

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe final proyecto de servicio social

**Obtención y evaluación de invasomas cargados con linezolida como
sistemas de entrega de fármaco**

Proyecto genérico: Modificaciones físicas de fármacos y desarrollo de
medicamentos

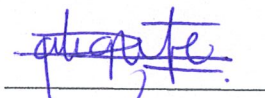
Presenta:

Aldo Habana Pérez

Matrícula: 2213058909

Asesora externa:

M. en C.F. Dalia Ramos González (Céd. Prof. 15182426)



Asesor interno:

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda (No. Eco. 8351)



Lugar de realización: Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada
(N-106), UAM Xochimilco

Fecha de inicio: 04/10/2025

Fecha de término: 04/04/2026

Agradecimientos

Agradezco profundamente a la M. en C.F. Dalia Ramos González por su apoyo, paciencia y orientación durante el desarrollo de este proyecto. Su acompañamiento fue clave para enfrentar los retos experimentales, analizar los resultados y avanzar en la construcción de este trabajo.

Al Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda, le agradezco sus observaciones y comentarios, ya que permitieron fortalecer el enfoque académico del informe y mejorar la interpretación de los resultados obtenidos.

A la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, y al Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada, por brindarme el espacio y las herramientas necesarias para realizar mi servicio social. También agradezco a mis compañeros de laboratorio por su apoyo, colaboración y disposición durante las distintas etapas experimentales.

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a los laboratorios que apoyaron en la caracterización de las muestras, por contribuir con análisis importantes para complementar este proyecto.

A mi familia, por estar presente durante mi formación, por su apoyo en los momentos de mayor exigencia y por impulsarme a concluir esta etapa.

A todas las personas que formaron parte de este proceso, gracias por contribuir de alguna manera a mi aprendizaje y crecimiento profesional.

Dedicatoria

Dedico este trabajo a las personas que fueron un pilar durante esta etapa de mi vida.

A mi roomie, Patricia Marlen Flores Morales, por ser mi compañera de cuarto, mi amiga durante la carrera y por apoyarme en los momentos de crisis. A Marilyn Olinca Sánchez Castañeda, por estar presente en los momentos más sensibles de este camino. A Emilio Chávez Camacho, por alegrar mis días, incluso cuando lo visitaba en el laboratorio.

También dedico este logro a mis amigos, quienes se convirtieron en una segunda familia durante este camino. A mi mejor amiga, Joselyn Soriano Barragán, por estar a mi lado en los momentos más difíciles y por ayudarme a ver la vida desde otra perspectiva con su amistad y cariño. A Rey David Sánchez Rosado, por transmitir siempre tranquilidad con su calidez y esa sonrisa que lo caracteriza. A Izabella Backus, por enseñarme con su carácter y seguridad que la fortaleza también se construye con determinación. Cada uno de ustedes dejó una huella en mi vida y, con su apoyo, sus consejos y su compañía, hicieron que este camino fuera mucho más llevadero. Gracias por recordarme que nunca estuve solo.

A mi familia, porque sin importar la distancia, las ocupaciones o las dificultades que hemos enfrentado, siempre ha sido el lugar al que puedo volver. Gracias por cada consejo, por cada muestra de cariño y por hacerme sentir que nunca he estado solo. A mis tías Reyna, Maruca, Miriam, Marisol, Susana, Lucia y Chuchis, por las risas, las aventuras y los recuerdos que marcaron mi infancia y contribuyeron a formar la persona que soy. A mis tíos Rubén y Efraín, por creer en mí y motivarme a seguir persiguiendo mis metas.

De manera muy especial, dedico este trabajo a mi tío Agustín Navarrete, quien ya no pudo verme concluir esta etapa. Aunque el tiempo que compartimos fue breve, dejó en mí una enseñanza que me ha acompañado desde entonces, siempre me invitaba a conocer diferentes temas a través de su colección de libros, despertando en mí la curiosidad por aprender y recordándome que nunca debía conformarme

con un conocimiento a medias. Gracias a él comprendí que siempre hay algo nuevo por descubrir y que el verdadero aprendizaje consiste en retarse a uno mismo cada día. Me hubiera encantado compartir este logro con él, pero sé que una parte de este camino también lleva su legado.

A mi papá, Alfonso Mendoza Jarquín, por decidir ocupar un lugar en mi vida y asumirlo con amor, responsabilidad y compromiso. Gracias por cada enseñanza, por cada consejo y por creer en mí incluso cuando el camino parecía difícil; más que enseñarme a enfrentar la vida, me enseñaste que la verdadera paternidad se demuestra con los actos y no con la sangre. Gracias por ser mi papá.

Finalmente, dedico este trabajo a la persona que me dio todas las herramientas para salir adelante mi madre, Manuela Habana Pérez una mujer admirable que nunca conoció el descanso, sino el valor del trabajo y del sacrificio. Como madre soltera, enfrentó cada desafío con valentía y jamás permitió que las dificultades fueran un obstáculo para darme un mejor futuro, me dio mucho más que un nombre y un apellido; me dio el ejemplo de cómo enfrentar la vida con valentía, los principios que hoy guían mi vida y la fuerza para convertirme en la persona que soy.

Aunque la distancia nos separe en algunos momentos, sus enseñanzas me acompañan todos los días y me recuerdan que nunca debo renunciar a mis sueños. Todo lo que soy y todo lo que he logrado tiene una parte de ella.

Si algún día llego más lejos, será porque tú me enseñaste a caminar. Este logro también te pertenece, porque sin tu amor, tu fortaleza y tus sacrificios, yo no sería la persona que soy hoy.

Te amo, mamá.

Resumen

Este trabajo tuvo como propósito obtener y evaluar invasomas cargados con linezolida como sistemas de entrega del fármaco para su posible administración cutánea. Los invasomas se prepararon utilizando fosfolípidos, etanol y limoneno como componentes principales, y se caracterizaron por su tamaño de partícula, índice de polidispersidad, potencial zeta, espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, calorimetría diferencial de barrido, eficiencia de encapsulación y estudios de liberación *in vitro*.

Las formulaciones obtenidas presentaron tamaños principalmente en el intervalo nanométrico, con valores cercanos a 80–120 nm bajo las condiciones de procesamiento más favorables. La caracterización del tamaño de las vesículas mediante dispersión de luz dinámica (DLS) mostró diferencias entre la formulación placebo y los sistemas cargados con linezolida, mientras que el potencial zeta presentó valores negativos en todas las formulaciones, lo que indica una carga superficial moderadamente negativa. Los análisis por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) y calorimetría de barrido diferencial (DSC) sugirieron una interacción entre la linezolida y la matriz invasomal, evidenciada por la reducción del tamaño respecto al placebo, así como por cambios en las señales características del fármaco en FTIR y por la ausencia del evento térmico observado en DSC, asociado a la linezolida pura en el sistema cargado.

La eficiencia de encapsulación del fármaco, determinada mediante un método espectrofotométrico UV, tras el tratamiento del invasoma con diclorometano, fue del 88.72%. En el ensayo de perfil de liberación *in vitro*, la linezolida libre alcanzó el 91.60 % de disolución a las 6 h, mientras que en el mismo periodo los invasomas cargados con el activo liberaron el 35.04 %, lo que indica una liberación gradual del principio activo desde la vesícula. Al aplicar los modelos matemáticos para determinar la cinética de liberación del activo, el modelo de Korsmeyer-Peppas fue el que mejor se ajustó a ambos sistemas.

En general, los resultados indican que los invasomas modificaron el comportamiento de liberación de la linezolida, por lo que presentan potencial como

plataforma para su administración cutánea. Sin embargo, la limitada estabilidad física frente a cambios de temperatura y la heterogeneidad observada en algunas formulaciones evidencian la necesidad de optimizar el procedimiento, así como de realizar estudios complementarios de permeación o de retención cutánea.

Índice

Capítulo 1. Introducción.....	1
Capítulo 2. Marco teórico.....	3
2.1 La piel.....	3
2.1.1 Vías de penetración cutánea.....	11
2.2 Nanotecnología aplicada a la administración cutánea de fármacos	14
2.3 Invasomas como sistemas vesiculares avanzados para la permeación cutánea.....	16
2.4 Infecciones cutáneas bacterianas y desafíos terapéuticos actuales	17
2.5 Uso de linezolida en sistemas invasomales para administración cutánea...	19
Capítulo 3. Objetivos.....	21
A. Objetivo general.....	21
B. Objetivos específicos	21
Capítulo 4. Materiales y Métodos.....	22
A. Materiales.....	22
B. Métodos.....	24
Capítulo 5. Resultados.....	28
Curva de calibración y parámetros de la validación parcial del método analítico.	28
Parámetros de validación analítica.....	29
Tamaño de partícula de los invasomas.....	30
Análisis del tamaño de partícula de los invasomas e índice de polidispersidad mediante dispersión dinámica de luz (DLS)	33
Comparación del potencial zeta entre formulaciones de invasomas.....	34
Comportamiento del tamaño de partícula bajo diferentes condiciones de temperatura de almacenamiento	35
Respuesta de la linezolida y de los invasomas con y sin carga de fármaco a la radiación infrarroja (FTIR)	36

<i>Comportamiento térmico de los invasomas por calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i>	<i>42</i>
<i>Perfil de liberación de linezolida libre y desde el invasoma</i>	<i>45</i>
Capítulo 6. Discusión	50
<i>Comportamiento térmico de los invasomas por calorimetría diferencial de barrido (DSC)</i>	<i>55</i>
Capítulo 7. Conclusiones	61
Capítulo 8. Referencias	63
Capítulo 9. Anexos	66
<i>Ensayos preliminares, incidencias y ajustes durante la formulación de invasomas.</i>	<i>66</i>
<i>Incidencias asociadas al comportamiento de la lecitina</i>	<i>67</i>
<i>Incidencias relacionadas con el vacío y disponibilidad de materiales</i>	<i>67</i>
<i>Diagrama ilustrado de la preparación de invasomas.....</i>	<i>69</i>
<i>Fotografía del microscopio de la linezolida</i>	<i>69</i>
<i>Fotografía de la ruptura del sistema con diclorometano</i>	<i>70</i>
<i>Uso de pinzas para la diálisis.....</i>	<i>70</i>
<i>Equipo montado para la diálisis.....</i>	<i>71</i>
<i>Muestras liofilizadas para el IR.....</i>	<i>71</i>
<i>Formulación de invasoma terminado.....</i>	<i>72</i>

Capítulo 1. Introducción

Administrar un fármaco a través de la piel parece una estrategia sencilla al aplicar el tratamiento sobre la zona afectada y permitir que actúe localmente. Sin embargo, esta aparente facilidad contrasta con la función biológica principal de la piel, que es impedir el paso indiscriminado de sustancias desde el exterior. Esta dualidad convierte a la vía cutánea en una de las rutas más atractivas, pero también más desafiantes para el desarrollo farmacéutico.

El principal obstáculo se encuentra en el estrato córneo, una capa altamente organizada que actúa como barrera selectiva. Su estructura compacta limita la penetración de numerosos principios activos, aun cuando estos poseen actividad terapéutica adecuada. Por esta razón, el desempeño de una formulación tópica no depende únicamente del fármaco utilizado, sino de la forma en que este se presenta, se libera y establece interacción con los componentes de la barrera cutánea.

En el caso de las infecciones cutáneas bacterianas, esta limitación adquiere una importancia particular. Cuando la infección se localiza en las capas superficiales o intermedias de la piel, una administración localizada podría favorecer concentraciones elevadas del antimicrobiano en el sitio afectado y reducir la exposición sistémica. No obstante, las formulaciones convencionales pueden presentar dificultades para lograr una distribución adecuada del fármaco en el tejido, especialmente cuando la barrera cutánea restringe su penetración.

La linezolida es un antimicrobiano de interés clínico por su actividad frente a bacterias Gram positivas, incluyendo microorganismos resistentes como *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina. Aunque su uso se realiza principalmente por vía oral o intravenosa, estas formas de administración pueden asociarse con efectos adversos cuando se requiere un tratamiento prolongado. Por ello resulta relevante explorar estrategias que permitan modular su liberación y favorecer una administración localizada desde el punto de vista farmacéutico.

En este punto, los invasomas representan una alternativa interesante dentro de los sistemas vesiculares para la administración cutánea. Su composición, basada en fosfolípidos, etanol y terpenos, permite formar vesículas flexibles capaces de incorporar fármacos y modificar su liberación. Además, estos componentes pueden interactuar con la organización lipídica del estrato córneo, lo que les confiere el potencial para mejorar la administración de principios activos hacia la piel.

El presente trabajo se enfocó en la obtención y evaluación de invasomas cargados con linezolidina como sistemas de entrega del fármaco. Para ello, se caracterizaron las formulaciones mediante el tamaño de partícula, el índice de polidispersidad, el potencial zeta, la espectroscopía infrarroja, la calorimetría de barrido diferencial, la eficiencia de encapsulación y el perfil de liberación *in vitro*. Asimismo, los datos de liberación fueron ajustados a modelos cinéticos con el propósito de describir el comportamiento tanto del fármaco libre como del sistema invasomal.

A partir de esta evaluación, se buscó determinar si la incorporación de linezolidina en invasomas podía modificar su comportamiento de liberación en comparación con el fármaco libre. Los resultados obtenidos permiten reconocer el potencial del sistema invasomal como plataforma de liberación controlada, pero también evidencian aspectos críticos relacionados con la estabilidad física y la homogeneidad de las formulaciones, que deben considerarse en futuras etapas de optimización.

Capítulo 2. Marco teórico

El desarrollo de sistemas invasomales para administración cutánea no puede entenderse únicamente desde la formulación farmacéutica. Antes de analizar el comportamiento de estos sistemas, es necesario considerar que la piel no actúa como una superficie pasiva, sino como una barrera organizada que regula de forma selectiva el paso de sustancias hacia el interior del tejido.

Esta característica representa uno de los principales retos para la administración tópica de fármacos. Aunque algunas moléculas poseen propiedades fisicoquímicas favorables para atravesar la piel, su transporte también depende de la estructura del estrato córneo, de la organización de los lípidos intercelulares y de la interacción que la formulación establece con dichos componentes. Por ello, la eficacia de un sistema cutáneo no puede explicarse solo por el principio activo, sino también por la forma en que este es presentado a la barrera cutánea.

A partir de esta idea, en el presente capítulo se revisan los aspectos estructurales de la piel relacionados con la permeación de fármacos, las principales vías de penetración cutánea y las limitaciones de las formulaciones convencionales. Posteriormente, se analiza el papel de los nanosistemas farmacéuticos, con énfasis en los invasomas, como estrategias diseñadas para modificar temporalmente la interacción entre el fármaco y la barrera cutánea. Finalmente, se aborda la relevancia de la linezolidina en infecciones cutáneas bacterianas y la justificación de incorporarla en un sistema vesicular de administración localizada.

2.1 La piel

La piel constituye la principal barrera biológica frente al medio externo y, al mismo tiempo, uno de los mayores desafíos para la administración tópica de fármacos.

Epidermis

Para su estudio, la estructura y composición de la piel se han dividido en tres estratos o capas: la epidermis, la dermis e hipodermis (Fig. 1). La epidermis constituye la capa más externa de la piel y está formada principalmente por

corneocitos y queratinocitos, así como por otras células como los melanocitos, células de Merkel, células de Langerhans, mastocitos y fibroblastos (Fig. 2).

En este estudio solo se hará referencia a los queratinocitos y, en particular, a los corneocitos. Estas células están rodeadas de una matriz fundamentalmente lipídica y se organizan en diferentes estratos que, en orden de mayor profundidad al estrato más superficial, se dividen en: basal, espinoso, granuloso y córneo; siendo un hecho importante el que los queratinocitos migran desde las capas más profundas a la superficie y van modificándose en su estructura, composición y funciones hasta perder el núcleo para formar una matriz de células muertas denominadas corneocitos que, en conjunto forman el estrato córneo, estructura responsable de gran parte de la función barrera de la piel (Yousef et al., 2024).

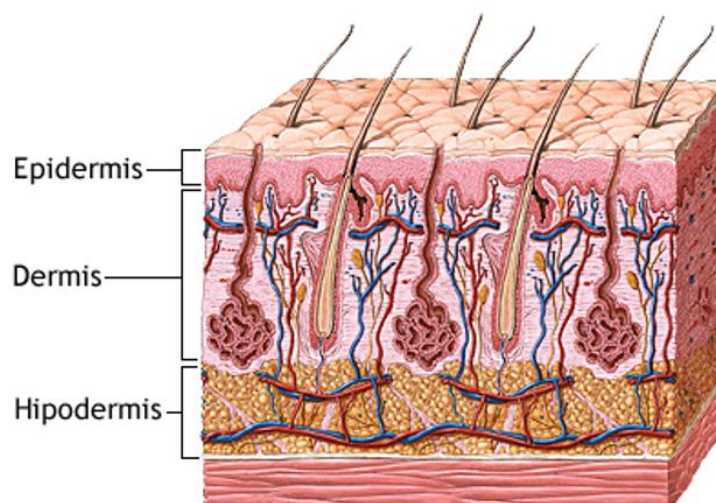


Figura 1. Representación esquemática de las principales capas de la piel: epidermis, dermis e hipodermis. La organización estructural de estas capas influye en la penetración, la distribución y el destino de los principios activos administrados por vía cutánea. Tomada de unCOMO (2017).

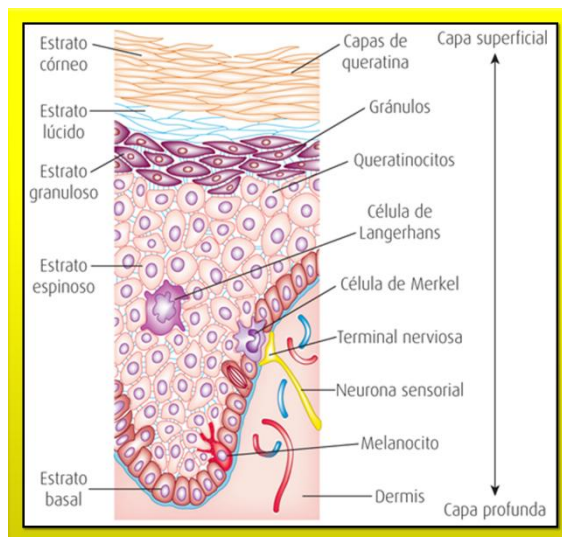


Fig. 2. Detalle de la organización estructural y de las células que conforman la epidermis. Tomada de Biopsicosalud (2021).

Además de actuar como barrera física frente a agentes externos, la epidermis participa en el mantenimiento de la homeostasis cutánea mediante la regulación de la pérdida de agua y la protección frente a factores ambientales. Estas funciones dependen en gran medida de la organización de los queratinocitos y de la presencia de lípidos intercelulares, cuya disposición contribuye a limitar el transporte de sustancias a través del tejido.

La importancia de la epidermis para la administración cutánea radica en que gran parte de la resistencia al transporte molecular se debe a la organización de sus componentes celulares y lipídicos. Abdoh et al. (2024) señalan que modificaciones transitorias en esta organización pueden alterar la permeabilidad cutánea y favorecer la difusión de compuestos terapéuticos. Estas observaciones han impulsado el desarrollo de formulaciones capaces de interactuar con los componentes lipídicos de la epidermis para incrementar la penetración de los principios activos sin afectar permanentemente la función protectora de la piel.

Estrato córneo

El estrato córneo representado por la sección superior de la Fig. 2 se ha asociado a un modelo de pared con ladrillos y cemento, en el que el conjunto de corneocitos anucleados (los ladrillos) está rodeado por una matriz lipídica organizada en bicapas (el cemento), compuesta principalmente por ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres. Esta organización compacta limita el movimiento de las moléculas a través de la piel y contribuye al mantenimiento de la función protectora del tejido cutáneo.

El modelo de "ladrillo y cemento" propone que la principal ruta de difusión de la mayoría de las moléculas ocurre en los espacios lipídicos localizados entre los corneocitos. Debido a que estos lípidos se organizan en estructuras lamelares de bicapas altamente ordenadas, forman una barrera que restringe el movimiento de sustancias a través de la piel. Como consecuencia, las moléculas hidrofílicas encuentran dificultades para difundirse a través de este entorno predominantemente lipofílico, mientras que los compuestos de elevado peso molecular presentan una movilidad limitada debido a la complejidad y longitud de las rutas de difusión. Por esta razón, solo un número reducido de moléculas presenta características fisicoquímicas compatibles con una permeación cutánea eficiente.

Por su parte, Abdoh et al. (2024), reportan que determinadas estrategias farmacéuticas pueden modificar temporalmente dicha organización sin comprometer de manera permanente la integridad de la barrera cutánea. Entre estas estrategias se encuentran los potenciadores químicos de permeación, los sistemas vesiculares deformables y otros nanosistemas capaces de interactuar con los lípidos intercelulares. Estas interacciones pueden incrementar la fluidez de la matriz lipídica, generar cambios transitorios en el empaquetamiento lamelar y facilitar el transporte de principios activos hacia capas más profundas de la piel.

Esta capacidad de alterar temporalmente la organización lipídica del estrato córneo, y en particular de las bicapas lipídicas que rodean a los corneocitos, resulta especialmente relevante para el desarrollo de invasomas, ya que estos sistemas incorporan componentes como etanol y terpenos que han demostrado interactuar

con los lípidos del estrato córneo y favorecer la permeación cutánea sin causar daños permanentes en la barrera fisiológica de la piel.

Aunque Prausnitz y Langer (2008) señalan que la permeación cutánea depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas del principio activo, como el peso molecular, la solubilidad y el coeficiente de partición, este planteamiento explica únicamente el comportamiento intrínseco de la molécula. Desde esta perspectiva, los compuestos de bajo peso molecular y moderadamente lipofílicos presentan mayores probabilidades de atravesar el estrato córneo por difusión pasiva; sin embargo, este modelo resulta limitado para explicar las diferencias observadas entre formulaciones que contienen el mismo fármaco.

Distintos autores, entre los que destacan los trabajos de Bouwstra et al. (2023), han demostrado que la permeación cutánea no depende exclusivamente de las características del principio activo, sino también de la organización de los lípidos intercelulares que conforman el estrato córneo (capa superior de la Fig. 1). Esta interpretación amplía la comprensión de dicho proceso al considerar que las modificaciones en la estructura de la barrera pueden alterar significativamente el transporte molecular. De forma complementaria, Elias (2005) describió que la disposición altamente organizada de los corneocitos y de los lípidos extracelulares constituye un sistema dinámico cuya integridad condiciona la capacidad de permeación. Estos planteamientos sugieren que la eficacia de una formulación no puede explicarse únicamente por las propiedades del fármaco, sino también por su capacidad de interactuar con la arquitectura de la barrera cutánea.

Esta idea es reforzada por Bakhrushina et al. (2025), quienes relacionan la baja permeabilidad de la piel con la estabilidad de las estructuras lipídicas lamelares que rodean a los corneocitos en el estrato córneo. La relevancia de esta observación radica en que explica por qué formulaciones con composiciones diferentes pueden generar respuestas distintas aun cuando contienen el mismo principio activo. En consecuencia, el interés actual ya no se centra únicamente en seleccionar moléculas activas con propiedades adecuadas para la permeación, sino en desarrollar verdaderos sistemas de liberación y entrega de principios activos

diseñados con aditivos y/o estructuras capaces de interactuar temporalmente con los componentes de la barrera cutánea para favorecer el transporte de compuestos terapéuticos. La tabla 1 permite observar de manera somera los principales enfoques empleados por algunos investigadores para explicar o promover la permeación cutánea.

Como resultado de esta evolución conceptual, han surgido estrategias a base de micro y nanoestructuras como liposomas, transfersomas, etosomas e invasomas, cuyo objetivo no es únicamente vehiculizar el fármaco, sino también modificar las condiciones que limitan su penetración. Por ello, comprender la organización estructural del estrato córneo resulta fundamental para interpretar los mecanismos que regulan la permeación cutánea y para justificar el desarrollo de sistemas avanzados de administración tópica.

Tabla 1. Comparación de los principales enfoques utilizados para explicar la permeación cutánea.

Autor	Propuesta principal	Aporte al conocimiento	Limitación	Referencia
Prausnitz y Langer	La permeación depende principalmente de propiedades fisicoquímicas del fármaco, como peso molecular, solubilidad y coeficiente de partición.	Establecieron criterios para identificar moléculas con potencial para administración tópica y transdérmica.	No explica las diferencias observadas entre formulaciones que contienen el mismo principio activo.	Prausnitz, M. R., & Langer, R. (2008). Transdermal drug delivery. <i>Nature Biotechnology</i> , 26(11), 1261–1268. https://doi.org/10.1038/nbt.1504
Bouwstra et al.	La organización de los lípidos intercelulares del estrato córneo influye directamente en la permeabilidad cutánea.	Introdujeron la importancia de la barrera lipídica como factor determinante del transporte molecular.	No cuantifica completamente la contribución individual de cada componente lipídico sobre la permeación.	Bouwstra, J. A., Honeywell-Nguyen, P. L., Gooris, G. S., & Ponc, M. (2003). Structure of the skin barrier and its modulation by vesicular formulations. <i>Progress in Lipid Research</i> , 42(1), 1–36. https://doi.org/10.1016/S0163-7827(02)00028-0
Elias.	La disposición ordenada de corneocitos y lípidos extracelulares regula el paso de sustancias a través del estrato córneo.	Proporcionó una explicación estructural de la función de barrera de la piel.	Describe principalmente la organización de la barrera, pero no explica cómo distintas formulaciones modifican dicho comportamiento.	Elias, P. M. (2005). Stratum corneum defensive functions: An integrated view. <i>Journal of Investigative Dermatology</i> , 125(2), 183–200. https://doi.org/10.1111/j.0022-202X.2005.23668.x

Bakhrushina et al.	La resistencia al transporte molecular se relaciona con la estabilidad de las estructuras lamelares del estrato córneo.	Vincula la permeabilidad cutánea con la estabilidad estructural de la matriz lipídica.	Se enfoca en la barrera cutánea, sin abordar completamente el efecto de los sistemas de liberación sobre dicha estructura.	Bakhrushina, E. O., Shumkova, M. M., Avdonina, Y. V., Ananian, A. A., Babazadeh, M., Pouya, G., Grikh, V. V., Zubareva, I. M., Kosenkova, S. I., Krasnyuk, I. I., Jr., & Krasnyuk, I. I. (2025). Transdermal drug delivery systems: Methods for enhancing skin permeability and their evaluation. <i>Pharmaceutics</i> , 17(7), 936. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17070936
---------------------------	---	--	--	--

Dermis

Para complementar la información que requiere un formulador que pretende diseñar sistemas de entrega de fármacos u otros compuestos, también es necesario comprender la estructura y composición de la capa subyacente a la epidermis: la dermis.

La dermis se localiza por debajo de la epidermis (Fig. 1) y constituye una capa de tejido conectivo que proporciona soporte mecánico y nutricional a la piel. Está compuesta principalmente por fibras de colágeno y elastina inmersas en una matriz extracelular, además de contener vasos sanguíneos y linfáticos, terminaciones nerviosas, folículos pilosos y glándulas cutáneas. Estas estructuras participan en funciones relacionadas con la termorregulación, la sensibilidad y el mantenimiento de la integridad del tejido cutáneo.

Desde la perspectiva farmacéutica, la dermis adquiere especial relevancia porque constituye una de las principales regiones en las que numerosos principios activos ejercen su efecto terapéutico tras atravesar el estrato córneo y la epidermis. La presencia de una red vascular favorece la distribución local de sustancias y, en algunos casos, puede contribuir a su absorción sistémica. Por ello, la eficacia de una formulación tópica no depende únicamente de su capacidad para atravesar la barrera cutánea, sino también de alcanzar concentraciones adecuadas en esta región del tejido. Esta característica resulta particularmente importante en el tratamiento de infecciones cutáneas bacterianas.

En diversos procesos infecciosos, los microorganismos pueden extenderse más allá de la superficie de la piel y afectar la dermis o los tejidos adyacentes. Cuando esto ocurre, la deposición superficial del fármaco puede no ser suficiente para generar una respuesta terapéutica adecuada, por lo que se requiere favorecer su penetración y permanencia en el sitio de infección.

Estas limitaciones han impulsado el desarrollo de sistemas de administración capaces de aumentar la retención local de principios activos en la piel. El objetivo de estas estrategias es favorecer la acumulación del fármaco en el tejido afectado y prolongar su tiempo de residencia, minimizando, al mismo tiempo, la necesidad de exposición sistémica. Este enfoque ha despertado un interés creciente en el empleo de nanosistemas diseñados para optimizar la distribución localizada de compuestos terapéuticos.

La dermis participa de manera importante en la distribución y permanencia de los principios activos en la piel; sin embargo, por debajo de ella se encuentra la hipodermis, una región con características estructurales y fisiológicas diferentes que también puede influir en determinados procesos de administración cutánea y transdérmica.

Hipodermis

La hipodermis, también conocida como tejido subcutáneo, constituye la capa más profunda de la piel y está formada principalmente por adipocitos agrupados en lóbulos de tejido adiposo separados por tabiques de tejido conectivo. Además de funcionar como reserva energética, esta capa participa en el aislamiento térmico, la amortiguación de impactos mecánicos y la protección de estructuras subyacentes como músculos, vasos sanguíneos y nervios.

La composición de la hipodermis puede variar según factores como la edad, el sexo, el estado nutricional y la región anatómica. Debido a su elevada proporción de tejido adiposo, esta capa presenta propiedades distintas a las observadas en la epidermis y la dermis, en particular en la distribución y acumulación de compuestos lipofílicos.

Desde la perspectiva farmacéutica, la hipodermis adquiere relevancia en aquellos sistemas diseñados para favorecer la absorción sistémica de principios activos. Una vez que el fármaco atraviesa la epidermis y la dermis, puede alcanzar esta región y, posteriormente, acceder a la circulación sanguínea a través de la extensa red vascular de los tejidos subyacentes. Por esta razón, la hipodermis suele considerarse el límite anatómico que deben superar numerosas formulaciones transdérmicas.

A diferencia de los sistemas destinados al tratamiento localizado de infecciones cutáneas, cuyo objetivo suele centrarse en la epidermis o la dermis, los sistemas transdérmicos buscan que el principio activo alcance regiones más profundas para favorecer su absorción sistémica. Esta diferencia pone de manifiesto que la profundidad de penetración requerida depende tanto del objetivo terapéutico como de las características de la formulación empleada.

El conocimiento de las características anatómicas y funcionales de las distintas capas de la piel permite comprender los factores que condicionan la administración cutánea de fármacos. A partir de estas consideraciones, resulta necesario analizar las principales rutas por las que los principios activos pueden atravesar la barrera cutánea y alcanzar su sitio de acción.

2.1.1 Vías de penetración cutánea

La permeación cutánea de fármacos y otros xenobióticos puede ocurrir a través de tres rutas principales: transcelular, intercelular y transanexial (Fig. 3); existiendo también en la actualidad opciones mecánicas representadas por el uso de distintos dispositivos médicos. Aunque todas contribuyen al transporte de moléculas a través de la piel, su participación relativa depende tanto de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, como el peso molecular, la lipofilia, la solubilidad y el coeficiente de partición, así como de características propias del paciente como su edad, el sitio y la integridad de la barrera cutánea. De igual forma, influye el espesor del estrato córneo, la organización de los lípidos intercelulares, el grado de hidratación y la presencia de anexos cutáneos como folículos pilosos y glándulas sudoríparas.

La vía transcelular implica el paso directo del fármaco a través de los corneocitos que conforman el estrato córneo. Durante este proceso, las moléculas deben atravesar de manera alternada dominios hidrofílicos presentes en el interior de las células y dominios lipofílicos asociados a las membranas celulares. Esta alternancia genera una resistencia significativa al transporte molecular, ya que pocas moléculas poseen características fisicoquímicas que les permitan difundir eficientemente a través de ambos entornos. Como consecuencia, la contribución de esta ruta suele ser limitada y se considera menos relevante para la mayoría de los sistemas de administración cutánea. No obstante, algunos compuestos de bajo peso molecular y propiedades anfífilas pueden aprovechar esta vía para atravesar parcialmente la barrera cutánea (Prausnitz & Langer, 2008)

La vía intercelular es considerada la principal ruta de penetración cutánea para la mayoría de los fármacos y sistemas de administración tópica. En este mecanismo, la difusión ocurre a través de la matriz lipídica que rodea a los corneocitos, formada principalmente por ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres. Debido a que las moléculas deben desplazarse a través de un recorrido sinuoso entre las células, la organización y estabilidad de los lípidos intercelulares desempeñan un papel determinante en la permeación cutánea. Por esta razón, numerosas estrategias farmacéuticas buscan interactuar con esta región de la barrera cutánea mediante potenciadores químicos, vesículas deformables y otros nanosistemas capaces de modificar temporalmente el empaquetamiento lipídico. Este enfoque resulta especialmente relevante para los invasomas, cuyos componentes pueden favorecer la difusión de principios activos a través de esta ruta sin comprometer permanentemente la integridad de la piel.

La vía transanexial comprende el transporte de moléculas a través de estructuras anexas de la piel, principalmente folículos pilosos y glándulas sudoríparas. Aunque estas estructuras representan una proporción relativamente pequeña de la superficie cutánea total, pueden actuar como rutas alternativas para la penetración de principios activos y como reservorios capaces de prolongar su permanencia en el tejido. Diversos estudios han demostrado que nanopartículas, sistemas

vesiculares y otras formulaciones nanoestructuradas pueden acumularse en los folículos pilosos, favoreciendo la liberación localizada del principio activo y aumentando su tiempo de residencia en la piel. Esta característica ha despertado interés en el desarrollo de sistemas dirigidos al tratamiento de enfermedades cutáneas localizadas y a la administración de compuestos que presentan dificultades para atravesar el estrato córneo por otras rutas.

La importancia relativa de cada ruta depende de la interacción entre el fármaco, la formulación y la barrera cutánea. No obstante, la vía intercelular es considerada la principal ruta de transporte para la mayoría de los sistemas destinados a mejorar la administración cutánea, debido a su estrecha relación con la organización lipídica del estrato córneo y con los mecanismos empleados por diversos potenciadores de permeación y nanosistemas farmacéuticos.

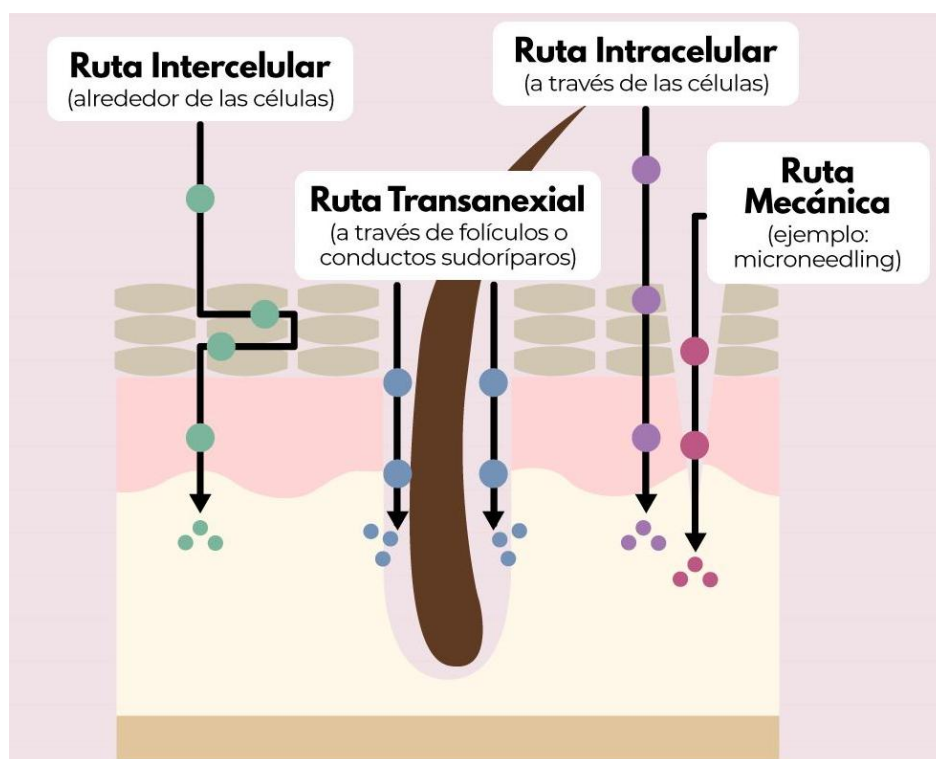


Figura 3. Representación esquemática de las principales rutas de penetración de sustancias a través de la piel. Tomada de: Cosmedic Peeling (2025).

2.2 Nanotecnología aplicada a la administración cutánea de fármacos

Las formulaciones convencionales utilizadas para la administración cutánea, como cremas, ungüentos y geles, permiten la aplicación localizada de principios activos y continúan siendo una de las estrategias terapéuticas más empleadas en el tratamiento de diversas afecciones dermatológicas. Sin embargo, tal y como ya se ha venido mencionando con anterioridad, la eficacia de estos sistemas puede verse limitada por la función barrera del estrato córneo, que restringe el transporte molecular hacia las capas más profundas del tejido cutáneo (Bakhrushina et al., 2025). Como consecuencia, numerosos principios activos presentan dificultades para alcanzar concentraciones terapéuticas adecuadas en el sitio de acción, lo que puede reducir la eficacia del tratamiento y requerir aplicaciones frecuentes o concentraciones elevadas del fármaco.

Estas limitaciones han impulsado el desarrollo de nuevas estrategias farmacéuticas orientadas a mejorar la penetración, la retención y la distribución de principios activos en la piel. Entre ellas, la nanotecnología ha despertado un interés considerable por la posibilidad de diseñar sistemas capaces de interactuar de manera más eficiente con la barrera cutánea y de modificar el comportamiento de los fármacos en el sitio de aplicación. Variables como el tamaño de la nanopartícula y su carga superficial, la composición de la matriz transportadora y la capacidad de encapsulación influyen en la distribución del sistema en la piel, en la liberación del principio activo y en su permanencia en el sitio de aplicación. Si bien en muchos casos se atribuyen las mejoras observadas únicamente a la reducción del tamaño de partícula, ello constituye una simplificación excesiva, ya que factores como la actividad termodinámica del fármaco, la interacción entre la formulación y la barrera cutánea, así como la retención localizada del principio activo, también contribuyen al desempeño terapéutico de estos sistemas (Lunter, 2024).

Dentro de los nanosistemas empleados para la administración cutánea se encuentran: nanoemulsiones, nanopartículas lipídicas sólidas, transportadores lipídicos nanoestructurados, micelas poliméricas y sistemas vesiculares

deformables. Si bien todos persiguen el objetivo de optimizar la administración del principio activo, difieren considerablemente en los mecanismos empleados para lograrlo. Dumitriu Buzia et al. (2023) describen que las nanoemulsiones y las nanopartículas lipídicas favorecen principalmente la solubilización del fármaco y su liberación controlada, mientras que los sistemas vesiculares deformables incorporan estrategias dirigidas a interactuar con la barrera cutánea y favorecer el transporte molecular.

Esta diferencia es relevante porque no todos los nanosistemas han sido diseñados para superar las limitaciones del estrato córneo mediante los mismos mecanismos. Las nanopartículas lipídicas pueden favorecer la acumulación superficial y prolongar la liberación del principio activo; sin embargo, su capacidad para alcanzar capas más profundas depende de múltiples factores relacionados con la formulación. Los sistemas vesiculares deformables, por el contrario, fueron desarrollados específicamente para aumentar su interacción con la barrera cutánea y facilitar su transporte a través de sus regiones lipídicas. Los liposomas fueron los primeros sistemas vesiculares diseñados con dicha estrategia, teniendo, además, la capacidad de encapsular tanto compuestos hidrofílicos como lipofílicos. (Karthikeyan y Sivaneswari, 2025).

No obstante, la rigidez estructural de los liposomas limita su capacidad de penetrar en el estrato córneo, lo que, en muchos casos, favorece la acumulación superficial del principio activo. Esta limitación impulsó el desarrollo de sistemas vesiculares más avanzados, como transfersomas, etosomas e invasomas, diseñados para aumentar la deformabilidad vesicular y optimizar la interacción con la barrera cutánea.

La presencia de una estructura vesicular basada en fosfolípidos es un elemento común en estos sistemas. Sin embargo, cada uno emplea estrategias distintas para favorecer la permeación. Los transfersomas incorporan agentes flexibilizantes que aumentan la elasticidad de la bicapa vesicular; los etosomas emplean etanol para modificar tanto la estructura vesicular como la organización lipídica del estrato

córneo; mientras que los invasomas combinan etanol y terpenos, incorporando con ello un mecanismo adicional de interacción con la barrera cutánea (Nangare y Dugam, 2020). Estas diferencias explican el interés que han despertado los sistemas vesiculares deformables en formulaciones destinadas a mejorar la administración localizada de principios activos sin comprometer de forma permanente la integridad fisiológica de la piel.

2.3 Invasomas como sistemas vesiculares avanzados para la permeación cutánea

Los invasomas constituyen una estrategia desarrollada para mejorar la administración cutánea de fármacos mediante la combinación de componentes capaces de interactuar tanto con la vesícula transportadora como con la barrera cutánea. Nangare y Dugam (2020) describen estos sistemas como vesículas compuestas principalmente por fosfolípidos, etanol y terpenos, cuya acción conjunta favorece la permeación de principios activos a través de la piel.

La contribución de cada componente responde a mecanismos distintos pero complementarios. El etanol puede incorporarse a la bicapa fosfolipídica y modificar su organización molecular, lo que incrementa la flexibilidad de la vesícula. Al mismo tiempo, interactúa con los lípidos del estrato córneo, favoreciendo cambios transitorios en su organización y reduciendo la resistencia al transporte molecular (Dumitriu Buzia et al., 2023).

Por su parte, los terpenos actúan como potenciadores químicos de la permeación. Nangare y Dugam (2020) describen que estos compuestos pueden insertarse entre las cadenas hidrocarbonadas de ceramidas, colesterol y ácidos grasos libres presentes en la matriz lipídica intercelular. Como consecuencia, disminuye temporalmente el ordenamiento de estas estructuras y aumenta la movilidad molecular dentro de la barrera cutánea.

La capacidad de los invasomas para favorecer la permeación no puede atribuirse exclusivamente a la presencia de etanol o de los terpenos. Factores como el tamaño vesicular, la estabilidad coloidal, la composición de la bicapa y las características

fisicoquímicas del principio activo también influyen en el desempeño del sistema. Esta interacción entre múltiples variables explica por qué la eficacia de los invasomas depende tanto de su composición como de las condiciones de formulación empleadas.

Bakhrushina et al. (2025) señalan que la baja permeabilidad cutánea está estrechamente relacionada con la estabilidad estructural del estrato córneo. En consecuencia, el interés por los invasomas se relaciona con su capacidad de modificar temporalmente esta barrera sin alterar permanentemente su función fisiológica. Esta propiedad ha favorecido su estudio como sistema de administración de principios activos destinados al tratamiento de afecciones cutáneas.

2.4 Infecciones cutáneas bacterianas y desafíos terapéuticos actuales

Las infecciones cutáneas bacterianas y de tejidos blandos constituyen un problema clínico frecuente y representan una causa importante de atención médica tanto en el ámbito ambulatorio como en el hospitalario. Estas infecciones abarcan un amplio espectro de manifestaciones clínicas, desde procesos superficiales como el impétigo y la foliculitis hasta cuadros más complejos como abscesos, celulitis e infecciones de heridas quirúrgicas. La gravedad de la enfermedad depende de factores como el microorganismo involucrado, la profundidad del tejido afectado, la extensión de la infección y las condiciones clínicas del paciente.

Entre los principales agentes etiológicos asociados a estas infecciones destacan las bacterias Gram positivas, en particular *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pyogenes*. Dentro de este grupo, *S. aureus* es uno de los patógenos de mayor relevancia clínica por su capacidad de causar desde infecciones localizadas hasta procesos invasivos. A ello se suma la aparición y diseminación de cepas resistentes a la meticilina (MRSA), fenómeno que ha incrementado la complejidad del tratamiento al reducir la eficacia de diversas opciones terapéuticas convencionales (Linz et al., 2023).

Esta situación forma parte de un problema más amplio relacionado con la resistencia antimicrobiana. Murray et al. (2022) reportaron que la resistencia bacteriana se asocia con millones de muertes a nivel mundial, consolidándose como una de las principales amenazas para la salud pública. En el caso específico de las infecciones cutáneas bacterianas, la elevada frecuencia de microorganismos resistentes ha impulsado la búsqueda de estrategias terapéuticas capaces de controlar la infección sin ejercer una presión selectiva innecesaria sobre las poblaciones bacterianas.

La elección del tratamiento depende de la severidad y la localización anatómica de la infección. En cuadros extensos o complicados, la administración sistémica de antimicrobianos suele ser necesaria para alcanzar concentraciones terapéuticas adecuadas en el sitio afectado. Sin embargo, en infecciones localizadas o superficiales, este enfoque puede no representar siempre la alternativa más conveniente debido al riesgo de efectos adversos sistémicos, a las interacciones farmacológicas y al impacto que el uso prolongado de antibióticos puede ejercer sobre la selección de resistencia bacteriana.

La administración tópica de antimicrobianos continúa siendo una estrategia de gran interés, ya que permite dirigir el principio activo directamente hacia el sitio de infección, incrementar la concentración local y reducir la exposición sistémica innecesaria. No obstante, la eficacia de este enfoque se encuentra limitada por la función barrera del estrato córneo, cuya organización altamente compacta restringe la penetración de numerosos principios activos, especialmente cuando el proceso infeccioso compromete capas más profundas del tejido cutáneo (Bakhrushina et al., 2025).

Las limitaciones asociadas a la permeación cutánea han impulsado el desarrollo de sistemas de administración capaces de mejorar la penetración y la retención local de antimicrobianos. En este contexto, los nanosistemas farmacéuticos han surgido como una alternativa prometedora para optimizar la administración localizada de principios activos y favorecer su acumulación en el sitio de acción, contribuyendo

potencialmente a mejorar la eficacia terapéutica en infecciones cutáneas bacterianas.

2.5 Uso de linezolid en sistemas invasomales para administración cutánea

Dentro del tratamiento de infecciones cutáneas bacterianas, particularmente aquellas asociadas con microorganismos Gram positivos resistentes, la selección del agente antimicrobiano constituye un aspecto crítico para el éxito terapéutico. En este contexto, la linezolid ha adquirido relevancia clínica debido a su actividad frente a patógenos de importancia médica, incluyendo *Staphylococcus aureus* resistente a la meticilina (MRSA), *Streptococcus spp.* y *Enterococcus spp.*, microorganismos frecuentemente implicados en infecciones cutáneas y de tejidos blandos.

La linezolid es un antimicrobiano sintético perteneciente a la familia de las oxazolidinonas, cuyo mecanismo de acción se basa en la inhibición de la síntesis proteica bacteriana. A nivel molecular, actúa mediante su unión al ARN ribosomal 23S de la subunidad 50S, interfiriendo con la formación del complejo de iniciación 70S necesario para la traducción bacteriana. Este mecanismo resulta particularmente relevante, ya que difiere del de otros antibióticos convencionales, lo que contribuye a mantener su actividad frente a cepas bacterianas resistentes a múltiples agentes antimicrobianos (Hashemian et al., 2018).

La linezolid también presenta otras ventajas importantes, como la elevada biodisponibilidad oral y la eficacia demostrada frente a infecciones causadas por bacterias Gram positivas resistentes. Sin embargo, su administración se realiza predominantemente por vía sistémica, ya sea oral o intravenosa, lo que puede asociarse con efectos adversos significativos cuando se requiere un tratamiento prolongado. Entre las reacciones adversas reportadas se incluyen mielosupresión, neuropatía periférica, neuropatía óptica y riesgo de síndrome serotoninérgico, aspectos que limitan su uso en determinados escenarios clínicos y justifican la exploración de estrategias de administración alternativas.

En infecciones cutáneas localizadas, una aproximación terapéutica orientada a la administración tópica podría ofrecer ventajas relevantes al permitir una mayor concentración local del antimicrobiano en el sitio de infección, reducir la exposición sistémica y potencialmente disminuir la incidencia de efectos adversos asociados al tratamiento convencional. No obstante, la eficacia de esta estrategia depende de la capacidad del principio activo para atravesar la barrera cutánea y alcanzar concentraciones terapéuticas adecuadas en el tejido afectado.

Las propiedades fisicoquímicas de la linezolid favorecen su incorporación en sistemas nanoestructurados destinados a la administración cutánea. Su peso molecular relativamente moderado (~ 337.35 g/mol) y su solubilidad permiten considerar su inclusión en sistemas vesiculares capaces de optimizar su distribución en la piel. No obstante, la barrera impuesta por el estrato córneo continúa representando un desafío para la difusión pasiva del fármaco, especialmente cuando se requiere alcanzar concentraciones terapéuticas en regiones más profundas del tejido.

Las características de los invasomas los convierten en una alternativa atractiva para la administración cutánea de linezolid. La combinación de fosfolípidos, etanol y terpenos permite encapsular el antimicrobiano e interactuar con la barrera cutánea para favorecer su penetración y permanencia en el tejido. A diferencia de las formulaciones convencionales, estos sistemas combinan deformabilidad vesicular y potenciación química de la permeabilidad, características que pueden contribuir a mejorar la distribución localizada del fármaco.

Capítulo 3. Objetivos

A. Objetivo general

Caracterizar la eficiencia de carga, el mecanismo de liberación y la cinética de liberación *in vitro* de la linezolida desde sistemas invasomales, con el fin de evaluar su potencial como sistema de administración farmacéutica de liberación controlada.

B. Objetivos específicos

- Optimizar la formulación de invasomas con linezolida utilizando dos métodos de encapsulación distintos
- Determinar y comparar la eficiencia de encapsulación (EE%) de la linezolida en ambas formulaciones.
- Comparar los perfiles de liberación *in vitro* y la cinética de liberación entre ambas formulaciones.

Capítulo 4. Materiales y Métodos

A. Materiales

Se utilizó lecitina de huevo [L- α -fosfatidilcolina de grado microbiológico (Sigma-Aldrich®, EUA, código 44924)], con un contenido de fosfátidos (fracción insoluble en acetona) $\geq 95\%$, como componente principal de la fase lipídica. El terpeno utilizado en este proyecto fue limoneno ($\geq 93\%$, Sigma-Aldrich®, EUA, código W263303).

El alcohol etílico (96°, Grupo Médico S.A. de C.V., México) se utilizó como disolvente. Además, inicialmente se empleó una solución buffer de fosfato de pH 7.4 (Sigma-Aldrich®, EUA). Posteriormente, se utilizaron soluciones buffer de fosfato de pH 7 y de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N de pH 5.4, ambas preparadas conforme a los lineamientos establecidos en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM). Para esta última se utilizaron ácido acético y acetato de sodio trihidratado. Asimismo, para las pruebas de ruptura del sistema invasomal durante la recuperación de linezolida se emplearon distintos agentes: cloroformo para análisis (Merck®, CHCl₃, Art. 1/15854), diclorometano ENVISOLV® para análisis (Fluka® Analytical/Sigma-Aldrich®, código 34411, pureza mínima 99.8 %, estabilizado con amileno) y lauril sulfato de sodio proporcionado por el Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco, identificado con clave E002 y lote interno N060122011.

Para las pruebas de disolución-liberación se utilizó una membrana de diálisis Spectra/Por® 4 de celulosa regenerada estándar (RC), de la marca Repligen®, con un límite de corte de peso molecular (MWCO) de 12–14 kDa, ancho plano de 25 mm, diámetro aproximado de 16 mm y longitud de rollo de 30 m. Esta membrana se empleó para contener las muestras durante los estudios de liberación *in vitro* en un buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N, con pH 5.4. El agua empleada en la preparación de las soluciones fue agua purificada proporcionada por el Centro de Producción de Agua Xochimilco (CEPAX) de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco (México).

Equipos

El equipo empleado para la evaluación de las materias primas y el contenido de principio activo de las formulaciones invasomas mediante la determinación de la absorbancia incluyó un espectrofotómetro UV-Vis modelo UV-1201 (Shimadzu®, Japón).

Para la eliminación de disolventes y la formación de la película lipídica, como parte del proceso de obtención de los invasomas, se empleó un evaporador rotatorio (rotavapor) equipado con un sistema de control de velocidad y de vacío (HADCHENG®, China). Asimismo, se utilizó un baño ultrasonicador modelo 8853 (Cole-Parmer®, EUA) para favorecer la dispersión y la reducción del tamaño de partícula. El control de temperatura durante los procesos se llevó a cabo mediante un baño termostatzado modelo Alpha RA 12 (LAUDA®, Alemania), así como un baño de calentamiento (modelo HEM-01, 110 V/60 Hz, 1.5 kW). Para la formación de las dispersiones de los invasomas también se utilizó un homogeneizador de alta velocidad Ultra-Turrax® T18 (IKA®, Alemania).

Para las etapas de separación y purificación se utilizaron una microcentrífuga refrigerada modelo Centrifuge 5427 R (Eppendorf,® Alemania) y una ultracentrífuga refrigerada (Beckman® Coulter, EUA). Para la eliminación de disolventes residuales y el secado de las muestras de invasomas se empleó un liofilizador tipo Vacuum Collector (Labconco®, EUA).

La caracterización del tamaño de partícula se realizó mediante un analizador de distribución de tamaño por difracción láser Partica LA-950V2 (HORIBA®, Japón). Todo el equipo fue operado conforme a los procedimientos establecidos en el Laboratorio de Farmacia Molecular y Liberación Controlada de la Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Para la caracterización complementaria del tamaño hidrodinámico, del índice de polidispersidad y del potencial zeta se utilizó un equipo de dispersión de luz dinámica (DLS) y de movilidad electroforética láser Doppler Zetasizer Nano (Malvern® Instruments, Reino Unido), ubicado en el Laboratorio 121 de Sistemas

de Liberación de Fármacos de la Facultad de Química de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). El análisis de tamaño hidrodinámico e índice de polidispersidad se realizó mediante dispersión dinámica de luz (DLS), mientras que el potencial zeta se determinó mediante movilidad electroforética.

Los perfiles de liberación *in vitro* de linezolida se realizaron en vasos enchaquetados conectados a un sistema de recirculación térmica. El medio receptor fue buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N pH 5.4, preparado conforme a la FEUM. La temperatura se mantuvo en 37 ± 0.5 °C y la agitación en 50 rpm, a fin de mantener condiciones térmicas controladas, cercanas al intervalo fisiológico cutáneo. Las muestras se colocaron en las membranas de diálisis y se tomaron alícuotas en los tiempos establecidos para su posterior cuantificación.

Los análisis de espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y de calorimetría diferencial de barrido (DSC) se realizaron en el Instituto de Investigaciones en Materiales de la Universidad Nacional Autónoma de México (IIM-UNAM). El análisis FTIR se llevó a cabo utilizando un espectrómetro Bruker Alpha II, equipado con un módulo ATR de diamante, empleando 64 barridos y una resolución de 2 cm^{-1} . El análisis de DSC se realizó mediante un calorímetro diferencial de barrido DSC 2910 de TA Instruments.

B. Métodos

Cuantificación de linezolida por espectrofotometría UV

La cuantificación de linezolida se realizó mediante espectrofotometría UV a 250 nm, utilizando un espectrofotómetro previamente calificado. La concentración del fármaco se determinó mediante una curva de calibración construida con soluciones estándar preparadas a concentraciones conocidas.

Validación parcial del método analítico de cuantificación

El método analítico empleado para la cuantificación de linezolida fue validado parcialmente conforme a parámetros analíticos de desempeño, incluyendo:

- Linealidad
- Precisión

- Exactitud

Linealidad

Se evaluó mediante la construcción de una curva de calibración con soluciones estándar preparadas a diferentes concentraciones dentro del intervalo analítico seleccionado. La linealidad se determinó mediante un análisis de regresión lineal, obteniéndose el coeficiente de correlación (R^2).

Precisión

La precisión del método se evaluó mediante la repetibilidad (precisión intraensayo), analizando réplicas independientes de concentraciones bajas, medias y altas dentro del intervalo analítico. Los resultados se expresaron como porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD).

Exactitud

La exactitud se determinó mediante la recuperación porcentual del analito en diferentes niveles de concentración (bajo, medio y alto), comparando los valores experimentales con los teóricos.

Preformulación

Se seleccionó la lecitina de soya como fosfolípido estructural y el D-limoneno como terpeno, de acuerdo con lo reportado para la formulación de sistemas invasomales por Nikhita y Ruty (2024). Se realizaron pruebas preliminares para establecer proporciones adecuadas de los componentes y las condiciones de formación de la película lipídica, así como la hidratación y la estabilidad de la dispersión. Asimismo, se definieron como variables críticas del proceso el tiempo de evaporación, la temperatura, la velocidad de homogeneización y el tiempo de procesamiento, con el fin de establecer condiciones reproducibles para la obtención del sistema.

Formulación de invasomas cargados con linezolida

Procedimiento. Para la preparación de la fase lipídica, se pesaron 600 mg de lecitina de soya y se disolvieron en metanol bajo agitación hasta obtener una solución homogénea. La dispersión se sometió a un baño ultrasónico durante 10 min y,

posteriormente, se filtró para eliminar impurezas. A la solución obtenida se añadieron 1.5 mL de D-limoneno y la mezcla se transfirió al rotavapor, donde se eliminó el disolvente a 80 °C, 60 rpm y bajo vacío controlado hasta formar una película lipídica uniforme adherida a la pared del matraz.

De manera paralela, se preparó la fase acuosa utilizando un buffer de fosfato a pH 7.4, etanol y linezolida, manteniendo la agitación continua hasta obtener una dispersión homogénea. Posteriormente, la fase acuosa se incorporó gradualmente sobre la película lipídica formada y el sistema se mantuvo en el rotavapor a 60 rpm durante 1 h 30 min, sin vacío, para favorecer la hidratación vesicular y la incorporación de ambas fases. Cuando fue necesario, se ajustaron las condiciones de hidratación para asegurar una incorporación homogénea del sistema.

La dispersión resultante se sometió a homogeneización mediante el ultrahomogeneizador a 14,000 rpm, aplicando tres ciclos con 1 min de agitación (ON) y 1 min de reposo (OFF), manteniendo el sistema en un baño de hielo durante el procedimiento para evitar el incremento de temperatura. Posteriormente, la dispersión se filtró para remover impurezas remanentes y se dejó en reposo durante 30 min. Antes de transferir el sistema a viales para su almacenamiento y previo a su caracterización, se realizó una filtración final. Sin embargo, también se evaluaron muestras sin esta filtración para observar si existía alguna diferencia en los resultados de la distribución del tamaño de la vesícula.

Purificación, identificación y caracterización

La purificación de los invasomas para eliminar los componentes residuales que no formaron vesículas se realizó con una membrana de diálisis previamente hidratada (6 cm × 2.5 cm) y en agitación a 50/100 rpm, a 4 °C durante 24 h.

Para identificar la linezolida cargada en el invasoma se utilizó un espectrómetro infrarrojo. Asimismo, se realizó un análisis calorimétrico para determinar el comportamiento térmico y la estabilidad de los invasomas seleccionados como óptimos en tres condiciones de temperatura de almacenamiento durante un mes. Por otro lado, para determinar el tamaño de las

vesículas se utilizó un equipo de difracción de luz láser, tanto estática (SLS) con el equipo de la marca Horiba® como dinámica (DLS) con el equipo de la marca Malvern®.

Determinación del tamaño de partícula

El tamaño de partícula de las formulaciones invasomales se determinó mediante difracción láser estática (SLS). Las muestras se dispersaron en agua destilada hasta alcanzar condiciones de transmitancia adecuadas para el análisis. Las mediciones se realizaron mediante una distribución basada en volumen y se registraron los parámetros D10, D50 y D90, representativos de la distribución acumulada del tamaño de partícula. Cada muestra fue analizada por triplicado para asegurar la reproducibilidad de los resultados.

De manera complementaria, el tamaño hidrodinámico promedio y el índice de polidispersidad (PDI) se determinaron mediante dispersión dinámica de luz (DLS) a 25 °C. Los resultados se expresaron como Z-average (nm), lo que permitió evaluar la homogeneidad del sistema coloidal.

Determinación del potencial zeta

El potencial zeta se determinó mediante electroforesis láser Doppler utilizando celdas capilares desechables adecuadas para este análisis. Las mediciones se realizaron a 25 °C, utilizando agua como medio dispersante. Cada formulación se analizó por triplicado y los resultados se expresaron en milivoltios (mV), como indicador de la estabilidad coloidal.

Cuantificación de linezólida liberada

La cuantificación de linezólida se realizó mediante espectrofotometría UV a 250 nm. Las absorbancias obtenidas con las muestras se interpolaron en la curva de calibración, de acuerdo con el método parcialmente validado.

Perfiles de liberación de linezólida

Los perfiles de liberación de linezolida se evaluaron en un recirculador con vasos enchaquetados a 37 ± 0.5 °C y agitación a 50 rpm con el fin de simular las condiciones de la piel (temperatura cutánea promedio de 32–37 °C).

Capítulo 5. Resultados

Curva de calibración y parámetros de la validación parcial del método analítico.

La curva de calibración construida en el intervalo de concentración de 5 a 20 µg/mL mostró una relación lineal entre la concentración del principio activo y la absorbancia. La ecuación de regresión lineal obtenida fue $y = 0.0559x + 0.004$, con un coeficiente de determinación (R^2) = 0.9999, lo que indica una alta correlación entre ambas variables en el intervalo evaluado.

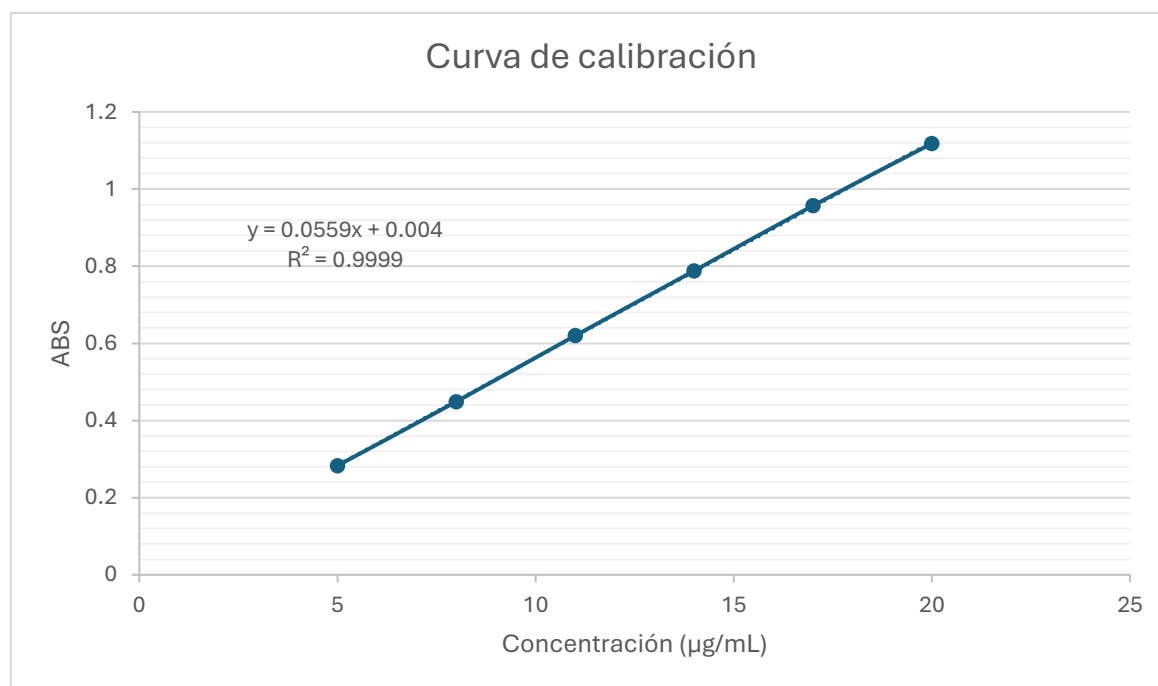


Figura 4. Curva de calibración obtenida para la cuantificación de linezolida mediante el método espectrofotométrico UV.

La Figura 4 muestra una distribución uniforme de los puntos experimentales a lo largo de la recta de regresión, sin desviaciones apreciables del comportamiento lineal. Conforme aumentó la concentración del principio activo, la absorbancia

incrementó de manera proporcional, con valores comprendidos entre 0.283 y 1.118 unidades de absorbancia.

Estos resultados muestran que el método fue adecuado para cuantificar el principio activo en las condiciones evaluadas, con una respuesta analítica consistente dentro del intervalo de trabajo establecido.

Parámetros de validación analítica

El análisis de linealidad (Tabla 2), mostró una relación proporcional entre la concentración del principio activo y la respuesta analítica dentro del intervalo evaluado, con una pendiente de 0.0560, una ordenada al origen de 0.0022 y un coeficiente de determinación (R^2) de 0.9999, lo que confirma un comportamiento lineal adecuado del método.

Tabla 2. Parámetros de linealidad (m: pendiente; b: intercepto al origen; R^2 : coeficiente de determinación) del método espectrofotométrico por UV utilizado para cuantificar linezolida.

Linealidad	
m	0.0560
b	0.0022
R^2	0.9999

La precisión del método (Tabla 3) presentó una desviación estándar de 5.77×10^{-5} y un coeficiente de variación (%CV) de 0.10 %, indicando baja variabilidad entre las mediciones realizadas y una adecuada reproducibilidad analítica.

Tabla 3. Parámetros de precisión del método analítico.

Precisión	
DE	5.77×10^{-5}
%CV	0.103036931

En la evaluación de exactitud (Tabla 4), los porcentajes de recuperación obtenidos para los niveles bajo (6.5 $\mu\text{g/mL}$), medio (12.5 $\mu\text{g/mL}$) y alto (18.5 $\mu\text{g/mL}$) fueron de 99.16 %, 100.58 % y 99.76 %, respectivamente. Los coeficientes de variación asociados se mantuvieron por debajo del 1 % en todos los niveles evaluados, lo que

refleja consistencia en la recuperación del principio activo a distintas concentraciones.

Tabla 4. Parámetros de exactitud del método espectrofotométrico por UV utilizado.

Exactitud				
Nivel	Concentración teórica µg/mL	Promedio de % Recuperación	DE	%CV
Bajo	6.5	99.1625864	0.63407342	0.63942808
Medio	12.5	100.582986	0.29720395	0.29548133
Alto	18.5	99.7636542	0.31010019	0.31083484

Estos resultados muestran que el método analítico presentó un desempeño adecuado en términos de linealidad, precisión y exactitud dentro del intervalo de concentración evaluado.

Tamaño de partícula de los invasomas

Los resultados del análisis del tamaño de partícula mostraron diferencias entre las formulaciones evaluadas según las condiciones empleadas en su preparación. En la mayoría de las muestras, los tamaños obtenidos se situaron entre 79.1 y 139.3 nm, aunque algunas formulaciones presentaron una distribución de tamaño mucho más amplia, lo que se reflejó en valores elevados de Span.

Las formulaciones preparadas a 14,000 rpm, con una profundidad de sonda de 2 cm y con etapa de filtración, presentaron los tamaños de partícula más bajos, en un intervalo aproximado de 80 a 93 nm. Además, los valores de Span inferiores a 1 indican una distribución de tamaños más uniforme entre las partículas obtenidas.

En contraste, algunas muestras procesadas sin filtración o bajo condiciones distintas presentaron tamaños cercanos a 122 nm, acompañados de valores de Span más altos, lo que refleja una mayor variabilidad en la distribución de tamaño.

En las formulaciones donde se incorporaron variables adicionales, como 1 % de terpeno, principio activo o centrifugación, también se observaron incrementos importantes en los valores de Span, alcanzando hasta 484.60, lo que indica una distribución menos homogénea.

Tabla 5. Tamaño de partícula y distribución de tamaño (span) de 15 formulaciones (F1 a F15) elaboradas con diferentes condiciones (homogeneización en rpm, sonicación (ciclos/min), con y sin filtración; adición del ingrediente farmacéutico activo (API) y terpeno para obtener invasomas.

Lote	Tamaño de partícula (nm)	Span (nm)	Condiciones de formulación
F1	122	10.56	12,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 5 cm y sin filtración
F2	82.7	1.76	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y sin filtración
F3	122.3	1.35	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 5 cm y sin filtración
F4	122.8	36.5	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 5 cm y sin filtración
F5	80.8	0.54	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F6	80.4	0.43	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F7	80.5	0.44	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F8	83.3	0.85	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F9	122.7	47.11	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 5 cm y con filtración
F10	93.1	0.74	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F11	82.5	51.58	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F12	139.3	1.02	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F13	83.1	0.68	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm y con filtración
F14	79.1	95.66	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm, filtración, 1% de terpeno y 10 mg de API
F15	80.1	484.60	14,000 rpm, 3 ciclos x 1 min, sonda 2 cm, filtración, 1% de terpeno, 10 mg de API y centrifugación

Por su parte, la tabla 5 permite comparar el tamaño de partícula entre las distintas formulaciones evaluadas, donde puede observarse que la mayoría de los sistemas se concentró en el intervalo de 80 a 120 nm, aunque algunas formulaciones mostraron incrementos notorios respecto al resto.

La figura 5 corresponde a la distribución de tamaño del lote F6, que presentó un tamaño promedio de 80.5 nm y un valor de Span de 0.43. En la gráfica se observa una población de partículas concentrada principalmente entre 80 y 90 nm, sin evidencia de poblaciones secundarias, lo que sugiere una distribución más uniforme.

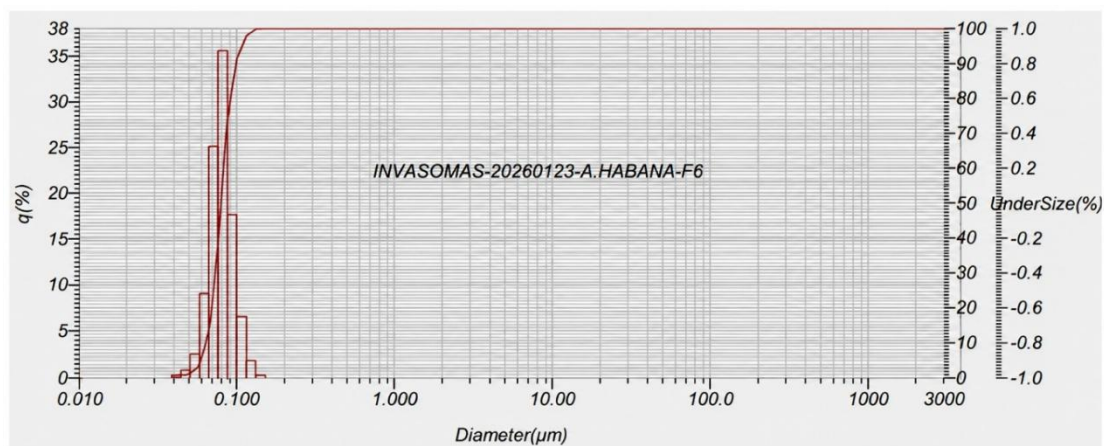


Figura 5. Distribución de tamaño de partícula de la muestra F6 de invasomas mostrando alta uniformidad.

La Figura 6 muestra la comparación del tamaño de partícula entre las distintas formulaciones de invasomas evaluadas. Se observa que la mayoría de las muestras presentaron tamaños entre 80 y 120 nm, mientras que algunas formulaciones alcanzaron valores superiores, como las muestras 1, 3, 4, 9 y 12. En contraste, las muestras 5, 6, 7, 11, 14 y 15 presentaron los tamaños más bajos, con valores cercanos a 80 nm. Estas diferencias reflejan la variabilidad observada en las condiciones de preparación aplicadas a cada formulación.

Una vez establecidas las condiciones de preparación de la formulación F6, ésta se reprodujo en tres réplicas independientes (F1, F2 y F3 de las tablas 6 y 7), con el propósito de evaluar la reproducibilidad del proceso. Las formulaciones obtenidas bajo estas condiciones fueron posteriormente empleadas en los estudios de caracterización y evaluación del sistema, manteniendo constantes los parámetros de formulación y procesamiento previamente establecidos para F6, excepto que se substituyó el metanol por etanol, como medio de disolución de la linezolida.

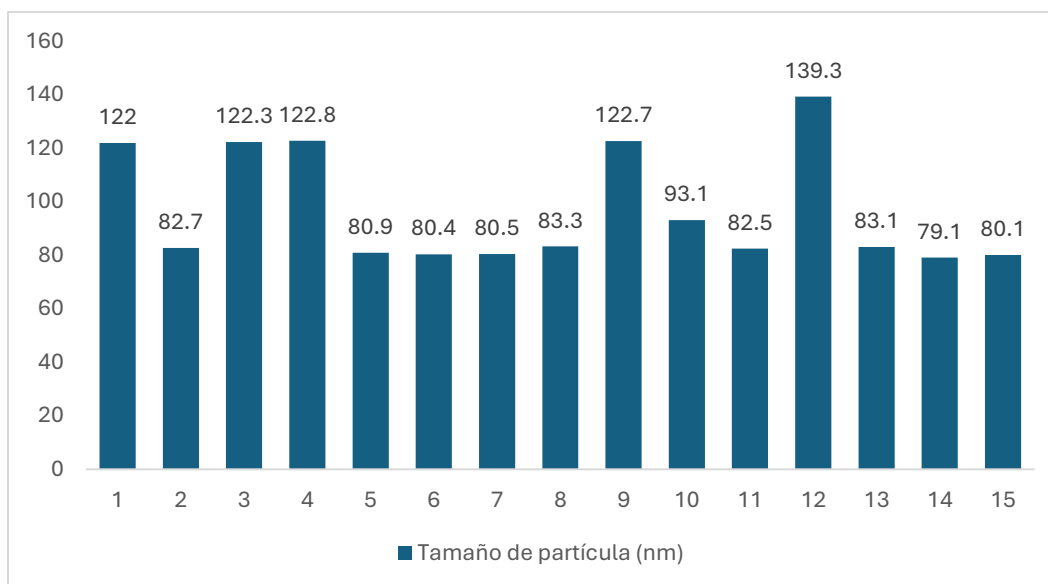


Figura 6. Tamaño de partícula (nm) de las diferentes muestras de invasomas, con variabilidad entre formulaciones y valores predominantemente en el intervalo de 80–120 nm.

Análisis del tamaño de partícula de los invasomas e índice de polidispersidad mediante dispersión dinámica de luz (DLS)

El análisis mediante dispersión dinámica de luz mostró diferencias en el tamaño de partícula entre la formulación placebo y las formulaciones cargadas con linezolida. La formulación placebo presentó un tamaño promedio de 184.1 nm y un índice de polidispersidad (PDI) de 0.140.

En las formulaciones con principio activo, los tamaños obtenidos fueron menores que en el sistema placebo, lo cual es un efecto semejante al incluir etanol en la formulación de etosomas; si bien ocurre lo contrario a lo observado en otros estudios con linezolida u otros fármacos cuando se incorporan terpenos y el fármaco a la estructura fosfolipídica vesicular. (Dragicevic-Curic et al., 2011; Sahu & Ram, 2018; Sailaja & Meghana, 2021). La formulación F1 presentó un tamaño promedio de 106.2 nm, mientras que F2 y F3 mostraron valores de 122.0 nm y 122.9 nm, respectivamente. Los valores de PDI obtenidos fueron 0.279 para F1, 0.375 para F2 y 0.242 para F3.

La tabla 5 muestra la distribución de tamaño correspondiente a las formulaciones evaluadas. En todos los casos se observó una población principal dentro del intervalo nanométrico; sin embargo, las formulaciones con linezolida presentaron distribuciones desplazadas hacia tamaños menores que la formulación placebo.

En términos de distribución, las formulaciones F1 y F3 presentaron valores de polidispersidad menores que los de F2, lo que indica una distribución de tamaño relativamente más uniforme en estas formulaciones.

Tabla 6. Caracterización de las dimensiones nanométricas mediante DLS de los invasomas obtenidos con la formulación placebo y tres formulaciones cargadas con linezolida.

Lote	Tamaño de partícula (nm)	PDI
<i>Placebo</i>	184.1	0.140
<i>F1</i>	106.2	0.279
<i>F2</i>	122	0.375
<i>F3</i>	122.9	0.242

Comparación del potencial zeta entre formulaciones de invasomas

Los valores de potencial zeta obtenidos para las formulaciones evaluadas se presentan en la Tabla 7. En la determinación inicial, la formulación placebo presentó un valor de -11.4 mV, mientras que las formulaciones cargadas con linezolida mostraron valores de -9.01 mV para F1, -17.6 mV para F2 y -13.5 mV para F3.

En la determinación final, todos los sistemas presentaron valores de potencial zeta negativos asociados a los fosfolípidos que constituyen el invasoma. La formulación placebo presentó -11.8 mV, mientras que F1, F2 y F3 mostraron valores de -10.7, -12.9 y -10.21 mV, respectivamente. Aunque se observaron variaciones entre ambas mediciones, los resultados se mantuvieron dentro de un intervalo cercano, lo que indica que las formulaciones conservaron una carga superficial negativa.

La formulación F2 presentó el valor más negativo en ambas determinaciones, aunque en la medición final la diferencia en valor respecto de las demás

formulaciones fue menor. Estos resultados sugieren que la baja carga superficial de los sistemas invasomales obtenidos no proporciona, por sí sola, la estabilidad electrostática necesaria para mantener los invasomas en estado coloidal mediante la repulsión de cargas; por lo tanto, se recomendaría, por ejemplo, realizar estudios para su liofilización.

Tabla 7. Comparación del potencial zeta de los invasomas obtenidos con la formulación placebo y con los cargados con linezolida.

Formulación	Potencial zeta (mV) inicial	Potencial zeta (mV) final
<i>Placebo</i>	-11.4	-11.8
<i>F1</i>	-9.01	-10.7
<i>F2</i>	-17.6	-12.9
<i>F3</i>	-13.5	-10.21

Comportamiento del tamaño de partícula bajo diferentes condiciones de temperatura de almacenamiento

Los resultados de la evaluación de la estabilidad a diferentes temperaturas durante un mes mostraron cambios en el tamaño de partícula de la formulación analizada, como se muestra en la Figura 8. En condiciones iniciales (a temperatura ambiente), el sistema presentó un tamaño promedio de 122 nm.

Después del almacenamiento a 12 °C, el tamaño de partícula incrementó hasta aproximadamente 12,400 nm. De manera similar, la muestra expuesta a 48 °C presentó un aumento hasta valores cercanos a 8,450 nm.

La Figura 7 muestra comparativamente el efecto de la temperatura sobre este parámetro, observándose un incremento marcado del tamaño de partícula en ambas condiciones respecto al valor inicial. El cambio más alto se registró en la muestra almacenada a 12 °C durante un mes, seguida de la formulación expuesta a 48 °C.

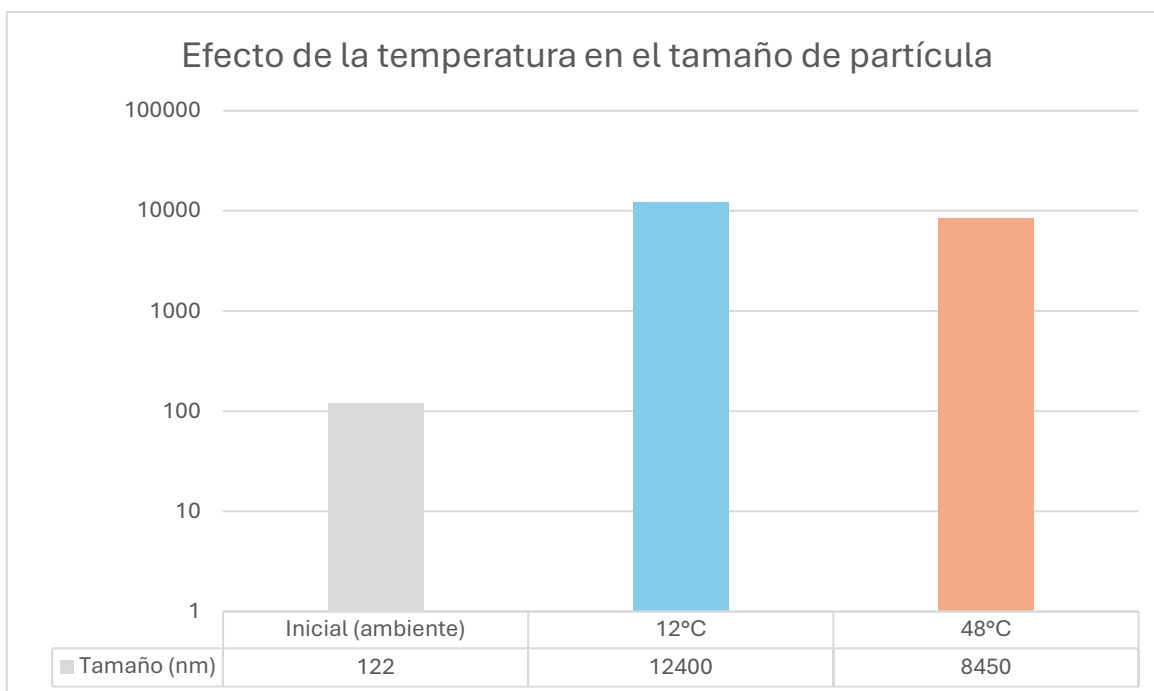


Figura 7. Efecto de diferentes condiciones de temperatura mantenidas durante un mes sobre el tamaño de partícula de la formulación seleccionada.

Respuesta de la linezolida y de los invasomas con y sin carga de fármaco a la radiación infrarroja (FTIR)

El análisis por espectroscopía infrarroja (FTIR) permitió comparar las características estructurales de la linezolida, de la formulación líquida coloidal de invasomas y de la muestra sometida a centrifugación y tratamiento térmico.

La tabla 8 muestra los intervalos o regiones de bandas de absorción de la energía infrarroja que caracterizan a la linezolida y que fueron presentadas (figura 8) por la materia prima utilizada en este proyecto, considerando que pueden existir variaciones en cada muestra que dependen de su organización física interna, ya que se ha notificado que este principio activo presenta polimorfismo (Brickner et al., 1996; Bergren, 2003; Rao et al., 2010).

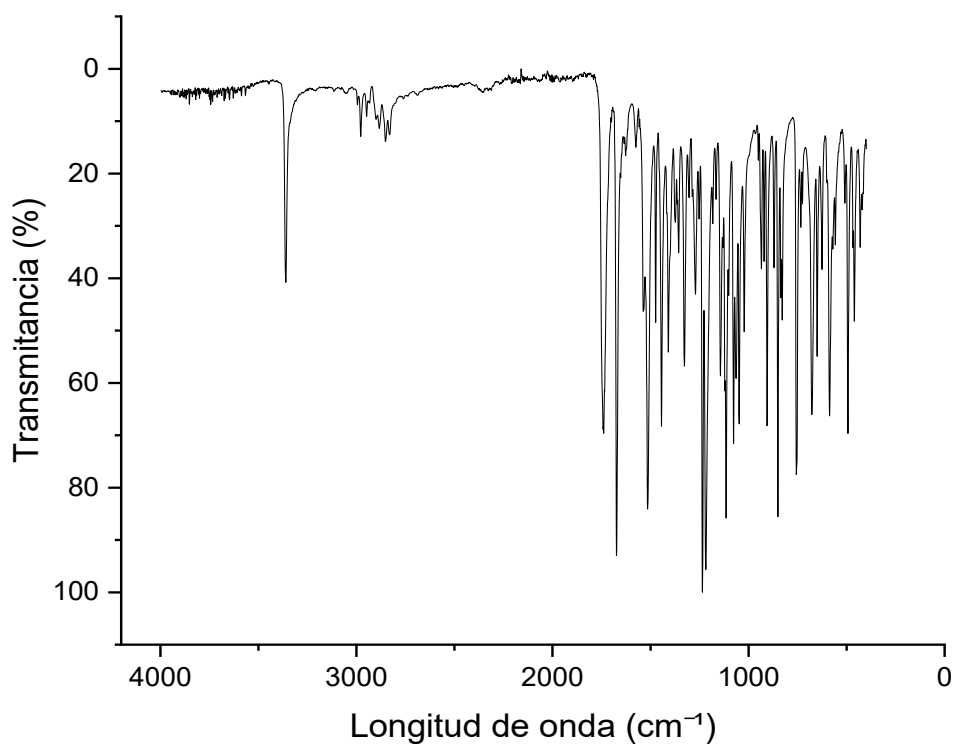


Figura 8. Espectro FTIR de la linezolid pura, que muestra las bandas características de los grupos funcionales presentes en su estructura química.

Tabla 8. Bandas características en el espectro FTIR de la linezolid pura.

Región o banda aproximada (cm ⁻¹)	Asignación vibracional	Interpretación
3200–3500	Estiramiento N–H/O–H	Asociado a grupos polares presentes en la estructura de la linezolid
1700–1600	Estiramiento C=O y vibraciones del anillo aromático	Señales características del grupo carbonilo y de la estructura aromática del fármaco
1500–1000	Vibraciones C–N, C–O y C–F	Región de huella digital asociada a la estructura molecular de la linezolid
900–700	Deformaciones fuera del plano de C–H aromático	Señales relacionadas con sustituciones del anillo aromático

La presencia de estas bandas confirma las señales características de la linezolida pura. En particular, la región de $1700\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$ permite reconocer grupos funcionales asociados al carbonilo, enlaces C–N, C–O y C–F, que sirven como referencia para comparar posteriormente los espectros de las formulaciones invasomales.

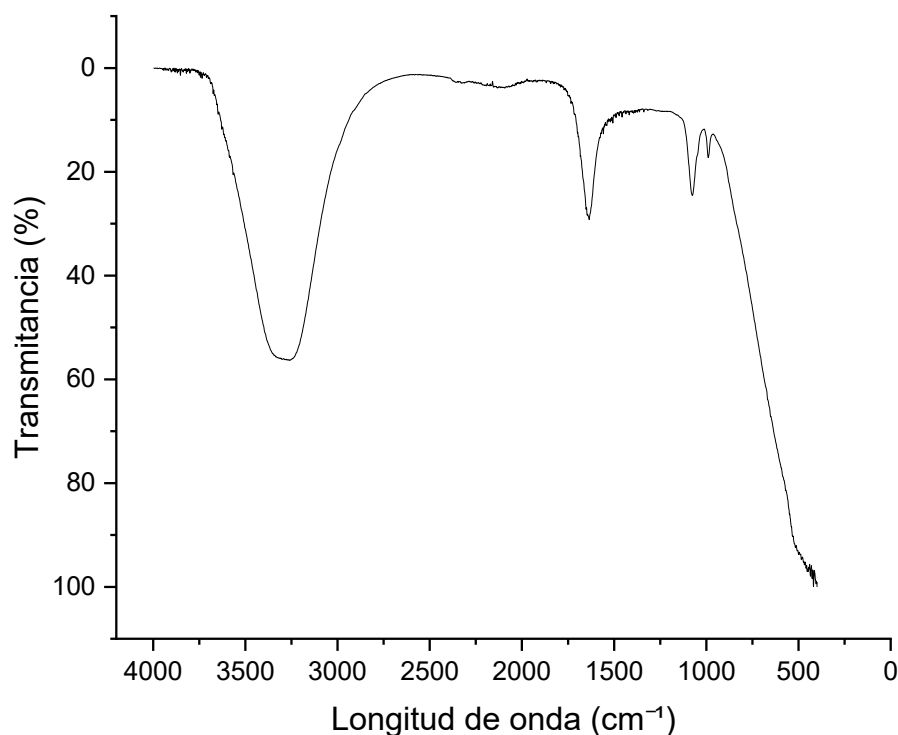


Figura 9. Espectro FTIR de la formulación de invasomas en estado líquido coloidal.

La figura y tabla 9, derivada de ella, presentan las bandas de absorción infrarrojas obtenidas con la formulación de invasomas en estado líquido. En este espectro se observó una banda ancha en la región de $3200\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$, atribuible a los grupos O–H del agua y del etanol presentes en el sistema. La presencia de señales en la región de $2920\text{--}2850\text{ cm}^{-1}$ puede atribuirse a las cadenas alifáticas de los fosfolípidos y del limoneno. Asimismo, las bandas observadas entre 1240 y 1080 cm^{-1} sugieren la presencia de grupos fosfato y de enlaces C–O característicos de

la matriz fosfolipídica. La menor resolución de algunas señales respecto a la linezólida pura puede asociarse con la cantidad relativamente baja del fármaco en el sistema vesicular y con la superposición de bandas entre los componentes de la formulación.

Tabla 9. Bandas características en el espectro FTIR de la formulación de los invasomas cargados con linezólida en estado líquido coloidal.

Región o banda aproximada (cm^{-1})	Asignación vibracional	Interpretación
3200–3500	Estiramiento O–H	Banda ancha asociada a la presencia de agua, etanol y posibles interacciones mediadas por puentes de hidrógeno.
2920–2850	Estiramiento C–H alifático	Relacionado con las cadenas hidrocarbonadas de los fosfolípidos y del componente terpénico.
1700–1600	Estiramiento C=O / C=C	Puede asociarse a grupos carbonilo de fosfolípidos y señales del limoneno o del fármaco incorporado.
1240–1080	Vibraciones P=O, P–O–C y C–O	Señales relacionadas con grupos fosfato de la fosfatidilcolina y enlaces C–O del sistema.
1000–500	Región de huella digital	Señales complejas atribuidas a la combinación de fosfolípidos, terpeno, etanol y linezólida.

En el espectro FTIR de la muestra tratada por centrifugación y temperatura (figura y tabla 10), se observaron cambios en la intensidad y la resolución de las bandas en comparación con la formulación líquida coloidal. Las modificaciones más evidentes se observaron en las regiones de 1240–1080 cm^{-1} y en la huella digital, lo que sugiere una reorganización de la matriz fosfolipídica tras la aplicación del tratamiento de estrés físico y térmico.

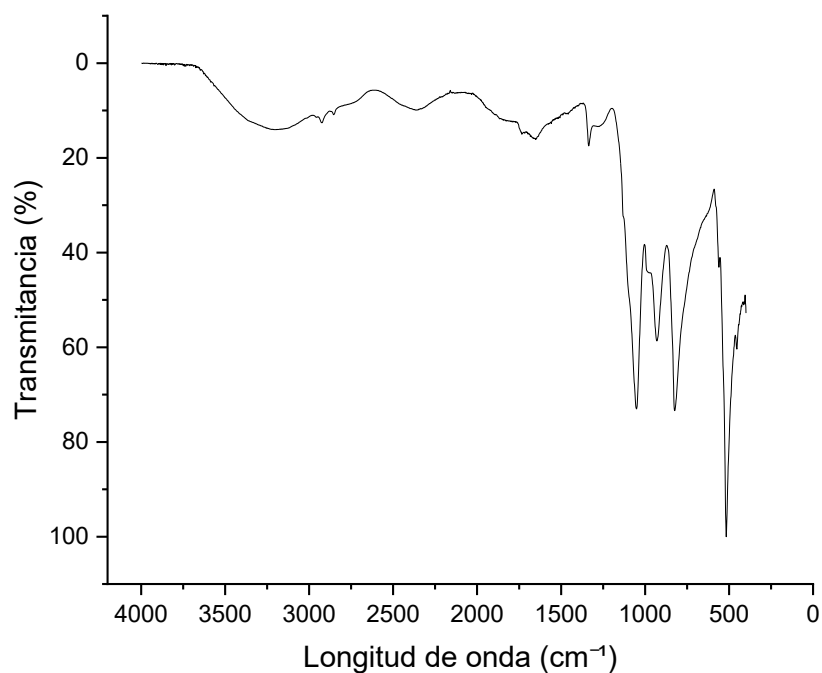


Figura 10. Espectro FTIR de la muestra de invasomas cargados con linezolidina tratada (centrifugación y temperatura).

Tabla 10. Bandas características del espectro FTIR de la muestra de invasomas cargados con linezolidina tratada por centrifugación y temperatura.

Región o banda aproximada (cm^{-1})	Asignación vibracional	Interpretación
3200–3500	Estiramiento O–H/N–H	Disminución o cambio en la banda ancha, asociado a la modificación de interacciones por puentes de hidrógeno
2920–2850	Estiramiento C–H alifático	Señales asociadas a cadenas lipídicas; cambios en su intensidad pueden indicar una reorganización de la matriz vesicular
1700–1600	Estiramiento C=O / C=C	Variaciones en esta región pueden asociarse con cambios en los grupos carbonilo, los fosfolípidos o los componentes terpénicos
1240–1080	Vibraciones P=O, P–O–C y C–O	Cambios en intensidad/definición sugieren alteraciones en grupos fosfato y en los enlaces asociados a la bicapa fosfolipídica
1000–500	Región de huella digital	Mayor modificación de señales, compatible con reorganización estructural o desestabilización del sistema.

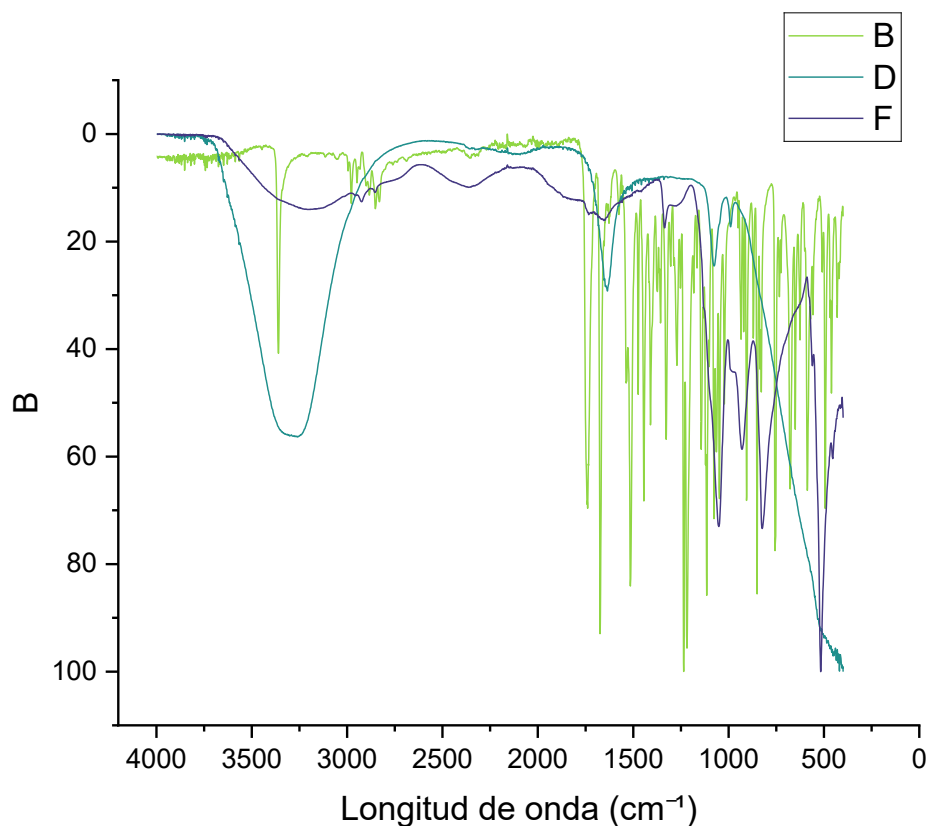


Figura 11. Comparación de los espectros FTIR de la linezolidina pura (B), la formulación de invasomas en estado líquido coloidal (D) y la muestra sometida a tratamiento de centrifugación y temperatura (F), mostrando cambios en la intensidad y la definición de las bandas asociados a la incorporación del fármaco y la interacción entre los componentes del sistema.

La figura 11 muestra la comparación de los espectros FTIR de la linezolidina pura (B), la formulación de invasomas en estado líquido coloidal (D) y la muestra sometida a tratamiento de centrifugación y de temperatura (F). La linezolidina pura presentó señales definidas, especialmente en la región de $1700\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$, que corresponden a los grupos funcionales característicos del fármaco. En la formulación líquida, estas señales aparecen atenuadas y superpuestas con bandas propias de los componentes del sistema, principalmente agua, etanol, fosfolípidos y limoneno. Este comportamiento sugiere que el fármaco no se encuentra como compuesto libre predominante, sino que posiblemente esté incorporado en estado amorfo, disuelto entre las cadenas hidrocarbonadas o interactúe con la matriz vesicular.

Comportamiento térmico de los invasomas por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Para analizar e inferir el efecto de los componentes del sistema invasomal sobre su estructura, además de los ensayos de FTIR, se evaluó el comportamiento térmico mediante DSC de los componentes individuales, del invasoma placebo y del invasoma cargado con linezolida.

En la figura 12 se muestra el comportamiento térmico del limoneno, que a temperatura ambiente se encuentra en estado líquido; por lo tanto, para su análisis, se incluyeron condiciones subambientales. El termograma del limoneno mostró una línea base relativamente estable a lo largo del intervalo de temperatura evaluado, sin picos endotérmicos ni exotérmicos definidos. Se observaron ligeras variaciones en la señal térmica a temperaturas elevadas, atribuibles a cambios físicos o a reorganizaciones de la red molecular del compuesto, así como una señal endotérmica ancha y poco definida desde 80 °C hasta 100 °C, correspondiente a la rápida volatilización del compuesto, que culmina en su ebullición entre 176 °C y 178 °C.

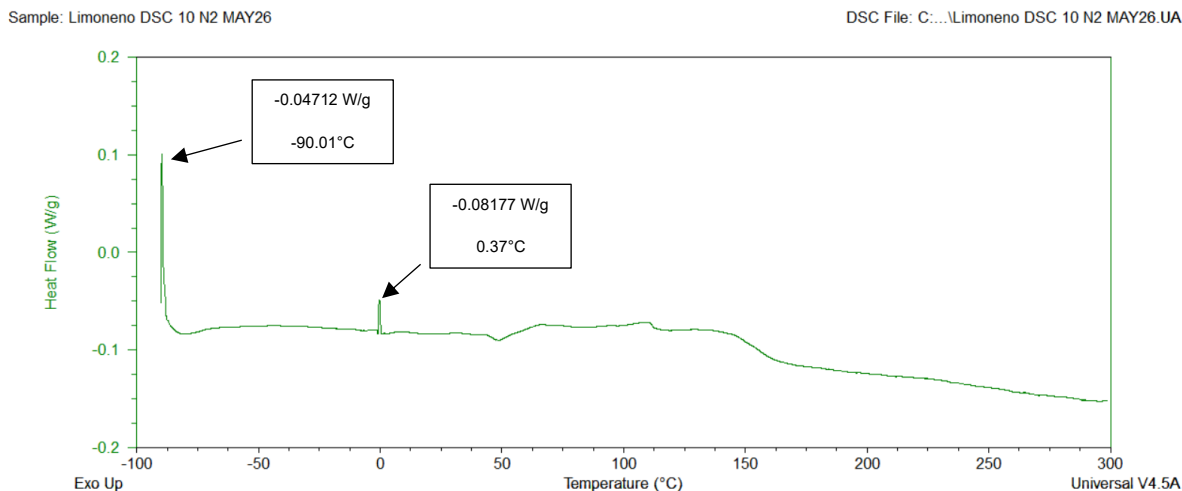


Figura 12. Comportamiento térmico del limoneno mediante DSC.

En cuanto a la linezolida, su análisis por DSC (figura 13) mostró un evento endotérmico intenso y bien definido alrededor de 178.86 °C, correspondiente a la transición de fusión del fármaco. La presencia de este pico indica la naturaleza

cristalina de la linezolida en estado puro. Adicionalmente, se pudo observar una transición endotérmica por arriba de 150° C, lo cual se asocia a una reorganización molecular previa a la fusión y que se observa en las formas polimórficas III y IV [WO Patent 2005/035530 (Teva); WO 2006/008754] y, particularmente, se asocia al comportamiento que presenta la forma II de linezolida, que puede exhibir una primera endoterma de fusión parcial a ~155°C, seguida inmediatamente de una recristalización exotérmica a aproximadamente 160°C (no observada en esta muestra) que transforma la linezolida en la Forma I, fundiendo finalmente alrededor de 181°C (Karagiannidou, E. G., et al., 2013) o a la forma II (US Patent 2006/0142283 A1).

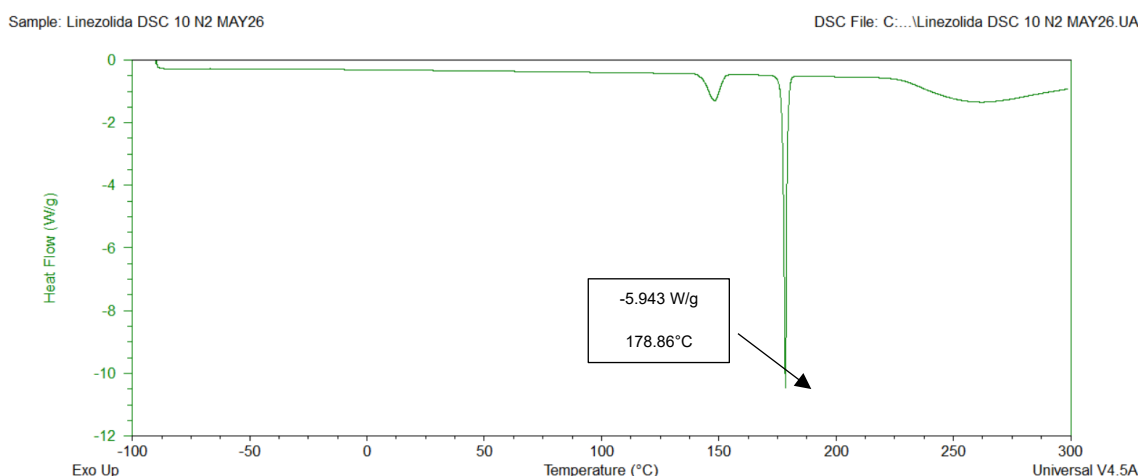


Figura 13. Termograma de DSC correspondiente a la linezolida.

El termograma de la lecitina (figura 14), al ser un material en estado de gel fluido o líquido-cristalino a temperatura ambiente, mostró una señal térmica amplia y de baja intensidad, con una deflexión prácticamente imperceptible respecto de la línea base en un amplio intervalo de temperatura, desde -75 °C hasta -15 °C, correspondiente a la transición vítrea de las zonas amorfas o agua no congelable entre las cabezas de fosfato. Otro evento observado es una transición de fase alrededor de los 40 °C, así como endotermas no pronunciadas alrededor de 75-80 °C y 105 °C, que algunos estudios lo atribuyen a la deshidratación (Crowe et al., 2006).

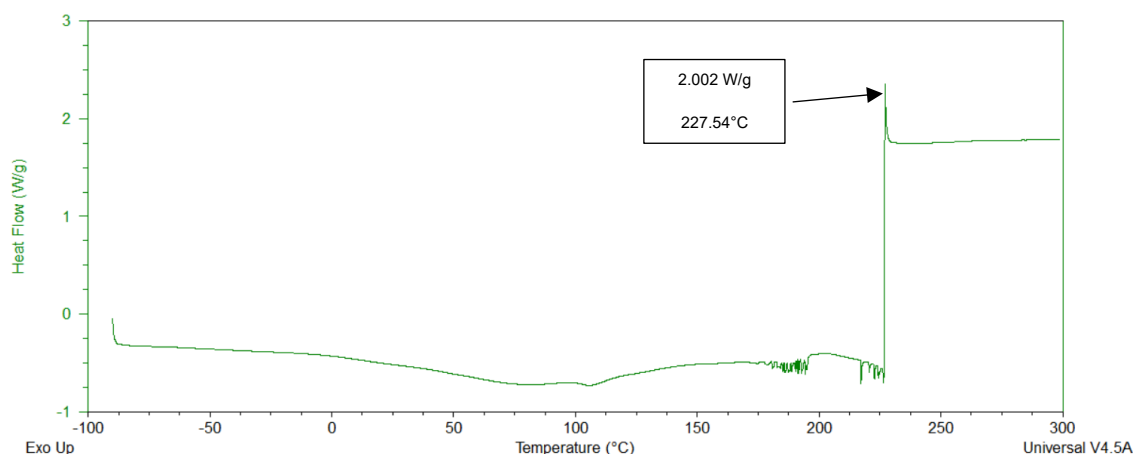


Figura 14. Termograma de DSC correspondiente a la lecitina de huevo.

El termograma del sistema invasomal placebo, mostrado en la figura 15, presentó diversos eventos térmicos desde las condiciones subambientales correspondientes a transiciones de fase atribuibles a las bicapas lipídicas, hasta la pérdida de etanol y agua, así como del limoneno.

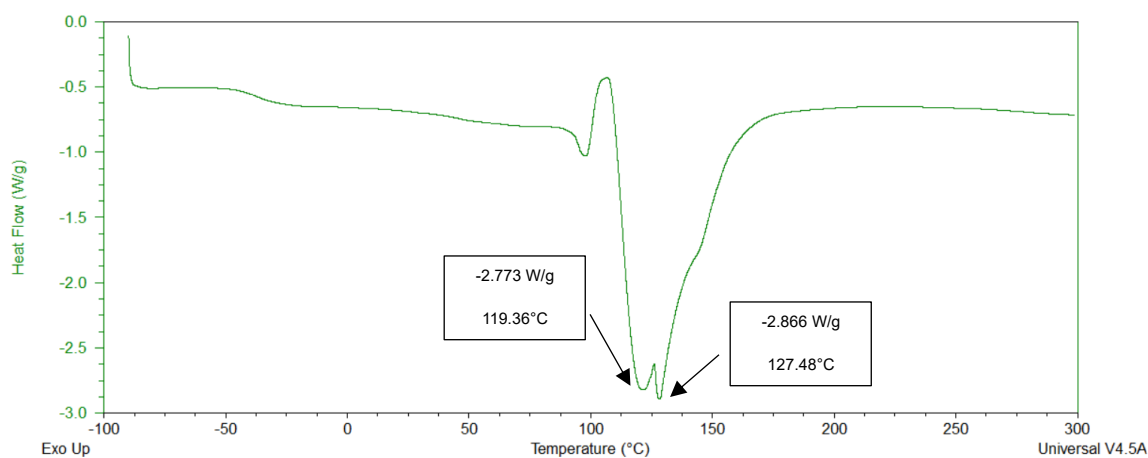


Figura 15. Termograma correspondiente al sistema invasomal placebo mediante DSC.

El termograma correspondiente al invasoma cargado con linezolid (figura 16) mostró modificaciones en el perfil térmico, principalmente en comparación con el placebo y con el fármaco puro.

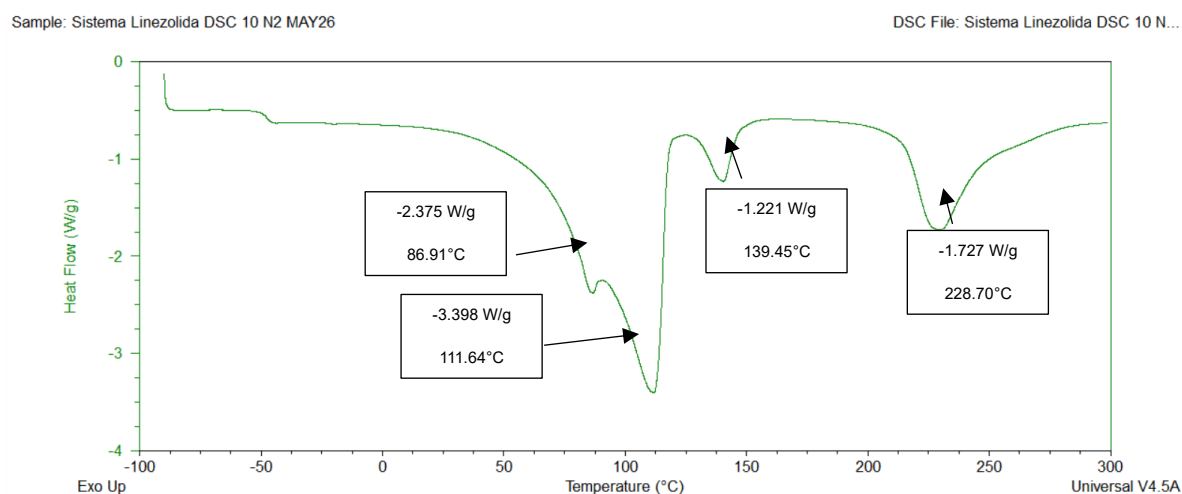


Figura 16. Termograma correspondiente al sistema invasomal cargado con linezolid obtenido mediante DSC.

Perfil de liberación de linezolid libre y desde el invasoma

Los resultados obtenidos al dispersar tanto el fármaco en polvo como los invasomas (figura 17) en un buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N, con pH 5.4 a $37 \text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, contenidos en una bolsa de membrana de diálisis, mostraron diferencias marcadas entre la linezolid libre y los invasomas cargados con fármaco. La linezolid libre presentó un perfil de disolución acumulada más rápido durante todo el periodo de evaluación, alcanzando un 91.60 % de fármaco disuelto a las 6 h. En contraste, los invasomas cargados con linezolid mostraron una liberación más gradual de esta, con un porcentaje acumulado de 35.04 % en el mismo periodo de estudio.

Durante la primera hora, el fármaco libre se disolvió en un 28.32 %, mientras que la formulación invasomal alcanzó el 9.46 %. Esta diferencia indica que, en general, el fármaco libre presentó un patrón de liberación rápida y progresiva, mientras que al incorporarse la linezolid en los invasomas, esta queda atrapada o dispersa a nivel

molecular entre las cadenas hidrocarbonadas o en la bicapa del invasoma, requiriéndose que el medio disolvente penetre en la bicapa invasomal para que el fármaco se disuelva en el medio y difunda a través de la bicapa o que esta última se erosione para posibilitar el contacto del disolvente con el fármaco y este inicie su difusión al medio receptor.

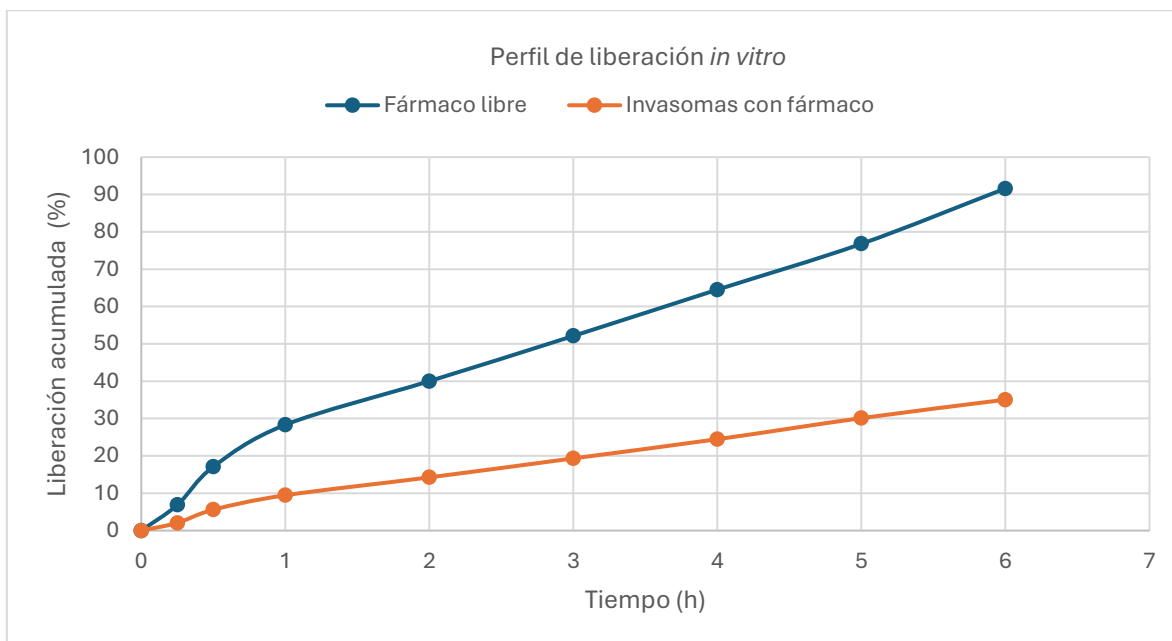


Figura 17. Perfil de disolución-liberación *in vitro* de linezólida libre y de invasomas cargados con el fármaco, en buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N, con pH 5.4 a 37 °C $\pm$ 0.5 °C

Con los datos de disolución-liberación de la linezólida, se realizaron cálculos con diferentes modelos cinéticos para identificar el modelo de mejor ajuste que describa el comportamiento de disolución de la linezólida libre y su liberación desde los invasomas cargados (Tablas 11 y 12, respectivamente). En ambos casos, el modelo de Korsmeyer-Peppas presentó los mejores parámetros de bondad de ajuste, lo que sugiere que la liberación no se explica únicamente por una cinética simple, sino por un proceso influido por las características del sistema de liberación.

Tabla 11. Parámetros de los modelos cinéticos aplicados a la disolución *in vitro* de linezolid libre en buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N, a pH 5.4 y 37 °C.

Modelo cinético	R ²	R ² ajustado	MSE	RMSE	AIC	MSC
Orden cero	0.9410	0.9410	53.1707	7.1709	48.7902	2.6166
Primer orden	0.9697	0.9697	26.9500	5.1048	43.3794	3.2929
Higuchi	0.9407	0.9407	51.0311	7.1408	49.0141	2.5886
Korsmeyer-Peppas	0.9925	0.9912	7.7574	2.6989	33.6763	4.5058

En el caso de la linezolid libre, el modelo de Korsmeyer-Peppas presentó el valor de AIC más bajo (33.6763) entre los evaluados. Asimismo, el mayor coeficiente de determinación (R² y R² ajustado): 0.9925 y 0.9912, respectivamente, superando ampliamente a los demás modelos. De la misma manera, registró el Criterio de Selección de Modelo (MSC) máximo, con un valor de 4.5058, y los mínimos de error residual (MSE y RMSE): 7.7574 y 2.6989, respectivamente.

Tabla 12. Parámetros de los modelos cinéticos aplicados a la liberación *in vitro* de invasomas cargados con linezolid, en buffer de acetato de sodio-ácido acético 2.0 N, a pH 5.4 y 37 °C.

Modelo cinético	R ²	R ² ajustado	MSE	RMSE	AIC	MSC
Orden cero	0.9653	0.9653	5.7270	2.0727	25.5955	3.6536
Primer orden	0.9818	0.9818	2.6920	1.5567	23.7227	3.8877
Higuchi	0.9089	0.9089	11.9355	3.3987	36.8637	2.2450
Korsmeyer-Peppas	0.9952	0.9944	0.7072	0.8292	15.0995	4.9656

En el caso de los estudios de liberación *in vitro* de la linezolid cargada en el sistema invasomal obtenido, el modelo de Korsmeyer-Peppas también presentó el valor de AIC más bajo: 15.0995, significativamente inferior al de los demás modelos. El coeficiente de determinación (R² y R² ajustado) fue de 0.9952 y 0.9944, respectivamente, lo que indica un ajuste casi perfecto a los datos experimentales. El Criterio de Selección de Modelo (MSC) fue el más alto de la serie, con 4.9656, y, para el mínimo error residual (MSE y RMSE), los valores fueron los más bajos: 0.7072 y 0.8292, respectivamente.

Determinación de la eficiencia de encapsulación de linezólida en invasomas

Para determinar la eficiencia de encapsulación de la linezólida en el sistema invasomal desarrollado, se consideró una formulación total de 120 mL, a la que se incorporaron 5 mg de linezólida. En la prueba inicial (Tabla 13) se emplearon 15 mL de la formulación, volumen que corresponde, teóricamente, a 0.625 mg de linezólida. Las absorbancias obtenidas se interpolaron en la curva de calibración de linezólida, definida por la ecuación $y = 0.0391x + 0.0095$. Debido a que las muestras fueron diluidas en proporción 1:1, la concentración calculada se corrigió con el factor de dilución correspondiente.

Tabla 13. Condiciones empleadas para el cálculo de recuperación o eficiencia de encapsulación de linezólida

<i>Parámetro</i>	<i>Valor</i>
<i>Volumen total de formulación</i>	120 mL
<i>Linezólida total incorporada</i>	5 mg
<i>Volumen de formulación evaluado en la prueba inicial</i>	15 mL
<i>Cantidad teórica de linezólida en 15 mL</i>	0.625 mg
<i>Ecuación de la curva</i>	$y = 0.0391x + 0.0095$
<i>Dilución aplicada</i>	1:1

Con el propósito de favorecer la ruptura del sistema invasomal y recuperar la linezólida encapsulada, se evaluaron diferentes disolventes: cloroformo, diclorometano, cloroformo-diclorometano y lauril sulfato de sodio (LSS). Los resultados mostraron diferencias en la cantidad de fármaco recuperado según el disolvente empleado.

El diclorometano presentó la mayor recuperación de linezólida, con una concentración corregida de 34.55 $\mu\text{g/mL}$, equivalente a 0.553 mg de fármaco recuperado y una eficiencia de encapsulación de 88.45 %. En comparación, el LSS mostró la menor recuperación, con 0.457 mg y una eficiencia de 73.13 %. Por su parte, el cloroformo y la mezcla cloroformo-diclorometano presentaron valores intermedios, con eficiencias de 78.37 % y 77.45 %, respectivamente (ver Tabla 14).

Estos resultados sugieren que el diclorometano fue el disolvente más eficiente para desestabilizar el sistema invasomal en las condiciones evaluadas, lo que permitió una mayor recuperación de linezolidina. Por esta razón, el diclorometano fue el disolvente seleccionado para realizar la prueba en triplicado.

Tabla 14. Resultados de la eficiencia de encapsulación de linezolidina en invasomas, obtenidos con el disolvente empleado.

Disolvente empleado	Absorbancia diluida 1:1	Concentración corregida ($\mu\text{g/mL}$)	Linezolidina recuperada (mg)	EE (%)
Cloroformo:diclorometano	0.601	30.26	0.484	77.45
Cloroformo	0.608	30.61	0.490	78.37
Diclorometano	0.685	34.55	0.553	88.45
Lauril sulfato de sodio	0.568	28.57	0.457	73.13

Con base en los resultados de la prueba comparativa, el diclorometano se evaluó por triplicado para confirmar la reproducibilidad de la recuperación de linezolidina. Las tres réplicas mostraron valores cercanos entre sí, con concentraciones corregidas de 34.14, 34.76 y 35.06 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente (Tabla 15).

La eficiencia de encapsulación obtenida se encontró entre 87.41 % y 89.77 %, con un promedio de 88.72 ± 1.20 %. Esta baja variación entre réplicas indica que el procedimiento presentó una respuesta reproducible. En conjunto, los resultados confirman que el diclorometano permitió una recuperación consistente de linezolidina, por lo que fue considerado el disolvente más adecuado para la ruptura del sistema invasomal y la estimación de la eficiencia de encapsulación.

Tabla 15. Resultados de la eficiencia de encapsulación (EE%) de la linezolidina contenida en invasomas, obtenidos mediante extracción con diclorometano.

Réplica	Absorbancia diluida 1:1	Concentración corregida ($\mu\text{g/mL}$)	Linezolidina recuperada (mg)	EE (%)
1	0.677	34.14	0.255	87.41
2	0.689	34.76	0.260	88.98
3	0.695	35.06	0.262	89.77

Capítulo 6. Discusión

Validación del método analítico utilizado

La validación del método analítico, si bien no se realizó con todos sus parámetros, mostró que el método seleccionado presentó un comportamiento adecuado para la cuantificación de linezolida en el intervalo evaluado. El coeficiente de determinación obtenido confirmó una relación lineal entre la concentración y la absorbancia, mientras que los parámetros de precisión y exactitud indicaron baja variabilidad y recuperación cercana al valor teórico.

Este resultado es importante porque la cuantificación del fármaco sirvió de base para calcular los perfiles de liberación y la eficiencia de encapsulación. En sistemas vesiculares, una cuantificación poco confiable puede afectar directamente la interpretación del porcentaje liberado o recuperado. Por ello, contar con una curva lineal y reproducible permitió dar soporte analítico a los resultados posteriores.

Tamaño de partícula y distribución de los componentes en el sistema invasomal obtenido

Las formulaciones invasomales propuestas en este proyecto presentaron tamaños principalmente en el intervalo nanométrico, con valores cercanos a 80 y 120 nm en las condiciones más favorables. Este comportamiento es comparable con lo descrito para los invasomas, donde el tamaño vesicular depende de la energía aplicada durante la preparación, pero particularmente de la composición fosfolipídica, la proporción de etanol, así como del tipo y la cantidad de terpenos, ya que estos, como es el caso del limoneno, influyen no sólo en la organización de la bicapa, sino también en cambios en el tamaño vesicular. (Dragicevic-Curic et al., 2011; Babaie et al., 2020). Para el caso del etanol, a mayor proporción de este hasta cierto límite, reduce el tamaño vesicular porque se introduce entre las cadenas lipídicas reduciendo su volumen y la carga neta. Además, se ha observado una sinergia entre el efecto desorganizador de los terpenos y el etanol, que incrementa la elasticidad y la deformabilidad vesicular, lo que garantiza que la linezolida permanezca

amorfizada o molecularmente dispersa en la matriz, previniendo su cristalización o precipitación (Fouad et al., 2024; Sahu & Ram, 2018).

En este trabajo, el uso de limoneno y la homogeneización favorecieron la obtención de sistemas pequeños; sin embargo, los valores elevados de Span en algunas formulaciones indican que el proceso aplicado requiere optimización, ya que aún puede generar poblaciones heterogéneas.

De conformidad con lo expuesto por Nangare y Dugam (2020) y otros autores (Dragicevic-Curic et al., 2011; Sailaja & Meghana, 2021) la eficiencia como sistema tópico o transdérmico de los invasomas no depende únicamente de la reducción del tamaño, sino de la combinación entre tamaño vesicular, flexibilidad de la bicapa, concentración de etanol y presencia de terpenos; de modo que, aunque los tamaños de invasomas obtenidos con este proyecto son favorables, la homogeneidad del sistema debe analizarse junto con parámetros como el PDI y la estabilidad al estado coloidal.

Tamaño hidrodinámico e índice de polidispersidad de los invasomas

El análisis por DLS mostró diferencias entre la formulación placebo y las formulaciones cargadas con linezolida. Las formulaciones con fármaco presentaron tamaños hidrodinámicos menores que los del sistema placebo, lo que sugiere que la incorporación de linezolida pudo modificar la organización interna de la bicapa vesicular, reduciendo su tamaño hidrodinámico; sin embargo, este fenómeno puede atribuirse, como ya se mencionó, a la presencia de etanol, que contribuye a la disolución y a la mayor dispersión e interacción molecular del activo con las cadenas de fosfolípido que las contrae (Fouad et al., 2024; Sahu & Ram, 2018).

Los valores de PDI obtenidos indicaron que algunas formulaciones presentaron distribución relativamente homogénea, mientras que otras mostraron mayor variabilidad. De acuerdo con lo reportado en sistemas nanoestructurados, valores de PDI inferiores a 0.3 suelen asociarse con dispersiones más uniformes, mientras que valores superiores indican poblaciones más heterogéneas. Por lo tanto, aunque

el sistema mostró características compatibles con una formulación nanométrica, aún existe margen de optimización para mejorar la uniformidad entre lotes.

Potencial zeta y estabilidad coloidal de los invasomas

Los valores de potencial zeta obtenidos fueron negativos en todas las formulaciones evaluadas. Este comportamiento es consistente con lo reportado para los invasomas, ya que el etanol puede contribuir a generar una carga superficial negativa y a disminuir la agregación vesicular mediante repulsión electrostática (Dragicevic-Curic et al., 2011; Fouad et al., 2024; Sahu & Ram, 2018).

Babaie et al. (2020) describen que la presencia de etanol en sistemas invasomales no solo mejora la flexibilidad vesicular, sino que también puede aportar carga negativa a la superficie de las vesículas. Sin embargo, los valores obtenidos en este trabajo fueron inferiores a -30 mV, por lo que no hay evidencia de estabilidad electrostática.

En este sentido, la estabilidad del sistema probablemente no dependerá únicamente de la carga superficial, sino también de la composición de la bicapa, la hidratación, del contenido de terpeno y las condiciones de almacenamiento. La formulación F2 presentó los valores más negativos en comparación con las demás formulaciones, lo que podría representar una ventaja relativa; sin embargo, este parámetro debe evaluarse junto con el tamaño, el PDI y la estabilidad térmica.

Estabilidad frente a temperatura

La temperatura de almacenamiento de los invasomas y otros sistemas vesiculares es un factor determinante de su estabilidad física. Las temperaturas elevadas aumentan el diámetro vesicular mediante agregación y fusión, mientras que la refrigeración suele conservar su dimensión nanométrica. El almacenamiento de las vesículas en estado coloidal a temperatura ambiente (20 °C a 25 °C), así como en condiciones de estrés térmico (37 °C a 40 °C) proporciona energía suficiente para generar un incremento estadísticamente significativo en el diámetro medio de las vesículas y en el índice de polidispersidad (PDI). A mayor energía térmica, aumenta

la movilidad cinética de las partículas y la frecuencia de colisiones efectivas, lo que desencadena procesos de agregación o de fusión vesicular.

Dependiendo de la proporción de etanol y de las características del terpeno presentes en los invasomas, se reduce el empaquetamiento lipídico y, al aumentar la temperatura, la bicapa cambia a un estado de elevada fluidez, en el que disminuye la barrera mecánica que impide la fusión entre vesículas adyacentes, lo que propicia la agregación y la fusión (maduración de Ostwald), y con ello, los aumentos en el tamaño vesicular, así como en el PDI.

Adicionalmente, el incremento de la temperatura puede inducir la evaporación paulatina de los componentes volátiles del invasoma (etanol o terpenos) o alterar la microestructura interfacial, lo que ocasiona una reducción en la magnitud del potencial zeta negativo y de la repulsión estérica/electrostática que mantiene separadas a las vesículas (Dragicevic-Curic et al., 2008; Prasanthi & Lakshmi, 2012; Babaie et al., 2020).

En este estudio, el almacenamiento de las muestras de invasomas a diferentes temperaturas (12 °C, ~20 °C y 48 °C) provocó incrementos marcados en el tamaño de partícula, lo que indica una pérdida de la estabilidad física del sistema, atribuidas a las razones antes expuestas y cuyo comportamiento es semejante a lo publicado por Kumar et al. (2022), quienes señalan que los estudios de estabilidad en invasomas deben considerar cambios en el tamaño, el PDI, la morfología, el potencial zeta y la eficiencia de encapsulación, ya que estos parámetros varían durante el almacenamiento.

Por lo anterior, la estabilidad física constituye uno de los puntos críticos del sistema. Este hallazgo no invalida la formulación, pero sí indica que se requiere optimizar las condiciones de almacenamiento, la proporción de componentes o el proceso de preparación para mantener la distribución nanométrica durante más tiempo.

Respuesta de la linezolida y de los invasomas con y sin carga de fármaco a la radiación infrarroja (FTIR)

El análisis de las muestras de linezolida de materia prima y de los invasomas, con y sin carga del principio activo, mediante FTIR permitió identificar las principales

señales características de la linezolida y de los componentes del sistema invasomal, lo que sirvió de apoyo para interpretar posibles interacciones entre ellos. En el espectro FTIR de la muestra de linezolida pura (figura 9 y tabla 8) se observaron picos y bandas de absorción asociados a los grupos funcionales propios del fármaco en su forma polimórfica II, de acuerdo con la patente otorgada en los Estados Unidos de Norteamérica No. 6,559,305 B1, que, además, corresponde a la forma comúnmente comercializada como materia prima y en la que se sustentan los ensayos clínicos y el registro oficial (NDA) ante la FDA del medicamento Zyvox® de referencia.

En particular, el espectro por FTIR de la linezolida (figura 9) muestra un grupo de bandas en la zona de 1110 cm^{-1} a 1256 cm^{-1} (con picos destacados a 1148 cm^{-1} y 1229 cm^{-1} que corresponden a las vibraciones C-O-C y C-N del anillo de morfolina, así como a la banda característica del enlace flúor-carbono entre 1023 cm^{-1} y 1229 cm^{-1}). De la misma manera, se observaron un par de picos entre 1740 cm^{-1} y 1753 cm^{-1} , así como entre 1650 cm^{-1} y 1672 cm^{-1} , que corresponden, respectivamente, al carbonilo de la oxazolidona y al de la amida. Adicionalmente, para fines de identificación de la linezolida, particularmente en la respuesta FTIR del invasoma sometida a centrifugación y temperatura mostrada en las figuras 11 y 12, en la figura 9 de la materia prima se observó la señal N-H alrededor de 3280 cm^{-1} y 3360 cm^{-1} , que constituye una huella dactilar espectral para identificar la presencia de linezolida (Brickner et al., 1996; U.S. Patent No. 6559,305 B1; U.S. Patent No. 7,732,597 B2).

Con relación al invasoma placebo, analizado por FTIR en su estado líquido coloidal (figuras 10 y 12 y tabla 9), las bandas de los fosfolípidos, del etanol, del agua y del limoneno se observaron atenuadas o superpuestas, lo cual puede atribuirse a las interacciones entre dichas moléculas al constituir la estructura de bicapa del invasoma. Este comportamiento sugiere que la linezolida no se encuentra únicamente como compuesto libre, sino que está incorporada o interactúa con la matriz vesicular. Sin embargo, es importante señalar que el FTIR no demuestra por sí solo la encapsulación completa del fármaco; más bien, aporta evidencia indirecta de la interacción entre los componentes.

Comportamiento térmico de los invasomas por calorimetría diferencial de barrido (DSC)

El análisis por DSC mostró diferencias en el comportamiento térmico entre la linezólida pura, los componentes individuales y el sistema invasomal cargado con el fármaco. La linezólida (figura 14) presentó un evento endotérmico por encima de 150 °C, antes de la fusión, que, dependiendo de la forma polimórfica, ocurre a partir de 179 °C; evento asociado a una reorganización molecular previa a la fusión. En este caso, el valor obtenido del pico de fusión fue de 178.86 °C. Este valor ligeramente menor a los 181° - 182 °C reportados por patentes y otras publicaciones puede asociarse a una menor pureza, cantidad y tamaño de partícula de la muestra. Sin embargo, no queda duda de que corresponde al polimorfo II de la linezólida [WO Patent 2005/035530; WO 2006/008754, U. S. Patent No. 6,559,305 B1; U.S. Patent 2006/0142283 A1; Karagiannidou, et al., 2013].

Como se observó en las curvas de comportamiento térmico obtenidas para el limoneno (figura 13) y la lecitina de huevo (figura 15), el terpeno mostró una línea base relativamente estable a lo largo del intervalo de temperatura evaluado, con ligeras variaciones en la señal térmica a temperaturas elevadas, atribuibles a cambios físicos o a reorganizaciones de la red molecular del compuesto, así como a la rápida volatilización del compuesto, que culmina en su ebullición entre 176 °C y 178 °C.

El termograma de la lecitina (figura 15), al ser un material en estado de gel fluido o líquido-cristalino a temperatura ambiente, mostró una señal térmica amplia y de baja intensidad, con una deflexión prácticamente imperceptible respecto de la línea base en un amplio intervalo de temperatura, desde -75 °C hasta -15 °C, correspondiente a la transición vítrea de las zonas amorfas o agua no congelable entre las cabezas de fosfato. Además, un estudio realizado con este tipo de material indica la existencia de una transición de fase principal (T_m) mediante un pico endotérmico ancho distribuido entre -15 °C y -5 °C (apenas observado en la muestra de este proyecto), lo que refleja la fluidez de las cadenas insaturadas (ácidos oleico y linoleico) de este fosfolípido. Otro evento observado en la figura 15 es una transición de fase alrededor de los 40 °C, así como endotermas no pronunciadas alrededor de

75-80 °C y 105 °C, que otros estudios atribuyen a la deshidratación, la cual produce el desplazamiento de la transición (T_m) a valores superiores a la temperatura ambiente, lo cual también se observó en este caso con las dos endotermas cercanas a 100 °C (Crowe et al., 2006).

Los diversos eventos térmicos observados en el termograma del sistema invasomal placebo (figura 16) se interpretan como sigue: en condiciones subambientales, se atribuyen a transiciones de fase de las bicapas lipídicas, seguidas de la pérdida de etanol y agua, así como a la evaporación del limoneno, con una semisolidificación interna atribuible a la endoterma y la exoterma observadas entre 85 °C y 115 °C. Posteriormente, se observan la fusión y el cambio de fase de gel al estado líquido en toda la estructura vesicular, representados por dos pronunciadas endotermas con picos de fusión a 119.36 °C y 127.48 °C.

El termograma del invasoma cargado con linezolida (figura 17) mostró modificaciones en el perfil térmico, principalmente en comparación con el placebo y con el fármaco puro. Los picos endotérmicos ubicados a 86.91 °C y 111.64 °C se pueden atribuir a fenómenos de evaporación o pérdida de los componentes volátiles cuyas moléculas inicialmente se encontraban formando la estructura vesicular en uniones no covalentes: etanol, agua y limoneno, en ese orden y la endoterma con una temperatura de fusión a 139.45 °C puede atribuirse a la transición de fase gel a líquido del sistema invasomal por la presencia de la linezolida presente en dispersión líquido-cristalina. Del evento endotérmico mostrado a 228.70 °C se infiere que puede representar tanto la desorganización total, caracterizada por el cambio a una fase líquida con dispersión de todos los componentes lipídicos y del fármaco, como el inicio de su descomposición; requiriéndose para esto último la realización de ensayos con la muestra sometida a esta temperatura o valores cercanos, con técnicas como análisis termogravimétrico, FTIR y otras.

Eficiencia de encapsulación del fármaco

En este trabajo, el diclorometano fue el disolvente que permitió la mayor recuperación del fármaco, lo que sugiere que fue más eficiente para desestabilizar la estructura vesicular y liberar la linezolida retenida. No obstante, la eficiencia de

encapsulación debe interpretarse junto con la estabilidad del sistema, ya que una alta encapsulación no garantiza por sí sola una estabilidad prolongada.

La eficiencia de encapsulación promedio obtenida al extraer el fármaco del invasoma con diclorometano fue de 88.72 ± 1.20 %, lo que indica una recuperación reproducible de linezolidina en las condiciones evaluadas. Este valor es favorable para un sistema vesicular, pero sugiere que una proporción importante del fármaco queda retenida o se asocia al sistema invasomal debido a una mayor afinidad por los lípidos.

Este resultado es comparable con lo reportado en otros sistemas invasomales. Chen et al. (2010), que reportaron eficiencias de encapsulación superiores al 90 % en invasomas para administración tópica, mientras que otros estudios con geles invasomales han informado valores cercanos al 80–90 %, dependiendo del fármaco, del terpeno y de la composición de la bicapa.

Perfil de liberación *in vitro*

Los ensayos de perfil de disolución-liberación *in vitro* mostraron diferencias claras entre la muestra de linezolidina libre y los invasomas cargados con el fármaco. La linezolidina libre alcanzó un 91.60 % de fármaco disuelto a las 6 h, mientras que los invasomas cargados liberaron un 35.04 % del fármaco en el mismo periodo. Esta diferencia indica que el sistema vesicular modificó la salida del fármaco hacia el medio receptor.

La diferencia en la proporción de fármaco liberado al medio de disolución en la primera hora del estudio, que fue del 28.32 % para la linezolidina libre, mientras que la formulación invasomal alcanzó el 9.46 %, indica en general, que el fármaco libre presentó un patrón de liberación rápida y progresiva, limitada quizá, como se analizará con la interpretación del modelo cinético de mejor ajuste, por la transición de fase sólida a líquida propia de las suspensiones de fármacos poco solubles, así como el paso por difusión de las moléculas del fármaco a través de los poros de la membrana de diálisis. En cambio, al incorporarse la linezolidina en los invasomas, las moléculas del activo quedan atrapadas o dispersas a nivel molecular entre las

cadena hidrocarbonada o en la bicapa del invasoma, requiriéndose que el medio disolvente penetre en la bicapa invasomal para que el fármaco se disuelva en el medio y este difunda a través de la bicapa o que esta última se erosione para posibilitar el contacto del disolvente con el fármaco y este inicie su difusión al medio receptor, teniendo a su vez que atravesar los poros de la membrana de diálisis.

Este comportamiento es consistente con lo esperado en sistemas vesiculares, donde la bicapa fosfolipídica puede actuar como barrera de difusión y modular la liberación del principio activo. Nangare y Dugam (2020) describen que los invasomas pueden mejorar la administración cutánea gracias a la combinación de fosfolípidos, etanol y terpenos, lo que favorece la interacción con la barrera cutánea y la liberación progresiva del fármaco.

En este caso, la menor liberación acumulada de los invasomas no debe interpretarse como una desventaja inmediata, sino como evidencia de un perfil más controlado. Para la administración cutánea, una liberación gradual puede favorecer la permanencia del fármaco en el sitio de aplicación y reducir su rápida salida al medio.

Modelos cinéticos de liberación

El ajuste de los perfiles de liberación mostró que el modelo de Korsmeyer-Peppas describió mejor el comportamiento tanto de la linezolida libre como de los invasomas cargados. En la línea de la linezolida libre se obtuvo un R^2 ajustado de 0.9912, mientras que en los invasomas cargados fue de 0.9944. Además, este modelo presentó los menores valores de MSE, RMSE y AIC, así como el mayor MSC, lo que indica un mejor ajuste frente a los modelos de orden cero y de Higuchi.

El segundo modelo de mejor ajuste correspondió a una cinética de primer orden. Para explicar lo anterior, se debe considerar que el proceso de disolución de la linezolida libre suspendida en el medio de disolución involucra dos etapas acopladas: la solubilización y disolución del fármaco a partir de las partículas suspendidas en el medio y la posterior difusión Fickiana de la linezolida disuelta a través del poro de la membrana de diálisis.

Los resultados obtenidos en este estudio habrán de replicarse con más muestras para determinar qué modelo cinético explicaría definitivamente la disolución de la linezolida en las condiciones experimentales establecidas, ya que se debe considerar que el modelo de Korsmeyer-Peppas ($M_t/M_\infty = k \cdot t^n$) es una ecuación empírica diseñada para describir mecanismos combinados o no ideales (transporte anómalo), capturando adecuadamente en este caso, la simultaneidad de la disolución del sólido y la resistencia difusiva de la membrana. No obstante, con más datos se podrá determinar con mayor precisión el valor del exponente (n) de la ecuación del modelo, que determinará el mecanismo exacto, ya que si n es menor o igual a 0.45 (para geometría esférica/cilíndrica), indica una difusión fickiana pura a través de la membrana; si 0.45 es menor que n ; si $0.45 < n < 0.89$, el proceso estaría siguiendo un transporte anómalo acoplado a la disolución progresiva de la suspensión.

En el caso de la segunda mejor opción, que es el modelo de Primer Orden, este es físicamente congruente, ya que la velocidad a la que la linezolida disuelta difunde a través de la membrana depende de la diferencia de concentración entre el compartimento donante y el receptor (gradiente de concentración).

Con relación al caso de la liberación de la linezolida desde los invasomas, se debe considerar que estos poseen bicapas lipídicas altamente elásticas, debido a la acción fluidificante del etanol y de los terpenos; por lo que el proceso de liberación combina la difusión pasiva del fármaco a través de la membrana con procesos de descomposición o relajación estructural de la vesícula que se explican con el modelo de Korsmeyer-Peppas (transporte no Fickiano o anómalo cuando $0.45 < n < 0.89$).

En este sistema invasomal, se puede considerar que la transferencia de masa o disolución-liberación del activo involucra tres etapas simultáneas o secuenciales:

1. Partición/liberación del fármaco, con salida de la linezolida desorbida desde las bicapas fluidizadas de lecitina de huevo (efecto modulado por la acción del limoneno y el etanol) hacia el medio donador interno de la vesícula o suspensión.

2. Difusión libre del fármaco, que consiste en el desplazamiento de las moléculas del principio activo disuelto a través del medio acuoso donante.
3. Transporte de membrana, que consiste en la permeación por difusión de la linezolida a través de los poros de la membrana de diálisis hacia el compartimento receptor.

Al ser los invasomas una nanoestructura lipídica elástica que contiene agentes fluidificantes (limoneno y etanol), la liberación no responde a una difusión pasiva simple en una matriz rígida; por ello, el modelo de Higuchi presenta el peor ajuste, con $R^2=0.9089$ y $AIC=36.8637$. Sin embargo, el modelo de Korsmeyer-Peppas ($M_t/M_\infty = k \cdot t^n$) está formulado para describir mecanismos acoplados de transporte anómalo (no fickiano), que se adaptan a sistemas donde coexisten procesos de relajación/fluidización de la matriz vesicular, así como gradientes de difusión de membrana.

Como segunda opción, sobresale el modelo cinético de Primer Orden con una $R^2=0.9818$), lo cual refleja que la fuerza impulsora principal de la difusión sigue dependiendo de la concentración de fármaco libre disponible en el compartimento donador (el invasoma).

En comparación con otros estudios, no todos los sistemas invasomales presentan el mismo modelo cinético. Algunas formulaciones invasomales en gel han mostrado un mejor ajuste al modelo de Higuchi, lo cual se relaciona preferentemente con una liberación difusional predominante desde una matriz semisólida, más que con la liberación del activo desde el invasoma (Sailaja & Meghana, 2021; Kumar et al., 2022; Thakur et al., 2024).

En síntesis, los invasomas cargados con linezolida obtenidos en este estudio responden a una cinética de liberación modificada cuyo modelo de mejor ajuste responde al de Korsmeyer-Peppas, por lo que, independientemente de requerirse mayores estudios, se perfila como un sistema tópico útil para la liberación prolongada de linezolida y para obtener una acción antimicrobiana más favorable en comparación con productos tópicos convencionales.

Capítulo 7. Conclusiones

De conformidad con los resultados obtenidos, se alcanzó el objetivo de caracterizar la eficiencia de carga, el mecanismo de liberación y la cinética de liberación *in vitro* de la linezolida desde sistemas invasomales, habiéndose determinado mediante los ensayos de liberación *in vitro*, que los invasomas cargados con linezolida obtenidos, tienen potencial como sistema de administración farmacéutica de liberación controlada.

Los invasomas cargados con linezolida pudieron obtenerse bajo las condiciones experimentales evaluadas; sin embargo, los resultados muestran que el sistema aún no puede considerarse completamente optimizado. Las formulaciones alcanzaron tamaños nanométricos favorables, principalmente en el intervalo de 80 a 120 nm, pero la presencia de valores elevados de Span en algunos lotes evidencia variabilidad en la distribución de tamaño y señala que el proceso de preparación todavía requiere mayor control.

La caracterización por DLS confirmó la formación de sistemas a escala nanométrica y permitió observar diferencias entre el placebo y las formulaciones cargadas con linezolida. No obstante, los valores de PDI indicaron que no todas las formulaciones presentaron la misma homogeneidad. De manera similar, el potencial zeta negativo sugiere cierta contribución a la estabilidad coloidal, pero los valores obtenidos fueron moderados, por lo que no permiten afirmar una estabilidad electrostática elevada.

Los análisis por FTIR y DSC sugieren interacción entre la linezolida y la matriz invasomal, ya que se observaron cambios en las bandas características del fármaco y ausencia del evento térmico definido asociado a la linezolida pura. Sin embargo, estos resultados deben interpretarse como evidencia indirecta de incorporación del fármaco, por lo que sería necesario complementar con técnicas adicionales para confirmar con mayor certeza el estado físico y la localización de la linezolida dentro del sistema.

La eficiencia de encapsulación obtenida con diclorometano fue elevada y reproducible, con un promedio de 88.72 %. Este resultado indica que una proporción importante de linezolida pudo recuperarse después de la ruptura del sistema. Sin embargo, la alta eficiencia de encapsulación no garantiza por sí sola un desempeño farmacéutico adecuado, ya que debe analizarse junto con la estabilidad física, la liberación y la capacidad real del sistema para favorecer la administración cutánea.

El perfil de liberación mostró que los invasomas redujeron la salida inmediata de linezolida en comparación con el fármaco libre. Mientras la linezolida libre alcanzó 91.60 % de liberación a las 6 h, los invasomas cargados liberaron 35.04 %, lo que indica un comportamiento más gradual. El modelo de Korsmeyer-Peppas presentó el mejor ajuste cinético; sin embargo, sin el análisis del exponente n no es posible establecer con certeza el mecanismo de liberación. Además, al haberse obtenido como segundo modelo con mejor ajuste el de cinética de primer orden, se recomienda realizar los estudios con un tamaño de muestra mayor.

Estos resultados demuestran que los invasomas desarrollados tienen potencial como sistema de entrega de linezolida, pero también evidencian limitaciones importantes. La inestabilidad frente a cambios de temperatura, la heterogeneidad observada en algunas formulaciones y la falta de estudios de permeación o retención cutánea impiden concluir que el sistema sea aún apto para aplicación terapéutica. Por ello, esta formulación debe considerarse como una aproximación experimental prometedora, pero todavía en etapa de optimización y caracterización complementaria.

Capítulo 8. Referencias

- Abdoh, A., Liu, D., & Mohammed, Y. (2024). Enhancement of drug permeation across skin through stratum corneum ablation. *RSC Pharmaceutics*. <https://doi.org/10.1039/D4PM00089G>
- Babaie, S., Del Bakhshayesh, A. R., Ha, J. W., Hamishehkar, H., & Kim, K. H. (2020). Invasome: A novel nanocarrier for transdermal drug delivery. *Nanomaterials*, 10(2), 341. <https://doi.org/10.3390/nano10020341>
- Bakhrushina, E. O., Shumkova, M. M., Avdonina, Y. V., Ananian, A. A., Babazadeh, M., Pouya, G., Grikh, V. V., Zubareva, I. M., Kosenkova, S. I., & Krasnyuk, I. I. (2025). Transdermal drug delivery systems: Methods for enhancing skin permeability and their evaluation. *Pharmaceutics*, 17(7), 936. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics17070936>
- Bergren, M. S. (2003). Crystalline form II linezolid (U.S. Patent No. 6,559,305 B1). U.S. Patent and Trademark Office. <https://patents.google.com/patent/US6559305B1/en>
- Biopsicosalud. (2021). *Capas de la piel*. <https://www.biopsicosalud.com.ve/2021/04/capas-de-la-piel.html>
- Brickner, S. J., Hutchinson, D. K., Barbachyn, M. R., Manninen, P. R., Ulanowicz, D. A., Kilburn, S. A., Garmon, S. A., Zurenko, G. E., & Martin, G. E. (1996). Synthesis and antibacterial activity of U-100592 and U-100766, two oxazolidinone antibacterial agents for the treatment of multidrug-resistant gram-positive bacterial infections. *Journal of Medicinal Chemistry*, 39(3), 673–679. <https://doi.org/10.1021/jm9509556>
- Bouwstra, J. A., Nădăban, A., Bras, W., McCabe, C., Bunge, A., & Gooris, G. S. (2023). The skin barrier: An extraordinary interface with an exceptional lipid organization. *Progress in Lipid Research*, 92, 101252. <https://doi.org/10.1016/j.plipres.2023.101252>
- Chen, M., Liu, X., & Fahr, A. (2010). Skin delivery of ferulic acid from different vesicular systems. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 6(5), 577–585. <https://doi.org/10.1166/jbn.2010.1154>
- Cosmedic Peeling. (2025). *Ruta intracelular: a través de las células, los activos atraviesan directamente la piel* [Publicación de Facebook]. Facebook.
- Crowe, J. H., Oliver, A. E., Hoekstra, F. A., & Crowe, L. M. (2006). Low amounts of sucrose are sufficient to depress the phase transition temperature of dry egg phosphatidylcholine vesicles. *Biophysical Journal*, 90(4), 1332–1341. <https://doi.org/10.1529/biophysj.105.071191>
- Dragicevic-Curic, N., Friedrich, M., Petersen, S., Scheglmann, D., Douroumis, D., Plass, W., & Fahr, A. (2011). Assessment of fluidity of different invasomes by electron spin resonance and differential scanning calorimetry.

International Journal of Pharmaceutics, 412(1–2), 85–94.
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2011.04.020>

- Dragicevic-Curic, N., Scheglmann, D., Albrecht, V., & Fahr, A. (2008). Temoporfin-loaded invasomes: Development, characterization and in vitro skin penetration studies. *Journal of Controlled Release*, 127(1), 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2007.12.013>
- Dumitriu Buzia, O., et al. (2023). Strategies for improving transdermal administration: New approaches to controlled drug release. *Pharmaceutics*, 15(4), 1183. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15041183>
- Elias, P. M. (2005). Stratum corneum defensive functions: An integrated view. *Journal of Investigative Dermatology*, 125(2), 183–200. <https://doi.org/10.1111/j.0022-202x.2005.23668.x>
- Fouad, A. G., Ali, M. R. A., Naguib, D. M., Farouk, H. O., Zanaty, M. I., & El-Ela, F. I. A. (2024). Design, optimization, and in vivo evaluation of invasome-mediated drug delivery: Influence of terpene composition on lipid bilayer disorder studied by FTIR and DSC. *Drug Delivery and Translational Research*, 14(2), 474–490. <https://doi.org/10.1007/s13346-023-01412-w>
- Hashemian, S. M. R., Farhadi, T., & Ganjparvar, M. (2018). Linezolid: A review of its properties, function, and use in critical care. *Drug Design, Development and Therapy*, 12, 1759–1767. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S164515>
- Karagiannidou, E. G., et al. (2013). Solid state characterization of linezolid crystal forms. *International Journal of Analytical, Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 2(4), 1–9.
- Karthikeyan, K., & Sivaneswari, S. (2025). Emerging advances in transdermal drug delivery systems. *Intelligent Pharmacy*. <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.09.008>
- Kumar, B., Sahoo, P. K., & Manchanda, S. (2022). Nano-invasomal gel for enhanced transdermal delivery. *OpenNano*, 7, 100058. <https://doi.org/10.1016/j.onano.2022.100058>
- Kumar, B. J., Pandey, M., Aggarwal, R., & Sahoo, P. K. (2022). A comprehensive review on invasomal carriers incorporating natural terpenes for augmented transdermal delivery. *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*, 8(1), 47. <https://doi.org/10.1186/s43094-022-00440-6>
- Linz, L. B., Mukherjee, D. V., & Shopsis, B. (2023). *Staphylococcus aureus* skin and soft tissue infections: Clinical impact and therapeutic considerations. *Antibiotics*, 12(3), 557. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12030557>
- Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., et al. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: A systematic analysis.

The Lancet, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

- Nangare, S., & Dugam, S. (2020). Smart invasome synthesis, characterizations, pharmaceutical applications, and pharmacokinetic perspective: A review. Future Journal of Pharmaceutical Sciences, 6(1), 72. <https://doi.org/10.1186/s43094-020-00145-8>
- Nikhita, K., & Ruty, Z. (2024). Formulation and evaluation of invasomal gel. Indo American Journal of Pharmaceutical Sciences, 11(12), 437–448. <https://doi.org/10.5281/zenodo.14536498>
- Prausnitz, M. R., & Langer, R. (2008). Transdermal drug delivery. Nature Biotechnology, 26(11), 1261–1268. <https://doi.org/10.1038/nbt.1504>
- Prasanthi, D., & Lakshmi, P. K. (2012). Development of invasomes for transdermal delivery of finasteride: Formulation and characterization. AAPS PharmSciTech, 13(4), 1463–1471. <https://doi.org/10.1208/s12249-012-9873-1>
- Rao, D. R., Kankan, R. N., & Phull, M. S. (2010). Crystalline form of linezolid (U.S. Patent No. 7,732,597 B2). U.S. Patent and Trademark Office. <https://patents.google.com/patent/US7732597B2/en>
- Sahu, S. K., & Ram, A. (2018). Evaluation of linezolid loaded ethosomes for treatment of deep skin infections in diabetic model. Research Journal of Pharmacy and Technology, 11(7), 3023–3030. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2018.00557.7>
- Sailaja, A. K., & Meghana, T. (2021). Applications of invasomal drug delivery system. Archives of Pharmacy & Pharmacology Research, 3(1). <https://doi.org/10.33552/APPR.2021.03.000551>
- Thakur, M., Nagar, A., Jain, A. K., & Jain, U. K. (2024). Formulation and evaluation of mupirocin loaded invasomes for effective treatment of skin infections. International Journal of Multidisciplinary Research and Studies, 7(10), 1–12. <https://ijmras.com/index.php/ijmras/article/view/783/702>
- unComo. (2017). *Cómo está compuesta la piel - 3 pasos*. <https://www.uncomo.com/educacion/articulo/como-esta-compuesta-la-piel-24512.html>
- Yousef, H., Alhaji, M., Fakoya, A. O., & Sharma, S. (2024). Anatomy, skin (integument), epidermis. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK470464/>
- **Patentes/documentos adicionales**
- WO2005035530. Patent: A novel crystalline form of linezolid.
- WO2006008754. Patent: Novel intermediates for linezolid and related compounds.
- US Patent 2006/0142283 A1. Crystalline form IV of linezolid.

Capítulo 9. Anexos

Ensayos preliminares, incidencias y ajustes durante la formulación de invasomas.

Durante el desarrollo experimental se realizaron diferentes ensayos preliminares con el propósito de identificar las condiciones más adecuadas para la obtención de invasomas cargados con linezolid. Estas pruebas permitieron reconocer variables críticas del proceso, como la velocidad de homogeneización, profundidad de la sonda, filtración, concentración de terpeno, incorporación del principio activo y etapas de centrifugación.

Algunas formulaciones presentaron tamaños nanométricos aceptables; sin embargo, mostraron valores elevados de Span, lo que indicó una distribución de tamaño poco homogénea. Este comportamiento se consideró una incidencia de formulación, ya que sugiere la presencia de poblaciones vesiculares amplias o agregados dentro del sistema. En estos casos, se realizaron ajustes en las condiciones de preparación, principalmente en la velocidad de homogeneización, profundidad de la sonda y filtración del sistema.

Las formulaciones procesadas con mayor profundidad de sonda o sin filtración tendieron a presentar distribuciones más amplias, mientras que aquellas preparadas a 14,000 rpm, con profundidad de sonda de 2 cm y etapa de filtración, mostraron tamaños más bajos y valores de Span menores. Esto permitió establecer que la combinación de estas condiciones favoreció una dispersión más uniforme.

También se observó que la incorporación de variables adicionales, como mayor concentración de terpeno, principio activo o centrifugación, pudo incrementar la heterogeneidad del sistema. Estos resultados fueron útiles para identificar condiciones que afectaban la estabilidad física de los invasomas y para seleccionar las formulaciones más adecuadas para continuar con la caracterización.

Por lo tanto, los ensayos preliminares no se consideraron fallas aisladas, sino parte del proceso de optimización experimental. El análisis de estas incidencias permitió definir condiciones de preparación más controladas y seleccionar los sistemas con mejores características nanométricas para su evaluación posterior.

Incidencias asociadas al comportamiento de la lecitina

Durante los ensayos preliminares también se observaron problemas relacionados con el comportamiento de la lecitina como componente principal de la fase lipídica. En algunas formulaciones, la dispersión no se mantuvo homogénea después de la hidratación de la película lipídica o presentó tendencia a formar agregados, separación parcial o aumento marcado en la distribución de tamaño.

Estas incidencias sugieren que la estabilidad del sistema no dependió únicamente de las condiciones mecánicas de preparación, como la velocidad de homogeneización o la profundidad de la sonda, sino también del comportamiento de la lecitina durante la formación de la bicapa vesicular. Al tratarse de un fosfolípido de origen natural, su composición puede presentar variabilidad, lo que puede influir en la capacidad de formar vesículas estables y reproducibles.

En algunos casos, la película lipídica formada con lecitina no se hidrató de manera uniforme, lo que pudo favorecer la presencia de fragmentos lipídicos no dispersos o poblaciones vesiculares heterogéneas. Asimismo, las condiciones de temperatura, evaporación del solvente y tiempo de hidratación pudieron influir en la organización de la fase lipídica y en la estabilidad final de la formulación.

Estas observaciones permitieron identificar que la lecitina representó una variable crítica dentro del proceso de formulación. Por ello, las formulaciones con mayor estabilidad visual, menor tamaño de partícula y menor Span fueron seleccionadas para continuar con la caracterización, mientras que aquellas con signos de agregación, separación o distribución amplia fueron consideradas como ensayos preliminares no óptimos.

Incidencias relacionadas con el vacío y disponibilidad de materiales

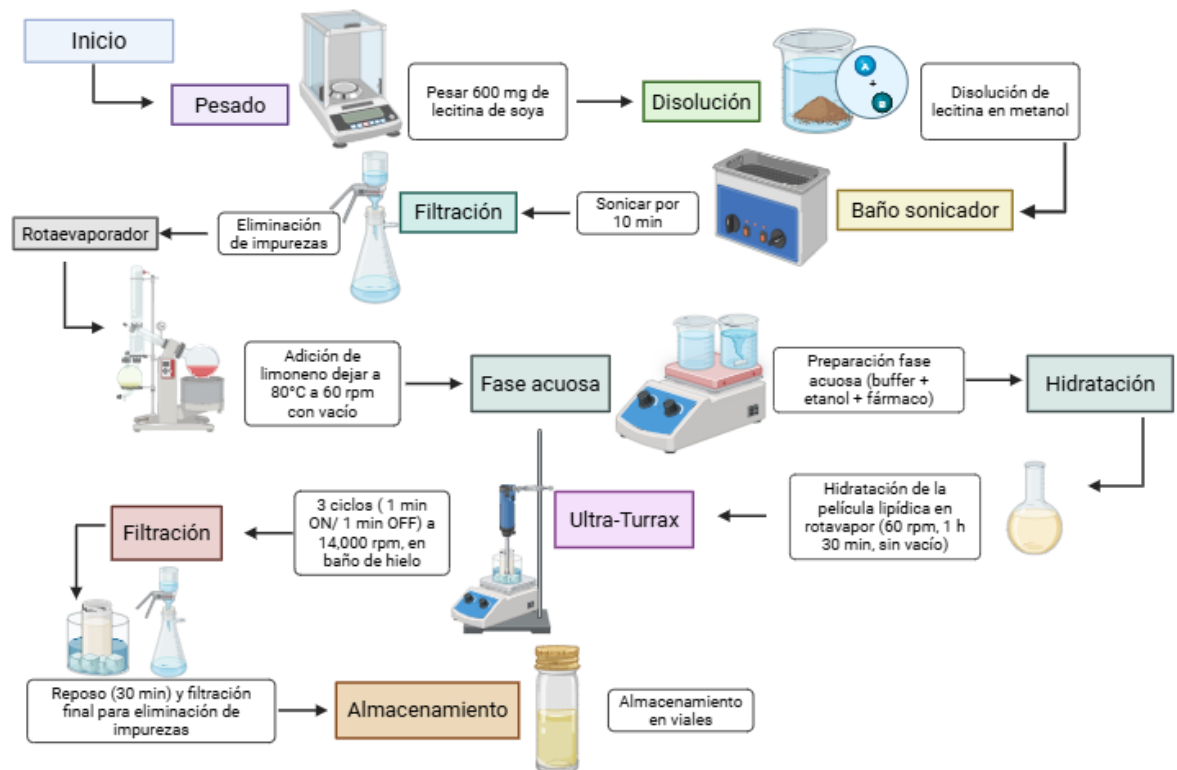
Durante la etapa de formación de la película lipídica también se presentaron incidencias relacionadas con el funcionamiento del sistema de vacío del rotavapor. En algunos ensayos, el vacío no se mantuvo de manera constante, lo que pudo afectar la eliminación completa del solvente y la formación uniforme de la película lipídica. Esta situación pudo influir en la hidratación posterior de la lecitina y en la formación de vesículas con distribución de tamaño más amplia.

La falta temporal de algunos materiales o insumos también representó una limitación durante el desarrollo experimental. En ciertos momentos fue necesario ajustar el procedimiento, modificar tiempos de trabajo o sustituir etapas planeadas por alternativas disponibles en el laboratorio. Estos cambios pudieron influir en la reproducibilidad entre lotes, ya que pequeñas variaciones en solventes, material de filtración, condiciones de ruptura del sistema o disponibilidad de equipo pueden modificar el comportamiento de formulaciones vesiculares.

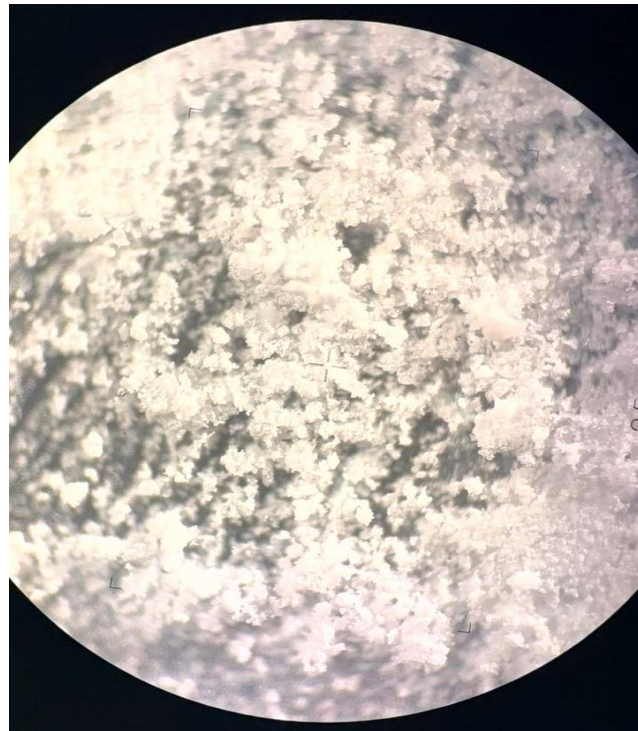
Estas incidencias no se consideraron fallas aisladas del proceso, sino factores experimentales que influyeron en la optimización de la formulación. La variabilidad observada en algunos lotes puede relacionarse tanto con la composición del sistema como con condiciones operativas, entre ellas el control del vacío, la eliminación del solvente, la hidratación de la película lipídica y la disponibilidad de materiales adecuados para cada etapa.

Por ello, durante el desarrollo del sistema invasomal fue necesario realizar ajustes progresivos para mejorar la homogeneidad de la dispersión, seleccionar las condiciones más reproducibles y descartar aquellas formulaciones que presentaron signos de inestabilidad, agregación o distribución amplia de tamaño.

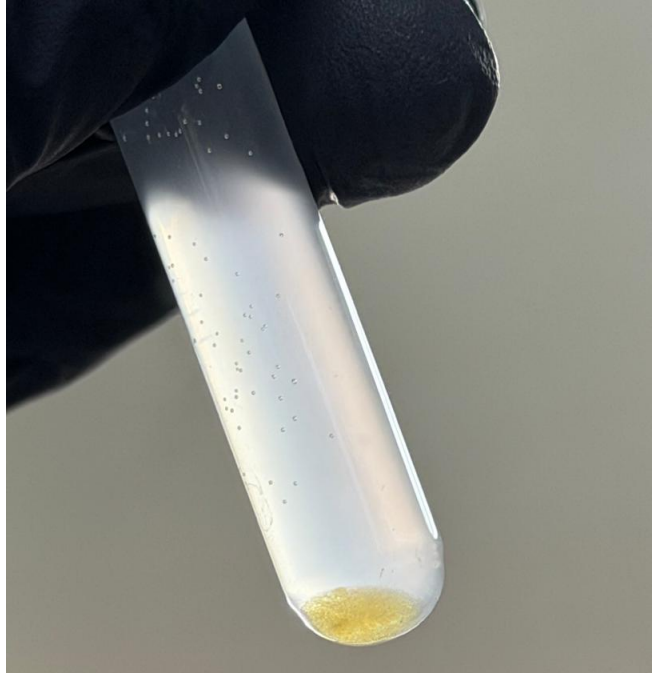
Diagrama ilustrado de la preparación de invasomas



Fotografía del microscopio de la linezolid



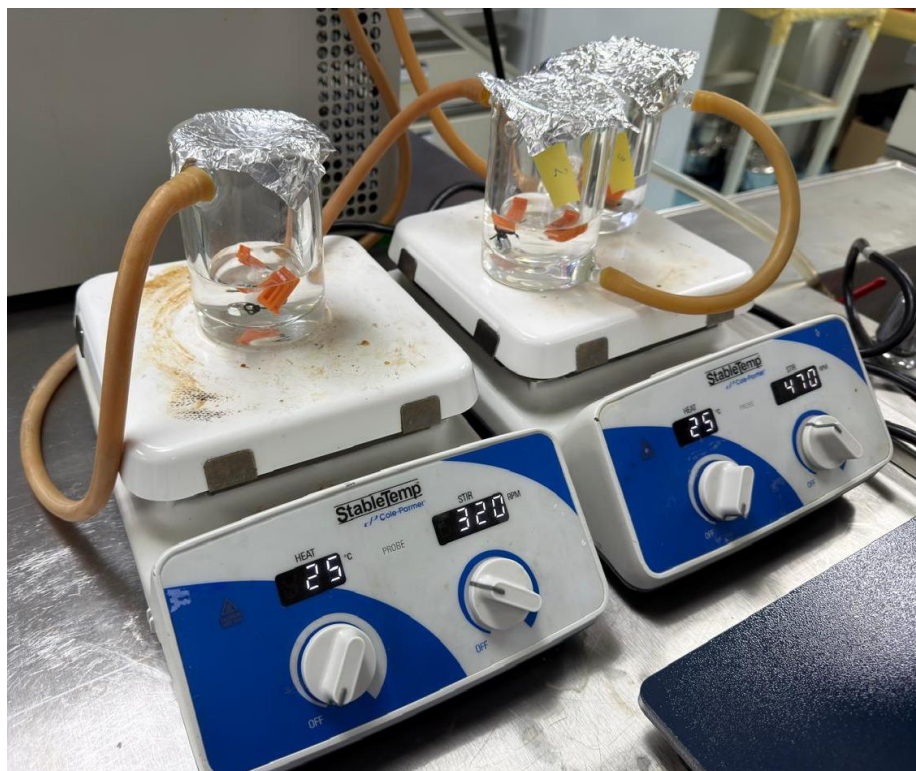
Fotografía de la ruptura del sistema con diclorometano



Uso de pinzas para la diálisis



Equipo montado para la diálisis



Muestras liofilizadas para el IR



Formulación de invasoma terminado

