados fueron positivos ya que no es tóxico en las artemias a concentraciones menores de 0.4%. Los resultados obtenidos en todas las pruebas realizadas muestran

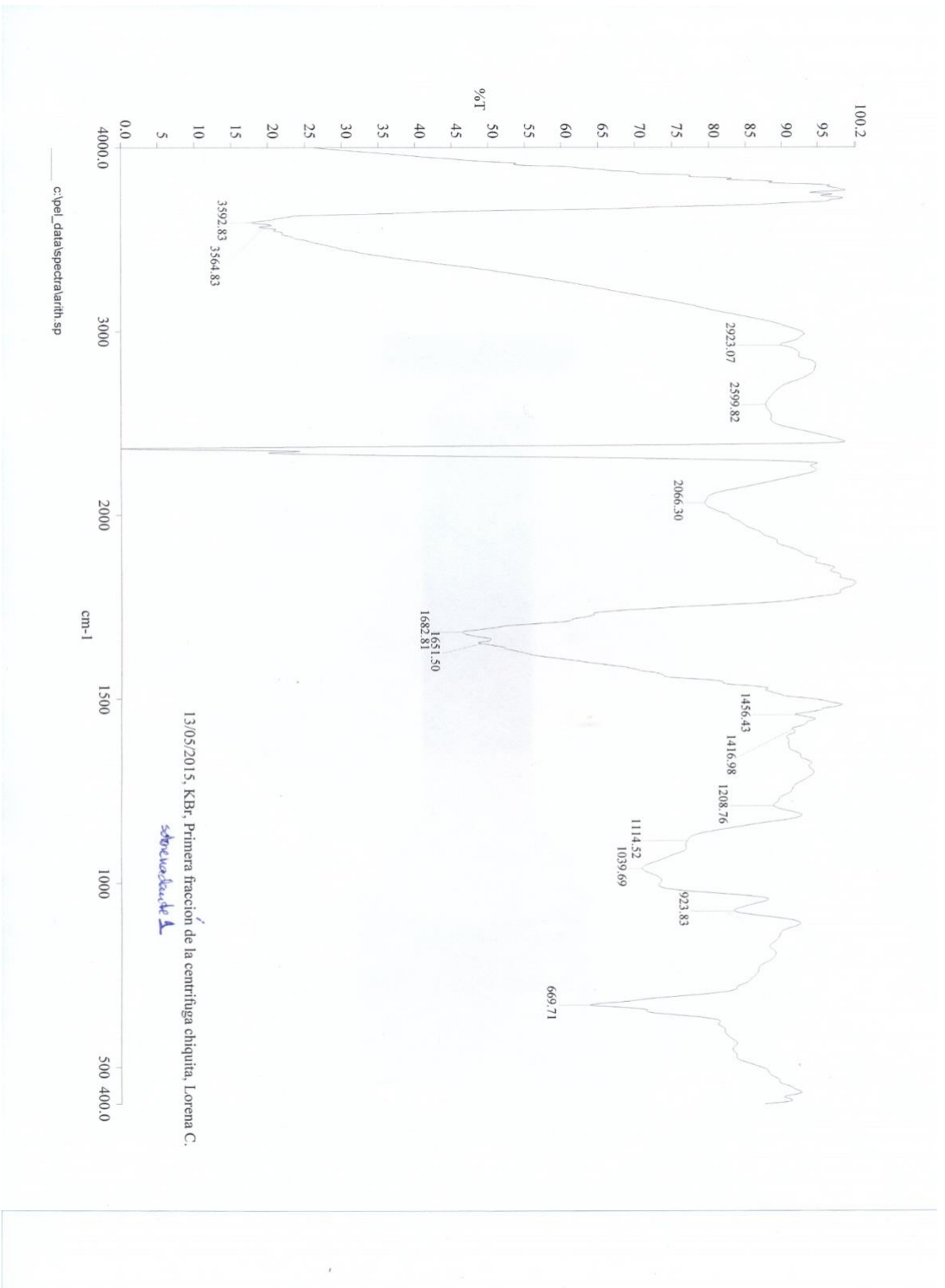
que el extracto puede ser un potencial excipiente para la ayuda de formulaciones de medicamentos de liberación controlada por sus propiedades adhesivas ya evaluadas.

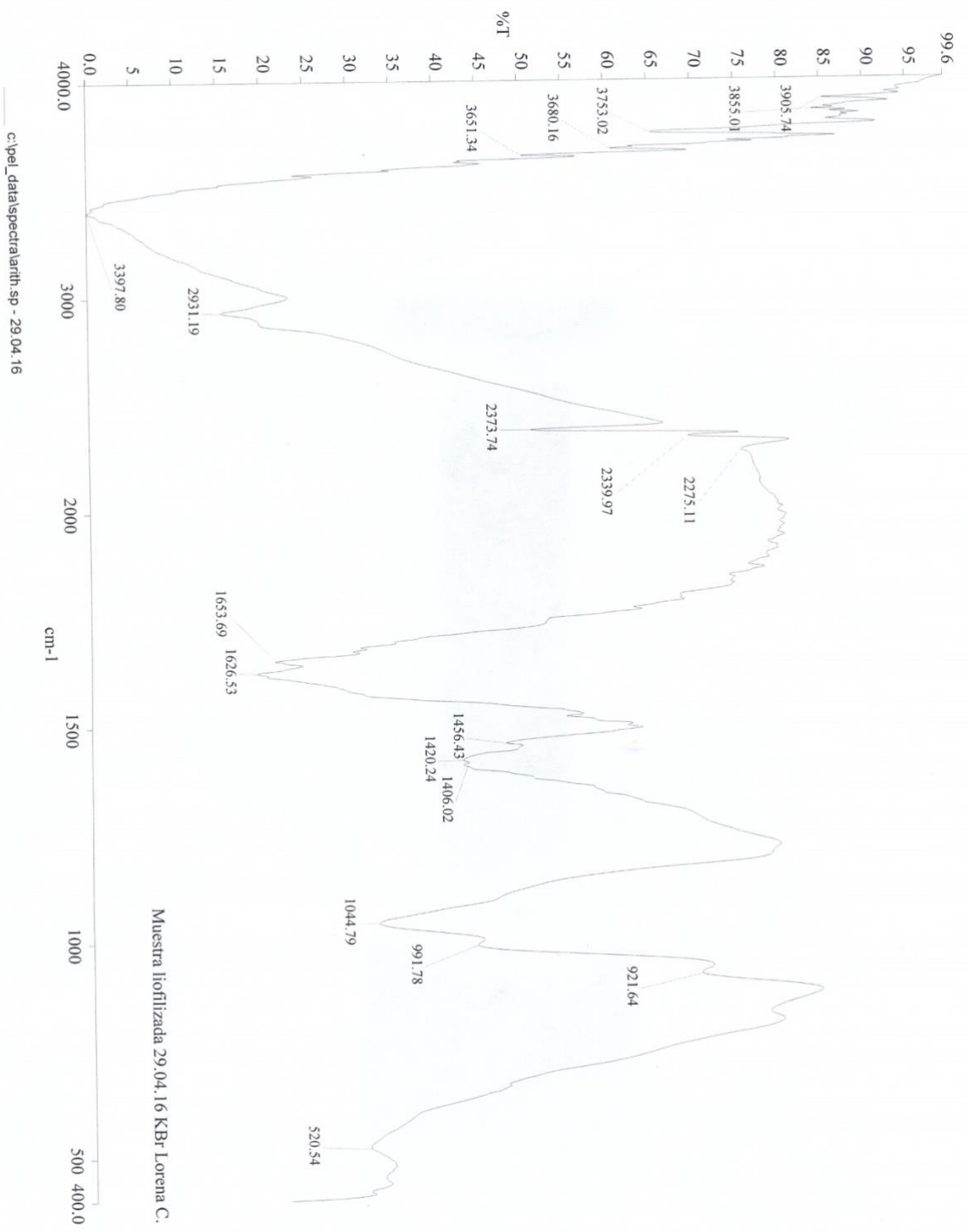
Bibliografía

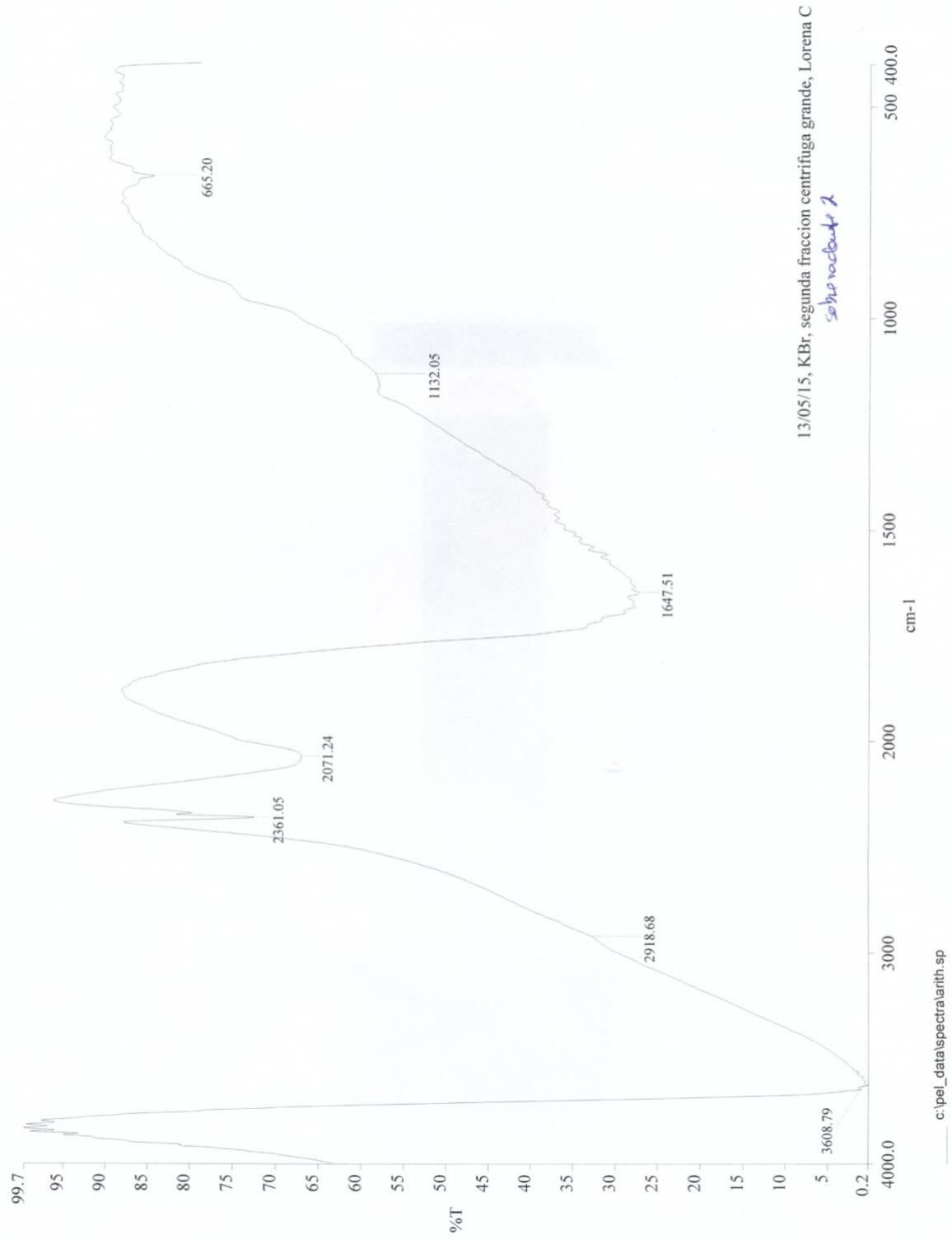
1. May CD. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. *Carbohydr. Polym.* 1990; 12: 79-99.
2. Rolin C. Pectin. In: Whistler RL, BeMiller J. (Eds.), *Industrial gums. Polysaccharides and Their Derivates* (3^a ed). Academic Press: San Diego, CA, 1993; pp. 257-293.
3. Sharma R, Ahuja M. Thiolated pectin: Synthesis, characterization and evaluation as a mucoadhesive polymer. *Carbohydr. Polym.* 2011; 85: 658- 663.
4. Vandamme TF, Lenourry A, Charrueau C, Chaumeil, JC. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. *Carbohydr. Polym.* 2002; 48: 219-231.
5. Real Farmacopea Española (RFE), 3^a ed, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad y Consumo): Madrid, 2005.
6. Doménech J, Escribano E. Preparados orales de cesión modificada: cinética. In: Doménech J, Martínez J, Pla JM. (Eds.), *Biofarmacia y Farmacocinética. Vol II. Síntesis*: Madrid, 1998; pp. 317-347.
7. Chien Yie W., "Novel Drug Delivery Systems", Second Edition, Revised and Expanded, New York, (1992).
8. Li CL, Martini LG, Ford JL, Roberts M. The use of hypromellose in oral drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* 2005; 57: 533-546.
9. Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *J. Control. Release* 2011; 25: 2-19.
10. Salager, Jean-Louis. "Fenómenos interfaciales en dispersiones polifásicas y medios porosos". Laboratorio FIRP Escuela de Ingeniería Química, Universidad de los Andes. Venezuela, 1987.

Anexos









Resumen

Los métodos de liberación controlada constituyen una nueva estrategia de desarrollo en la industria farmacéutica que permite reducir la dosis, la frecuencia de administración y la toxicidad de fármacos cuyas dosis terapéuticas presentan elevada toxicidad y/o importantes efectos secundarios.

El presente proyecto estudia al extracto del hueso de mamey como un excipiente potencialmente interesante en la aplicación de formas farmacéuticas de liberación controlada.

Se desarrollaron y estudiaron dos lotes de muestra del extracto acuoso del hueso de mamey a los cuales, se les realizaron varias pruebas para su caracterización tales como cromatografía en capa fina, infrarrojo, solubilidad, nanodrop, índice de refracción y toxicidad. Así como también para evaluar sus propiedades de adhesión como el ángulo de contacto y prueba de adhesión por contrapeso.

Con base a los resultados obtenidos la muestra extraída del hueso de mamey tiene propiedades adhesivas las cuales se pueden utilizar para la realización de un excipiente que se pueda ocupar para la formulación de medicamentos de liberación controlada, también se demostró que todos los lotes eran prácticamente iguales y que el procedimiento para el tratamiento de las muestras se puede reproducir adecuadamente. Los extractos obtenidos no son potencialmente tóxicos para su uso en formulaciones de medicamentos de liberación controlada.



División de Ciencia Biológicas y de la Salud
Departamento de Sistemas Biológicos
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica.

Informe de actividades del servicio social:
Caracterización del extracto acuoso del hueso de mamey

Alumna: Lorena Castillo Valtierra

Matrícula:2133028825

Asesora: M. en C. María Luisa Vázquez Ramírez

**Lugar de realización: Laboratorio 107 Edificio N, UAM Xochimilco,
CDMX**

Fecha de inicio: 7 Enero 2019

Fecha de término: 7 Julio 2019

**Dirección: Calle Petunia Mz 45 Lt 21 Col. Los ángeles Del.
Iztapalapa Tel.5576125928**

Diciembre 2019

Objetivo

- Caracterizar el extracto acuoso del hueso de mamey

Objetivos específicos

- Obtener el extracto acuoso del hueso del mamey
- Determinación del infrarrojo del extracto
- Desarrollar la cromatografía en placa fina del extracto
- Prueba de adhesión por contrapeso
- Realizar prueba de índice de refracción
- Establecer la solubilidad de la muestra
- Evaluar la toxicidad del extracto acuoso del hueso de mamey
- Realizar pruebas de ángulo de contacto
- Calcular la concentración de proteínas de la muestra

INTRODUCCIÓN

Mamey

El mamey es el fruto de un árbol originario del Sur de México. Pertenece a la familia de las sapotáceas, científicamente se le conoce como *Calocarpum mammosa*, existen algunos sinónimos, entre ellos se mencionan: *Lucuma mammosa*, *Cintellaria mammosa* y *Pouteria mammosa*. Se le conoce con otros nombres según el idioma o dialecto de los habitantes de la región donde se encuentra.

Se consume por igual fresco como fruta de temporada, y en la industria, que elabora conservas, mermeladas y helados. El árbol también es una especie muy apreciada por su porte; con su madera pueden fabricarse muchos utensilios. Se trata de un fruto ovoide, de unos 15 centímetros de diámetro. La corteza es café claro con tonalidades rosas, es rugosa y delgada; se desprende con facilidad. La pulpa es color salmón, muy dulce, y las flores color rosado.

Es un árbol muy grande de hoja perenne, que puede alcanzar treinta metros de altura; tiene una copa piramidal, densa, y corteza marrón grisácea, áspera, escamosa o agrietada. Sus hojas nacen opuestas, simples, de forma redondeada elíptica. Miden entre 15 y 25 centímetros de largo y entre cinco y diez de ancho. Se encuentran redondeadas en el ápice y en la base. El árbol del mamey se adapta muy bien al clima tropical y subtropical con un periodo seco de tres meses. No tolera las heladas y se desarrolla por lo general en suelos arenosos y limosos ubicados a menos de mil metros sobre el nivel del mar. Prefiere suelos profundos, sueltos, sin encharcamientos, con buena fertilidad.

En la siguiente tabla se muestra el contenido del fruto

Promedio del fruto es de 62 % de pulpa, 20% de semilla y 18 % cascara

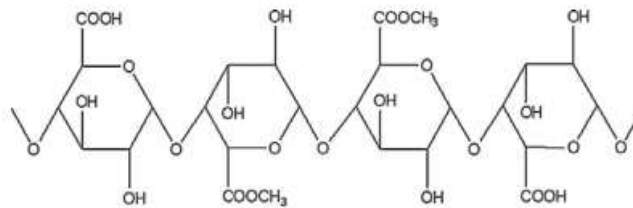
Valor nutritivo	Cantidad
Calorías	44.5-45.3
Agua	85.5-87.6 g
Carbohidratos	11.52-12.67 g

Grasas	0.15-0.99 g
Proteínas	0.470-0.088 g
Fibra	0.80-1.07 g
Cenizas	0.17-0.29 g
Calcio	4.0-19.5 mg
Fosforo	7.8-14.5 mg
Hierro	0.15-2.51 mg
Tiamina	0.017-0.030 mg
Riboflavina	0.025-0.030 mg
Niacina	0.160-0.738 mg
Ácido ascórbico	10.2-22.0 mg

Polisacáridos

La pectina es una mezcla compleja de polisacáridos que constituye aproximadamente un tercio de las paredes celulares de las plantas. En los últimos años ha adquirido gran interés pues sus aplicaciones pueden ser muy diversas con base a sus parámetros físico-químicos y a su biodegradabilidad¹.

Se extrae de cáscaras de cítricos y de pulpa de manzana en condiciones ligeramente ácidas. Fuentes alternativas para la obtención de pectina son los residuos provenientes de la industria azucarera (remolacha), aceitera (semillas de girasol), etc².



Estructura química de la pectina³

Las pectinas se dividen en dos grupos principales, en función de su grado de esterificación, clasificándolas en: pectinas de alto grado de metoxilación (HM), pectinas de bajo grado de metoxilación (LM)⁴

La pectina se encuentra inscrita en la FDA como un aditivo seguro sin límites de consumo diario, por lo que ha sido ampliamente utilizada como excipiente en la formulación de comprimidos matriciales, geles, cubiertas de formas farmacéuticas, etc.

Generalidades de liberación controlada

La Real Farmacopea Española describe las formas farmacéuticas de liberación controlada como aquellas preparaciones en las que la velocidad de liberación de la sustancia o sustancias activas, es diferente al de la forma farmacéutica de liberación convencional administrada por la misma vía⁵

Así, las formas farmacéuticas de liberación controlada presentan numerosas ventajas con respecto a las formas farmacéuticas convencionales, entre las que destacan⁶:

- Mejor cumplimiento del tratamiento por parte del paciente gracias a una administración más fácil, más adecuada menos frecuente.
- Reducción de los efectos secundarios relacionados con dosis elevadas, es decir, incremento en la seguridad del fármaco al emplearse, en muchos casos, dosis menores y menor distribución del fármaco hacia órganos o tejidos no involucrados en la respuesta farmacológica y reducción de la formación de metabolitos tóxicos.
- Disminución de la fluctuación de niveles plasmáticos al tener la posibilidad de conseguir la velocidad de liberación más adecuada al lugar y al mecanismo de acción del fármaco.
- Efecto terapéutico más uniforme.
- Disminución de trastornos asociados con la intolerancia gástrica cuando se recurre a la administración oral.

Dentro de las diferentes vías de administración de medicamentos, la vía de administración oral sigue siendo la más utilizada en el ser humano. En la actualidad varios trabajos de investigación han centrado su atención en el desarrollo de matrices hidrofílicas o comprimidos matriciales para la liberación controlada de fármacos, debido a que estas formulaciones son sencillas, económicas y de fácil escalado a nivel industrial, además presentan buena correlación de los estudios in vitro-in vivo^{7,8}

Los comprimidos matriciales se obtienen mezclando el principio activo (p.a.) con polímeros hidrófilos, que en presencia de fluidos acuosos deben ser capaces de formar geles. Se usa la denominación de comprimidos matriciales porque muchas de estas formulaciones se obtienen por compresión, utilizando las mismas operaciones básicas que en la elaboración de comprimidos convencionales. Además, en algunos casos es necesario el empleo de diluyentes, lubricantes y antiadherentes⁹.

Análisis de resultados

Dados los resultados de la espectrometría infrarroja nos damos cuenta que todos los lotes y muestras tienen bandas iguales, lo cual quiere decir que no importaron las diferentes extracciones de la muestra (vacío y liofilización), ya que tienen varias bandas iguales lo que quiere decir que tenemos la misma muestra, al igual que en las otras pruebas que se realizaron para afirmar lo antes mencionado como cromatografía en capa fina, índice de refracción.

Hablando de las pruebas para evaluar la propiedad de adhesión del extracto del hueso de mamey nos damos cuenta que en la prueba de adhesión por contrapeso fue la muestra que más tuvo adhesión y con base a los resultados del ángulo de contacto podemos ver que fue mayor el ángulo de la gota con las superficies, esto quiere decir que tiene mayor capacidad de adhesión a comparación de las demás muestras.

Por último la toxicidad probada en artemias nos damos cuenta que no es potencialmente tóxico.

Conclusiones

En conclusión, gracias a los resultados obtenidos de la prueba de adhesión y ángulo de contacto podemos decir que el extracto del hueso de mamey tiene propiedades

adhesivas, que todas las muestras obtenidas son iguales. En la prueba de toxicidad los resultados fueron positivos ya que no es tóxico en las artemias a concentraciones menores de 0.4%. Los resultados obtenidos en todas las pruebas realizadas muestran que el extracto puede ser un potencial excipiente para la ayuda de formulaciones de medicamentos de liberación controlada por sus propiedades adhesivas ya evaluadas

Bibliografía

1. May CD. Industrial Pectins: Sources, Production and Applications. *Carbohydr. Polym.* 1990; 12: 79-99.
2. Rolin C. Pectin. In: Whistler RL, BeMiller J. (Eds.), *Industrial gums. Polysaccharides and Their Derivates* (3^a ed). Academic Press: San Diego, CA, 1993; pp. 257-293.
3. Sharma R, Ahuja M. Thiolated pectin: Synthesis, characterization and evaluation as a mucoadhesive polymer. *Carbohydr. Polym.* 2011; 85: 658- 663.
4. Vandamme TF, Lenourry A, Charrueau C, Chaumeil, JC. The use of polysaccharides to target drugs to the colon. *Carbohydr. Polym.* 2002; 48: 219-231.
5. Real Farmacopea Española (RFE), 3^a ed, Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (Ministerio de Sanidad y Consumo): Madrid, 2005.
6. Doménech J, Escribano E. Preparados orales de cesión modificada: cinética. In: Doménech J, Martínez J, Pla JM. (Eds.), *Biofarmacia y Farmacocinética. Vol II. Síntesis*: Madrid, 1998; pp. 317-347.
7. Chien Yie W., "Novel Drug Delivery Systems", Second Edition, Revised and Expanded, New York, (1992).
8. Li CL, Martini LG, Ford JL, Roberts M. The use of hypromellose in oral drug delivery. *J. Pharm. Pharmacol.* 2005; 57: 533-546.
9. Maderuelo C, Zarzuelo A, Lanao JM. Critical factors in the release of drugs from sustained release hydrophilic matrices. *J. Control. Release* 2011; 25: 2-19.
10. Salager, Jean-Louis. "Fenómenos interfaciales en dispersiones polifásicas y medios porosos". Laboratorio FIRP Escuela de Ingeniería Química, Universidad de los Andes. Venezuela, 1987.