

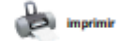


**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
UNIDAD XÓCHIMILCO. División de Ciencias Biológicas y de la Salud

Formato SS-T

**SOLICITUD DE TÉRMINO DE SERVICIO SOCIAL**

Mtra. María Elena Contreras Garfias  
Directora de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
PRESENTE



Por este medio le informo del término del Servicio Social, cuyos datos son los siguientes :

Fecha de Recepción	Día	Mes	Año	Fecha de Aprobación	Día	Mes	Año

**Datos del Alumno**

Nombre : Itzel Magaly Luna Armas	
Matrícula : 2153025599	Licenciatura : Química Farmacéutica Biológica
Domicilio : Calle Francisco I. Madero Número 11. San José Texopa, Texcoco, Estado de México	
Teléfono : 5959215192	Celular : 5522854496
Correo Electrónico : magalylunaarmas@gmail.com	CURP : LUA1970416MMCNRT19

**Datos del Proyecto**

Nombre del Proyecto : Aplicación de un sistema etosomal para mejorar la penetración de cafeína mediante una crema para la eliminación de estrías.							
Lugar donde se realizó el Servicio Social : Laboratorio de Excipientes de la Planta Piloto Farmacéutica							
Dependencia : Universidad Autónoma Metropolitana							
Entidad Federativa : Distrito Federal							
Municipio : Coyoacán				Localidad : Villa Quietud			
Fecha de Inicio	Día	Mes	Año	Fecha de Término	Día	Mes	Año
	2	12	2019		2	6	2020

**PARA SER LLENADO POR LOS ASESORES**

Sector: 3.- Público	Tipo: 2.- Interno
Orientación: 8.- Salud, Alimentación Y Nutrición	

**FIRMAS**

Leticia Ortega Almanza  
Asesor Interno  
Nombre, firma y No. Económico

Itzel Magaly Luna Armas  
Alumno  
Nombre, firma

Asesor Externo  
Nombre, firma y No. Económico

Vo. Bo. de la Comisión  
Nombre y firma de la persona que autoriza



## UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

Ciudad de México 4 de Noviembre de 2020  
ASUNTO: CARTA DE LIBERACIÓN DE SERVICIO SOCIAL

Dr. J. Esteban Barranco Florido  
Jefe del Departamento de Sistemas Biológicos  
Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco  
PRESENTE

Por este medio me permito comunicar a usted que la alumna **ITZEL MAGALY LUNA ARMAS**, matrícula número **2153025599**, de la carrera de **QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**; realizó el Servicio Social en el Laboratorio de Excipientes de la Planta Piloto Farmacéutica en la Universidad Autónoma Metropolitana, con el proyecto intitulado: *“Aplicación de un sistema etosomal para mejorar la penetración de cafeína mediante una crema para la eliminación de estrías”* bajo la asesoría de la **M. en C. Leticia Ortega Almanza** No. Económico 35538, como asesora interna.

El alumno realizó el servicio social en el periodo del día **2 de Diciembre del 2019** al **2 de Junio del 2020**; cubriendo un total de **480 horas**.

Por lo que solicito su apoyo para los trámites de liberación correspondientes.

No me resta más que enviarle saludos cordiales.

Nombre y firma de asesora

M. en C. Leticia Ortega Almanza 35538

Alumna Itzel Magaly Luna Armas  
2153025599



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**

**Unidad Xochimilco**

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Lic. En Química Farmacéutica Biológica

**APLICACIÓN DE UN SISTEMA ETOSOMAL PARA MEJORAR LA  
PENETRACIÓN DE CAFÉINA MEDIANTE UNA CREMA PARA LA  
ELIMINACIÓN DE ESTRÍAS**

**Proyecto Genérico:** Obtención de materias primas, principios activos, medicamentos y productos biológicos.

**Alumna:** Itzel Magaly Luna Armas

**Matrícula:** 2153025599

**Asesor:**

M. en C. Leticia Ortega Almanza

No. Económico 35538

Laboratorio de Excipientes

Fecha de inicio: 2 de diciembre de 2019.

Fecha de término: 2 de junio de 2020.

Nombre y firma

M. en C. Leticia Ortega Almanza 35538

## **Agradecimientos**

A la profesora Leticia Ortega Almanza, profesora de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, por las facilidades para la utilización del equipo y reactivos necesarios.

Asimismo, a Croda International Smart Science to Improve Lives™ por la donación de los aceites super refinados (Aceite de sésamo y PEG 400) indispensables para la realización de esta investigación. Por último, a los voluntarios anónimos que contribuyeron a la parte clínica experimental.

# Contenido

Introducción .....	1
Marco teórico.....	2
Estrías y su tratamiento .....	2
Cafeína.....	3
Etosomas y características .....	4
Aceite de sésamo .....	5
Polietilenglicol 400 .....	5
Diseño de Experimentos .....	6
Aplicaciones típicas del diseño experimental .....	6
Diseño factorial 2 <sup>k</sup> .....	7
Espectrofotometría UV-VIS .....	7
Medición del tamaño de partícula .....	8
Validación de métodos analíticos .....	8
Justificación .....	9
Objetivos .....	9
General.....	9
Específicos .....	9
Metodología .....	10
Análisis de materia prima.....	11
Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína .....	11
Desarrollo del método espectrofotométrico .....	11
Validación del método espectrofotométrico .....	12
Diseño de experimentos .....	13
Elaboración de etosomas .....	15
Elaboración de las cremas.....	18
Resultados .....	19
Análisis de materia prima.....	19
Aceite de sésamo .....	19
Polietilenglicol 400 .....	19
Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína .....	20
Observación microscópica de etosomas.....	22

Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	22
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	22
Determinación del contenido de cafeína .....	23
Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	23
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	24
Determinación del tamaño de partícula .....	25
Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	26
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	27
Elección de las formulaciones para la realización de las cremas .....	28
Prueba de estabilidad de las cremas.....	28
Ciclado térmico .....	28
Observaciones del tratamiento de las 2 cremas antiestrías en los 20 voluntarios.....	30
Discusión de resultados.....	32
Observación microscópica de etosomas.....	32
Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	32
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	33
Determinación del contenido de cafeína.....	34
Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	34
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	34
Determinación del tamaño de partícula .....	35
Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado .....	35
Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado .....	35
Prueba de estabilidad de las cremas.....	36
Ciclado térmico .....	36
Observaciones de las 2 cremas antiestrías realizadas .....	36
Conclusiones .....	38
Referencias.....	38
Anexos.....	42

## Introducción

Las lesiones dérmicas comunes conocidas como estrías o *Striae distensae* (SD) surgen debido al estiramiento de la dermis. Existen dos formas de SD; *striae rubrae* y *striae albae*. La etapa aguda (*striae rubrae*) se caracteriza por las lesiones eritematosas iniciales, rojas y estiradas que están alineadas perpendicularmente a la dirección de la tensión de la piel y pueden ser sintomáticas, mientras que la etapa crónica (*striae albae*) se clasifica cuando la SD se ha desvanecido y aparece atrófica, arrugada e hipopigmentada (1).

Existen diversas modalidades de tratamiento que tienen como objetivo tratar o prevenir la SD, entre las cuales se encuentra el uso de terapia con láser, fototerapia, tratamientos de exfoliación con ácido, etc. Sin embargo, a pesar de las modalidades anteriormente mencionadas, no se ha recomendado ninguna terapia única sea eficaz para erradicar completamente estas lesiones (2).

La terapia más común es la aplicación de tópicos utilizados tanto terapéutica como profilácticamente, sin embargo, muchos productos tópicos disponibles en el mercado no tienen un nivel de evidencia suficiente para respaldar su uso continuo en SD (1). Además, debe mencionarse que, solo se ha evaluado un número limitado de agentes tópicos en estudios formales para el tratamiento de SD, debido a lo anteriormente expuesto, aunque hay muchos tópicos productos, disponibles comercialmente que reclaman beneficios para la prevención y/o el tratamiento de SD, no han sido evaluados formalmente en ningún estudio clínico (1,3).

Debido a esta problemática, surge la necesidad de buscar alternativas terapéuticas usando sustancias activas. Un ejemplo claro de este tipo de moléculas cuya actividad farmacológica resulta útil contra lesiones dérmicas, es la cafeína, la cual se usa cada vez más en cosméticos debido a su alta actividad biológica y su capacidad de penetrar la barrera cutánea. Las formulaciones tópicas de cafeína disponibles en el mercado normalmente contienen cafeína al 3% (4).

Se sabe que este alcaloide estimula la degradación de las grasas durante la lipólisis mediante la inhibición de la actividad de la fosfodiesterasa (4). Sin embargo, un inconveniente de esta sustancia activa es su nivel de penetración en la piel, ya que, a que a pesar de que puede penetrar la barrera de la piel para llegar a la dermis, se trata de una molécula con solubilidad baja en agua (5). En este sentido, resulta útil encontrar alternativas que permitan la administración de este tipo de fármacos.

Para resolver esta problemática, se ha informado que las nanopartículas a base de lípidos flexibles son vectores potenciales para la administración transdérmica de

fármacos debido a su efecto sobre la mejora de la permeabilidad del fármaco a través de la barrera del estrato córneo (6).

Un ejemplo de este tipo de partículas son los etosomas, los cuales han captado la atención de diversos investigadores debido a los rasgos característicos únicos y las ventajas que poseen. La alta deformabilidad, la alta eficiencia de atrapamiento de fármacos y la tasa de permeación transdérmica mejorada en el sistema de administración de fármacos los hacen adecuados para la administración transdérmica de diferentes agentes terapéuticos. (7-8).

Se ha informado que la penetración más profunda y la penetración mejorada en las capas de la piel se atribuyen a la presencia de fosfolípidos y a una alta concentración de etanol. De esta manera, los etosomas han mostrado un flujo transdérmico del fármaco mucho mayor en comparación con los liposomas y una permeación de la piel in vitro 24 veces mayor en comparación con soluciones acuosas de fármacos (9-10).

Los etosomas son vesículas maleables blandas compuestas principalmente de fosfolípidos, etanol (concentración relativamente alta) y agua. Estas vesículas representan un nuevo vehículo vesicular para un suministro mejorado a través de la piel, el tamaño de las vesículas se puede modular a partir de decenas de micras a nanómetros. La alta concentración de etanol permite provocar alteración de la organización de la bicapa lipídica; por lo que, cuando se integra en una membrana vesicular, le da a la vesícula la capacidad de penetrar el estrato córneo (11).

## **Marco teórico**

### **Estrías y su tratamiento**

Las estrías son atrofas cutáneas muy visibles por el adelgazamiento y hundimiento localizado de la epidermis y por el color diferenciado violáceo, rosado o nacarado que pueden presentar. Estas lesiones atróficas lineales o en bandas se presentan en áreas de grandes pliegues cutáneos, en región periaxilar, región mamaria, región periumbilical, fosas ilíacas, región lumbar, cara interna o superior del muslo y región poplítea. Se producen como consecuencia de una rotura y pérdida parcial de fibras de colágeno y elastina en la región afectada, dando lugar a una disminución de la cohesión cutánea y cediendo dicha área a las fuerzas de tensión de las masas musculares que soporta la piel (12).

Tanto los tratamientos farmacológicos como dermocosméticos son poco eficaces en la eliminación de estrías atróficas, así que lo mejor que puede hacerse es prevenirlas. No obstante, a pesar de la dificultad, se puede mejorar el tejido estriado con productos de acción estimulante trófica, bioactivante e hidratante. En principio,



es muy importante estudiar la causa que produce las estrías y corregir en su medida los factores que influyen en su formación (12).

La mayoría de los tratamientos apuntan a aumentar la producción de colágeno. El uso de láseres vasculares puede reducir el eritema en las estrías rubra dirigidas a la hemoglobina, mientras que aumentar la melanina a través de métodos como la luz ultravioleta es un enfoque principal para el tratamiento de las estrías *albae*. A pesar de que algunos tratamientos tópicos se utilizan ampliamente, la incertidumbre sobre su modo de acción permanece. Ningún tratamiento ha demostrado ser completamente efectivo (13).

## Cafeína

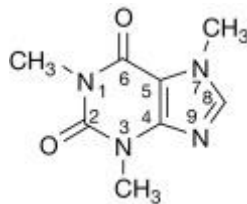


Figura 1. Estructura molecular de la cafeína

\*<https://www.sciencedirect.com/topics/chemistry/caffeine> Consultada 31-marzo-2020

Fórmula molecular:  $C_8H_{10}N_4O_2$ .

Peso molecular: 194,19 g/mol.

Aspecto: Polvo blanco cristalino o agujas brillantes generalmente aglomeradas.

Punto de fusión: Entre 235 y 237.5 °C.

Solubilidad: Fácilmente soluble en cloroformo; Ligeramente soluble en agua; poco soluble en alcohol y en éter dietílico

La cafeína (1,3,7-trimetil-xantina), un alcaloide de la purina, es un metabolito secundario de la planta del café cuya biosíntesis comienza con el fosfato de xantanosina. En la vía metabólica, los pasos de metilación posteriores ocurren con diferentes metiltransferasas, siendo la metionina el donante de metilo. El catabolismo de la cafeína comprende su degradación por desmetilación sucesiva hasta dióxido de carbono y amoníaco (14-15).

La cafeína es un candidato ampliamente estudiado debido a sus pronunciados efectos biológicos. Este es el componente principal en los productos anticelulíticos debido a su acción contra la grasa almacenada en las células, además de que

ralentiza el proceso de envejecimiento de la piel y estimula el crecimiento del cabello. Este alcaloide se usa con frecuencia como una sustancia modelo hidrófila en la penetración de la piel humana y animal. Sin embargo, la estabilidad física de la cafeína en fases acuosas es realmente un desafío debido al rápido crecimiento de los cristales (16).

Además, es sabido que la ruta principal para que diversos activos permeen a través de la piel es a través del contenido de lípidos de la capa más externa del estrato córneo "SC" (17). En este sentido, la cafeína no posee las propiedades de un penetrante ideal para la piel ya que es un material hidrofílico. Además, exhibe un comportamiento de solubilidad inusual en solventes no acuosos y forma agregados en solución acuosa (18-20). Por este motivo se ha promovido el interés de diseñar diversos enfoques de formulación con el objetivo de mejorar la penetración de cafeína en la piel (21).

### **Etosomas y características**

Los etosomas son vesículas de fosfolípidos etanólicos maleables y blandos, diseñados para un suministro mejorado de agentes activos. La alta concentración de etanol causa alteraciones en la organización de la bicapa lipídica de la piel; por lo tanto, cuando se incorpora a una membrana vesicular, mejora la capacidad de la vesícula para atravesar el estrato córneo (SC). Los etosomas se consideran un tipo de portadores no invasivos que entregan medicamentos a las capas profundas de la piel y/o la circulación sistémica. Además, constituyen un sistema sofisticado, seguro, efectivo y fácil de preparar. Una vez que cualquier resto queda atrapado dentro del sistema, no queda expuesto a la degradación y dilución metabólica. Estos tipos de sistemas tienen una liberación prolongada del fármaco que mejora el beneficio terapéutico (22).

Además, resulta útil mencionar que la formulación de etosomas implica excipientes farmacéuticamente adecuados, basados en una escala simple y no implica ningún procedimiento de elaboración. Los etosomas están sintonizados biológicamente y son biodegradables, lo que proporciona un área de superficie mayor debido al tamaño vesicular reducido en comparación con otros sistemas vesiculares (23-25). Los etosomas poseen una competencia de encapsulación elevada para una amplia gama de moléculas, incluidos los fármacos lipofílicos, además tienen una ventaja influyente de administrar con éxito los agentes terapéuticos profundamente a través de las bicapas lipídicas altamente conformacionales y densamente empaquetadas del estrato córneo (SC) al reducir la temperatura de transición ( $T_m$ ) de los fluidos SC, aumentando su fluidez y aumentando la permeabilidad de la membrana por el intercalación del grupo de cabeza polar (26-27).

Por último, es conveniente mencionar que, debido a las características anteriormente expuestas, pueden formularse en formas de dosificación semisólidas (gel o crema) en contraste con las complicaciones asociadas con la iontoforesis y la fonoforesis (28). De esta manera, el sistema etosomal no conlleva un riesgo de desarrollo de drogas a gran escala ya que el perfil toxicológico de los componentes del etosoma frecuentemente se reconoce con precisión en la literatura científica (9).

### **Aceite de sésamo**

El aceite de sésamo, aceite de semillas de sésamo o aceite de ajonjolí se obtiene de las semillas de sésamo, de la especie vegetal *Sesamum indicum L.*, una planta herbácea anual que pertenece a la familia *Pedaliaceae* (29). El aceite de sésamo se ha utilizado durante mucho tiempo en la medicina tradicional en muchos países debido a sus efectos significativos antioxidantes, antiinflamatorios y antibacterianos (30).

Recientemente, se ha demostrado que el aceite de sésamo posee efectos farmacológicos de amplio espectro que incluyen efectos protectores antimutagénicos, antioxidantes, anticancerígenos, antiinflamatorios y antipiréticos, así como propiedades anti-nociceptivas. En modelos animales experimentales, este tipo de aceite ejerce actividad analgésica, pero hasta ahora no ha habido estudios en humanos para evaluar el efecto de aceite de sésamo tópica en el tratamiento del dolor en los pacientes (31).

Sin embargo, este aceite no solo fue considerado en este proyecto por sus propiedades farmacológicas, ya que, este tipo de aceite es uno de los vehículos preferidos para las sustancias liposolubles, siendo usado en experimentos biológicos a menudo como grasa estándar o de control (32).

### **Polietilenglicol 400**

Los polímeros tienen un papel indispensable desde el envasado hasta el desarrollo de sistemas de entrega (DDS) de fármacos en productos farmacéuticos. Sus roles incluyen propiedades solubilizantes, estabilizadores, enmascaramiento del sabor, modificadores de liberación, potenciadores de biodisponibilidad y portadores de fármacos. Los polietilenglicoles también se conocen como Macrogols y son poliéteres compuestos de unidades repetidas de etilenglicol ( $C_2H_6O_2$ ). Estos polímeros actualmente cuentan con un amplio uso en la industria farmacéutica debido a su alta flexibilidad de estructura, biocompatibilidad, anfifilicidad, sin obstáculos estéricos y alta capacidad de hidratación (33).

Al igual que los demás macrogols, el PEG 400 es frecuentemente usado para aumentar la hidrofilia de una solución, mejorando la solubilidad en agua, una característica sobresaliente entre los similares polímeros estructurales. Además, la alta solubilidad del PEG también se observa en la mayoría de los disolventes orgánicos e inorgánicos y forma una monocapa en la interfaz aire-agua. Por lo tanto, juega un papel importante en la solubilización y la permeación, propiedades que se consideraron favorables para el desarrollo del sistema etosomal (34).

### **Diseño de Experimentos**

El diseño de experimentos (DDE) es un conjunto de técnicas activas enfocadas para lograr mejoras sustanciales de un proceso, considerándose la forma más eficaz de hacer pruebas. El diseño de experimentos consiste en determinar cuáles pruebas se deben realizar y de qué manera, para obtener datos que, al ser analizados estadísticamente, proporcionen evidencias objetivas que permitan responder las interrogantes planteadas, y de esa manera clarificar los aspectos inciertos de un proceso, resolver un problema o lograr mejoras (35).

En general, cuando se quiere mejorar un proceso existen dos maneras básicas de obtener la información necesaria para ello: una es observar o monitorear mediante el uso de herramientas estadísticas, hasta obtener señales útiles que permitan mejorarlo; se dice que ésta es una estrategia pasiva. La otra manera consiste en experimentar, es decir, hacer cambios estratégicos y deliberados al proceso para provocar dichas señales útiles. En este sentido el diseño de experimentos ofrece gran utilidad para la planificación de las pruebas necesarias a realizar (35).

### **Aplicaciones típicas del diseño experimental**

Algunos problemas típicos que pueden resolverse con el diseño y el análisis de experimentos consisten en comparar a dos o más materiales con el fin de elegir al que mejor cumple los requerimientos, comparar varios instrumentos de medición para verificar si trabajan con la misma precisión y exactitud, determinar los factores vitales de un proceso que tienen impacto sobre una o más características del producto final, encontrar las condiciones de operación (temperatura, velocidad, humedad, por ejemplo) donde se reduzcan los defectos o se logre un mejor desempeño del proceso, reducir el tiempo de ciclo del proceso, hacer el proceso insensible o robusto a oscilaciones de variables ambientales, apoyar el diseño o rediseño de nuevos productos o procesos, ayudar a conocer y caracterizar nuevos materiales. Por último, es útil mencionar que, recientemente, el diseño de experimentos (DoE) se ha utilizado ampliamente para comprender los efectos de los factores multidimensionales y las interacciones de los factores de entrada en las

respuestas de salida de los productos farmacéuticos y los métodos analíticos, aplicación que resulta útil en el presente trabajo (35-36).

### **Diseño factorial $2^k$**

El objetivo de un diseño factorial es estudiar el efecto de varios factores sobre una o varias respuestas, cuando se tiene el mismo interés sobre todos los factores. Por ejemplo, uno de los objetivos particulares más importantes que en ocasiones tiene un diseño factorial es determinar una combinación de niveles de los factores en la que el desempeño del proceso sea mejor. Los factores pueden ser de tipo cualitativo (máquinas, tipos de material, operador, la presencia o ausencia de una operación previa, etc.) o de tipo cuantitativo (temperatura, humedad, velocidad, presión, etc.). Para estudiar la manera en que influye cada factor sobre la variable de respuesta es necesario elegir al menos dos niveles de prueba para cada uno de ellos. Con el diseño factorial completo se corren aleatoriamente todas las posibles combinaciones que pueden formarse con los niveles de los factores a investigar. Así, la matriz de diseño o arreglo factorial es el conjunto de puntos experimentales o tratamientos que pueden formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores (35-38).

En este proyecto se realizó un diseño experimental factorial  $2^2$ , el cual se caracteriza por contar con  $k = 2$  factores, ambos con dos niveles, se forma el diseño factorial  $2 \times 2 = 2^2$ , que consiste en cuatro combinaciones o puntos experimentales. Por último, resulta útil comentar que, a diferencia de métodos experimentales tradicionales, este tipo de diseño no implica más experimentos de los necesarios, proporcionando a su vez información relacionada a la interacción entre factores, las cuales facilitan la comprensión del comportamiento de muchos sistemas (35-38).

### **Espectrofotometría UV-VIS**

La espectrofotometría UV-VIS es una técnica analítica que permite detectar la absorbancia de determinados elementos cromóforos en el rango de longitudes de onda comprendido entre 190 y 700 nm, es decir, desde el cercano UV (190 a 400 nm) hasta todo el espectro visible (400 a 700 nm) inclusive. Las regiones casi ultravioleta y visible del espectro electromagnético proporcionan energía que da lugar a transiciones electrónicas. Esta técnica se basa en la *Ley de Beer* la cual establece una relación lineal entre la absorbancia "A" de una solución y su concentración. La capacidad de las moléculas en solución de absorber la radiación incidente ya sea en forma total o parcial depende de su estructura atómica y de distintas condiciones del medio como temperatura, pH, fuerza iónica, entre otras (39-40).

La espectroscopía UV / Vis es uno de los métodos más simplificados y económicos para examinar las interacciones de analitos donde solo se mide el cambio en la absorbancia en función de la longitud de onda. La técnica es versátil y proporciona una respuesta rápida con respecto a la información cuantitativa sobre el analito de interés (41).

### **Medición del tamaño de partícula**

La aplicación cutánea de medicamentos es prometedora debido a la facilidad de aplicación. A pesar de estas claras ventajas del suministro transdérmico, la mayoría de los medicamentos son difíciles de dividir y difundir a través de la piel debido a la función de barrera del estrato córneo, la capa más externa de la epidermis de la piel (42).

El grado en que los ingredientes activos penetran en la piel de las formulaciones de aplicación tópica depende de muchos factores, por ejemplo, las propiedades fisicoquímicas del activo, el estado físico del SC y la naturaleza del portador (p. ej., polaridad del solvente y tamaño de partícula). Es útil comentar debido a esto, el tamaño de partícula se determinó como variable de respuesta, bajo el supuesto de que, una disminución en el tamaño de partícula podría causar un aumento en la cantidad de fármaco que se encuentra en los estratos más profundos de la piel (43).

### **Validación de métodos analíticos**

En el presente trabajo se desarrolló un método espectrofotométrico UV-VIS que permitiera la cuantificación de cafeína, esta técnica se escogió debido a las múltiples ventajas que presentan este tipo de métodos, debido a que ofrecen una determinación rápida y económica de diferentes analitos, además de implicar instrumentación simple en comparación con otras técnicas instrumentales (44).

Sin embargo, para respaldar la decisión de emplear esta metodología debió realizarse su validación para demostrar que esta técnica bajo las condiciones definidas era capaz de producir de manera consistente los resultados, además de comprender la aplicación y las limitaciones del método de prueba (45).

## **Justificación**

La cafeína posee diversas propiedades farmacológicas, entre las cuales se encuentran cualidades anticelulíticas útiles en lesiones dérmicas. Sin embargo, este alcaloide no posee las propiedades óptimas para penetrar el estrato córneo debido a su carácter hidrofílico. Por lo tanto, resulta útil intentar mejorar su permeabilidad desde diversos enfoques pertenecientes al desarrollo farmacéutico. El presente trabajo propone la incorporación del principio activo en un sistema etosomal, debido a que este sistema está conformado por vesículas de fosfolípidos etanólicos maleables los cuales brindarán una mayor incorporación en las membranas vesiculares, mejorando la capacidad para atravesar el estrato córneo (SC). Además, para la formación del sistema etosomal se utilizarán aceites super refinados naturales (aceite de sésamo y polietilenglicol 400) debido a que por sus características y propiedades farmacológicas ayudarán a optimizar la formación y actividad del sistema. Sin embargo, para la elección de la formulación a emplear en las cremas a fabricar, se hará uso de diseños experimentales del tipo factorial  $2^2$  para obtener información acerca de las posibles interacciones e influencia de los factores a estudiar (concentración de etanol y aceite). De esta manera se espera obtener una mejor interpretación de los resultados generados tras las 12 semanas de tratamiento, utilizando las 2 cremas fabricadas en los 20 individuos de prueba.

## **Objetivos**

### **General**

Elaborar etosomas utilizando dos aceites super refinados (aceite de sésamo y polietilenglicol 400) con cafeína para mejorar la formulación de una crema antiestrías.

### **Específicos**

- Obtención y preparación de los etosomas utilizando aceite de sésamo y polietilenglicol 400 super refinados.
- Realizar el diseño de experimentos  $2^2$  para la preparación de los etosomas.
- Comprobar la actividad cosmética de la formulación modificada para el tratamiento de estrías.

## **Metodología**

### **Reactivos y solventes**

- Etanol al 96% marca MERCK.
- Metanol marca J.T. BAKER.
- Cloroformo marca J.T. BAKER.
- Agua destilada.
- Cloruro de potasio marca J.T. BAKER.
- Ácido sulfúrico 95% marca MERCK.
- Bromuro de potasio marca J.T. BAKER.
- Cafeína marca BASF.
- Aceite super refinado de sésamo marca Croda Inc.
- Polietilenglicol 400 super refinado LQ-(MH) marca Croda Inc.
- Glicerina B.P./USP marca Droguería Cosmopolita.
- Germaben II marca Droguería Cosmopolita.
- Trietanolamina marca Droguería Cosmopolita.
- Tween 80 marca Droguería Cosmopolita.
- Carbopol 940 marca Droguería Cosmopolita.
- Vaselina líquida NF 55 marca Droguería Cosmopolita.
- Palmitato de isopropilo marca Droguería Cosmopolita.
- Alcohol cetílico marca Droguería Cosmopolita.
- Xiameter (R) PMX-200 Silicon fluido 350 CS (Dimeticona) marca Droguería Cosmopolita.
- Span 80 marca Droguería Cosmopolita.
- Alantoina marca Química Lufra.
- D- Pantenol marca Química Lufra.
- Vitamina E marca Droguería Cosmopolita.
- Aceite Esencial Romero marca Droguería Cosmopolita.
- Aceite Esencial Toronja marca Droguería Cosmopolita.
- Extracto Centella marca Droguería Cosmopolita.

### **Equipos**

- Balanza analítica marca Shimadzu, modelo AUX120.
- Mufla modelo 30-X-PP1, no. de serie 0102415.
- Estufa marca INFISA, modelo DJ12, no. de serie 166847.
- Campana de extracción.
- Microscopio óptico marca LENOX.
- Medidor de tamaño de partícula marca HORIBA, modelo LA-950.



- Espectrofotómetro marca PERKLIN-ELMER, modelo 553 Fast Scan, no. de serie 98XPP1.
- Agitador marca Thomas Scientific, modelo Heidolph, no. de serie TS8588C33.

## **Análisis de materia prima**

Se realizó el análisis a los aceites super refinados utilizados (Aceite super refinado de sésamo y Polietilenglicol 400), de acuerdo con las pruebas establecidas para cada monografía descritas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) y en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM) (14, 46).

## **Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína**

El desarrollo y validación de métodos analíticos desempeña un papel importante en el descubrimiento, desarrollo y fabricación de productos farmacéuticos. En el presente trabajo se desarrolló y validó un método espectrofotométrico UV simple, rápido y reproductivo para la determinación cuantitativa de cafeína.

## **Desarrollo del método espectrofotométrico**

### **Test de solubilidad**

La prueba de solubilidad para la cafeína se realizó en tubos de ensayo de 15 mL mediante el uso de varios solventes. Los solventes incluyeron agua, metanol, etanol y cloroformo.

### **Aparato y reactivos**

Para todas las mediciones espectrales se utilizó un espectrofotómetro Perklin-Elmer de doble haz visible UV y dos celdas de cuarzo coincidentes con longitud de trayectoria de 1 cm.

Todos los productos químicos utilizados fueron de grado analítico. Se usó una muestra de cafeína de obtenida del laboratorio de Excipientes de la Universidad Autónoma Metropolitana, así como una referencia de cafeína de la marca BASF.

### **Preparación de la solución Stock**

La solución Stock estándar de cafeína se preparó disolviendo 100 mg de cafeína en 100 ml de agua destilada proporcionando una concentración de 1000 µg/mL.

### **Preparación de la solución de trabajo**

De la solución madre anterior se transfirieron 10 ml a un matraz volumétrico de 100 ml y se completó el volumen hasta la marca con agua destilada para obtener 100 µg/mL.

La longitud de onda utilizada para el método se determinó de acuerdo con la literatura en la cual se reporta que la cafeína suele tener una absorbancia máxima “λ-máx” a 270 nm (47).

### **Preparación de la curva de calibración**

Se realizaron diluciones a partir de la solución de 100 µg/mL usando metanol como disolvente para producir soluciones de 2.5, 5.0, 7.5, 10, 12.5 y 15 µg/mL respectivamente utilizando matraces volumétricos de 10 mL. Posteriormente se construyó el gráfico correspondiente utilizando la concentración en el eje “X” y la absorbancia en el eje “Y” para el análisis de linealidad. Este procedimiento se realizó por triplicado.

### **Validación del método espectrofotométrico**

La validación se desarrolló con el objetivo de brindar evidencia documentada con alto grado de garantía de que el método diseñado producía de manera consistente los resultados. La validación para el desarrollo del método UV se realizó mediante los parámetros de linealidad, especificidad, precisión, exactitud y robustez, los cuales se estudiaron de acuerdo con las directrices marcadas en la Guía de validación de métodos analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C. y la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

### **Linealidad**

Se prepararon 3 curvas de calibración como se describió anteriormente y se realizaron los cálculos respectivos señalados en la literatura, obteniéndose los parámetros de pendiente, ordenada al origen, coeficiente de determinación e intervalos de confianza para la pendiente de las curvas realizadas.

## **Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC)**

Para la determinación del límite de detección y cuantificación se realizaron los cálculos con base en la curva de calibración y la desviación estándar de regresión calculándose la pendiente ( $b_1$ ), ordenada al origen ( $b_0$ ), coeficiente de determinación, y el intervalo de confianza de la pendiente.

## **Precisión del sistema**

Se prepararon 6 soluciones correspondientes a una concentración de 7.5  $\mu\text{g/mL}$  y se obtuvieron sus absorbancias. Finalmente se realizó el cálculo de la media aritmética, desviación estándar y coeficiente de variación.

## **Robustez**

Se prepararon por triplicado 3 muestras con concentración de 10  $\mu\text{g/mL}$  y se determinaron sus absorbancias durante 3 días consecutivos. Con los datos generados se obtuvieron las concentraciones interpoladas con la curva de calibración obtenida tras el análisis de linealidad y se obtuvieron los porcentajes de recobro. Por último, se determinaron las diferencias absolutas entre los días de análisis.

## **Exactitud**

Se prepararon 6 soluciones correspondientes a una concentración de 7.5  $\mu\text{g/mL}$ . Posteriormente se calculó la media aritmética de las concentraciones resultantes mediante la interpolación de las absorbancias en la curva de calibración obtenida en el parámetro de linealidad. Por último, se analizaron los porcentajes de recobro y el coeficiente de variación.

## **Especificidad**

Se prepararon disoluciones de los reactivos utilizados para la preparación de los etosomas (EtOH, Aceite de sésamo y PEG 400) y se leyeron a 270 nm para descartar su intervención en las lecturas posteriores.

## **Diseño de experimentos**

Se elaboraron dos diseños de experimentos tipo factorial  $2^2$ , utilizándose como factores la concentración de Etanol y la concentración del aceite en cuestión.

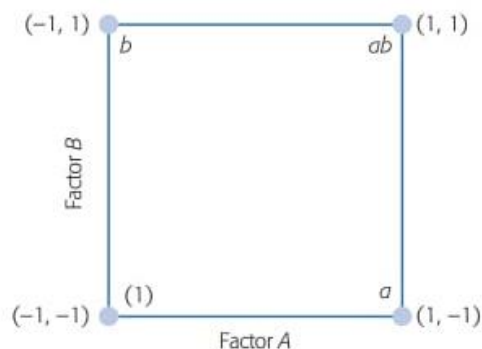


Figura 2. Representación gráfica del diseño de experimentos 2<sup>2</sup>

\*[https://www.researchgate.net/publication/44401609\\_Analisis\\_y\\_Diseño\\_de\\_Experimentos](https://www.researchgate.net/publication/44401609_Analisis_y_Diseño_de_Experimentos) Consultada 20-febrero-2020

### Diseño experimental 2<sup>2</sup> Etosomas con Aceite de sésamo super refinado

*Variable A:* Concentración de Etanol A (1): 45% A (-1): 30%

*Variable B:* Concentración de Aceite de sésamo B (1): 8% B (-1): 3%

Tabla 1. Diseño factorial 2<sup>2</sup> elaborado para el desarrollo de las formulaciones de etosomas con aceite de sésamo super refinado

Muestra	Variable A % Etanol	Variable B % Aceite de sésamo
<b>a</b>	(1)	(-1)
<b>b</b>	(-1)	(1)
<b>1</b>	(-1)	(-1)
<b>ab</b>	(1)	(1)

### Diseño experimental 2<sup>2</sup> Etosomas con PEG 400 super refinado

*Variable A:* Concentración de Etanol A (1): 45% A (-1): 30%

*Variable B:* Concentración de PEG 400 B (1): 6% B (-1): 2%

Tabla 2. Diseño factorial 2<sup>2</sup> elaborado para el desarrollo de las formulaciones de etosomas con PEG 400 super refinado

Muestra	Variable A % Etanol	Variable B % PEG 400
<b>b</b>	(-1)	(1)
<b>ab</b>	(1)	(1)
<b>1</b>	(-1)	(-1)
<b>a</b>	(1)	(-1)

## **Elaboración de etosomas**

La elaboración de los etosomas se llevó a cabo mediante el método caliente con ligeras modificaciones (48-49). Primeramente, se colocó en un vaso de precipitado de 50 mL la cantidad de cafeína, etanol y agua destilada indicada en cada muestra correspondiente a las formulaciones. Es importante mencionar que previamente el etanol y el agua destilada fueron colocados en baño maría para obtener una temperatura de  $35^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ .

Una vez adicionados los reactivos fueron llevados a una parrilla de agitación, colocando un agitador magnético para facilitar su disolución.

Posteriormente, al lograr la disolución de la cafeína se colocó nuevamente en baño maría y con ayuda de un agitador mecánico Heidolph se sometió a 700 rpm para adicionar lentamente la cantidad de aceite super refinado correspondiente.

Terminando la adición se dejó durante 1 minuto bajo las mismas condiciones para facilitar la homogenización. Transcurrido el tiempo indicado, se retiró del baño maría y se sometió a 2000 rpm durante 5 minutos.

La descripción del método logra visualizarse en el diagrama de flujo correspondiente a la figura 3.

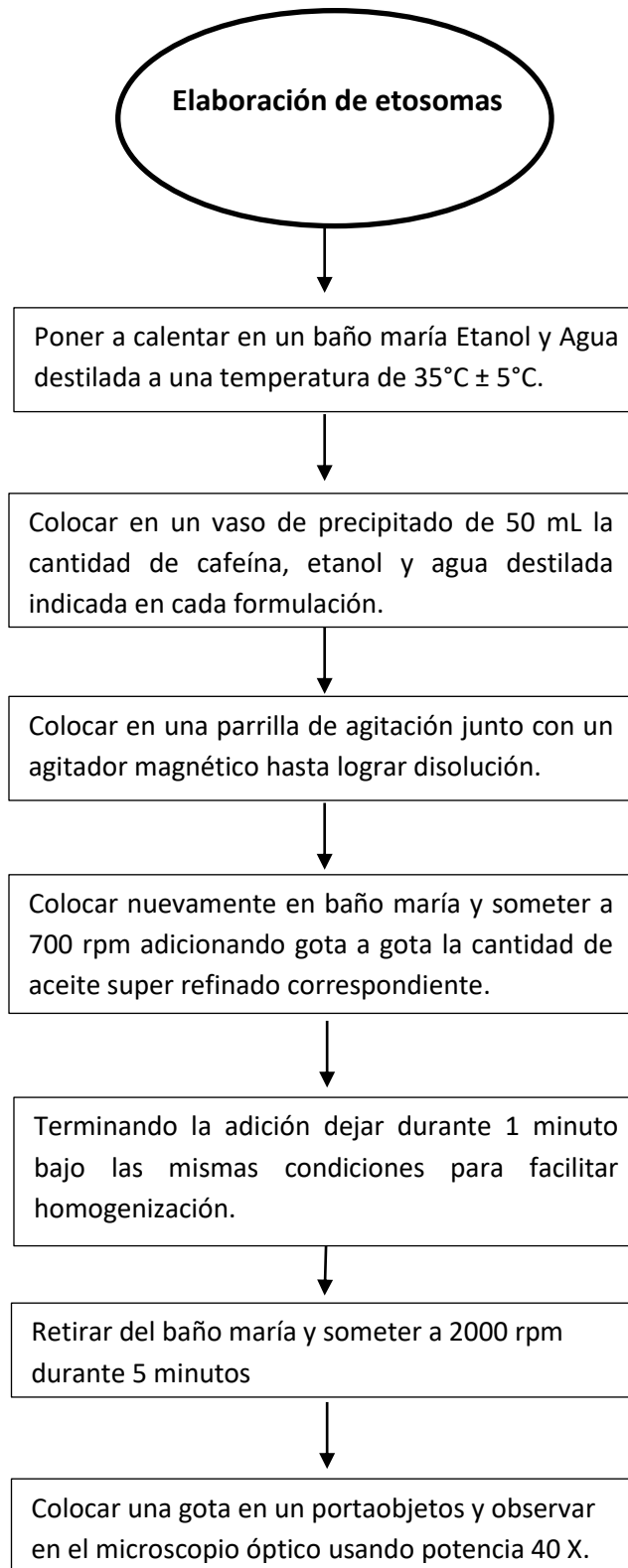


Figura 3. Diagrama de flujo mostrando la metodología para la elaboración de etosomas

## **Observación microscópica**

Se realizó la observación microscópica de los etosomas correspondientes a cada formulación con el objetivo de identificar la correcta formación de las vesículas, además de verificar la presencia o ausencia de cristales de cafeína sin incluir en las vesículas. Estas observaciones se llevaron a cabo mediante el uso de un microscopio óptico modelo, con aumentos de 10x y 40x colocándose las formulaciones de vesículas etosomales preparadas en un portaobjetos de vidrio.

## **Determinación del contenido de cafeína**

Para la determinación del contenido de cafeína de las formulaciones preparadas se utilizó el método anteriormente validado debido a que previamente al desarrollar la prueba de especificidad se determinó que no existía interferencia de los componentes de la mezcla etosomal para la cuantificación de la cafeína. De esta manera, una vez preparada cada muestra etosomal, se sometió a la preparación de la solución Stock de manera que, aproximadamente se tuviera una concentración de 100 µg/mL. Posteriormente se realizó una filtración con ayuda de un embudo Büchner y papel filtro del número 100. Con el filtrado se realizaron por triplicado disoluciones correspondientes a una concentración aproximada de 2.5 µg/mL utilizando como disolvente metanol. Por último, se realizaron las lecturas a 270 nm y se interpolaron las absorbancias correspondientes en la curva de calibración para estimar la concentración real.

## **Determinación del tamaño de partícula**

El tamaño de partícula se determinó como variable de respuesta, debido a que se ha reportado que un pequeño tamaño de partícula de vesículas lipídicas es beneficioso para la penetración de fármacos encapsulados en capas más profundas de la piel, variable que sería útil para realizar la elección de la formulación a incluir en la preparación de las cremas (50,43).

Para la determinación del tamaño de partícula de las mezclas etosomales se utilizó un analizador LA-950 HORIBA. Primeramente, se prepararon disoluciones al 2% en vasos de precipitado de las mezclas utilizando como disolvente agua destilada. Una vez preparadas las muestras fueron leídas por el analizador y recopilados los datos dados por el software.

## **Análisis de las variables de respuesta**

Las variables de respuesta para el diseño de experimentos fueron el contenido de cafeína de cada formulación y el tamaño de partícula de las mezclas etosomales.

Una vez generadas las mediciones, los datos fueron analizados mediante el uso del programa estadístico Statgraphics Centurion XVIII.

### **Elección de las formulaciones para la realización de las cremas**

Mediante el uso del programa Statgraphics Centurion XVIII las variables de respuesta fueron analizadas contemplando como mejor formulación o tratamiento aquel que tuviera un menor tamaño de partícula (factor limitante en la permeabilidad de moléculas en la piel) y mayor contenido de cafeína.

### **Elaboración de las cremas**

Una vez analizados los datos y seleccionadas las formulaciones que se utilizarían para las cremas se prepararon las cantidades de mezclas etosomales necesarias. Para la preparación de las cremas los excipientes fueron pesados cuidadosamente y se continuó con su preparación. Se elaboró 1 kg de cada crema antiestrías, realizando los cálculos correspondientes para la inclusión del sistema etosomal correspondiente. De esta manera se obtuvieron 2 cremas (cada una conteniendo diferente sistema etosomal) la primera incluyendo el sistema correspondiente al aceite de sesamo super refinado, denominada como crema antiestrías "A" y la segunda incluyendo el sistema formado mediante PEG 400, denominada como crema antiestrías "B".

### **Prueba de estabilidad**

#### **Ciclado térmico**

Para la realización de esta prueba, se almacenaron las cremas "A" y "B" a una temperatura de  $4\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 24 h. Posteriormente fueron retiradas de refrigeración y almacenadas durante 24 h a una temperatura de  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ . El experimento se realizó durante 2 ciclos (96 h) con el objetivo de evaluar el impacto de la temperatura en las propiedades de las cremas.

### **Preparación de las muestras individuales para los sujetos de estudio.**

Una vez preparadas las cremas correspondientes a las formulaciones, se realizó la determinación y cálculo de dosis diaria de los individuos para envasar la cantidad equivalente a 12 semanas de tratamiento en recipientes con tapa dispensadora.

### **Preparación de la documentación para el desarrollo clínico**

Se diseñó la carta de consentimiento informado para los individuos de prueba con el fin de documentar su libre decisión para participar en el proyecto, así como un cuestionario para el registro del avance de las lesiones dérmicas.



## **Análisis de los resultados de los tratamientos aplicados**

Durante las 12 semanas de tratamiento se recopilaban las fotos de las zonas A y B de cada individuo, organizándose y analizando finalmente el avance, así como las observaciones de los participantes en los cuestionarios (Ver Anexo 7).

## **Resultados**

### **Análisis de materia prima**

La cafeína utilizada para el análisis fue primeramente evaluada mediante la elaboración del ensayo de identidad MGA 0351 establecido en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, en donde el espectro IR obtenido correspondía al reportado en la literatura (Ver Anexo 1).

Además, es útil mencionar que, el fármaco se visualizó como un polvo blanco cristalino, agujas ligeramente brillantes lo cual correspondía con la descripción marcada. Por último, se realizó la prueba de solubilidad utilizando los disolventes recomendados en la farmacopea dando como resultado una fácil solubilidad en cloroformo, además de ser ligeramente soluble en agua destilada y poco soluble en etanol, resultados que coincidían con lo reportado en la literatura (14).

### **Aceite de sésamo**

Se realizaron las pruebas fisicoquímicas al aceite de sésamo empleado de acuerdo lo estipulado en la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). Primeramente, se realizó la prueba de solubilidad, en donde se obtuvo que, la materia prima era ligeramente soluble en etanol y metanol, además de presentar solubilidad alta en cloroformo y éter etílico (resultados que coincidieron con la especificación, la cual marcaba alta miscibilidad con éteres y muy poca en alcoholes).

A continuación, se realizó el ensayo denominado como aceite de algodón, el cual cumplió con la especificación al no desarrollar color rojo después de 15 minutos. Posteriormente se determinó el índice de acidez mediante la MGA 0001 dando como valor 0.168, el cual nuevamente cumplió lo estipulado en la literatura (no más de 0.5). Finalmente se obtuvo su densidad relativa mediante la metodología marcada en la FHEUM (MGA 0251), la cual reportó un valor de 0.9198 cumpliendo con la especificación (entre 0.916 y 0.921),

### **Polietilenglicol 400**

Para el análisis del Polietilenglicol 400 super refinado se realizaron algunas pruebas marcadas en la FEUM. Primeramente, se realizó la MGA 0701 correspondiente a la

evaluación de pH obteniéndose un valor de 6.7 el cual estaba dentro de la especificación (4.5 a 7.5).

Posteriormente se evaluó el residuo de ignición, desarrollando la MGA 0751 dando como resultado un porcentaje de 0.07% el cual cumplía con la especificación (menor al 1%).

### **Desarrollo y validación del método espectrofotométrico para la cuantificación de cafeína**

El fármaco se analizó a 270 nm en agua destilada usando un espectrofotómetro UV-Visible Perkin-Elmer. Se eligió agua destilada como disolvente después del desarrollo de la prueba de solubilidad al fármaco anteriormente mencionado. La elección de la longitud de onda se llevó a cabo a través de la revisión literaria pertinente (47).

Los resultados generados tras la realización de las curvas de calibración elaboradas permitieron llevar a cabo los cálculos correspondientes al análisis de regresión lineal, brindando los valores de intersección y pendientes, los cuales se usarían posteriormente para la evaluación de los parámetros de validación.

Primeramente se llevó a cabo el análisis de linealidad del sistema, en donde tras la realización de los cálculos establecidos en la guía de validación consultada (Guía de validación de métodos analíticos editada por el colegio nacional de químicos farmacéuticos biólogos de México) se estableció como valor de la pendiente ( $b_1$ ) 0.048, con una ordenada al origen ( $b_0$ ) de -0.009 y un coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de 0.999 el cual cumplía con la especificación señalada (valor de  $r^2 \geq 0.98$ ). Además, se realizó el cálculo del intervalo de confianza para la pendiente IC( $B_1$ ) el cual comprendió un rango de 0.025, 0.072 cumpliendo con lo establecido ya que este rango no incluía el valor de 0.

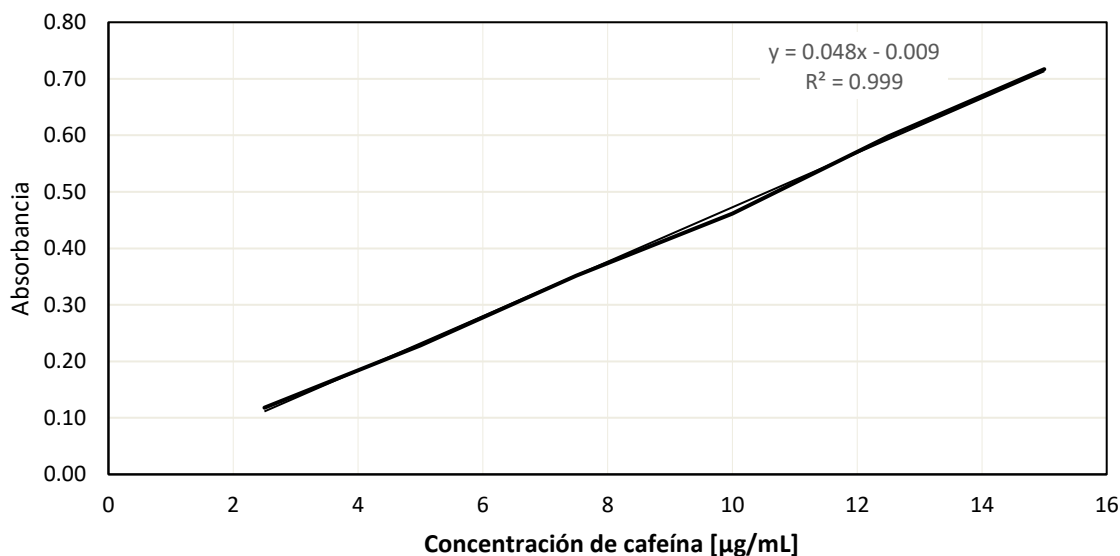


Figura 4. Curva de calibración de Cafeína por Espectrofotometría UV-Visible

Posteriormente se realizó el cálculo de Límite de detección (LD) dando como valor 0.898 µg/mL el cual se encontraba por debajo del valor más pequeño de concentración utilizado en la curva de calibración (2.5 µg/mL). Esto demostraba que las concentraciones utilizadas en la curva serían detectadas en las condiciones de operación establecidas. Además, se realizó el cálculo del intervalo de confianza para la pendiente IC(B1) el cual dio un valor de 0.072 - 0.045, cumpliendo nuevamente con la especificación al no incluir el valor de cero. Sin embargo, también fue necesario determinar el límite de cuantificación (LC) con la finalidad de conocer la concentración mínima del analito que pudiera ser determinada con precisión y exactitud. El valor determinado para este parámetro fue de 2.7 µg/mL el cual era semejante al valor obtenido experimentalmente que permitía una lectura precisa. Por otro lado, el sistema mostró el cumplimiento del parámetro de precisión al mostrar un coeficiente de variación de 0.230% el cual cumplía con la especificación al ser  $\leq 1\%$  para métodos físico – químicos.

Para garantizar que el método contaba con una robustez valida, se realizaron los cálculos correspondientes a los porcentajes de concentración del fármaco, los cuales a pesar de ser leídos espectrofotométricamente en 3 días diferentes dieron un valor de diferencia absoluta (di) de 1.73%, valor que cumplió con la especificación al ser al  $\leq 3\%$  para métodos químicos y espectrofotométricos.

Posteriormente se demostró la exactitud del método validado, al calcular el valor del coeficiente de variación de las 6 muestras preparadas con el cálculo de las cantidades recuperadas, los porcentajes de recobro generados y el coeficiente de

variación (0.224%) el cual cumplía con las especificaciones al ser  $\leq 2\%$ . Además de demostrar tener porcentajes de recobro dentro del rango aceptado (98-102%).

Por último, se demostró la especificidad del método validado al demostrar que los reactivos utilizados en la elaboración de las mezclas etosomales no mostraban absorbancias significativas al leerse muestras de estos mismos a una longitud de onda correspondiente a 270 nm. Este parámetro concluyó el proceso de validación del método demostrando la capacidad de este para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés y no a otros componentes. De esta manera, se encontró que los resultados de las pruebas de validación eran satisfactorios y, por lo tanto, este método se podía aplicar con éxito para la cuantificación de cafeína.

## **Observación microscópica de etosomas**

### **Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado**

Después de la observación microscópica, se detectaron las vesículas correspondientes a las muestras preparadas utilizando una potencia de aumento de 40 X. De esta manera, logró observarse que en la muestra correspondiente a la formulación *a* junto con su réplica existía la presencia de vesículas de múltiples tamaños, además de la presencia de cristales de cafeína sin cargar. Este comportamiento de saturación de principio activo también fue observado en las muestras correspondientes a las formulaciones *1* en donde la saturación se observaba de manera más evidente. Al realizarse estas observaciones se sugirió que estas dos formulaciones no eran candidatas para la elección de la muestra a utilizar en la fabricación de las cremas.

Posteriormente, al observar las muestras correspondientes a la formulación *ab* se logró visualizar mayor número de etosomas cargados, sin exhibir presencia de fármaco saturado sin inclusión en vesículas, además de presentarse una mayor uniformidad en el tamaño de las vesículas. El comportamiento anteriormente descrito también logró observarse en la mezcla *b*, sin embargo, en estas últimas el número de etosomas aparentemente era mayor, así como la uniformidad de su tamaño. Después de la descripción y análisis de los resultados de la microscopía óptica se sugería que la formulación *b* era el candidato óptimo. Para validar esta decisión se desarrolló el análisis de las variables de contenido de cafeína y tamaño de partícula analizado posteriormente en el diseño de experimentos.

### **Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado**

Es útil comenzar la descripción microscópica de los etosomas elaborados utilizando Polietilenglicol 400 super refinado comentando que, a diferencia de los etosomas con aceite de sésamo, estos no se lograron observar tan fácilmente con el

microscopio usando la potencia 40 X, además de que aparentemente existía un menor número de vesículas.

Posteriormente, debe comentarse que el comportamiento de saturación, en donde se mostraban cristales sin cargar en vesículas se observaba nuevamente en las mezclas correspondientes a las formulaciones 1 y a con sus respectivas replicas, sin embargo, este comportamiento se mostraba en menor medida. Esta saturación también se lograba observar ligeramente en las mezclas de formulación b, además de que estas últimas también contaban con menor homogeneidad de tamaño. Por los motivos anteriormente mencionados, las mezclas realizadas utilizando la formulación ab eran las candidatas ideales para ser incluidas en la crema a elaborar debido a que aparentemente no presentaban cristales de cafeína no cargados y mostraban mayor número de vesículas las cuales a su vez exhibían mayor uniformidad de tamaño.

### **Determinación del contenido de cafeína**

Para la determinación del contenido de cafeína en las muestras etosomales elaboradas fue necesario preparar por triplicado muestras correspondientes a una concentración de 2.5 µg/mL, según la metodología anteriormente mencionada. Se obtuvo el promedio de contenido de cafeína en los etosomas correspondientes a cada formulación elaborada, incluyendo sus repeticiones (Ver tablas 3 y 4).

### **Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado**

Después de los cálculos pertinentes se estableció la concentración promedio de cafeína en los etosomas correspondientes a cada formulación (Ver tabla 3).

Tabla 3. Contenido de cafeína promedio correspondiente a las muestras etosomales preparadas con aceite de sésamo super refinado

<b>Formulación</b>	<b>Promedio de la concentración de cafeína en etosomas [mg/mL]</b>	<b>Promedio del porcentaje de cafeína en etosomas</b>
<b>ab</b>	337.022	88.68
<b>a</b>	312.740	82.29
<b>1</b>	236.860	62.34
<b>b</b>	375.019	98.68

De esta manera, al igual que los resultados correspondientes a la observación microscópica, las muestras pertenecientes a formulación b, resultan ser propicias para ser incluidas en la crema, al presentar mayor contenido de cafeína.

Por último, mediante el análisis del diseño de experimentos llevado a cabo en el programa *Statgraphics Centurion XVIII* se pudo llegar a conclusiones basadas en cálculos estadísticos.

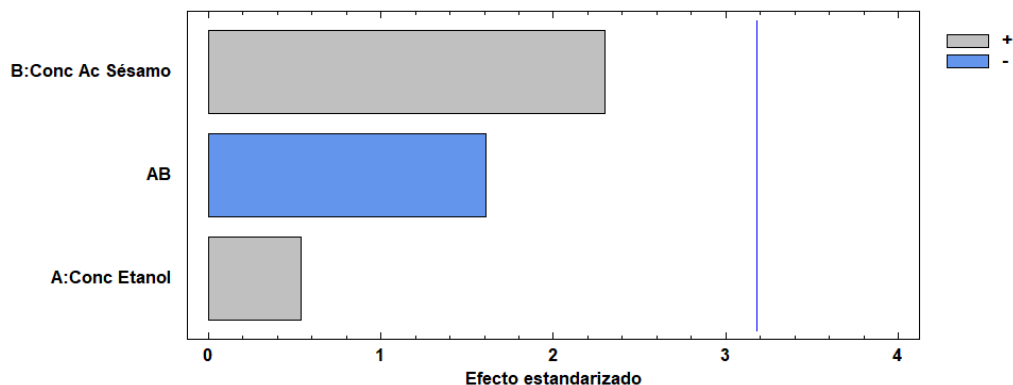


Figura 5. Diagrama de Pareto de los efectos estudiados en el contenido de cafeína en los etosomas elaborados con aceite de sésamo super refinado

Primeramente, mediante la representación de los efectos de los factores estudiados en un Diagrama de Pareto logró observarse que estadísticamente la concentración del aceite de sésamo, así como la de etanol y la interacción de ambos no influían de manera estadísticamente significativa en la variable correspondiente al contenido de cafeína en las vesículas (resultado que fue respaldado por un Análisis de varianza, el cual mostró que las concentraciones de los reactivos no repercutían de manera significativa en el contenido de cafeína).

De esta manera, la formulación *b* resultaba ser la mejor opción debido a que presentaba aparentemente un mayor número de etosomas con tamaño uniforme y cuyo porcentaje promedio de cafeína era mayor que las demás formulaciones (98.68%). Sin embargo, aún debía analizarse su tamaño de partícula promedio.

### Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado

Después de los cálculos pertinentes se estableció la concentración promedio de cafeína correspondiente a cada formulación (Ver tabla 4).

Tabla 4. Contenido de cafeína promedio correspondiente a las muestras etosomales preparadas con PEG 400 super refinado

Formulación	Promedio de la concentración de cafeína en etosomas [mg/mL]	Promedio del porcentaje de cafeína en etosomas
ab	310.051	81.61
a	270.478	71.18
1	250.499	65.92
b	205.855	54.18

De esta manera puede observarse que, mediante la evaluación del contenido de cafeína los resultados apuntan y coinciden nuevamente con que, la mejor formulación es la *ab*. De igual forma, puede comentarse como se ha descrito con anterioridad, mediante el uso de la mayor concentración de etanol y PEG 400 se obtienen etosomas con mayor contenido de cafeína, así como menor exposición de cristalización.

Por otro lado, de acuerdo con el análisis llevado a cabo mediante el programa *Statgraphics Centurion XVIII*, en el análisis de la variable correspondiente a contenido de cafeína en mezclas etosomales se determinó que el único factor que tenía un efecto estadísticamente significativo era la concentración de Etanol como logra visualizarse en la Figura 5. Esta diferencia también fue reportada después de la elaboración de un ANOVA, en donde se encontró que, en este caso, 1 efecto (correspondiente a la concentración de etanol) contaba con un valor-P menor que 0.05, por lo que tenía un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de cafeína en los etosomas, con un nivel de confianza del 95.0%.

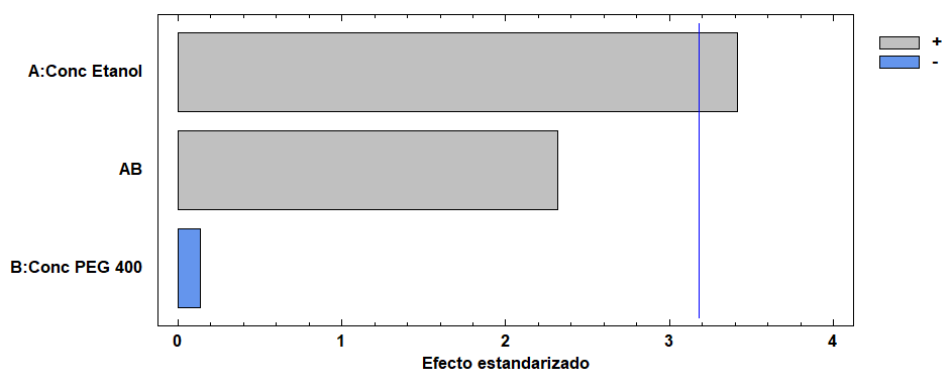


Figura 6. Diagrama de Pareto de los efectos estudiados en el contenido de cafeína en los etosomas elaborados con PEG 400 super refinado

De esta manera, la optimización sugerida del programa consistía en elegir una formulación que incluyera las dos concentraciones de los reactivos en su máximo nivel como lo muestra la Tabla 5.

Tabla 5. Optimización del contenido de cafeína en los etosomas, dada por el software considerando los factores correspondientes a la concentración en porcentaje de Etanol y PEG 400

<b>Factor</b>	<b>Nivel bajo (mL)</b>	<b>Nivel alto (mL)</b>	<b>Óptimo (mL)</b>
<b>Cantidad de Etanol (mL)</b>	3	4.5	<b>4.5</b>
<b>Cantidad de PEG 400 (mL)</b>	0.2	0.6	<b>0.6</b>

La sugerencia, por lo tanto, respaldaba la observación microscópica recomendando el uso de la formulación *ab* para su inclusión en la crema (formulación con los niveles máximos de etanol y PEG 400).

### **Determinación del tamaño de partícula**

La última característica importante evaluada de las muestras etosomales para la selección de la formulación a emplear en la preparación de la crema, fue la determinación promedio del tamaño de partícula mediante un analizador HORIBA LA-950 el cual proporciona mediante su software la distribución de los tamaños de

partícula contenidos en cada muestra. De esta manera nuevamente se realizó el cálculo del promedio de los tamaños de partícula para cada formulación incluyendo sus réplicas (Ver tabla 6 y 8).

### Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado

Se analizaron las muestras etosomales preparadas con Aceite de sésamo super refinado y se calculó el tamaño de partícula promedio correspondiente a cada formulación.

Tabla 6. Tamaño de partícula promedio correspondiente a las muestras etosomales preparadas con aceite de sésamo super refinado

Formulación	Promedio de tamaño de partícula $\mu\text{m}$
ab	2.81
a	830.86
1	33.45
b	<b>2.35</b>

De esta manera tras el cálculo y análisis del promedio de tamaño de partícula se verificaba que la elección ideal para incluir en la crema era la formulación *b* debido a que presentaba el menor tamaño de partícula y como se comentó anteriormente eso podría facilitar su administración a capas profundas de la piel.

Por último, el análisis estadístico dado por el programa *Statgraphics Centurion XVIII*, permitió observar la influencia de los factores de estudio (concentración de aceite de sésamo y etanol) en la variable de interés (tamaño de partícula promedio). De esta manera, como logra observarse en el diagrama de Pareto (Figura 7), los factores y la interacción entre ellos cuentan con un efecto estadísticamente significativo en el tamaño de los etosomas.

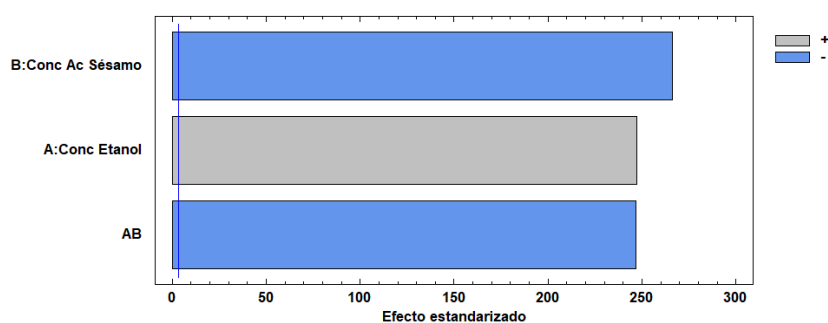


Figura 7. Diagrama de Pareto de los efectos estudiados en el tamaño promedio de partícula de los etosomas elaborados con aceite de sésamo super refinado

Finalmente, mediante la realización de un ANOVA, se verificó que los 3 efectos tenían un valor-P menor que 0.05, indicando que eran significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0% y por lo tanto repercutían en el tamaño



de partícula. Debido a estos resultados, se consideró la optimización sugerida por el software la cual se expresa en la Tabla 7.

Tabla 7. Optimización del tamaño de partícula para obtener el menor valor considerando los factores correspondientes a la concentración en porcentaje de Etanol y Aceite de Sésamo

Factor	Nivel bajo (mL)	Nivel alto (mL)	Óptimo (mL)
Cantidad de Etanol (mL)	3	4.5	3
Cantidad de Aceite de sésamo (mL)	0.3	0.8	0.8

De esta manera, como logra observarse los resultados confirman nuevamente que, la mejor formulación a emplear es la *b*.

### Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado

Por último, se analizó el tamaño de partícula de las mezclas etosomales elaboradas con PEG 400 en donde se confirmaba aparentemente que, la formulación ideal para incluirla en la crema era la *ab*, debido a que esta presentaba el menor tamaño promedio de partícula. Sin embargo, como se observa en la Tabla 8, este tamaño (2.48  $\mu\text{m}$ ) también coincidía con el expuesto por la formulación *a*. De esta manera, se demostró la importancia de la evaluación de los 3 parámetros anteriormente expuestos (análisis microscópico, contenido de cafeína y tamaño de partícula) para la toma de decisión.

Tabla 8. Tamaño de partícula promedio correspondiente a las muestras etosomales preparadas con PEG 400 super refinado

Formulación	Promedio de tamaño de partícula $\mu\text{m}$
<b>ab</b>	<b>2.48</b>
<b>a</b>	2.48
<b>1</b>	825.66
<b>b</b>	3.29

Debido a esta semejanza de tamaños de partícula, el análisis del diseño experimental mediante el Software de *Statgraphics Centurion XVIII* resultó indispensable para la toma de decisiones.

Primeramente, el análisis estadístico demostró que en esta variable de respuesta los efectos de la concentración de etanol y PEG 400, así como la interacción entre estos dos contaban con significancia estadística. Nuevamente esta observación fue respaldada por el ANOVA realizado, el cual señaló que, en este caso, los 3 efectos tenían una valor-P menor que 0.05, indicando su significancia con un nivel de confianza del 95.0%.

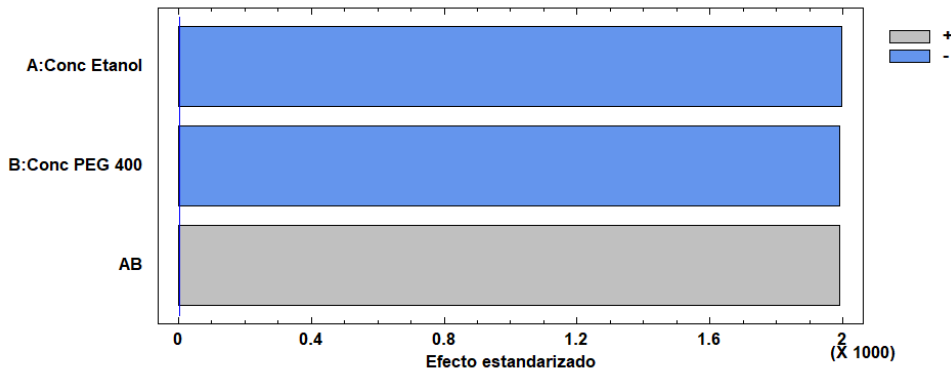


Figura 8. Diagrama de Pareto de los efectos estudiados en el tamaño promedio de partícula de los etosomas elaborados con PEG 400 super refinado

Por lo anteriormente expuesto, resultaba evidente tomar en consideración la optimización sugerida por el software, sugerencia que en el sentido de optimización sugería utilizar la formulación *ab*.

Tabla 9. Optimización del tamaño de partícula para obtener el menor valor considerando los factores correspondientes a la concentración de Etanol y PEG 400

Factor	Nivel bajo (mL)	Nivel alto (mL)	Óptimo (mL)
Cantidad de Etanol (mL)	3	4.5	4.5
Cantidad de PEG 400 (mL)	0.2	0.6	0.6

### Elección de las formulaciones para la realización de las cremas

Después de realizar el análisis completo de las variables de respuesta del diseño experimental utilizando el software correspondiente, así como el análisis microscópico y la justificación teórica, se llegó a la conclusión de que, las formulaciones ideales para la realización de las 2 cremas antiestrías son la formulación *b* correspondiente a la formación del sistema etosomal empleando Aceite de sésamo super refinado y la formulación *ab* empleando PEG 400 super refinado. Esta selección de formulaciones se basó en lo ya mencionado anteriormente, ya que estas muestras dieron como resultado un mayor número de vesículas, mostrando menos cafeína sin incluir, así como mayor contenido promedio de cafeína en los etosomas y el menor tamaño de partícula (útil para mejorar la penetración en capas profundas de la piel).

### Prueba de estabilidad de las cremas

#### Ciclado térmico

Con base en los resultados obtenidos a través de esta prueba se obtuvo que, el comportamiento de las cremas A y B, en específico su homogeneidad se veía

afectada por la temperatura de almacenamiento, debido a que a temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  se desarrollaba la separación de 2 fases, una sólida y una líquida en menor cantidad.

De esta manera, se logró observar que, las cremas eran físicamente inestables cuando se almacenaban a temperaturas ambientales altas. Sin embargo, no se detectó cambio de color y olor en ninguna de las dos cremas, además de que, aparentemente los etosomas no se veían comprometidos ya que aún lograban visualizarse algunas burbujas que probablemente podrían representarlos (Tabla 10).

Tabla 10. Resultados de la prueba de ciclado térmico de la crema antiestrías A con Aceite de sésamo

Parámetro	Inicio	1er día Temperatura: $4 \pm 2^\circ\text{C}$	2do día Temperatura: $27 \pm 2^\circ\text{C}$	3er día Temperatura: $4 \pm 2^\circ\text{C}$	4to día Temperatura: $27 \pm 2^\circ\text{C}$
<b>Color</b>	Beige claro	Beige claro	Beige claro	Beige claro	Beige claro
<b>Olor</b>	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites
<b>Separación de fases</b>	No	No	Sí, se logra visualizar un líquido amarillo ligeramente transparente.	Sí, se logra visualizar que tanto la parte más líquida como la sólida siguen separadas.	Sí, evidentemente se visualiza mayor separación de fases.
<b>Observación adicional</b>	Pequeñas burbujas, parecieran ser etosomas	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.

Tabla 11. Resultados de la prueba de ciclado térmico de la crema antiestrías B con PEG 400.

Parámetro	Inicio	1er día Temperatura: $4 \pm 2^\circ\text{C}$	2do día Temperatura: $27 \pm 2^\circ\text{C}$	3er día Temperatura: $4 \pm 2^\circ\text{C}$	4to día Temperatura: $27 \pm 2^\circ\text{C}$
<b>Color</b>	Beige	Beige	Beige	Beige	Beige
<b>Olor</b>	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites	Domina olor de aceites
<b>Separación de fases</b>	No	No	Sí, se logra visualizar un líquido amarillo ligeramente transparente.	Sí, se logra visualizar que tanto la parte más líquida como la sólida siguen separadas.	Sí, evidentemente se visualiza mayor separación de fases.

<b>Observación adicional</b>	Pequeñas burbujas, parecieran ser etosomas	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.	Siguen observándose pequeñas burbujas que parecieran ser etosomas.
------------------------------	--	--	--	--	--

## Observaciones del tratamiento de las 2 cremas antiestrías en los 20 voluntarios

Como se mencionó anteriormente, se realizó el monitoreo durante 12 semanas de las 2 zonas con estrías visibles de los 20 voluntarios participantes, obteniéndose evidencia fotográfica cada semana de tratamiento correspondiente a las zonas tratadas (ver Anexo 9), así como la información correspondiente al cuestionario (ver Anexo 7) que permitiría la evaluación de conformidad con respecto al avance mediante el uso de las cremas.

Se realizó el análisis de las puntuaciones marcadas en los cuestionarios en donde los individuos reportaron el grado de avance de las zonas tratadas según la escala marcada: sin mejoría con valores de 0 a 0.6, poca mejoría con rango de 0.7 a 1.3 y mucha mejoría con valor de 1.4 a 2.




<b>Escala</b>	 Sin mejoría	 Poca mejoría	 Mucha mejoría
<b>Rango de valores</b>	0 - 0.6	0.7 - 1.3	1.4 - 2.0

Figura 9. Escala y rangos de valores del cuestionario de mejora

Con las puntuaciones marcadas durante las 12 semanas de tratamiento, se obtuvieron los promedios de cada individuo y se realizó el cálculo del porcentaje para cada valor de la escala. Se obtuvo que, para la crema A el 35% de los individuos reportaron mucha mejoría, 40% poca mejoría y un 25% sin mejoría. De manera similar 30% de los individuos reportaron mucha mejoría al utilizar la crema B, mientras que el 55% reportaron poca mejoría y un 15% sin mejoría. A pesar de que los porcentajes anteriormente mencionados fueron ligeramente diferentes, al evaluar la puntuación promedio final para cada crema, ambas mostraron poca mejoría demostrando tener un efecto similar, sin exhibir diferencias significativas.

Además, para respaldar los resultados, las puntuaciones fueron sometidas a análisis estadístico, realizándose una prueba t para comparar las medias de las dos muestras, construyéndose los intervalos de confianza para cada media y para la diferencia entre las medias. Obteniéndose que, no existían diferencias significativas entre las medias de las dos muestras de datos, con un nivel de confianza del 95.0%.

Paralelamente se realizó una prueba-F y una prueba W de Mann-Whitney para comparar desviaciones estándar y medianas, obteniéndose nuevamente, que no existía diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar de las dos muestras con un nivel de confianza del 95.0%.

Tabla 12. Resumen estadístico de comparación de las puntuaciones de las 2 cremas

Parámetro	Crema A	Crema B
Recuento	20	20
Promedio	1.11	1.11
Desviación Estándar	0.56	0.48
Coefficiente de Variación	50.04%	43.30%
Mínimo	0.00	0.33
Máximo	1.92	2.00
Rango	1.92	1.67
Sesgo Estandarizado	-0.69	0.41
Curtosis Estandarizada	-0.44	-0.74

Sin embargo, debe tenerse en consideración que, los resultados obtenidos fueron analizados bajo la premisa de que, todos los sujetos de prueba hicieron uso de las cremas correctamente, debido a que, cada individuo hizo uso de las cremas desde sus casas sin recibir supervisión en todas las aplicaciones.

Finalmente, cada semana de tratamiento mostró un comportamiento singular, es decir había semanas en que los individuos reportaban mayor mejoría que en otras, por lo que, el grado de conformidad reportado por los individuos fue diferente.

En ninguna semana todos los sujetos de prueba mostraron una ausencia de mejora durante el uso del tratamiento, tanto para la crema A, como para la B, por lo que el 95% de los individuos concluyeron que su experiencia con el tratamiento fue satisfactoria y a 45% le interesaría seguir usando alguna de las cremas en otras partes del cuerpo.

Mediante el análisis de la encuesta de conformidad se obtuvo que un 80% de los voluntarios reportaron haber obtenido una mejora en ambas zonas proponiendo que, ambas cremas mostraban un efecto similar. Sin embargo, 10% de los individuos señalaron haber obtenido avance solamente en la zona A y 10% solamente en la zona B.

La similitud de efectividad de ambas cremas era justificable debido a que, como se comentó en un inicio, ambas cremas eran similares en formulación, tamaño de etosomas y porcentaje de cafeína. Estos resultados respaldaban que, el aceite utilizado para la formación del sistema etosomal no influyó significativamente en la efectividad de las cremas, por lo tanto, debían ser otros factores los causantes de las diferencias entre los resultados presentados por los individuos.

Además, mediante la evaluación macroscópica y las puntuaciones marcadas por los individuos, los resultados sugerían que, las personas que presentaron mejoría eran del género femenino, ya que el 100% de los individuos que señalaron tener una mejoría mayor para ambas cremas eran mujeres. Además, el tipo de estría parecía tener un impacto en el nivel de mejora debido a que, del 100% de individuos que obtuvieron la mayor mejoría utilizando la crema A, el 71.43% presentaban estrías eran del tipo *striae rubrae*. De manera similar 83.33% de los que obtuvieron mejoría mayor utilizando la crema B presentaban estrías del tipo *rubrae*.

Finalmente, todos los individuos notificaron mejora en algún momento del monitoreo la cual logró visualizarse mediante las imágenes pertenecientes a cada semana de tratamiento, a excepción de 1 zona perteneciente a un individuo. Además, se obtuvo que, 100% de los individuos expusieron que estarían interesados en comprar alguna de las dos cremas (70% adquiriría cualquiera de las dos, 15% comprarían solamente la crema A y 15% la crema B). Sin embargo, solo el 55% de los individuos pagarían \$750 MXN por alguna de las cremas, el resto de los individuos expusieron que el precio máximo promedio que pagarían sería \$330 MXN por alguna de las dos cremas.

## **Discusión de resultados**

### **Observación microscópica de etosomas**

#### **Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado**

Es importante mencionar que, los resultados obtenidos mostraron que aparentemente la mejor formulación era la *b*, la cual contenía mayor concentración de aceite de sésamo. Estos resultados pueden justificarse debido a que, la concentración de fosfolípidos y aceites usados durante el desarrollo de sistemas etosomales, son factores importantes que influyen en el tamaño, eficacia de atrapamiento, estabilidad y las propiedades de penetración de las vesículas. Por este motivo, en la formulación con mayor concentración de fosfolípido se logró observar mayor número de formación de vesículas (51).

Además, la formulación *b* presentaba una mayor estabilidad, al evitar la fusión de las vesículas lo cual repercutía en la homogeneidad de tamaño. Los resultados obtenidos concuerdan con algunos trabajos que han demostrado que el tipo de fosfolípidos y sus concentraciones tienen un efecto significativo en el tamaño de los etosomas, en donde frecuentemente al emplearse una concentración mayor se puede aumentar el tamaño vesicular y su estabilidad (51-52).

Además, la menor concentración de aceite de sésamo en formulaciones *a* y *1*, proporciono al sistema menor carácter lipídico, repercutiendo directamente en la solubilidad del principio activo. De esta manera, en las formulaciones *b* y *ab*, la

solubilidad de la cafeína se vio beneficiada cuando se colocó una mayor concentración de aceite, resultados que concuerdan con estrategias en materia de formulación de fármacos poco solubles en agua, en donde, su solubilidad se intensifica en formulaciones basadas en lípidos (53).

### **Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado**

La dificultad para la observación microscópica de los etosomas elaborados utilizando PEG 400 super refinado probablemente se puede justificar debido a la diferente naturaleza del lípido usado. Se ha demostrado que un aumento de la carga superficial negativa del etosoma también puede ayudar a prevenir la agregación vesicular, (parámetro que se ve influenciado por el aceite usado), así como su concentración (las concentraciones de PEG 400 fueron menores a las del aceite de sésamo) y como se comentó anteriormente, esta variable influye en las características de los etosomas (54,51).

Por otro lado, la composición del PEG 400 pudo influir en el número de etosomas formados, debido a que esta molécula cuenta con un alto carácter hidrofílico lo cual repercutiría en que, el sistema etosomal en cuestión contara con menor cantidad de moléculas lipídicas para la formación de las vesículas (a comparación del sistema formado con aceite de sésamo) (55-59).

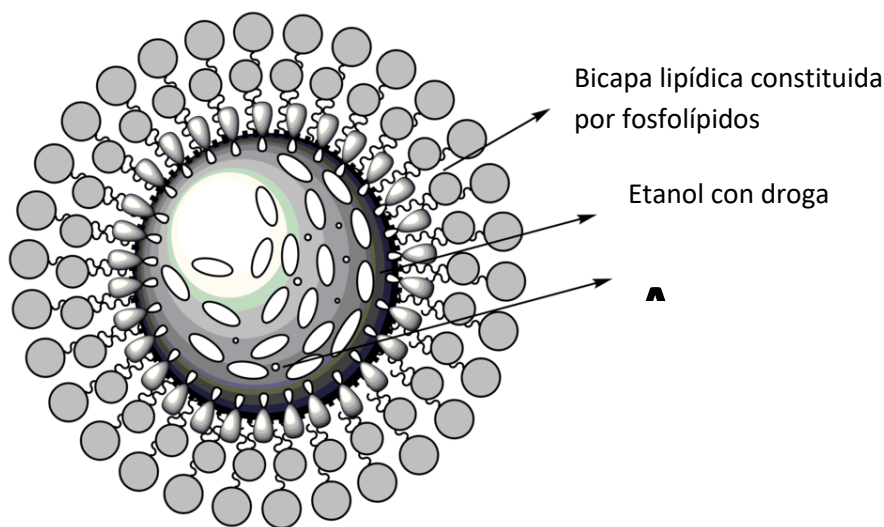


Figura 10. Constitución de un etosoma

\*<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24580572> Consultada 25-febrero-2020

Por último, para discutir los resultados en donde la formación de las vesículas fue mejor utilizando la mayor concentración de PEG 400 y etanol, debe comentarse que, a diferencia del aceite de sésamo, el PEG 400 es frecuentemente usado como

cosolvente en múltiples formulaciones y formas farmacéuticas. Se ha reportado que el aumento de la proporción del PEG 400 en las mezclas disolventes proporcionan un aumento en la solubilidad de diferentes fármacos (60,61,34)

Además, existen múltiples estudios que han centrado su interés en mezclas constituidas por etanol y el polietilenglicol 400 (PEG 400), ya que estos suelen ser los cosolventes más utilizados en tareas asociadas al diseño de productos (34). De esta manera, la apariencia distinta de las mezclas etosomales en donde aparentemente existe menos cristalización de cafeína podría deberse al incremento de su solubilidad.

### **Determinación del contenido de cafeína**

#### **Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado**

Los resultados sugirieron nuevamente que la formulación óptima a emplear para la elaboración de las cremas era la *b* debido a que presentaba un mayor contenido de cafeína dentro de los etosomas. Este comportamiento puede justificarse debido a que, como se comentó anteriormente la concentración de fosfolípido es una variable que repercute directamente en la formación y características de los sistemas. Se ha reportado que, el aumento de la concentración de fosfolípidos repercute proporcionalmente en la eficiencia de atrapamiento aumentando el atrapamiento de fármacos (resultado que respaldaría que, la formulación *b* al contener mayor concentración de aceite de sésamo favorecería el atrapamiento de cafeína). Sin embargo, el análisis estadístico sugería que esta diferencia de contenido no podría considerarse estadísticamente diferente entre las formulaciones. Por este motivo es importante comentar que, se ha demostrado que la relación entre el contenido de fosfolípido y contenido de fármaco atrapado es verdadera solo hasta una cierta concentración, por lo que un incremento adicional en la concentración de fosfolípidos no tendría ningún efecto sobre la eficacia del atrapamiento. Sin embargo, este supuesto será diferente según el fármaco y el fosfolípido utilizado (62,52).

#### **Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado**

Como se mostró anteriormente, el análisis de contenido promedio de cafeína en los etosomas elaborados con PEG 400 super refinado, sugerían que la formulación candidata a emplear en la elaboración de las cremas era la *ab*, al presentar mayor contenido de cafeína en los etosomas (81.61%). En este sentido, debe comentarse algunas características favorables que proporciona el uso de mayor cantidad de PEG 400 en esta formulación, ya que este reactivo se ha usado para procesos sinérgicos relacionados con el uso de cosolvencia utilizando etanol para lograr mejores resultados de solubilidad de múltiples fármacos (34).



Por otro lado, se ha reportado que el etanol también tiene un efecto significativo sobre la eficiencia del atrapamiento en sistemas etosomales y en general, el aumento de su concentración aumenta la eficiencia (63). Este efecto se aplica a las moléculas de lipofilia variable, por lo que el etanol aumenta la solubilidad de los fármacos lipofílicos y anfifílicos y, por lo tanto, aumenta la carga de fármacos (51).

Por este motivo, la concentración de etanol debe optimizarse durante el proceso de formulación, ya que a bajas concentraciones la eficacia del atrapamiento será mínima, y a concentraciones muy altas la membrana etosómica será más permeable porque los fosfolípidos se pueden disolver fácilmente en etanol, lo que lleva a una reducción significativa en eficacia de atrapamiento (52).

### **Determinación del tamaño de partícula**

#### **Etosomas elaborados con Aceite de sésamo super refinado**

Como se mencionó anteriormente, mediante la evaluación del tamaño promedio de partícula se logró verificar que la formulación óptima a incluir en la crema era la *b*, debido a que está brindando el menor tamaño de partícula (2.35  $\mu\text{m}$ ). Este resultado puede justificarse debido a que, se ha reportado que la concentración de fosfolípidos es crucial en el tamaño de partícula de los etosomas (64). Sin embargo, en este caso se ha encontrado que, mediante el uso de una concentración mayor de fosfolípido se obtuvo un impacto positivo al disminuir el tamaño de los etosomas, resultados que contradicen la mayoría de los estudios relacionados con sistemas etosomales. Sin embargo, este comportamiento dependerá del tipo y concentraciones de los aceites usados (65). Además, no debe descartarse que, los resultados podrían sugerir la intervención de otros factores causantes, tales como la velocidad de agitación y velocidad de adición del fosfolípido, los cuales podrían no ser totalmente constantes debido a que el proceso fue parcialmente manual (66).

#### **Etosomas elaborados con Polietilenglicol 400 super refinado**

Mediante el análisis del tamaño promedio de partícula, se decidió utilizar la formulación *ab*, la cual presentaba menor tamaño (2.48  $\mu\text{m}$ ). A pesar de que este tamaño también fue obtenido por la formulación *a*, estos resultados coincidían con lo reportado en la literatura, ya que, algunos estudios han sugerido que altas concentraciones de etanol causan la interpenetración de la cadena de hidrocarburos de etanol, lo que conduce a una reducción en el grosor de la membrana vesicular y, por lo tanto, reduce el tamaño vesicular. Otros autores sugieren que el etanol modifica la carga neta de los sistemas en un cierto grado de estabilización estérica, lo que podría conducir a una disminución en el tamaño medio de las vesículas (67,52).

Por último, debe mencionarse que, la formulación *ab* también cuenta con la mayor concentración de PEG 400. Sin embargo, solo un estudio ha utilizado un tipo de polietilenglicol (4000) en etosomas de ácido micofenólico. Los autores informaron que aumentó el tamaño vesicular, pero no se mostraron resultados con respecto a la eficacia del atrapamiento, las propiedades de permeación o la estabilidad del sistema etosomal, resultado que podría verse reflejados con el aumento de tamaño en las formulaciones del tipo *b*, en donde la concentración de etanol probablemente no atenúa este comportamiento (54).

## **Prueba de estabilidad de las cremas**

### **Ciclado térmico**

Como logró observarse las dos cremas A y B mostraron inestabilidad al someterse a una temperatura de  $27 \pm 2^\circ\text{C}$  debido a que después de su almacenamiento se logró observar una separación de fases. A pesar de aparentemente no cambiar su color, olor y la presencia de vesículas visibles, la separación de fases es una propiedad importante en los sistemas emulsificantes.

Existe una gran influencia de la temperatura en la estabilidad de emulsiones demostrada por múltiples estudios, debido a la existencia de una dependencia funcional de la temperatura en diversos procesos que ocurren durante demulsificación.

Los resultados obtenidos coinciden con el comportamiento de muchas emulsiones en donde existe una barrera energética que las estabiliza, la cual se ve alterada por las frecuencias de colisión influenciadas por altas temperaturas, las cuales ocasionan cambios en las propiedades reológicas y velocidades de sedimentación (68) (69).

Sin embargo, debido a estos resultados se plantea la necesidad de realizar estudios y modificaciones en las formulaciones de las cremas para mejorar su estabilidad ante estímulos ambientales, en específico ante cambios de temperaturas altos.

### **Observaciones de las 2 cremas antiestrías realizadas**

Para justificar la variación entre los resultados obtenidos entre los distintos sujetos de prueba, debe retomarse la teoría básica acerca de este tipo de lesiones dérmicas. Como se comentó en un inicio, se sugiere la existencia de diversos tipos de estrías, atróficas, gravídicas, distensae, etc. Algunos autores para simplificar la caracterización sugieren englobar este tipo de lesiones en dos formas; *Striae rubrae* y *Striae albae* (1,70-72)

En este sentido, la etapa aguda (*striae rubrae*) se caracteriza por presentar lesiones eritematosas iniciales, rojas y estiradas planas o ligeramente elevadas, alineadas perpendicularmente a la dirección de la tensión de la piel y pueden ser sintomáticas,

mientras que la etapa crónica (*striae albae*) se clasifica cuando aparece atrofia, con lesiones arrugadas e hipopigmentadas (70,73,74).

Los resultados mostraron una mejoría mayor en pacientes con estrías *rubrae*, en este sentido, es de gran importancia contemplar el enfoque histopatológico, en donde, los pacientes con estrías *rubrae* requieren una reducción de la pigmentación, por el contrario, aquellos con estrías *albae* requieren un aumento en la pigmentación (1). Además, en la etapa inicial (estrías *rubrae* "SR"), la epidermis es casi normal. A medida que se produce el envejecimiento de la lesión, la epidermis de estrías *albae* (SA) se adelgaza, causando atrofia con embotamiento de las crestas y ausencia de apéndices cutáneos (75-76). De esta manera, resulta lógico pensar que, el tipo de estría tuvo un impacto significativo en el nivel de mejoría del tratamiento según el nivel de gravedad de la lesión dérmica.

Asociado a los factores anteriormente mencionados, se encontró que los individuos que presentaban mayor mejoría eran del género femenino. Sin embargo, resulta importante mencionar que, los participantes del género masculino presentaban en su totalidad estrías *albae* en fase crónica, ya cicatrizada. En este sentido, como se comentó en un inicio, el tipo de estría intervino en el grado de mejora obtenido. Sin embargo, podría sugerirse que, este factor no fue el único que intervino en los resultados, ya que, está bien establecido que las hormonas esteroides sexuales endógenas influyen profundamente en la respuesta a diversas lesiones cutáneas (77).

La literatura menciona que, cada vez hay más pruebas de que los andrógenos endógenos (hormonas masculinas) y los estrógenos (hormonas femeninas), respectivamente, inhiben y mejoran la reparación de la piel, en donde se ha demostrado que los estrógenos aceleran la cicatrización de heridas. Por lo tanto, el progreso de la reepitelización se ven influenciado por la biosíntesis de esteroides sexuales gonadales a los cuales se les considera la fuente de divergencia en la recuperación en heridas (77).

Finalmente, la recuperación de una lesión cutánea es un proceso complejo y multifacético que requiere la cooperación de células, citocinas, factores de crecimiento, enzimas y receptores residentes e inmigrantes. Para mejorar la apariencia y reducir los síntomas asociados con SD, deben ocurrir diversos procesos como; aumento de la producción de colágeno y actividad fibroblástica, aumento de la elasticidad y perfusión sanguínea, mejora en la proliferación celular, aumento de la hidratación de la piel y propiedades antiinflamatorias, procesos probablemente relacionados con mecanismos hormonales (77,78,2).

## Conclusiones

Nuestro estudio reveló cambios significativos en las zonas tratadas con las cremas antiestrías, las cuales mostraron efectividad similar según el 80% de los individuos sometidos al tratamiento. Sin embargo, la mejora resultó diferente entre los sujetos de prueba, así como, entre las 2 zonas de cada uno, probablemente debido a las diferencias características de las lesiones dérmicas tratadas, dependiendo del tipo de estría (*rubrae* y *albae*), así como diferencias fisiológicas de cada sujeto de prueba (factores hormonales). Finalmente, las pruebas de estabilidad mostraron que la estabilidad de ambas cremas se vería afectada frente a cambios de temperatura, presentándose separación de fases. Por lo tanto, en futuros trabajos se debe realizar el análisis y mejora de las formulaciones utilizadas en el estudio.

## Referencias

1. Ud-Din S MDBA. Topical management of striae distensae (stretch marks): prevention and therapy of striae rubrae and albae. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2016; 30(2).
2. Lokhande A MV. Striae Distensae Treatment Review and Update. *Indian Dermatol Online J.* 2019; 10(4).
3. W L. Asociaciones clínicas de estrías gravídicas.. *J Obster Gynaecol.* 2004; 24.
4. Hernan A HP. Caffeine's Mechanisms of Action and Its Cosmetic Use. *Skin Pharmacology and Physiology.* 2013; 26(1).
5. Byun S KHHHSJHMIJ. Efficacy of Slimming Cream Containing 3.5% Water-Soluble Caffeine and Xanthenes for the Treatment of Cellulite: Clinical Study and Literature Review.. *Annals of Dermatology.* 2015; 27(3).
6. Tarek A KMBAUFA. Transdermal glimepiride delivery system based on optimized ethosomal nano-vesicles: Preparation, characterization, in vitro, ex vivo and clinical evaluation.. *International Journal of Pharmaceutics.* 2016; 500(1).
7. Jain S TASBJN. Formulation and evaluation of ethosomes for transdermal delivery of lamivudine.. *AAPS PharmSciTech.* 2007; 8(4).
8. Fang Y TPWCHY. Comparison of 5-aminolevulinic acid-encapsulated liposome versus ethosome for skin delivery for photodynamic therapy.. *Int J Pharm.* 2008; 1.
9. Touitou E GBDNWCPASF. Intracellular delivery mediated by an ethosomal carrier.. *Biomaterials.* 2001; 22(22).
10. Jain S URBDJN. Ethosomes: a novel vesicular carrier for enhanced transdermal delivery of an antiHIV agent.. *Indian J. Pharm Sci.* 2004; 66(1).
11. Maurya S PKGASGDR. Formulation Development and Evaluation of Ethosome of Stavudine.. *Indian J Pharm.* 2010; 44(1).
12. A. A. Las estrías. Etiología, clínica y tratamiento.. *Dermofarmacia.* 2000; 19(2).
13. Haya L BA. Objetivos terapéuticos en el manejo de striae distensae: una revisión sistemática.. *J Am Acad Dermatol.* 2017; 77(3).
14. Secretaría de Salud CpdIFdIEUM. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 12th ed. México; 2018.

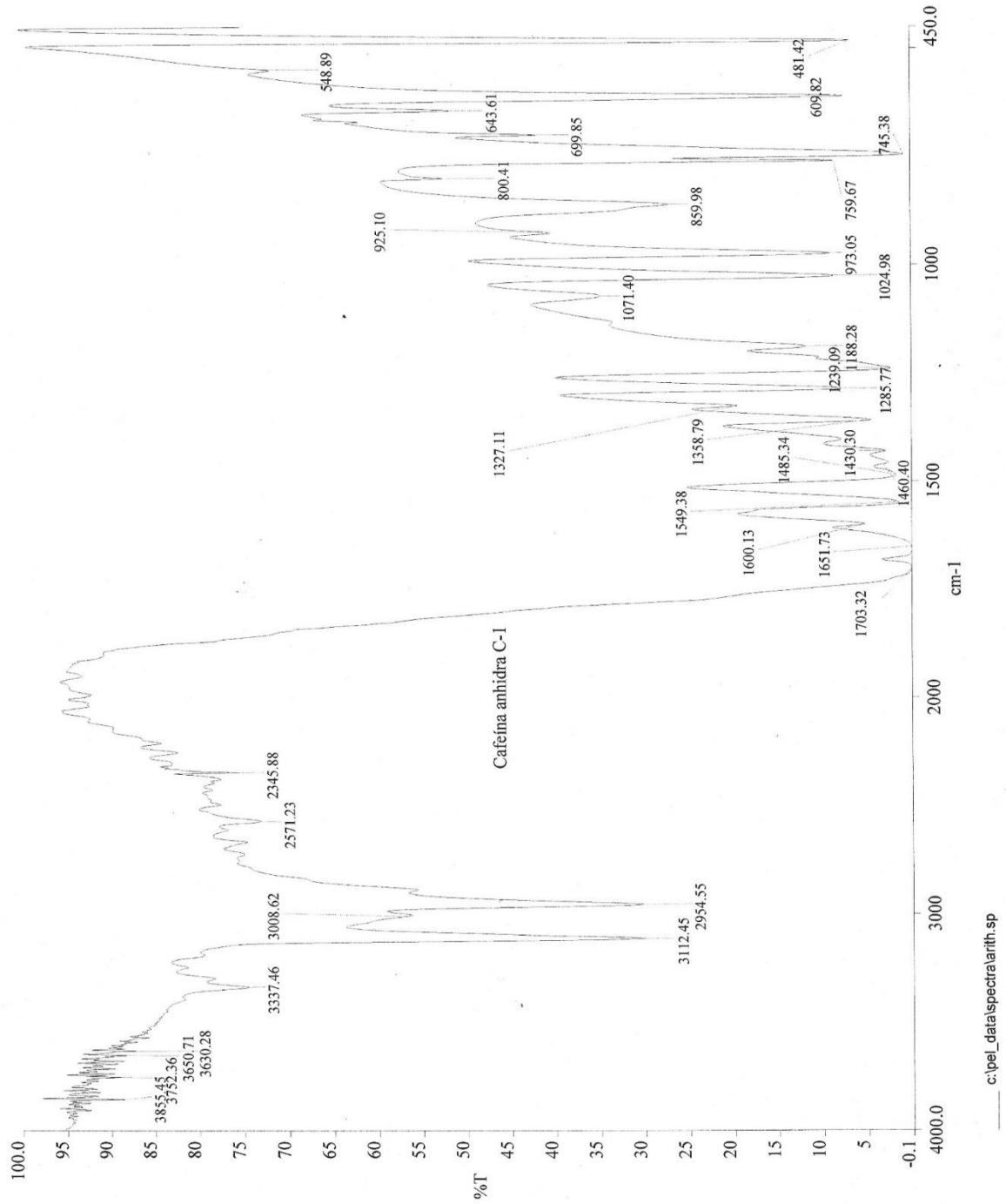
15. S O. Química del café. Módulo de referencia en química, ciencias moleculares e ingeniería química. . 2019; 1.
16. R S. What nanocrystals can offer to cosmetic and dermal formulations.. *Nanobiomaterials in Galenic Formulations and Cosmetics*. 2016; 10(1).
17. Menon G CGLM. The structure and function of the stratum corneum.. *Int. J. Pharm.* 2012; 435(1).
18. Bustamante P. NJ,RS,EB. Thermodynamic origin of the solubility profile of drugs showing one or two maxima against the polarity of aqueous and nonaqueous mixtures: niflumic acid and caffeine. *J. Pharm. Sci.* 2002; 763(2).
19. Guttmann D. HT. Reversible association of caffeine and of some caffeine homologs in aqueous solution.. *J. Am. Pharm. Assoc.* 1957; 46.
20. Cesaro A. RE,CV. Thermodynamics of caffeine aqueous solutions.. *J. Phys. Chem.* 1976; 80.
21. Luo L. LM. Topical and transdermal delivery of caffeine.. *International Journal of Pharmaceutics*. 2015; 1.
22. Dubey V. MD,NM,JV,JN. Enhanced transdermal delivery of an anti-HIV agent via ethanolic liposomes.. *Nanomed Nanotech Biol. Med.* 2016; 6.
23. Lopez M. GM,RA. Effect of cholesterol and ethanol on dermal delivery from DPPC liposomes. *Int. J. Pharm.* 2005; 298.
24. Elsayed M. AO,NV,KM. Deformable liposomes and ethosomes as carriers for skin delivery of ketotifen.. *Pharmazie*. 2007; 62.
25. Mustafa M. EM,A. Lipid vesicles for skin delivery of drugs: reviewing three decades of research.. *Int. J. Pharm.* 2007; 332.
26. Valjakka K. KM,MJ. Enhancement of percutaneous absorption of naproxen by phospholipids.. *Int. J. Pharm.* 1998; 175.
27. Maheshwari R. TR,SP. Ethosomes and ultradeformable liposomes for transdermal delivery of clotrimazole: a comparative assessment.. *Saudi Pharm J.* 2012; 20.
28. Simonsson C. MJ,GA. A study of the enhanced sensitizing capacity of a contact allergen in lipid vesicle formulations.. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2011; 7.
29. K. G. Nutraceutical value of sesame oil.. *Pharmacognosy Rev.* 2009; 3(6).
30. Sadeghi N. OM,HM,JB,MM,MS. The contents of sesamol in Iranian sesame seeds.. *Iranian J. Pharm. Res.* 2009; 101(5).
31. Saleem T. BS,MG,RP,KN,CC. Analgesic, anti-pyretic and anti-inflammatory activity of dietary sesame oil in experimental animal models.. *Pharmacologia*. 2011; 2(6).
32. Budowski P. MK. Las propiedades químicas y fisiológicas del aceite de sésamo.. *Chemical Reviews*. 1951; 48(1).
33. D'souza A. SR. Polyethylene glycol (PEG): a versatile polymer for pharmaceutical applications. *Journal Expert Opinion on Drug Delivery*. 2016; 13.
34. Gerson A. HA,MF,KM,AJ. Volumetric properties of (PEG 400 + water) and (PEG 400 + ethanol) mixtures at several temperatures and correlation with the Jouyban-Acree model.. *Rev. colombiense quim farm.* 2012; 41(2).
35. Gutierrez H. SR. Introducción al diseño de experimentos.. 3rd ed. México: Mc Graw Hill; 2013.
36. Fukuda I. FC,MS,SA,RA. Design of Experiments (DoE) applied to Pharmaceutical and Analytical Quality by Design (QbD). *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2018; 58.

37. Varela M. DP,RP,AM. Análisis crítico del diseño factorial 2k sobre casos aplicados.. Scientia Et Technica. 2011; 17(47).
38. Cruz E. RC,MP. Aplicación de un Modelo Factorial de Experimentación en un Ingenio Azucarero del Valle del Cauca.. Revista Scientia et Technica. 2006; 32.
39. Camelino S. MM,BRPR,CJ. Optimización de un procedimiento para la determinación de oro mediante espectrofotometría UV/Vis.. Matéria Rio J.. 2018; 23(2).
40. Muhajid A. D. Molecularly Imprinted Polymers for Sensors: Comparison of Optical and Mass-Sensitive Detection.. Molecularly Imprinted Sensors. 2012; 125.
41. Tuhkanen T. IA. Humic and Fulvic Compounds. Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering. 2019.
42. Proksch E. BJ,JJ. The skin: an indispensable barrier.. Exp Dermatol. 2008; 17(12).
43. Mardhiah Z. GS,KM,KA,HH. The Effect of Particle Size on the Deposition of Solid Lipid Nanoparticles in Different Skin Layers: A Histological Study.. Adv. Pharm Bull. 2016; 6(1).
44. Chierentin L. SH. Performance Characteristics of UV and Visible Spectrophotometry Methods for Quantitative Determination of Norfloxacin in Tablets. J. J. Sci. Res. 2014; 6(3).
45. Bridwell H. DV,PD,RJ,LT. Perspectives on Method Validation: Importance of Adequate Method Validation.. Qual Assur J. 2010; 13.
46. Secretaría de Salud CpdIFdIEUM. Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos (FHEUM). 2nd ed.; 2013.
47. Sethuraman S. RK,ST. Analytical Method Development and Validation of Caffeine in Tablet Dosage Form By Using UV- Spectroscopy. IJNTPS. 2013.
48. Angadi J. SK,SN,KB,BC. Ethosomes: A novel drug carrier for transdermal drug delivery.. International Journal of Innovative Drug Discovery. 2013; 3(1).
49. Vikas P. GD,SR. Ethosomes: versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents.. Drug Delivery. 2014.
50. Lin H. XQ,HX,BJ,WB,WX,CY,LZ. Increased skin permeatin efficiency of imperatorin via charged ultradeformable lipid vesicles for transdermal delivery. Int. J. Nanomedicine. 2018; 13.
51. Prasanthi D. LP. Development of ethosomes with Taguchi robust design-based studies for transdermal delivery of alfuzosin hydrochloride.. Int Curr Pharm J. 2012; 1(11).
52. Abdulbagi I. DY,KN,AR,KA. Ethosomal nanocarriers: the impact of constituents and formulation techniques on ethosomal properties, in vivo studies, and clinical trials.. Int J. Nanomedicine. 2016; 11.
53. Göke K. BH. Drug solubility in lipid nanocarriers: Influence of lipid matrix and available interfacial area.. Int J Pharm. 2017; 30(1).
54. Limsuwan T. AT. Development of Ethosomes Containing Mycophenolic Acid.. Procedia Chemistry. 2012; 4.
55. Chung C. TJ. Analysis of the Three Essential Constituents of Oil Bodies in Developing Sesame Seeds.. Plant Cell Physiol. 1998; 39(1).
56. Derkaoui N. SS,GY,OR,PM. PEG400 novel phase description in wáter.. Journal of Colloid and Interface Science. 2007; 305.
57. Pandey V. GD,SR. Ethosomes: versatile vesicular carriers for efficient transdermal delivery of therapeutic agents. Drug Delivery. 2015; 22(8).
58. Sharma A. SS. Liposomes in drug delivery: progress and limitations.. Int J Pharm. 1997; 154.

59. Honeywell N. BJ. Vesicles as a tool for transdermal and dermal delivery.. Drug Discov Today Technol. 2005; 2.
60. Jouyban A. SS,AW. Solubility of Acetaminophen and Ibuprofen in the Mixtures of Polyethylene Glycol 200 or 400 with Ethanol and Water and the Density of Solute-Free Mixed Solvents at 298.2 K.. J. Chem. Eng. Data. 2010; 55.
61. Lockard J. LR. Polyethylene glycol 400: Solvent and anticonvulsant? Life Sciences. 1978; 23(25).
62. Zhaowu Z. XW,YZ,NL. Preparation of matrine ethosome, its percutaneous permeation in vitro and anti-inflammatory activity in vivo in rats.. J Liposome Res. 2009; 19(2).
63. Bhadra D. JN,UR,JS. Ethosomes: un nuevo vehículo vesicular para el suministro transdérmico mejorado de un agente antiHIV.. Indio J Pharm Sci. 2004; 66(1).
64. Godin B. TE. Ethosomes: New Prospects in Transdermal Delivery. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems. 2003; 20(1).
65. Somwanshi S. SN. In-vivo Evaluation of the Wound Healing Activity of the Sesamum Indicum L. Seed Extract in Novel Ethosomal Vesicular System.. Journal of Drug Delivery & Therapeutics. 2018; 8(5).
66. Xianglei F. SY,WH,ZS,SQ,HY,QT,LG. Ethosomal Gel for Improving Transdermal Delivery of Thymosin  $\beta$ -4.. Int J Nanomedicine. 2019; 14.
67. Aggarwal D. NU. Ethosomes: A review. International Journal of Pharmaceutical and Medicinal Research. 2016; 4(4).
68. Vold R. MK. The effect of Temperature of the Stability of Nujol-Water Emulsions. Journal of Colloid and Interface Science. 1973; 42(2).
69. Naved S. SS. Degradation in Pharmaceutical Creams: Ascorbic Acid Demonstrating Phenomenon: A Review.. Journal of Bioequivalence & Bioavailability. 2016; 8(2).
70. M. E. Tretinoína tópica en el tratamiento de estrías distensae y en la promoción de la cicatrización de heridas: una revisión.. J. Dermatol Treat. 1994; 5.
71. Farahnik B. PK,KG,MJ. Striae gravidarum: Risk factors, prevention, and management. Int J Womens Dermatol. 2017; 3(2).
72. Al-Himdani. UDS,GS,BA. Striae distensae: a comprehensive review and evidence-based evaluation of prophylaxis and treatment. Br.. J. Dermatol. 2014; 170(3).
73. S. K. Terapia de tretinoína tópica para el tratamiento de estrías tempranas.. J Am Acad Dermatol. 1998; 39.
74. Kim B. LD,KM. Fototermólisis fraccionada para el tratamiento de estrías distensae en la piel asiática.. Am J. Clin Dermatol. 2008; 9.
75. Bertin C. LDC,NA,RS. Striae distensae are characterized by distinct microstructural features as measured by non-invasive methods in vivo.. Skin Res Technol. 2014; 20.
76. Archana J. VM. Striae Distensae Treatment Review and Update.. Indian Dermatol Online J. 2019; 10(4).
77. Gilliver C. JP,RM,HJ,TN,GS. Sex Dimorphism in Wound Healing: The Roles of Sex Steroids and Macrophage Migration Inhibitory Factor.. Endocrinology. 2008; 149(11).
78. Harmelin Y. BD,CN,FE,BP,BAMH,CE,PC,LJ,PT. Fractionated Bipolar Radiofrequency and Bipolar Radiofrequency Potentiated by Infrared Light for Treating Striae: A Prospective Randomized, Comparative Trial With Objective Evaluation.. Lasers in Surgery and Medicine. 2016; 48.

# Anexos

## 1. Espectro IR correspondiente a la cafeína utilizada en este estudio





## 2. Validación del método espectrofotométrico

Tabla 1. Obtención de curva de calibración promedio

Concentración de cafeína [µg/mL]	Absorbancia curva 1	Absorbancia curva 2	Absorbancia curva 3	Absorbancia curva promedio
2.5	0.127	0.103	0.124	0.118
5	0.236	0.219	0.23	0.228
7.5	0.362	0.329	0.363	0.351
10	0.462	0.449	0.474	0.462
12.5	0.605	0.586	0.603	0.598
15	0.729	0.696	0.726	0.717
Pendiente (b1)		0.048		
Ordenada al origen (b0)		0.009		
Coeficiente de determinación		0.999	<i>Cumple, ya que el valor de <math>r^2 \geq 0.98</math></i>	
Intervalo de confianza para la pendiente "IC(B1)"		0.025, 0.072	<i>Cumple, ya que IC(B1), no incluye el cero.</i>	

Tabla 2. Límite de detección y cuantificación

LD	0.898 µg/mL	LC	2.721 µg/mL
----	-------------	----	-------------

Tabla 3. Precisión del sistema

Media aritmética	0.365		
Desviación estándar	0.001		
Coeficiente de variación	0.230	<i>Cumple al ser <math>\leq 1\%</math> para métodos físico - químicos</i>	

Tabla 4. Robustez

Muestra	Día 1	Día 2	Día 3
Media aritmética	97.649	99.378	97.441
Diferencia absoluta  di	1.73%	$ di  \leq 3\%$ para métodos químicos y espectrofotométricos.	

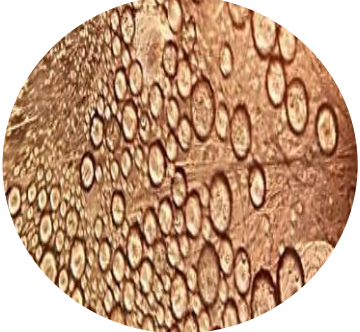

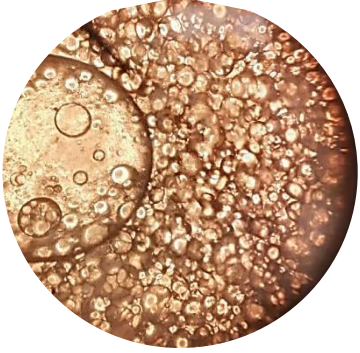

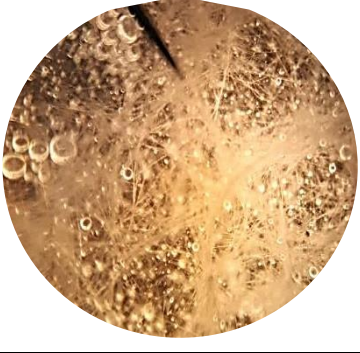
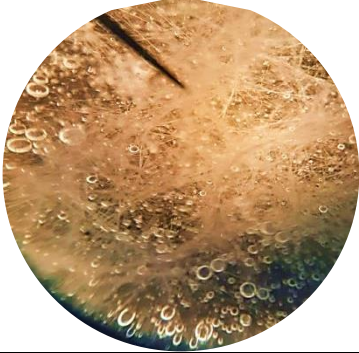

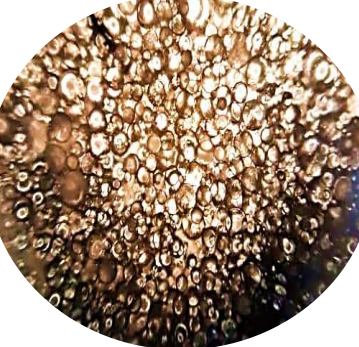
Tabla 5. Exactitud

Media aritmética	100.40%	Porcentajes 98-102% son aceptables
Desviación estándar	0.225	
Coeficiente de variación	0.224	<i>Cumple al ser <math>\leq 2\%</math> para métodos físico - químicos</i>

### 3. Imágenes microscópicas de las mezclas etosomales

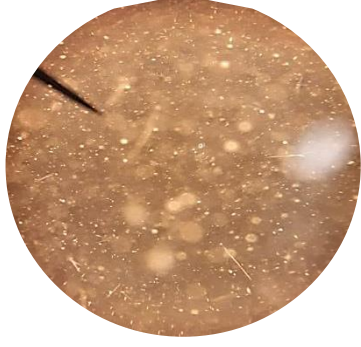
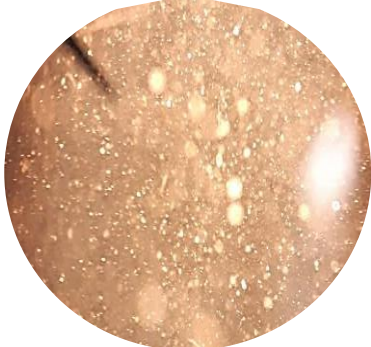
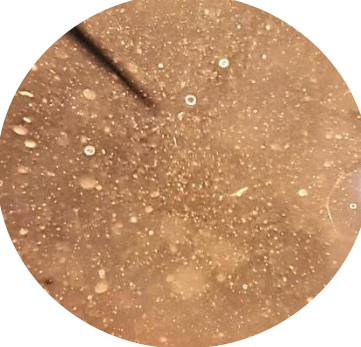

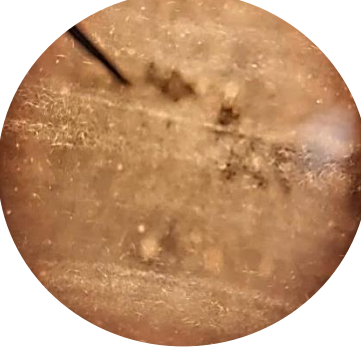
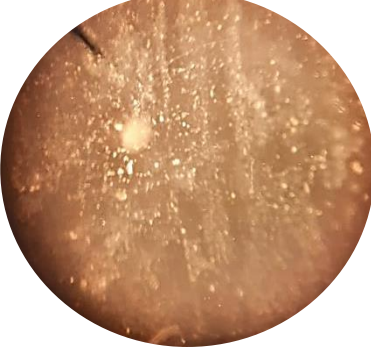
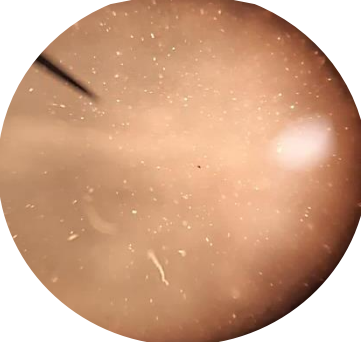

#### 3.1 Etosomas elaborados utilizando Aceite de sésamo super refinado

Tabla 6. Imágenes de muestras etosomales, utilizando aceite de sésamo super refinado junto con su replica

Muestra etosomal	Imagen microscópica	Imagen microscópica de la replica
a		
ab		
1		
b		

### 3.2 Etosomas elaborados utilizando PEG 400 super refinado

Tabla 7. Imágenes de muestras etosomales utilizando PEG 400 super refinado junto con su replica

Muestra etosomal	Imagen microscópica	Imagen microscópica de la replica
b		
ab		
1		
a		

**4. Imágenes microscópicas de los etosomas a incluir en las cremas antiestrías**

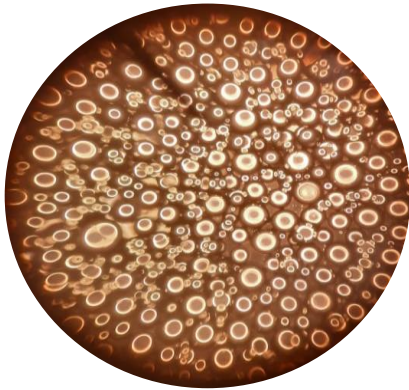


Figura 1. Etosomas con Aceite de sésamo super refinado *formulación b*



Figura 2. Etosomas con PEG 400 super refinado *formulación ab*

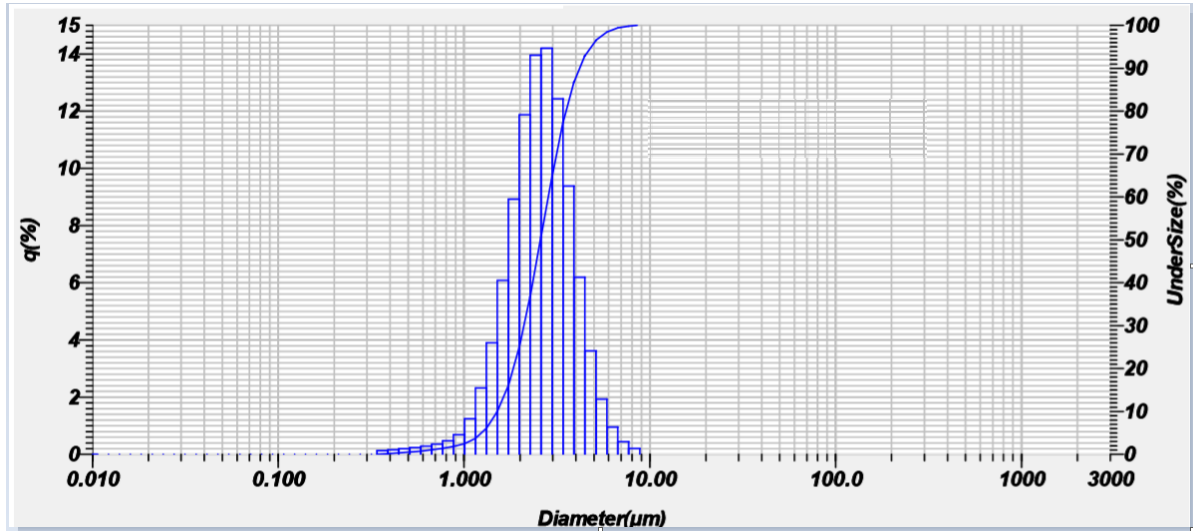
**5. Imágenes obtenidas mediante el software del medidor de tamaño de partícula LA-950 HORIBA**

**5.1 Etosomas elaborados utilizando Aceite de sésamo super refinado para ser incluidos en la crema antiestrías (formulación b)**

**HORIBA** Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer LA-950

Measurement Result

Median Size	: 2.58024(μm)	Sample Name	: ETOSOMA CAFEINA
Mean Size	: 2.74318(μm)	ID#	: 202003051400822
Variance	: 1.2534(μm <sup>2</sup> )	Transmittance(R)	: 142.3(%)
Mode Size	: 2.7608(μm)	Transmittance(B)	: 96.3(%)
Std.Dev.	: 1.1195(μm)	Circulation Speed	: OFF
Geo.Mean Size	: 2.5215(μm)	Agitation Speed	: OFF
Geo.Variance	: 1.0816(μm <sup>2</sup> )	Form of Distribution	: Manual
CV	: 40.8118(%)	Distribution Base	: Volume
Formula Manipulation	:	Refractive Index (R)	: ACEITE DE SESAMO[ACEITE DE SESAMO(
Geo.Std.Dev.	: 1.5296(μm)	Refractive Index (B)	: ACEITE DE SESAMO[ACEITE DE SESAMO(
Diameter on Cumulative %	: (2)10.00 (%) - 1.5128(μm)	Material	:
	: (6)50.00 (%) - 2.5802(μm)	Source	:
	: (9)90.00 (%) - 4.1962(μm)	Lot Number	:
		Test or Assay. Number	: B1Ft
		Result File Name	: 202003051400822



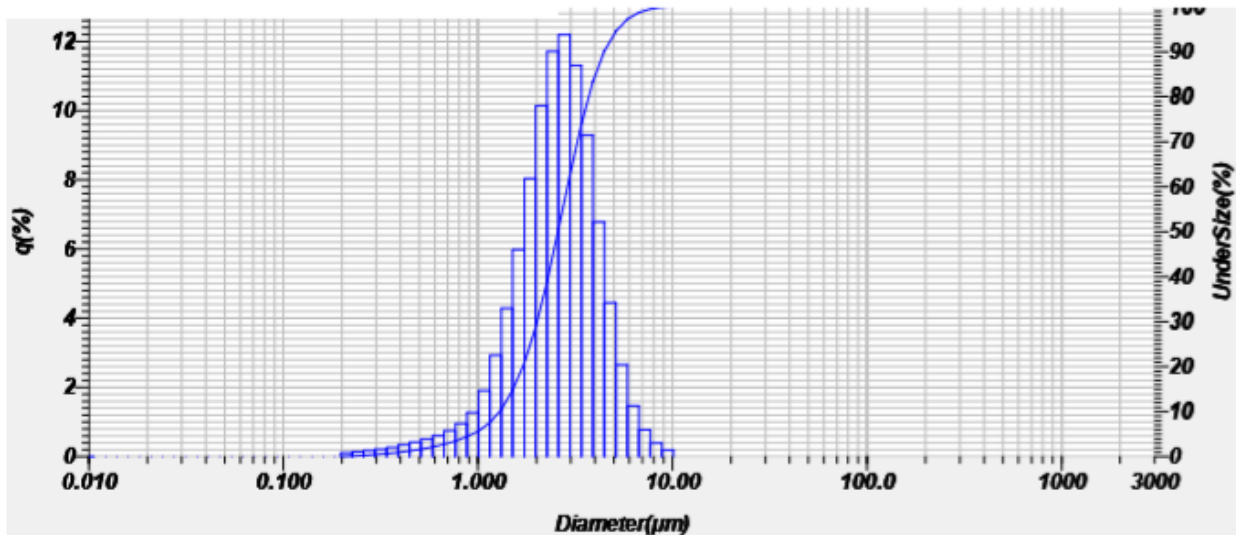
No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter(μm)	q(%)	UnderSize(%)
1	0.011	0.000	0.000	25	0.296	0.000	0.000	49	7.697	0.437	99.804	73	200.000	0.000	100.000
2	0.013	0.000	0.000	26	0.339	0.000	0.000	50	8.816	0.196	100.000	74	229.075	0.000	100.000
3	0.015	0.000	0.000	27	0.389	0.124	0.124	51	10.097	0.000	100.000	75	262.376	0.000	100.000
4	0.017	0.000	0.000	28	0.445	0.156	0.280	52	11.565	0.000	100.000	76	300.518	0.000	100.000
5	0.020	0.000	0.000	29	0.510	0.191	0.471	53	13.246	0.000	100.000	77	344.206	0.000	100.000
6	0.022	0.000	0.000	30	0.584	0.230	0.701	54	15.172	0.000	100.000	78	394.244	0.000	100.000
7	0.026	0.000	0.000	31	0.669	0.278	0.979	55	17.377	0.000	100.000	79	451.556	0.000	100.000
8	0.029	0.000	0.000	32	0.766	0.347	1.326	56	19.904	0.000	100.000	80	517.200	0.000	100.000
9	0.034	0.000	0.000	33	0.877	0.464	1.790	57	22.797	0.000	100.000	81	592.387	0.000	100.000
10	0.039	0.000	0.000	34	1.005	0.684	2.473	58	26.111	0.000	100.000	82	678.504	0.000	100.000
11	0.044	0.000	0.000	35	1.151	1.239	3.712	59	29.907	0.000	100.000	83	777.141	0.000	100.000
12	0.051	0.000	0.000	36	1.318	2.306	6.018	60	34.255	0.000	100.000	84	890.116	0.000	100.000
13	0.058	0.000	0.000	37	1.510	3.896	9.914	61	39.234	0.000	100.000	85	1019.515	0.000	100.000
14	0.067	0.000	0.000	38	1.729	6.076	15.990	62	44.938	0.000	100.000	86	1167.725	0.000	100.000
15	0.076	0.000	0.000	39	1.981	8.916	24.906	63	51.471	0.000	100.000	87	1337.481	0.000	100.000
16	0.087	0.000	0.000	40	2.269	11.872	36.778	64	58.953	0.000	100.000	88	1531.914	0.000	100.000
17	0.100	0.000	0.000	41	2.599	13.948	50.726	65	67.523	0.000	100.000	89	1754.613	0.000	100.000
18	0.115	0.000	0.000	42	2.976	14.196	64.921	66	77.339	0.000	100.000	90	2009.687	0.000	100.000
19	0.131	0.000	0.000	43	3.409	12.423	77.345	67	88.583	0.000	100.000	91	2301.841	0.000	100.000
20	0.150	0.000	0.000	44	3.905	9.377	86.722	68	101.460	0.000	100.000	92	2636.467	0.000	100.000
21	0.172	0.000	0.000	45	4.472	6.176	92.898	69	116.210	0.000	100.000	93	3000.000	0.000	100.000
22	0.197	0.000	0.000	46	5.122	3.612	96.511	70	133.103	0.000	100.000				
23	0.226	0.000	0.000	47	5.867	1.915	98.426	71	152.453	0.000	100.000				
24	0.259	0.000	0.000	48	6.720	0.941	99.367	72	174.616	0.000	100.000				

## 5.2 Etosomas elaborados utilizando PEG 400 super refinado para ser incluidos en la crema antiestrías (formulación ab)

### **HORIBA** Laser Scattering Particle Size Distribution Analyzer LA-950

#### Measurement Result

Median Size	: 2.58074(μm)	Sample Name	: ETOSOMA CAFEINA PEG 400
Mean Size	: 2.77153(μm)	ID#	: 202003111027852
Variance	: 1.7877(μm <sup>2</sup> )	Transmittance(R)	: 98.8(%)
Mode Size	: 2.7746(μm)	Transmittance(B)	: 96.2(%)
Std.Dev.	: 1.3371(μm)	Circulation Speed	: OFF
Geo.Mean Size	: 2.4443(μm)	Agitation Speed	: OFF
Geo.Variance	: 1.1330(μm <sup>2</sup> )	Form of Distribution	: Manual
CV	: 48.2429(%)	Distribution Base	: Volume
Formula Manipulation	: 1.7095(μm)	Refractive Index (R)	: PEG 400[PEG 400( 1.465 - 0.000i),Water( 1.3
Geo.Std.Dev.	: 1.7095(μm)	Refractive Index (B)	: PEG 400[PEG 400( 1.465 - 0.000i),Water( 1.3
Diameter on Cumulative %	: (2)10.00 (%) - 1.2896(μm)	Material	: PEG 400
	: (6)50.00 (%) - 2.5807(μm)	Source	: ABF1
	: (9)90.00 (%) - 4.4619(μm)	Lot Number	: 1
		Test or Assay. Number	: 1
		Result File Name	: 202003111027852



No.	Diameter( $\mu\text{m}$ )	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter( $\mu\text{m}$ )	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter( $\mu\text{m}$ )	q(%)	UnderSize(%)	No.	Diameter( $\mu\text{m}$ )	q(%)	UnderSize(%)
1	0.011	0.000	0.000	25	0.296	0.168	0.402	49	7.697	0.763	99.434	73	200.000	0.000	100.000
2	0.013	0.000	0.000	26	0.339	0.211	0.613	50	8.816	0.381	99.815	74	229.075	0.000	100.000
3	0.015	0.000	0.000	27	0.389	0.262	0.875	51	10.097	0.185	100.000	75	262.376	0.000	100.000
4	0.017	0.000	0.000	28	0.445	0.330	1.205	52	11.565	0.000	100.000	76	300.518	0.000	100.000
5	0.020	0.000	0.000	29	0.510	0.407	1.612	53	13.246	0.000	100.000	77	344.206	0.000	100.000
6	0.022	0.000	0.000	30	0.584	0.494	2.106	54	15.172	0.000	100.000	78	394.244	0.000	100.000
7	0.026	0.000	0.000	31	0.669	0.599	2.705	55	17.377	0.000	100.000	79	451.556	0.000	100.000
8	0.029	0.000	0.000	32	0.766	0.738	3.443	56	19.904	0.000	100.000	80	517.200	0.000	100.000
9	0.034	0.000	0.000	33	0.877	0.944	4.387	57	22.797	0.000	100.000	81	592.387	0.000	100.000
10	0.039	0.000	0.000	34	1.005	1.268	5.655	58	26.111	0.000	100.000	82	678.504	0.000	100.000
11	0.044	0.000	0.000	35	1.151	1.898	7.554	59	29.907	0.000	100.000	83	777.141	0.000	100.000
12	0.051	0.000	0.000	36	1.318	2.918	10.472	60	34.255	0.000	100.000	84	890.116	0.000	100.000
13	0.058	0.000	0.000	37	1.510	4.280	14.752	61	39.234	0.000	100.000	85	1019.515	0.000	100.000
14	0.067	0.000	0.000	38	1.729	5.979	20.731	62	44.938	0.000	100.000	86	1167.725	0.000	100.000
15	0.076	0.000	0.000	39	1.981	8.033	28.763	63	51.471	0.000	100.000	87	1337.481	0.000	100.000
16	0.087	0.000	0.000	40	2.269	10.125	38.888	64	58.953	0.000	100.000	88	1531.914	0.000	100.000
17	0.100	0.000	0.000	41	2.599	11.704	50.592	65	67.523	0.000	100.000	89	1754.613	0.000	100.000
18	0.115	0.000	0.000	42	2.976	12.185	62.777	66	77.339	0.000	100.000	90	2009.687	0.000	100.000
19	0.131	0.000	0.000	43	3.409	11.291	74.068	67	88.583	0.000	100.000	91	2301.841	0.000	100.000
20	0.150	0.000	0.000	44	3.905	9.274	83.342	68	101.460	0.000	100.000	92	2636.467	0.000	100.000
21	0.172	0.000	0.000	45	4.472	6.773	90.115	69	116.210	0.000	100.000	93	3000.000	0.000	100.000
22	0.197	0.000	0.000	46	5.122	4.441	94.556	70	133.103	0.000	100.000				
23	0.226	0.102	0.102	47	5.867	2.651	97.206	71	152.453	0.000	100.000				
24	0.259	0.132	0.234	48	6.720	1.465	98.671	72	174.616	0.000	100.000				

## 6. Carta de consentimiento informado entregada a los voluntarios



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Lic. Química Farmacéutica Biológica

Fecha: 16 de marzo 2020

Protocolo: Aplicación de una crema con aceites naturales para la eliminación de estrías.

Antes de participar en el estudio que se le ha propuesto, es importante que esté informado acerca de las características del mismo y que esté de acuerdo con los procedimientos a los que será sometido. Su participación en el estudio es completamente voluntaria.

### **Procedimiento:**

Su participación en el estudio consistirá en lo siguiente:

- a. Definir zona A y zona B, a cualquier parte de su cuerpo en donde tenga estrías visibles y colocar una gota en el centro de la falangeta del dedo índice utilizando las 2 cremas correspondientes (A, B). Aplicar diariamente en las mismas zonas durante 3 meses.
- b. Tomar una fotografía cada semana de la zona tratada y enviarla a la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas al número 5577299947.
- c. Responder el cuestionario anexo para registrar los resultados positivos o negativos obtenidos a partir de la aplicación de las cremas.

### **Riesgos**

Si observa enrojecimiento o ardor en la zona administrada deberá suspender la aplicación de inmediato e informar a la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas.

### **Confidencialidad**

La información clínica recopilada es estrictamente confidencial. El nombre de los participantes nunca aparecerá en ningún reporte o publicación, para el desarrollo del estudio se siguen los reglamentos internos correspondientes.

### **Contactos**

Para cualquier duda o aclaración sobre este estudio puede comunicarse al teléfono 5577299947 o 5522854496 con la Q.F.B. Itzel Magaly Luna Armas.



**Consentimiento**

**Gracias por tomarse el tiempo de leer detenidamente esta información y por participar en el estudio.**

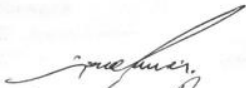
A través de la presente, otorgo mi consentimiento para participar como voluntario en el protocolo de investigación "Aplicación de una crema con aceites naturales para la eliminación de estrías".


Hago constar que he recibido toda la información acerca de la naturaleza y propósito del estudio. He recibido, leído y entendido la carta de información del estudio, así como el riesgo descrito. Se me ha informado que puedo retirar mi consentimiento en cualquier momento.

Entiendo que recibiré una copia firmada y fechada del mismo.

Estoy de acuerdo que la información clínica derivada del estudio, sea informada a la comunidad médica verbalmente o por escrito, pero sin revelar mi identidad.

  
Stephany Elizabeth Islas Maldonado  
Nombre y firma del voluntario

  
Freda Magaly Luna Armas  
Nombre y firma del testigo 1

  
Freda Magaly Luna Armas  
Nombre y firma del investigador que obtuvo el consentimiento

**7. Cuestionario entregado a los voluntarios para evaluar la mejora a través de las semanas de tratamiento**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA


División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
 Departamento de Sistemas Biológicos  
 Lic. Química Farmacéutica Biológica  
 CUESTIONARIO







Fecha: \_\_\_\_\_

**Instrucciones:** Coloque una ✓ en la casilla correspondiente a cada semana de tratamiento seleccionando la imagen que describa su mejoría en las regiones elegidas (A y B) después de la aplicación de las cremas utilizando la siguiente escala:

-Sin mejoría: 

- Poca mejoría: 

-Mucha mejoría: 

Semana de aplicación	ZONA "A"			ZONA "B"			Observaciones
							
1		✓				✓	
2			✓			✓	
3			✓			✓	
4			✓			✓	
5			✓			✓	
6			✓			✓	
7			✓			✓	
8			✓			✓	-
9			✓			✓	
10			✓			✓	
11			✓			✓	
12			✓			✓	

## 8. Encuesta de satisfacción del tratamiento de las cremas antiestrías



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA  
División de Ciencias Biológicas y de la Salud  
Departamento de Sistemas Biológicos  
Lic. Química Farmacéutica Biológica

Fecha: 21 07 2020

### ENCUESTA DE CONFORMIDAD

Instrucciones: Subraye la respuesta que considere correcta para cada pregunta.

1. Después de utilizar el tratamiento. ¿Considera haber obtenido resultado?

a) Sí                      b) No                      c) Solo en una de las zonas (mencione cual "A ó B"): \_\_\_\_\_

2. ¿Considera que alguna de las dos cremas presentó mayor eficacia?

a) Crema "A"      b) Crema "B"      c) Las dos presentaron efecto similar      d) Ninguna tuvo efecto

3. ¿Le interesaría comprar una de las dos cremas?

a) Sí                      b) No

4. ¿Cuál de las dos cremas estaría interesado en comprar?

a) Crema "A"      b) Crema "B"      c) Cualquiera de las dos      d) Ninguna

5. ¿Estaría dispuesto a pagar 750 MXN por cualquiera de las dos cremas?

a) Sí                      b) No (En este caso, ¿Cuánto sería lo máximo que pagaría?): \_\_\_\_\_

6. ¿Le gustaría usar la crema en otras partes del cuerpo?

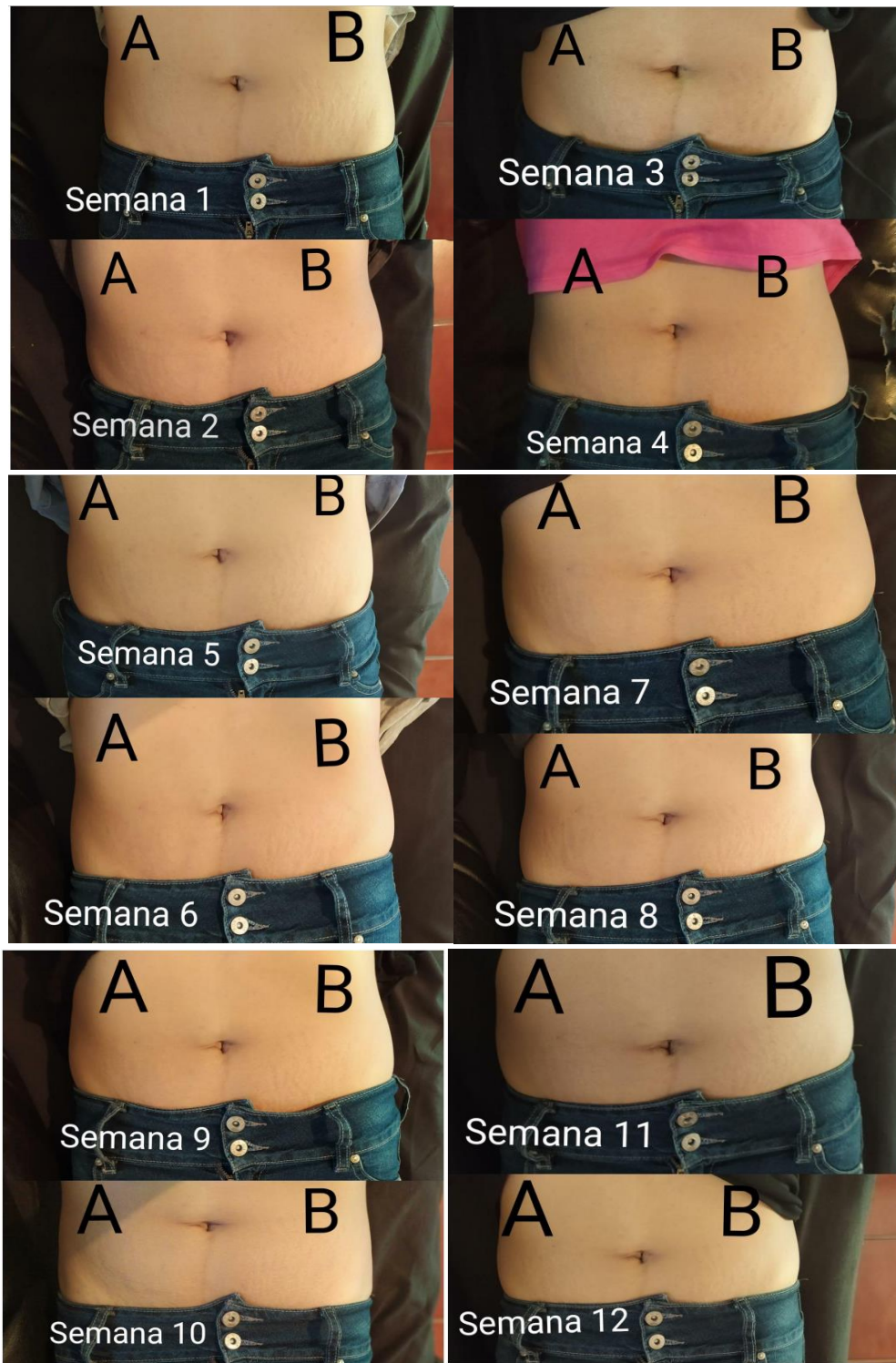
a) Sí (En este caso, mencione en cuales partes): \_\_\_\_\_      b) No

7. ¿Su experiencia con el tratamiento fue satisfactoria?

a) Sí                      b) No

## 9. Evidencia fotográfica de algunos individuos sometidos a tratamiento

- Progreso de la zona A de un individuo durante las 12 semanas de tratamiento



- Progreso de un individuo durante las 12 semanas de tratamiento

