

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS E INGENIERIA



COMPLEJOS DE BIOPOLÍMEROS COMO SISTEMAS LIBERACIÓN SOSTENIDA DE
NISTATINA EN LA CAVIDAD BUCAL

TESIS

Que para obtener el grado de:

Doctor en Ciencias

PRESENTA

M.C.S. Efrain Armenta Rojas

DIRECTOR DE TESIS

Dr. José Manuel Cornejo Bravo

CO-DIRECTOR DE TESIS

Dra. Aracely Serrano Medina

Tijuana, B.C.,

Mayo de 2022

HOJA DE APROBACIÓN

Universidad Autónoma de Baja California FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

Folio No.325
Tijuana, B.C., a 06 de Mayo del 2022

C. Efrain Armenta Rojas
Pasante de: Doctorado en Ciencias
Presente

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la
Opción TESIS.

Es propuesto, por las C. Dr. José Manuel Cornejo Bravo y
Dra. Aracely Serrano Medina.

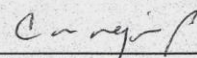
Quienes serán las responsables de la calidad del trabajo que usted presente,
referido al tema "Complejos de biopolímeros como sistemas de liberación
sostenida de nistatina en la cavidad bucal".

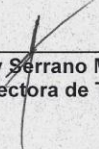
El cual deberá usted desarrollar, de acuerdo con el siguiente orden:

- I. INTRODUCCIÓN
- II. TEORÍA EN GENERAL
- III. EXPERIMENTAL
- IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN
- V. CONCLUSIONES
- REFERENCIAS
- ANEXOS


Dra. Ana Alejandra Ramírez Rodríguez
Sub-Directora


M.C. Roberto Alejandro Reyes Martínez
Director Provisional


Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Director de Tesis


Dra. Aracely Serrano Medina
Co- Directora de Tesis

DEDICATORIA

Para Payín, has llegado más lejos de lo que esperabas...

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la capacidad de alcanzar mis metas y volver mis sueños realidad.

A mis padres por inculcarme valores con amor y paciencia e impulsarme en mis proyectos.

A mi hermana, que siempre me anima en momentos difíciles con su compañía y atenciones.

A mi cuñado que me ha brindado su apoyo incondicional cuando lo he necesitado.

A mi sobrina, que me da su cariño y cree que soy un superhéroe.

A la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería que me ha visto crecer académicamente.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca otorgada para continuar mis estudios.

Gracias a mis maestros, que cultivaron en mí la curiosidad y el amor por las ciencias. A mis sinodales que siempre estuvieron ahí para apoyarme, abrir sus laboratorios y compartirme sus conocimientos. Así como dijo Isaac Newton en algún momento *“Si he visto más lejos que otros hombres, es porque me he puesto sobre los hombros de gigantes”*.

En especial a mis queridos padres académicos, José Manuel Cornejo Bravo y Aracely Serrano Medina, que además de verter en mí sus enseñanzas y sabiduría, me abrieron las puertas de su casa y me brindaron su amistad.

VITA

Efraín Armenta Rojas, nacido en Ensenada Baja California el 27 de Julio de 1993, hijo de Rafael Efraín Armenta Espinoza y Rebeca Rojas Velázquez. Egresado de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, obteniendo el grado de Químico Farmacobiólogo por la Universidad Autónoma de Baja California, Campus Tijuana. Obteniendo mención honorífica y reconocimiento al desempeño sobresaliente en el examen EGEL. Continuó con estudios de posgrado, obteniendo una beca CONACYT para realizar la Maestría en Ciencias de la Salud por la misma institución. En 2018 fue aceptado para cursar el Doctorado en Ciencias bajo la dirección del Dr. José Manuel Cornejo Bravo.

Dentro de su experiencia laboral se encuentra la docencia, impartiendo clases a las licenciaturas de Químico Farmacobiólogo, Químico Industrial, Tronco común de Ingeniería, Nutrición, Enfermería y Fisioterapia. Actualmente se encuentra colaborando en el desarrollo del departamento de farmacia del Centro Médico Florence, así como el desarrollo del plan de estudios de la licenciatura en enfermería para la creación de una institución educativa en la ciudad.

INDICE

HOJA DE APROBACIÓN	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTOS	4
VITA.....	5
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	10
LISTA DE TABLAS	11
LISTA DE FIGURAS.....	12
LISTA DE FÓRMULAS	13
Resumen.....	14
Abstract	15
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	16
1.1 Antecedentes	20
1.2 Justificación.....	23
1.3 Hipótesis.....	23
1.4 Objetivo General	23
1.5 Objetivos Específicos.....	24
CAPÍTULO II: TEORÍA GENERAL.....	25
1.1. Candidiasis Orofaríngea	25
1.1.1. Candida albicans	26

1.1.2.	Nistatina	26
2.1.	Características de la Mucosa Oral	28
2.1.1.	Epitelio Bucal.....	28
2.1.2.	Moco.....	30
2.1.3.	Saliva.....	30
2.2.	Entrega Local de Fármacos en la Cavidad Oral	31
2.3.	Formulaciones Mucoadhesivas.....	32
3.4.	Mecanismos de Bioadhesión	33
3.4.1.	Teoría Electrónica.	33
3.4.2.	Teoría de Adsorción.	34
3.4.3.	Teoría Humectante.	34
3.4.4.	Teoría de Difusión.....	35
3.5.	Polímeros Bioadhesivos.	35
3.5.1.	Polímeros Bioadhesivos Naturales.....	36
3.6.	Polielectrolitos	37
3.6.1.	Quitosano.	37
3.6.2.	Goma Arábica	39
3.6.3.	Ácido Poligalacturónico	41
3.7.	Complejos de Polielectrolitos.....	41
3.8.	Parches y Películas Adhesivas.....	43

CAPITULO III: EXPERIMENTAL	45
3.1 Materiales	45
3.2 Síntesis de los Films de Polielectrolitos.....	45
3.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM).....	46
3.4 Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR).....	46
3.5 Calorimetría de Escaneo Diferencial y Análisis Termogravimétrico	46
3.6 Grado de Hinchamiento	46
3.7 Contenido de Fármaco	47
3.7.1. Construcción de Curva de Calibración.....	47
3.8 Determinación de la Cinética de Liberación in Vitro de NIS	48
3.9 Modelaje de la Cinética de Liberación.....	48
3.10 Determinación in Vitro de la Actividad Antimicrobiana	48
3.11 Propiedades de Mucoadhesión de las Películas.....	49
3.12 Análisis Estadístico.....	49
CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	50
4.1. Caracterización de los Films de Polielectrolitos.....	50
4.1.1 Características Físicas de los Films.....	50
4.1.2. Morfología Microscópica de los Films	51
4.1.3. Espectroscopía FT-IR.....	52
4.1.4. Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Escaneo Diferencial	53

4.1.5. Contenido de Fármaco de los Films	56
4.1.6. Grado de Hinchamiento de los Films	57
4.1.7. Estudios de Liberación in Vitro de NIS	59
4.1.8. Modelaje de la Cinética de Liberación de NIS	60
4.1.9. Determinación in Vitro de Actividad Antimicrobiana	63
4.1.10. Capacidad de Adhesión de los Films	64
CAPITULO V: CONCLUSIONES	67
REFERENCIAS.....	68
ANEXOS	85

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados centígrados
μL	Microlitros
μm	Micrómetros
Cm	Centímetro
h	Horas
K	Constante cinética
mg	Miligramos
min	Minutos
n	Mecanismo de liberación
pH	Potencial de hidrógenos
r ²	Coeficiente de correlación
rpm	Revoluciones por minuto
t	Tiempo en horas

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Curva de calibración NIS.....	56
Tabla 2. Contenido de fármaco de los films de PEC determinado experimentalmente.....	57
Tabla 3. Grado de hinchamiento (Q) de los films.....	57
Tabla 4. Coeficientes de correlación cuadrados (R^2) y coeficientes obtenidos mediante la regresión de los datos de liberación utilizando los modelos matemáticos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas.	60
Tabla 5. Actividad antimicrobiana de los films.	64
Tabla 6. Parámetros de adhesión de los films y tabletas de HPMC.....	65

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Principales tejidos componentes de la mucosa oral.	29
Figura 2. Morfología macroscópica de los films	50
Figura 3. Micrografías electrónicas de los films.....	51
Figura 4. Espectros FT-IR de NIS, QUI, APG, QUI-APG y QUI-APG-NIS.	52
Figura 5. Espectros FT-IR de NIS, QUI, GA, QUI-GA y QUI-GA-NIS.	53
Figura 6. Termograma DSC de QUI, APG, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.	54
Figura 7. Termograma DSC de QUI, GA, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.....	54
Figura 8. Termograma TGA de QUI, APG, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.	55
Figura 9. Termograma TGA de QUI, GA, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.	55
Figura 10. Curva de calibración NIS	56
Figura 11. Grado de hinchamiento (Q) de los films.	58
Figura 12. Perfiles de liberación de NIS de los films PEC.....	59
Figura 13. Cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Higuchi	61
Figura 14. Cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Korsmeyer-Peppas	61
Figura 15. Cinética de liberación de NIS de films QUI-GA-NIS ajustada al modelo de Higuchi	62
Figura 16. cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Korsmeyer-Peppas	62
Figura 17. Fuerza máxima ($F_{\max}$) y trabajo de adhesión (W_{ad}) de los films, comparados con tabletas de HPMC.	65

LISTA DE FÓRMULAS

Ecuación 1. Grado de hinchamiento	47
Ecuación 2. Fracción liberada.....	48
Ecuación 3. Concentración de NIS en solución.....	57

Resumen

La candidiasis orofaríngea es la enfermedad fúngica más prevalente en el mundo. Las formulaciones de nistatina utilizadas para su tratamiento tienen varias desventajas, incluyendo un tiempo de residencia bajo y baja biodisponibilidad en el sitio de la infección. El objetivo de este trabajo fue preparar y caracterizar películas de polielectrolitos de quitosano-goma arábica y quitosano-ácido poligalacturónico cargadas con nistatina mediante la técnica "Solvent-Casting", para lograr un sistema mucoadhesivo de liberación sostenida para la cavidad oral. Las películas obtenidas fueron caracterizadas para determinar la interacción entre los polímeros, sus características morfológicas, capacidad mucoadhesiva y cinética de liberación del fármaco. La morfología de las películas fue determinada por microscopía electrónica de barrido, y la interacción entre los polímeros fue evaluada mediante espectroscopia infrarroja de transformada de Fourier, calorimetría de escaneo diferencial y análisis termogravimétrico. Además, su actividad antimicrobiana de la película fue probada contra tres cepas de dos especies de *Cándida* y la capacidad de mucoadhesión fue determinada en un modelo in vitro. Las películas obtenidas mostraron capacidad de mucoadhesión y una liberación sostenida explicada por el modelo Korsemeyer-Peppas. Además, se encontró una actividad antimicrobiana significativa. Estos hallazgos indican que las películas basadas en complejos polielectrolitos son un sistema plausible de liberación de nistatina para la cavidad oral.

Abstract

Oropharyngeal candidiasis is the most prevalent fungal disease in the world. The formulations of nystatin used for its treatment have several disadvantages, including a low residence time and low bioavailability at the infection site. This study aimed to prepare and characterize polyelectrolyte films of chitosan-gum Arabic and chitosan-polygalacturonic acid by the “Solvent-Casting” technique loaded with nystatin to achieve a mucoadhesive and sustained release system for the oral cavity. The obtained films were characterized to determine the interaction between the polymers, their morphological characteristics, mucoadhesive capacity, and release kinetics of the drug. The films’ morphology was determined by scanning electron microscopy, and the interaction between the polymers was evaluated by infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, and thermogravimetric analysis. Additionally, the film’s antimicrobial activity was tested against three strains of two *Candida* species. The obtained films showed mucoadhesion capacity and a sustained release of the drug explained by the Korsemeyer-Peppas model. Also, significant antimicrobial activity was found. These findings indicate that polyelectrolyte complex-based films are a plausible nystatin release system for the oral cavity.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS), la candidiasis orofaríngea (CO) es la infección fúngica más prevalente en el mundo (WHO, 2014). Esta ocurre cuando la levadura causal se adhiere y penetra en el tejido de la mucosa oral (Carmello et al., 2016). A pesar de que existen diversas especies de *Candida* que pueden ocasionar este padecimiento tales como *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, and *C. tropicalis* que han sido aisladas de pacientes con CO (Hellstein & Marek, 2019), más del 80% de los casos diagnosticados son causados por *Candida albicans* debido a su capacidad de adherencia y mecanismos de patogenicidad (Millsop & Fazel, 2016).

Existen diversos factores que pueden predisponer al desarrollo de CO como el uso de dentaduras, inhaladores de corticoesteroides, leucemia, desnutrición, diabetes, quimioterapias, radioterapias y el uso de fármacos inmunomoduladores, anticolinérgicos, antibióticos de amplio espectro y estados de inmunosupresión como el causado por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (Bedair et al., 2012).

Los pacientes VIH positivos son de particular relevancia ya que cuentan con diversos factores de riesgo para el desarrollo de este padecimiento como un conteo bajo de linfocitos TCD⁴⁺, carga viral y factores locales como xerostomía. Debido a estos factores se estima que cerca del 50% de los pacientes VIH positivos son portadores de especies de *Candida* (De Araújo et al., 2018; Goulart et al., 2018) y entre el 80 y 90% de ellos desarrollan CO en alguna etapa de la enfermedad (Vazquez, 2010).

Un estudio reciente identificó la prevalencia y factores asociados a la colonización de *Candida* y candidiasis bucofaríngea en niños y adolescentes VIH positivos. Se encontró una alta prevalencia para la colonización en más del 50% de los pacientes. Los factores que se asociaron con la colonización fueron: sexo masculino, alta carga viral, bajo conteo de linfocitos TCD⁴⁺ y tener menos de tres años en terapia *antirretroviral* de gran *actividad* (Castillo-Martínez et al., 2018).

La nistatina (NIS) es el fármaco de elección para el tratamiento de la CO, es obtenida a partir de *Streptomyces noursei* y tiene un efecto fungicida contra *Candida spp.*; el tratamiento con NIS ha probado ser efectivo para disminuir o prevenir la adherencia de la levadura a las células epiteliales, evitando la colonización y por lo tanto el riesgo de infección (Flattery et al., 1996). Debido a que este fármaco no se absorbe en el tracto gastrointestinal, y a que su administración parenteral es considerablemente tóxica (Reis et al., 2016), su uso clínico está restringido a aplicaciones locales en infecciones superficiales. La mayoría de los pacientes son tratados con suspensiones, trociscos o tabletas orales, estas formulaciones requieren de varias aplicaciones al día debido al corto tiempo de residencia en la mucosa y una baja biodisponibilidad por la dilución con la saliva; otras desventajas incluyen un sabor desagradable, consistencia viscosa y baja solubilidad (Scheibler et al., 2017).

Datos sin publicar de un estudio de seguimiento de Castillo-Martínez et al. en 2018 revelaron que se han utilizado óvulos vaginales de manera empírica para el tratamiento de la CO en pacientes VIH positivos, obteniendo mejores resultados que con las formulaciones convencionales. Sin embargo, las propiedades organolépticas de los óvulos vaginales no son adecuadas para la administración bucal. Por lo que es necesaria una formulación que sea retenida

en el sitio de la infección y libere NIS de forma sostenida, con mejores propiedades organolépticas de manera que sea cómoda para los pacientes.

Una de las mayores preocupaciones en el tratamiento de infecciones en la actualidad es la resistencia a antibióticos, que ha obligado a la búsqueda de estrategias que aseguren el mantenimiento de niveles adecuados del fármaco *in situ*, logrando un mejor efecto antimicrobiano. Una de estas ha sido el desarrollo de formas farmacéuticas bioadhesivas basadas en polímeros naturales (Hearnden et al., 2012).

Los polímeros naturales son aquellos derivados de fuentes renovables y están formados de polisacáridos, proteínas, lípidos, polifenoles, entre otros (A. George et al., 2019). Recientemente han tomado relevancia en el desarrollo de sistemas de liberación de fármacos debido a su disponibilidad, compatibilidad y degradación en condiciones naturales y fisiológicas, permitiendo que sean utilizados en aplicaciones bioadhesivas (Bierhalz et al., 2012; Inamdar et al., 2014).

El fenómeno de mucoadhesión ha sido estudiado extensamente en las décadas recientes. Esta propiedad ha sido incorporada a formas farmacéuticas para incrementar el tiempo de residencia en el sitio de absorción, mejorando la efectividad del fármaco. Una de las estrategias utilizadas para lograr estas características es el uso de complejos de polielectrolitos (PEC) (Bourganis et al., 2017; Kilicarslan et al., 2018a; Wu et al., 2020)

Los PEC son redes con estructura no permanente resultante de la mezcla de dos polímeros (polielectrolitos) con cargas eléctricas opuestas (policación y polianión) en una solución. Esta mezcla genera una asociación espontánea debido a interacciones electrostáticas, fuertes pero reversibles. La formación y estabilidad de los PEC depende de varios factores tales

como el grado de ionización de cada polielectrolito, la densidad de cargas, concentración de los polielectrolitos y la naturaleza de los distintos grupos iónicos (Bhattacharai et al., 2010; M. George & Abraham, 2006).

El quitosano (QUI) es el polication principal utilizado para generar estos complejos; es un derivado desacetilado de la quitina que puede obtenerse en diversos pesos moleculares y grados de desacetilación. Este posee grupos catiónicos amino que pueden interactuar electrostáticamente con los grupos aniónicos de otros polímeros para formar PEC. Algunos de los polianiones más utilizados incluyen al alginato de sodio, carragenina, carboximetil celulosa, pectina, ácido poligalacturónico (APG) y goma arábiga (GA). Estos han sido utilizados recientemente para desarrollar sistemas de liberación de fármacos diversos dependiendo de las propiedades requeridas (Mirtič et al., 2020).

1.1 Antecedentes

Desde inicios de la década de 1980, ha existido interés en el desarrollo y uso de formas farmacéuticas que se adhieran a una superficie biológica (bioadhesivas) que permitan prolongar el tiempo de contacto en las diversas partes de las mucosas durante la administración de un fármaco mejorando la absorción del mismo (J W Lee, J H Park, 2000).

El concepto de mucoadhesión fue propuesto por el profesor Joseph R. Robinson de la universidad de Wisconsin en 1986 como una estrategia para prolongar el tiempo de permanencia de un fármaco en la superficie del ojo, sin embargo, estudios posteriores demostraron su utilidad para la administración de principios activos en otras mucosas (Bernkop-Schnürch, 2005; Salamat-Miller et al., 2005).

La primer formulación mucoadhesiva de la que se tiene registro fue desarrollada por Nagai en 1984 para el tratamiento del cáncer cérvico uterino y estaba hecha a base de Hidroxipropil celulosa y carbopol 934, posteriormente demostró un aumento en la biodisponibilidad de la insulina en pruebas con una forma mucoadhesiva nasal en perros (Tsuneji Nagai, 1985; Tsuneji Nagai et al., 1984).

Estos primeros trabajos en la administración de fármacos a base de bioadhesivos utilizaban “una plataforma no específica” de polímeros considerados seguros por las agencias reguladoras, sin embargo, carecían de la capacidad de adhesión y no poseían propiedades fisicoquímicas ideales para la liberación controlada de fármacos (Salamat-Miller et al., 2005)

Esto llevó a la realización de estudios referentes a las propiedades de los polímeros que por su seguridad pueden ser utilizados para la formulación de mucoadhesivos, donde se

determinó que existen diversos factores que afectan la mucoadhesividad, como el pH del medio y grosor de la capa de mucinas (Needleman & Smales, 1995).

En años recientes se ha buscado desarrollar formas mucoadhesivas mediante el uso de polímeros que permitan controlar la liberación de fármacos y de esta manera obtener formas de liberación prolongada o controlada (J W Lee, J H Park, 2000)

Ameye y colaboradores describieron los beneficios del uso de una formulación bioadhesiva bucal de nistatina, mediante el uso de tabletas mucoadhesivas determinaron que la liberación sostenida de nistatina en la cavidad oral por la erosión de las tabletas en un periodo de 8h era significativamente más efectiva en la prevención de colonización microbiana (Ameye et al., 2005)

En 2015 Vea y colaboradores del Laboratorio de Biofarmacia de la Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería de la Universidad Autónoma de Baja California desarrollaron formulaciones de tabletas bioadhesivas a base del polímero bioadhesivo (Policarbofil) y el polímero hinchable (HPMC), para la liberación de dexametasona para prevenir y combatir la inflamación en los tejidos afectados después de una intervención quirúrgica odontológica. Su formulación óptima logró liberar cerca del 100% del fármaco a las 12 horas y presentó un tiempo de bioadhesión in-vitro de 5 horas (Vea, 2015).

Estudios previos han demostrado las ventajas del uso de Quitosano como un polímero base para la formulación de sistemas de liberación bucales, en 2016 Lena y Alyona compararon las propiedades de matrices formadas por diversos materiales para la liberación de antimicrobianos en la cavidad bucal. Se encontró que el Quitosano cuenta con excelentes

propiedades físicas y osmóticas que lo hacen ideal para la formación de películas para liberación de antimicrobianos (Lena & Alyona, 2016).

El uso de complejos de polielectrolitos para la formulación de películas bioadhesivas ha sido estudiado previamente en aplicaciones odontológicas, Kassem et al. en 2013 desarrolló películas de quitosano-alginato y quitosano-pectina cargados de tetraciclina para su aplicación en cavidades bucales de pacientes con infecciones severas; determinaron que mediante el uso de estas películas se prolongó la actividad antibacterial a lo largo de un periodo de 21 días acelerando significativamente la recuperación del paciente, sin embargo estas formulaciones carecieron de propiedades mucoadhesivas (Kassem et al., 2015b).

1.2 Justificación

En todos los casos de infecciones es deseable lograr una liberación del fármaco de manera sostenida para mantener concentraciones por encima de la mínima inhibitoria de manera prolongada, logrando de esta forma la eliminación del microorganismo patógeno. Este principio aplica especialmente a las infecciones en la cavidad bucal.

La candidiasis orofaríngea es un padecimiento con alta prevalencia que afecta en especial a los pacientes VIH positivos, las formas farmacéuticas disponibles actualmente para el tratamiento de este padecimiento tienen limitaciones importantes respecto al tiempo de residencia en el sitio de la infección, propiedades organolépticas y biodisponibilidad del fármaco, por lo que el desarrollar sistemas mucoadhesivos para la liberación sostenida de nistatina en la cavidad bucal representaría una alternativa que podría auxiliar en el tratamiento de esta infección micótica.

1.3 Hipótesis

Las películas de PEC de QUI-APG y QUI-GA liberan de forma sostenida NIS en condiciones similares a las bucales y presentan características de mucoadhesión superiores a las formulaciones convencionales.

1.4 Objetivo General

Diseñar, preparar y caracterizar sistemas de complejos de polielectrolitos a base de los biopolímeros quitosano, goma arábica y ácido poligalacturónico para la liberación sostenida de nistatina en la cavidad bucal.

1.5 Objetivos Específicos.

1. Sintetizar films con los polímeros quitosano, goma arábica y ácido poligalacturónico cargando in situ nistatina mediante la técnica “Solvent-Casting”.
2. Caracterizar los films obtenidos mediante Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FTIR).
3. Caracterizar los films obtenidos por Calorimetría de Escaneo Diferencial y Termogravimetría (DSC-TGA).
4. Determinar la morfología y tamaño de los films obtenidos, por Microscopía electrónica de barrido (SEM).
5. Determinar el grado de hinchamiento de los films mediante la técnica de peso.
6. Realizar estudios de mucoadhesión de los films utilizando mucosa de intestino de conejo.
7. Determinar la cinética de liberación de nistatina en ambas formulaciones desarrolladas.
8. Realizar estudios in vitro de inhibición microbiana de los films con diversas cepas de *Candida*.

CAPÍTULO II: TEORÍA GENERAL

1.1. Candidiasis Orofaringea

Las candidiasis son infecciones oportunistas causadas por levaduras del género *Candida*. Estas se producen comúnmente como una infección secundaria en individuos inmunocomprometidos. Las levaduras forman parte de la microbiota normal de la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, el pene, vagina y otras partes del cuerpo, sin embargo, pueden volverse patógenas cuando se dan condiciones favorables (Spampinato & Leonardi, 2013).

La candidiasis orofaríngea es la infección micótica más frecuente del mundo en la actualidad, se manifiesta como manchas blancas en la lengua, garganta y otras zonas de la boca y se ve acompañada de síntomas como odinofagia y disfagia. Su clasificación incluye la pseudomembranosa, eritematosa y crónica hiperplásica. La pseudomembranosa es frecuente en pacientes crónicos y lactantes. Se presenta en forma de placas blancas, blandas y ligeramente elevadas, con mayor frecuencia en la lengua y la mucosa bucal. Las placas consisten en masas enmarañadas de hifas fúngicas con epitelio descamado entremezclado, restos necróticos, queratina, leucocitos, fibrina y bacterias. Esta placa blanca, al limpiarse, deja una zona eritematosa (Holmstrup & Axéll, 1990).

La candidiasis eritematosa se produce como consecuencia del uso de antibióticos de amplio espectro o de corticosteroides. Las lesiones se presentan como áreas eritematosas constantemente dolorosas junto con atrofia papilar central de la lengua. También se conoce como lesión del beso cuando el paladar está implicado y presenta eritema debido al contacto con la lengua (Patil et al., 2015).

La candidiasis hiperplásica crónica, también conocida como leucoplasia candidiásica, se caracteriza por que las personas presentan placas blancas firmes y persistentes en labios, lengua

y mucosa bucal. Estas placas pueden ser homogéneas o nodulares y persistir durante años. Cuentan con un potencial premaligno que frecuentemente se convierten en lesiones cancerígenas (Shah et al., 2017).

Alrededor del 80% de estas infecciones son causadas por *Candida albicans*, aunque las infecciones por *Candida* no *albicans* (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*) son cada vez más frecuentes (Ghaddar et al., 2020).

1.1.1. *Candida albicans*

Candida albicans es una levadura dimórfica con características de adhesión y virulencia superiores a otros miembros del mismo género. Es un microorganismo patógeno ubicuo que se encuentra frecuentemente en la piel y mucosas de personas sanas. A pesar de que las infecciones comunes por *C. albicans* son fácilmente tratables, las infecciones sistémicas, frecuentemente de carácter nosocomial, tienen una elevada tasa de mortalidad. El fármaco de elección para el tratamiento de las infecciones por *C. albicans* en piel y mucosas es la nistatina (Mayer et al., 2013).

1.1.2. *Nistatina*

La nistatina fue el primer antimicótico específico disponible para uso humano, fue descubierto en 1949 por Hazen y Brown en el Laboratorio de Salud del Estado de Nueva York, de ahí el nombre de nistatina (Nystatin en inglés) (Hazen & Brown, 1951). La nistatina es un antibiótico polieno producido por *Streptomyces noursei* y *Streptomyces albidus*. Se trata de un antibiótico tetraeno con una fracción de dieno conjugado y otra de tetraeno conjugado en la molécula (Figura 9). También contiene una fracción de azúcar, la micosamina, en su composición. Tiene una estructura y mecanismo de acción similares a los de la anfotericina B, pero su toxicidad sistémica asociada ha limitado el uso de la nistatina a aplicaciones tópicas. Es

insoluble en agua y no se absorbe a través de la piel, mucosas o el tracto gastrointestinal (Gøtzsche & Johansen, 2014).

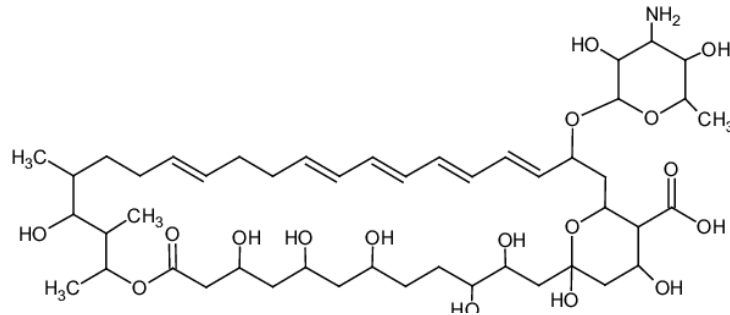


Figura 1. Estructura de la Nistatina.

La nistatina es un agente antifúngico con actividad fungistática y fungicida in vitro. Actúa uniéndose de forma irreversible a los esteroides de la membrana de las especies susceptibles de *Cándida*, lo que provoca un cambio en la permeabilidad de la membrana y la consiguiente fuga de componentes intracelulares esenciales (N.-H. Park et al., 2017).

Las formulaciones disponibles de este fármaco incluyen suspensiones, colutorios y trociscos, estas tienen un tiempo de residencia limitado en el sitio de la infección, por lo que es difícil mantener niveles por arriba de la concentración mínima inhibitoria. Esta problemática ha obligado a la búsqueda de estrategias que faciliten el cumplimiento terapéutico por parte de los pacientes y garanticen niveles adecuados de nistatina en la cavidad oral (Pérez-Sayáns et al., 2021).

2.1. Características de la Mucosa Oral

La cavidad oral se encuentra recubierta por una membrana mucosa que consiste de dos capas: un epitelio y tejido conectivo subyacente (la lámina propia). Esta mucosa es nombrada e identificada de acuerdo a su localización y son descritas actualmente tres tipos: masticatoria, de revestimiento y mucosa especializada.

La mucosa masticatoria tiene un grosor de 100 a 200 μm , es aproximadamente el 25% del total y se encuentra en el paladar duro y encías, esta se encuentra unida estrechamente por la lámina propia al hueso y su epitelio se encuentra queratinizado para resistir la fricción con la comida durante la masticación. La mucosa de revestimiento (60%) cubre la parte interior de los labios, carrillos, paladar blando, el suelo de la boca y la parte inferior de la lengua, tiene un espesor de 500 a 800 μm , su epitelio no se encuentra queratinizado y su lamina propia está estructurada para la movilidad por lo que está unida de una forma más laxa a las estructuras inferiores. Por su parte la mucosa especializada (15%) se encuentra en la superficie de la lengua y es la responsable de la captación de sabores. El término "bucal", se refiere a la mucosa de la mejilla y los labios superior e inferior, que representan un tercio de la superficie mucosa oral total (Akintoye & Mupparapu, 2020).

2.1.1. Epitelio Bucal.

El epitelio bucal se compone de múltiples capas de células en diferentes etapas de maduración entre las células más profundas y las superficiales (Figura 1). Las células basales son capaces de dividirse y mantener una población epitelial constante debido a que migran hacia la superficie conforme avanzan en su estado de maduración. La homeostasis del tejido depende de la diferenciación seguido por la migración y la descamación de las células superficiales (Jose et al., 2021). Las células de la capa intermedia (espinosas) acumulan lípidos y citoqueratinas de

bajo peso molecular que no les permiten agregarse para formar filamentos. Una porción intracelular de lípidos se envasa en pequeños orgánulos llamados recubrimiento, gránulos de membrana o gránulos laminares. Estos gránulos migran a la superficie apical de la célula donde se fusionan con su membrana, la membrana celular y el contenido de lípidos se excreta al espacio extracelular (Nanci, 2013).

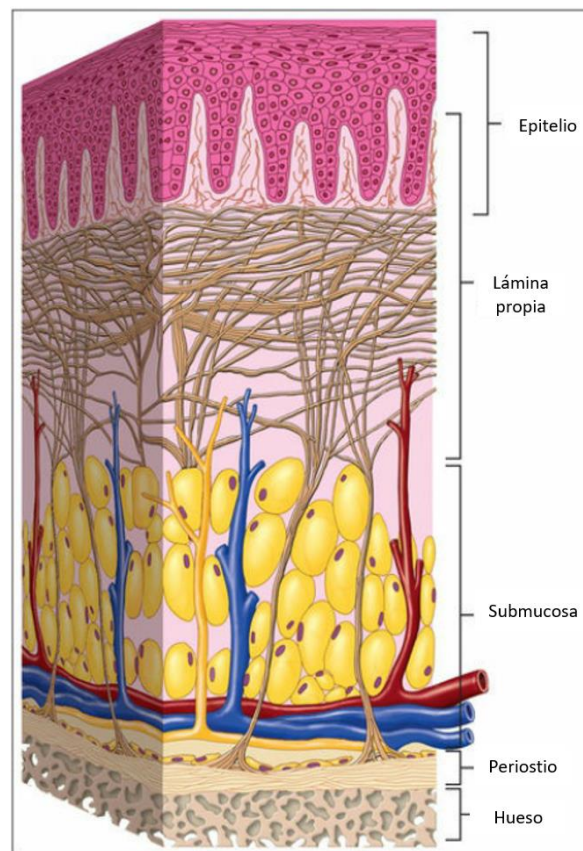


Figura 2. Principales tejidos componentes de la mucosa oral.

2.1.2. Moco

El epitelio bucal a su vez se encuentra cubierto por moco, que es una secreción viscosa y adherente sintetizada por células especializadas llamadas caliciformes. Las funciones del moco incluyen la lubricación de las mucosas para el paso de objetos, mantener el epitelio hidratado, funcionar como barrera principal contra agentes patógenos o sustancias nocivas y formar una capa de gel permeable que permita el intercambio de gases y nutrientes hacia el epitelio subyacente (Singh et al., 2002). La composición principal del moco es agua (>95%) y glucoproteínas de muy alto peso molecular ($2-14 \times 10^6$ g/mol) llamadas mucinas, también se encuentran en menor proporción proteínas, lípidos y mucopolisacáridos como IgA, lisozima, lactoferrina, lípidos, polisacáridos y iones, los cuales componen menos del 1% (Kebouchi et al., 2020).

2.1.3. Saliva

Por su parte, dentro de la cavidad oral está presente la saliva, esta se compone principalmente de agua (99.5%), además de enzimas como lisozima, α -amilasa, proteínas, glicoproteínas y electrolitos. Normalmente su pH se encuentra entre 5.6-7. Una de las proteínas que contiene es una mucina de alto peso molecular nombrada MG1 que puede unirse a la superficie de la mucosa oral con el fin de mantener la hidratación, proporcionar lubricación, concentrar anticuerpos y prevenir la fijación de microorganismos (Roblegg et al., 2019). La saliva humedece la boca, inicia la digestión y protege los dientes contra las caries ya que controla el crecimiento de la microbiota bacteriana de la cavidad oral y juega un papel importante en la remineralización de los dientes debido a que es alta en calcio y fosfato. Protege los dientes formando una "película protectora". Esto significa una capa de proteína en la saliva los dientes, que contiene compuestos antibacterianos (Cross & Ruhl, 2018).

2.2. Entrega Local de Fármacos en la Cavidad Oral

Existen dos tipos de estrategias principales de entrega de fármacos en la cavidad oral, a través de la mucosa queratinizada o de la mucosa no queratinizada. La selección de una de estas depende de las diferencias anatómicas y de permeabilidad que existe entre estos sitios. La mucosa queratinizada tal como las encías o el paladar duro no es considerada útil para la administración sistémica de fármacos, por lo que únicamente son utilizados para aplicación local en el tratamiento de enfermedades localizadas en estas regiones anatómicas (Harris & Robinson, 1992). Esto se debe a que el entregar el fármaco directamente en el sitio requerido sin una absorción sistémica se asocian con una menor incidencia de efectos adversos e interacciones con otros medicamentos (Klinge & Sawyer, 2013).

La entrega de fármacos a través de la mucosa no queratinizada a su vez puede subdividirse en dos: sublingual (la administración de fármacos a través de la mucosa del piso de la boca) y la bucal (la entrega de fármacos a través de la mucosa del interior de las mejillas para aplicación sistémica o local). La mucosa sublingual es mucho más permeable y delgada que la mucosa bucal, su capacidad de absorción permite alcanzar niveles terapéuticos rápidamente en sangre, por lo que esta vía es utilizada para aplicaciones sistémicas en el tratamiento de padecimientos agudos (Takx et al., 2015). La mucosa bucal es considerablemente menos permeable que la sublingual y no permite el mismo grado de absorción, por lo tanto, la mucosa bucal es una ruta preferida para el tratamiento de padecimientos crónicos cuando se requiere una liberación sostenida ya que así se pueden superar las desventajas de una administración sistémica convencional (Rogawski & Heller, 2019).

La aplicación local de fármacos representa una estrategia más eficiente que la sistémica para el tratamiento de padecimientos orales. Un alto porcentaje de las patologías de la boca son

crónicas y por lo tanto requieren un tratamiento prolongado y en su mayoría pueden ser tratadas de manera local sin necesidad de una aplicación sistémica. Por lo tanto, la entrega local de fármacos es mucho más efectiva ya que una menor cantidad del principio activo puede ser efectiva para tratar el padecimiento, reduciendo los efectos adversos. Sin embargo, una limitante a considerar es la limitada área superficial y tiempo de exposición de la mucosa bucal (Madhav et al., 2009).

Además, las propiedades organolépticas de los fármacos o sistemas de liberación como el sabor o consistencia pueden ser un obstáculo en tratamientos prolongados, por lo que esta aplicación es considerada apropiada para principios activos con alto potencial terapéutico, ya que solo una pequeña cantidad del mismo puede ser entregada (Kaminsky et al., 2015).

2.3. Formulaciones Mucoadhesivas

Las formas farmacéuticas convencionales existentes no tienen la capacidad de liberar el principio activo a un ritmo constante en el sitio de acción. Su principal desventaja es una baja biodisponibilidad que depende de los mecanismos fisiológicos de eliminación de la cavidad oral como el efecto de dilución por parte de la saliva y el estrés mecánico. Al ser constantemente eliminadas estas tienen un tiempo de residencia insuficiente, distribución impredecible y una gran liberación inicial seguida de una rápida disminución en las concentraciones por debajo de las terapéuticas (Ranade, 1991). Por estas razones se han desarrollado recientemente sistemas de liberación adhesivos que tienen diversas ventajas sobre los convencionales incluyendo: contacto directo entre el fármaco y la mucosa, un mayor tiempo de residencia sin interferir con las actividades fisiológicas como comer, hablar o beber y una liberación constante en el sitio de acción (Ways et al., 2018).

Las formas farmacéuticas mucoadhesivas son un nuevo tipo de formulaciones que presentan las propiedades antes mencionadas. En la década de 1980 Ishida y colaboradores fueron unos de los primeros investigadores en desarrollar un sistema mucoadhesivo para la administración de insulina a través de la mucosa bucal en perros (Ishida et al., 1981).

3.4. Mecanismos de Bioadhesión

Los mecanismos de bioadhesión y métodos para evaluar esta propiedad han sido estudiados y compilados por Peppas y Buri. Existen cuatro teorías clásicas que explican este fenómeno.

3.4.1. Teoría Electrónica.

Esta se basa en que el moco y el polímero muestran diferentes características adhesivas electrónicas (Figura 2). Cuando entran en contacto, se forma una doble capa de cargas eléctricas en la interfaz, por lo que la adherencia se debe a la fuerza de atracción de la transferencia de electrones a través de esta doble capa (Dodou et al., 2005).

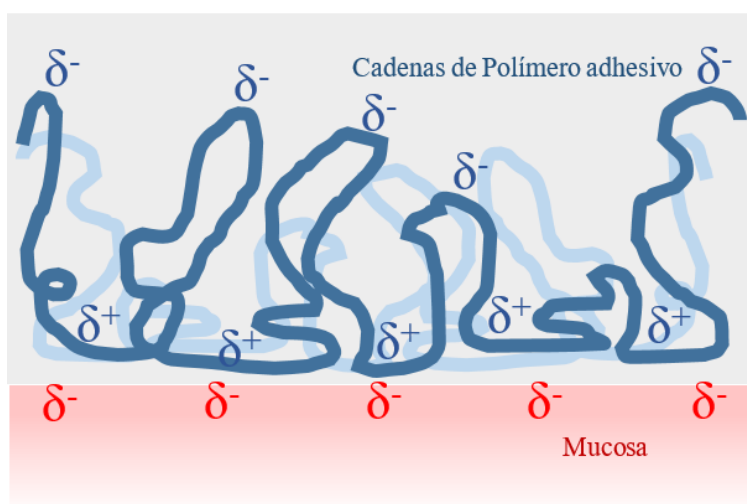


Figura 3. Teoría electrónica de adhesión.

3.4.2. Teoría de Adsorción.

Describe la unión de un polímero bioadhesivo a la superficie del moco basándose en los puentes de hidrógeno y fuerzas de Van der Waals que se generan entre los mismos (Figura 3). Se ha propuesto que estas fuerzas son las que más contribuyen a la interacción adhesiva. Una subsección de ésta, la teoría de la quimisorción, supone que se produce una interacción a través de la interfaz como resultado de un enlace covalente fuerte. (Jiménez-castellanos et al., 1993; Kinloch, 1980; Smart, 2005).

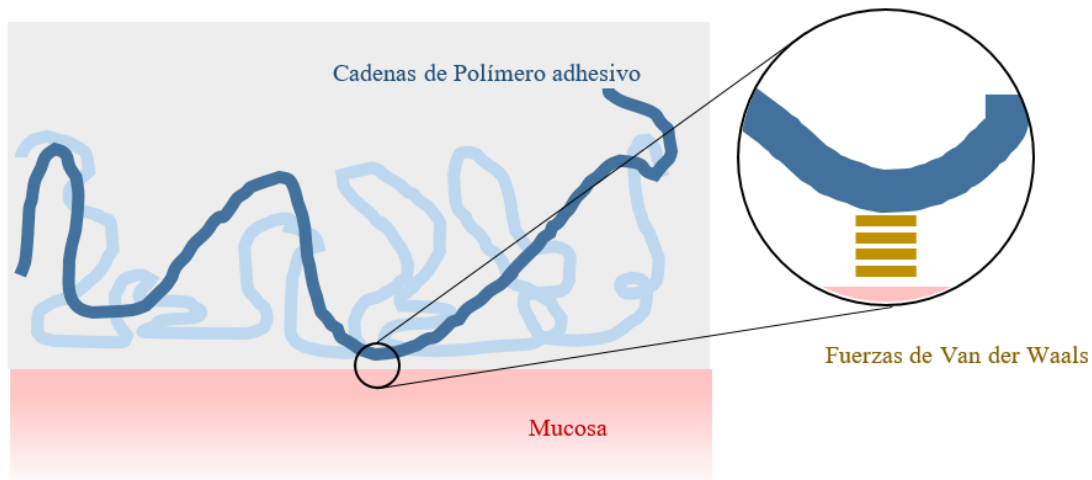


Figura 4. Teoría de adsorción

3.4.3. Teoría Humectante.

La teoría de la humectación es quizá la más antigua de las teorías de adhesión. Ésta aplica especialmente a bioadhesivos líquidos o de baja viscosidad. Explica la adhesión como un proceso de incrustación, mediante este, los polímeros adhesivos penetran en las irregularidades de la superficie de la mucosa produciendo anclajes adhesivos (Shaikh et al., 2011).

3.4.4. Teoría de Difusión.

La teoría de la difusión describe que las cadenas poliméricas del bioadhesivo se interpenetran en las cadenas de glucoproteínas de mucina alcanzando una profundidad suficiente dentro de la matriz opuesta para permitir la formación de una unión semipermanente (Figura 4). La tasa de penetración depende en los coeficientes de difusión, tanto de la interacción de polímeros y el coeficiente de difusión se sabe que dependerá del peso molecular y el grado de entrecruzamiento. La profundidad exacta necesaria para lograr una buena unión bioadhesiva no se ha determinado, pero se estima que se encuentra en el rango de 0,2-0,5 μm (Duchêne et al., 1988; Jiménez-castellanos et al., 1993).

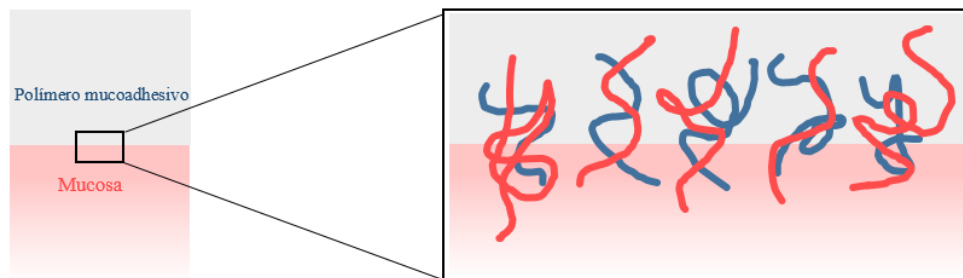


Figura 5. Teoría de difusión.

3.5. Polímeros Bioadhesivos.

Park y Robinson analizaron diversos polímeros para determinar su capacidad bioadhesiva y obtener información relevante sobre los requerimientos estructurales de la bioadhesión. La dependencia de la mucoadhesión del pH y de la densidad del grupo carboxilo sugiere que la mucoadhesión se produce mediante puentes de hidrógeno. Por otra parte, la densidad del agente entrecruzante afecta significativamente este fenómeno. Con el fin de aumentar las propiedades

mucoadhesivas intrínsecas de un polímero, las nuevas formulaciones para aplicación bucal pueden emplear dos o más polímeros o copolímeros que complementen sus propiedades en lugar de desarrollar sistemas poliméricos individuales (K. Park & Robinson, 1984).

En general, los polímeros adhesivos pueden clasificarse en sintéticos y naturales, solubles e insolubles en agua y cargados o no cargados. En la categoría de polímeros sintéticos, el poli (ácido acrílico), los derivados de ésteres de celulosa y los derivados de polimetacrilato son los más utilizados actualmente. Por su parte, el quitosano y varios tipos de gomas, como la arábica y la karaya, se clasifican como polímeros bioadhesivos seminaturales o naturales. El poli (ácido acrílico) y el policarbofilo, representan polímeros solubles y no solubles en agua, respectivamente. Los polímeros cargados se dividen en polímeros catiónicos y aniónicos, como el quitosano y el policarbofilo, mientras que la hidroxipropilcelulosa es un ejemplo de polímeros bioadhesivos no cargados (T Nagai & Machida, 1985).

3.5.1. Polímeros Bioadhesivos Naturales.

Los polímeros naturales han atraído recientemente la atención de la comunidad científica debido a las ventajas que ofrecen sobre los materiales tradicionales y el desarrollo de compuestos de polímeros naturales ha sido un tema de creciente interés. Los polímeros naturales con baja densidad y características altamente específicas son de bajo costo, se encuentran ampliamente disponibles y sus características son comparables a las de los polímeros sintéticos (Mudgil & Barak, 2020).

Los polímeros naturales derivados de plantas pueden utilizarse como desintegrantes, emulsificantes, agentes de dispersión y aglutinantes en la administración de fármacos. En su mayoría, son polímeros de carbohidratos hidrofílicos de alto peso molecular. Estos son preferibles a los polímeros sintéticos porque son más seguros, biocompatibles y biodegradables

(Saha et al., 2018). Además, la presencia o inclusión de grupos carboxilo, hidroxilo y amino en estos polímeros les permite crear interacciones no covalentes con otros polímeros o las moléculas de mucina.

3.6. Polielectrolitos

Los polielectrolitos son polímeros que cuentan con grupos químicos cargados eléctricamente o que pueden adquirir una carga eléctrica bajo ciertas condiciones (e.g. pH). Los polielectrolitos homogéneos sólo tienen un tipo de grupo cargado, por ejemplo, sólo grupos carboxílicos. Considerando esta característica se denominan policationes a aquellos que tienen carga neta positiva y polianiones si tienen carga negativa. Existe además un pequeño grupo de moléculas que presentan grupos con ambas cargas eléctricas y son denominados polianfolitos (Bourganis et al., 2017).

En comparación con polímeros no cargados, los polielectrolitos tienen cualidades únicas como una alta solubilidad en agua, la capacidad de expandirse y tomar grandes cantidades de agua, y capacidad de interactuar fuertemente con superficies y macromoléculas de carga opuesta. Estas propiedades típicas de los polielectrolitos están intrínsecamente ligadas a las fuertes interacciones electrostáticas en las soluciones de polielectrolitos y, debido a esto, son sensibles al pH de la solución, así como a la cantidad y el tipo de electrolitos presentes.

3.6.1. Quitosano.

El quitosano es un derivado biocompatible y biodegradable de la quitina (Figura 6). Se puede obtener en varios pesos moleculares (3800-20.000 Da) y se caracteriza por sus diferentes grados de acetilación. En muchos casos, ha sido el polímero de elección para la liberación controlada de fármacos. Esto es debido a que el quitosano retrasa la liberación del fármaco mediante mecanismos de interacción iónica similares a los de muchos otros polímeros, por

ejemplo, el alginato, la carboximetilcelulosa sódica, entre otros. Las propiedades iónicas del polímero lo hacen adecuado para su uso en formulaciones de liberación controlada (Zaboon et al., 2021).

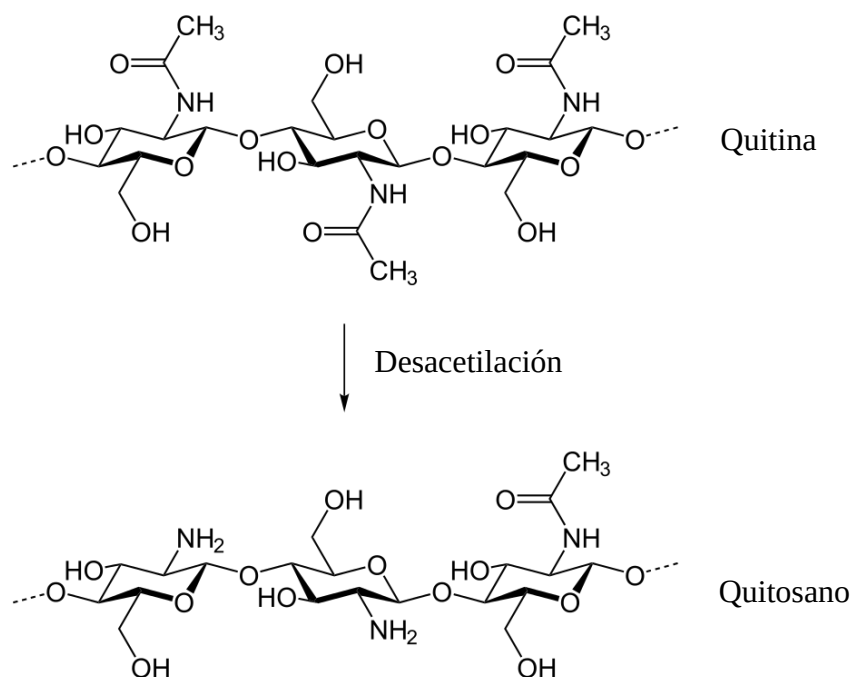


Figura 6. Formación de quitosano por desacetilación de quitina.

El quitosano es soluble en un medio acuoso ácido, su solubilidad depende de la densidad de carga de las moléculas y es sensible a los cambios de pH del medio. Se sabe que es soluble a un pH bajo e insoluble a valores neutros y/o altos de pH. Por otra parte, este polímero forma soluciones viscosas en el disolvente acuoso acidificado (Pardo-Castaño & Bolaños, 2019).

Un ligero aumento de la cantidad de quitosano aumenta significativamente la viscosidad. El carácter iónico del quitosano se aprovecha para sintetizar diversos complejos utilizados para la administración de fármacos en forma de comprimidos de matriz, micropartículas,

nanopartículas, etc. Su naturaleza catiónica da lugar a la formación de complejos de polielectrolitos con diversos polímeros poliónicos (Jayasuriya, 2017).

Una de las propiedades más investigadas del quitosano es su efecto antimicrobiano, que abarca desde las aplicaciones biomédicas, cosméticas, alimentarias entre otras. Esto ha llevado al diseño de una amplia gama de productos que contienen quitosano como perlas, películas, fibras, membranas e hidrogeles que se destinan a diversos usos. Esta propiedad se ha investigado contra una amplia gama de microorganismos en experimentos in vivo e in vitro con quitosano en diferentes formas (soluciones, películas y materiales compuestos) (Perinelli et al., 2018).

A pesar de que no se conoce aún del todo el mecanismo exacto de su actividad antibacteriana, se ha propuesto que la unión del polímero a la pared celular bacteriana cargada negativamente provoca la ruptura de la célula. Esto ocasiona la alteración de la permeabilidad de la membrana, seguida de la unión al ADN, la inhibición de su replicación y, finalmente, la muerte de la célula (Nagy et al., 2011). Otro mecanismo planteado, es que el quitosano actúa como un agente quelante que se une selectivamente a los oligoelementos metálicos provocando la producción de toxinas e inhibiendo el crecimiento microbiano (Divya et al., 2017).

3.6.2. Goma Arábiga

La goma arábiga es un exudado gomoso, comestible y desecado, procedente de los tallos y ramas de *Acacia senegal* y *A. seyal*, rico en fibra soluble no viscosa. La GA tiene diversos usos industriales como estabilizador, agente espesante y emulsionante, principalmente en la industria alimentaria (por ejemplo, en el jarabe de los refrescos, los caramelos de goma y los malvaviscos), pero también en las industrias textil, cerámica, litográfica, cosmética y farmacéutica (Verbeken et al., 2003).

La GA (Figura 7) es un polisacárido complejo de cadena ramificada, neutro o ligeramente ácido, se encuentra como una sal mixta de calcio, magnesio y potasio de un ácido polisacárido (ácido arábico). Su columna principal se compone de unidades de b-D-galactopiranosil unidas por enlaces 1-3. Las cadenas laterales se componen de entre dos y cinco unidades de b-D-galactopiranosil enlazadas, unidas a la cadena principal por enlaces 1-6. Tanto las cadenas principales como las laterales contienen unidades de a-L-arabinofuranosil, a-L-rhamnopiranosil, b-D-glucuronopiranosil y 4-O-metil-b-D-glucurono-piranosil, las dos últimas principalmente como unidades finales (Islam et al., 1997).

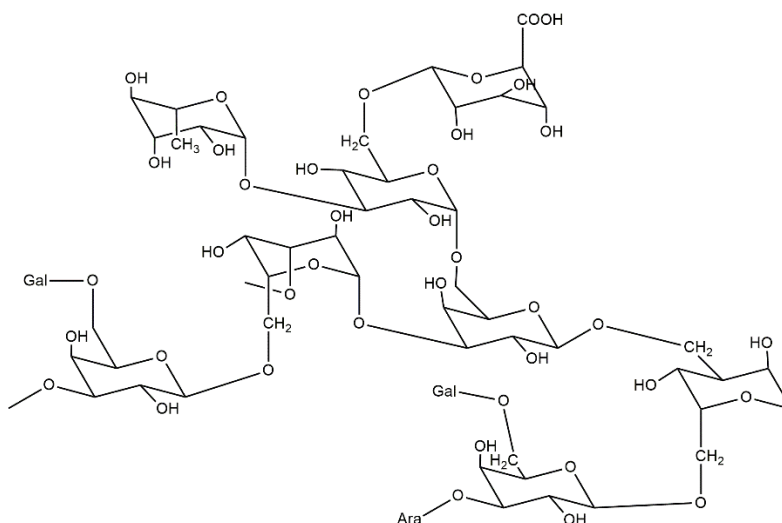


Figura 7. Estructura de la Goma arábica.

Este hidrocoloide de origen vegetal es conocido por sus propiedades terapéuticas en enfermedades como la diabetes mellitus, ictus y la hipertensión. Su gran capacidad antioxidante es el efecto más documentado. Debido a su gran disponibilidad y naturaleza no tóxica y biodegradable la GA ha sido utilizada en una amplia gama de industrias, como la alimentaria, la de pinturas, la textil, la de impresión, la farmacéutica y la biomédica. Entre los diversos usos de

los materiales basados en la goma arábiga, destacan la liberación controlada de fármacos y sus aplicaciones biomédicas mejoradas (Hassani et al., 2020).

3.6.3. Ácido Poligalacturónico

El ácido poligalacturónico (APG), es un polisacárido aniónico, componente principal de la pectina en las plantas, está formado por unidades de ácido d-galacturónico con enlaces α -1-4-glicosídicos y tiene un peso molecular medio que oscila entre 50.000 y 150.000 Da (Figura 8). Se ha utilizado para la liberación de fármacos oftálmicos y antialérgicos. Además, el oligo(ácido galacturónico) puede utilizarse como inhibidor de la agregación plaquetaria y como agente antitrombótico. El APG, añadido en productos farmacéuticos, impide que los patógenos entren en contacto con las células humanas y es capaz de combatir las infecciones gastrointestinales, respiratorias, urinarias y del aparato reproductivo (Peng et al., 2011).

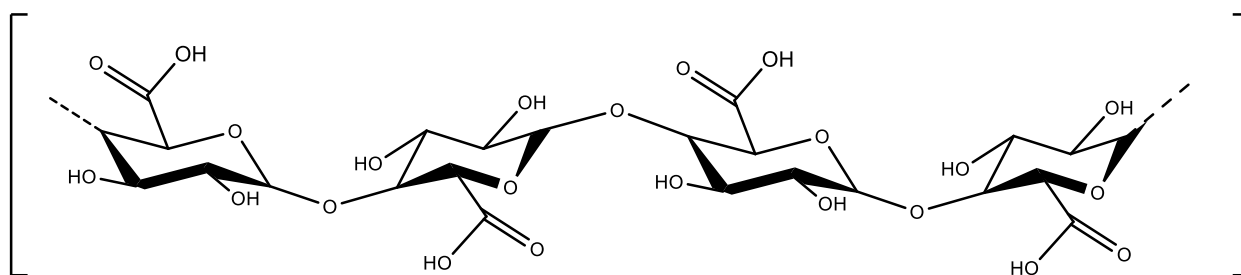


Figura 8. Estructura del ácido poligalacturónico.

3.7. Complejos de Polielectrolitos.

Los polielectrolitos tienden a formar complejos con uno o más iones de carga opuesta formando complejos de polielectrolitos. Un complejo de polielectrolitos se forma a través de interacciones electrostáticas, que son predominantes, entre los policationes y los polianiones al

mezclar soluciones acuosas de polielectrolitos con cargas opuestas, esto conduce a la formación de una fase densa que se separa del disolvente (Jha et al., 2014).

En la formación de complejos de polielectrolitos, también participan fuerzas intermacromoleculares, como los puentes de hidrógeno, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas y dipolares. Estas interacciones entre las cadenas poliméricas conducen a la formación de redes no permanentes sin la necesidad de utilizar entrecruzantes químicos (Figura 5). En general, los complejos de polielectrolitos son bien tolerados, biocompatibles y sensibles a los cambios en las condiciones ambientales, por lo que presentan claras ventajas en aplicaciones biológicas, por ejemplo, para controlar la liberación de fármacos (Bawa et al., 2011).

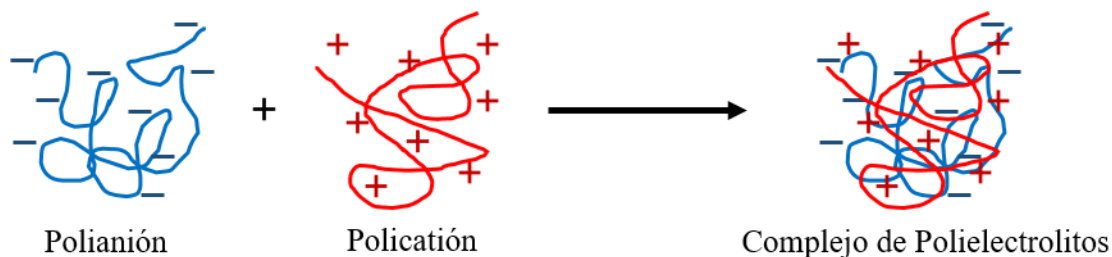


Figura 9. Formación de complejos de polielectrolitos.

La formación y la estabilidad de los complejos de polielectrolitos dependen de muchos factores, como el grado de ionización de cada uno de los polímeros, la distribución de la carga en las cadenas, las concentraciones y proporciones de los polielectrolitos, la naturaleza y la posición de los grupos iónicos, el peso molecular de los PE, la flexibilidad de la cadena polimérica, así como la temperatura, la fuerza iónica y el pH del medio de reacción (Schatz et al., 2004).

Los PEC tienen propiedades únicas en comparación con otros polímeros. No son solubles en los disolventes más comunes. Su elasticidad varía en función del grado de humedad. Al estar hidratados, los PEC tienen una consistencia suave, mientras que al estar secos son rígidos y quebradizos. Los PEC son permeables a todos los electrolitos; sin embargo, resultan impermeables a las macropartículas (Antipov et al., 2002).

La mayoría de los polisacáridos naturales son neutros o están cargados negativamente, dentro de estos se encuentra el alginato, pectina, goma xantana, goma arábiga, carragenina, ácido hialurónico y ácido poligalacturónico. Por otro lado, de los polisacáridos naturales de importancia industrial, el quitosano es el único polielectrolito catiónico de alto peso molecular que se encuentra en el mercado (Postnova et al., 2018).

3.8. Parches y Películas Adhesivas

Los parches y películas laminadas son las formas de dosificación más recientes para la administración bucal. Estos sistemas de administración de fármacos tienen diversas aplicaciones entre las que destaca la liberación de fármacos. Para el desarrollo de estas formas de dosificación es necesario seleccionar y caracterizar un polímero (o combinación de polímeros) con propiedades bioadhesivas adecuadas y control de la liberación del fármaco, para obtener ambas propiedades (Madhavi B et al., 2013).

Los parches y las películas bioadhesivas son laminados que constan de una capa polimérica cargada de fármaco, componentes mucoadhesivos con o sin retardadores de la liberación y aditivos, como potenciadores de la penetración o inhibidores enzimáticos. En algunas formulaciones se incluye además una capa posterior impermeable para promover la liberación unidireccional del fármaco (Govindasamy et al., 2013).

Las características de los parches y películas orales los convierten en una forma de dosificación adecuada para el tratamiento directo de enfermedades orales localizadas y difusas leves. Estos tienen una gran flexibilidad, lo que facilita un tiempo de residencia/retención prolongado, además de un alto nivel de cumplimiento y comodidad para el paciente. Además, proporcionan una dosificación más precisa del fármaco, en comparación con otras formas de dosificación, como los colutorios, suspensiones, geles y aerosoles (Seema et al., 2020).

Estas formas de dosificación adhesivas, gracias a su flexibilidad y buen tiempo de retención, protegen los tejidos dañados subyacentes, reduciendo así el dolor y aumentando la eficacia del tratamiento. Además, las láminas orales pueden ser útiles en el tratamiento de enfermedades orales difusas leves o graves, en particular las enfermedades orales crónicas en las que a menudo se requieren regímenes farmacológicos a largo plazo, debido a su elevado tiempo de retención y a la mayor comodidad del paciente (Rohani Shirvan et al., 2019).

CAPITULO III: EXPERIMENTAL

3.1 Materiales

Quitosano de bajo peso molecular (50-190KDa) 75-85% desacetilación (Sigma-Aldrich), goma arábica (Spectrum), ácido poligalacturónico (Sigma-Aldrich), Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) (MethocelTM 4000 DuPont), nistatina +85% (Acros Organics BVBA), fosfato de potasio monobásico (Fermont), fosfato de potasio dibásico (Mallinckrodt), agar Muller-Hinton (BBL); *Candida albicans* ATCC 14053, ATCC 90028 y *Candida krusei* aislada de una muestra clínica.

3.2 Síntesis de los Films de Polielectrolitos

Los Films de PEC fueron preparados utilizando la técnica “Solvent-Casting” (Kilicarslan et al., 2018b). Se preparó una solución de QUI al 5% añadiendo lentamente 750mg del polímero a 15 mL de una solución de ácido acético al 0.1% en agitación continua hasta disolverlo por completo; por otra parte, para generar la solución del polianión, una cantidad equivalente de GA o APG se disolvió en 15mL de agua desionizada en agitación continua.

Los PEC placebo fueron obtenidos por la adición gradual de la solución del polianión a la solución de QUI en agitación utilizando un homogeneizador 5000 rpm por 10 minutos. En el caso de los films cargados con NIS, después de la adición de la solución del polianión, se añadió una solución de NIS (25 mg en 20mL de etanol) y se mantuvo en agitación a 5000 rpm por 10 minutos.

Las mezclas obtenidas fueron transferidas a placas de vidrio silanizado de 10x10 cm, y se colocaron en un horno a 40°C por 48h. Los films obtenidos fueron retirados cuidadosamente de las placas y se inspeccionaron visualmente en busca de imperfecciones o burbujas de aire. Los films se almacenaron a temperatura ambiente hasta el momento de su posterior análisis.

3.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Las características morfológicas de los films de PEC fueron determinadas utilizando un microscopio electrónico de barrido (JIB-4500, Jeol, Japón). Los films fueron colocados en un porta muestras metálico utilizando cinta adhesiva doble y se cubrieron con una capa de oro para poder ser observados al microscopio (Wang et al., 2001). Se tomaron imágenes de los films placebo y cargados de NIS de ambas formulaciones en una vista de la superficie y de canto para determinar la variación en el grosor de los films.

3.4 Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR)

Con el propósito de determinar la presencia de los grupos funcionales característicos, se obtuvieron los espectros de FT-IR para los polímeros, el fármaco, los films placebo y films cargados con NIS (FT-IR Nicolet™ iS™ 5, 650–4000 cm^{-1} , 16 escaneos) todas las muestras se evaluaron en estado sólido.

3.5 Calorimetría de Escaneo Diferencial y Análisis Termogravimétrico

Para confirmar la formación de los PEC, se llevaron a cabo estudios de calorimetría de escaneo diferencial (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA) (SDT Q600, TA Instruments, EUA). Se pesaron entre 1.5 y 3 mg de los polímeros, sus mezclas físicas, NIS, los films placebo y los films cargados de NIS. Las muestras se colocaron en celdas de aluminio y fueron calentadas a 10 °C/min de 20 a 400 °C en atmósfera de nitrógeno.

3.6 Grado de Hinchamiento

La capacidad de hinchamiento de los films de PEC fue por el método de pesado. Se obtuvieron secciones de 2x2cm de las películas placebo y cargadas con NIS. Tres cuadrados de cada película se pesaron individualmente y se les permitió hincharse en una solución amortiguadora de fosfatos pH 6.75 a 37 °C. El peso de las películas se determinó a diferentes intervalos de

tiempo (0.25, 0.5, 1, 2, 3, 5 y 6 h). La captación de agua se calculó utilizando la siguiente ecuación:

Ecuación 1. Grado de hinchamiento

$$Q = \frac{P_t - P_0}{P_0}$$

donde Q es la capacidad de absorción de agua de la película, P_t es el peso de la muestra hinchada después del tiempo t y P_0 es el peso original.

3.7 Contenido de Fármaco

Se tomaron secciones de los films de 2x2cm de diferentes áreas. Los cortes se disolvieron en 100 ml de solución tampón de fosfatos pH 6.75 hasta desintegrarse por completo, la solución fue filtrada y se determinó el contenido de NIS espectrofotométricamente. Las muestras obtenidas se analizaron para determinar su contenido de NIS a una longitud de onda de 406 nm basada en la literatura (Llabot et al., 2007) y confirmada con un barrido en un espectrofotómetro UV-Vis. La concentración del fármaco se calculó en función de la curva de calibración adecuada construida en la misma solución.

3.7.1. Construcción de Curva de Calibración

Para la construcción de la curva de calibración para la determinación de fármaco en los films, se prepararon soluciones de NIS a concentraciones conocidas (25, 12.5, 6.25 y 3.125 µg/mL) en solución amortiguadora de fosfatos. Utilizando el software Origin 2018 se realizó una prueba de regresión lineal para determinar el ajuste de los datos a una línea recta (R^2) y la ecuación que explica la misma. Utilizando la ecuación obtenida es posible calcular el contenido de NIS.

3.8 Determinación de la Cinética de Liberación in Vitro de NIS

Se tomaron secciones de los films cargados de NIS de 2x2cm de diferentes áreas, cada cuadrado fue pesado y colocado en un vaso de precipitados que contenía 400 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 6.75, previamente calentado a 37 °C. En diferentes intervalos de tiempo (5 min, 10min, 15min, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 20 y 24 h) se tomó una muestra de 5 mL del medio de liberación y se reemplazó por un volumen igual de solución tampón fresco. Las muestras fueron probadas para el contenido de NIS espectrofotométricamente como se describió anteriormente.

La fracción de fármaco liberada fue determinada mediante la siguiente fórmula

Ecuación 2. Fracción liberada

$$F_t = \frac{M_t}{M_{\infty}}$$

Donde M_t =Cantidad de fármaco liberado a un tiempo y M_{∞} =Cantidad total de fármaco liberado.

3.9 Modelaje de la Cinética de Liberación

El modelamiento de la cinética de liberación se llevó a cabo mediante el programa Origin pro 2018, se probaron los modelos cinéticos de Higuchi y Korsemeyer-Peppas para determinar la ecuación que mostró un mejor ajuste al perfil obtenido en las pruebas in vitro.

3.10 Determinación in Vitro de la Actividad Antimicrobiana

Se probó la actividad antibacteriana de las películas placebo y conteniendo NIS utilizando placas de Agar Müller-Hinton adicionado con 2% de glucosa y 0.5mg/ml de azul de metileno (Sims et al., 2006) inoculadas con *Candida albicans* y *Candida krusei* de la siguiente manera: se utilizaron tres círculos de 7mm de diámetro para cada formulación que fueron transferidos a la

superficie de cada placa de agar inoculado y fueron incubadas a 37 °C. Se midieron los diámetros de la zona de inhibición a las 72h.

3.11 Propiedades de Mucoadhesión de las Películas

La determinación de las propiedades mucoadhesivas se realizó mediante un texturómetro (CT3, Brookfield, Canadá). La adherencia de cada film se obtuvo midiendo la fuerza necesaria para separar cada formulación de un disco de mucosa intestinal de conejo recién extirpada. Un fragmento de cada película de 1 cm de diámetro se adhirió al extremo de una sonda cilíndrica con ayuda de cinta adhesiva doble y se colocaron discos de mucosa de conejo previamente hidratadas por 5 min en solución amortiguadora de fosfatos pH 6.75 directamente debajo utilizando el accesorio adecuado.

El tiempo de contacto entre los films y la mucosa fue de 1s y luego la sonda se retiró a una velocidad de 1.0 mm/s. La fuerza necesaria para separar la película de la superficie de la mucosa se encontró a través del análisis de la fuerza máxima ($F_{\max}$; N), y el trabajo de adhesión (W_{ad} ; N-mm) se calculó a partir del área bajo la curva (Tejada et al., 2017).

Adicionalmente la capacidad de mucoadhesión de los films fue comparada con datos obtenidos en la misma prueba con tabletas de Hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) ya que este compuesto es un polímero conocido por su capacidad de mucoadhesión.

3.12 Análisis Estadístico

Todas las pruebas fueron realizadas por triplicado. Los resultados se expresaron como media $\pm$ DE. Las pruebas se llevaron a cabo utilizando el software Graphpad Prism 8 y Origin 2018, para determinar la significancia estadística de los estudios se consideró una $P < 0.05$.

CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Caracterización de los Films de Polielectrolitos

4.1.1 Características Físicas de los Films

Los films placebo de QUI-APG fueron de color amarillo, con una superficie áspera y una textura rígida y quebradiza (Fig.1a), los films de QUI-APG cargados con NIS, tuvieron características similares, con una textura más irregular y un color amarillo más intenso (Fig.1b).

En cuanto a los films de QUI-GA obtenidos por la misma técnica, estos mostraron un color más claro, una superficie lisa y una textura más flexible (Fig.1c), finalmente los films de QUI-GA cargados con NIS (Fig.1d), fueron muy similares a los placebo, con una apariencia más opaca y un color más intenso.

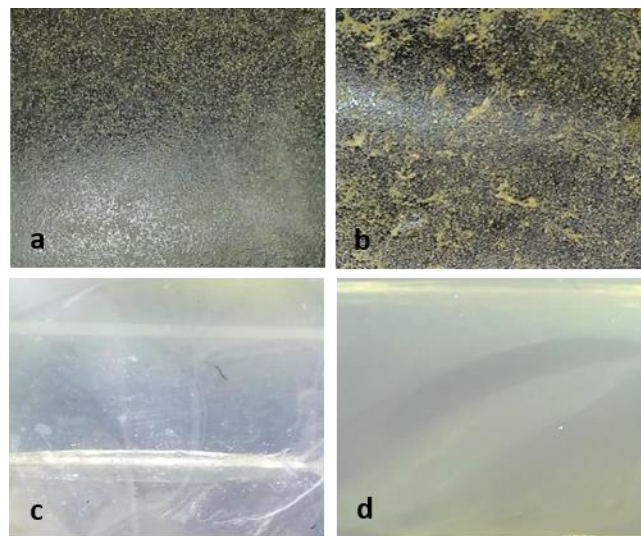


Figura 10. Morfología macroscópica de los films
a. QUI-APG placebo, b. QUI-APG cargado con NIS, c. QUI-GA placebo, d. QUI-GA cargado con NIS.

Estudios previos han reportado resultados similares en cuanto a coloración y textura de los films (Abruzzo et al., 2013; Castro-Ruiz, 2014; Kaur & Kaur, 2012). Respecto a la textura de los films, la flexibilidad y apariencia homogénea de los films es atribuida a residuos de polímeros que no

reaccionaron para formar PEC (Kassem et al., 2015b), estas características son deseables para una aplicación bucal, ya que la formulación debe ser capaz de adaptarse a las diferentes estructuras bucales sin romperse. En este caso los films QUI-GA presentaron una mayor flexibilidad que la formulación de QUI-APG.

4.1.2. Morfología Microscópica de los Films

La morfología microscópica de todos los films obtenidos fue evaluada mediante SEM, las micrografías de la superficie y de canto se muestran en la figura 2. Los films placebo QUI-APG mostraron una superficie irregular y un grosor variable, en el caso de los films placebo QUI-GA, estos tuvieron una superficie lisa, sin poros aparentes y un grosor homogéneo, en el caso de ambas formulaciones cargadas con NIS, fue posible observar en la superficie de los films cristales del fármaco.

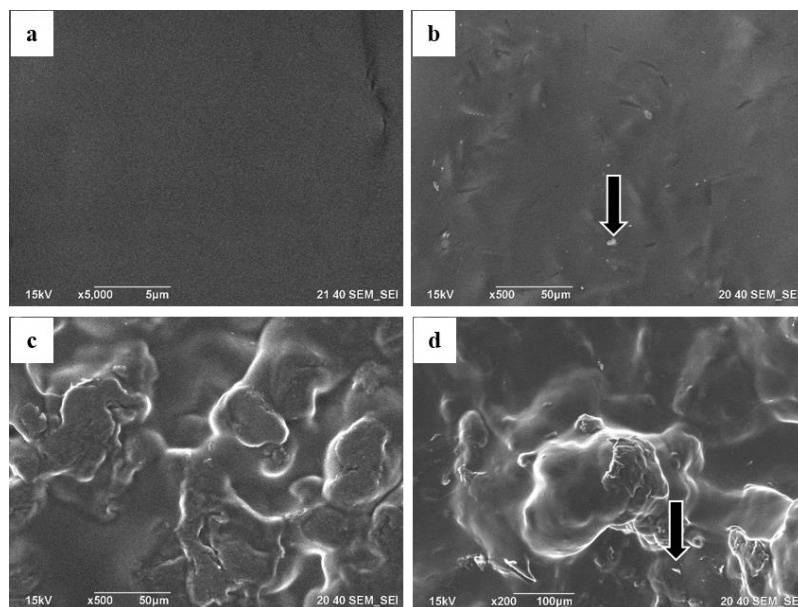


Figura 11. Micrografías electrónicas de los films

a. QUI-APG placebo, b. QUI-APG cargado con NIS, c. QUI-GA placebo, d. QUI-GA cargado con NIS. Las flechas indicant cristales de fármaco precipitado.

4.1.3. Espectroscopía FT-IR

En las figuras 3 y 4 se pueden observar los espectros para los polímeros, el fármaco y los films.

Las señales principales de NIS fueron a 1701.1 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de estiramiento del enlace C=O de un grupo éster, la banda amplia encontrada a 3353 cm^{-1} es debido al solapamiento de los grupos –OH y –NH (Mohammadi et al., 2017). Las bandas del Quitosano a 1644 cm^{-1} y 1577 cm^{-1} corresponden a los grupos –NH de amida I y amida II respectivamente (Yang et al., 2018). Las señales a 1602 cm^{-1} y 1412.4 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento de los grupos –C- y –COOH de la goma arábiga, y la banda a 1730 cm^{-1} corresponde a la vibración de grupos C=O no ionizados del ácido poligalacturónico.

En el caso de los films QUI-APG, la banda a 1730 cm^{-1} del APG cambió a 1541 cm^{-1} , y en el caso de los films QUI-GA las señales a 1644 cm^{-1} y 1579.99 cm^{-1} del QUI se superpusieron, mientras que los picos a 1601.28 cm^{-1} y 1412.4 cm^{-1} de GA se ensacharon y cambiaron a 1555.41 cm^{-1} y 1412.4 cm^{-1} respectivamente.

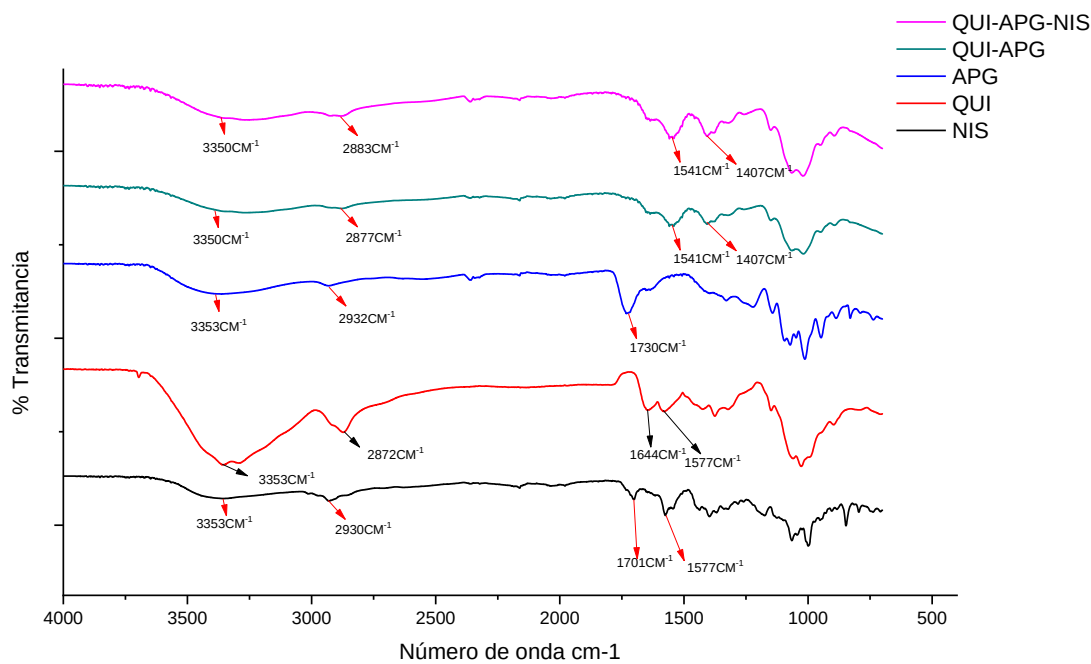


Figura 12. Espectros FT-IR de NIS, QUI, APG, QUI-APG y QUI-APG-NIS.

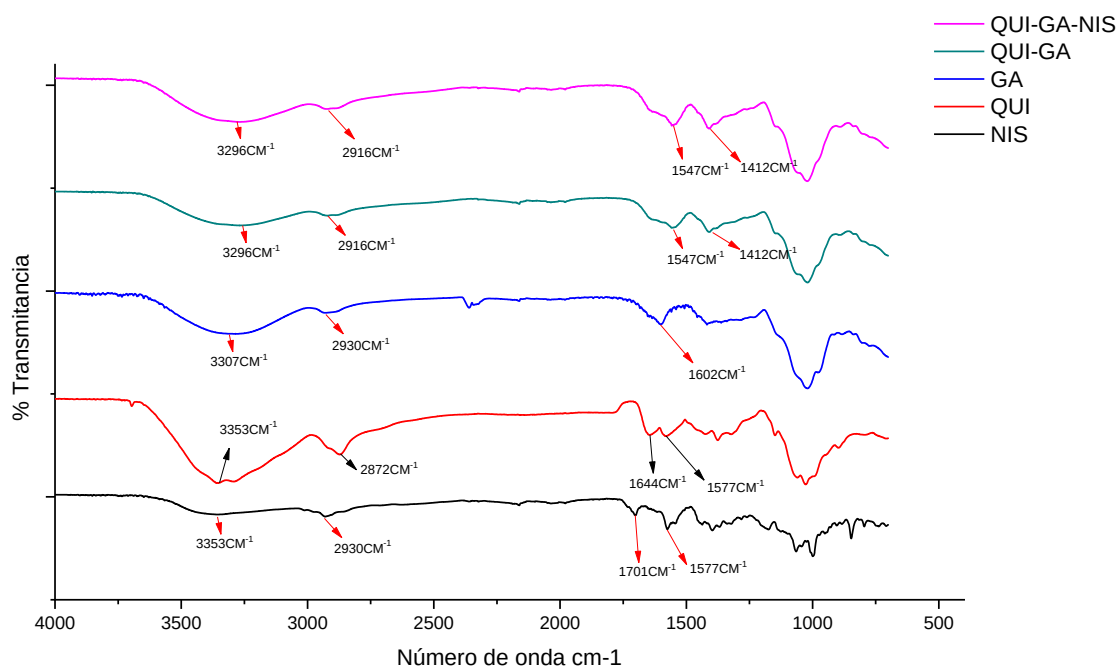


Figura 13. Espectros FT-IR de NIS, QUI, GA, QUI-GA y QUI-GA-NIS.

Las deformaciones simétricas y asimétricas de los grupos N-H pueden ser una explicación a los cambios en la longitud de onda y amplitud de las bandas en aminas protonadas, las vibraciones de estiramientos asimétricos de amidas I y II y iones carboxilato después de la formación del complejo (Gierszewska et al., 2018). Los cambios en las señales correspondientes a los grupos –COOH indican la formación del complejo. De acuerdo a la literatura (Mirtiĉ et al., 2018), las bandas que corresponden a los estiramientos asimétricos de C-O pueden cambiar a valores más altos en la presencia de iones divalentes. La banda a 1419 cm^{-1} también cambió de posición indicando una interacción entre los polímeros.

4.1.4. Análisis Termogravimétrico y Calorimetría de Escaneo Diferencial

Las figuras 5 - 8 muestran los termogramas de QUI, APG, GA, NIS, su mezcla física y los films obtenidos. Todos los materiales mostraron un proceso endotérmico inicial con pérdida de peso correspondiente a la evaporación de agua presente en las muestras. QUI y GA mostraron eventos

térmicos cercanos a los 300 °C mientras que el APG se degradó a 240 °C y la NIS mostró dos picos endotérmicos a 164 y 435 °C. En la mezcla física de los polímeros QUI y APG, se pueden observar los picos de ambos compuestos, este fenómeno no se observó en la mezcla de QUI y GA debido al comportamiento térmico similar de ambos polímeros. Los films de PEC mostraron el mismo número de picos que las mezclas físicas, sin embargo, aparecieron reducidos en intensidad y a una temperatura menor.

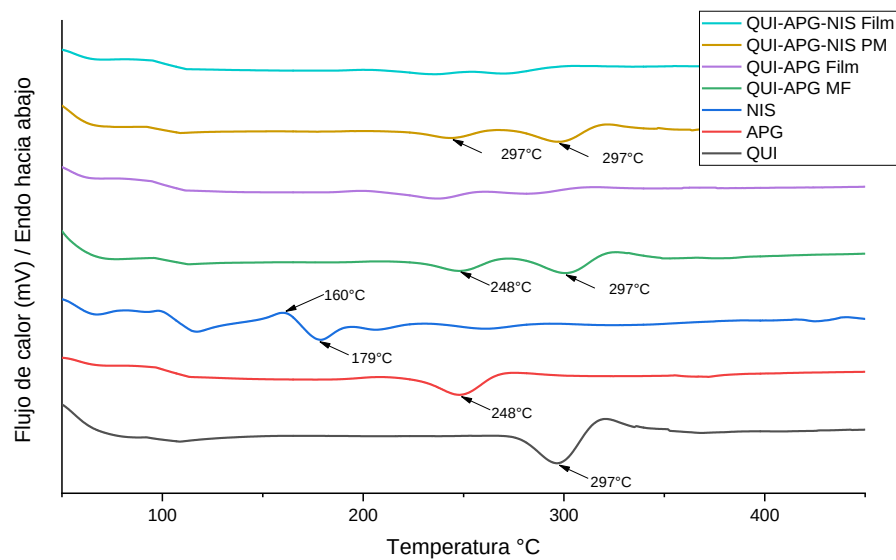


Figura 14. Termograma DSC de QUI, APG, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.

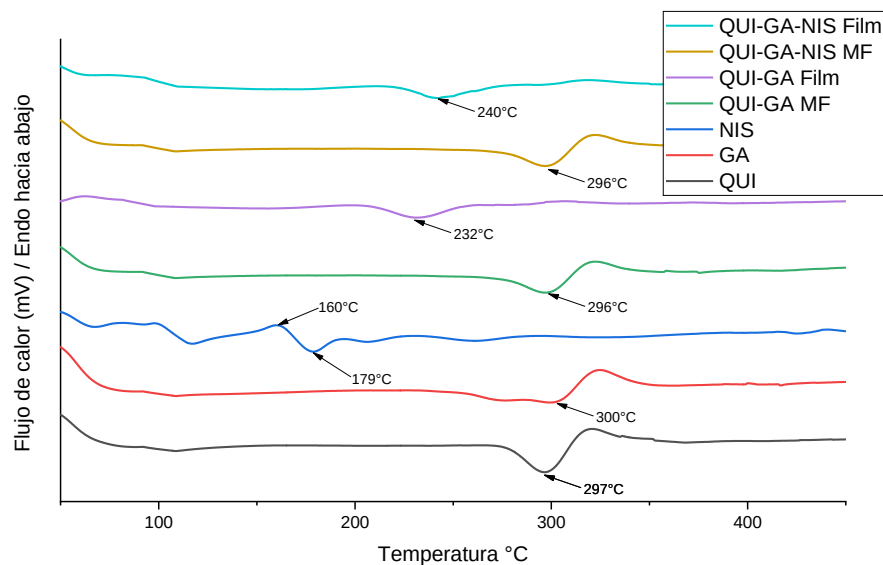


Figura 15. Termograma DSC de QUI, GA, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.

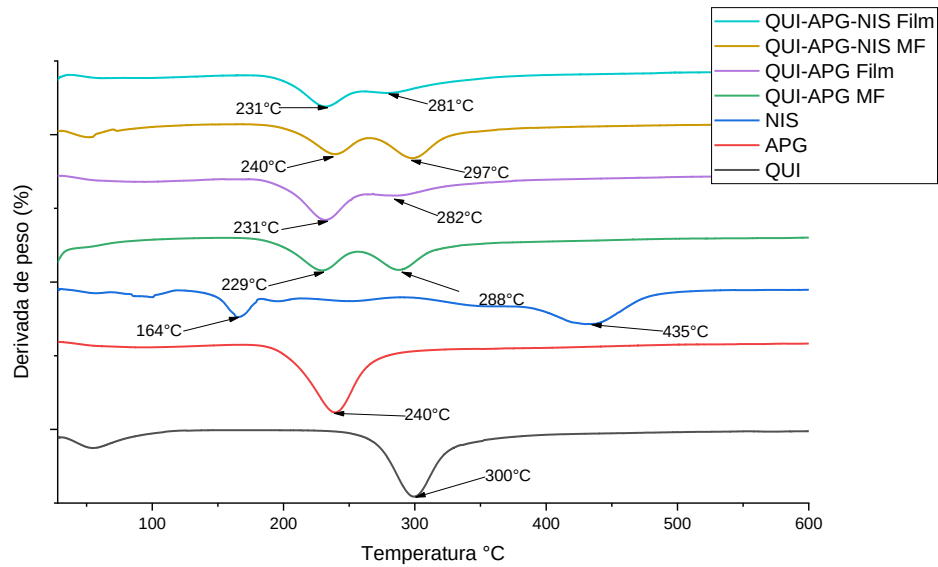


Figura 16. Termograma TGA de QUI, APG, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.

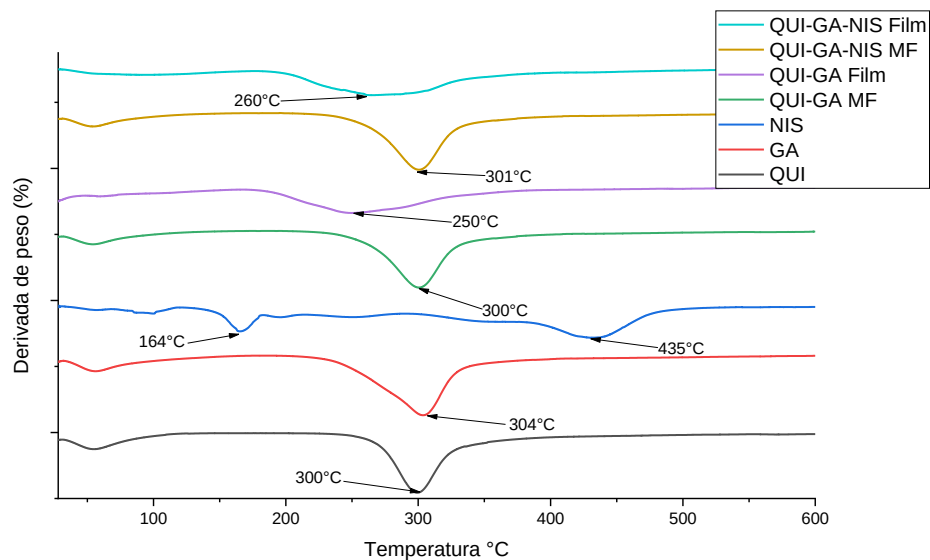


Figura 17. Termograma TGA de QUI, GA, NIS, sus mezclas físicas (MF) y films.

El cambio de la temperatura de degradación a una más baja indica una pérdida de organización en la estructura de los compuestos, esto debido a la interacción entre el QUI y los polianiones utilizados, siendo esta una de las evidencias principales de la formación de un complejo entre los polímeros (Leclercq et al., 2012). La ausencia del pico de degradación de NIS, tanto en las

mezclas físicas como en los films, demuestra que el fármaco se encuentra en una proporción suficientemente pequeña para no afectar los resultados de la prueba ya que está disperso en los materiales.

4.1.5. Contenido de Fármaco de los Films

Utilizando las absorbancias de las soluciones de concentración conocida se construyó la siguiente curva de calibración en Origin 2018:

Tabla 1. Curva de calibración NIS

Concentración de NIS ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia (406 nm)
10	0.196 ± 0.0028
5	0.087 ± 0.0067
2.5	0.045 ± 0.0153
1.25	0.027 ± 0.0118
0.625	0.010 ± 0.0109

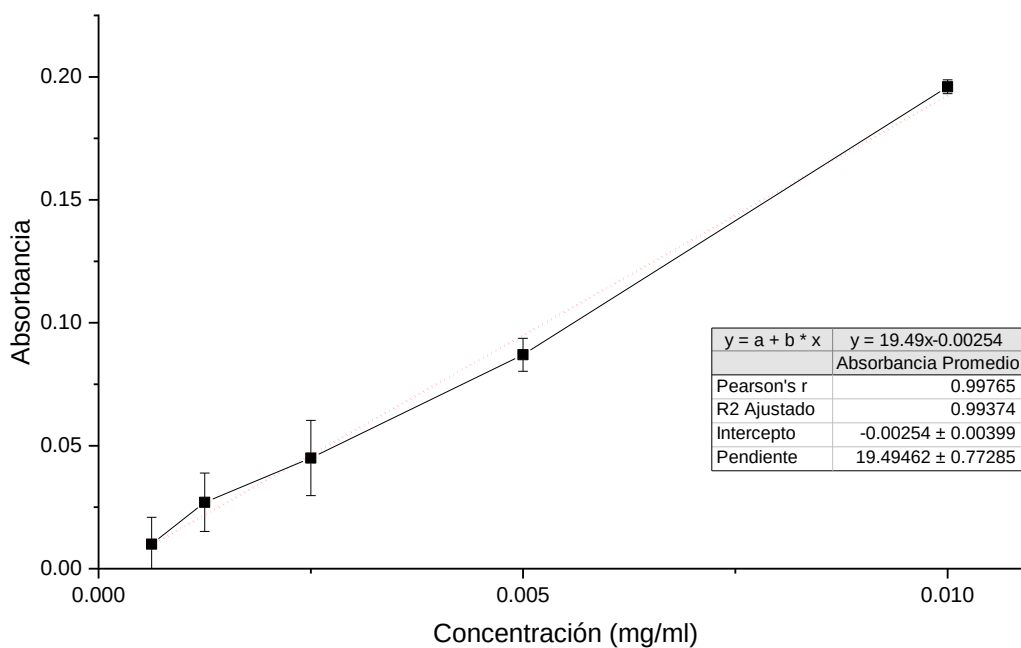


Figura 18. Curva de calibración NIS

La curva resultante mostró un buen ajuste con una R^2 ajustada de 0.9937, por lo que la ecuación para calcular la concentración de NIS fue:

Ecuación 3. Concentración de NIS en solución.

$$C_{NIS} = \frac{ABS + 0.00254}{19.49}$$

Donde C_{NIS} es la concentración de NIS en la solución amortiguadora de fosfatos y ABS es la absorbancia registrada por el espectrofotómetro a 406 nm.

Utilizando esta ecuación fue calculado el contenido de fármaco de los films (Tabla 2), donde no se encontró una diferencia significativa entre las formulaciones ($P=0.251$).

Tabla 2. Contenido de fármaco de los films de PEC determinado experimentalmente.

Formulación	QUI-APG placebo	QUI-GA placebo	QUI-APG-NIS	QUI-GA-NIS	p
Contenido de fármaco (mg/cm ²)	-	-	0.2484 ± 0.0030	0.2510 ± 0.0015	0.251

4.1.6. Grado de Hinchamiento de los Films

Mediante la técnica de pesado se determinaron los siguientes grados de hinchamiento para los films (Tabla 3, Figura 10).

Tabla 3. Grado de hinchamiento (Q) de los films

Tiempo (h)	QUI-APG	QUI-GA	QUI-APG-NIS	QUI-GA-NIS
0	0.00	0.00	0.00	0.00
0.25	5.44 ± 0.10	5.34 ± 0.18	3.84 ± 0.03	3.35 ± 0.08
0.50	6.06 ± 0.24	5.7 ± 0.01	3.92 ± 0.04	3.70 ± 0.19
1	6.31 ± 0.15	5.79 ± 0.01	3.74 ± 0.33	3.81 ± 0.37
2	6.48 ± 0.45	5.09 ± 0.08	3.79 ± 0.4	3.76 ± 0.34
3	6.17 ± 0.87	5.37 ± 0.47	3.89 ± 0.78	3.86 ± 0.91
4	6.57 ± 0.64	5.95 ± 0.85	3.97 ± 0.53	4.15 ± 0.55
5	7.06 ± 0.89	5.57 ± 1.12	3.92 ± 0.58	4.25 ± 0.94
6	6.28 ± 1.31	5.65 ± 1.35	4.44 ± 0.36	4.56 ± 0.70

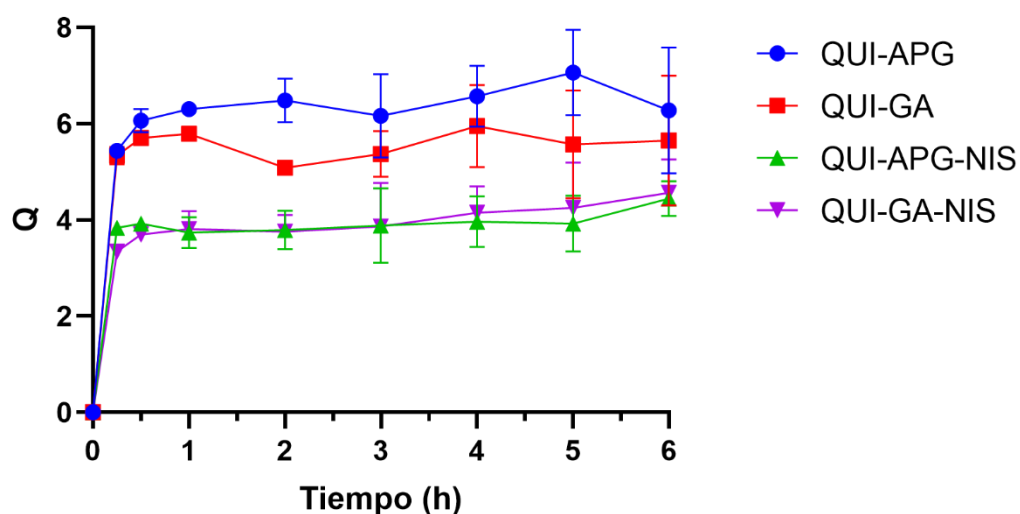


Figura 19. Grado de hinchamiento (Q) de los films.

Ambas formulaciones de films mostraron una gran capacidad de captación de agua durante el periodo evaluado, la absorción de agua fue rápida durante la primera hora del estudio seguida de un aumento lento.

Pasada la marca de 6h, los films de QUI-GA comenzaron a degradarse mientras que los de QUI-APG no perdieron su integridad. Estos resultados pueden ser explicados por la diferencia en la resistencia al movimiento de las moléculas de agua por parte de las matrices de polielectrolitos (Panomsuk et al., 1996). Se ha reportado que una fuerte interacción entre los polielectrolitos causa un estrechamiento de la matriz resultando en una capacidad de hinchamiento reducida (Macleod et al., 1999).

4.1.7. Estudios de Liberación in Vitro de NIS

Se observó una liberación inicial rápida de NIS de ambas formulaciones (Figura 11), esto puede deberse a la presencia del fármaco en la superficie de los films ya que las micrografías SEM confirmaron que la NIS se encontraba dispersa en la superficie de los films. Posterior a esta liberación ambas formulaciones mostraron un perfil de liberación moderado.

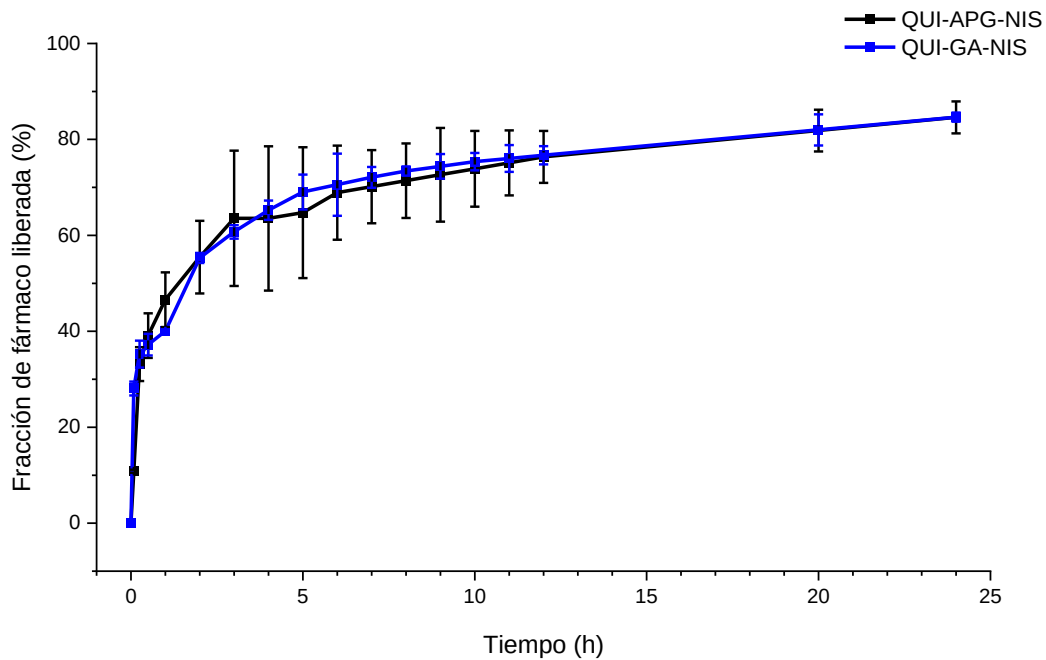


Figura 20. Perfiles de liberación de NIS de los films PEC.

Este comportamiento podría ser beneficioso para la aplicación bucal ya que una liberación rápida inicial podría ayudar a alcanzar niveles terapéuticos del fármaco mientras que la segunda etapa de la liberación permitiría mantener los niveles por encima de la concentración mínima inhibitoria. Ambas formulaciones mostraron un perfil similar de liberación, cerca del 55% del fármaco se encontró presente en las muestras de la segunda hora y aproximadamente el 84% había sido liberado a las 24 horas. Kassem et al., en 2015 observó resultados similares en el

perfil de liberación de tetraciclina de films de PEC para aplicación periodontal. Los autores atribuyeron estos resultados a la disolución del antibiótico de la superficie del film en agua.

4.1.8. Modelaje de la Cinética de Liberación de NIS

Los datos obtenidos de los perfiles de liberación del fármaco fueron probados con la ecuación de Higuchi ($F = K_H t^{\frac{1}{2}}$) y el modelo de Korsemeyer-Peppas ($F = k_{K-P} t^n$) y se compararon algunos parámetros cinéticos como la constante de liberación (k), coeficiente de determinación (R^2), exponente de liberación (n) y suma de cuadrados residuales (RSS) (Tabla 4). Un valor mayor de R^2 y uno menor de RSS indicaron un mejor ajuste de los datos al modelo teórico.

Tabla 4. Coeficientes de correlación cuadrados (R^2) y coeficientes obtenidos mediante la regresión de los datos de liberación utilizando los modelos matemáticos de Higuchi y Korsemeyer-Peppas.

Modelo		QUI-APG	QUI-GA
Higuchi	K	0.2325	0.2354
	R^2 Ajustada	0.5143	0.4291
	RSS	0.4671	0.5016
Korsemeyer-Peppas			
	K	0.4491	0.4713
	n	0.2166	0.1998
	R^2 Ajustada	0.9608	0.9815
	RSS	0.0354	0.0152

En las Figuras 12 – 15 se pueden observar los perfiles de liberación de cada formulación ajustados a cada modelo matemático, se muestra el intervalo de confianza (IC) al 95% para la predicción de la curva.

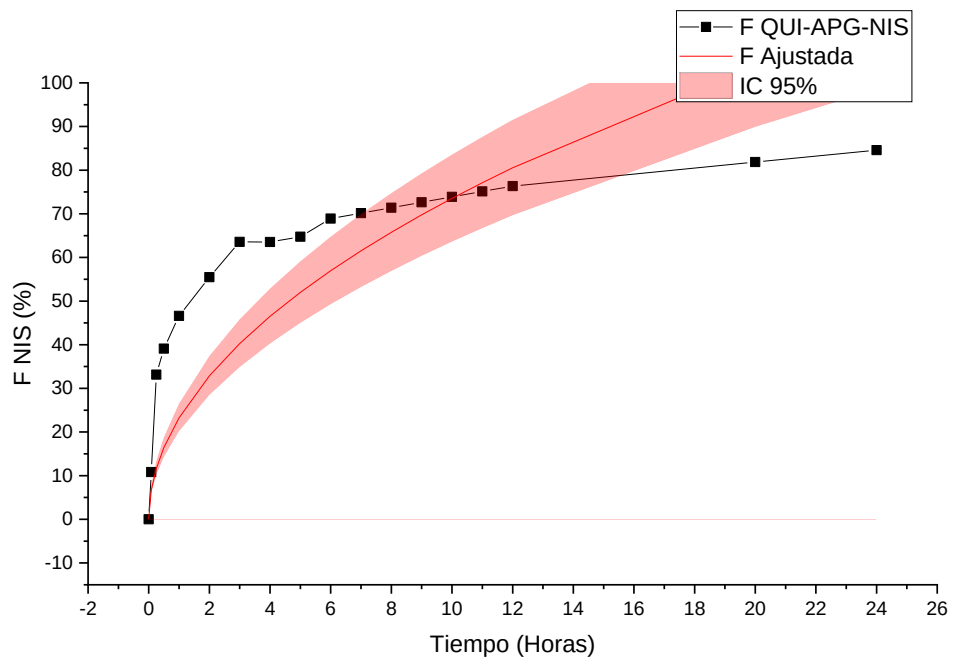


Figura 21. Cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Higuchi

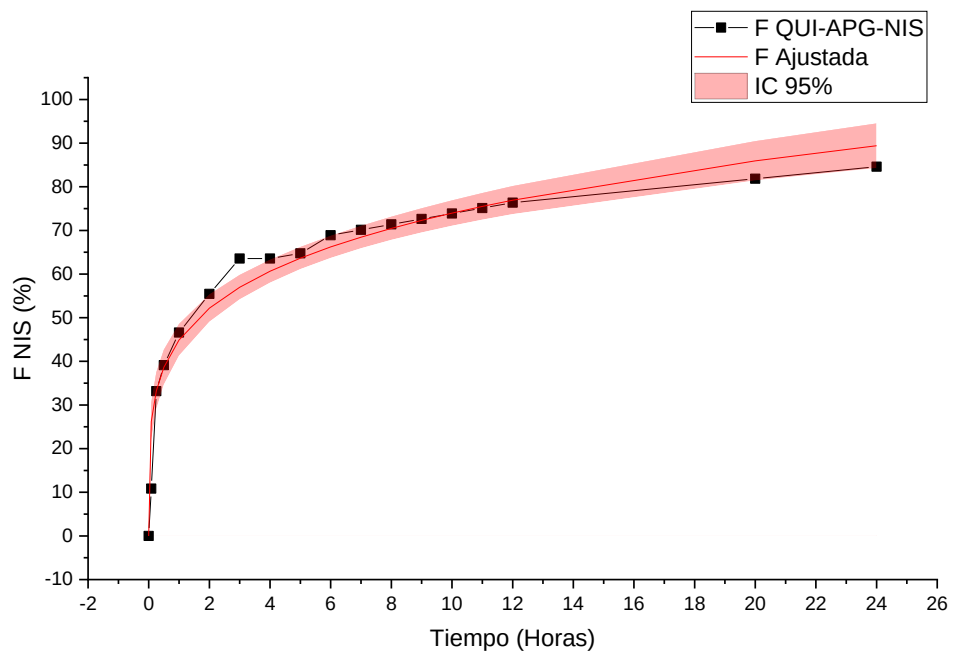


Figura 22. Cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Korsmeyer-Peppas

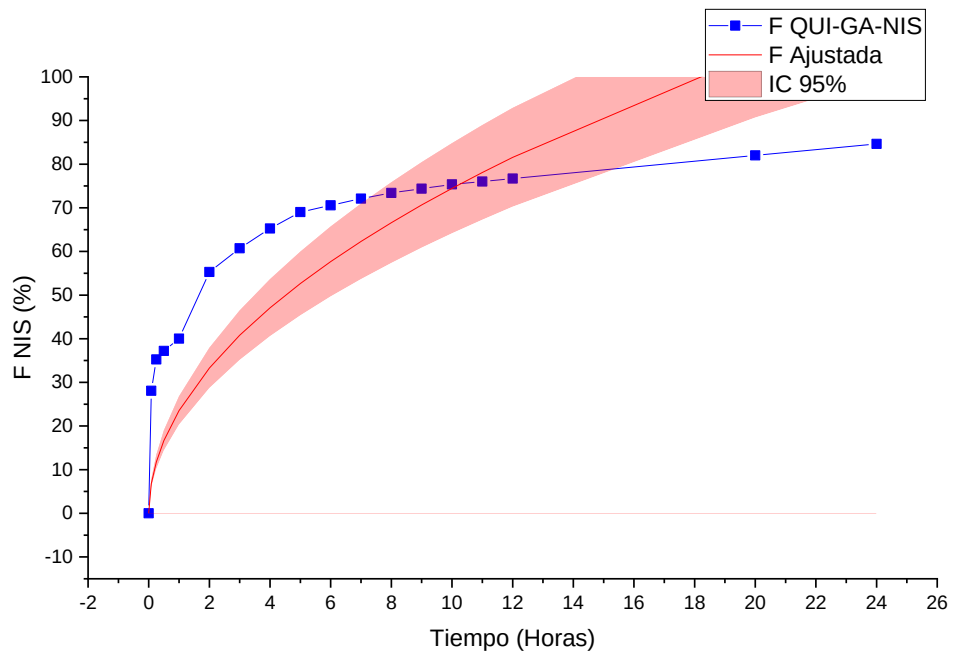


Figura 23. Cinética de liberación de NIS de films QUI-GA-NIS ajustada al modelo de Higuchi

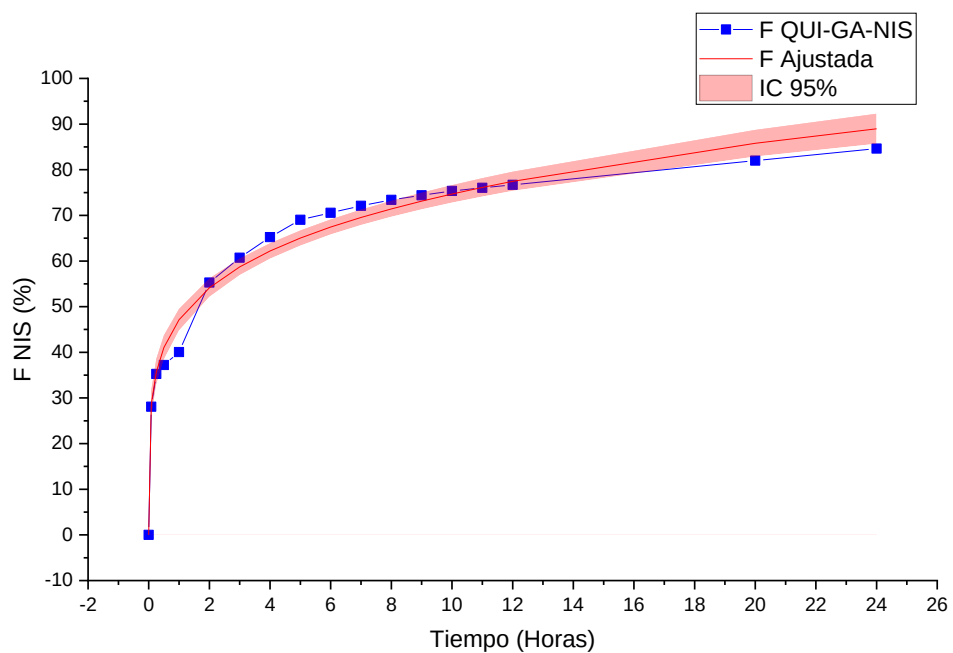


Figura 24. cinética de liberación de NIS de films QUI-APG-NIS ajustada al modelo de Korsmeyer-Peppas

El modelo de Higuchi describe una proporcionalidad directa entre la fracción acumulada del fármaco liberado contra el tiempo en un estado pseudo estacionario. Por lo tanto se considera a la liberación como una transferencia de masa del sistema de liberación al medio (Paul, 2011); por otro lado el modelo de Korsmeyer-Peppas se basa en la ley de Fick, y es útil cuando el mecanismo de liberación es controlado adicionalmente por la relajación de las cadenas de los polímeros y por lo tanto es aplicado frecuentemente a perfiles de liberación de sistemas poliméricos (Korsmeyer et al., 1983). De acuerdo al modelo Korsmeyer-Peppas, el valor de la constante “n” indica el mecanismo específico de liberación, valores menores a 0.5 pueden deberse a la difusión del fármaco parcialmente a través de una matriz hinchada y poros hidratados, como lo observado en esta formulación.

De acuerdo a lo observado en los ajustes de los perfiles de liberación a ambos modelos, el de Korsmeyer-Peppas fue el que mostró un mejor ajuste en ambos casos, con una R^2 de 0.96 y 0.98 para la formulación QUI-APG y QUI-GA respectivamente. Este ajuste indica que la liberación de NIS no depende únicamente de la difusión del fármaco al medio, sino también de la hidrofilicidad de los polielectrolitos.

4.1.9. Determinación in Vitro de Actividad Antimicrobiana

La actividad antimicrobiana de los films fue monitoreada durante un periodo de 72h (Tabla 5). Ambos films cargados con NIS mostraron un efecto inhibitorio en las tres cepas utilizadas, a pesar de que los films de QUI-GA mostraron una zona de inhibición mayor que la de los films de QUI-APG no se encontró una diferencia significativa al compararlas, esto se correlaciona con la similitud en los perfiles de liberación de ambos films. Por su parte se observó también un efecto inhibitorio por parte de los films placebo de QUI-GA, pero no en los de QUI-APG.

Tabla 5. Actividad antimicrobiana de los films.

	QUI-APG	QUI-GA	P	QUI-APG-NIS	QUI-GA-NIS	P
<i>C. albicans</i> ATCC 14053	0	10 ± 1.0	0.000	35 ± 2.5	38 ± 2.0	0.1799
<i>C. albicans</i> ATCC 90028	0	9 ± 1.5	0.000	38 ± 1.0	41 ± 2.0	0.1401
<i>C. krusei</i>	0	9 ± 1.0	0.000	18 ± 2.0	16 ± 0.5	0.1682

Diámetro de las zonas de inhibición (mm) observadas a las 72h

La actividad antimicrobiana de GA y QUI ha sido descrita previamente por otros autores (Baïen et al., 2020; Goy et al., 2016), sin embargo, únicamente para el QUI se ha propuesto un mecanismo de acción para tal efecto. Los autores refieren que la principal causa de la lisis celular ocasionada por QUI son las interacciones electrostáticas entre sus grupos amino con carga positiva ($R-NH_3^+$) y las cargas negativas de las membranas microbianas (Goy et al., 2009; Rabea et al., 2003).

4.1.10. Capacidad de Adhesión de los Films

A partir de la inspección visual, los films mostraron capacidad mucoadhesiva en el modelo probado (Figura 16). No se encontró una diferencia significativa para F_{max} y W_{ad} entre los films placebo o cargados con NIS. Cuando fueron probados contra tabletas de HPMC, se encontró un F_{max} similar entre los films placebo o cargados con NIS y las tabletas, sin embargo, los films QUI-GA y QUI-GA-NIS mostraron un W_{ad} significativamente mayor que el resto de las muestras (Tabla 6, Figura 16).

Tabla 6. Parámetros de adhesión de los films y tabletas de HPMC.

Formulación	$F_{\max}$ (N)	W_{ad} (mJ)
QUI-APG	3.78 ± 0.0351	142 ± 74
QUI-APG-NIS	3.66 ± 0.0416	140 ± 39
QUI-GA	3.79 ± 0.3066	205 ± 68
QUI-GA-NIS	3.64 ± 0.1266	196 ± 22
Tabletas HPMC	3.75 ± 2.0377	38.4 ± 13

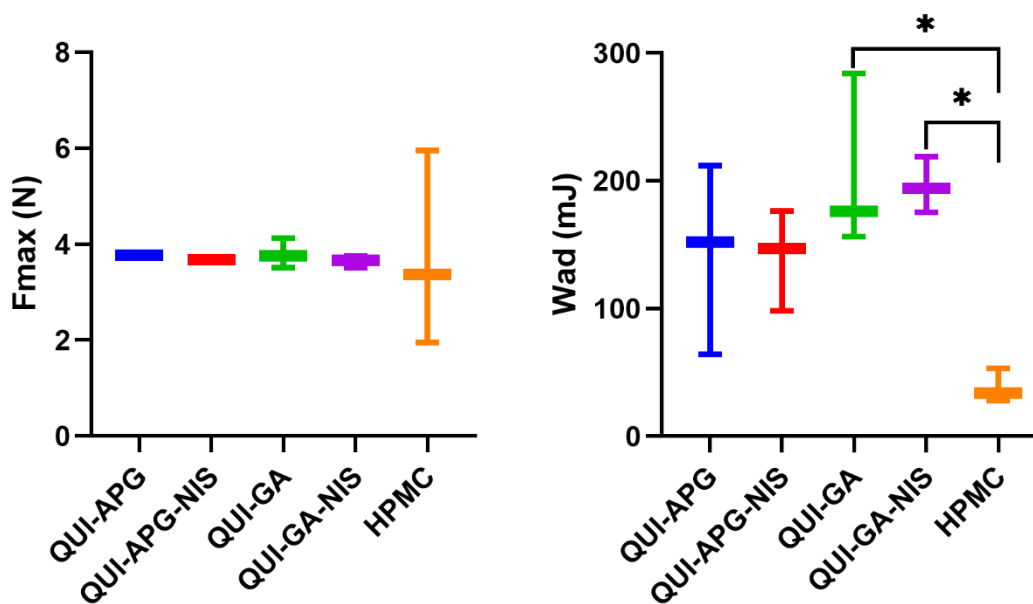


Figura 25. Fuerza máxima ($F_{\max}$) y trabajo de adhesión (W_{ad}) de los films, comparados con tabletas de HPMC.

* indica $p < 0.5$

La capacidad de adhesión de los films podría deberse a las cargas positivas de los grupos amino del QUI, ya que estas pueden interactuar con las cargas negativas de los residuos de ácido siálico y sulfato de mucina de las mucosas (Smart, 2005). La capacidad de captación de agua de los films permite que las cadenas de los polímeros tengan una mayor movilidad, esto facilita su

interdifusión a la capa mucosa; siendo este uno de los mecanismos conocidos responsables de la mucoadhesión (Peppas & Sahlin, 1996). En general, una mayor capacidad de hinchamiento de la formulación se correlaciona con su capacidad de mucoadhesión ya que esto promueve la rápida expulsión de agua por el tejido y la apertura de las cadenas de polímeros para la interpenetración (Kharenko et al., 2008). En este caso, no se encontró una diferencia significativa en la $F_{\max}$ entre las formulaciones de Films, lo cual coincide con el grado de hinchamiento, adicionalmente se observó que la adición del fármaco a la formulación no redujo de manera significativa la capacidad de adhesión.

CAPITULO V: CONCLUSIONES

En la presente investigación se desarrollaron y caracterizaron dos sistemas en forma de films a base de complejos de polielectrolitos de QUI, APG y GA para la liberación de NIS, los films presentaron características de mucoadhesión y liberación sostenida en condiciones similares a las bucales.

La formación de los complejos de polielectrolitos fue estudiada y evidenciada mediante las pruebas de FT-IR y DSC-TGA, donde respecto al FT-IR el cambio en el número de onda de las señales de grupos funcionales característicos de los polímeros y la reducción de los picos correspondientes a la degradación de los mismos en los termogramas DSC-TGA fueron consideradas las pruebas principales de la interacción de los polielectrolitos.

Los films obtenidos mostraron una liberación sostenida en dos etapas explicada por el modelo de Korsmeyer-Peppas donde existió una liberación rápida inicial del fármaco seguida de una velocidad menor. Esta cinética de liberación podría ser benéfica para la aplicación oral ya que es similar a la administración de una dosis de carga que rápidamente alcance concentraciones terapéuticas seguido del uso de dosis de mantenimiento para mantener el fármaco por encima de la concentración mínima inhibitoria.

Las formulaciones cargadas con NIS mostraron actividad antimicrobiana contra las tres cepas de *Cándida* utilizadas; adicionalmente se observó un efecto inhibitorio menor de los films placebo de QUI-GA que no fue visto en la formulación placebo QUI-APG.

Ambos films mostraron una capacidad de mucoadhesión similar a las tabletas de HPMC respecto a su F_{max} pero superior respecto a su W_{ad} , donde esta propiedad no fue modificada significativamente por la presencia del fármaco.

REFERENCIAS

- Abruzzo, A., Bigucci, F., Cerchiara, T., Saladini, B., Gallucci, M. C., Cruciani, F., Vitali, B., & Luppi, B. (2013). Chitosan/alginate complexes for vaginal delivery of chlorhexidine digluconate. *Carbohydrate Polymers*, 91(2), 651–658.
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2012.08.074>
- Akintoye, S. O., & Mupparapu, M. (2020). Clinical Evaluation and Anatomic Variation of the Oral Cavity. *Dermatologic Clinics*, 38(4), 399–411.
<https://doi.org/10.1016/j.det.2020.05.001>
- Ameye, D., Honraet, K., Loose, D., Vermeersch, H., Nelis, H., & Remon, J. P. (2005). Effect of a buccal bioadhesive nystatin tablet on the lifetime of a Provox™ silicone tracheoesophageal voice prosthesis. *Acta Oto-Laryngologica*, 125(3), 304–306.
<https://doi.org/10.1080/00016480410022778>
- Antipov, A. A., Sukhorukov, G. B., Leporatti, S., Radtchenko, I. L., Donath, E., & Möhwald, H. (2002). Polyelectrolyte multilayer capsule permeability control. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 198–200, 535–541.
[https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(01\)00956-6](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(01)00956-6)
- Baien, S. H., Seele, J., Henneck, T., Freibrodt, C., Szura, G., Moubasher, H., Nau, R., Brogden, G., Mörgelin, M., Singh, M., Kietzmann, M., von Köckritz-Blickwede, M., & de Buhr, N. (2020). Antimicrobial and Immunomodulatory Effect of Gum Arabic on Human and Bovine Granulocytes Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* . In *Frontiers in Immunology* (Vol. 10, p. 3119).
<https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fimmu.2019.03119>

Bawa, P., Pillay, V., Choonara, Y. E., Du Toit, L. C., Ndesendo, V. M. K., & Kumar, P. (2011).

A Composite Polyelectrolytic Matrix for Controlled Oral Drug Delivery. *AAPS*

PharmSciTech, 12(1), 227. <https://doi.org/10.1208/S12249-010-9576-8>

Bedair, A. A., Darwazeh, A. M. G., & Al-Aboosi, M. M. (2012). Oral Candida colonization and

candidiasis in patients with psoriasis. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and*

Oral Radiology, 114(5), 610–615. <https://doi.org/10.1016/J.OOOO.2012.05.011>

Bernkop-Schnürch, A. (2005). Mucoadhesive polymers: Strategies, achievements and future

challenges. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1553–1555.

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.007>

Bhattarai, N., Gunn, J., & Zhang, M. (2010). Chitosan-based hydrogels for controlled, localized

drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 62(1), 83–99.

<https://doi.org/10.1016/j.addr.2009.07.019>

Bierhalz, A. C. K., Da Silva, M. A., & Kieckbusch, T. G. (2012). Natamycin release from

alginate/pectin films for food packaging applications. *Journal of Food Engineering*, 110(1),

18–25. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2011.12.016>

Bourganis, V., Karamanidou, T., Kammona, O., & Kiparissides, C. (2017). Polyelectrolyte

complexes as prospective carriers for the oral delivery of protein therapeutics. *European*

Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 111, 44–60.

<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2016.11.005>

Carmello, J. C., Alves, F., G. Basso, F., de Souza Costa, C. A., Bagnato, V. S., Mima, E. G. de

O., & Pavarina, A. C. (2016). Treatment of Oral Candidiasis Using Photodithazine®-

Mediated Photodynamic Therapy In Vivo. *PLOS ONE*, 11(6), e0156947.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156947>

Castillo-Martínez, N. A., Mouriño-Pérez, R. R., Cornejo-Bravo, J. M., & Gaitán-Cepeda, L. A.

(2018). Factores relacionados a candidiasis oral en niños y adolescentes con VIH, caracterización de especies y susceptibilidad antifúngica. *Revista Chilena de Infectología*, 35(4), 377–385. <https://doi.org/10.4067/s0716-10182018000400377>

Castro-Ruiz, J. M. (2014). Diseño de un sistema bioadhesivo de clorhexidina empleando pullulan

como matriz para uso en mucosa oral. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 45(1), 35–36.

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n1.58016>

Cross, B. W., & Ruhl, S. (2018). Glycan recognition at the saliva – oral microbiome interface. In

Cellular Immunology (Vol. 333, pp. 19–33). Academic Press Inc.

<https://doi.org/10.1016/j.cellimm.2018.08.008>

De Araújo, J. F., De Oliveira, A. E. F., De Carvalho, H. L. C. C., Roma, F. R. V. D. O., & Lopes,

F. F. (2018). Principais manifestações bucais em pacientes pediátricos HIV positivos e o efeito da terapia antirretroviral altamente ativa. *Ciencia e Saude Coletiva*, 23(1), 115–122.

<https://doi.org/10.1590/1413-81232018231.19072015>

Divya, K., Vijayan, S., George, T. K., & Jisha, M. S. (2017). Antimicrobial Properties of

Chitosan Nanoparticles: Mode of Action and Factors Affecting Activity. *Fibers and*

Polymers, 18(2), 221–230. <https://doi.org/10.1007/s12221-017-6690-1>

Dodou, D., Breedveld, P., & Wieringa, P. A. (2005). Mucoadhesives in the gastrointestinal tract:

revisiting the literature for novel applications. *European Journal of Pharmaceutics and*

Biopharmaceutics, 60(1), 1–16. www.elsevier.com/locate/ejpb

- Duchêne, D., Touchard, F., Peppas, N. A., & Montoya-Herrera, F. L. (1988). Pharmaceutical and Medical Aspects of Bioadhesive Systems for Drug Administration. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 14(2–3), 283–318. <https://doi.org/10.3109/03639048809151972>
- Flattery, A. M., Abruzzo, G. K., Gill, C. J., Smith, J. G., & Bartizal, K. (1996). New model of oropharyngeal and gastrointestinal colonization by *Candida albicans* in CD4+ T-cell-deficient mice for evaluation of antifungal agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 40(7), 1604 LP – 1609. <https://doi.org/10.1128/AAC.40.7.1604>
- George, A., Shah, P. A., & Shrivastav, P. S. (2019). Natural biodegradable polymers based nano-formulations for drug delivery: A review. *International Journal of Pharmaceutics*, 561, 244–264. <https://doi.org/10.1016/J.IJPHARM.2019.03.011>
- George, M., & Abraham, T. E. (2006). Polyionic hydrocolloids for the intestinal delivery of protein drugs: Alginate and chitosan - a review. *Journal of Controlled Release*, 114(1), 1–14. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.017>
- Ghaddar, N., Anastasiadis, E., Halimeh, R., Ghaddar, A., Dhar, R., AlFouzan, W., Yusef, H., & El Chaar, M. (2020). Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida albicans* causing vaginal discharge among pregnant women in Lebanon. *BMC Infectious Diseases*, 20(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4736-2>
- Gierszewska, M., Ostrowska-Czubenko, J., & Chrzanowska, E. (2018). pH-responsive chitosan/alginate polyelectrolyte complex membranes reinforced by tripolyphosphate. *European Polymer Journal*, 101(November 2017), 282–290. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.02.031>
- Gøtzsche, P. C., & Johansen, H. K. (2014). Nystatin prophylaxis and treatment in severely

immunodepressed patients. *Cochrane Database of Systematic Reviews*.

<https://doi.org/10.1002/14651858.CD002033.pub2>

Goulart, L. S., Souza, W. W. R. de, Vieira, C. A., Lima, J. S. de, Olinda, R. A. de, & Araújo, C. de. (2018). Oral colonization by *Candida* species in HIV-positive patients: association and antifungal susceptibility study. *Einstein (Sao Paulo, Brazil)*, 16(3), eAO4224–eAO4224. <https://doi.org/10.1590/S1679-45082018AO4224>

Govindasamy, P., Kesavan, B. R., & Narasimha, J. K. (2013). Formulation of unidirectional release buccal patches of carbamazepine and study of permeation through porcine buccal mucosa. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(12), 995. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60192-6](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60192-6)

Goy, R. C., De Britto, D., & Assis, O. B. G. (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polimeros*, 19(3), 241–247. <https://doi.org/10.1590/S0104-14282009000300013>

Goy, R. C., Morais, S. T. B., & Assis, O. B. G. (2016). Evaluation of the antimicrobial activity of chitosan and its quaternized derivative on *E. Coli* and *S. aureus* growth. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(1), 122–127. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.09.010>

Harris, D., & Robinson, J. R. (1992). Drug delivery via the mucoas membranes of the oral cavity. *Journal of Pharmaceutical Science*, 81(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/nrd3087>

Hassani, A., Azarian, M. M. S., Ibrahim, W. N., & Hussain, S. A. (2020). Preparation, characterization and therapeutic properties of gum arabic-stabilized gallic acid nanoparticles. *Scientific Reports 2020 10:1*, 10(1), 1–18. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-71175-8>

- Hazen, E. L., & Brown, R. (1951). Fungicidin, an Antibiotic Produced by a Soil Actinomycete. *Experimental Biology and Medicine*, 76(1), 93–97. <https://doi.org/10.3181/00379727-76-18397>
- Hearnden, V., Sankar, V., Hull, K., Juras, D. V., Greenberg, M., Kerr, A. R., Lockhart, P. B., Patton, L. L., Porter, S., & Thornhill, M. H. (2012). New developments and opportunities in oral mucosal drug delivery for local and systemic disease. In *Advanced Drug Delivery Reviews* (Vol. 64, Issue 1, pp. 16–28). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2011.02.008>
- Hellstein, J. W., & Marek, C. L. (2019). Candidiasis: Red and White Manifestations in the Oral Cavity. *Head and Neck Pathology*, 13(1), 25–32. <https://doi.org/10.1007/s12105-019-01004-6>
- Holmstrup, P., & Axéll, T. (1990). Classification and clinical manifestations of oral yeast infections. *Acta Odontologica Scandinavica*, 48(1), 57–59. <https://doi.org/10.3109/00016359009012734>
- Inamdar, N., Edalat, S., & Kotwal, V. B. (2014). EDITORIAL New year, new beginning
REVIEW ARTICLES Herbal drugs in milieu of modern drugs Psidium guajava L: A review. *International Journal of Green Pharmacy*, 58(March 2008).
- Ishida, M., Machida, Y., Nambu, N., & Nagai, T. (1981). New mucosal dosage form of insulin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 29(3), 810–816. <https://doi.org/10.1248/cpb.29.810>
- Islam, A. M., Phillips, G. O., Sljivo, A., Snowden, M. J., & Williams, P. A. (1997). A review of recent developments on the regulatory, structural and functional aspects of gum arabic. *Food Hydrocolloids*, 11(4), 493–505. [https://doi.org/10.1016/S0268-005X\(97\)80048-3](https://doi.org/10.1016/S0268-005X(97)80048-3)

- J W Lee, J H Park, J. R. R. (2000). Bioadhesive dosage forms: the next generation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(7), 850–866. [https://doi.org/10.1002/1520-6017\(200007\)89:7<850::AID-JPS2>3.0.CO;2-G](https://doi.org/10.1002/1520-6017(200007)89:7<850::AID-JPS2>3.0.CO;2-G)
- Jayasuriya, A. C. (2017). Production of micro- and nanoscale chitosan particles for biomedical applications. *Chitosan Based Biomaterials*, 1, 185–209. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100230-8.00008-X>
- Jha, P. K., Desai, P. S., Li, J., & Larson, R. G. (2014). pH and Salt Effects on the Associative Phase Separation of Oppositely Charged Polyelectrolytes. *Polymers 2014*, Vol. 6, Pages 1414-1436, 6(5), 1414–1436. <https://doi.org/10.3390/POLYM6051414>
- Jiménez-castellanos, M. R., Zia, H., & Rhodes, C. T. (1993). Mucoadhesive Drug Delivery Systems. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 19(1–2), 143–194. <https://doi.org/10.3109/03639049309038765>
- Jose, M., Rajagopal, V., & Thankam, F. G. (2021). Oral tissue regeneration: Current status and future perspectives. In *Regenerated Organs* (pp. 169–187). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-821085-7.00009-9>
- Kaminsky, B. M., Bostwick, J. R., & Guthrie, S. K. (2015). Alternate Routes of Administration of Antidepressant and Antipsychotic Medications. *Annals of Pharmacotherapy*, 49(7), 808–817. <https://doi.org/10.1177/1060028015583893>
- Kassem, A. A., Ismail, F. A., Naggar, V. F., & Aboulmagd, E. (2015a). Preparation and evaluation of periodontal films based on polyelectrolyte complex formation. *Pharmaceutical Development and Technology*, 20(3), 297–305. <https://doi.org/10.3109/10837450.2013.862262>

Kassem, A. A., Ismail, F. A., Naggar, V. F., & Aboulmagd, E. (2015b). Preparation and evaluation of periodontal films based on polyelectrolyte complex formation.

Pharmaceutical Development and Technology, 20(3), 297–305.

<https://doi.org/10.3109/10837450.2013.862262>

Kaur, A., & Kaur, G. (2012). Mucoadhesive buccal patches based on interpolymer complexes of chitosan-pectin for delivery of carvedilol. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 20(1), 21–27.

<https://doi.org/10.1016/j.jsps.2011.04.005>

Kebouchi, M., Hafeez, Z., Le Roux, Y., Dary-Mouro, A., & Genay, M. (2020). Importance of digestive mucus and mucins for designing new functional food ingredients. In *Food Research International* (Vol. 131, p. 108906). Elsevier Ltd.

Research International (Vol. 131, p. 108906). Elsevier Ltd.

<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108906>

Kharenko, E. A., Larionova, N. I., & Demina, N. B. (2008). Mucoadhesive Drug Delivery Systems: Quantitative Assessment of Interaction Between Synthetic and Natural Polymer

Films and Mucosa. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 42(7), 392–399.

<https://doi.org/10.1007/s11094-008-0132-8>

Kilicarslan, M., Ilhan, M., Inal, O., & Orhan, K. (2018a). Preparation and evaluation of clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as

mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. *European Journal of*

Pharmaceutical Sciences : Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences, 123, 441–451. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.08.007>

Kilicarslan, M., Ilhan, M., Inal, O., & Orhan, K. (2018b). Preparation and evaluation of

clindamycin phosphate loaded chitosan/alginate polyelectrolyte complex film as

- mucoadhesive drug delivery system for periodontal therapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 123, 441–451. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.08.007>
- Kinloch, A. J. (1980). The science of adhesion. *Journal of Materials Science*, 15(9), 2141–2166. <https://doi.org/10.1007/BF00552302>
- Klinge, S. A., & Sawyer, G. A. (2013). Effectiveness and Safety of Topical versus Oral Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs: A Comprehensive Review. *The Physician and Sportsmedicine*, 41(2), 64–74. <https://doi.org/10.3810/psm.2013.05.2016>
- Korsmeyer, R. W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., & Peppas, N. A. (1983). Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 15(1), 25–35. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(83\)90064-9](https://doi.org/10.1016/0378-5173(83)90064-9)
- Leclercq, L., Boustta, M., & Vert, M. (2012). *Polymer Degradation as a Tool To Study Polyelectrolyte Complex Formation and Stability* (pp. 59–72). <https://doi.org/10.1021/bk-2012-1114.ch005>
- Lena, D., & Alyona, V. (2016). The study of properties of the matrix for periodontal films based on metronidazole, chlorhexidine and glucosamine. *International Journal of PharmTech Research*, 9(2), 9–12.
- Llabot, J. M., Allemandi, D. A., Manzo, R. H., & Longhi, M. R. (2007). HPLC method for the determination of nystatin in saliva for application in clinical studies. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(3), 526–530. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.06.014>
- Macleod, G. S., Collett, J. H., & Fell, J. T. (1999). The potential use of mixed films of pectin,

- chitosan and HPMC for bimodal drug release. *Journal of Controlled Release*, 58(3), 303–310. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(98\)00168-0](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(98)00168-0)
- Madhav, N. V. S., Shakya, A. K., Shakya, P., & Singh, K. (2009). Orotransmucosal drug delivery systems: A review. *Journal of Controlled Release*, 140(1), 2–11. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2009.07.016>
- Madhavi B, R., Varanasi SN, M., Prameela, R. A., & Dileep, K. G. (2013). Buccal Film Drug Delivery System-An Innovative and Emerging Technology. *Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research*, 1(3). <https://doi.org/10.4172/2329-9053.1000107>
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). Candida albicans pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119–128. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
- Millsop, J. W., & Fazel, N. (2016). Oral candidiasis. *Clinics in Dermatology*, 34(4), 487–494. <https://doi.org/10.1016/j.clindermatol.2016.02.022>
- Mirtič, J., Ilaš, J., & Kristl, J. (2018). Influence of different classes of crosslinkers on alginate polyelectrolyte nanoparticle formation, thermodynamics and characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 181, 93–102. <https://doi.org/10.1016/J.CARBPOL.2017.10.040>
- Mirtič, J., Paudel, A., Laggner, P., Hudoklin, S., Kreft, M. E., & Kristl, J. (2020). Polyelectrolyte–surfactant–complex nanoparticles as a delivery platform for poorly soluble drugs: A case study of ibuprofen loaded cetylpyridinium-alginate system. *International Journal of Pharmaceutics*, 580, 119199. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119199>
- Mohammadi, G., Namadi, E., Mikaeili, A., Mohammadi, P., & Adibkia, K. (2017). Preparation,

physicochemical characterization and anti-fungal evaluation of the Nystatin-loaded Eudragit RS100/PLGA nanoparticles. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*.

<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2017.02.004>

Mudgil, D., & Barak, S. (2020). Mesquite gum (Prosopis gum): Structure, properties & applications - A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 159(08), 1094–1102. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.153>

Nagai, T., & Machida, Y. (1985). Advances in drug delivery-mucosal adhesive dosage forms. *Pharmacy International*, 6(8), 196–200.

Nagai, Tsuneji. (1985). Adhesive topical drug delivery system. *Journal of Controlled Release*, 2(C), 121–134. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(85\)90038-0](https://doi.org/10.1016/0168-3659(85)90038-0)

Nagai, Tsuneji, Nishimoto, Y., Nambu, N., Suzuki, Y., & Sekinet, K. (1984). Powder dosage form of insulin for nasal administration. *Journal of Controlled Release*, 1(1), 15–22. [https://doi.org/10.1016/0168-3659\(84\)90017-8](https://doi.org/10.1016/0168-3659(84)90017-8)

Nagy, A., Harrison, A., Sabbani, S., Munson, R. S., Dutta, P. K., & Waldman, W. J. (2011). Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *International Journal of Nanomedicine*, 6, 1833–1852. <https://doi.org/10.2147/IJN.S24019>

Nanci, A. (2013). Oral Mucosa. In *Ten Cate's Oral Histology* (pp. 278–310). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-07846-7.00012-4>

Needleman, I. G., & Smales, F. C. (1995). In vitro assessment of bioadhesion for periodontal and buccal drug delivery. *Biomaterials*, 16(8), 617–624. <https://doi.org/10.1016/0142->

- Panomsuk, S. P., Hatanaka, T., Aiba, T., Katayama, K., & Koizumi, T. (1996). A Study of the Hydrophilic Cellulose Matrix : Effect of Drugs on Swelling Properties. *CHEMICAL & PHARMACEUTICAL BULLETIN*, 44(5), 1039–1042. <https://doi.org/10.1248/cpb.44.1039>
- Pardo-Castaño, C., & Bolaños, G. (2019). Solubility of chitosan in aqueous acetic acid and pressurized carbon dioxide-water: Experimental equilibrium and solubilization kinetics. *The Journal of Supercritical Fluids*, 151, 63–74. <https://doi.org/10.1016/J.SUPFLU.2019.05.007>
- Park, K., & Robinson, J. R. (1984). Bioadhesive polymers as platforms for oral-controlled drug delivery: method to study bioadhesion. *International Journal of Pharmaceutics*, 19(2), 107–127. [https://doi.org/10.1016/0378-5173\(84\)90154-6](https://doi.org/10.1016/0378-5173(84)90154-6)
- Park, N.-H., Shin, K.-H., & Kang, M. K. (2017). Antifungal and Antiviral Agents. In *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry* (pp. 488–503). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-39307-2.00034-5>
- Patil, S., Rao, R. S., Majumdar, B., & Anil, S. (2015). Clinical Appearance of Oral Candida Infection and Therapeutic Strategies. *Frontiers in Microbiology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01391>
- Paul, D. R. (2011). Elaborations on the Higuchi model for drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 418(1), 13–17. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2010.10.037>
- Peng, H.-H., Chen, J.-W., Yang, T.-P., Kuo, C.-F., Wang, Y.-J., & Lee, M.-W. (2011). Polygalacturonic acid hydrogel with short-chain hyaluronate cross-linker to prevent postoperative adhesion. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 26(6), 552–564.

<https://doi.org/10.1177/08839115111423562>

Peppas, N. A., & Buri, P. A. (1985). Surface, interfacial and molecular aspects of polymer bioadhesion on soft tissues. *Journal of Controlled Release*, 2(C), 257–275.

[https://doi.org/10.1016/0168-3659\(85\)90050-1](https://doi.org/10.1016/0168-3659(85)90050-1)

Peppas, N. A., & Sahlin, J. J. (1996). Hydrogels as mucoadhesive and bioadhesive materials: a review. *Biomaterials*, 17(16), 1553–1561. [https://doi.org/10.1016/0142-9612\(95\)00307-X](https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)00307-X)

Pérez-Sayáns, M., Beiro-Fuentes, R., Otero-Rey, E. M., Chamorro-Petronacci, C. M., Gándara-Vila, P., Somoza-Martín, J. M., García-García, A., & Blanco-Carrión, A. (2021). Efficacy of different formulations of nystatin in an experimental model of oral candidiasis in sialoadenectomized rats. *Journal of Dental Sciences*, 16(1), 123–130.

<https://doi.org/10.1016/j.jds.2020.05.031>

Perinelli, D. R., Fagioli, L., Campana, R., Lam, J. K. W., Baffone, W., Palmieri, G. F., Casettari, L., & Bonacucina, G. (2018). Chitosan-based nanosystems and their exploited antimicrobial activity. *European Journal of Pharmaceutical Sciences : Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 117, 8–20.

<https://doi.org/10.1016/J.EJPS.2018.01.046>

Postnova, I., Silant'ev, V., Sarin, S., & Shchipunov, Y. (2018). Chitosan Hydrogels and Bionanocomposites Formed through the Mineralization and Regulated Charging. *The Chemical Record*, 18(7–8), 1247–1260. <https://doi.org/10.1002/TCR.201800049>

Rabea, E. I., Badawy, M. E. T., Stevens, C. V., Smagghe, G., & Steurbaut, W. (2003). Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action. *Biomacromolecules*, 4(6), 1457–1465. <https://doi.org/10.1021/bm034130m>

- Ranade, V. V. (1991). Drug Delivery Systems 5A. Oral Drug Delivery. *The Journal of Clinical Pharmacology*, 31(1), 2–16. <https://doi.org/10.1002/j.1552-4604.1991.tb01881.x>
- Reis, C. P., Roque, L. V., Baptista, M., & Rijo, P. (2016). Innovative formulation of nystatin particulate systems in toothpaste for candidiasis treatment. *Pharmaceutical Development and Technology*, 21(3), 282–287. <https://doi.org/10.3109/10837450.2014.999783>
- Roblegg, E., Coughran, A., & Sirjani, D. (2019). Saliva: An all-rounder of our body. In *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* (Vol. 142, pp. 133–141). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.06.016>
- Rogawski, M. A., & Heller, A. H. (2019). Diazepam buccal film for the treatment of acute seizures. *Epilepsy & Behavior*, 101, 106537. <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2019.106537>
- Rohani Shirvan, A., Bashari, A., & Hemmatinejad, N. (2019). New insight into the fabrication of smart mucoadhesive buccal patches as a novel controlled-drug delivery system. *European Polymer Journal*, 119, 541–550. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.07.010>
- Saha, T., Masum, Z. U., Mondal, S. K., Hossain, M. S., Jobaer, M. A., Shahin, R. I., & Fahad, T. (2018). Application of Natural Polymers as Pharmaceutical Excipients. *Global Journal of Life Sciences and Biological Research Global Journal of Life Sciences and Biological Research Gedik*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.24105/gjlsbr.2018.4.2>
- Salamat-Miller, N., Chittchang, M., & Johnston, T. P. (2005). The use of mucoadhesive polymers in buccal drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1666–1691. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.003>
- Schatz, C., Lucas, J.-M., Viton, C., Domard, A., Pichot, C., & Delair, T. (2004). Formation and

Properties of Positively Charged Colloids Based on Polyelectrolyte Complexes of Biopolymers. *Langmuir*, 20(18), 7766–7778. <https://doi.org/10.1021/la049460m>

Scheibler, E., Garcia, M. C. R., Medina da Silva, R., Figueiredo, M. A., Salum, F. G., & Cherubini, K. (2017). Use of nystatin and chlorhexidine in oral medicine: Properties, indications and pitfalls with focus on geriatric patients. *Gerodontology*, 34(3), 291–298. <https://doi.org/10.1111/ger.12278>

Seema, Kapil kumar, & Deepak Teotia. (2020). A comprehensive review on buccal patches. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 13(1), 130–135. <https://doi.org/10.30574/gscbps.2020.13.1.0308>

Shah, N., Ray, J. G., Kundu, S., & Sardana, D. (2017). Surgical management of chronic hyperplastic candidiasis refractory to systemic antifungal treatment. *Journal of Laboratory Physicians*, 9(02), 136–139. <https://doi.org/10.4103/0974-2727.199622>

Shaikh, R., Raj Singh, T., Garland, M., Woolfson, A., & Donnelly, R. (2011). Mucoadhesive drug delivery systems. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(1), 89–100. <https://doi.org/10.4103/0975-7406.76478>

Sims, C. R., Paetznick, V. L., Rodriguez, J. R., Chen, E., & Ostrosky-Zeichner, L. (2006). Correlation between Microdilution, E-test, and Disk Diffusion Methods for Antifungal Susceptibility Testing of Posaconazole against *Candida* spp. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(6), 2105 LP – 2108. <https://doi.org/10.1128/JCM.02591-05>

Singh, P. K., Parsek, M. R., Greenberg, E. P., & Welsh, M. J. (2002). A component of innate immunity prevents bacterial biofilm development. *Nature*, 417(6888), 552–555.

<https://doi.org/10.1038/417552a>

Smart, J. D. (2005). The basics and underlying mechanisms of mucoadhesion. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 57(11), 1556–1568. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.07.001>

Spampinato, C., & Leonardi, D. (2013). Candida Infections, Causes, Targets, and Resistance Mechanisms: Traditional and Alternative Antifungal Agents. *BioMed Research International*, 2013, 1–13. <https://doi.org/10.1155/2013/204237>

Takx, R. A. P., Suchá, D., Park, J., Leiner, T., & Hoffmann, U. (2015). Sublingual Nitroglycerin Administration in Coronary Computed Tomography Angiography: a Systematic Review. *European Radiology*, 25(12), 3536–3542. <https://doi.org/10.1007/s00330-015-3791-3>

Tejada, G., Piccirilli, G. N., Sortino, M., Salomón, C. J., Lamas, M. C., & Leonardi, D. (2017). Formulation and in-vitro efficacy of antifungal mucoadhesive polymeric matrices for the delivery of miconazole nitrate. *Materials Science and Engineering C*. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.034>

Vazquez, J. A. (2010). Optimal management of oropharyngeal and esophageal candidiasis in patients living with HIV infection. *HIV/AIDS – Research and Palliative Care*, 89–101. <https://doi.org/https://doi.org/10.2147/HIV.S6660>

Verbeken, D., Dierckx, S., & Dewettinck, K. (2003). Exudate gums: occurrence, production, and applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 63(1), 10–21. <https://doi.org/10.1007/S00253-003-1354-Z>

Wang, L., Khor, E., & Lim, L.-Y. (2001). Chitosan–alginate–CaCl₂ system for membrane coat application. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 90(8), 1134–1142.

<https://doi.org/10.1002/JPS.1067>

Ways, T. M. M., Lau, W. M., & Khutoryanskiy, V. V. (2018). Chitosan and its derivatives for application in mucoadhesive drug delivery systems. In *Polymers* (Vol. 10, Issue 3). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/polym10030267>

WHO. (2014). Antimicrobial resistance. Global report on surveillance. *World Health Organization*, 61(3), 383–394. <https://doi.org/10.1007/s13312-014-0374-3>

Wu, D., Zhu, L., Li, Y., Zhang, X., Xu, S., Yang, G., & Delair, T. (2020). Chitosan-based Colloidal Polyelectrolyte Complexes for Drug Delivery: A Review. *Carbohydrate Polymers*, 238, 116126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.116126>

Yang, J., Xiong, L., Li, M., & Sun, Q. (2018). Chitosan-Sodium Phytate Films with a Strong Water Barrier and Antimicrobial Properties Produced via One-Step-Consecutive-Stripping and Layer-by-Layer-Casting Technologies. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(24), 6104–6115. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b01890>

Zaboon, M. H., Saleh, A. A., Al-Lami, H. S., Zaboon, M. H., Saleh, A. A., & Al-Lami, H. S. (2021). Synthesis, Characterization and Cytotoxicity Investigation of Chitosan-Amino Acid Derivatives Nanoparticles in Human Breast Cancer Cell Lines. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 65(2), 178–188. <https://doi.org/10.29356/JMCS.V65I2.1265>

ANEXOS

Anexo A. Asistencia y Participación en Congresos





Organización de Farmacéuticos Ibero-Latinoamericanos, Delegación México

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería,
Universidad Autónoma de Baja California



Otorgan la presente
Constancia

a:

Efrain Armenta Rojas

Por su participación en el Foro Internacional Virtual:
Día del Farmacéutico

Tijuana, B.C. 25 Septiembre 2020

QFB. Alejandro Zamorano Carrillo
Delegado de OFIL-México

Dr. José Luis González Vázquez
Director Facultad de Ciencias Químicas e
ingeniería

Dra. C.S. Gpe. Salas Rojas
Coordinadora del Evento

Universidad Autónoma de Baja California

Coordinación General de Posgrado e Investigación

Otorga la siguiente constancia a:

EFRAIN ARMENTA ROJAS

Por su destacada participación con la ponencia oral:

**COMPLEJOS DE BIOPOLÍMEROS COMO SISTEMAS LIBERACIÓN SOSTENIDA DE
NISTATINA EN LA CAVIDAD BUCAL**

En el área de: **Biología y Química**



ATENTAMENTE:
"POR REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"
Mexicali, Baja California, a 30 de octubre de 2020
Coordinador general

DR. JUAN GUILLERMO VACA RODRÍGUEZ





Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería

CI2T

VII CONGRESO INTERNACIONAL DE INVESTIGACIÓN TIJUANA

Otorga la presente:

Constancia

a: **Efraín Armenta-Rojas, José Manuel Cornejo-Bravo, Aracely Serrano-Medina, Eduardo Alberto López-Maldonado, Amelia Olivas-Sarabia, Nydia Alejandra Castillo-Martínez, Luis Jesús Villarreal-Gómez, Lilia Angélica Hurtado-Ayala**

Por su participación con el trabajo titulado: "Nystatin-loaded polyelectrolyte complex films as a mucoadhesive drug delivery system for buccal application.", mediante la presentación oral en el 4th Conference on Chemical Sciences and Technology (CST '21) en el marco del Congreso Internacional de Investigación Tijuana que se llevó a cabo del 12 al 13 de mayo del 2021, en la ciudad de Tijuana, B.C., México.

Dr. Eduardo Alberto López Maldonado
Track Chair de CST'21
Coordinador General de CI2T'21

Universidad Autónoma de Baja California

Coordinación General de Investigación y Posgrado

Otorga la siguiente constancia a:

EFRAÍN ARMENTA ROJAS

Por obtener el primer lugar en exposición oral con la ponencia

**COMPLEJOS DE BIOPOLÍMEROS COMO SISTEMAS LIBERACIÓN SOSTENIDA
DE NISTATINA EN LA CAVIDAD BUCAL**

En el área de: **BIOLOGÍA Y QUÍMICA**



ATENTAMENTE:
"POR REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE"
Mexicali, Baja California, a 30 de octubre de 2020
Coordinador general

DR. JUAN GUILLERMO VACA RODRÍGUEZ



Anexo C. Divulgación Científica





Películas mucoadhesivas de quitosano para la liberación sostenida de nistatina en la cavidad bucal

Chitosan mucoadhesive films as controlled release system of nystatin for buccal application

Efraín Armenta Rojas¹ , José Manuel Cornejo Bravo¹ , Aracely Serrano Medina² , Eduardo Alberto López Maldonado¹ , Amelia Olivas Sarabia³ , Nydia Alejandra Castillo Martínez⁴ , Ayla Carolina Vea Barragán¹ 

¹Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Unidad Otay, Tijuana, Baja California, México

²Facultad de Medicina y Psicología, Universidad Autónoma de Baja California, Unidad Otay, Tijuana, Baja California, México

³Centro de Nanociencias y Nanotecnología, Universidad Nacional Autónoma de México, Ensenada, Baja California, México

⁴Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Autónoma de Baja California, Unidad Valle de las Palmas, Tijuana, Baja California, México

Autor de correspondencia: Dr. José Manuel Cornejo Bravo, Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, Unidad Otay, Tijuana, Baja California, México. E-mail: jmcornejo@uabc.edu.mx. ORCID: 0000-0002-0013-8937.

Recibido: 12 de Noviembre del 2020

Aceptado: 12 de Enero del 2021

Publicado: 15 de Enero del 2021

Resumen. – La candidiasis de orofaringe es la enfermedad micótica más prevalente a nivel mundial. Las formulaciones del fármaco de elección para su tratamiento cuentan con un tiempo de residencia y biodisponibilidad bajos en el sitio de la infección. El objetivo de este trabajo fue preparar y caracterizar films con capacidad mucoadhesiva de quitosano y ácido poligalacturónico por la técnica “evaporación del disolvente” conteniendo nistatina como un sistema de liberación sostenida en la cavidad bucal. Las películas obtenidas fueron caracterizadas para determinar sus características morfológicas, capacidad de adherencia, grado de hinchamiento y perfil de liberación del fármaco. La morfología de los films fue determinada por microscopía electrónica de barrido y la interacción entre los polímeros fue determinada por espectroscopía infrarroja, análisis termogravimétrico y calorimetría de escaneo diferencial, adicionalmente se determinó su actividad antimicrobiana contra dos especies de *Candida*. Las películas obtenidas mostraron capacidad de mucoadhesión y una liberación sostenida del fármaco explicada por el modelo de Korsmeyer-Peppas, también mostraron una actividad antimicrobiana significativa. Estos hallazgos sugieren que las películas con base en quitosano son un posible sistema de liberación de nistatina para la cavidad bucal.

Palabras clave: Quitosano, Acido Poligalacturónico, Polielectrolitos, Nistatina, Películas, Mucoadhesivos, Candidiasis Orofaringea, Liberación Sostenida.

Abstract. – Oropharyngeal candidiasis is the most prevalent fungal disease in the world. The formulations of the drug of choice for its treatment have a low residence time and bioavailability at the site of infection. The aim of this study was to prepare and characterize mucoadhesive films of chitosan and polygalacturonic acid by the “Solvent-Casting” technique loaded with nystatin as a sustained release

Nystatin-loaded Polyelectrolyte Complex Films as a Mucoadhesive Drug Delivery System for Potential Buccal Application

Efraín Armenta-Rojas ¹, José Manuel Cornejo-Bravo ^{1,*}, Aracely Serrano-Medina ², Eduardo Alberto López-Maldonado ¹, Amelia Olivas-Sarabia ³, Nydia Alejandra Castillo-Martínez ⁴, Luis Jesús Villarreal-Gómez ^{1,5}, Lilia Angélica Hurtado-Ayala ¹

¹ Faculty of Chemical Sciences and Engineering, Autonomous University of Baja California, Otay Unit, Tijuana, Baja California, Mexico; efrain.armenta@uabc.edu.mx (E.A.-R.), jmcornejo@uabc.edu.mx (J.M.C.-B.), elopez92@uabc.edu.mx (E.A.L.-M.), lilyhurtado@uabc.edu.mx (L.A.H.-A.);

² Faculty of Medicine and Psychology, Autonomous University of Baja California, Otay Unit, Tijuana, Baja California, Mexico; serrano.aracely@uabc.edu.mx (A.S.-M.);

³ Center of Nanoscience and Nanotechnology, National Autonomous University of México, Ensenada, Baja California, Mexico; ameliolivas610@gmail.com (A.O.-S.);

⁴ Faculty of Health Sciences, Autonomous University of Baja California, Valle de las Palmas Unit, Tijuana, Baja California, Mexico; nydia.castillo@uabc.edu.mx (N.A.C.-M.);

⁵ Faculty of Engineering and Technology Sciences, Autonomous University of Baja California, Valle de las Palmas Unit, Tijuana, Baja California, Mexico; luis.villarreal@uabc.edu.mx (L.J.V.-G.);

* Correspondence: jmcornejo@uabc.edu.mx (J.M.C.-B.);

Scopus Author ID 6603644341

Received: 16.06.2021; Revised: 25.07.2021; Accepted: 28.07.2021; Published: 15.08.2021

Abstract: According to the World Health Organization, one of the most prevalent fungal diseases globally is oropharyngeal candidiasis. The formulations of nystatin used for its treatment have several disadvantages, including a low residence time at the infection site. This study aimed to prepare and characterize polyelectrolyte films of chitosan-gum-arabic and chitosan-polygalacturonic acid using the "Solvent-Casting" technique, loaded with nystatin, to achieve a mucoadhesive and sustained release system intended for the oral cavity. The obtained films were characterized to determine the interaction between the polymers, their morphological characteristics, mucoadhesive capacity, and drug release kinetics. Scanning electron microscopy was used to determine the films' morphology, while infrared spectroscopy, differential scanning calorimetry, and thermogravimetric analysis demonstrated the interaction between the polymers. Additionally, the films' antifungal activity was tested against three strains of two *Candida* species. The films of both formulations showed mucoadhesive capacity and a nystatin release profile explained by the Korsmeyer-Peppas model. Also, significant antifungal activity was found. These findings indicate that polyelectrolyte complex-based films are a plausible nystatin release system for oral application.

Keywords: polyelectrolyte films; mucoadhesive; chitosan; nystatin; candidiasis.

© 2021 by the authors. This article is an open-access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Oropharyngeal candidiasis (OPC) is one of the most prevalent fungal infections in the world [1]. OPC occurs when the yeast adheres and penetrates the oral tissue [2]. Even though many *Candida* species such as *C. dubliniensis*, *C. glabrata*, *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*), *C. kefyr*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, and *C. tropicalis* have been isolated from patients with