



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Calzada del Hueso 110 Col. Villa Quietud C.P 04960 CDMX

Desarrollo de una crema para la neuropatía diabética a base de aceites esenciales

Plata Zamora Sherany Nachieelii
2192031497

Asesores:

M. en C. Leticia Almanza Ortega 35538
Dra. Liliana Schifter Aceves 33389

Línea de Investigación:

Diseño y evaluación de formulaciones y servicios farmacéuticos mediante un sistema de aseguramiento de la calidad

INTRODUCCIÓN

La neuropatía diabética es un padecimiento que se presenta en etapas avanzadas de diabetes y se caracteriza por padecer una lesión del sistema nervioso somatosensorial (Yang, X., et al. 2019) que se manifiesta en los pies y manos principalmente y es parte de morbilidad sustancial en la población (Pang, L., et al. 2020), no obstante los síntomas que conlleva padecerlo constan desde dolor y entumecimiento en los pies hasta impedimento en la función concreta de distintos órganos, tal como el corazón o vejiga (DHHS, n.d.).

Dentro de los tipos de neuropatía se encuentran la neuropatía periférica que afecta pies y piernas principalmente aunque en ocasiones brazos y manos, la neuropatía autonómica que se refleja en la alteración de los nervios presentes en los órganos internos seguida de la neuropatía focal cuyo daño se enfoca en nervios individuales como es en la mano, la cabeza, el torso o la pierna y finalmente la neuropatía proximal que afecta un lado del cuerpo y daña los nervios de la cadera, muslo o glúteo (DHHS, n.d.).

Esta alteración puede originarse por la escasa disponibilidad de tratamiento y/o su poco control, aunado a la propia complejidad de la diabetes (Pang, L., et al. 2020). El tratamiento original oral, se basa en la administración de primera línea que consta de duloxetina, amitriptilina, gabapentina y pregabalina, que pueden generar efectos secundarios severos, dado que deben de tomarse múltiples veces al día e incluso tienen poca tolerancia en algunos pacientes o se reporta poca efectividad en los mismos (Yang, X., et al. 2019), es por ello que se han empleado como alternativa en formulaciones tópicas, agentes como lidocaína, amitriptilina, clonidina, capsaicina, extractos de nuez moscada, que han demostrado ofrecer buenos resultados ante el dolor (Yang, X., et al. 2019).

Se demostró que *Calendula officinalis* L actúa como un nociceptor desensibilizante al emplear una crema tópica con éste compuesto en modelos de ratones con dolor persistente e hipernocicepción inflamatoria (Garrido, B., et al. 2022), mientras que Ahmadzadeh, M., et al. (2023) demuestran que *Chamaemelum nobile* en el tratamiento de dolor neuropático presenta propiedades antiinflamatorias y reduce el dolor, al igual que el efecto antihiperalgésico tras la aplicación del extracto de *Citrus reticulata* demostrado por la academia de ciencias Brasileñas (2020).

Dado que las formulaciones tópicas han demostrado ser una alternativa prometedora para aliviar la sintomatología del padecimiento, el presente proyecto se enfoca en desarrollar una crema tópica como alternativa al tratamiento de neuropatía diabética a base de aceite de caléndula, extracto de manzanilla y aceite esencial de mandarina.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN

La neuropatía periférica es de los tipos más comunes de neuropatía diabética y la sintomatología general incluye, dolor en la zona determinada, y/o entumecimiento

de las zonas de la periferia, así como la dificultad de sentir cambios de temperatura, o el dolor, percibiendo sensaciones de hormigueo calambres o dolores punzantes, además de debilidad muscular y sensibilidad extrema al tacto (Mayo Foundation for Medical Education and Research. n.d.). Basados en un estudio de población se demostró que el 50% de los pacientes que padecen diabetes desarrollan neuropatía diabética, sin importar si el padecimiento es diabetes mellitus tipo 1 o 2 (Cevik, A. & Olgun, N. 2021), por lo que sufrir esta enfermedad afecta en las actividades cotidianas del paciente, así como problemas de sueño aunado a pobre salud mental, lo que puede conducir a desarrollar depresión y ansiedad y por ende reducir la calidad de vida del paciente (Cevik, A & Olgun, N. 2021), (Sloan G., et al.2022). Se ha demostrado que formulaciones tópicas con extractos naturales tienen el potencial de proveer efectos analgésicos que medicamentos orales tienen, pero con efectos sistémicos menores además de interacción entre fármacos (Yang, X., et al. 2019) es por ello que emplear una formulación tópica que posea una combinación de extractos de caléndula, manzanilla y mandarina, serían una alternativa que permitiría al paciente, reducir y/o eliminar sus dolencias, mejorando su calidad de vida.

OBJETIVOS

GENERAL

Desarrollar una formulación de crema para el tratamiento de neuropatía diabética, a base de aceites esenciales de caléndula, manzanilla y mandarina.

ESPECÍFICO

1. Desarrollar tres formulaciones distintas de crema para la neuropatía diabética y caracterizar sus propiedades de calidad.
2. Emplear un diseño de experimentos partiendo de una formulación optimizada, contemplando dos factores influyentes en la calidad de la emulsión: porcentaje de viscosante y revoluciones por minuto.
3. Ejecutar pruebas de calidad para crema, acorde a los lineamientos de la Farmacopea de los estados unidos mexicanos (FEUM) y el Formulario Nacional.

ANTECEDENTES

1. Emulsiones

La IUPAC define a una emulsión como un sistema coloidal que mantiene gotitas de líquido o cristales dispersos en un líquido, estas gotículas exceden el tamaño de gota que se presenta en los coloides y según la naturaleza de la fase continua, se le denomina O/W si es acuosa, o W/O si es un líquido de naturaleza orgánica, es decir, un aceite.

2. Aceite de Caléndula

Calendula officinalis es una planta popularmente empleada en India, Europa, China y Estados Unidos, que se ha demostrado contiene múltiples metabolitos secundarios, dentro del que destacan los triterpenoides que mantienen propiedades farmacológicas, cuya importancia radica en sus propiedades antiinflamatorias, anti edematosas además de estimulante de fibroblastos (Givol, O., et al. 2019). Recientemente, Garrido, B., et al (2022) demostró en un estudio, que la aplicación tópica de *Calendula officinalis* ejerce actividad como antinociceptivo y anti edematogénico, cuyos efectos pueden atribuirse a una acción moduladora sobre los receptores opioides periféricos asociada a sus mecanismos antioxidantes, que puede beneficiar a tratar enfermedades inflamatorias crónicas dolorosas.

3. Extracto de Manzanilla

Chamaemelum nobile es una planta que se ha utilizado por muchos años en el antiguo Egipto, Roma y Grecia que ha demostrado ejercer efecto farmacológico como, antiinflamatorio, antioxidante, así como neuroprotector. Mediante una revisión sistemática por Dai, Y., et al (2022), se demostró que *Chamaemelum nobile* posee múltiples metabolitos tal como cumarinas, aceites volátiles, flavonoides, ácidos orgánicos, polisacáridos y terpenos que son los responsables de tratar determinados síntomas y/o padecimientos. La actividad analgésica es de los efectos más antiguos por los que se le reconoce a la planta para tratar variedad de dolor, incluyendo la neuralgia (Dai, Y., et al. 2022)

4. Aceite de Mandarina

La tangerina es un flavonoide, encontrado de manera abundante en la mandarina, que ha probado ser por sí mismo un compuesto que tiene actividad antiinflamatoria para condiciones de distinta naturaleza (Sun, P., et al. 2022). Así mismo, se ha demostrado que este compuesto ejerce un efecto neuroprotector como antiinflamatorio a través de una reacción inflamatoria suprimida (Yang, T., et al. 2020) y se ha empleado en algunas formulaciones tópicas que buscan tratar el dolor en la zona.

MATERIALES Y MÉTODOS

Excipientes

Para la elaboración de las emulsiones se partió de las siguientes materias primas: Ácido esteárico (AE), alcohol cetílico (AC) , goma xantana (GX) aceite esencial de mandarina (Man), aceite graso de caléndula (Cal), dimeticona (Dim), extracto hidroglicólico de manzanilla (Mzn), glicerina (Gli), vaselina líquida (VL), aceite mineral (Amin), propilenglicol (Prop) y germaben.

Previo a la fabricación del sistema se ejecutaron pruebas de calidad para cada excipiente, lo que comprende: solubilidad, punto de fusión o ebullición y pH.

Tabla I. Pruebas de solubilidad, punto de fusión o punto de ebullición y pH en los excipientes de interés para la elaboración de las emulsiones

Materia Prima	AC	AE	VL	Amin	Dim	Cal	Man	Mzn	Prop	Glic	GX
Solubilidad	Etanol	Etanol	Tetracloruro de carbono	Acetona	Miristato de Isopropilo	Aceite mineral	Etanol	Agua	Agua	Agua	Agua
Punto de fusión/ Punto de ebullición °C	40	50	253	210	220	110	164	84.6	160	260	255
pH	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	N/A	4.7	6.5	6	6.35

Equipos

Los equipos utilizados durante la fabricación de los sistemas y en las pruebas de calidad respectivas son las siguientes: Caframo Heidolph, viscosímetro tipo Brookfield modelo RVTDV-11, potenciómetro conductronic pH 120, microscopio invertido XDS- 2, corneómetro CM- 825, vernier cienceware y centrífuga solbat.

Fabricación de emulsiones

Se pesaron los componentes de la fase oleosa (AE, AC, Man, Cal, Dim, VL, Amin) y fase acuosa (Mzn, Gli, Prop) para tener un lote de 25 g. Se preparó un baño maría en donde se colocaron dos vasos de precipitado, uno destinado para la fase oleosa y otro para la fase acuosa y se calentó a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5$. Inicialmente, se vertió ácido esteárico (AE) y alcohol cetílico (AC) y una vez que ambos excipientes se fundieron se procedió a adicionar Man, Cal, Dim, VL y Amin, mientras que en el otro vaso se vertió el vehículo y Mzn, Gli y Prop. En el vaso que poseía los excipientes de naturaleza acuosa se colocó un caframo y se procedió emulsificar con la fase oleosa poco a poco hasta su homogenización. Cuando la emulsión descendió a temperatura ambiente ($25\text{ }^{\circ}\text{C}$), se adicionó el conservador (germaben).

Pre-formulación

Tabla II. Descripción del diseño de experimentos empleado para la elección de la concentración de Vaselina líquida, Aceite mineral y glicerina de la formulación uno

Excipientes	Concentración%							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Vaselina Líquida	2.5	2.5	2.5	5	5	5	5	2.5
Aceite Mineral	2.5	5	2.5	2.5	5	2.5	5	5
Glicerina	2.5	2.5	5	2.5	5	5	2.5	5

Tabla III. Excipientes pertenecientes a la fase acuosa y fase oleosa en la fórmula patrón uno

Formulación 1			
Fase oleosa	%	Fase acuosa	%
Ácido esteárico	6-8	Glicerina	5
Alcohol cetílico	10	Germaben	1
Vaselina líquida	5	Agua	cbp
Acéite mineral	5		

Tabla IV. Excipientes pertenecientes a la fase acuosa y fase oleosa en la fórmula patrón dos

Formulación 2			
Fase oleosa	%	Fase acuosa	%
Ácido esteárico	10	Propilenglicol	10
Alcohol cetílico	8-10	Germaben	1
Dimeticona	2	Agua	cbp

Tabla V. Excipientes pertenecientes a la fase acuosa y fase oleosa en la fórmula patrón tres

Formulación 3			
Fase oleosa	%	Fase acuosa	%
Ácido esteárico	10	Goma Xantana	5%
		Glicerina	15
		Germaben	1
		Agua	cbp

Pruebas de calidad

Viscosidad

Siguiendo la MGA 0951 de la FEUM (2014) se empleó un viscosímetro tipo Brookfield con una aguja número 14. Se utilizó un cilindro adaptador de muestra pequeña de 3 ml y se procedieron las lecturas después de 1 min de que se estabilizara la lectura en el equipo.

Potencial de Hidrógeno

La medida de pH se realizó en una mezcla al 2% de muestra en todos los sistemas. Se pesaron aproximadamente cuatro miligramos de crema que se colocaron en un vaso de precipitados y se adicionó agua destilada a la muestra hasta alcanzar los 20 ml, se procedió a realizar el análisis en un medidor de pH posterior a su calibración con buffer 7 y 4.

Signo de emulsión

En un portaobjetos se distribuyó la emulsión homogéneamente y se le adicionaron 2 gotas de colorante azul de metileno, se colocó un cubreobjetos en la superficie y se posicionó la muestra en el microscopio para observar la afinidad de la fase externa al colorante (Férrandez, E. 2003) y determinar el signo de la emulsión, en donde:

Positivo (+) → Aceite en agua

Negativo (-) → Agua en aceite

Capacidad de penetración

Para efectuar esta prueba se utilizó un corneómetro en condiciones de 20 °C ± 2 °C y 42% ± 2% de humedad relativa. Previo al uso del equipo, se ajustó la temperatura mediante el aire acondicionado en un cuarto cerrado para garantizar el ambiente durante el tiempo de la prueba. El sujeto de estudio tiene 25 años, no presentó afecciones en la zona a tratar y se le realizó el análisis en el antebrazo, donde se trazaron cuadros de 5*5 cm, contemplando uno de control. Se colocaron 0.5 g de muestra que se extendió homogéneamente sobre toda la superficie del cuadro. Se realizaron las medidas en 1.0, 1.15 y 1.30 h y en el caso de la formulación optimizada, 1.0, 1.15 y 1.30 y 1.45 h.

Extensibilidad

Sobre una placa de vidrio se situó 1 gramo de muestra por cada experimento y se colocó una placa adicional con un peso de 312 g, se tomó la medida del diámetro formado con un dispositivo vernier al minuto de reposo, posteriormente se colocaron dos pesas de 2.02 g cada una y finalmente una pesa de 5.02 g. Cada minuto se registró el diámetro formado (Férrandez, E., 2003). Para el cálculo la extensibilidad se utilizó la siguiente fórmula:

$$A = \pi r^2$$

Pruebas de estabilidad

Equilibrio hidrófilo-lipófilo

Para el cálculo de HLB se dividió el porcentaje de cada excipiente de naturaleza oleosa entre el porcentaje de fase oleosa total, este valor se multiplicó por el valor HLB ya establecido para cada componente. Se hizo una suma de los resultados obtenidos de cada excipiente para obtener el HLB del sistema.

Centrifugado

Siguiendo la práctica de Navarro, Y., et al (2021), se pesaron 10 g de crema en un tubo falcon, se llevaron a una centrífuga y se ejecutó la prueba durante 30 minutos a 3000 revoluciones por minuto.

Ciclado térmico

En tubos de ensayo se pesaron 5 g de muestra, se colocó papel aluminio y cinta adhesiva a manera de tapa y se mantuvo en el refrigerador a 5.7 °C durante 24 h y a 22 °C ± 2 °C en el horno para las pre formulaciones y a 30 °C ± 1 °C durante 24 h en el caso de la formulación optimizada. La prueba se ejecutó durante ocho días.

Ciclos de congelación y descongelación

En tubos de ensayo se pesaron 5 g de muestra, se colocó papel aluminio y cinta adhesiva a manera de tapa y se mantuvo en el refrigerador a $-9.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ durante 24 h y a $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ por el mismo periodo de tiempo hasta transcurrir ocho días. Esta prueba se realizó únicamente en la formulación optimizada.

Optimización del sistema

Para obtener un sistema optimizado se realizó una matriz experimental donde se aleatorizó el orden en la preparación de los experimentos tanto en la formulación uno como la formulación dos, con el objetivo de evaluar dos factores, la concentración de viscosante y las revoluciones por minuto durante el proceso de fabricación. Para cada fórmula se elaboraron cuatro tratamientos con niveles distintos y una repetición de cada experimento, en donde 1 representa el nivel alto de cada factor y -1 el nivel bajo de los mismos (tabla VI). Se realizó un total de 16 experimentos y se ejecutaron pruebas de pH, observación microscópica de la fase externa, ciclado, viscosidad y penetración del estrato córneo posterior a 1.30 h de aplicación. Los resultados obtenidos en las últimas dos pruebas, se emplearon como variables de respuesta en el programa statgraphics para la obtención de una emulsión teóricamente optimizada, buscando mejorar la capacidad de impregnación del sistema.

Tabla VI. Matriz experimental del diseño factorial 2^2 para la elaboración de la crema para el tratamiento de neuropatía diabética

Tratamiento	Factores	
	AE/ AC*	Rpm**
(1)	-1	-1
a	1	-1
b	-1	1
ab	1	1

***Ácido Estéarico /Alcohol Cetílico:** Nivel bajo (6.0%, 8.0%), Nivel alto (8.0%, 10%)

****Rpm:** Nivel bajo (2000 rpm), Nivel alto (4000 rpm)

Resultados y discusión

Se llevó a cabo un diseño de experimentos para determinar la fórmula patrón uno, ya que la propuesta original resultó bastante dura, es por ello que se realizaron distintas combinaciones en concentraciones del 2.5 al 5% de VL, Amin y Gli (tabla II). Tras evaluar las propiedades organolépticas de cada experimento, se eligió la combinación número 5 (5:5:5%) para la continuación del diseño experimental. En el caso de la formulación tres, se presentaron alteraciones durante la emulsificación al decrementar la temperatura, por lo que se descartó para el diseño de experimentos.

Equilibrio hidrófilo-lipófilo

Se realizó el cálculo de HLB en cada uno de los sistemas previo a su fabricación para determinar la estabilidad teórica. Se obtuvieron valores de HLB requerido de 13.21 en la formulación uno y 14.9 en la formulación dos. Ambos sistemas se encuentran en el punto limítrofe de separación, ya que al adicionar pequeñas cantidades de algún componente oleoso ajeno a la formulación ya establecida (para ambos casos), el sistema se separa.

Propiedades organolépticas y signo de emulsión

La formulación uno con concentraciones 6-8% de ácido esteárico y la formulación dos con alcohol cetílico en concentraciones de 8-10% resultaron sistemas con aspecto brillante y apariencia ligeramente amarilla, además de olor característico a mandarina. Ambos sistemas recién fabricados se mostraban homogéneos, sin presencia de grumos y posterior a las 24 h de reposo permanecieron estas características, no obstante la apariencia de ambas resultó más blanquecina. Al tacto la formulación dos se percibe más consistente aunque al igual que la formulación uno, deja ligera sensación grasosa y permite extenderse fácilmente en la piel. Posterior a las 48 h de reposo, se determinó el signo de la emulsión tras observación microscópica, al colocar el colorante, la fase externa se impregnó del azul (figura 1-8), lo que indica que es una emulsión de naturaleza agua en aceite o, O/W (+) (Formulario Nacional, n.d.).

Capacidad de hidratación

La siguiente tabla muestra los tiempos a los que se tomaron lecturas en el sujeto de estudio y los resultados obtenidos en cada nivel y repetición respectiva de cada formulación.

Tabla VII. Resultados obtenidos de la formulación uno en la prueba de penetración del estrato corneó a los tiempos 1 h, 1.15 h y 1.30 h

Nivel	Unidades Arbitrarias (UA)*		
	1hr	1.15hrs	1.30hrs
(1)	64.4	60.5	56.4
(1)'	66.4	55.4	52.9
a	59.9	54	53.8
a'	62.1	59.9	58.3
b	56.9	56.9	57.9
b'	67.5	62.1	60.6
ab	68.7	62.6	62.2
ab'	68.3	60	57.3

***Unidad arbitraria:** Unidad de medida no estandarizada que refleja la capacidad de penetración de la emulsión en el estrato córneo.

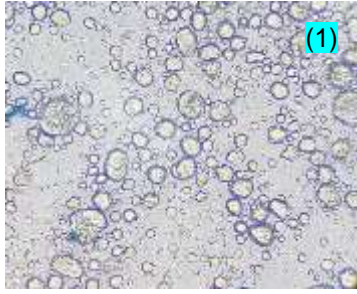


Figura 1. *Formulación uno, nivel (1)*

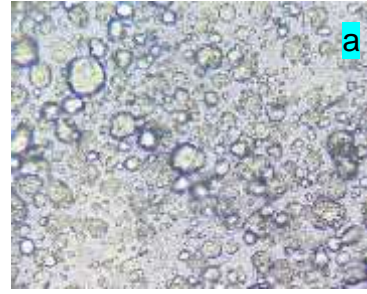


Figura 2. *Formulación uno, nivel a*

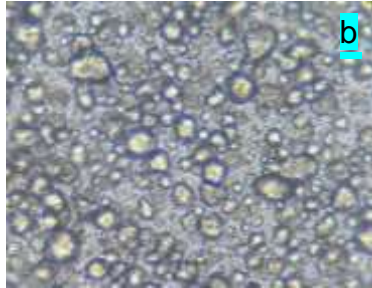


Figura 3. *Formulación uno, nivel b*

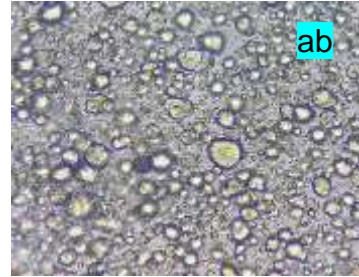


Figura 4. *Formulación uno, nivel ab*

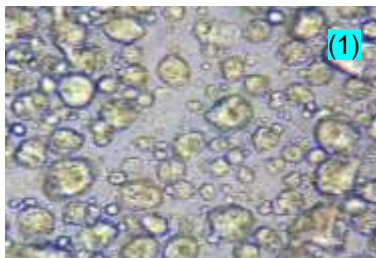


Figura 5. *Formulación dos, nivel (1)*

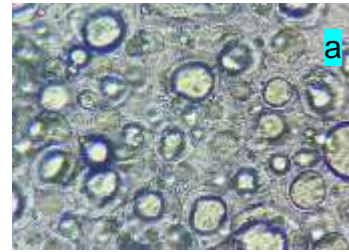


Figura 6. *Formulación dos, nivel a*

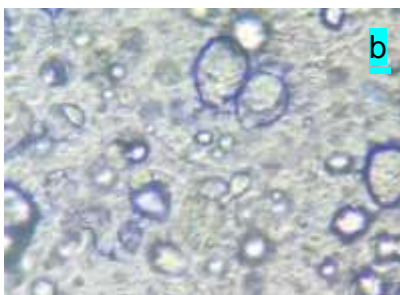


Figura 7. *Formulación dos, nivel b*

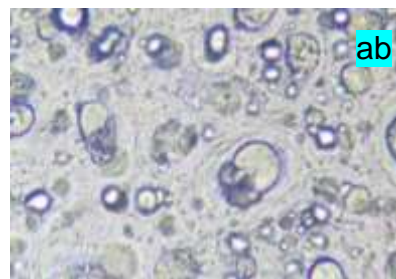


Figura 8. *Formulación dos, nivel ab*

Tabla VIII. Resultados obtenidos de la formulación dos en la prueba de penetración del estrato corneó a los tiempos 1 h, 1.15 h y 1.30h

Nivel	Unidades Arbitrarias (UA)		
	1hr	1.15hrs	1.30hrs
(1)	67.7	55.8	46.8
(1)´	66.7	55.5	46.7
a	67	50.9	41.3
a´	64.1	48.6	41.3
b	54.1	43.5	41.0
b´	54.7	44.0	40.2
ab	57.4	47.6	41.3
ab´	57.6	47.4	42.0

Según Constantin, M., et al. (2014) el criterio empleado para el estado de la piel en condiciones normales (20 °C, con humedad relativa 40-60%) en la zona media del antebrazo es:

<30 UA → muy seco

30-45 UA → seco

>45 UA → hidratación suficiente

La zona control del antebrazo dio lecturas en un rango de 30-40 UA´s en el caso de ambos sistemas, es decir que previo a la aplicación de la emulsión la zona se encontraba seca. La primera formulación arrojó valores iniciales en un promedio de 19.2 UA´s por arriba del criterio hidratación suficiente (45 UA´s), así mismo, a la hora y media se encontró un promedio de absorción en todos los niveles con 57.42 UA´s, lo que es índice de que la emulsión no se absorbe inmediatamente y que este proceso se dará gradualmente incluso después de 1.30 h de la administración, aunque no se puede asegurar que se absorba la dosis necesaria para ejercer efecto terapéutico inmediato. El nivel b en este sistema nos proporciona un valor de 57.9 UA´s como última medición, un valor mayor respecto al primer análisis, esto puede ser debido a que, según el manual del equipo, cuando la sonda es aplicada en la misma zona, esta genera oclusión en el área, saturando el estrato córneo de agua y evitando que se evapore y por ende los valores incrementen respecto a los análisis iniciales.

El segundo caso también expresa medidas superiores al tercer criterio de penetración, no obstante, en comparación a la formulación primera, posterior a las 1.30h de administración, solo el nivel (1) refleja valores en el límite de hidratación con 46 UA´s, y mientras que los demás experimentos resultan en un rango de 40-42 UA´s. Esto nos indicaría, que el producto se absorbe en un promedio de 1.30 h y que ejerce su efecto en este lapso de tiempo.

Criterios de selección de formulación

Para elegir el sistema ideal entre ambas formulaciones se tomaron en consideración, no solamente la capacidad de penetración en la piel, sino factores contribuyentes a la estabilidad de la misma, ya que es importante que la emulsión mantenga sus características de estabilidad durante su vida útil.

Potencial de hidrógeno

El pH de los productos tópicos, es un factor importante para evitar que genere irritación o alguna alteración en el pH natural de la piel. El pH ideal en los productos tópicos, deben poseer un rango de 4 a 6 (Lukić, M., et al. 2021); En el caso de la formulación 1 se encontraron valores de pH en un rango de 4.4 a 4.75, mientras que la formulación 2, mostró valores de 4.75 a 5.1. A pesar de que ambos sistemas se encuentran dentro del criterio aceptable para pH en formulaciones tópicas, Lukić, M., et al (2021) expone que el pH de la superficie de la piel en hombres es de 5.8, mientras que en mujeres es de 5.54. Hasta ahora, la formulación 2 presenta ventaja respecto a la formulación uno dado que el rango de valores que se obtuvieron de todos los niveles, es más cercano a 5 y por ende contribuiría a mantener la piel saludable, sin correr el riesgo de generar alteraciones, ya que las personas que padecen de diabetes son más propensas a desarrollar afecciones cutáneas (Asociación Estadounidense de Diabetes. n.d.).

Viscosidad y estabilidad

La viscosidad se define como la resistencia interna de un fluido al movimiento y es una propiedad reológica importante en el estudio de las emulsiones, ya que influye en la estabilidad del sistema y en el tiempo en que la forma farmacéutica permanezca en la zona deseada. Existen distintos factores que afectan la viscosidad de una emulsión, entre ellos la concentración de emulgente, la velocidad de mezclado y por ende el tamaño de gota en el sistema y la cantidad de agua. Las tablas VIII y IX expresan los resultados obtenidos tras medir la viscosidad de ambas formulaciones, es evidente que la formulación dos, tiene valores más altos respecto a la formulación uno, cuya concentración de emulgente tuvo variaciones entre el 6 y 8%, mientras que en la formulación 2 tuvo una concentración fija del 10%. El papel de emulsionante es formar una capa alrededor de las gotas de aceite entre la interface agua/aceite, que permite incrementar la viscosidad y reducir la tensión interfacial y así, generar un medio más estable, así mismo, el incremento en la concentración del emulgente permite reducir el tamaño de gota, tras la aplicación de energía (Akbari, S & Abdurahman, H., 2018), lo que también permite mejorar la estabilidad de la crema. Según Akbari, S y Abdurahman, H (2018) el contenido de agua para la formulación de un sistema estable debe ser entre el 60 y 80%, en este caso ambas cremas cubren este criterio, pues el porcentaje de la fase acuosa resultó en 62% para la formulación uno y 68% para la formulación dos respectivamente.

Tabla IX. Viscosidad en los niveles y duplicados de la formulación uno

Nivel	Viscosidad Cps (10^3)
(1)	106.51
(1)'	107.14
a	197.88
a'	208.56
b	105.71
b'	103.09
ab	243.79
ab'	241.86

Tabla X. Viscosidad en los niveles y duplicados de la formulación dos

Nivel	Viscosidad Cps (10^3)
(1)	362.86
(1)'	361.54
a	388.13
a'	395.07
b	475.13
b'	470.71
ab	426.8
ab'	424.29

Finalmente, se llevó a cabo ciclado térmico en ambos sistemas, la formulación uno presentó alteraciones en tres de sus niveles, a, b y ab (tabla IX), lo que incluye líquido en la superficie de los tubos, y gotas pequeñas en las paredes, mientras que al término de la prueba se observó endurecimiento en todos los niveles. Una de las causas que pueden explicar este fenómeno es la evaporación de la fase externa, que genera compresión en el sistema debido a la distorsión de las gotas de aceite y adelgazamiento de las capas de agua que las separan, este comportamiento conduce a la coalescencia y por ende, una película de aceite se genera en la superficie de la emulsión que además, retrasa de la pérdida de agua (Aranberri, I. et al. 2004). La segunda formulación, se mantuvo sin separaciones en el periodo completo de prueba (figura 9 y 10), por lo que tuvo un comportamiento más estable ante factores ambientales externos.

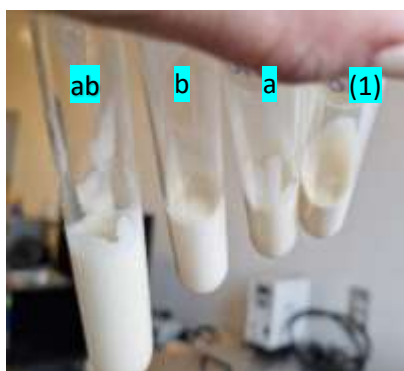


Figura 9. Prueba de ciclado térmico en formulación dos

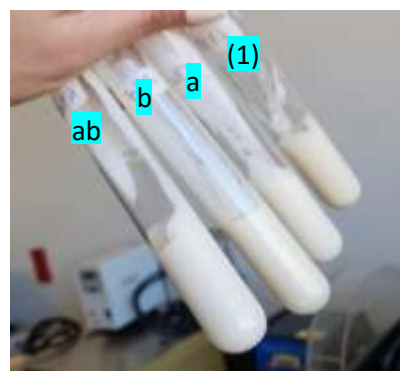





Figura 10. Prueba de ciclado térmico en formulación dos

Tabla XI. Observaciones de los niveles a, b y ab, que presentaron alteraciones durante la prueba de ciclado térmico.

Nivel	Imagen de referencia	Descripción
a		Se observa diferencia de tonalidad entre la parte superior e inferior de la muestra, siendo más amarillenta la superficie. Una capa fina de líquido transparente se observa en la superficie del sistema
b		Se observa pérdida de volumen en la muestra, ya que hay notoria separación entre el sistema y el tubo, donde además se encuentran gotas de líquido transparente
ab		Se observa pérdida de volumen en el sistema, que ha causado separación de la muestra y el tubo, este también posee gotas minúsculas en sus paredes

Optimización de la formula e influencia de los factores del diseño factorial 2²

El alcohol cetílico es un excipiente que se utiliza ampliamente en la industria cosmética dadas sus propiedades tensoactivas, no obstante, a pesar de su importancia en la estabilidad en las emulsiones, es un factor importante que determina el comportamiento reológico del sistema final (Choi, J, & Jin, B. 2019), aunado a ello antes se ha mencionado que la velocidad de cizalla durante la fabricación influye en la consistencia de la forma farmacéutica. Dado que ambos factores están relacionados, mediante el programa statgraphics se buscó mejorar las propiedades de absorción del sistema, optimizando teóricamente la formulación dos, utilizando la matriz experimental en la tabla XII.

Tabla XII. Matriz general para el diseño factorial 2^2 con las variables de respuesta; viscosidad y la capacidad de penetración del sistema

BLOQUE	Viscosante	Rpm	Viscosidad Cps	Penetración* UA
1	1	1	426.8	48.8
1	1	-1	388.13	53.1
1	-1	1	475.13	46.2
1	-1	-1	362.86	56.8
Rep*	1	1	424.29	49
Rep	1	-1	395.07	51.3
Rep	-1	1	470.71	46.3
Rep	-1	-1	361.54	56.3

*Penetración→ Los datos que se emplearon para la última variable, es el promedio de las mediciones realizadas durante 1.30 h, posterior a la aplicación del sistema.

*Rep → Hace referencia a la repetición de la crema en cada uno de sus niveles

Efecto de los factores en la capacidad de penetración

Con el objetivo de identificar si la concentración de alcohol cetílico y la velocidad de cizalla presentan efecto significativo en la capacidad de penetración del sistema, se realizó un análisis de varianza que se presenta en la figura 11. Partiendo de los valores del estadístico P que se muestra en la tabla ANOVA se puede expresar con un nivel del 95% de confianza que el factor B (Rpm) y únicamente su interacción con el factor A (% de viscosante) tienen un efecto estadísticamente significativo respecto a la penetración de la crema en la piel, siendo B el factor que mayor efecto ejerce.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Viscosante	1.445	1	1.445	3.41	0.1618
B:Rpm	92.48	1	92.48	218.46	0.0007
AB	24.5	1	24.5	57.87	0.0047
bloques	0.5	1	0.5	1.18	0.3567
Error total	1.27	3	0.423333		
Total (corr.)	120.195	7			

Figura 11. Análisis de varianza para la maximización de la penetración del sistema en el estrato córneo

Los valores obtenidos del estadístico R cuadrada (98.9434 %) y R ajustada (97.5346 %) son índice de la certeza en la expresión del modelo respecto a la variabilidad en la penetración de la forma farmacéutica, ya que superan el 90%.

El diagrama de Pareto (figura 12) confirma lo antes descrito en la tabla ANOVA, exponiendo al factor B (Rpm) como el más influyente respecto al efecto estandarizado en su nivel más bajo, aunque su interacción con el factor A también

ejercen efecto en la hidratación en su nivel alto, ya que ambas barras representativas, sobrepasan la línea azul del efecto estandarizado.

En el gráfico de efectos principales en cada factor (figura 13), se observa que en el caso del viscosante, este expresa que hay mayor penetración de la emulsión, cuando se encuentra en su nivel más bajo (-1). La diferencia entre el resultado de ambos niveles es relativamente pequeña, ya que la línea es corta y la inclinación que tiene no es pronunciada, contrario al caso de la velocidad de cizalla, que en su nivel más bajo la capacidad de penetración del sistema resulta significativamente mayor respecto a su nivel más alto, puesto que la pendiente de la línea es más inclinada y el rango de valores que comprende va de 48 a 54.5 UA's, es mayor la magnitud de este efecto principal.

El gráfico de interacciones (figura 14) confirma que a nivel bajo de viscosante (línea naranja) y nivel bajo de rpm (línea azul), se obtienen valores más altos de penetración, en este caso 56.5 UA's y de incrementar el rango de valores que cada una comprende, reflejan tendencia a interaccionar.

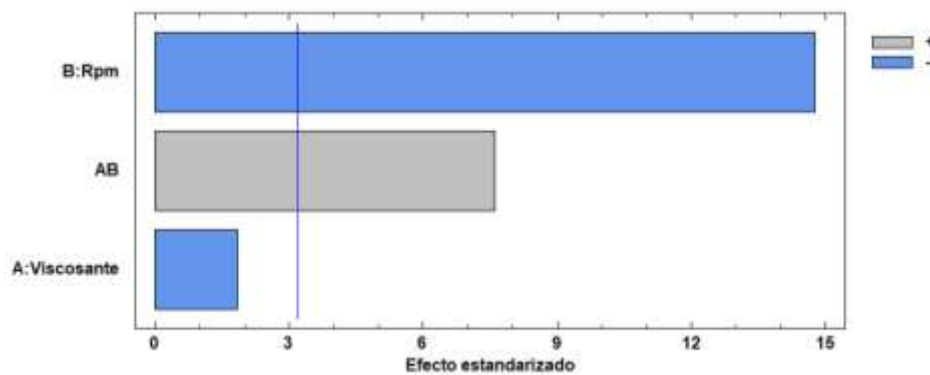


Figura 12. Diagrama de Pareto estandarizado para la penetración de la emulsión en el estrato córneo.

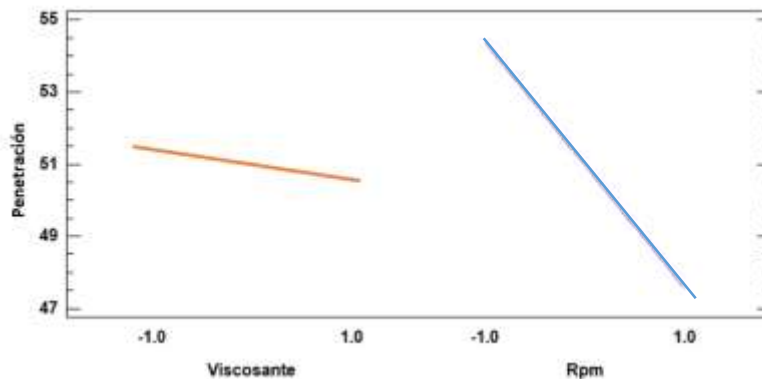


Figura 13. Gráfica de efectos principales para la penetración del sistema en el estrato córneo

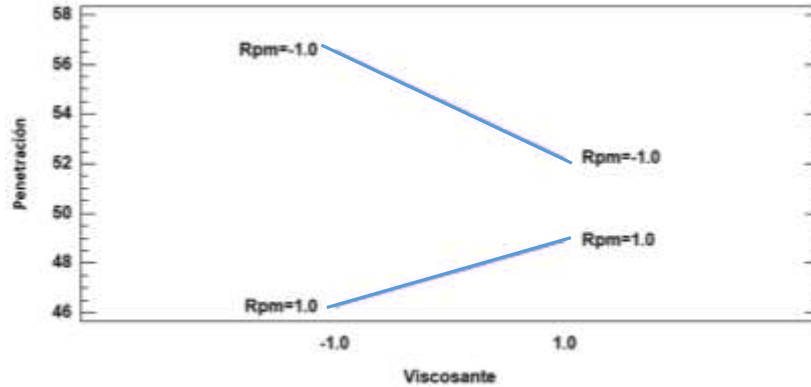


Figura 14. Gráfico de interacción para la penetración del sistema

Niveles recomendados y la optimización de la respuesta

La tabla XIII obtenida mediante statgraphics expresa la combinación de niveles de factores que maximiza la capacidad de penetración de la emulsión, donde ambos factores, se encuentran en su nivel más bajo (AC, 8%, Rpm, 2000) en un sistema optimizado.

Tabla XIII. Optimización del sistema

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Viscosante	-1	1	-1
Rpm	-1	1	-1

Con el fin de corroborar los datos anteriores, se presenta la ecuación de regresión del diseño, el cual describe el modelo ajustado ante una variación de concentración de alcohol cetílico (viscosante) y Rpm para mejorar la penetración de la crema, cuyo resultado es el valor ideal de penetración posterior a 1.30 horas de aplicación:

$$\text{Penetración} = 50.975 - 0.425 \cdot \text{Viscosante} - 3.4 \cdot \text{Rpm} + 1.75 \cdot \text{Viscosante} \cdot \text{Rpm}$$

Reemplazando los respectivos niveles de cada factor se obtiene un valor óptimo para maximizar la penetración a 56.55 UA's.

$$\text{Penetración} = 50.975 - 0.425 \cdot (-1) - 3.4 \cdot (-1) + 1.75 \cdot (-1) \cdot (-1) \rightarrow \underline{56.55}$$

Sistema Optimizado

El sistema optimizado se realizó con dos repeticiones. Debido a que, esta formulación resultó más viscosa respecto a la formulación uno, se adicionaron 2 mL de agua durante la fabricación de las cremas para mejorar la consistencia y se procedió a realizar las pruebas de calidad correspondientes. Puesto que se realizaron dos pruebas más en estos sistemas, se fabricaron 35 g de lote. La tabla XIV contiene los resultados de todas las pruebas que se efectuaron en la formulación optimizada y sus repeticiones respectivas.

Se observó un incremento en los valores de pH respecto al nivel (1) en la preformulación, esto puede atribuirse al incremento en el tamaño de lote para la emulsión optimizada, no obstante, esta diferencia no requiere ajuste en el potencial de hidrógeno, ya que el pH de la piel tanto en el rostro como el cuerpo, se encuentra en un rango de 4 a 5.75 (Eucerin., n.d.). Los valores de extensibilidad se encontraron en un rango de 18.35 a 20.7 cm², estos datos representan la capacidad de extensión de la emulsión en el área deseada y permite identificar la facilidad con la que el usuario pueda aplicar el sistema sobre la parte afectada, sin embargo, no hay información documentada que exponga valores ideales para esta prueba, no obstante, al ser aplicada una fuerza de fricción en la emulsión sobre la piel, esta permite extenderse fácilmente.

Al concluir la fabricación de ambas formulaciones (en su preformulado), días después se observó mayor consistencia en la crema, por lo que en el sistema optimizado al adicionar 2 mL de vehículo, hubo una dilución que logró disminuir la viscosidad respecto a la preformulación, mejorando la consistencia sin afectar el objetivo de la forma farmacéutica

En cuanto a las mediciones del estrato córneo, hubo concordancia respecto al nivel 1 preformulado, dado que a las 1.30 h, los valores obtenidos se encuentran en el límite de hidratación suficiente con 48.65, 46.85 y 45.47 UA's, no obstante, se realizó una medición extra a las 1.45 h, donde se obtienen lecturas de clasificación seco, por lo que en caso de ser necesario se debe administrar el producto nuevamente. Por otro lado, el promedio de la penetración en las tres emulsiones da un valor de 54.45 UA's posterior a 1.30 h de aplicación, un valor bastante cercano al resultado obtenido de la ecuación de regresión en la maximización de la penetración del sistema que es 56.55 UA's en este periodo de tiempo.

Finalmente, la prueba de centrifugado (figura 7), así como ciclado térmico y ciclos de congelación y descongelación (figura 8 y 9) no revelaron signos de disociación en la emulsión al término de las condiciones de estrés aplicadas, esto es evidencia de que la formulación dos es más estable respecto a las formulaciones anteriores y por ende, será más estable en anaquel.

Tabla XIV. Resultados obtenidos de las pruebas de calidad en el sistema optimizado y sus repeticiones respectivas.

Optimizado	Ph	Extensibilidad cm2	Viscosidad Cps	Hidratación UA's	1.15 h	1.30 h	1.45 h	Centrifugación
O	5.67	18.35	301.2	65.67	53.25	48.65	43.15	sin cambios
R1	5.65	19.11	298	64.95	51.75	46.85	42.15	sin cambios
R2	5.65	20.7	296.1	64.74	48.72	45.47	40.8	sin cambios

O → Optimizado, R1 → Repetición uno, R2 → Repetición dos



Figura 7. Prueba de centrifugado.



Figura 8. Prueba de ciclado térmico



Figura 9. Prueba de congelación y descongelación

Conclusiones

Se desarrollaron tres formulaciones para el tratamiento de neuropatía diabética a base de aceites esenciales de caléndula, mandarina y extracto de manzanilla, identificando sus propiedades organolépticas y asegurando la calidad tanto de las materias primas como en el proceso de fabricación y producto terminado.

Únicamente se logró desarrollar una matriz experimental en la formulación uno y dos, ya que la formulación tres presentó signos de inestabilidad en su fabricación, por lo que se descartó para el diseño de experimentos.

Se hicieron pruebas fisicoquímicas en las formulaciones uno y dos y se determinó que la formulación dos posee características que le confieren mayor estabilidad al sistema respecto a la primer formulación, por lo que se empleó un diseño de experimentos para el análisis de la formulación dos mediante el programa statgraphics, obteniendo estadísticamente los niveles bajos en los dos factores preestablecidos (2000 rpm y 8% AC) para la optimización de la fórmula.

Se obtuvo un producto final optimizado, que cumple con las pruebas de calidad establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM., 2022) y el Formulario nacional (Formulario Nacional n.d.).

REFERENCIAS

1. Ahmadzadeh, A., et al. (2023). Plantas medicinales para el tratamiento del dolor neuropático: una revisión de ensayos controlados aleatorios. *Biotechnología Farmacéutica Actual*.

2. Akbari, S y Abdurahman, H. (2018). Tipos de emulsiones, mecanismos de estabilidad y reología: una revisión. *Revista internacional de investigación científica y estudios innovadores* 1 (1), 14-21, https://www.researchgate.net/publication/329125382_Emulsion_types_stability_mechanisms_and_rheology_A_review
3. Aranberri, I., et al. (2004). Tasas de evaporación del agua de emulsiones concentradas de aceite en agua. *Langmuir*, 20(6), 2069–2074. doi:10.1021/la035031x
4. Asociación Estadounidense de Diabetes. (n.d). Diabetes y complicaciones de la piel. <https://diabetes.org/about-diabetes/complications/skin-complications>
5. Cevik, A. & Olgun, N. (2021). Los predictores de la neuropatía diabética dolorosa y su efecto sobre la calidad de vida. *Enfermería para el manejo del dolor*. doi:10.1016/j.pmnm.2021.04.002
6. Choi, J y Jin, B. (2019). Cambios en las propiedades reológicas de las emulsiones O/W según el tipo de tensioactivo no iónico y estabilizador de emulsión. *Química aplicada a la ingeniería*, 30(4), 415–420. <https://doi.org/10.14478/ACE.2019.1012>
7. Constantin, M., et al. (2014). Evaluación de la hidratación de la piel mediante tecnologías modernas de bioingeniería no invasivas. *Maedica*, 9(1), 33–38.
8. Dai, Y., et al. (2022). Manzanilla: una revisión de sus usos tradicionales, componentes químicos, actividades farmacológicas y estudios de control de calidad. *Moléculas*, 28(1), 133. <https://doi.org/10.3390/molecules28010133>
9. Departamento de Salud y Servicios Humanos. (n.d.). Neuropatías Diabéticas: El Daño de los nervios. Instituto Nacional de Diabetes y Enfermedades Digestivas y Renales. <https://www.niddk.nih.gov/health-information/informacion-de-la-salud/diabetes/informacion-general/prevenir-problemas/neuropatias-diabeticas>
10. *Eucerin*. (n.d.). *Qué Es el Ph de la piel y cuál es su importancia*. <https://www.eucerin.pe/acerca-de-la-piel/conocimiento-basico-sobre-la-piel/skins-ph#:~:text=El%20valor%20%C3%B3ptimo%20de%20pH,los%20valores%20superiores%20son%20alcalinos>.
11. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) 13.1 ed. México; 2022. Secretaría de Salud, Comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
12. Fernández, E. (2003). Control de calidad fórmulas dermatológicas . *Formulación Magistral* , 17, 70–75. <https://doi.org/https://www.elsevier.es/es-revista-farmacia-profesional-3-articulo-control-calidad-13044494>
13. *Formulario Nacional* (n.d.). Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. <https://www.aemps.gob.es/formulario-nacional/?lang=en>
14. Fundación Mayo para la Educación e Investigación Médica. Neuropatía Diabética. <https://www.mayoclinic.org/es/diseases-conditions/diabetic-neuropathy/symptoms-causes/syc-203715>

15. Garrido, B., et al. (2022). La caléndula officinalis L. tópica inhibe el dolor inflamatorio a través de mecanismos antioxidantes, antiinflamatorios y opioides periféricos. *Revista de Medicina Integrativa*. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2095496422001108>
16. Givol, O., et al. (2019). Una revisión sistemática del extracto de Calendula officinalis para la cicatrización de heridas. Reparación y regeneración de heridas. doi:10.1111/wrr.12737
17. IUPAC. Compendio de terminología química, 2ª ed. Publicaciones científicas de Blackwell. Versión en línea (2019). ISBN 0-9678550-9-8. <https://doi.org/10.1351/goldbook>.
18. Lukić, M., et al. (2021). Hacia un pH óptimo de la piel y formulaciones tópicas. 8(3), 69. doi:10.3390/cosmetics8030069
19. Navarro Y., et al. (2021). Predicción de la estabilidad física y la calidad de emulsiones cosméticas O/W mediante diseño factorial completo. *Revista de farmacia y amp; Investigación de farmacognosia*, 9(1), 98–112. https://doi.org/10.56499/jppres20.908_9.1.98
20. Pang, L., et al., (2020). Comprender la neuropatía diabética: enfoque en el estrés oxidativo. *Medicina oxidativa y longevidad celular*, 2020, 1–13. doi:10.1155/2020/9524635
21. Schneider, A. et al., (2020). Propiedades antihiperalgésicas del extracto crudo etanólico de la cáscara de cítricos reticulata. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020180793>
22. Sloan, G., y col. (2022) El tratamiento de la neuropatía diabética dolorosa. *Diabetes actual*. doi: 10.2174/1573399817666210707112413.
23. Sun, P., et al. (2022) Influencia de la tangeretina en la regresión exponencial de la inflamación y el estrés oxidativo en la nefropatía diabética inducida por estreptozotocina. *Bioquímica y biotecnología aplicada*, 194, 3914–3929. <https://doi.org/10.1007/s12010-022-03920-w>
24. Yang, T., et al. (2020) Efecto neuroprotector y antiinflamatorio de la tangeretina contra la lesión por isquemia-reperfusión cerebral en ratas. *Inflamación* 43, 2332–2343. <https://doi.org/10.1007/s10753-020-01303-z>
25. Yang, X., et al. (2019). Tratamientos tópicos para el dolor neuropático diabético (Revisión). *Medicina Experimental y Terapéutica*. doi:10.3892/etm.2019.7173