



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**DISEÑO, ELABORACIÓN, Y CARACTERIZACIÓN DE
MICROPARTÍCULAS DE SEMDDS (SISTEMAS DE
LIBERACIÓN DE FÁRMACOS AUTO-
MICROEMULSIONABLES) CARGADAS CON LOS
ALCALOIDES TOTALES DE *Banisteriopsis caapi*.**

Tesis de Grado Previa la obtención del título de:

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

AUTOR: HERNÁN JAVIER CHUQUIMARCA CASTILLO

TUTOR: BQF. Diego Vinueza T. M.Sc.

RIOBAMBA – ECUADOR

2015

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: **“DISEÑO, ELABORACIÓN, Y CARACTERIZACIÓN DE MICROPARTÍCULAS DE SEMDDS (SISTEMAS DE LIBERACIÓN DE FÁRMACOS AUTO-MICROEMULSIONABLES) CARGADAS CON LOS ALCALOIDES TOTALES DE Banisteriopsis caapi.”** de responsabilidad del señor egresado Hernán Javier Chuquimarca Castillo, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Nancy Veloz DECANA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS	-----	-----
Dra. Ana Karina Albuja Landi DIRECTOR DE LA ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA	-----	-----
BQF. Diego Vinueza T. M.Sc. DIRECTOR DE TESIS	-----	-----
Dra. Susana Abdo MIEMBRO DE TRIBUNAL	-----	-----
Coordinador. SISBIB - ESPOCH	-----	-----

NOTA DE TESIS ESCRITA -----

Yo, Hernán Javier Chuquimarca Castillo, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta tesis, y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

HERNÁN JAVIER CHUQUIMARCA CASTILLO

AGRADECIMIENTO

A Dios y mis padres por darme la vida, gracias a su bendición y sus consejos me ayudaron a culminar una etapa más en mi vida profesional, a mis familiares y amigos porque juntos hicieron que fuera una experiencia única enriqueciéndome como persona.

Agradezco a mi tutor BQF. Diego Vinueza T, M.Sc, y colaborador BQF. Karen Acosta León. M.Sc, quienes a lo largo de este tiempo me brindaron su apoyo constante, junto a su paciencia y enseñanzas esta investigación puedo salir adelante.

Al BQF. Carlitos Pazmiño, M.Sc. gracias a sus conocimientos me ayudo a formular el tema para realizar esta investigación.

Y a todos quienes estuvieron preocupados en la ejecución de esta investigación

Hernán

DEDICATORIA

A Dios, por que eres el camino que orienta mi vida y me ilumina siendo luz de verdad, a la siempre Virgen María con su manto me protege día a día, San Juan Bosco maestro y amigo me da fortaleza para ser hombre de bien en esta sociedad.

A mis padres quienes velan por mi educación y junto a sus enseñanzas y amor son el apoyo de cada día. A Pauli, Alfre mis hermanos por que siempre cuidan de su hermano menor, son mi mayor ejemplo y apoyo para seguir luchando y superar cada reto de mi vida.

A toda mi familia porque de una u otra manera me dieron su apoyo incondicional. A mis abuelitos, Cesar, Leli, Chela que desde el cielo cuidan de mi y Beto que sigue junto a nosotros.

Hernán

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

ÍNDICE DE ANEXOS

RESUMEN

INTRODUCCIÓN

1.	MARCO TEÓRICO	1
1.1	Banisteriopsis caapi	1
1.1.1	<i>Descripción general</i>	1
1.1.2	<i>Estudios farmacológicos</i>	2
1.1.3	<i>Efectos en el organismo</i>	2
1.1.4	<i>Intoxicaciones</i>	2
1.1.5	<i>Composición química</i>	3
1.2	Harmina y Derivados	3
1.2.1	<i>β-Carbolinas</i>	4
1.2.2	<i>Importancia de la solubilidad de un fármaco</i>	4
1.3	Sistemas de Liberación de Fármaco Auto-microemulsionables (SMEDDS).	4
1.3.1	<i>Ventajas de SMEDDS</i>	5
1.3.2	<i>Factores que afectan SMEDDS</i>	6
1.3.2.1	<i>La polaridad de la fase lipídica</i>	7
1.3.3	<i>Diagramas pseudo-ternarios</i>	7
1.3.4	<i>Aspectos de formulación</i>	8
1.4	Formulación de SMEDDS	8
1.5	Aceite	9
1.5.1	<i>Emulsionante</i>	9
1.5.2	<i>Surfactantes</i>	9
1.5.3	<i>Los Co-solventes</i>	10

1.6	SMEDDS para Medicina Herbal Tradicional	11
2.	PARTE EXPERIMENTAL	12
2.1	Lugar de Investigación	12
2.2	Materiales y Reactivos	12
2.2.3	<i>Alcaloide estándar</i>	12
2.2.4	<i>Material de laboratorio</i>	13
2.2.5	<i>Reactivos</i>	13
2.3	Equipos	14
2.5	Técnicas y Métodos	14
2.5.1	<i>Extracción, aislamiento e identificación de los alcaloides totales de Banisteriopsis caapi (Ayahuasca).</i>	15
2.5.1.1	<i>Extracción de la fracción alcaloidea de Banisteriopsis caapi (Ayahuasca).</i>	15
2.5.2	<i>Aislamiento e identificación de la fracción alcaloidea de Banisteriopsis caapi (Ayahuasca).</i>	16
2.5.3	<i>Estudios de solubilidad de los alcaloides totales expresados como harmina en diversos aceites, tensioactivos y cotensioactivos.</i>	18
2.5.4	<i>Preformulación conteniendo la fracción alcaloidea de Banisteriopsis caapi (Ayahuasca), mediante un diagrama de fase pseudoternario</i>	19
2.5.5	<i>Estudios de estabilidad y evaluación de SMEDDS.</i>	20
2.5.5.1	<i>Inspección visual</i>	20
2.5.5.2	<i>Robustez</i>	20
2.5.5.3	<i>Autoemulsificación y prueba de dispersabilidad</i>	21
2.5.5.4	<i>Determinación del contenido de drogas</i>	21
2.6	Formulación y Encapsulación del Sistema Auto-microemulsionable Conteniendo los Alcaloides Totales Expresados como Harmina.	21
2.5.5.5	<i>Ensayo de disolución con la mejor formulación de SMEDDS</i>	22
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
3.1	Extracción, Aislamiento e Identificación de los Alcaloides Totales de Banisteriopsis caapi.	23
3.1.1	<i>Comprobación de la extracción de la fracción alcaloidea de banisteriopsis caapi, mediante cromatografía de capa fina (TLC)</i>	23

3.1.2	<i>Determinación cuantitativa de alcaloides en el extracto metanólico por medio de los Ensayos de Dragendorff, Mayer.</i>	24
3.1.3	<i>Comprobación con el estándar de harmina de la fracción alcaloidea de</i>	25
3.1.4	<i>Realización de un barrido espectral UV, elaboración de la curva de calibración con el estándar de harmina 98 % de pureza.</i>	26
3.2	Formulación de <i>Banisteriopsis caapi</i> SMEDDS	30
3.2.1	<i>Estudios de solubilidad en diversos aceites, tensioactivos y cos</i>	30
3.2.2	<i>Preformulaciones de SMEDDS que contienen harmina la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (Ayahuasca), mediante un diagrama de fase pseudoternario</i>	31
3.2.3	<i>Realización de las preformulaciones conteniendo la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (Ayahuasca), mediante un diagrama de fase pseudoternario</i>	33
3.2.4	<i>Formulación y optimización SMEDDS cargado con la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (Ayahuasca).</i>	36
3.3	Estudios de Estabilidad y Evaluación de SMEDDS	34
3.3.1	<i>Inspección visual</i>	34
3.3.2	<i>Robustez</i>	34
3.3.3	<i>Autoemulsificación y prueba de dispersabilidad</i>	34
3.3.4	<i>Determinación del contenido de harmina</i>	39
3.4	Realización y encapsulación del sistema auto-microemulsionable conteniendo harmina la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (Ayahuasca).	40
3.4.1	<i>Diseño, formulación de SMEDDS por medio del ensayo de disolución del mejor sistema auto micro emulsionable formulado</i>	41
4	CONCLUSIONES	41
	RECOMENDACIONES	42
	BILIOGRAFIA	
	ANEXOS	

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

AT	Alcaloides totales
°C	Grados Celsius
cm	Centímetros
SH	Estándar de Harmina
FS	Fin del solvente
GI	Gastro Intestinal
HCL	Ácido clorhídrico
S / COS	Solvente / Co – Solvente
LOG P	Logaritmo de permeación
min	Minutos
mL	Mililitros
nm	Nanómetros
P	Coefficiente de reparto
EH	Extracto de Harmina
pH	Potencial de Hidrógeno
Rf	Franja de referencia
RPM	Revoluciones por minuto
SH	Estándar de Harmina
SMEDDS	(Sistemas de liberación de fármacos auto-microemulsionable)
°T	Temperatura
TLC	Cromatografía en capa fina
μL	Microlitro
UV	Ultravioleta

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1-2.	Preparación para Cuantificación de Harmina 98% de pureza por Espectroscopia UV, 242 nm.	18
Cuadro 2-2.	Preparación de la Formulación para los Estudios de Solubilidad.	19
Cuadro 3-2.	Preparación de combinaciones para la preformulación de microemulsión óptima.	19
Cuadro 4-3.	Refencia de los Rf dominantes en <i>Banisteriopsis caapi</i> por medio de un TLC.	24
Cuadro 5-3.	Pruebas realizadas para el tamizaje fitoquímico.	24
Cuadro 6-3.	Medición de los Rf de la muestra y del estándar de harmina.	26
Cuadro 7-3.	Cálculos y resultados cuantificación de los alcaloides totales expresados como harmina por espectroscopia UV, 242 nm.	27
Cuadro 8-3.	Datos del ensayo de solubilidad de los diversos aceites, tensioactivos y cotensioactivos.	30
Cuadro 9-3.	Evaluaciones visibles de SMEDDS con su formulación optima, luego de las diferentes pruebas: grado de visibilidad, estabilidad, dilución, auto – emulsificación, separación de fases, contenido de droga, precipitación, de la microemulsión formada.	35
Cuadro 10-3.	Cantidad de alcaloides totales expresados como harmina contenido en 10 capsula.	37
Cuadro 11-3.	Medición de las absorbancias para determinar la cantidad liberada de alcaloides totales expresados como harmina en distintos tiempos de muestreo.	37

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1-3.	Barrido espectral del estándar de harmina 98 % de pureza (Batch cpc20140312). 1ppm.	27
Gráfico 2-3.	Barrido espectral del extracto óptimo de la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> .	28
Gráfico 3-3.	Barrido espectral del estándar de harmina 98 % de pureza (Batch cpc20140312). Diluido a 100 ml/ 1ppm.	28
Gráfico 4-3.	Barrido espectral del extracto de la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> . Diluido a 100 ml.	29
Gráfico 5-3.	Elaboración de la curva de calibración con el estándar de harmina 98 % de pureza.	29
Gráfico 6-3.	Barrido espectral de la auto-microemulsión y la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> , diluido a 0.4 ppm.	36
Gráfico 7-3.	Cantidad liberada de los alcaloides totales expresados como harmina en el ensayo de disolución de las capsulas de gelatina contiendo el sistema auto micro emulsionable.	38

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1.	Planta vegetal de <i>Banisteriopsis caapi</i> (ayahuasca)	56
Fotografía 2.	Materia prima de <i>Banisteriopsis caapi</i> (ayahuasca)	56
Fotografía 3.	Estándar de harmina 98% de pureza (batahcpc20140312)	56
Fotografía 4.	Proceso de extracción de la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	57
Fotografía 5.	Comparación cromatográficas entre la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> y el estándar de harmina	58
Fotografía 6.	Disoluciones para la realización de la curva de calibración de la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	58
Fotografía 7.	Ensayo de solubilidad de los diferente excipientes conteniendo la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	59
Fotografía 8.	Ensayo para encontrar la formulación exacta de la automicroemulsión	59
Fotografía 9.	Ensayo de estabilidad a 40- 60 °C, separación de fases, precipitación, grado de visibilidad, auto – emulsificación, de la microemulsión formada.	59
Fotografía 10.	Formación optima de la auto – microemulsión, conteniendo la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (harmina)	60
Fotografía 11.	Realización del sistema auto–microemulsionable, y celulosa microcristalina conteniendo la fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i> (harmina)	60
Fotografía 12.	Proceso de encapsulación conteniendo sistema auto microemulsionable	61
Fotografía 13.	Ensayo de disolución final	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1-1.	<i>Banisteriopsis caapi</i> (AYAHUASCA)	1
Figura 2-1.	Estructura química de la harmina	3
Figura 3-3.	Cromatografía extracción del alcaloide pH 10	22
Figura 4-3.	Cromatografía en Placa	25
Figura 5-3.	M: Muestra del extracto metanólico; SH: Estándar de Harmina	25
Figura 7-3.	Diagramas de fase pseudo-ternario de las formulaciones aceite y mezcla de tensioactivo, Co-tensioactivo.	32

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A:	Certificación del control de calidad del estándar de harmina 98 % de pureza (Batch cpc20140312).	50
Anexo B:	Identificación del producto ácido oleico de sigma- aldrich.	51
Anexo C:	Identificación del producto Miristato de isopropilo de sigma- aldrich.	52
Anexo d:	Identificación de la sustancia Tween ® 80 de sigma- aldrich.	53
Anexo E:	Identificación del producto Span ® 60 de sigma- aldrich.	54
Anexo F:	Identificación del producto Di (ethylene glycol) ethyl ether, sigma- aldrich.	55
Anexo G:	Evidencias fotografías	56

RESUMEN

Se realizó el diseño, desarrollo y elaboración de un sistema de liberación de fármaco auto-microemulsionables (SMEDDS), con la finalidad de vehicular la harmina presente en la fracción alcaloide de *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca). Esta alternativa tecnológica se ha realizado con miras a mejorar la solubilidad acuosa del alcaloide; y por ende su potencial de biodisponibilidad. La extracción y aislamiento de la fracción alcaloide de *Banisteriopsis caapi*, se realizó por medio de un equipo Soxhlet usando metanol como solvente extractivo y posteriormente una separación líquido-líquido mediante solventes de distinta polaridad al pH óptimo de extracción de 10. A través de los estudios cromatográficos y espectroscópicos se corroboró que el componente mayoritario de la fracción alcaloide es harmina. Luego, se optimizó la microemulsión mediante pruebas de solubilidad y la construcción de diagramas de fase pseudoternarios. Se procedió a la elaboración de 300 mL de auto microemulsión vehiculizando los alcaloides totales expresados como harmina. La microemulsión fue cargada en un carrier (avicel pH 102), y luego de un acondicionamiento adecuado fue dosificada en una cápsula de gelatina dura. A la microemulsión le fueron realizadas pruebas de estabilidad basadas en inspección visual, determinación de contenido, robustez, dispersabilidad. Los resultados determinaron que se solubilizo en un 80%; obteniendo (2 mg de los alcaloides totales expresados como harmina solubilizados por mL de microemulsión), exhiben una mejora significativa de la solubilidad del alcaloide, puesto que se considera que la harmina es insoluble en agua. Finalmente se obtuvo un fármaco innovador mostrando una diferencia significativa al aplicar el método SMEDDS conteniendo los alcaloides totales expresados como harmina, logrando de esta manera una mejoría de su potencia de biodisponibilidad, determinada por el tamaño de partícula en una microemulsión. Se recomienda el desarrollo galénico y en Industria Farmacéutica, utilizando este vegetal ancestral amazónico (ayahuasca) como materia prima para la prevención de enfermedades neurodegenerativas existentes en la actualidad.

SUMMARY

The design, development and elaboration of a system of drug release self-microemulsifiable Self Micro Emulsifying Drug Delivery System (SMEDDS), was made with the purpose to transport the harmine present in the alkaloid fraction of *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca). This technology alternative has been carried out in order to improve the alkaloid watery solubility, and therefore its potential bioavailability. The extraction and isolation of a Soxhlet equipment using methanol as a solvent extraction and subsequently a fluid liquid separation using solvents of different polarity to the optimum pH of removal of 10. The chromatographic and spectroscopic studies confirmed that the main component of the alkaloid fraction is harmine. Then, the micro-emulsion was optimized using solubility test and the construction of pseudo-ternary phase diagrams. It proceeded to prepare 300 mL of self micro-emulsion to transport the harmine alkaloid. The micro-emulsion was charged in a carrier (avicel pH 102), and then a proper conditioning was dosed in a hard gelatin capsule. Stability tests were made to the micro-emulsion base don visual inspection, content determination, strength, dispersibility. The results determined that it was solubilized in a 80%; getting (2 mg of harmine solubilized per ml of micro-emulsion), and exhibited a significant improvement in the alkaloid solubility, since it is considered that the harmine is insoluble in water. Finally an innovative drug was achieved, showing a significant difference in applying the SMEDDS method containing the harmine alkaloid, archieving of this way an improvement in its power of bioavailability, determined by the size of particles in a micro-emulsion. It is recommended pharmaceutics development and pharmaceutical industry, using this ancient Amazonian plant (ayahuasca) as a raw material for thhe prevention of neurodegenerative diseases existing at present.

INTRODUCCIÓN

Banisteriopsis caapi (Ayahuasca), es una especie vegetal que forma parte de un popular brebaje sagrado, consumido ampliamente en la zona norte de América del sur. Esta especie crece en el valle del Amazonas, al este de Ecuador (Schultes, R. 1982). Presenta en su tallo alcaloides beta carbolínicos. Entre estos alcaloides, encontramos a dos elementos representativos, caracterizados por una elevada permeabilidad pero escasa solubilidad, la harmina y harmalina.

La harmina y harmalina poseen múltiples actividades farmacológicas contra enfermedades neurodegenerativas como Parkinson, Alzheimer, controlando perturbaciones neurológicas, episodios depresivos, temblorosos, etc. (De la Cuba, 1994).

Un importante inconveniente de estos alcaloides la harmina y harmalina es su escasa solubilidad en el agua (Dalton, 1979). Este hecho ha dificultado sus usos en diversos tratamientos beneficiosos para el ser humano, limitando su amplio uso farmacológico, lo que conlleva a buscar alternativas para solucionar este problema de biodisponibilidad.

Al mejorar la escasa solubilidad en agua y controlar el tamaño de la molécula, los componentes principales de la harmina presentan un aumento en la eficacia terapéutica, mejorando su absorción, entrega y eliminación de fármaco. (Cuckburn, 1997)

Como solución a los problemas de solubilidad de fármacos, se han diseñado los sistemas de liberación de fármacos auto-microemulsionable (SMEDDS), es un método que además de mejorar la solubilidad, brinda estabilidad termodinámica y aumenta la biodisponibilidad oral de drogas poco solubles en agua. SMEDDS se las define como mezclas isotrópicas de aceites, tensioactivo, cosurfactante, cuando se presentan en medio acuosos con agitación suave o motilidad del tracto gastrointestinal.

Además de escenarios óptimos, se da origen a una microemulsión de aceite en agua con un tamaño de gotícula menor a 100 nm, esto proporciona una zona grande de superficie interfacial, favorable para la liberación de la droga y la absorción, suministrados en cápsulas de gelatina blanda. (Hymaa y Abbulu, 2013)

Delante de este contexto, SMEDDS es un método interesante, viable y adecuado en la mejora las propiedades del alcaloide harmina, presente en *B. caapi*, y puede ser aplicable a más especies que presentan metabolitos secundarios con limitantes en su solubilidad y biodisponibilidad; con el fin de mejorar los procesos para la fabricación de fármacos innovadores.

Con lo anotado, en el presente trabajo se plantearon los siguientes objetivos de investigación:

General

Desarrollar, elaborar y caracterizar las micropartículas de SMEDDS cargadas de los alcaloides totales de *Banisteriopsis caapi* permitiendo la asimilación oral y digestiva de harmina (alcaloide) en el organismo humano.

Específicos

1. Extraer los alcaloides totales de *Banisteriopsis caapi* (*Ayahuasca*), mediante la técnica de reflujo utilizando el equipo soxhlet.
2. Efectuar las pruebas de preformulación de SMEDDS cargados de los alcaloides totales de *Banisteriopsis caapi*, utilizando un diagrama de fase pseudoternario.
3. Diseñar la formulación óptima de micro SMEDDS cargado del extracto de alcaloides total presentes en *Banisteriopsis caapi*.
4. Evaluar las características fisicoquímicas de las micropartículas de SMEDDS, que serán formuladas en el aumento de la biodisponibilidad de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1 *Banisteriopsis caapi*

1.1.1 *Descripción general*

Banisteriopsis caapi pertenece a la familia Malpighiaceae y al género *Banisteriopsis*, Dicho género se encuentra distribuido en zonas tropicales de América del Sur, existe una variedad de 92 especies localizadas principalmente en Brasil, Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú (Mabberley, 1997).

Banisteriopsis caapi tiene varios tallos leñosos, ramificados. Está conformada por una liana leñosa de la cuenca amazónica, se la conoce popularmente como un ingrediente de una bebida sagrada Ayahuasca, ampliamente utilizado en toda la Amazonía como té medicinal para la curación y la exploración espiritual. (Schultes, 1982).

Este brebaje alucinógeno es preparado en infusión de *Banisteriopsis caapi*, usando mayoritariamente sus tallos y hojas porque almacenan los componentes activos. Para potenciar el efecto alucinógeno de este brebaje se añaden otras plantas como: *Banisteriopsis inebrians* y *Peganum harmala*, (Naranjo, 1986, págs. 117).

Otro género de plantas utilizadas en esta bebida son las solanáceas, comúnmente las especies de *Nicotiana*, especies *Brugmansia* y especies *Brunfelsia* (Schultes y von Reis 1982). Estas plantas aportan diferentes componentes químicos a la bebida.

La corteza seca de *Banisteriopsis caapi* presenta en altas concentraciones la mayoría de los marcadores químicos y compuestos bioactivos.

Figura 1-1: *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca)



Fuente: Schultes R, 1976 Ethnobotany Hallucinogenic Plants

1.1.2 Estudios farmacológicos

La utilidad de *Banisteriopsis caapi* tiene gran influencia para aliviar los síntomas de trastornos neurológicos, incluyendo la enfermedad de Parkinson.

Investigadores de medicina moderna especializados en el chamanismo, trabajan en terapias con ayahuasca, conjuntamente con chamanes, indígenas, y médicos psiquiatras estudian a fondo las formas y mecanismos de acción de los alcaloides activos de la ayahuasca contra trastornos neurológicos. (Dalton, 1980).

Otra investigación ha sugerido que un factor significativo para desarrollar anormalidades neurológicas es la sobreexpresión de DYRK1A, y una proteína microtubular tau, relacionada con la aparición prematura de la enfermedad de Alzheimer. A su vez se demostró que es importante DYRK1A en la fosforilación de la proteína tau. Con lo dicho se plantea una posibilidad de que DYRK1A puede ser un participante esencial en la disfunción de la patología tau tau de la enfermedad de Alzheimer. Entonces aquí lo importante del alcaloide β -carbolina, harmina radica en que se ha informado que es un inhibidor de alta afinidad de la actividad quinasa DYRK1A, lo que apunta a que la harmina lograría alterar la fosforilación de tau previniendo la enfermedad de Alzheimer. (Frost y Meechoovet, 2011)

1.1.3 Efectos en el organismo

Cuando se usa la ayahuasca para fines médicos, el chamán es la persona indicada para recomendar una dosis, no el paciente; debido a que esta bebida tiene muchos efectos en el ser humano, tanto mentales como físicos. La ayahuasca provoca alteraciones en la conciencia, incluyendo cambios en la percepción del tiempo y del espacio, sinestesia, despersonalización y una mayor sugestionabilidad. Ayahuasca también trae un estado de inmovilidad y falta de coordinación de movimientos. (Cuckburn 1997).

Estos episodios pueden ser agradables o dolorosos. William Borroughs, alumno de Harvard, contó que la experiencia con ayahuasca había sido similar a una patada de mula en la cabeza (Cuckburn 1997).

1.1.4 Intoxicaciones

El consumo de ayahuasca puede provocar la presencia de náuseas, vómitos y diarrea ocasional, palidez, dilatación en pupilas, también puede darse una intoxicación física de alto riesgo cuando es mezclada con otros medicamentos. Aunque no está claramente definida esta sintomatología, se la estudia en la Fundación de Neuropsicología del Hospital Sant Pau, en Barcelona-España, para

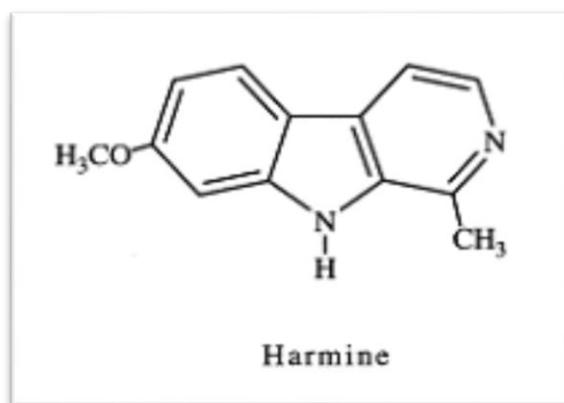
revelar la hepatotoxicidad, punto importante sobre los efectos fisiológicos de la Ayahuasca en el cuerpo humano (Fernández, 1992).

1.1.5 Composición química

Los componentes químicos de *Banisteriopsis caapi* que provocan el efecto alucinógeno son los alcaloides beta-carbolinos presentes en la corteza. *Banisteriopsis caapi* contiene principalmente harmina, además, los derivados β -carbolina, tetrahidroharmina, y harmalina (Callaway, 1996).

Cabe añadir que los componentes químicos de la ayahuasca y la fuente de las plantas utilizadas en su elaboración han sido bien caracterizados (Kenna, et al, 1984; Rivier y Lindgren, 1972).

Figura 2-1: Estructura química de la harmina



Fuente: PEREZ DE LOS COBOS J, 2006 TRATADO SET DE TRANSTORNOS ADICTIVOS,
Pag 322

1.2 Harmina y Derivados

Un grupo representativo de alcaloides son las betas carbolinas representadas por harmina, harmalina y tetrahidroharmina (Taiz & Zeiger, 2002, págs. 550-569).

Este grupo es considerado como sustancias alucinógenas por que actúan modificando temporalmente la apreciación real del pensamiento y controlando estados de animo (Rodríguez, 2005, pág. 57).

La harmina y otros inhibidores de la MAO paran la acción de las enzimas monoaminas oxidasas, impidiendo la destrucción de sus neurotransmisores.

El grupo de alcaloide β -carbolinas presenta un problema su baja solubilidad en agua, debido a que son moléculas liposolubles, disminuyen la absorción y eliminación en el organismo (Velasco & Álvarez, 1988, págs. 2-60).

1.2.1 β -carbolinas

Por sí mismos, pueden presentar algún efecto de psicoactividad, sin embargo, no se tiene un dato exacto que pueda caracterizar el grado de psicoactividad de las β -carbolinas como " alucinógeno " o " psicodélico " (Shulgin y Shulgin, 1997).

La sensación de sedación que producen las β -carbolinas, se da cuando impiden la desanimación de la serotonina, otra acción visible de las beta-carbolinas es que puede aumentar los niveles cerebrales de serotonina.

1.2.2 Importancia de la solubilidad de un fármaco

Es de gran importancia la solubilidad de un fármaco ya que determina la absorción y eliminación del mismo, según estas características se tendrá una forma farmacéutica idónea con aceptable biodisponibilidad independientemente sea sólida o líquida.

El efecto que presentan los fármacos no dependen solo de las propiedades o respuestas terapéuticas en el organismo (Alexander, Storer, 2010, págs. 65-80). Es también de vital importancia las propiedades farmacocinéticas del mismo. Según estos parámetros sabremos cómo se va a desenvolver el fármaco en su biodisponibilidad, efectividad y toxicidad (Avendaño, 2001, págs. 90-101).

Por esta razón, es necesaria la creación de un vehículo que permita mejorar la baja solubilidad para aprovechar al máximo los efectos terapéuticos de *Banisteriopsis caapi*, una solución a este problema se puede dar por medio de los sistemas de liberación de fármaco auto-microemulsionables (SMEDDS).

1.3 Sistemas de liberación de fármaco auto-microemulsionables (SMEDDS)

Se define como mezclas de soluciones isotrópicas y termodinámicamente estables que consisten en aceite, agentes tensioactivos, cotensioactivos y el fármaco o mezclas de drogas que forman rápidamente microemulsión de aceite en agua (Liu, Tian, 2012), produciéndose cuando están expuestas a medios acuosos en mezcla mediante agitación suave. La motilidad del estómago y el intestino proporciona la agitación requerida para la auto microemulsificación *in vivo* (Kumar y Shishu, 2014).

Este método ha alcanzado gran relevancia ya que es prometedor porque nos brinda una solución cuando los fármacos presentan baja solubilidad, además mejora la absorción lenta del fármaco y su potencial de biodisponibilidad oral (Hymaa y Abbulu, 2013).

La absorción de los medicamentos depende de la velocidad de disolución, la cual es importante porque limita la biodisponibilidad de numerosos fármacos con baja solubilidad en agua (Josefa y Bianco-Peled, 2013). La ventaja que tiene SMEDDS es presentar la droga de forma microemulsionada, permitiendo un aumento de la eficiencia en el transporte de fármacos a través de la capa acuosa intestinal que conducirá a una biodisponibilidad mejorada (Liu, Tian, Zhang, 2012).

Al formular un sistema de liberación de fármaco auto-microemulsionables SMEDDS, se debe seleccionar el vehículo, tensioactivos de acuerdo a su capacidad de solubilización con el principio activo, controlando de esta manera el tamaño de gota. SMEDDS presenta el fármaco en gotas manométricas permitiendo gran área interfacial para la dilución de la droga (Sermkaew y Wichan Ketjinda, 2013), las formulaciones que se planteen deben realizarse por medio de un diagrama de fases pseudoternario para encontrar la formulación óptima.

Al encontrar la formulación idónea con los componentes específicos de SMEDDS se mejora el transporte linfático y permeabilidad gastro intestinal, brindando un aumento de la biodisponibilidad de fármacos hidrófobos (Hymaa y Abbulu, 2013). Un punto clave que se debe considerar en el desarrollo de una formulación de SMEDDS es la unión del fármaco y el tamaño de gota de la microemulsión de aceite/agua, porque al ser diluido en el tracto gastrointestinal, si no se encuentra en proporciones optimas, el medicamento podría precipitar, dando por resultado un rendimiento pobre en las pruebas *in vivo*.

Para prevenir esta precipitación, se emplea por lo general un alto nivel de tensioactivo para los SMEDDS, que contrariamente a lo que se pensaría, estos tensioactivos no producen efectos secundarios gastrointestinales, así como no se ve afectado en una reducción de fármaco libre y en su tasa absorción (Wu, Wang y Li, 2005).

1.3.1 Ventajas de SMEDDS

- Su fabricación es factible y existe facilidad de llevarlo a gran escala, esta es una de las ventajas más importantes que hace que SMEDDS sea único en comparación con otros sistemas de

administración de fármacos como dispersiones sólidas, liposomas, nanopartículas, etc (Kyatanwar, Kisan, y Vilasrao, 2009).

- SMEDDS se propagan de manera fácil en el tracto gastrointestinal, la agitación necesaria para formar la auto-emulsificación se da por medio de la motilidad digestiva del estomago y el intestino (Josefa y Bianco-Peled, 2013).
- Un punto de gran importancia de este método, es que a comparación de otros la comida es un factor que limita y afecta el rendimiento terapéutico de la droga en el cuerpo pero SMEDDS son una bendición para los fármacos (Suesskind-Schwendi y Hirt, 2013). Varios trabajos de investigación especifican que, el rendimiento de SMEDDS es independiente de los alimentos ingeridos y, SMEDDS oferta reproducibilidad de perfil en plasma disponible.
- En SMEDDS el fármaco puede penetrar fácilmente ya que se encuentra en forma de micro-emulsión, lo que permite que no se digiera necesariamente antes de que se absorba el fármaco (Kyatanwar, Kisan, y Vilasrao, 2009).
- De todas estas ventajas se destaca una propiedad única en comparación con los otros sistemas de administración de fármacos, haciendo a SMEDDS superior y es su capacidad para entregar macromoléculas como péptidos, hormonas, sustratos e inhibidores de la enzima además de ofrecer protección contra hidrólisis enzimática (Sun y Zhai, 2013).
- Por ultimo SMEDDS proporcionan la ventaja de contener mayor capacidad de carga de fármaco en comparación con la solución de lípidos convencionales y no da un aumentando en la solubilidad de fármacos poco solubles (Kyatanwar, Kisan, y Vilasrao, 2009).

1.3.2 Factores que afectan SMEDDS

La naturaleza del fármaco y la dosis que va a ser administrada en dosis muy altas no son adecuados para SMEDDS a menos que presenten muy buena solubilidad en uno de sus componentes utilizados en la formulación de SMEDDS (Lu, Wang, Zhao, Zhang, 2008).

Los fármacos que presentan una solubilidad limitada en agua, (por lo general con los que tiene un valor de log P de aproximadamente 2), son más difíciles de administrar por SMEDDS.

La capacidad de SMEDDS para mantener el fármaco en forma solubilizada está fuertemente influenciada por la solubilidad del fármaco en la fase de aceite (Liu, Tian 2012). Por otra parte si S/COS está contribuyendo la mayor medida en la solubilización de la droga entonces podría haber un riesgo de precipitación, como dilución de SMEDDS que dará lugar a la reducción de la capacidad disolvente del agente tensioactivo o co-tensioactivo.

Mediciones de la solubilidad de equilibrio se pueden realizar para anticipar los posibles casos de la precipitación en el intestino.

Un estudio de Pouton revela que tales formulaciones pueden tomar hasta cinco días para alcanzar el equilibrio y que la droga puede permanecer en un estado supersaturado por hasta 24 horas después del evento inicial de emulsificación (Yao y Li, 2010). Por lo tanto, podría argumentarse que estos productos no son susceptibles de causar la precipitación del fármaco en el intestino antes de que se absorba el fármaco, y de hecho que la sobresaturación en realidad podría incrementar la absorción por el aumento de la actividad termodinámica del fármaco.

1.3.2.1 *La polaridad de la fase lipídica*

La polaridad de la fase lipídica es un factor el cual debe ser considerado ya que gobiernan la liberación del fármaco a partir de las microemulsiones.

La polaridad de la gotita se rige por la longitud de cadena y grado de insaturación del ácido graso, el peso molecular de la parte hidrófila y la concentración del emulsionante (Zvonar, Berginc y Kristl, 2010). De hecho, la polaridad refleja la afinidad del fármaco para el aceite o agua, y el tipo de fuerzas formadas. La alta polaridad promoverá una rápida tasa de liberación del fármaco en la fase acuosa (Shi, Jun Xue y Bo Wang, 2014). Por tanto la velocidad de liberación de la droga esta en dependencia de la polaridad del aceite o vehículo utilizado, debido a esto se debe elegir en dependencia de nuestro principio activo.

1.3.3 *Diagramas pseudo-ternarios*

Para obtener una formulación óptima de SMEDDS, se debe lograr el equilibrio de los sistemas aceite, surfactante, agua, esto se consigue realizando un diagrama pseudo-ternario utilizado ampliamente en la elaboración de formas farmacéuticas (Salager y Anton, 1991). Estos diagramas vienen representados por un triángulo equilátero, de tal manera que cada lado representa un sistema.

Para representarlos primero se procede a conocer el comportamiento de las distintas fases dentro de un sistema, las cuales deben mostrar homogeneidad, a estos se los agrupa de forma que cada variable ya haya sido analizadas previamente. Por ejemplo todos los vehículos en una fase, los tensioactivos en otra y al final el agua (Salager y Anton, 1991). Con estos gráficos lograremos tener la formulación dentro de la zona de microemulsión.

1.3.4 Aspectos de Formulación

En la formulación de SMEDDS para que se denomine como una mezcla óptima al ingresar en el tracto gastro intestinal inmediatamente debe formar una dispersión clara y a su vez mantenerse estable en la dilución (Shi, Jun Xue y Bo Wang, 2014). Las dispersiones mencionadas son micro o nano emulsiones, dependiendo de como se de la formulación de SMEDDS. Esto se alcanza cuando están formados mayoritariamente por excipientes lipídicos, y emulsionantes capaces de solubilizar el fármaco mayoritariamente. (Li Lu y Cheng Wang, 2008). Como se sabe los fármacos formulados por medio de este método SMEDDS, su liberación se da en el tracto gastro intestinal, en el cual el agente hidrófobo debe persistir solubilizado al menos el tiempo que se da la absorción GI. Por esta razón, en la formulación original de SMEDDS también lleva un co-emulsionante

1.4 Formulación de SMEDDS

La formulación de SMEDDS se puede vehicular ya sea en cápsulas de gelatina blanda o dura las cuales son de cómoda administración y con dosis precisas.

- Una formulación típica esta constituida de:

- 1) Aceite
- 2) Tensioactivo
- 3) Co-tensioactivo, - Co-surfactante
- 4) Otros componentes.

- Entre los excipientes mas usados tenemos:

Vehículos oleosos: Acido Oleico, Labrafac, Maisine, Estol.

Agente tensioactivo: Tween ® 80 (Monooleato de polioxietilensorbitan), Cremophor ® RH40, Labrasol, Labrafil (Kalhapure y kamanchi, 2013).

Co surfactantes: Di(ethylene glycol) ethyl ether, Peg 400, Transcutol ® P

Otros: agua de uso farmacéutico, Celulosa Micro cristalina (Wei, Ye y Shang, 2011).

1.5 Aceite

En la formulación de SMEDDS el aceite es un excipiente de los más importantes ya que es el vehículo del principio activo, a de mas permite solubilizar la dosis necesaria de principio activo lipófilo, facilita la formación de la auto emulsificación y amplifica la fracción de fármaco lipofílico vehiculizado a través del sistema linfático (Reddy y Katyayani, 2011).

Se utilizan triglicéridos ya sean de cadena media y larga, con aceites de diferentes grados de saturación logrando una micro-autoemulsificación estable.

Los aceites para cocina no son usados muy a menudo debido a su pobre capacidad de disolver grandes cantidades de fármacos lipófilos. Aceites vegetales modificados o hidrolizados son los más recomendados por que forman buenos vehículos y se acoplan de mejor manera a otros excipientes, también son aptos para administración oral y presentan mejores propiedades de solubilidad del fármaco.

1.5.1 Emulsionantes

Los emulsionantes existen de diferentes tipos de origen sintético y natural estos son más seguros que los sintéticos. Sin embargo, sus capacidades de auto - emulsificación es limitada por esta razón no se emplean en una formulación de SMEDDS.

Una característica de un buen emulsionante es su alta hidrofiliidad, proporcionando excelentes propiedades de auto – microemulsión, esto ayudara para la formación inmediata de agua/aceite y la formación de gotitas (Reddy y Katyayani, 2011).

Los emulsionantes con alta hifroficidad tenemos a los glicéridos sólidos o líquidos, (Tween 80) y poli (óxido de etileno) - poli (óxido de propileno)

En dependencia de la solubilidad podremos elegir a los mejores candidatos para ser tensioactivos seguros y eficaces, a partir de estos se prosigue con los demás excipientes consiguiendo una correcta formulación.

1.5.2 Surfactantes

Diversos compuestos que demuestran propiedades surfactantes se emplear para una formulación de sistemas de auto- micro emulsión, pero los candidatos a ser agentes tensioactivos muy pocos son oralmente aceptables (Milovi, Djuris, Djekic, 2012). Comúnmente se recomienda los tensioactivos no iónicos con valores altos de balance hidrófilo – lipófilo, entre los cuales tenemos:

Surfactantes	
- Cremophor EL	- Gelucire
- Gelucire	- Labrasol
- Lutrol F 68	- Lutrol F 127
- Solutol HS 15	- Tween 20 - Tween 80

Las moléculas surfactantes se las puede clasificar dependiendo de su grupo hidrófilo dentro de la molécula. Se dividen en cuatro grupos:

1. Tensioactivos aniónicos
2. Tensioactivos catiónicos
3. Tensioactivos anfófilicos
4. Tensioactivos no iónicos

La seguridad se la debe tomar muy en cuenta al momento de elegir un agente tensioactivo (Kalhapure y Akamanchi, 2011). Con menor toxicidad tenemos los tensioactivos no iónicos que los iónicos, pero es probable un cambio reversible en la permeabilidad de la luz intestinal. Ya que comúnmente la concentración de tensioactivo oscila entre 30 y 60%, es determinante elegir la cantidad de tensioactivo correcto porque se puede producir irritación GI y el tamaño de gota será de un tamaño incorrecto.

1.5.3 *Los Co-solventes*

Para la producción de un SMEDDS óptimo se sabe que es necesario mínimo un 30% de tensioactivos, pero estos porcentajes disminuyen al incorporar en la formulación un co-tensioactivo (Sun y Zhai, 2011).

La principal función de los co-tensioactivo junto al agente tensioactivo es disminuir la tensión interfacial logrando un pequeño valor negativo. Valor que nos ayudara para formar gotas más finas, así en su estado a granel absorberá cada vez mas surfactante suficiente para que la tensión interfacial de positivo de nuevo.

Este proceso se conoce como 'la emulsificación espontánea' y forma la microemulsión.

1.6 SMEDDS para Medicina Herbal Tradicional

Existe una gran cantidad de médicos alternativos en diferentes partes del mundo, probando métodos que solucionen inconvenientes de sus componentes activos. Para la medicina alternativa es un proceso aceptado y reconocido, por que los componentes principales de las plantas ya están bien definidos y han sido estudiadas, sin embargo muchos de los principios activos que están en las hierbas ancestrales presentan una escasa solubilidad. Por tanto los esfuerzos se centran en el desarrollo de métodos innovadores, comprometiéndose a los sistemas auto-micro emulsionables como una solución vital para que estas hierbas alcancen el efecto terapéutico deseado.

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 Lugar de Investigación

La investigación se realizó en el Laboratorio de Productos Naturales, Tecnología Farmacéutica y Laboratorio de Análisis Instrumental de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

2.2 Materiales y Reactivos

2.2.1 *Material vegetal*

Para la obtención de los extractos de alcaloides se empleó la especie vegetal *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca). La especie se obtuvo en los jardines botánicos y medicinales “Mushu Yura” en la ciudad del Coca (Orellana), está ubicada en la zona norte de la Amazonía y presenta una temperatura que varía entre los 20° y 40° C, lo que le confiere un tono cálido húmedo debido a su altitud 254 m.s.n.m (Ortiz, 2013).

2.2.2 *Cosecha para obtención de la muestra*

Para obtener la muestra de *B. caapi* se debe recolectar en horas de la tarde, realizando previamente un ritual para pedir autorización a la madre naturaleza (Naranjo P., 1983).

Para esta investigación, se utilizaron los tallos secos y triturados, lo cuales se conservaron en un lugar fresco, seco y fuera del alcance de la luz, con el propósito de evitar la pérdida de los alcaloides (Fericgla J., 1998).

2.2.3 *Alcaloide estándar*

En este estudio, el alcaloide estándar empleado fue HARMINA 98 % de pureza (BATCH CPC20140312), originario de China Packbuy Co., Ltd. (Anexo 1).

2.2.4 Material de laboratorio

- Balones de aforación
- Balones esmerilados
- Embudo simple
- Embudos de separación
- Matraz Erlenmeyer
- Espátula
- Gradillas
- Guantes
- Mascarilla
- Papel aluminio
- Papel filtro
- Parafilm
- Pera de succión
- Pinzas para tubos
- Pipetas
- Piseta
- Probeta
- Puntas para pipetas
- Recipientes ámbar
- Reverbero
- Tampones
- Termómetro
- Tubos de ensayo
- Varilla de agitación
- Vasos de precipitación
- Vidrio reloj

2.2.5 Reactivos

- Acetona
- Acetato de etilo
- Ácido clorhídrico al 2% en agua
- Agua destilada

- Cloroformo
- Dietilamina
- Etanol (96%)
- Éter etílico
- Hidróxido de amonio
- Metanol
- Reactivos de Mayer y Dragendorff
- Soluciones tampón a pH: 2.0 y 7.4
- Span ® 60 Marca: SIGMA ALDRICH Procedencia: Estados Unidos
- Di (ethylene glycol) ethyl ether $\geq 99\%$ Marca: SIGMA ALDRICH Procedencia: Estados Unidos.
- Ácido oleico; Grado técnico: 90%; Marca: SIGMA ALDRICH; Procedencia: Estados Unidos.
- Miristato de isopropilo; 98%; Marca: SIGMA ALDRICH; Procedencia: Estados Unidos.
- (Monoestearato de sorbitan) Tween ® 80; Marca: SIGMA ALDRICH; Procedencia: Estados Unidos.

2.3 Equipos

- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Equipo disolutor
- Equipo de Soxhlet
- Espectrofotómetro UV
- Estufa
- Microscopio óptico
- Peachímetro
- Reverbero
- Rotavapor

2.5 Técnicas y Métodos

A continuación, se exponen los métodos y técnicas que se utilizaron para la realización de cada uno de los objetivos planteados en la investigación.

2.5.1 Extracción, aislamiento e identificación de los alcaloides totales de *Banisteriopsis caapi*.

Para la extracción de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* se ejecutó un protocolo ya existente con el objetivo de obtener de manera más eficiente y correcta los alcaloides de *B. caapi*.

2.5.1.1 Extracción de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*

▪ Obtención del extracto crudo por extracción líquido - líquido

Se realizó una extracción líquido-líquido empleando el equipo Soxhlet, se partió de 100 g de vegetal de *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca), previamente molida y se depositó en un balón de 1000 mL con 300 mL de metanol obteniendo una correlación 1:3 de planta y solvente, para la extracción exhaustiva de los alcaloides se realizó 10 enjuagues, de esta manera se garantizó que los alcaloides del vegetal se queden en el metanol.

▪ Concentración del extracto metanólico

El extracto metanólico obtenido, se procedió a concentrar a presión reducida en el rotavapor, a una temperatura no mayor a los 70° C, 150 rpm, durante 40 minutos, hasta tener un volumen de 10 mL del total del volumen inicial que contiene el extracto metanólico.

▪ Acidificación

Una vez concentrado el extracto metanólico se añadió HCL 2% (v/v) logrando una reconstitución en relación 1:3 del extracto y ácido clorhídrico y seguidamente se filtró obteniendo el extracto acuoso.

▪ Alcalinización

Una vez obtenido el extracto acuoso ácido, se realizó la variación de su pH hasta conseguir un pH igual a 10, añadiendo una solución de hidróxido de amonio concentrado gota a gota.

▪ Extracción con acetato de etilo y purificación

El extracto acuoso basicado se colocó en un embudo de separación y se procedió a añadir acetato de etilo; agitando la mezcla por 10 minutos aproximadamente para lograr así que los alcaloides de la fase acuosa se trasladen a la fase etérea. Se dejó reposar algunos minutos para que las dos fases

se separen correctamente y se recogió el extracto etéreo. Con este extracto se procedió a realizar lavados con agua alcalinizada en un embudo de separación, lo cual ayuda a obtener una fracción alcaloidea de *B. caapi* lo más pura posible.

▪ **Concentración del extracto etéreo**

Una vez obtenidas las fases etéreas ya purificadas se concentraron hasta sequedad a presión reducida en el rotavapor a una temperatura no mayor de 70 °C, 150 rpm, durante 20 minutos, obteniendo así la fracción alcaloidea de *B. caapi*.

▪ **Reconstitución de la fracción alcaloidea de *B. caapi*.**

El extracto de alcaloides presente en el balón reconstituido con 250 mL de metanol, para evitar posibles contaminaciones, y fue conservado protegido de la luz en cadena de frío hasta su próximo uso.

2.5.2 Aislamiento e identificación de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*

➤ **Determinación del proceso de extracción de la fracción alcaloidea de *B. caapi* mediante cromatografía de capa fina (TLC)**

Una vez finalizado el proceso de extracción de los alcaloides de *B. caapi*, se procedió a realizar toda una serie de ensayos con el objetivo de identificar los alcaloides presentes.

En primer lugar se llevó a cabo cromatografías en capa fina (TLC), en las que se utilizaron placas de Sílice gel de Merck 60F 254 de 10 cm x 2 cm.

Las placas fueron codificadas y se sembraron las muestras a 1 cm del borde inferior, por medio de un capilar con la cantidad suficiente de muestra del extracto. A continuación, se procedió a colocar en el sistema de solventes determinado para alcaloides de la harmina; constituido por cloroformo, acetona, dietilamina, en una relación (50:40:10).

Las placas se introdujeron las placas dentro de una cuba la cual contiene la fase móvil y se dejó correr hasta que alcanzase una altura de 2 cm cerca del final de su borde superior de la placa. Al momento que la fase móvil llegó a la altura deseada se procedió a retirar las placas de la cuba y se dejó secar a temperatura ambiente. Posteriormente, se observaron las manchas presentes en la placa por medio de la cámara cromatográfica de UV 254-365 nm, y al final las manchas se revelaron con el agente revelador Dragendorff específico para alcaloides y se calculó los R_f de cada una de las manchas.

➤ **Determinación cualitativa de alcaloides en el extracto metanólico por medio de los Ensayos de Dragendorff, Mayer.**

Para la comprobación de la presencia de alcaloides en la muestra se realizaron los ensayos de Dragendorff y Mayer. El extracto metanólico fue evaporado hasta sequedad en baño de agua, el residuo fue reconstituido con 1 mL de HCL (al 1 % en agua), y se separó en tres tubos de ensayo para proceder a realizar las pruebas correspondientes.

En el tubo uno se realizó el ensayo Dragendorff, añadiendo tres gotas del reactivo de Dragendorff; al segundo tubo se añadieron dos gotas del reactivo de Mayer; y al tubo sobrante se lo dejó como referencia.

➤ **Comprobación con el estándar de harmina y la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* mediante cromatografía.**

Una vez comprobado que los alcaloides tipo harmina se encuentran en el extracto de *B. caapi* a pH 10, se continuó con la elaboración de la cromatografía en placa preparativa.

El extracto etéreo fue reconstituido con 250 mL de metanol, se tomó 1 mL y se colocó en un balón de 25 mL previamente pesado, tarado y se aforó con metanol. Seguidamente, se preparó una solución con el estándar de harmina 98 % de pureza, en un balón de 25 mL, se tomaron 0.018 g del estándar y se aforó con metanol.

Con estas soluciones se procedió a sembrar en los extremos izquierdo estándar, derecho extracto, sobre una placa de Sílice gel 60F 254 de 10 cm x 20 cm. El sistema de solventes como fase móvil empleado fue: cloroformo, metanol, amoníaco al 10% en una relación (80:40:1.5). Como agente revelador se usó Dragendorff para alcaloides, que fue rociado por toda la placa, se dejó secar a temperatura ambiente para luego comprobar la mancha del estándar con la del extracto.

2.5.2.1 Realización de un barrido espectral UV, elaboración de la curva de calibración con el estándar de harmina 98 % de pureza

Empleando el método de extracción de alcaloides explicado anteriormente, se obtuvo más cantidad de extracto, con el cual se realizó el barrido espectral UV.

En primer lugar, se preparó la solución madre de extracto alcaloideo llevándolo hasta sequedad y, a continuación, se colocaron 0.02 g de extracto seco y se aforó hasta 100 mL con metanol y se tapó con parafilm hasta su uso, obteniendo una concentración de 0,0002 ppm. A partir de esta solución madre se partió para realizar las distintas diluciones.

A continuación, se efectuó la lectura de su espectro de absorción en el espectrofotómetro UV-Visible en el rango de 200 a 400 nm.

Con la solución madre se realizaron diferentes diluciones obteniendo concentraciones de 0.2, 0.5, 0.7, 1, 1.5 ppm, con las cuales se procedió a medir su espectro de absorción con sus respectivas lecturas de sus absorbancias a la longitud de onda definida de 200 a 400 nm.

Con el estándar de harmina 98 % de pureza (BATCH CPC20140312), de la misma manera procedida con el extracto, se preparó una solución madre con los mismos parámetros de nuestro extracto, se procedió a realizar una dilución 0,5 ppm y se procedió a dar lectura en el espectrofotómetro UV- Visible en la región de 200 a 400 nm.

Cuadro 1-2: Preparación para Cuantificación de Harmina 98 % de pureza por Espectroscopia UV, 242 nm.

Estándar Harmina, g	V Aforo, mL	V, mL	FD, mL
0,02	100	0,1	100
Concentración solución Madre, g/mL 0,0002		0,25	100
		0,35	100
		0,5	100
		0,75	100

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

2.5.3 Estudios de solubilidad de los alcaloides totales expresados como harmina en diversos aceites, tensioactivos y cotensioactivos.

Se estudió la solubilidad tanto del extracto de harmina de *Banisteriopsis caapi* como del estándar de harmina, en diferentes excipientes tales como ácido oleico, miristato de isopropilo, Tween® 80, Span® 60, Di (etilenglicol) etil éter (Carbitol ®).

Para ello, en un tubo Eppendorf se colocaron 0.02 g de harmina junto a 5 mL de cada vehículo, se lo agitó durante varios minutos y se procedió a guardarlo durante dos días protegido de la luz. Después de esto, se filtró en un porta filtros de acero inoxidable y a este filtrado se lo diluyó hasta tener una concentración adecuada para leerlo por espectroscopia de UV a 325 nm.

Cuadro 2-2: Preparación de la Formulación para los Estudios de Solubilidad

Formulación 1	Eppendorf
Harmina 98 % de pureza (BATCH CPC20140312).	2:1
Fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1
Vehículo: Ácido oleico + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1
Miristato de isopropilo, + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1
Tween 80 + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1
Span 60 + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1
Di (etilenglicol) etil éter (Carbitol) + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>	2:1

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

2.5.4 Preformulación conteniendo la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*, mediante un diagrama de fase pseudoternario.

Los diagramas de fase pseudoternario se construyeron con aceite, tensioactivo/co-tensioactivo, y agua. Para su formulación se construyeron utilizando el software ProSim Ternary Diagram 1.0.3. Una serie de mezclas se efectuaron con estos diagramas y se determinaron las agrupaciones de los componentes óptimos para SMEDDS. La correlación entre el peso del S/COS se probó en relaciones 1:1, 2:1, 4:1. En cada diagrama se mantuvo un agente constante el aceite. Se añadió agua a la formulación de aceite y tensioactivo / cotensioactivo, con agitación magnética 37° C hasta obtener una mezcla clara, y se registraron las concentraciones.

Cuadro 3-2: Preparación de combinaciones para la preformulación de microemulsión óptima.

Micro emulsión		
Formulación 1: Vehículo: Ácido oleico + fracción alcaloidea de <i>Banisteriopsis caapi</i>		
1:1	1:2	1:3
Formulación 2: Ácido oleico+ Tween 80 : Carbitol + Agua		

1:6:1	1:6:2	1:6:3
Formulación 3: Ácido oleico, fracción alcaloidea de <i>B. caapi</i> + Tween 80: Carbitol + Agua		
2.1:6.3:1	3.2:6.3:2	3.3:7.4: 3
Formulación 4: Miristato de isopropilo : fracción alcaloidea de <i>B. caapi</i> + Span 60: Tween 80 + Agua		2.1:6.3:1
Formulación 5: Ácido oleico : fracción alcaloidea de <i>B. caapi</i> + Tween 80: Span 60 + Agua		2.1:2.4:1

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Esta evaluación servirá para saber en qué formulaciones se presenta microemulsiónamiento y de esta manera saber escoger la más eficiente, óptima que vehicule la fracción alcaloide de *Banisteriopsis caapi*.

2.5.4.1 Preparación de SMEDDS cargada con los alcaloides totales expresados como harmina

Para la preparación de la SMEDDS que contiene los alcaloides totales expresados como harmina, se tomó en consideración la información obtenida anteriormente de pruebas preliminares, planteando los parámetros de mezcla del aceite, tensioactivo, co-tensioactivo y agua. Es de suma importancia el porcentaje de cada uno de ellos, para mezclar los excipientes se lo realizó con una agitación suave por medio del agitador magnético a temperatura ambiente no mayor a los 40° C. Seguido adición de agua gota a gota durante un tiempo considerable. Estos factores son esenciales en las cualidades de SMEDDS.

2.5.5 Estudios de estabilidad y evaluación de SMEDDS.

2.5.5.1 Inspección visual

En primer lugar, para determinar la estabilidad de las formulaciones de SMEDDS obtenidas, se realizó una inspección visual, en periodos de tiempo de 10 minutos, a temperaturas de 25° C y 50°C.

2.5.5.2 Robustez

La robustez de dilución de SMEDDS se determinó diluyendo 1 ml de la automicroemulsión final, se realizó esta prueba en dos balones uno de 100 y otro 1000 mL, y se adicionó medios de disolución. Ácido clorhídrico 0.1 N y un tampón fosfato pH 6.8. Estas microemulsiones se almacenaron durante 12 h y se observó si existía algún signo de separación de fases o precipitación del principio activo.

2.5.5.3 Autoemulsificación y prueba de dispersabilidad

Se procedió a verificar las propiedades de autoemulsión visualmente, seguido se realizó la prueba de velocidad de emulsificación, y estabilidad.

Su clasificación se partió de: A microemulsión clara y microemulsión blanco, B: lechoso dentro de un minuto con variaciones de agua y temperatura. Para la prueba de dispersabilidad se añadió gota a gota el concentrado de (SMEDDS) en 250 ml de agua destilada. La prueba se formulo en un vaso a temperatura ambiente, mediante agitación magnética suave - 100 rpm.

2.5.5.4 Determinación del contenido de drogas

Para determinar el contenido de droga se preparó un 1 mL de SMEDDS, se disolvió en 100 mL de metanol y se coloco en un balón aforado de 100 mL, de la cual se tomo una alícuota de 0.5 mL y se transfiere a un balón aforado de 25 mL; al que se añadió 25 mL de metanol. La solución anterior ya preparada se analizó por espectrofotometría UV a 239 nm. La cantidad de fármaco se determinó utilizando la curva de calibración en función de su absorbancia y mL de metanol.

2.6 Formulación y Encapsulación del Sistema Auto-microemulsionable Conteniendo los Alcaloides Totales Expresados como Harmina.

Se diseño la microemulsión con la formulación más óptima conformada de: aceite, tensioactivo y cotensioactivo, en proporciones de 5 %, 60 % y 35 % respectivamente, con la ayuda del agitador magnético a 200 rpm por 3 minutos se mezcló produciendo la formación de la auto-microemulsión. La microemulsión obtenida se vehiculizó con la ayuda de celulosa micro cristalina, hasta lograr su punto de escarcha, preparándolo para ser encapsulado, y formando de esta manera el sistema auto-microemulsionable.

Con la obtención del sistema auto-microemulsionable, se realizó la encapsulación a mano en cápsulas de gelatina dura, en el encapsulador manual N°3, se realizo 100 comprimidos.

De este lote de comprimidos se procedió a medir sus absorbancias de 10 capsulas de gelatina dura por espectrofotometría UV a 239 nm, para determinar el contenido de los alcaloides totales expresados como harmina presente en cada capsula.

2.5.5.5 Ensayo de disolución con la mejor formulación de SMEDDS conteniendo los alcaloides totales expresados como harmina

Para el ensayo de disolución se debió contar ya con las capsular de gelatina dura cargadas con el sistema auto microemulsionable, para esto primero se seleccionaron tres capsulas con pesos similares del lote de 100 capsulas ya realizadas anteriormente, se llevó al equipo disolutor donde se colocaron junto con una solución tampón de pH 6.8, y se realizó el ensayo de disolución a una temperatura de 37 – 39 °C, con movimiento de 50 rpm.

Para esta prueba en el disolutor la solución tampón de pH 6.8 se mantuvo constante, se procedió a tomar una alícuota de 2 mL cada 5 minutos durante 35 minutos, una vez tomada la alícuota se procede a realizar reposición del medio con la solución tampón, este proceso tiene el fin de imitar el paso por el organismo.

Las muestras se filtraron y se procedieron a leer sus absorbancias por espectrofotometría UV a 239 nm para tener un grafico de liberación de los alcaloides totales expresados como harmina.

CAPÍTULO III

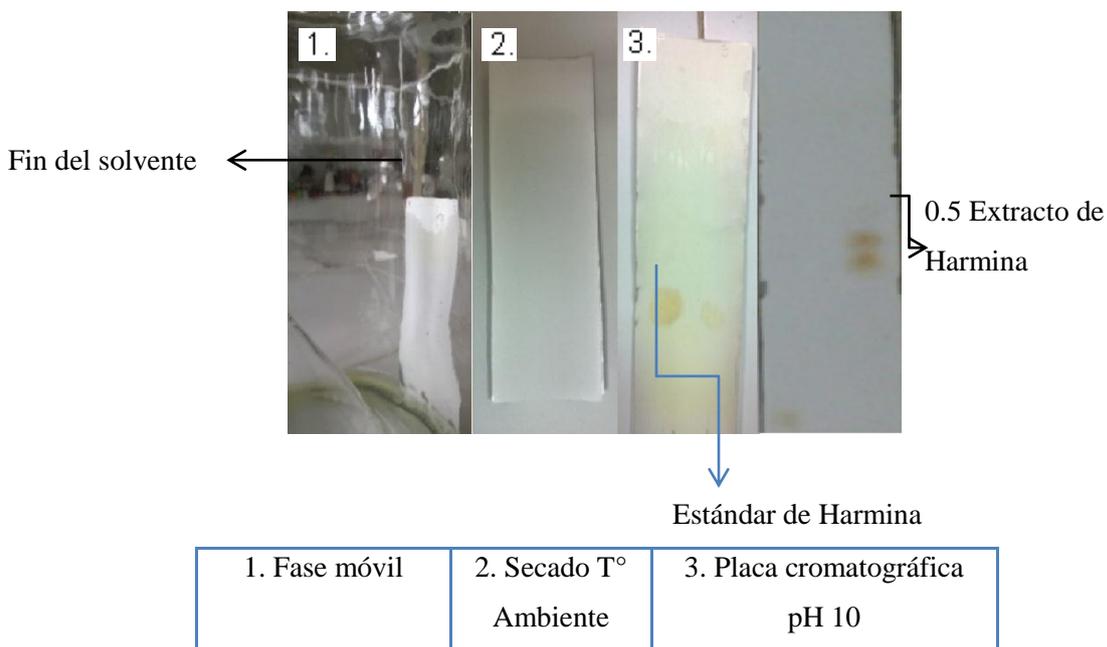
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Extracción, Aislamiento e Identificación de los Alcaloides Totales de *Banisteriopsis caapi*

En esta investigación se corroboró que la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* presenta una mejor extracción a pH 10. Esto se logró observar realizando los ensayos que se muestran a continuación.

3.1.1 Comprobación de la extracción de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* mediante cromatografía de capa fina (tlc)

Figura 3-3. Cromatografía extracción del alcaloide pH 10



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Cuadro 4-3. Referencia de los Rf dominantes en *Banisteriopsis caapi* por medio de un TLC

pH Optimo	Gráficos visibles en la placa cromatográfica	Rf~ ± 2	Compuesto observado	Color	Solventes
10	1	0.44	Harmina	Café	cloroformo, acetona, dietilamina (50: 40: 10)
	2	0.52	Harmano	Café	

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Por medio de la cromatografía en capa fina (TLC) se dio una confirmación de la presencia del compuesto representativo la harmina de *Banisteriopsis caapi*. Presentando un Rf de 0.44 comprobatorio con el valor de harmina presente en bibliografía: Rf de 0.45 (Wagner y Bladt, 2001).

3.1.2 Determinación cuantitativa de alcaloides en el extracto metanólico por medio de los Ensayos de Dragendorff, Mayer.

Los ensayos realizados para confirmar la presencia de los alcaloides en el extracto metanólico presentan los siguientes resultados:

Cuadro 5-3. Pruebas realizadas para el tamizaje fitoquímico

ENSAYO	METABOLITO	RESULTADO
Prueba de Dragendorff	Alcaloides	+++
Prueba de Mayer	Alcaloides	+++

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

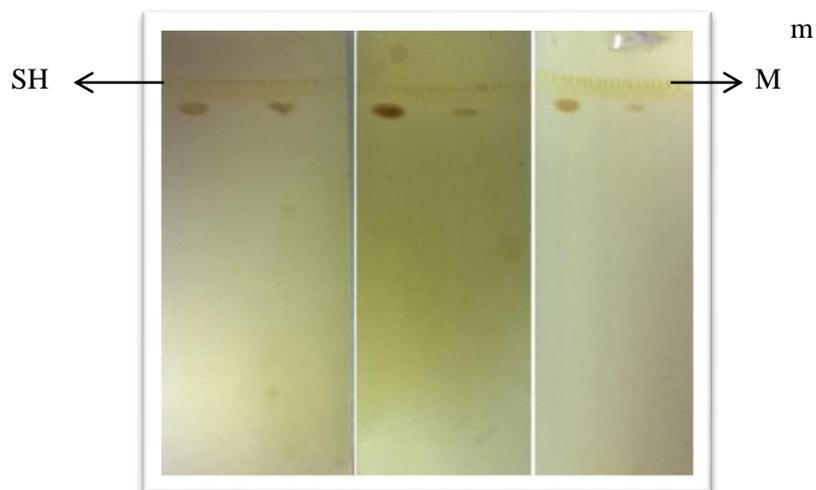
(+++)= Alta evidencia (++) = Mediana evidencia (+) = Escasa evidencia

(-) = Negativo no hay evidencia de tal metabolito

Como podemos observar en el cuadro N° 5 los alcaloides están presentes en una cantidad alta en el extracto, ya que en la planta presentan además de la harmina otros alcaloides que le dan su potencia farmacológico a *Banisteriopsis caapi*, lo cual es prometedor para seguir la investigación.

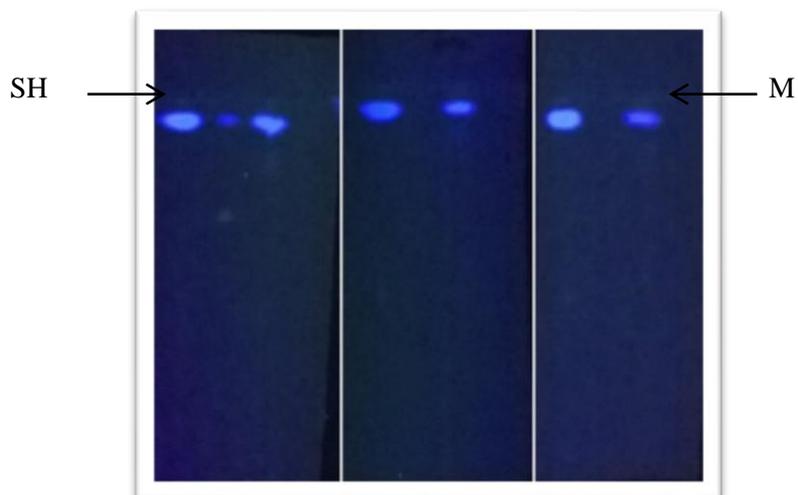
3.1.3 Comprobación con el estándar de harmina de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* mediante cromatografía.

Figura 4-3. Cromatografía en Placa



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Figura 6-3. M: Muestra del extracto metanólico; SH: Estándar de Harmina



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Cuadro 6-3. Medición de los Rf de la muestra y del estándar de harmina.

Muestra	Mancha	Compuesto aislado	Color observado en la cámara UV	Rf
Estándar de harmina	Superior izquierdo de la placa	Harmina	Azul fluorescente	0.46
Muestra del extracto	Superior derecho de la placa	Harmina	Azul fluorescente	0.46

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Como se pudo observar en las diferentes placas cromatográficas preparadas se constata que la muestra del extracto vegetal de *B. caapi* se encuentra en concordancia con el estándar de harmina 98 % de pureza (BATCH CPC20140312).

3.1.4 Realización de un barrido espectral UV, elaboración de la curva de calibración con el estándar de harmina 98 % de pureza.

Para la tercera extracción se conto con un equipo Soxhlet de 500mL lo que permitió extraer una mayor cantidad de alcaloides, se lo realizó de forma cuantitativa se consiguió 1,3441 g de alcaloides totales de harmina, partiendo de 75 g de vegetal de *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca). En esta extracción el porcentaje de Alcaloides Totales Expresados como Harmina corresponde al 1.79%.

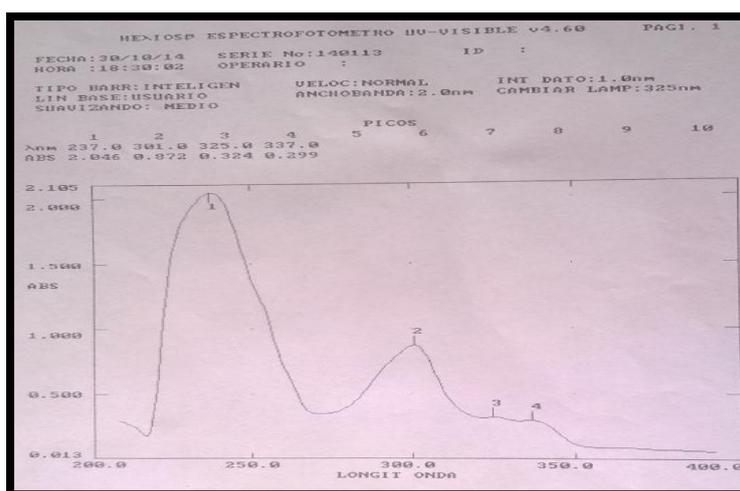
Al contar con el estándar de harmina se puede realizar una comparación identificando sus respectivas longitudes de onda por medio de un barrido espectral en un rango de 200 y 400 nm en el espectro UV, y tendremos una aproximación de los valores con los de bibliografía, dando los siguientes valores:

Cuadro 7-3. Cálculos y resultados cuantificación harmina por espectroscopia uv, 242

Harmina, g	V Aforo, mL	V, mL	FD, mL	C Diluciones, ppm	Absorbancia
0,02	100	0,1	100	0,2	0,131
Concentración solución Madre, g/mL 0,0002		0,25	100	0,5	0,23
		0,35	100	0,7	0,29
		0,5	100	1	0,383
		0,75	100	1,5	0,508

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

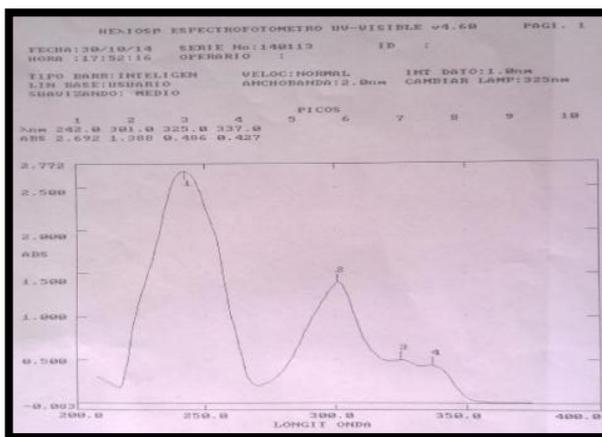
Gráfico 1-3. Barrido espectral del estándar de harmina 98 % de pureza (BATCH CPC20140312). 1ppm



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Existen tres picos presentes en el gráfico del espectro UV, las cuales representan el comportamiento de absorción del compuesto a diferentes longitudes de onda del espectro electromagnético, singularmente en la zona del UV de 200 a 400 nm dentro de este rango se identifican los siguientes picos: a 237.0, 301.0, 325.0 nm, después de estos no se observa la presencia de picos representativos.

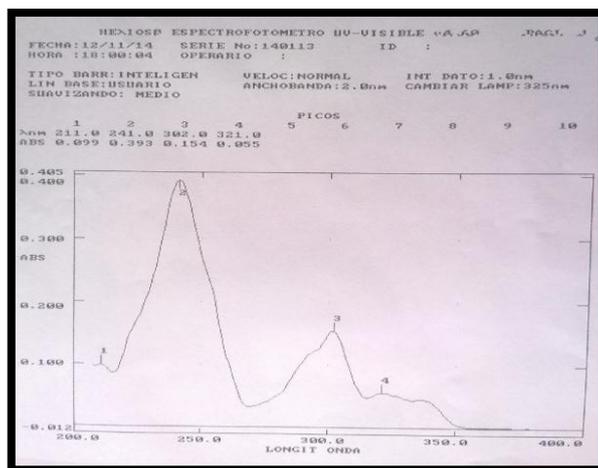
Gráfico 2-3. Barrido espectral del extracto óptimo de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

En el extracto se puede observar tres picos de absorción ubicadas a 242.0, 301.0, 325.0 nm, continuo de estos valores no presentan picos representativos. Como se puede observar tanto en el grafico del estándar como en el extracto el pico de absorción a 301.0 nm es el pico característico presente en los dos barridos tanto en el estándar como en el extracto de *Banisteriopsis caapi*.

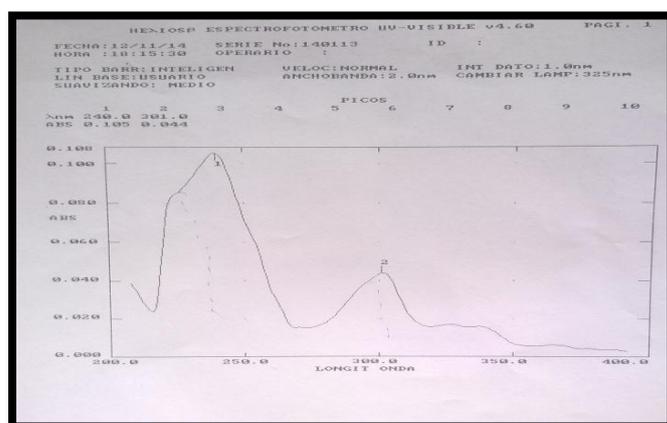
Grafico 3-3. Barrido espectral del estándar de harmina 98 % de pureza (batch cpc20140312). Diluido a 100 ml/ 1ppm



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Existen tres picos de absorción a 211.0, 241.0, 301.0 nm, después de estos no se observa la presencia de picos representativos.

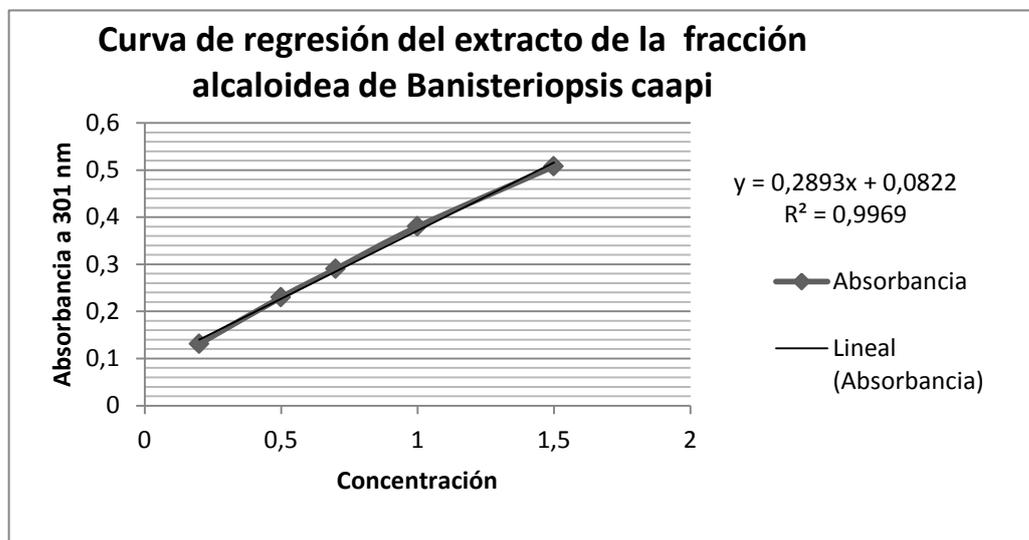
**Grafico 4-3. Barrido espectral del extracto de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*.
Diluido a 100 ml**



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

En este barrido espectral se pueden identificar dos picos de absorción ubicados a 240.0, 301.0 nm. Realizando estas diluciones tenemos que siguen siendo los picos de absorción a 301.0 nm los característicos tanto en la muestra como en el estándar de *Banisteriopsis caapi*, esta dilución se realizó para poder manejar los valores dentro de un rango óptimo para la curva de calibración.

Gráfico 5-3. Elaboración de la curva de calibración con el estándar de harmina 98 % de pureza.



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

En el gráfico N° 5 se realizó la curva de calibración en la cual se observa la linealidad que presenta la relación directamente proporcional entre la concentración y la absorbancia. La ecuación de la recta para esta curva es $Y = 0.2893X + 0.0822$, y el valor del coeficiente de correlación es de $R^2 = 0.9969$. Con este valor obtenido demostramos que existe una gran interrelación estadística entre

estos dos indicadores que permiten la cuantificación de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*.

3.2 Formulación de *Banisteriopsis caapi* SMEDDS

3.2.1 Estudios de solubilidad en diversos aceites, tensioactivos y cos

La solubilidad de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* en los diferentes vehículos se muestran en el cuadro N° 8. El ácido oleico fue seleccionado como la fase de aceite, Tween 80 y Carbitol como tensioactivo y cotensioactivo respectivamente.

Cuadro 8-3. Datos del ensayo de solubilidad de los diversos aceites, tensioactivos y cotensioactivos.

Tensioactivo	Material	Peso. Vacío	Peso. Harmina	Peso. Tensioactivos, g
Tween 80	Ependorf	0,8179	0,02	0,7032
	Papel Filtro (V)	0,0369		
	Papel Filtro (L)	0,0813		
A.oleico				
	Ependorf	0,8843	0,0203	0,6868
	Papel Filtro (V)	0,0369		
	Papel Filtro (L)	0,0503		
M.Isopropilo				
	Ependorf	0,8551	0,0201	0,6318
	Papel Filtro (V)	0,0369		
	Papel Filtro (L)	0,0809		
E.(Metil)				
	Ependorf	0,8833	0,02	0,6325
	Papel Filtro (V)	0,0369		
	Papel Filtro (L)	0,0929		
Harmina (Muestra)				

	Ependorf	0,8607	0,02	0,587
	Papel Filtro (V)	0,0372		
	Papel Filtro (L)	0,043		
Harmina (Estándar)				
	Ependorf	0,8607	0,02	0,587
	Papel Filtro (V)	0,03372		
	Papel Filtro (L)	0,049		

SOLUBILIDAD DE LOS DIVERSOS ACEITES, TENSIOACTIVOS Y COTENSIOACTIVOS	
Tween 80	25,4105852
Acido oleico	65,9001276
Miristato de isopropilo	61,5342452
Carbitol	20,7422619
Harmina (muestra)	10,5983085
Harmina (estándar)	28,8540144

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

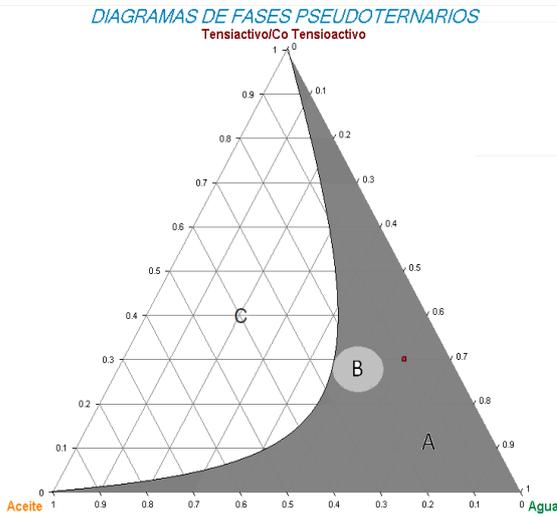
La elección de los diversos componentes que se solubilizan es de suma importancia dentro de la formulación, ya que marcan una micro emulsión óptima para las diferentes fases. Por esta razón se elige como vehículo el Acido Oleico, fase de tensio activos Tween ® 80 y Carbitol ®.

3.2.2 Preformulaciones de SMEDDS que contienen harmina la fracción alcaloidea de Banisteriopsis caapi, mediante un diagrama de fase pseudoternario.

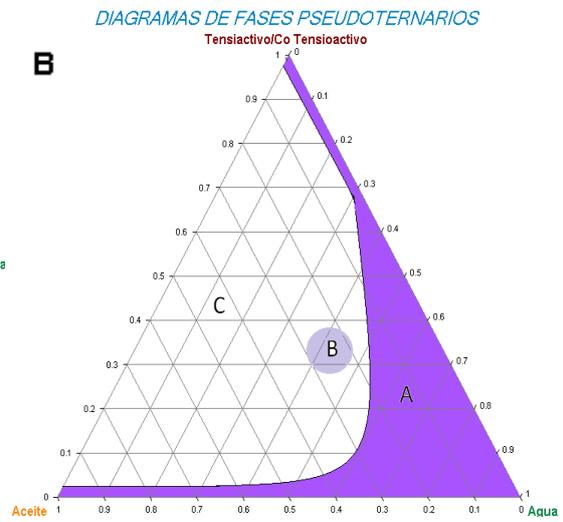
Los diagramas de fase pseudoternarios se construyeron tomando en cuenta los datos de solubilidad, utilizados para identificar el área de existencia de microemulsión, esta zona de formulación debe ser clara y estable. Los tres componentes utilizados para la formulación de SMEDDS son: aceite, tensioactivo y cotensioactivo. El diagrama ternario A presenta una extensa zona de emulsión, está emulsión formada es estable, además presenta una formidable capacidad de carga del principio activo. La zona A representa la región de microemulsión.

Figura 7-3. Diagramas de fase pseudo-ternario de las formulaciones compuestas de aceite, tensioactivo y co-tensioactivo.

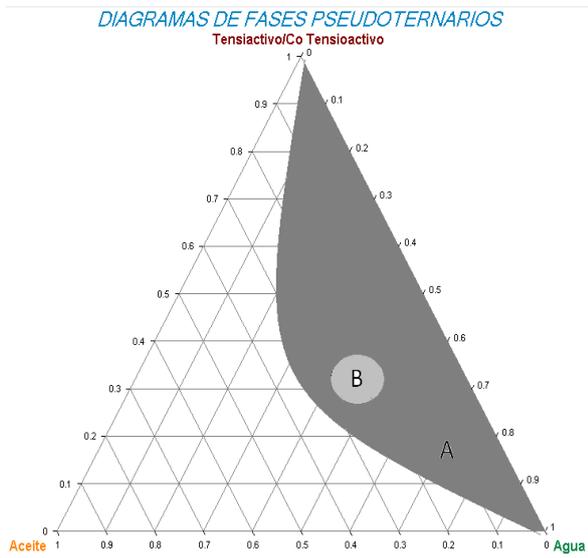
A



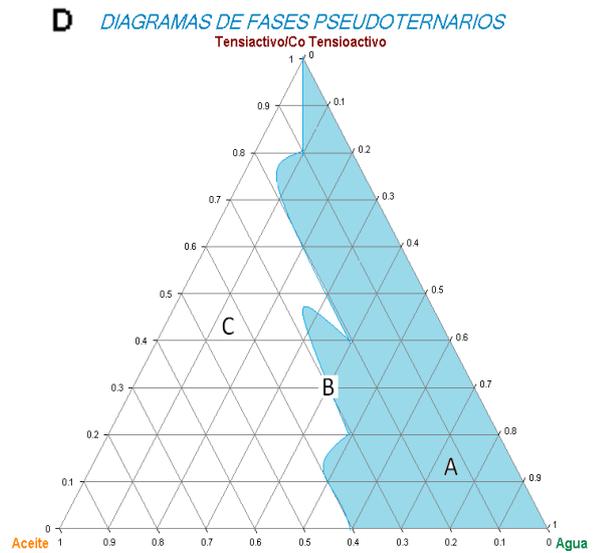
B



C



D



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

La zona B representa la región similar a un gel. La zona C representa la región de turbidez, y requiere más tiempo para formarse. En los diagramas B y C su formulación es inestable, en el diagrama D la cantidad de agua es la máxima que puede capturar la microemulsión. Los diagramas se realizaron en relación 1:3:1, 1:3:2, 1:3:4, 1:3:5. En función al diagrama A se formulo los diferentes porcentajes para cada componente, sin olvidar la solubilidad de los mismos, y los diagramas B, C y D no se tomaron como parte de la investigación.

Figura N° 7: Diagramas de fase pseudo-ternario de las formulaciones compuestas de aceite, tensioactivo/co-tensioactivo y agua. Aceite Ácido Oleico, tensioactivo Polisorbato 80 y co-tensioactivo Carbitol. **Figura A.** Ácido Oleico, tensioactivo/co-tensioactivo y agua en relación 1:3:1. **Figura B.** Ácido Oleico, tensioactivo/co-tensioactivo y agua relación 1:3:2. **Figura C.** Ácido Oleico, tensioactivo/co-tensioactivo y agua en relación 1:3:3. **Figura D.** Ácido Oleico, tensioactivo/co-tensioactivo y agua en relación 1:3:4, (el área A representa la zona de existencia de microemulsión, el área B representa una zona similar a un gel, y la zona C representa una región de turbidez). La figura A es la indicada por que es estable, rápida en su formación y con buena capacidad de carga de harmina, siendo idónea para realizar la formulación de SMEDDS.

3.2.3 Realización de las preformulaciones conteniendo la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*, mediante un diagrama de fase pseudoternario.

Con la construcción de los diagramas de fase pseudo-ternarios se identificaron las regiones optimas de formulación SMEDDS. Estas combinaciones consisten en aceite como vehículo, agente tensioactivo/Co tensioactivo, y agua, en diferentes relaciones, se escogió la formulaciones mas idóneas de cada una, en proporciones de 1:1, 1:6:1, 2.1:6.3:1, 2.1:6.3:1, 2.1:2.4:1, para estas selecciones se mantuvo en proporción constante el aceite.

Las demás formulaciones no se utilizaron porque tuvieron una disminución en la estabilidad, ligeramente no presentaba una autonomía.

Los parámetros ideales de microemulsionamiento podrían estar dentro de los valores de 5%,60%,35% y una porción de agua en pequeñas cantidades.

Esta formulación consta de 5% Acido oleico cargada con la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*, 60% Tween-80 y 35% Carbitol en agitación suave y agua, estas microemulsiones se conservaron al menos 12 h sin existir ninguna precipitación de fases.

3.2.4 Formulación y optimización SMEDDS cargado con la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*

Para una mejor optimización es de suma importancia el tamaño de gota de SMEDDS. Ya que permite mejorar la velocidad de liberación del fármaco, y un aumento en la superficie interfacial. El tamaño de gota se reduce al aumentar la correlación de tensioactivo / cotensioactivo.

La influencia que tiene al realizar las pruebas de solubilidad permite tener un porcentaje entre aceite y tensioactivo / cotensioactivo, relación que sirve para saber cuál de los tres componentes tiene una mejor solubilidad manteniéndolo constante con el principio activo.

Al saber estos resultados se redujo la cantidad de aceite propiciando una mejor solubilidad y menor tamaño de gotita favorable para la biodisponibilidad. Así la relación que se tiene de aceite es 5%, Tween 80 60% y Carbitol 35%.

Para corroborar que el modelo es el más adecuado, se realizaron tres formulaciones más, a la mezcla más óptima, estable se procedió a realizar las pruebas de validación.

3.3 Estudios de Estabilidad y Evaluación de SMEDDS

3.3.1 Inspección visual

Los SMEDDS presentaron una formación rápida, y visiblemente se presenta límpida. Además, los cambios de temperatura no mostraron separación de fases o precipitación. Su estabilidad fue aceptable tanto en 25°C como en 50°C.

3.3.2 Robustez

La influencia que tiene al presentarse en el diluyente de pH 6,8, es imitar a las condiciones que se pueden dar en el estómago, posteriormente de la administración oral SMEDDS. Ante estas condiciones, las formulaciones no presentan separación de fases, gracias a que la formulación tiene porcentajes estables de: aceite 5%, 60% Polisorbato 80 y Carbitol ® 35%.

3.3.3 Autoemulsificación y prueba de dispersabilidad

El resultado de autoemulsión visualmente, se tiene en 3 minutos con 10 gotas de agua a 37 °C, la velocidad de emulsificación, estabilidad y dispersabilidad se presenta en un grado A, una microemulsión clara.

Cuadro 9-3. Evaluaciones visibles de SMEDDS con su formulación óptima, luego de las diferentes pruebas: grado de visibilidad, estabilidad, dilución, auto – emulsificación, separación de fases, contenido de droga, precipitación, de la microemulsión formada.

Evaluaciones de SMEDDS	
Grado de Visibilidad	Microemulsión clara
Estabilidad	+++
Separación de fases	+
Precipitación	x
Auto – emulsificación	3 minutos
Contenido de droga	87.1 %

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

(+++)= Alta evidencia, (++) = Mediana evidencia, (+) = Escasa evidencia,

(x) = Precipitación no

3.3.4 Determinación del contenido de los alcaloides totales expresados como harmina

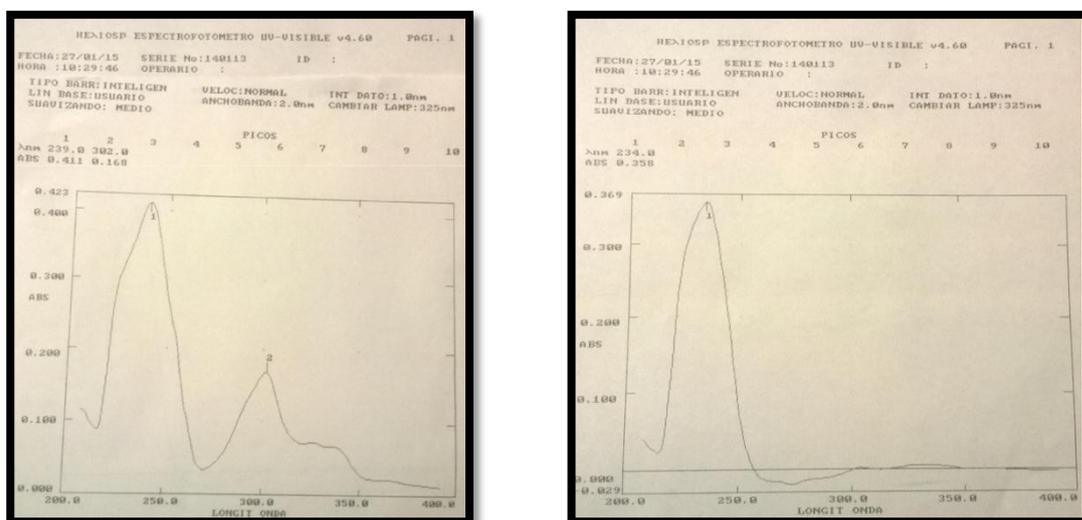
El contenido de los alcaloides totales expresados como harmina se determinó por espectrofotometría a 239 nm, empleando la curva de calibración ya establecida anteriormente, con un blanco de metanol y un estándar de la fracción alcaloide de *Banisteriopsis caapi*, a una concentración de 0.4 ppm. Tanto para la muestra como para el estándar se pesaron 2mg. Estas formulaciones presentan 87.1% del contenido de fármaco entregando 1.74 mg.

$$CM = \frac{0.358}{0.411} \times (100 \text{ mL}) \times \frac{35 \text{ mL}}{0.5 \text{ mL}} \times \frac{2 \text{ mg}}{100 \text{ mL}} \times \frac{0.5 \text{ mL}}{2.5 \text{ mL}} = 1.74 \text{ mg}$$

$$CM = 1.74 \text{ mg} \times \frac{100\%}{2 \text{ mg}} = 87.1 \%$$

$$C_M = 87.1\% \text{ (contenido de fármaco entregando)}$$

Gráfico 6-3. Barrido espectral de la auto-microemulsión y la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*, diluido a 0.4 ppm.



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

En estos barridos espectrales podemos ubicar las absorbancias a 0.411, 0.358 nm. A una concentración de 0.4 ppm, tanto la auto-microemulsión como el estándar de *Banisteriopsis caapi*, lo que sirvió para la determinación del contenido de fármaco entregando.

3.4 Realización de las preformulaciones conteniendo la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* (Ayahuasca) mediante un diagrama de fase pseudoternario.

La formulación del sistema auto-microemulsionable se estableció en: 250 g de celulosa microcristalina mezclada con la microemulsión formada de: el vehículo Acido Oleico 133.44 mL, la fase de tensioactivos 250.2, 33.36 mL de Tween 80 y Carbitol respectivamente, formando una microemulsión estable y con las características deseadas.

Se procedió a medir sus absorbancias en el UV-visible, cantidad de harmina contenida en cada capsula las cuales se indicada en la siguiente tabla:

Cuadro 10-3. Cantidad de alcaloides totales expresados como harmina contenido en 10 capsula.

Capsula llena con SMEDDS	Peso del contenido en la capsula	Capsula vaciada	Absorbancia	Contenido de (AT totales expresados como harmina)
0.4272	0.3471	0.0801	0.410	1.13
0.4251	0.3424	0.0820	0.401	1.10
0.4195	0.3376	0.0816	0.398	1.09
0.4292	0.3484	0.0806	0.412	1.14
0.4250	0.3370	0.0815	0.393	1.07
0.4254	0.3442	0.0812	0.404	1.11
0.4258	0.3438	0.0818	0.402	1.10
0.4255	0.3336	0.0817	0.376	1.01
0.4249	0.3439	0.0810	0.402	1.10
0.4252	0.3371	0.0823	0.396	1.08

Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

3.4.1 Diseño, formulación de SMEDDS por medio del ensayo de disolución del mejor sistema auto micro emulsionable formulado.

Por medio de este ensayo nos permite tener un perfil de disolución de las capsulas conteniendo el sistema auto microemulsionable.

Al ver sus pendientes observamos que:

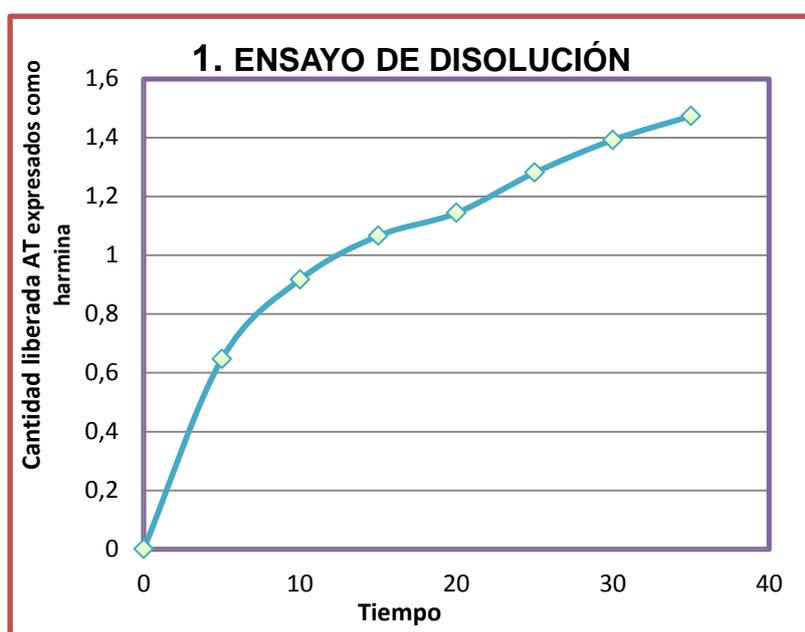
Cuadro 11-3. Medición de las absorbancias para determinar la cantidad liberada de alcaloides totales expresados como harmina en distintos tiempos de muestreo.

TIEMPOS DE MUESTREO, min							
Tiempo min	5	10	15	20	25	30	35
CÁPSULAS, g	ABSORBANCIAS						
0,462	0,278	0,351	0,391	0,412	0,449	0,479	0,501
0,4657	0,275	0,355	0,394	0,416	0,448	0,478	0,507
0,4644	0,288	0,348	0,367	0,382	0,397	0,413	0,441

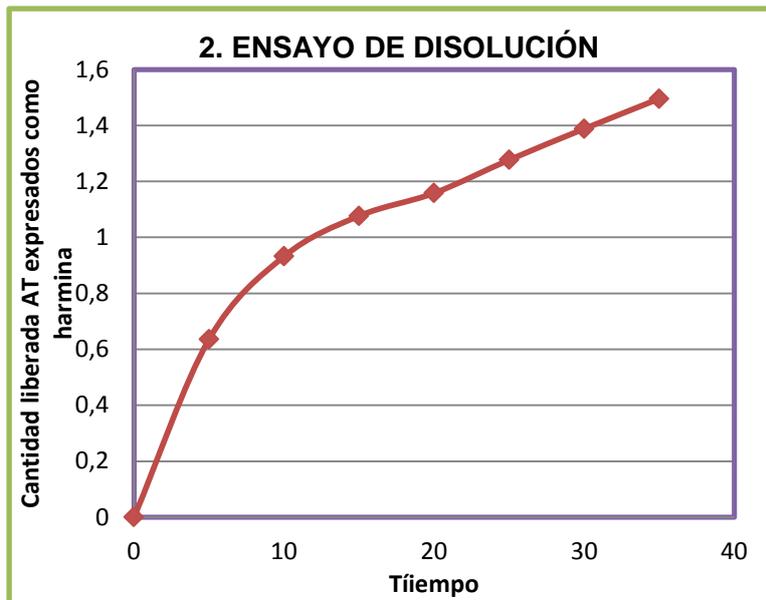
Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Gráfico 7-3. Cantidad liberada de los alcaloides totales expresados como harmina en el ensayo de disolución de las capsulas de gelatina contiendo el sistema auto micro emulsionable.

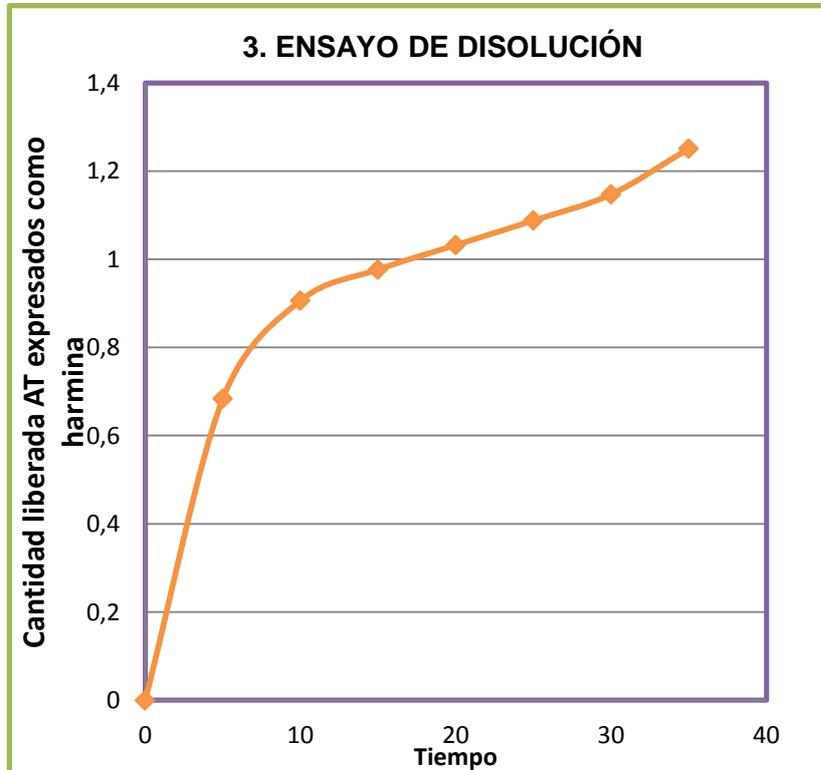
Capsula N°1: Cantidad liberada de los alcaloides totales expresados como harmina, ppm							
Tiempo (Min)							
0	5	10	15	20	25	30	35
0	0,646775	0,917346	1,0656041	1,1434395	1,2805782	1,3917716	1,4733



Capsula N°2: Cantidad liberada de los alcaloides totales expresados como harmina, ppm							
Tiempo (Min)							
0	5	10	15	20	25	30	35
0	0,6356560	0,932171	1,07672	1,158265	1,276871	1,3880652	1,4955522



Capsula N°3: Cantidad liberada de los alcaloides totales expresados como harmina, ppm							
Tiempo (Min)							
0	5	10	15	20	25	30	35
0	0,6838398	0,90622	0,976649	1,0322461	1,0878428	1,1471460	1,25092



Fuente: CHUQUIMARCA, 2014 ESPOCH

Este sistema el cual contiene alcaloides totales expresados como harmina, la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*, tiende a liberarse en menos de 5 minutos, con una regularidad de liberación del fármaco en los minutos posteriores.

El perfil de disolución que presenta sin duda tiene una mejoría notable de los alcaloides totales expresados como harmina, entregando así un fármaco apto para pruebas in vitro.

CONCLUSIONES

1. Se obtuvo de forma correcta el extracto total de alcaloides, ya que las pruebas de Dragendorff y Mayer dieron positivo, la cromatografía en capa fina junto con el espectro UV y como referencia al estándar de harmina mostró la presencia de los alcaloides totales expresados como harmina.
2. A través de las pruebas de solubilidad se determinó que los mejores vehículos para el extracto de *Banisteriopsis caapi* fueron ácido oleico (vehículo), Tween 80 (tensioactivo), Carbitol (cotensioactivo).
3. En el estudio de preformulación mediante la realización del diagrama de fase pseudoternario se determinó que los porcentajes óptimos para SMEDDS fueron aceite 5%, Tween 80 60% y Carbitol 35%, conteniendo alcaloides totales expresados como harmina vehiculizado en el aceite.
4. En las pruebas de estabilidad y evaluación de SMEDDS preformuladas con los alcaloides totales de *Banisteriopsis caapi* se obtuvieron resultados satisfactorios que conllevaron a su formulación y encapsulación.
5. Con los porcentajes óptimos de la preformulación más la adición de celulosa microcristalina se formuló el sistema auto-microemulsionable, mostrando una solubilidad de 87%, lo que aporta un argumento destacable respecto a la solubilidad de la fracción alcaloidal de *Banisteriopsis caapi*.

RECOMENDACIONES

1. Se sugiere aplicar un sistema auto-microemulsionable en capsulas de gelatina blanda, esto garantizara una mayor carga de principio activo, es el vehículo idóneo para SMEDDS y brinda eficacia de dosificación para el fármaco de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* (harmina).
2. Evaluar la dosis exacta de administración de alcaloides totales expresados como harmina y toxicidad de los tensioactivos, co tensioactivo, principio activo en un estudio in vitro logrando tener en conjunto una formulación que cubra todos los parámetros para ser administrada sin ninguna incertidumbre al ser humano.
3. Realizar un estudio con HPLC, analizar el tamaño de gota de las microemulsiones, para investigar como se encuentran las estructuras micelares a niveles microscópicos que a simple vista no son apreciables
4. Capacitar a los estudiantes para el desarrollo de nuevos fitomedicamento utilizando este método innovador SMEDDS, ya que la mayoría de principios activos tienen valiosas aplicaciones farmacológicas, como es el caso del vegetal *Banisteriopsis caapi* (Ayahuasca), una alternativa para prevenir trastornos neurodegenerativos.
5. Un control microbiológico del fármaco como producto terminado, nos serviría para verificar si el sistema auto-microemulsionable cumple de manera eficiente una carga microbiana apta para el consumo.

BIBLIOGRAFIA

ALEXADER, A., & STORER, I. “Metabolism, Pharmacokinetics, and Toxicity of Functional”. Cambridge-Reino Unido. 2010, pp. 65-80.

<https://books.google.com.ec/books?id=Z7PmWUe0wmAC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/10/19

AVENDAÑO, C. Introducción a la Química Terapéutica. Procesos Farmacológicos. 2ºed, Madrid - España. McGraw-Hill-Interamericana. 2001, pp. 90-101.

CUCKBURN, A. “Ayahuasca, yagé, caapi, natema una introducción a una planta curativa sagrada extraordinaria y sus compañeras”. (Revista La Nación Company Inc), Vol. 26., N° 6. (Alemania), pp 129-200. Agosto. 1997

<http://www.retraitechamaniue.com/Ethnobotanique/ayahuasca.htm>

2014/11/19

BUCKHOLTZ, NEIL S., & W. O. Efectos de tetrahidro- β -carbolinas de la mono aminooxidasa y la captación de serotonina en el cerebro del ratón. Biochemical Pharmacology. Boggan (1976), pp 2319-2321.

DALTON, D. The Fundamental Chemistry – A Biogenetic Approach. (Journal of Pharmaceutical Sciences). Vol.57., N°3. New York- USA, pp 367. Marzo. 1980

<https://www.deepdyve.com/lp/wiley/the-alkaloids-the-fundamental-chemistry-a-biogenetic-approach-studies-CK20d4TTkw>

2014/10/23

DE LA CUBA, A. “Inhibidores reversibles de la Monoaminooxidasa en tratamientos de la depresión”. (Revista de Neuro-Psiquiatría), Vol. 57., N° 2. (Perú), pp 125-128. Diciembre 1994.

<http://www.upch.edu.pe/famed/revista/index.php/RNP/article/view/1089/1102>

2014/10/21

FERICGLA, J. “El peyote y la ayahuasca en las nuevas religiones místicas americanas”. (Instituto de Investigaciones Antropológicas de Castilla y León), Vol.1., N°4. (Quito-Ecuador), pp. 325-347. Agosto 1998

<http://josepmfericgla.org/2011/bibliografia>

2014/11/23

FERNÁNDEZ, J., CREHUET N., GÓMEZ, J., & GÓMEZ, E. Epidemiología y prevención de las drogodependencias. 11ª ed, Elsevier Masson. Barcelona – España. 1992 - 2001, pp. 1108 - 1117.

<http://media.axon.es/pdf/68463.pdf>

2014/11/23

FOTIOU, E., RUMRRILL, V. La comercialización de la ayahuasca y el turismo chamánico en Perú. (Sociedad franco-mexicana de etnopsicología), Lima – Perú. CAB. 2010, pp 30-50

<http://www.infomistico.com/porta/ayahuasca-y-el-turismo-chamanico-peru/>

2014/10/19

FROST, D. MEECHOOVET, B. & WANG, T. B-Carboline Compounds, Including Harmine, Inhibit DYRK1A and Tau Phosphorylation at Multiple Alzheimer's Disease-Related Sites. (Journal of Pharmaceutical Sciences). Vol. 10., N° 1371. (New York), pp. 9-19, Mayo 2011.

<http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0019264>

2014/01/16

HYMAA, P., & ABBULU, K. Formulation and characterisation of self-microemulsifying drug delivery system of pioglitazone. (Biomedicine & Preventive Nutrition), Vol. 4., N° 4. (India), pp. 345-350, Septiembre 2013.

<http://www.sciencedirect.com/science/journal/22105239>

2015/01/19

KALHAPURE, R., & AKAMANCHI, K. Oleic acid based heterolipid synthesis, characterization and application in self-microemulsifying drug delivery system. (Journal for pharmaceutical scientists), Vol. 425., N° 2. (India), pp. 9-18, Julio 2012.

<http://www.journals.elsevier.com/international-journal-of-pharmaceutics>

2014/01/25

JOSEFA, A., BIANCO-PELED, H. Sponges carrying self-microemulsifying drug delivery systems. (International Journal of Pharmaceutics), Vol. 458., N°3. (Israel), pp. 208-217, Octubre 2013.

<http://www.journals.elsevier.com/international-journal-of-pharmaceutics>

2014/01/16

KENNA, J., CALLAWAY, JC., & GROB, C. The Scientific Investigation of Ayahuasca. (The Heffter Review of Psychedelic Research), Vol. 1., N° 4. (Kuopio- Finland), pp 5. Diciembre 1998

https://www.erowid.org/chemicals/ayahuasca/ayahuasca_journal3.shtml

2015/1/19

KYATANWAR, A., KISAN, R., & VILASRAO J. Self micro-emulsifying drug delivery system (SMEDDS). (Journal of Pharmacy Research), Vol. 3., N°1. (India), pp. 75-83, Octubre 2009.

<http://jpronline.info/index.php/jpr/>

2014/10/12

LIU, W., TIAN R., ZHANG, J., & ZHANG, L. Preparation and evaluation of self-microemulsifying drug delivery system of baicalein. (Journal for the Study of Medicinal Plants), Vol. 83., N° 5. (China), pp. 1532-1539, Julio 2012.

<http://www.journals.elsevier.com/fitoterapia>

2015/01/19

LI LU, J., CHENG WANG, J., SHU-XIN, ZHAO., & ZHANG, Q. Self-microemulsifying drug delivery system (SMEDDS) improves anticancer effect of oral 9-nitrocamptothecin on human cancer xenografts in nude mice. (Pharmaceutics and Biopharmaceutics), Vol. 69., N° 3. (China), pp. 899-907, Marzo 2008.

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutics-and-biopharmaceutics>

2015/01/19

MABBERLEY, D. A Portable Dictionary of Plants, their Classifications, and Uses. Cambridge University Press, 2009, pp. 60-100.

<http://books.google.com.ec/books?id=9RyKKHtwXUYC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2014/11/23

MARSDEN, D., DONALDSON, I., SCHNEIDER, S., & BHATIA, K. Marsden's Book of Movement Disorders. Oxford University Press, Vol. 27., N° 1. New York, pp. 537. Julio 2012.

<http://ukcatalogue.oup.com/product/9780192619112.do>

2014/11/23

MILOVI, M., DJURIS, J., DJEKIC, L., & VASILJEVIC, D. Characterization and evaluation of solid self-microemulsifying drug delivery systems with porous carriers as systems for improved carbamazepine release. (Journal of Pharmaceutics), Vol. 436., N°3. (Serbia), pp. 58-65, Junio 2012.

<http://www.journals.elsevier.com/international-journal-of-pharmaceutics>

2015/02/05

NARANJO, P. "Ayahuasca en la arqueología ecuatoriana". Religión y medicina. Quito- Ecuador. Universitaria. 1986, pp. 117-128.

ORTIZ, L. "Puerto Francisco de Orellana". (Noticias Ministerio de Turismo del Ecuador), Vol. 39., N° 60. (Ecuador), pp. 2-18. Abril. 2013

<https://www.turismo.gob.ec/puerto-francisco-de-orellana-festeja-44-anos-de-cantonizacion/>

2014/10/20

REDDY, S., KATYAYANI, T., NAVATHA, A., & RAMYA, G. Review on self micro emulsifying drug delivery systems. (Journal of Pharmaceutical Sciences), Vol. 2., N°3. (India), pp. 382-392, Marzo 2011.

<http://pharmascope.org/ijrps/downloads/Volume%202/Issue%203/11-34.pdf>

2015/02/3

RODD, R. Neurociencia del Consumo y Dependencia de Sustancias Psicoactivas. Washington, D.C: OPS. 2008. pp. 34-40.

http://www.who.int/substance_abuse/publications/neuroscience_spanish.pdf

2014/10/14

SALAGER, J., & ANTON, R. Comportamiento de fase de los sistemas surfactante-agua-aceite. (Formulación, interfaces, y procesos), Vol. 1., N° 22. (Venezuela), pp. 1-19, Diciembre 1991.

<http://www.firp.ula.ve/archivos/cuadernos/S220.pdf>

2014/01/20

SERMKAEW, N., KETJINDA, W., & BOONME, P. Liquid and solid self-microemulsifying drug delivery systems for improving the oral bioavailability of andrographolide from a crude extract of *Andrographis paniculata*. (Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences (EUFEPS)), Vol. 50., N° 1. (Tailandia), pp. 459-466, Agosto 2013.

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutical-sciences>

2014/12/16

SHI, J., JUN XUE, J., & BO WANG. Optimization of formulation and influence of environmental stresses on stability of lycopene-microemulsion. (LWT - Food Science and Technology), Vol. 60., N° 1. (China), pp. 99-1008, Noviembre 2014.

<http://www.journals.elsevier.com/lwt-food-science-and-technology>

2014/01/23

SUESSKIND-SCHWENDI, M., & HIRT, H. Pharmacokinetics of a self-microemulsifying drug delivery system of tacrolimus. (Biomedicine & Pharmacotherapy), Vol. 67., N°1. (Alemania), pp. 469-473, Abril 2013.

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutical-sciences>

2015/02/07

SCHULTES, R. "The beta-Carboline Hallucinogens of South America". (Journal of Psychoactive Drugs), Vol. 14, No. 3. (USA), pp. 205-215. Jul.-Sep 1982.

<http://catbull.com/alamut/Bibliothek/7725docid6838.pdf>

2014/10/19

SHULGIN, A., & SHULGIN, A. Pihkal Chemical Love Story. 2°. ed, Copyright. 1997. pp 70-90.

https://www.erowid.org/library/books_online/pihkal/pihkal.shtml

2014/12/19

Sun, M., & Zhai, X. Intestinal absorption and intestinal lymphatic transport of sirolimus from self-microemulsifying drug delivery systems assessed using the single-pass intestinal perfusion (SPIP) technique and a chylomicron flow blocking approach: Linear correlation with oral bioavailabilities in rats. (European Journal of Pharmaceutical Sciences), Vol. 43., N°1. (China), pp. 132-140, Abril 2011.

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutical-sciences>

2014/02/08

TAIZ, L., & ZEIGER, E. Fisiología E. Planta. (Sinauer Asociados). Vol. 91., N° 3, (España), pp 550-569. Mayo 2002

<http://aob.oxfordjournals.org/content/91/6/750.full>

2014/11/19

VELASCO, A., ALVAREZ, J. Compendio de Psiconeurofarmacología. Vol. 1., N° 2. (Madrid-España), pp. 2-60. Diciembre 1988.

<http://books.google.com.ec/books?id=LQpMVroFFBAC&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>

2015/11/23

WEI, Y., YE, X., & SHANG, X. Enhanced oral bioavailability of silybin by a supersaturable self-emulsifying drug delivery system (S-SEDDS). (Journal Devoted to the Principles and Applications of Colloid and Interface Science), Vol. 396., N° 1. (China), pp. 22-28, Diciembre 2011

<http://www.journals.elsevier.com/colloids-and-surfaces-a-physicochemical-and-engineering-aspects>

2014/8/23

WU, W., WANG, Y., & QUE, LI. Enhanced bioavailability of silymarin by self-microemulsifying drug delivery system. (European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics), Vol. 63., N° 2. (China), pp 288-294, Diciembre 2005

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutics-and-biopharmaceutics>

2014/11/19

YAOB, G., & LI, Y. Preparation, characterization and evaluation of self-microemulsifying drug delivery systems (SMEDDSs) of Ligusticum chuanxiong oil. (Journal of Biomedicine and Preventive Nutrition), Vol. 1., N° 1. (China), pp. 36-42, Septiembre 2010.

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2210523911000183>

2014/11/16

ZHAO,G., HUANG, J., & XUE, K. “Enhanced intestinal absorption of etoposide by self-microemulsifying drug delivery systems: Roles of P-glycoprotein and cytochrome P450 3A inhibition”. (Journal of Pharmaceutical Sciences), Vol. 50., N°1. (China), pp. 429-329, Agosto 2013

<http://www.journals.elsevier.com/european-journal-of-pharmaceutical-sciences>

2014/02/05

ZVONAR, A., BERGINC, K., KRISTL, A., & GAŠPERLIN, M. “Microencapsulation of self-microemulsifying system: Improving solubility and permeability of furosemide”. (Journal for the Study of Medicinal Plants), Vol. 101., N° 3. (Eslovenia), pp. 151-158. Julio 2010.

<http://www.journals.elsevier.com/international-journal-of-pharmaceutics>

2015/1/19

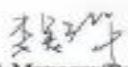
ANEXOS

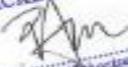
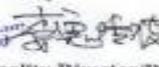
Anexo A: Certificación del control de calidad del estándar de harmina 98 % de pureza (batch cpc20140312).

			
CHINA PACKBUY CO.,LTD			
CERTIFICATE OF ANALYSIS			
Product Name:	Harminc CAS: 442-51-3	Botanical Source:	<i>Pogonum harmala L.</i>
Batch Number:	CPC20140312	Used Part:	Seed
Batch Quantity:	2Kg	Analysis Date:	20140315
Manufacture Date:	20140312	Expiry Date:	20160311

ANALYSIS	SPECIFICATION	RESULTS
Appearance	Light yellow fine powder	Complies
Odor	Characteristic	Complies
Assay (Harminc, HPLC)	>98%	98.7%
Solvent Used	Ethanol & Water	Complies
Sieve analysis	100% pass 80 mesh	Complies
Bulk Density	50-60g/100mL	51-55g/100mL
Loss on Drying	<1.0%	0.96%
Residue on Ignition	<0.1%	0.08%
Heavy Metal	<10ppm	Complies
Arsenic	<2ppm	Complies
Lead	<2ppm	Complies
Hg	<2ppm	Complies
Microbiology		
Total Plate Count	<1000cfu/g	Complies
Yeast & Mold	<100cfu/g	Complies
E. Coli	Negative	Complies
Salmonella	Negative	Complies
Staphylococcus	Negative	Complies

Conclusion	Conform with specification
Storage	Store in cool & dry place
	Keep away from strong light and heat
Shelf life	24 Months when properly stored

Reviewed by QA Manager/Date 

For and on behalf of **CHINA PACKBUY CO., LIMITED**

 Approved Signature/Date 

A-1801, Cityscape, No.123 Zhongguancun East Road, Haidian District, Beijing, China 100086
 Tel: 86-10-62191332, Fax: 86-10-62145665, http://www.chinapackbuy.com

Anexo B: Identificación del producto ácido oleico de sigma- aldrich.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 4.4 Fecha de revisión 16.01.2015

Fecha de impresión 04.02.2015

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : **Ácido oleico**

Referencia : O1008

Marca : Sigma-Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 112-80-1

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : (314) 776-6555

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

Clasificación de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Irritación cutáneas (Categoría 2), H315

Para el texto integro de las Declaraciones-H mencionadas en esta sección, véase la Sección 16.

Clasificación de acuerdo con las Directivas de la UE 67/548/CEE ó 1999/45/CE

Xi Irritante R38

El texto completo de las frases R mencionadas en esta Sección, se indica en la Sección 16.

2.2 Elementos de la etiqueta

Etiquetado de acuerdo con el Reglamento (CE) 1272/2008

Pictograma



Palabra de advertencia : Atención

Indicación(es) de peligro : H315
Provoca irritación cutánea.

Declaración(es) de prudencia : ninguno(a)

Declaración Suplementaria del Peligro : ninguno(a)

Anexo C: Identificación del producto Miristato de isopropilo de sigma- aldrich.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.3 Fecha de revisión 17.11.2014

Fecha de impresión 04.02.2015

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Miristato de isopropilo

Referencia : 172472

Marca : Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 110-27-0

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : (314) 776-6555

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.

Esta sustancia no esta clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros

Esta sustancia/mezcla no contiene componentes que se consideren que sean bioacumulativos y tóxicos persistentes (PBT) o muy bioacumulativos y muy persistentes (vPvB) a niveles del 0,1% o superiores.

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : Myristic acid isopropyl ester
Isopropyl tetradecanoate

Formula : C₁₇H₃₄O₂

Peso molecular : 270,45 g/mol

No. CAS : 110-27-0

No. CE : 203-751-4

Anexo d: Identificación de la sustancia Tween® 80 de sigma- aldrich.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

SAFETY DATA SHEET

according to Regulation (EC) No. 1907/2006

Version 5.3 Revision Date 18.01.2015

Print Date 04.02.2015

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECTION 1: Identification of the substance/mixture and of the company/undertaking

1.1 Product identifiers

Product name : TWEEN® 80

Product Number : P1754
Brand : Sigma-Aldrich
REACH No. : A registration number is not available for this substance as the substance or its uses are exempted from registration, the annual tonnage does not require a registration or the registration is envisaged for a later registration deadline.
CAS-No. : 9005-65-6

1.2 Relevant identified uses of the substance or mixture and uses advised against

Identified uses : Laboratory chemicals, Manufacture of substances

1.3 Details of the supplier of the safety data sheet

Company : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Telephone : +1 800-325-5832
Fax : +1 800-325-5052

1.4 Emergency telephone number

Emergency Phone # : (314) 776-6555

SECTION 2: Hazards identification

2.1 Classification of the substance or mixture

Not a hazardous substance or mixture according to Regulation (EC) No. 1272/2008.
This substance is not classified as dangerous according to Directive 67/548/EEC.

2.2 Label elements

The product does not need to be labelled in accordance with EC directives or respective national laws.

2.3 Other hazards

This substance/mixture contains no components considered to be either persistent, bioaccumulative and toxic (PBT), or very persistent and very bioaccumulative (vPvB) at levels of 0.1% or higher.

SECTION 3: Composition/information on ingredients

3.1 Substances

Synonyms : Polyethylene glycol sorbitan monooleate
Polyoxyethylenesorbitan monooleate
Polysorbate 80

CAS-No. : 9005-65-6
EC-No. : 500-019-9

Anexo E: Identificación del producto Span® 60 de sigma- aldrich

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.2 Fecha de revisión 22.01.2014

Fecha de impresión 04.02.2015

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Span® 60

Referencia : S7010

Marca : Sigma

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 1338-41-6

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : (314) 776-6555

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : Sorbitane monostearate

Formula : C24H46O6

Peso molecular : 430,63 g/mol

No. CAS : 1338-41-6

No. CE : 215-664-9

Según la normativa aplicable no es necesario divulgar ninguno de los componentes.

Anexo F: Identificación del producto Di (ethylene glycol) ethyl ether, sigma- aldrich.

SIGMA-ALDRICH

sigma-aldrich.com

FICHA DE DATOS DE SEGURIDAD

de acuerdo el Reglamento (CE) No. 1907/2006

Versión 5.1 Fecha de revisión 09.05.2014

Fecha de impresión 04.02.2015

GENERIC EU MSDS - NO COUNTRY SPECIFIC DATA - NO OEL DATA

SECCIÓN 1: Identificación de la sustancia o la mezcla y de la sociedad o la empresa

1.1 Identificadores del producto

Nombre del producto : Di(ethylene glycol) ethyl ether

Referencia : W509043

Marca : Aldrich

REACH No. : Un número de registro no está disponible para esta sustancia, ya que la sustancia o sus usos están exentos del registro, el tonelaje anual no requiere registro o dicho registro está previsto para una fecha posterior

No. CAS : 111-90-0

1.2 Usos pertinentes identificados de la sustancia o de la mezcla y usos desaconsejados

Usos identificados : Reactivos para laboratorio, Fabricación de sustancias

1.3 Datos del proveedor de la ficha de datos de seguridad

Compañía : Sigma-Aldrich
3050 Spruce Street
SAINT LOUIS MO 63103
USA

Teléfono : +1 800-325-5832

Fax : +1 800-325-5052

1.4 Teléfono de emergencia

Teléfono de Urgencia : (314) 776-6555

SECCIÓN 2: Identificación de los peligros

2.1 Clasificación de la sustancia o de la mezcla

No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Reglamento (CE) No. 1272/2008.
Esta sustancia no está clasificada como peligrosa según la Directiva 67/548/CEE.

2.2 Elementos de la etiqueta

El producto no necesita ser etiquetado de acuerdo con las directivas de la Comunidad Europea ó las respectivas leyes nacionales.

2.3 Otros Peligros - ninguno(a)

SECCIÓN 3: Composición/información sobre los componentes

3.1 Sustancias

Sinónimos : CARBITOL®
Diethylene glycol monoethyl ether
2-(2-Ethoxyethoxy)ethanol
Ethyl diglycol
Diethylene glycol ethyl ether

Formula : C₆H₁₄O₃

Peso molecular : 134,17 g/mol

No. CAS : 111-90-0

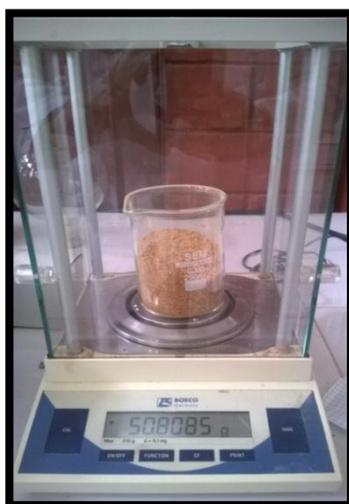
No. CE : 203-919-7

Anexo G: Evidencias fotografías

Fotografía 1. Planta vegetal de *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca)



Fotografía 2. Materia prima de *Banisteriopsis caapi* (ayahuasca)



Fotografía 3. Estándar de harmina 98% de pureza (BATCHCPC20140312)



Fotografía 4. Proceso de extracción de la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi*





Fotografía 5. Comparación cromatográfica entre la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* y el estándar de harmina.



Fotografía 6. Disoluciones para la realización de la curva de calibración de la fracción alcaloidea de harmina



Fotografía 7. Ensayo de solubilidad con los diferentes vehículos, tensioactivos y co tensioactivos para la formulación óptima de la auto microemulsión.



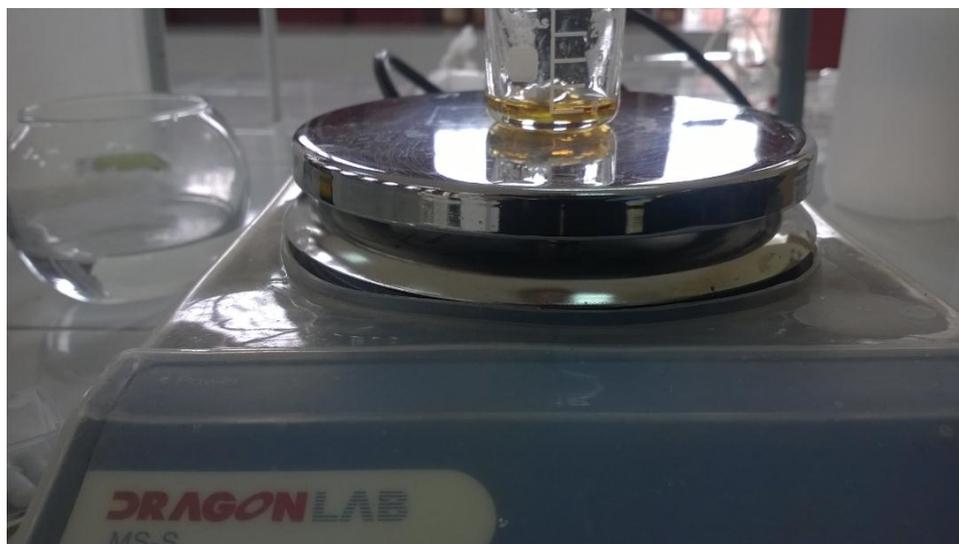
Fotografía 8. Ensayo para encontrar la formulación exacta de la automicroemulsión.



Fotografía 9. Ensayo de estabilidad a 40- 60 °C, separación de fases, precipitación, grado de visibilidad, auto – emulsificación, de la microemulsión formada.



Fotografía 10. Formación óptima de la auto – microemulsión, conteniendo los alcaloides totales expresados como harmina.



Fotografía 11. Realización del sistema auto–microemulsionable, y celulosa microcristalina conteniendo la fracción alcaloidea de *Banisteriopsis caapi* (harmina)



Fotografía 12. Proceso de encapsulación conteniendo el sistema auto microemulsionable



Fotografía 13. Ensayo de disolución del sistema auto microemulsionable.

