



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE  
SAN NICOLAS DE HIDALGO



ESCUELA DE  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGÍA

ANÁLISIS COMPARATIVO DEL EFECTO ANALGÉSICO DE LA RESINA DE  
*CAPSICUM ANNUUM* EN UN GEL LIPOSOMAL Y TRADICIONAL EN EL  
MODELO DE FORMALINA EN RATAS.

TESIS PROFESIONAL

QUE PRESENTA  
**LUIS MIGUEL ROJAS ABARCA**

PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO

ASESORES  
MC. MARIA ALFA GARCIA CALDERON  
M.C. ALVARO RODRÍGUEZ BARRÓN  
Q.F.B. ELSA VELÁSQUEZ RAMIREZ

MORELIA, MICH., MAYO DEL 2006

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica y en el Laboratorio de Farmacia de la Escuela de Quimicofarmacobiología de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo bajo la dirección del MC. María Alfa García Calderón con la asesoría de M.C. Álvaro Rodríguez Barrón y Q.F.B. Elsa Velásquez Ramírez.

A mis padres:  
José Rojas Silva y  
Martha Lilia Abarca Cazares

## CONTENIDO

RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN Y FUNDAMENTO	8
Dolor.	8
Dolor crónico.	9
Dolor agudo.	10
Dolor nociceptivo y dolor neuropático.	11
Terapia del dolor agudo.	12
Terapia Farmacológica.	12
Analgésicos, Antipiréticos, Antiinflamatorios no esteroideos.	12
Opioides.	13
Mecanismo y sitios de la analgesia inducida por opioides.	14
Anestésicos.	14
Anestésicos Tópicos.	15
Irritantes y Vesículas.	15
Terapia Herbolaria.	17
La Capsaicina.	18
Usos Terapéuticos.	21
Mecanismo de acción de la capsaicina.	21
Efectos sistémicos y crónicos.	23
Liposomas.	23
Formas vesiculares.	24
La Bicapa.	24
Características químicas importantes.	24
El Movimiento molecular.	26
Interpretación molecular de la fluidez de la membrana.	27
Características importantes para la obtención de liposomas.	28
Lecitinas.	29
Obtención de Lecitinas.	30
Generalidades sobre formas farmacéuticas liposomales.	30
Vesículas como vehículo.	31
Métodos de encapsulación.	32
Pruebas previas.	34
Liposomas como sistema de liberación lenta.	34
Aplicación tópica de los fármacos en forma liposomal.	34

JUSTIFICACIÓN.	35
HIPÓTESIS.	38
OBJETIVO GENERAL.	38
Objetivos específicos.	38
METODOLOGÍA	38
Obtención de Lecitina de Huevo.	38
Obtención la resina de <i>capsicum annuum</i> de chiles secos.	38
Elaboración de la emulsión liposomal de resina de <i>capsicum annuum</i> .	39
Producción del gel tradicional de resina de <i>capsicum annuum</i> y el gel liposomal a concentraciones de 0.025% y 0.05% de resina.	39
Población.	39
Formación de grupos.	39
Inducción del dolor.	40
Evaluación de la actividad antinociceptiva.	40
Análisis estadístico.	40
RESULTADOS	41
Gráficas	41
DISCUSIÓN	47
CONCLUSIONES	48
FOTOS	49
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	50

## RESUMEN

El uso terapéutico de la capsaicina como analgésico local, se efectúa en ungüentos, geles y cremas de venta libre, utilizados para facilitar el alivio del dolor y el espasmo muscular. Es probable que las principales neuronas sensibles a la capsaicina sean los receptores nociceptivos polimodales con terminaciones nerviosas sensoriales que contienen sustancia. La aplicación de la capsaicina sobre piel o mucosas produce un dolor, ardor, e hiperalgésia, pero la aplicación repetida da lugar a la pérdida de sensibilidad a la capsaicina y dosis más elevadas causan un bloqueo de las fibras C que conduce a un déficit sensorial de larga duración.

El efecto tóxico de los fármacos a nivel tópico se produce al pasar a la circulación sanguínea para la aparición de efectos sistémicos, y es el principal factor limítrofe para el empleo de medicamentos por vía tópica.

El principal efecto de los liposomas es, que los fármacos vehiculizados tengan una mayor absorción en dermis y epidermis, por lo que tiene una duración mas prolongada (liposomas como sistema de liberación lenta) y menor paso a la circulación sanguínea debido al tamaño de las vesículas. Así pues, la vehiculización de fármacos en liposomas para su aplicación tópica reúne todas las ventajas deseables en este tipo de tratamientos.

En estudios recientes que realizamos reportamos que la Capsaicina en forma farmacéutica liposomal agregada a un gel, produce un efecto analgésico en pacientes diabéticos durante más tiempo y a dosis menor que la forma farmacéutica sin liposomas, dada la tendencia de éste estudio, decidimos efectuar un estudio preclínico para comparar el efecto analgésico de la forma farmacéutica liposomal y la tradicional con la resina de *Capsicum annuum* utilizando el modelo de formalina en ratas y realizando un análisis isobolográfico.

Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos éticos estándar para la investigación del dolor en animales (IASP, 1983). Se utilizaron ratas Wistar machos (180 a 220 gr), con agua y alimento ad libitum y previa adaptación. Se formaron 3 grupos de 10 animales con tres tratamientos diferentes. Grupo 1: Ratas que

se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% y se les administró tópicamente base de gel. Grupo 2: Ratas que se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% y se les administró tópicamente base de gel con resina de *capsicum annuum* tradicional al 0.025%. Grupo 3: Ratas que se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% y se les administró tópicamente base de gel con resina de *capsicum annuum* liposomal al 0.025%. Para inducir el dolor se empleó la prueba de la formalina. Asimismo a los tres grupos. La actividad antinociceptiva: El comportamiento nociceptivo fue evaluado por el número de sacudidas (flinches) de la pata inyectada por minuto, cada 5 minutos hasta completar 90 min., Y a los resultados obtenidos se les realizó análisis estadístico descriptivo e inferencial. El Análisis isobolográfico demostró que las ratas del grupo I (control) presentan la máxima respuesta nociceptiva, a la formalina entre los 20 y 45 minutos, el grupo II presentó una disminución del 58% en la respuesta nociceptiva de los 20 a 45 minutos, el grupo III presentó una disminución del 24% en la respuesta nociceptiva a los 30 minutos aumentando en un 30% a los 40 y 45 minutos. Al finalizar lo experimentos las ratas fueron sacrificadas en una cámara de éter.

# INTRODUCCIÓN.

## El Dolor.

El dolor es un tipo particular de experiencia sensitiva y nos proporciona información sobre los estímulos del daño en los tejidos y capacita a los seres humanos para protegerse de un daño mayor, es diferenciado por el tejido nervioso de sensaciones como el tacto, la presión, el calor y el frío, para percibirlo se requiere el umbral del dolor que es el punto en el cual los estímulos sensitivos son percibidos como nocivos y desagradables. Si está elevado el umbral del dolor, se necesita más estímulo para experimentarlo, si el umbral disminuye, menos estímulo induce una experiencia dolorosa.<sup>1,2,12</sup>

El dolor surge de la estimulación excesiva de los receptores cutáneos y subcutáneos estos son muy diversos y de acuerdo a la función que realizan, se dividen en tres grupos: Mecanorreceptores, Termorreceptores y Nociceptores (Figura 1), estos últimos son las terminaciones de las células nerviosas no especializadas, y conducen el estímulo en forma relativamente lenta o ligeramente mielinizadas o amielínicas, tales terminaciones nerviosas son de dos tipo fibras A $\delta$  y fibras C que inician la sensación de dolor y se originan en los cuerpos celulares, en los ganglios de las raíces dorsales que tienen una prolongación axónica a la periferia y la otra a la médula espinal o al tronco encefálico.<sup>1,2</sup>

Estos receptores periféricos del dolor envían sus mensajes por medio de neurotransmisores, (nociceptores) hacia el SNC siendo la principal función de éste diferenciar los estímulos inocuos de los lesivos.<sup>1,2</sup>

Las fibras C son amielínicas y forman las vías lentas de conducción, es el grupo más numeroso y transmiten los estímulos dolorosos a la médula espinal, nociceptores térmicos, mecánicos y químicos, también informan sobre sensaciones de dolor quemante y de latencia larga.<sup>1</sup>

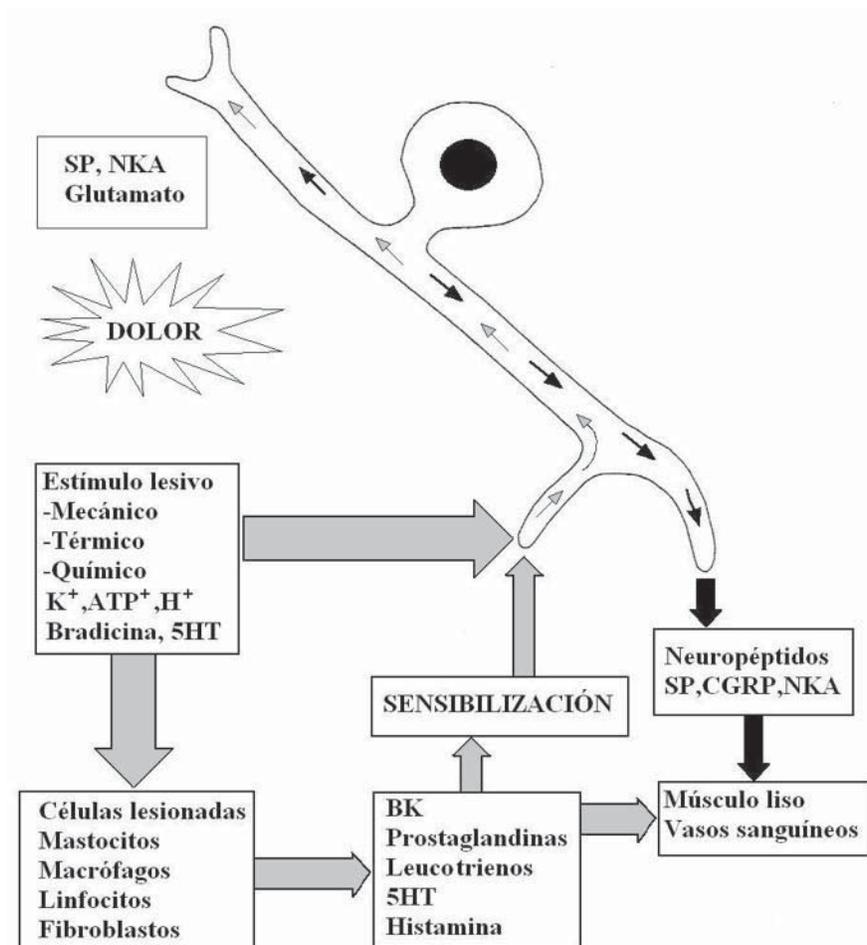


Figura 1: Representación del estímulo y del mecanismo de acción del dolor.

## Dolor crónico.

El dolor puede clasificarse en agudo o crónico basándose en la velocidad de aparición y duración. También puede clasificarse en nociceptivo o neuropático en función de los mecanismos neurofisiológicos que lo originan.<sup>2,13,15,16</sup>

El dolor crónico es desencadenado por una lesión o enfermedad y se perpetúa a lo largo del tiempo por razones diferentes de su causa. La lesión puede ser superior a la capacidad del organismo para curarse debido a la pérdida de una parte del organismo, la extensión de un traumatismo, de una cicatriz o de la afectación del propio sistema nervioso. La respuesta vegetativa y reparadora propia del dolor agudo desaparece y a menudo la intensidad del dolor no guarda relación con la lesión inicial, y es probable que el estrés, y otros factores ambientales así como afectivos se añadan a la lesión

original y contribuyan a su intensidad y persistencia, este tipo de dolor pierde su papel protector y disminuye la calidad de vida del que lo sufre, persistiendo después de desaparecer la causa que lo provocó, en ocasiones puede asociarse a síntomas psicológicos graves, como depresión, ansiedad o insomnio.<sup>13,15,18,19</sup>

Los impulsos para el dolor crónico se trasladan a través de las fibras C. Una vez producido el estímulo nervioso, las fibras C amielínicas liberan sustancia P que es el elemento neurotransmisor fundamental de la fibra sensitiva periférica, y también liberan glutamato estos dos como principales neurotransmisores del estímulo doloroso, para actuar postsinápticamente en el asta dorsal de la médula sobre receptores NMDA (N-metil-D-aspartato) y AMPA (receptores del glutamato) y NK1 (receptor de la sustancia P) que intervienen de forma crucial en el estado doloroso. El dolor inflamatorio tiene una especificidad neuroanatómica y fisiopatológica distinta a la del dolor agudo y del neuropático.<sup>2,4,14</sup> La sustancia P es un neurotransmisor que funciona en el paso de los estímulos nociceptivos y estimula la percepción del dolor, también presenta efectos proinflamatorios que retroalimentan los mecanismos del dolor, cuando se suprime la liberación de la sustancia P se pierde la percepción del dolor, produce analgesia e hiperalgesia.<sup>4,5,14</sup>

## **Dolor agudo**

El dolor agudo es una señal biológica esencial nociceptiva que aparece por una estimulación química, mecánica o térmica de receptores específicos (somáticos o viscerales) del tejido lesionado y en ocasiones desaparece cuando no está el agente causal. Este tipo de dolor es el que se observa en traumatismos e intervenciones quirúrgicas.<sup>13,15,16,17</sup>

El dolor agudo es la consecuencia sensorial inmediata a la activación del sistema nociceptivo, una señal de alarma disparada por los sistemas protectores del organismo, éste se debe generalmente al daño tisular somático o visceral y se desarrolla con un curso temporal que sigue de cerca el proceso de reparación y cicatrización de la lesión

que lo originó. Si no hay complicaciones, el dolor agudo desaparece con la curación de dicha lesión.<sup>24</sup>

### **Dolor nociceptivo y dolor neuropático.**

Se denomina dolor nociceptivo a aquella forma de dolor que aparece en todos los individuos normales como consecuencia de la aplicación de estímulos que producen daño o lesión de órganos somáticos o viscerales. El dolor nociceptivo es el resultado de la activación del sistema neurofisiológico constituido por los nociceptores periféricos, las vías centrales de la sensibilidad dolorosa y la corteza cerebral. La intensidad y duración de las sensaciones del dolor nociceptivo dependen, fundamentalmente, de la modulación de las señales de la lesión tisular a lo largo de la vía nociceptiva, pero el dolor nociceptivo se debe siempre a la activación de un sistema sensorial específico encargado de su transmisión. El dolor nociceptivo se le conoce también como dolor normal o sensorial y como tal forma parte del repertorio fisiológico de sensaciones normales como la visión o el tacto.<sup>24</sup>

Por otra parte, existen sensaciones aberrantes o anormales del dolor, tales como el dolor de la neuralgia del trigémino, del miembro fantasma o de la causalgia. Muchas de estas sensaciones producen síntomas de difícil explicación fisiológica. Este tipo de dolor llamado neuropático, anormal o patológico, aparece tan solo en una minoría de individuos y es siempre el resultado de una enfermedad o lesión del sistema nervioso, ya sea de los nervios periféricos o del sistema nervioso central. Entre los dolores del tipo neuropático se encuentran los dolores de presentación espontánea en ausencia de lesión causa, las reducciones anormales de umbral del dolor, y los dolores conocidos por el tacto y por estímulos mecánicos de baja intensidad. Es evidente que en los casos de dolor neuropático el sistema nociceptivo se comporta de manera sumamente anormal y que estas formas de dolor pueden ser consideradas como expresiones anormales del sistema neurofisiológico encargados del procesamiento de señales nociceptivas. El síntoma más llamativo del dolor neuropático, y hasta cierto punto su característica patognomónica, es la falta total de relación causal entre lesión tisular y dolor.<sup>24</sup>

## **Terapia del dolor agudo.**

En la búsqueda para disminuir el dolor, la humanidad ha hecho uso de varias terapias utilizando medicamentos alopáticos, medicamentos herbolarios, homeopáticos, a través de la medicina tradicional indígena, china, la acupuntura, la aromaterapia, etc.

En la terapia alopática o farmacológica se utilizan los analgésicos, antiinflamatorios antipiréticos no esteroideos, opioides y anestésicos, que actúan en distintos niveles del sistema nociceptivo.

## **Terapia Farmacológica.**

Las terapias utilizadas en las unidades de tratamiento del dolor o clínicas especializadas para el tratamiento del dolor agudo en pacientes con enfermedades terminales incluyen:

- Analgésicos, anti-inflamatorios, Antidepresivos, anti-epilépticos, además otros tratamientos como, estimulación eléctrica, terapia física, relajación y cirugía o tratamiento quirúrgico.<sup>20</sup>

## **Analgésicos, Antipiréticos y Antiinflamatorios no esteroideos.**

Las drogas analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias constituyen un grupo heterogéneo de compuestos, estas no tienen un potencial adictivo significativo, por lo tanto no están sujetas a la regulación por la Ley de Sustancias Controladas. Muchas de estas drogas actúan sobre el dolor, la fiebre y la inflamación y se denominan antiinflamatorios no esteroideos (AINE). En consecuencia se utilizan ampliamente para dolores y molestias menores, cefaleas y el malestar general que acompaña a las enfermedades febriles, también para aliviar los síntomas de la fiebre reumática, la artritis, la gota, y otros trastornos musculoesqueléticos. Varios agentes son capaces de aliviar el dolor en distintos cuadros como la gota, artritis, etc; sin embargo, dado que no son útiles en otros tipos de dolor, no pueden ser clasificados como verdaderas drogas analgésicas.<sup>12</sup>

El número de AINE continúa en aumento. Además de las drogas similares a la aspirina, los AINE disponibles en los Estados Unidos son meclofenamato de sodio,

fenilbutazona, indometacina, piroxicam, sulindac, y tolmetina para el tratamiento de la artritis; el ácido mefenámico para la analgesia; y el ibuprofeno, el fenoprofeno, el frurbiprofeno, el diclofenac, el etodolac, el ketorolac y el naproxeno para la analgesia y la artritis. El ibuprofeno, el ácido mefenámico y el naproxeno también se utilizan para el manejo de la dismenorrea. Actualmente el ibuprofeno, el ketoprofeno y el naproxeno son productos de venta sin receta médica. En su mayoría los nuevos AINE no salicilatos tienen propiedades farmacológicas similares, con algunas diferencias en sus propiedades farmacocinéticas. El principal mecanismo de acción para los AINE parece ser la inhibición de la síntesis de prostaglandinas por bloqueo de la actividad de la enzima precursora, la ciclooxigenasa. Sus acciones sobre las prostaglandinas probablemente expliquen muchos de los efectos colaterales de los AINE, aunque, en general hay pequeñas diferencias entre la eficacia de los diferentes AINE, algunos pacientes pueden responder a un agente mejor que a otro. Esto es difícil de predecir y suele necesitar pruebas de ensayo y error para encontrar el más apropiado.<sup>12</sup>

## **Opioides.**

Se sabe bien que los opioides, como la heroína y la morfina, ejercen sus efectos al imitar sustancias naturales, llamadas péptidos opioides endógenos o endorfinas. Se sabe acerca de los aspectos biológicos básicos del sistema de opioides endógenos, complejidad molecular y bioquímica, y su anatomía difundida y diversidad. Las diversas funciones de este sistema comprenden la participación sensitiva mejor conocida, notoria en respuestas inhibitoras a estímulos dolorosos; una participación reguladora de las funciones gastrointestinal, endocrina y del sistema nervioso autónomo; una participación emocional, evidente en las potentes capacidades de recompensa y adictivas de los opioides, y una función cognitiva en la regulación del aprendizaje y la memoria. El sistema de opioides endógenos es complejo y delicado, con una gran diversidad de ligandos (más de una docena), aunque con solo cuatro tipos de receptores principales.<sup>4</sup>

## **Mecanismos y sitio de la analgesia inducida por opioides.**

Se ha establecido bien que los efectos analgésicos de los opioides surgen a partir de su propiedad para inhibir de manera directa la transmisión ascendente de información nociceptiva desde el asta dorsal de la médula espinal, y para activar circuitos de control del dolor que descienden desde el tallo encefálico, por medio de la parte dorsal ventromedial del bulbo raquídeo, hasta el asta dorsal de la médula espinal. El tratamiento del dolor siempre será dependiente del tipo de padecimiento del paciente y la elección del tratamiento es una responsabilidad del médico que procurará utilizar analgésicos con reacciones adversas menores, antes de administrar tratamientos con medicamentos que pudieran causar fármaco dependencia.

## **Anestésicos.**

La anestesia es otra de las terapias que se han utilizado para aliviar el dolor, la anestesia local es la pérdida de la sensibilidad de una parte del cuerpo, sin pérdida del conocimiento o trastorno del control central de las funciones vitales. Tiene dos ventajas principales. La primera es que se evita las anomalías fisiológicas propias de la anestesia general; la segunda es que pueden modificarse de manera beneficiosa a las reacciones neurofisiológicas al dolor y al estrés.<sup>4</sup>

La elección de un anestésico local y el cuidado de su aplicación son los aspectos determinantes primarios de su eficacia. La relación entre la cantidad del anestésico local inyectado y las concentraciones plasmáticas varían según el área de inyección y el anestésico administrado.<sup>4</sup>

Los anestésicos locales son compuestos que bloquean de manera reversible la conducción nerviosa de cualquier parte del sistema nervioso a la que se apliquen. Pasado su efecto, la recuperación de la función nerviosa es completa. Se utilizan principalmente con la finalidad de suprimir o bloquear los impulsos nociceptivos, sean los receptores sensitivos.<sup>4,12</sup>

Los anestésicos locales deprimen la propagación de los potenciales de acción en las fibras nerviosas porque bloquean la entrada de sodio a través de la membrana en

respuesta a la despolarización nerviosa, es decir bloquean los canales de sodio dependientes del voltaje. Aunque a concentraciones elevadas puede bloquear canales de potasio.<sup>11</sup>

La interacción del analgésico local con el canal es reversible y termina cuando su concentración cae por debajo de un nivel crítico. Los anestésicos, a concentraciones superiores a las necesarias bloquean específicamente los canales de sodio dependientes del voltaje, pueden interactuar de forma inespecífica con los fosfolípidos de la membrana de forma similar a los anestésicos generales, originando alteraciones conformacionales que interfieren en el funcionamiento de canales iónicos, llegando a reducir la permeabilidad del nervio para los iones sodio y potasio en la fase de reposo.<sup>11</sup>

### **Anestésicos tópicos.**

Las sales y bases de los ésteres y amidas se utilizan para inducir anestesia tópica. Estas sales no atraviesan la piel indemne, pero ambas formas pueden penetrar a través de superficies cutáneas o con tejido de granulación.<sup>12</sup>

Las formas básicas alivian el prurito, el ardor y el dolor superficial de la piel intacta, pero la penetración cutánea es limitada, las sales y las bases tópicas anestesian con rapidez las fosas nasales, bucal, faríngea, laríngea, traqueal, bronquial y uretral.<sup>12</sup>

### **Irritantes y rubefacientes.**

Otra terapia analgésica es la que producen los agentes denominados irritantes y rubefacientes. Estas son drogas de acción local sobre la piel y mucosas, para inducir, sobre la base de su concentración, hiperemia (acumulación de sangre), inflamación y cuando la acción es intensa, vesicación, que sería una reacción no deseada. Los agentes rubefacientes solo inducen hiperemia hacia el área afectada y se acompaña con una sensación de bienestar por calor, y a veces prurito e hiperestesia (aumento de la sensibilidad general).<sup>3,12</sup>

El rubefaciente de elección es la simple aplicación de calor, ya que estas drogas son menos eficientes, uno de estos agentes rubefacientes es la capsaicina.<sup>3,12</sup>

La mayor parte de los medicamentos utilizados en los hospitales y también en el ámbito extrahospitalario, son especialidades fabricadas por la industria farmacéutica.

Hay algunas ocasiones, sin embargo, en que el tratamiento de los pacientes requiere fármacos:

- Que no se encuentran en el mercado, generalmente por falta de rentabilidad económica para los laboratorios.
- O que están registrados a dosis o concentraciones muy diferentes a las que se precisan.
- O que existen comercializados, pero en una forma farmacéutica distinta a la que se necesita para esos casos concretos.

Para atender estas necesidades no cubiertas, los Servicios de Farmacia de Hospital tienen entre sus funciones básicas la de preparar fórmulas, de las que se distinguen dos tipos:

- Normalizadas: Su composición y modo de elaboración figura en farmacopeas y formularios. En el hospital se encuentran estandarizadas y su uso es rutinario. Su petición al Servicio de Farmacia se realiza por los supervisores de las unidades clínicas utilizando los trípticos correspondientes, en los que figuran empresas.
- Extemporáneas o magistrales en sentido estricto: Son prescritas por el médico para un paciente concreto, siendo por consiguiente específicas en dosis y composición.

Para el dolor leve o moderado se utilizan analgésicos no narcóticos como la dipirona, paracetamol, ácido acetilsalicílico, diclofenaco y otros AINES ya mencionados

Para el dolor de moderado a severo se utilizan analgésicos como los opioides menores; codeína, tramadol, etc.

Para el dolor severo se utilizan analgésicos como los opioides mayores; morfina, matadona, fentanilo, dermorfina, etc.<sup>13</sup>

## **Terapia herbolaria.**

Es bien conocido que las culturas utilizaron las hierbas en medicina desde el comienzo de los tiempos. Casi todas las drogas modernas deben su origen a alguna planta medicinal. De los numerosos y potentes fitofármacos que se utilizaron en medicina mundialmente, podemos citar la morfina (opio de la amapola), la digitoxina (digital), la disosgenina (batata mexicana), la atropina (hierba mora), la colchicina (azafrán de otoño), la quinina (árboles de la quina), la reserpina (serpentina india), la vincristina (vincapervinca), la podofilina (podofolio), el aceite de ricino (planta de ricino), las antraquinonas (cáscara), la artemesina (artemisia), el taxol (tejo del Pacífico) y numerosos antibióticos, etc.<sup>7</sup>

Durante siglos, hasta bien entrado el siglo XIX, las hierbas fueron la principal fuente de drogas y se las conservaba en frascos de vidrio o en la forma de extractos alcohólicos para prolongar su vida útil o por conveniencia de aplicación. A pesar de que las hierbas se dejaron de lado por el rápido avance de los últimos 50 años de la química orgánica de síntesis, siguen ocupando un lugar importante en la medicina.<sup>12</sup>

La conservación del conocimiento milenario sobre plantas se a realizado entre otras actividades entre otras a través de herbarios que datan del siglo I ó II que numera 365 remedios contra enfermedades en su mayor parte plantas aunque también incluye minerales y extractos animales en la actualidad la lista de plantas con propiedades medicinales es alrededor de 5800 en china, 2500 en india y en México 30000 especies de plantas y al menos 3000 de plantas medicinales. Se considera que un herborista con conocer a fondo entre 150 a 200 plantas seria suficiente para hacer frente a los padecimientos humanos.<sup>22</sup>

Recientemente la secretaria de salud a través de la comisión permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos publico en el año 2001 la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos misma que se realizó por que la historia de la medicina herbolaria se remonta mas allá de la época precolombina y el uso de hierbas en la practica de medica tradicional, no solamente a sobrevivido sino que se ha

experimentado un notable crecimiento en la pasada década que representa una alternativa económica en el cuidado de la salud sin embargo se a escrito poco de este tema por lo tanto surge la necesidad de contar con monografías que facilitan su identificación como sus aplicaciones medicinales.<sup>23</sup>

En este sentido la secretaria de salud contribuye a fomentar la regulación sanitaria y la investigación de la medicina herbolaria con la publicación de la Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicano.<sup>23</sup>

La organización mundial de la salud a través de la guía para desarrollos farmacéuticos hospitalarios enumera una serie de actividades como son comité de control de infecciones hospitalarias suministro de medicamentos, sistema de distribución de medicamentos por dosis unitarias, preparación de mezclas de uso intravenoso y formulaciones magistrales., en cuanto a este ultimo servicio no todos los hospitales disponen de la misma infraestructura y medios tecnológicos para abordar la preparación de los distintos tipos de fórmulas, sobre todo en lo que se refiere a formas farmacéuticas, por ejemplo el servicio del Hospital “12 de Octubre” de Madrid España sólo elabora aquellas, de las cuales puede garantizar la calidad, de acuerdo con los estándares registrados en las Buenas Prácticas de Elaboración.<sup>21</sup>

El Gel de Capsaicina, elaborado a base de resina de capsicum es un producto que encabeza la lista de los medicamentos magistrales, que se realizan en este hospital y se encuentra reportado en la Serie de medicamentos esenciales de la Organización Mundial de la salud, el motivo de éste trabajo de investigación es agregar la manufactura correspondiente para obtener una forma farmacéutica liposomal del mismo.<sup>21</sup>

## **La Capsaicina.**

La capsaicina se extrae del fruto de capsicum o chile, los aztecas lo llamaban “chilli” en Sudamérica se le conoce como “ají”, “axi” o “agi” que parece ser un vocablo de tipo onomatopéyico relacionado con la expresión que se le emite cuando se consume por primera vez. Tal es el caso de Perú, Ecuador y Chile. Tournefort le llamó capsicum, término que aparentemente deriva del griego Kapto, que significa morder, otros arguyen

que la palabra se deriva de capsia, que en latín significa caja, probablemente haciendo referencia a que es hueco y que almacena las semillas. En el México actual le llamamos simplemente chile. Independientemente del nombre que se le dé, es un hecho que su consumo provoca la sensación de calor casi doloroso, salivación a veces lagrimeo, enrojecimiento de la cara, hasta dolor de oídos y a lo largo del tracto digestivo.<sup>8</sup>

En 1980 Rozin y Schiller informaron que la ingestión de chile produce la liberación de endorfinas en el sistema Nervioso lo que induce una sensación placentera que aumenta con la repetición de consumos sucesivos. Ésta apetencia constituyó por sí misma una de las razones para la domesticación temprana del chile (cuadro 1).<sup>8</sup>

En 1934 el maestro H. Bravo hizo una descripción de la botánica de las solanáceas, ya que los chiles pertenecen al género *Capsicum*, familia solanaceae donde las especies más importantes son *capsicum boccatum*, *capsicum frutescens* y *capsicum annuum*. Al microscopio la parte más superficial de éstos frutos es el pericarpio que presenta tres capas, el epicarpio o cutícula externa, el mesocarpio que presenta tanto colorantes clorofilicos como algunos almidones y la más profunda o endocarpio está constituida de numerosas células cúbicas el interior a veces forma lóbulos que encierran las semillas placentadas.<sup>7,8</sup>

Minerales	Vitaminas	Otros componentes
Yodo 0.001 mg <sup>7</sup> Sodio 58 mg Cloro 37 mg Fósforo 23 mg Azufre 17 mg Magnesio 11 mg Calcio 9 mg Hierro 0.5 mg Cobre 0.10 mg Potasio 234 mg	Pro-vitamina A 1000 unidades vitamina C 120 mg Niacina 0.45 mg vitamina B2 0.05 mg vitamina PP 0.40 mg vitamina B5 0.20 mg vitamina B1 0.03 mg	Agua 91 g Hidratos de carbono 5.1g Cenizas 0.9 g Grasa 0.3 g Fibra 1.4 g Proteínas 1.3 g

Cuadro 1: Composición química de los frutos de chile. Este es el contenido en 100gr de chiles.<sup>7</sup>

El sabor picante o pungencia que es la sensación de calor de los chiles se debe a la presencia de los capsaicinoides. Los dos principales capsaicinoides responsables de 90% de la pungencia en los chiles son la capsaicina y la dihidrocapsaicina, estos se sintetizan en la placenta de los frutos de capsicum.<sup>6,8</sup>

La capsaicina fue aislada en 1846, esta molécula es muy relacionada con el grupo vainillil y puede recolectarse por extracción acuosa o alcohólica. Esta sustancia se forma en la pared del ovario y se transporta a las placentas y semillas en donde se almacena y concentra. Fue hasta 1919 que se determinó su estructura química que es 8 metil-n-vainillil, 6 nonenamida que forma escamas o placas monoclinicas, insolubles en agua y muy solubles en alcohol.<sup>6,8</sup>

Se han encontrado 20 capsaicinoides en los chiles que son la capsaicina y la dihidrocapsaicina (cuadro 2) estos son los que producen la sensación organoléptica de calor.<sup>30</sup>

	Formula	Peso molecular	Punto de fusión	Punto de ebullición	$\lambda$ máx.	
Capsaicina	C <sub>18</sub> H <sub>27</sub> O <sub>3</sub> N	305.119 g/g.mol	64.5 °C	210-220 °C	227-228 nm	Cristales en forma de aguja, inodora, Soluble en éter etílico, acetona, metanol, etanol, benceno.
Dihidrocapsaicina	C <sub>18</sub> H <sub>29</sub> O <sub>3</sub> N	307.215 g/g.mol	65.5 °C	210-220 °C	230 nm	Cristales de color blanco opaco inodora, soluble igual que la capsaicina.

Cuadro 2: Propiedades fisicoquímicas de los principales capsaicinoides del chile.

En 1935 J. De Lillie y E. Ramírez publicaron la acción farmacodinámica de los principios activos del chile y también algunos efectos, como el aumento de peso producido en los animales por la ingestión frecuente del mismo.<sup>8</sup>

Basados en que era bien conocido el tratamiento exitoso con el extracto de chile para padecimientos neurálgicos, reumáticos y bucofaríngeos, en 1957, J. Negrete, P. Solís Cámara y G. Yanquelevich aplicaron subcutáneamente en la cola de la rata, el jugo de chiles machacados lo que provocó una profunda insensibilidad al dolor en esa zona del cuerpo. Posteriormente extrajeron la capsaicina a base de éter y oleorresina, la aplicaron directamente al nervio ciático en donde se bloqueó la transmisión de los impulsos nerviosos.<sup>8</sup>

Desde los finales de la década de los 40's el farmacólogo húngaro Nicholas Jacson, intrigado inicialmente por las posibles consecuencias de la ingesta temprana de chile (páprika) en los niños, inyectó intraperitonealmente capsaicina a ratas recién nacidas e informó que después de una excitación intensa de neuronas sensoriales se presenta un periodo prolongado de insensibilidad a los estímulos dolorosos.<sup>8</sup>

A partir de entonces muchos esfuerzos se dirigieron a tratar de localizar el sitio de acción de la capsaicina.<sup>8</sup>

### **Uso Terapéutico.**

La Capsaicina sea incorporado a diferentes formas farmacéuticas como lo son las tinturas, ungüentos, geles, cremas, etc utilizados para facilitar el alivio del dolor y el espasmo muscular en condiciones como el dolor de los músculos esqueléticos, los desgarres, las luxaciones o los estados inflamatorios como la artritis reumatoide, produce alivio de la neuralgia posherpética, dolor local en los muñones por amputación, dolor refractario de la neuropatía diabética, dolor orofacial, dolor masticatorio, dolor neurógeno, etc.<sup>10,33,</sup>

### **Mecanismo de acción de la capsaicina,**

Existen evidencias de que la capsaicina puede eliminar la sustancia P de las terminales nerviosas sensoriales locales, se piensa que la sustancia P está asociada al

inicio de la transmisión del estímulo doloroso, y también es usado para un eficaz tratamiento del dolor disestésico (trastorno de la sensibilidad) por lo que es una alternativa terapéutica en este tipo de dolor, el uso repetido de capsaicina impide a las células nerviosas producir más sustancia P y así los signos del dolor extenso de la piel son grandemente disminuidos o completamente eliminados con tal de que nueva capsaicina sea aplicada de aquí que se aplique no solo capsaicina sola sino en resina la que contiene diversos capsaicinoides que dan origen a la pungencia que es la sensación de calor que causan los chiles y los dos principales capsaicinoides responsables de 90% de la pungencia en los chiles son la capsaicina y la dihidrocapsaicina, estos se sintetizan en la placenta de los frutos de capsicum ó chile.<sup>5,6,7</sup>

Una de las acciones principales, aplicada localmente ó administrada en forma sistémica es la depleción del péptido sustancia P de ciertas neuronas sensoriales, se cree que la sustancia P un decapeptido, es un neurotransmisor o un neuromodulador involucrado en las fibras C aferentes. Es probable que las principales neuronas sensibles a la capsaicina sean los receptores nociceptivos polimodales con terminaciones nerviosas sensoriales que contienen sustancia P no sean sensibles a la capsaicina; y puede haber fibras aferentes primarias alteradas por la capsaicina que no contienen sustancia P.<sup>10</sup>

La capsaicina tiene la capacidad de activar y a altas dosis bloquear y finalmente lesionar varios tipos de fibras aferentes primarias C y A $\delta$ . La aplicación de capsaicina sobre la piel produce un ardor e hiperalgésia (sensibilidad excesiva al dolor), pero la aplicación repetida da lugar a pérdida de sensibilidad a la capsaicina y a dosis más elevadas, causa un bloqueo de las fibras que conduce a un déficit sensorial de larga duración, así su eficacia en la administración repetida en el dolor de la neuropatía diabética.<sup>3</sup>

La capsaicina produce como resultado un efecto de calor local junto con la disminución del umbral del dolor para un grado de calor suficiente como para producir

un dolor quemante espontáneo y actúa en relación con los mecanismos de receptores sensorial-actividad nerviosa.<sup>10</sup>

Estudios electrofisiológicos revelan que la capsaicina excita en forma selectiva a las fibras aferentes que responden a los estímulos químicos nociceptivos, los denominados nociceptores polimodales de las fibras C.<sup>10</sup>

### **Efectos sistémicos y crónicos.**

El interés en la especificidad de la acción de la capsaicina deriva de la observación de que la excitación sostenida de la observación de las neuronas sensoriales provocada por la capsaicina es seguida por una refractoriedad sostenida, esta refractoriedad (resistencia a la acción) se asocia con la depleción de la sustancia P.<sup>10</sup>

No solo se encuentra depleción de la sustancia P con la aplicación local o tópica de la capsaicina, sino que también se produce la depleción después de la administración sistémica.<sup>10</sup>

La liberación de sustancia P en las fibras sensoriales es favorecida por la capsaicina, sustancia contenida en el chile que produce picor y quemazón intensos. La capsaicina actúa sobre receptores específicos situados en la membrana de estas neuronas sensoriales, provocando la apertura de un canal iónico no selectivo que permite la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Na}^+$ , y la salida de  $\text{K}^+$ ; la consiguiente despolarización favorece la liberación de sustancia P. La acción mantenida de la capsaicina termina por desensibilizar la neurona con pérdida de respuesta al estímulo sensorial. A dosis altas de capsaicina pueden llegar a provocar lesiones neurotóxicas de las células que contienen sustancia P sensibles a capsaicina, con degeneración neuronal y depleción de sustancia P. Produce una depleción local de sustancia P impidiendo su reposición.<sup>11</sup>

### **Liposomas**

El liposoma, es el empaquetamiento de moléculas fosfolipídicas formando una bicapa cerrada o vesícula.

## **Formas vesiculares.**

En 1965 Alec D. Bangham estudiando fosfolípidos observó formas esféricas que denominó liposomas. Hasta los noventa no fue posible un modelo teórico predictivo, ni la aplicación de la geometría de las vesículas. Gibbs y Volmer en la primera mitad del siglo XX, ya habían establecido las bases teóricas para la formación de los gérmenes en un sistema disperso que fueron aplicadas.

La constitución de las membranas celulares por moléculas lipídicas anfífilicas da lugar al apilamiento en forma de bicapa de los lípidos debido a que se encuentran en un medio acuoso. Técnicas de difracción de rayos X por ejemplo, muestran que la membrana citoplasmática esta constituida por una doble capa de moléculas lipídicas entre las que se intercalan moléculas proteicas, denominada bicapa lipídica. Dicha bicapa tiene un espesor constante aproximado de 5 nm, resultando una barrera prácticamente impermeable para la gran mayoría de moléculas hidrosolubles.

## **La Bicapa**

La organización de las moléculas lipídicas en forma de bicapa en un medio acuoso es un fenómeno espontáneo que puede reproducirse de manera sencilla en el laboratorio. La causa de este particular empaquetamiento, por el que la bicapa lipídica recibe el nombre de fluido bidimensional, debe buscarse en la interacción hidrofóbica de los lípidos con el medio acuso, es decir, es necesario entrar en consideraciones energéticas para explicar las configuraciones estables.

Al ser los lípidos poco solubles en agua, ocurre que, al superarse una concentración llamada concentración micelar crítica (c.m.c.), la tendencia general es la de exponer los grupos polares al medio acuoso permitiendo la interacción de los grupos no polares entre sí. Es esencialmente este efecto hidrófobo el que permite que las bicapas se formen espontáneamente.

## **Características químicas importantes.**

Entre las moléculas lipídicas que son las materias primas para elaborar los liposomas, merecen especial mención los fosfolípidos, tanto por su número como por su

importancia. Estas moléculas tienen una cabeza hidrofílica (polar) y dos cadenas hidrocarbonadas hidrófobas (no polares). Estas cadenas suelen ser ácidos grasos, lo que explica que estos lípidos sean insolubles en agua. Y que por el contrario se disuelvan fácilmente en disolventes orgánicos. Los fosfolípidos más comunes son los derivados del glicerol y son llamados fosfoglicéridos o glicerofosfolípidos, estos se unen a los hidróxilos de la molécula de glicerina a cadenas de ácidos grasos mediante enlaces éster, cuando una o dos de las cadenas de ácidos grasos quedan unidas mediante enlaces éter, los fosfolípidos reciben el nombre de plasmalógenos. Aquellos fosfolípidos que tienen la esfingosina en vez de glicerol como base estructural reciben el nombre de esfingofosfolípidos, siendo el más importante por su abundancia la esfingomielina.

Se puede decir que las moléculas de lípido, al encontrarse rodeadas por agua se agregan de modo tal que tienden a ocultar la porción hidrofóbica del agua, mientras exponen a ésta las cabezas hidrofílicas. En esta situación pueden ocurrir dos posibilidades; bien se forman micelas esféricas con las colas hidrofóbicas en el interior de la esfera y las cabezas hidrofílicas en la superficie de ésta. O bien se forman dos superficies o bicapa, con la porción hidrofóbica “protegida” entre las dos superficies de cabezas hidrofílicas, lógicamente, la bicapa lipídica tenderá a cerrarse sobre sí misma evitando así que la parte hidrofóbica entre en contacto con el agua (Figura 2), es lo que se conoce con el nombre de vesícula fosfolipídica o liposoma.

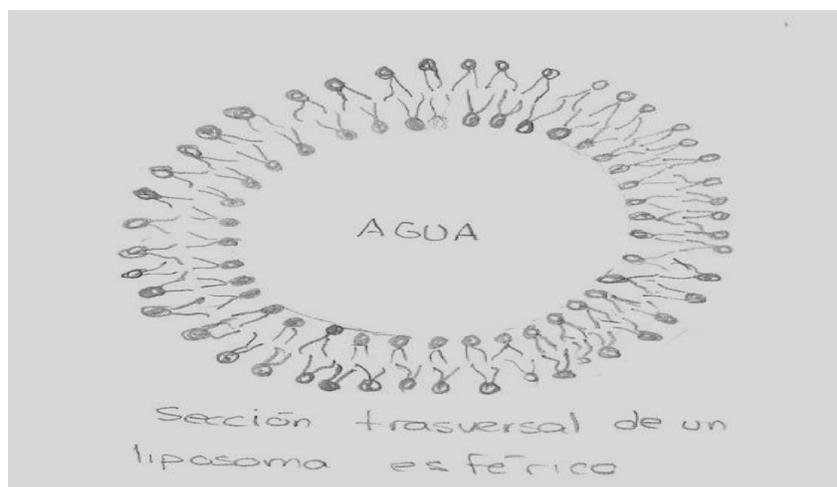


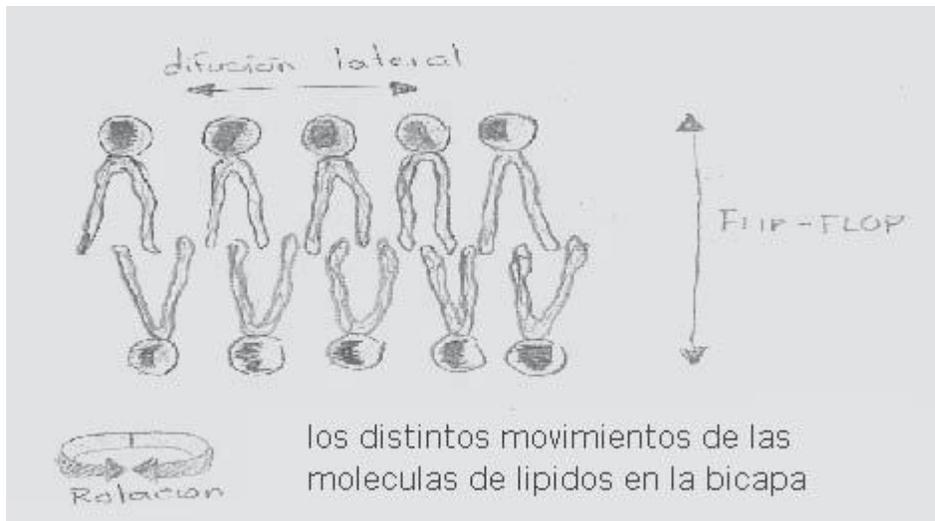
Figura 2: Sección transversal de un liposoma esférico.

## **El Movimiento molecular.**

Para el estudio del movimiento de las moléculas lipídicas empaquetadas, se viene utilizando la técnica de espectroscopia de Resonancia Espín Electrónico ESR (*Electrón Spin Resonance*).

Si una de las moléculas lipídicas tuviese una cabeza polar con espín no nulo, lo que implicaría tener al menos un electrón desapareado, generaría una señal paramagnética en presencia de un campo magnético externo. Esta señal es la que se mide con la técnica ESR. Así, resulta posible seguir las evoluciones de las moléculas lipídicas dentro de la bicapa. De estos estudios se pueden extraer tres consecuencias.

- a) Las moléculas lipídicas tienen una probabilidad muy pequeña de cambiar su orientación dentro de la bicapa. Correspondería a la situación en que una molécula lipídica de una de las monocapas intercambiase su posición con la molécula simétrica de la otra monocapa. Es el llamado movimiento en flip-flop (Figura 3).
  
- b) Se da una gran difusión lateral de las moléculas a lo largo de la monocapa: las moléculas lipídicas permutan fácilmente su posición con la de sus vecinas. De esta forma, y de acuerdo con los modelos moleculares que se emplean en estas técnicas experimentales, una molécula lipídica se desplazaría lateralmente por la monocapa a una velocidad aproximada de alrededor de 1  $\mu\text{m/s}$ .
  
- c) Las moléculas lipídicas rotan a gran velocidad alrededor de sus ejes longitudinales. Se puede afirmar que el componente lipídico de las membranas biológicas se comporta como un fluido bidimensional, lo que posibilita el movimiento lateral casi libre de los fosfolípidos en la monocapa, antes definido como difusión lateral (Figura 3).



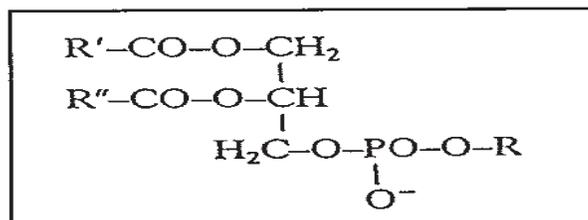
**Figura 3: Distintos movimientos de las moléculas de lípidos en la bicapa.**

### **Interpretación molecular de la fluidez de la membrana.**

La fluidez de las bicapas lipídicas depende tanto de su composición como de la temperatura. Así pues, si las cadenas hidrocarbonadas son lineales o presentan dobles enlaces cis requieren una temperatura más baja para pasar de estado fluido a un estado cristalino más o menos rígido llamado “gel”. A este proceso se le denomina transición de fase y la temperatura a la que ocurre se conoce como temperatura de transición.

En el caso anteriormente citado de cadenas cortas o insaturadas, la temperatura de transición de fase disminuye, permaneciendo la bicapa fluida a temperaturas bajas. Ello se explica en el caso de cadenas hidrocarbonadas, por la disminución de la interacción entre las propias cadenas y entre éstas y el agua, lo que comporta una bicapa más fluida (Cuadro 3).

Cuando presentan dobles enlaces cis, se dificulta el empaquetamiento de los lípidos (Cuadro 4).



Cuadro 3: Formula general de los fosfolípidos.

TIPOS DE BASES NITROGENADAS EN LOS GLICEROFOSFÁTIDOS		
GRUPO R	NOMBRE DEL FOSFOLÍPIDO	ABREVIACIÓN
-H	AC. FOSFATÍDICO	PA
-CH <sub>2</sub> CH(NH <sub>2</sub> )-COOH	FOSFATIDIL SERINA	PS
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH <sub>2</sub>	FOSFATIDIL ETANOLAMINA	PE
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> NH(CH <sub>3</sub> )	FOSFATIDIL-N-METILETANOLAMINA	PE-Me
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	FOSFATIDIL-N,N-DIMETILETANOLAMINA	PE-diMe
-CH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N <sup>+</sup> (CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	FOSFATIDILCOLINA	PC

Cuadro 4: Tipos de base nitrogenadas en los glicerofosfátidos.

### Características importantes para la obtención de liposomas.

Para la obtención de los liposomas es necesario tomar en cuenta las características de la interacción de los lípidos con el agua en la cual existen propiedades que son determinantes para la formación de las vesículas como las siguientes:

- La solubilidad y el potencial químico de los lípidos para su elaboración.
- Otro factor de tomar en cuenta es el tamaño de las vesículas. Estas vesículas lipídicas “sui generis” que son los liposomas constituyen auténticos sistemas coloidales. Los coloides, entrañan una doble exigencia. El campo coloidal, citando la definición de Bockris y Reddy,

*“...es un mundo intermedio en que las partículas son demasiado grandes para desempeñar el comportamiento estricto de los átomos, y al mismo tiempo demasiado pequeñas para presentar las propiedades medias correspondientes a la materia macroscópica”.*

Son sistemas excesivamente pequeños para considerarlos macroscópicos y demasiado grandes para ser tratados desde un punto de vista microscópico.

La Fenomenología científica y los aspectos teóricos correspondientes a los liposomas nos permiten enmarcar las Formas Farmacéuticas Liposomales en su justo

dominio macroscópico y a los anfífilos y micelas que los originan en su dominio microscópico.

## Lecitinas.

Lecitina procede, etimológicamente, de la palabra griega *lekithos*, que significa yema de huevo. Históricamente, el término lecitina, fue usado para referirse a los lípidos procedentes de la yema de huevo que contienen fósforo. Posteriormente, este término fue usado únicamente para definir el fosfolípido fosfatidilcolina. En la bibliografía científica todavía se usa la palabra lecitina para referirse a la fosfatidilcolina, es decir al 1,2-diacil-sn-glicero-fosfatidilcolina (Figura 4).

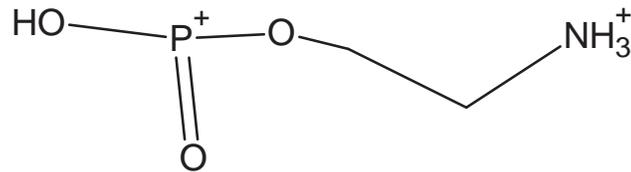


Figura 4: 1,2-diacil-sn-glicero-fosfatidilcolina.

No obstante, en el ámbito industrial y comercial el término lecitina se identifica con mezclas complejas que contienen lípidos polares (fosfátidos y glucolípidos), grasas neutras (preferentemente triglicéridos), y en menor proporción, otros lípidos y carbohidratos.

Existen pues, desde el punto de vista comercial, diversos tipos de lecitinas dependiendo de la cantidad de fosfátidos (preferentemente fosfatidilcolina) que contengan y de su fuente de procedencia. Las lecitinas más fáciles de extraer y por tanto las más comerciales son las procedentes de las semillas de soja y de la yema de huevo, dada la abundancia de este fosfolípido en ambos productos. Las lecitinas, tanto las obtenidas a partir de la yema de huevo, como de las semillas de soja, se utilizan para elaborar los liposomas.

## **Obtención de lecitina.**

El método de Singleton:

- Se parte de 500 g de yemas de huevo liofilizadas se mezclan con un litro de acetona y se filtra, operación que se realiza tres veces, contiene las grasas neutras y pigmentos (filtrado).
- Al residuo se le agrega un litro de etanol al 96% dejándolo por una hora se filtra y se hace tres veces esta operación, la última con 500 ml de etanol se evapora el alcohol y se lava el residuo con éter de petróleo dos veces con 300 ml, luego se reduce a 200 ml en el rotavapor, el extracto se vierte en un litro de acetona y se agita por una hora (se precipitará la lecitina), se evapora la acetona. El rendimiento es de 7.2%
- La purificación para obtener la lecitina cromatográficamente pura se realiza con el fraccionamiento en una columna de vidrio con alúmina como soporte y con fase móvil de cloroformo:metanol 9:1 (v/v) y cloroformo:etanol:agua (2:5:2).

## **Generalidades sobre formas farmacéuticas liposomales.**

Numerosos investigadores han demostrado que la encapsulación de fármacos conduce a una eficacia aumentada, a una menor toxicidad y a la prolongación del tiempo de efecto terapéutico. Estas ventajas son patentes en procesos que van desde la potenciación de la eficacia de vacunas y de algunos sistemas de diagnóstico, hasta la de antimicrobianos y antiinflamatorios, entre otros.

No obstante, salvo algunas excepciones que hoy día van ya siendo numerosas, casi todos estos fármacos encapsulados en liposomas se han producido en laboratorios de investigación en pequeñas cantidades y se han experimentado en animales. El escalamiento a la producción a gran escala reporta nuevos problemas, en primer lugar el costo del medicamento, si se utilizan fosfolípidos sintéticos como el dimiristoil, y el dimiristoil fosfatidilglicerol sin embargo se pueden emplear fosfolípidos de origen natural que son más baratos aunque la fosfatidilcolina obtenida de huevos frescos llegó

a cotizarse en 20,000 euros/kg sin embargo con la producción a gran escala de la lecitina de huevo su precio se ha disminuido considerablemente a céntimos de euro.

Las perspectivas actuales son muy satisfactorias porque las formas liposomales han demostrado a lo largo de casi 40 años que aumentan la eficacia del fármaco de una forma notable, disminuyen la toxicidad claramente y pueden ser susceptibles de estrategias terapéuticas como la liberación lenta y controlada del fármaco o la direccionabilidad de las vesículas, que es posible conseguir en algunos casos únicamente con la selección de tamaños y características estructurales de éstas. Se debe destacar también que la aplicación de las Formas Farmacéuticas Liposomales ha sido investigada y ampliamente probada por cualquier vía de administración.

La elaboración de las Formas Farmacéuticas liposomales debe basarse en lo siguiente:

- Características fisicoquímicas del lípido a utilizar y de los principios activos a vehiculizar (temperatura de transición del lípido, solubilidad en agua y labilidad frente a la temperatura de los principios activos, pH adecuado a las características del lípido y del principio activo, y la interacción lípido-principio activo.
- Forma de administración del preparado liposomal (tópica, subcutánea, oral, intramuscular, intravenosa, intraperitoneal, intraocular, colirios, gotas ópticas y pulverizaciones para vía respiratoria)
- La estrategia terapéutica que se pretende es favorecer la absorción del principio activo, como sistema de liberación lenta, y la direccionabilidad.

### **Vesículas como vehículo.**

Muchos principios activos cuando son aplicados a las dosis usuales nunca proporcionan los efectos óptimos a causa de su descomposición o inactivación por la fijación de éstos por los tejidos. En consecuencia, las dosis, deben proporcionarse en intervalos comparativamente muy frecuentes.

Las sustancias solubles en agua que no interfieran en la formación de los liposomas pueden ser atrapadas en los compartimentos acuosos de las vesículas lipídicas. Si las sustancias son liposolubles quedarán atrapadas en la propia estructura de la bicapas lipídica, a lo largo de estas últimas décadas, se han encapsulado una amplia variedad de sustancias de interés biológico probando diferentes tipos de lípidos y concentraciones de éstos, en función de los objetivos de las preparaciones.

El estudio de la formación y del comportamiento fisicoquímico de los liposomas tiene una importancia fundamental en la comprensión de los numerosos procesos biológicos.

De la misma forma el desconocimiento de ciertos aspectos puede llevar consigo interpretaciones erróneas e incluso alarmistas de fenómenos donde se ven involucradas las vesículas lipídicas. El comportamiento de las vesículas de acuerdo con el modelo de Helfrich, es aplicable sólo a grandes vesículas donde el efecto de la sobrepresión de Laplace es despreciable. Hoy tras el enorme avance teórico culminando con el final del siglo XX se han despejado de las vesículas lipídicas que los anteriores modelos no podían asegurar.

Ha sido necesario el transcurso de la última década del siglo XX para que se establezca una nueva concepción de la estabilidad de las vesículas lipídicas en términos más rigurosos referidos a la estabilidad coloidal. Con la llegada del siglo XXI el horizonte parece despejarse para el empleo de liposomas como vehículos de fármacos.

### **Métodos de encapsulación.**

Cualquier fármaco es susceptible de ser vehiculizado en vesículas obtenidas de fuentes naturales, la estrategia terapéutica en la que se incluye la vía de administración del fármaco vehiculizado, puede requerir vesículas con carga eléctrica positiva o negativa de una mayor o menor magnitud pero estas deben ser correcciones al producto inicial investigado. Esta será la regla inicial básica.

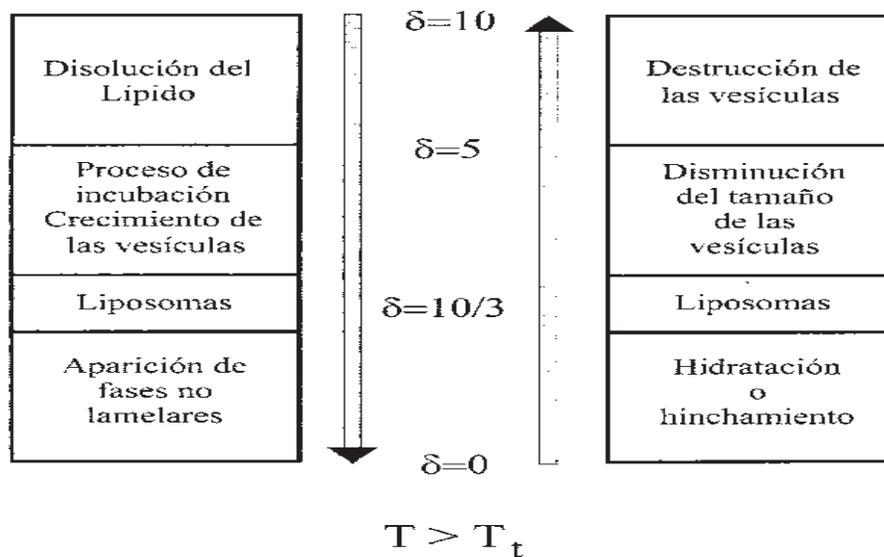
La segunda regla es que su elaboración debe intentarse por algún procedimiento que evite la previa disolución de fármaco ó lípidos en disolventes orgánicos. Se pueden

disolver los fármacos no hidrosolubles en aceite o con acetato de tocoferol y formar la pasta con lecitina no obstante, no se pueden generalizar los métodos debe encontrarse un disolvente para lípidos y fármaco que se pretende vehiculizar.

La tercera regla se refiere a los métodos que entrañan el empleo de disolventes orgánicos y puede resumirse diciendo que se debe usar el mejor método que permita la total y mayor eliminación del disolvente orgánico, puesto que los restos de éste no sólo pueden resultar indeseables como impurezas, sino que pueden modificar las características de las vesículas formadas y su estabilidad.

Se debe tomar en cuenta que la cantidad de impurezas deben ser compatibles con el uso en humanos. Para las sustancias hidrosolubles cualquier método puede servir para la encapsulación, solo bastará que se solubilice el principio activo (p.a.) en el medio acuoso donde se vayan a formar las vesículas. Y controlar la fuerza iónica del medio con solución amortiguadora o agregando sal si fuera necesario.

La estrategia de encapsulación de sustancias liposolubles consiste en su incorporación en la membrana lipídica (Cuadro 5), la sustancia debe quedar atrapada entre las cadenas hidrocarburadas de los fosfolípidos que conforman la membrana.



Cuadro 5: Esquema de la formación de vesículas lipídicas por disminución y también por aumento del balance energético para una temperatura superior a la temperatura de transición del fosfolípido.

## **Pruebas previas.**

Como norma general el liposomologista debe considerar previamente la hipótesis de que el fármaco en cuestión permite su encapsulación. Así puede partir de varias muestras de liposomas con cantidades variables de fármaco encapsulado.

## **Liposomas como sistemas de liberación lenta.**

El campo de la oftalmología y en concreto los tratamientos a nivel intraocular se encuentran con el inconveniente del rápido aclaramiento que sufre el fármaco en el vítreo tras su inyección, el cual impide mantener niveles terapéuticos durante más de 48 horas a 72 horas incluso a dosis máximas terapéuticas consecuentemente se necesitan inyecciones intravítreas múltiples y repetidas que inducen directamente posibles efectos secundarios como la lesión de estructuras oculares, desprendimiento de retina, hemorragia vítrea y endoftalmitis, entre otros.

Es posible vehiculizar de forma adecuada el fármaco en liposomas, que además de impedir el pico de concentración máxima del fármaco aumenta su eficacia al prolongar sus niveles terapéuticos.

## **Aplicación tópica de los fármacos en forma liposomal.**

Los fármacos aplicados tópicamente puede que no se absorban exactamente en el nivel donde tengan que efectuar su acción, en otros casos, el fármaco puede ser absorbido hasta la circulación sanguínea o linfática y distribuirse a lo largo de todo el organismo con lo cual puede causar efectos sistémicos más que locales.

Mejorar la actividad local y minimizar los efectos sistémicos puede requerir un transportador, por lo tanto en la administración tópica el denominado transportador debería actuar más como localizador que como transportador.

Hay situaciones donde el lugar de acción esta en capas profundas de la epidermis/dermis donde no se alcanza una concentración del fármaco efectiva. Ello puede ser debido a una escasa penetración o si la sustancia penetra lo suficiente a que sea

rápidamente absorbida por la circulación sanguínea esto último que podría ir acompañado de efectos a nivel sistémico.

Los liposomas comparados con los vehículos convencionales pueden disminuir las propiedades de barrera del manto ácido y del estrato córneo debido a su naturaleza lipídica miscible con los lípidos de la superficie de la piel y a su acción oclusiva que permite la hidratación de la queratina, esta disminución de la función de barrera de la piel puede conducir a un aumento en la difusión de la sustancia activa sobre la epidermis, también es posible que los liposomas puedan penetrar a través de los lípidos de la piel. La bicapa epidérmica puede servir como camino para la penetración de los liposomas.

Una explicación para la reducción de la absorción epidérmica de la sustancia encapsulada en los liposomas puede ser la escasa cantidad del fármaco metabolizado puesto que la parte encapsulada no es accesible a la acción de las enzimas. Además los liposomas con gran tamaño no penetran los vasos sanguíneos y por tanto no serán desplazados por el torrente sanguíneo.

Actualmente el empleo de liposomas en cosmética y dermatología sigue las pautas que estableció Siciliano en 1985 revisando los usos y los métodos de producción de liposomas tópicos. Este autor concluyó sus trabajos enfatizando el uso de los liposomas como vehículos idóneos para la aplicación tópica, Westerhof concluyó el uso de los liposomas como sistemas dinámicos de dosificación dermatológica. Los resultados obtenidos con cientos de fármacos encapsulados en liposomas avalan, hoy en día estos principios.

También se utilizan fármacos vehiculizados para uso oftálmico, respiratorio, para compuestos quelantes en la terapia enzimática y en el tratamiento del SIDA.

## **JUSTIFICACIÓN.**

En la era de la ciencia, el desarrollo científico y tecnológico son la fuente de progreso de las sociedades, el conocimiento y la información de datos fidedignos prevalecen sobre otros recursos como fuente de riqueza.

El Programa Nacional de Salud 2001-2006 afirma que: “el desarrollo económico, el bienestar social, la estabilidad política y la seguridad nacional dependen de la buena salud de los mexicanos.” Así, considera a la salud como uno de los objetivos esenciales del desarrollo y como una fuente de oportunidades equitativas, como formadora de capital humano que, junto con la educación, impulsa el crecimiento económico sustentable y crea un círculo virtuoso entre el desenvolvimiento económico y salud.

En este contexto la producción de medicamentos eficaces y de calidad, de fácil preparación en las farmacias y en laboratorios farmacéuticos de pequeña escala, pueden ser de mucha utilidad.

Hoy la mortalidad por tumores malignos (16.3% total de defunciones), diabetes mellitus (15.0% total de defunciones), son las principales causas de muerte a nivel nacional (INEGI 2004), mientras que la mortalidad por enfermedades isquémicas del corazón y por diabetes mellitus es más alta en zonas urbanas que en rurales (CONAPO, 1999-2001).

La investigación farmacéutica de cualquier campo de la terapéutica es necesaria, un nuevo medicamento será más útil a la sociedad, si va dirigido al tratamiento de enfermedades que se hayan determinado de atención prioritaria.

El efecto tóxico de los fármacos a nivel tópico se puede producir cuando éstos pasan a la circulación sanguínea en cantidad suficiente para la aparición de efectos sistémicos. Éste es sin duda el principal factor limítrofe para el empleo de medicamentos por vía tópica, y es mucho más importante si su aplicación se realiza en mucosas debido a la mayor absorción del fármaco que en ellas se produce.

El efecto general que se produce al emplear el fármaco vehiculizado en liposomas es una mayor absorción en dermis y epidermis, la permanencia aumentada (liposomas como sistema de liberación lenta) y un menor paso a la circulación sanguínea debido básicamente al tamaño de las vesículas. Así pues, la vehiculización de fármacos en liposomas para su aplicación tópica reúne, en principio, prácticamente todas las ventajas deseables en este tipo de tratamientos. Por otro lado, las pruebas clínicas de este tipo de

medicamentos son mucho más sencillas y rápidas, y están muy alejadas de alterar aspectos vitales del paciente, siempre hablando de una forma genérica.

El uso terapéutico de la capsaicina como analgésico local, se efectúa en ungüentos, geles y cremas de venta libre, utilizados para facilitar el alivio del dolor y el espasmo muscular en condiciones como el dolor de los músculos esqueléticos, los desgarres, las luxaciones o los estados inflamatorios como la artritis reumatoide, también se utiliza por que produce alivio en la neuralgia posherpética, en dolor local en los muñones por amputación y dolor refractario de la neuropatía diabética.

El objeto de esta tesis es realizar un experimento con material biológicos (ratas wistar machos), para realizar un análisis comparativo de las propiedades que le confiere el gel liposomal las vesículas lipídicas (liposomas). Con la finalidad de ofrecer una opción medicamentosa de mayor eficacia, menores reacciones adversas y mayor aceptabilidad en los pacientes.

En la guía para el desarrollo de servicios hospitalarios farmacéuticos, la Organización Mundial de la Salud, establece al Gel de Capsaicina, elaborado a base de resina de capsicum como un producto que encabeza la lista de los medicamentos magistrales, que se elabora en el servicio de farmacia.<sup>21</sup> Por la importancia que tienen las formas magistrales en el desarrollo de productos innovadores así como la tradición de México en el uso de productos naturales como el “chile” consideramos de importancia generar un línea de investigación en formas farmacéuticas liposomales la cual iniciamos con un estudio preliminar en pacientes diabéticos; con el apoyo del personal de investigación del Hospital Civil de Tacámbaro Michoacán, se probó el gel liposomal de tintura de *Capsicum annuum* a una dosis menor que la normalmente utilizada en el gel tradicional, demostrándose en los resultados de este estudio una tendencia favorable respecto a la aceptabilidad del producto con liposomas, además los pacientes reportaron que el efecto analgésico de este gel era durante mayor tiempo y con menor pungencia. Para evitar cualquier sesgo de los resultados producidos por factores psicológicos en los pacientes decidimos utilizar la prueba de formalina en ratas.

## **HIPÓTESIS**

Vehicular los componentes de la resina de *Capsicum annuum*, elaborando una forma farmacéutica liposomal, aumentará la duración del efecto analgésico al compararlo con el medicamento tradicional en el modelo de la formalina en ratas.

## **OBJETIVO GENERAL.**

Realizar el análisis comparativo en el efecto analgésico por vía tópica de un gel liposomal y un gel tradicional de la resina de *Capsicum annuum* utilizando la prueba de formalina en ratas

## **Objetivos específicos.**

- 1.- Obtener la lecitina a partir de huevos frescos de gallina.
- 2.- Obtener la resina de *capsicum annuum* de chiles secos.
- 3.- Elaborar la emulsión liposomal de resina de *capsicum annuum*.
- 4.- Producir el gel tradicional de resina de *capsicum annuum* y el gel liposomal a concentraciones de 0.025% y 0.05% de resina.
- 5.-Realizar la prueba de formalina en ratas para los productos elaborados.

## **METODOLOGÍA.**

### **Obtención de Lecitina de Huevo.**

De 1kg de huevo se extrae la yema y se lava con acetona grado reactivo (G.R.) y se filtra el residuo tres veces después se extrae con alcohol tres veces después se extrae con éter de petróleo (G.R.) dos veces y se evapora en un rotavapor luego con acetona (G.R.) se precipita la lecitina, se retira la acetona y se obtiene lecitina pura.

### **Obtención la resina de *capsicum annuum* de chiles secos.**

Para extraer la resina de *capsicum annuum* L. Var. *Grabriuseulum* (Dunal) Heiser & Piekersgil, la identificación del chile fue por el Ing. Samuel Ontiveros Alvarado perito en Herbolaria de la UMSNH, se pesan 100gr de chile bien molido se les agrega alcohol agua (9.1) hasta obtener 1lt, se pasa la muestra y el menstuo a un lixiviador se deja goteando hasta 24hrs a temperatura ambiente, después se pone en un rotavapor a

85° C para la extracción del exceso del menstuo hasta sequedad, después se mete a una estufa a 40°C en una caja petri para terminar de extraer el resto del menstuo.

### **Elaboración de la emulsión liposomal de resina de *capsicum annuum*.**

Se disuelve la lecitina y la resina de *capsicum annuum* en una solución reguladora de fosfatos a pH 7 agitando vigorosamente en un homogenizador a 2500rpm durante 30 min y se congela la suspensión de lecitina y resina por 24hrs después se descongela la suspensión y se ve al microscopio (Foto 1) para ver la formación de liposomas y luego se vuelve a congelar otras 24hrs y se vuelve a ver al microscopio para ver si hay mas formación de liposomas, una vez que ya están formados se agrega la suspensión liposomal a un gel monofasico.

### **Producción del gel tradicional de resina de *capsicum annuum* y el gel liposomal a concentraciones de 0.025% y 0.05% de resina.**

Para realizar el gel se deja humedecer el carbopol por 2 hrs en agua destilada después se le agregan los conservadores luego alcohol y trietanolamina una vez que ya esta la base de gel de le agrega la suspensión tomando en cuenta que al gel de tradicional solo se le agrega la resina y al gel liposomal se le agrega la suspensión liposomal para que este a una concentración de 0.025% y otro gel a 0.05%.

### **Evaluación del efecto analgésico**

Todos los experimentos se llevaron a cabo de acuerdo a los lineamientos éticos estándar para la investigación del dolor en animales (IASP, 1983).

### **Población.**

Se utilizaron ratas Wistar machos (180 a 220 gr), que se mantuvieron con agua y alimento ad libitum se manipularon después de tres días para que se adaptaran, estas fueron donadas por el Instituto de Investigación de la UMSNH.

### **Formación de grupos.**

Los animales fueron divididos aleatoriamente en 3 grupos de 10 animales con tres tratamientos diferentes.

- Grupo 1: Ratas que se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% (Foto 2) y se les administró tópicamente base de gel con resina de capsicum tradicional al 0.025%.
- Grupo 2: Ratas que se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% (Foto 2) y se les administró tópicamente base de gel con resina de capsicum liposomal al 0.025%.
- Grupo 3: Ratas que se les inyectó subcutánea 40  $\mu$ l Formalina al 1% (Foto 2) y se les administró tópicamente base de gel con resina de capsicum liposomal al 0.05%.

### **Inducción del dolor.**

Se empleó la prueba de la formalina. Todos los animales se inyectaron con una jeringa de insulina 40  $\mu$ l de formalina al 1% en la superficie dorsal de la pata trasera derecha, después se le aplicó 50 mg de gel (respectivamente) teniendo cuidado de no aplicar en el lugar de inyección (para no lastimar) se percibió si hay inflamación en el lugar de punción. Asimismo a los tres grupos.

### **Evaluación de la actividad antinociceptiva.**

El comportamiento nociceptivo fue evaluado por el número de sacudidas (flinches) de la pata inyectada por minuto, cada 5 minutos hasta completar 90 min., Y los resultados obtenidos se recopilaron para su análisis estadístico. Al finalizar los experimentos las ratas fueron sacrificadas en una cámara de éter.

### **Análisis Estadístico.**

A todos los datos crudos obtenidos se les realizó Estadística descriptiva, como Media, Desviación std., Error std., mediana para elaborar graficas.

De igual forma se realizaron análisis de estadística inferencial como análisis de varianza en rangos de una vía con la prueba de Kruskal-Wallis toda la estadística se efectuó con el programa estadístico Sigma Stat versión 1.0 de Jandel Cientific.

## **RESULTADOS.**

Se realizo un ensayo en pacientes diabéticos en el Hospital Civil de Tacámbaro Michoacán. El gel que aplicó a los pacientes con tintura de *capsicum annuum* agregándose 0.008% al gel liposomal dosis que equivale a una tercera parte de la que se agrego al gel tradicional por tanto resulto ser mas efectivo y tener mayor tiempo de efecto el gel liposomal.

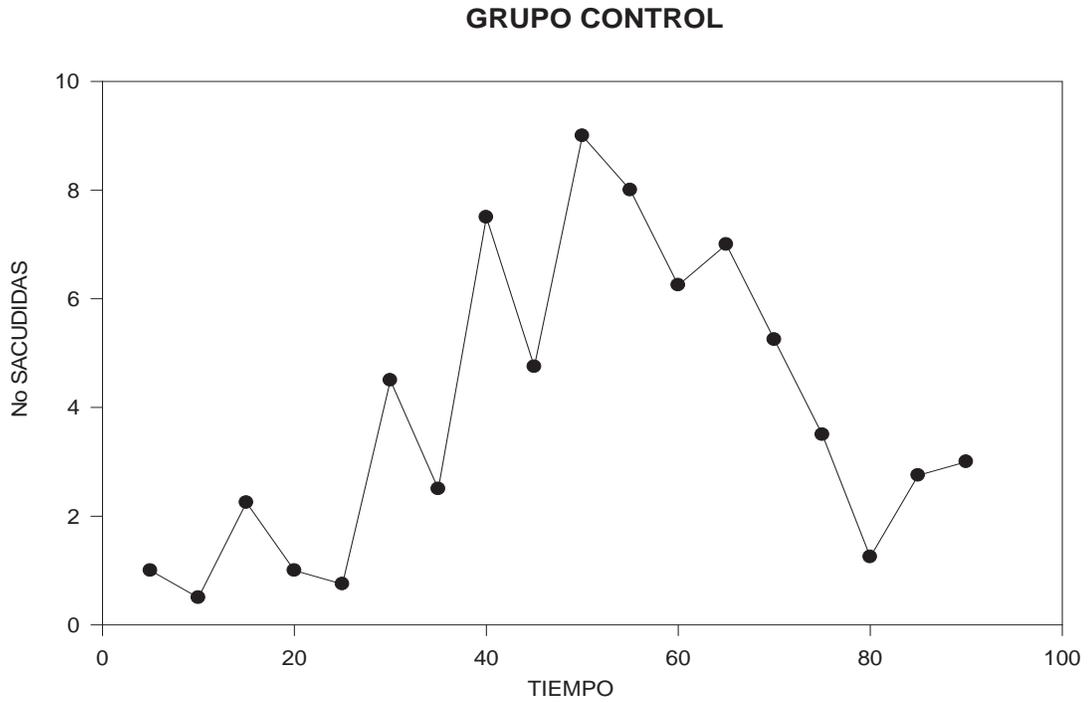
El gel liposomal presenta el efecto analgésico 10 minutos después y en un porcentaje menor que el gel no liposomal, ya que los liposomas liberan lentamente los principios activos, esto confirma el uso del gel liposomal en padecimientos crónicos. Debido a que no se tenía una infraestructura no se pudo tener la población modelo.

Los pacientes al aplicase el gel sentían una mejor untuosidad por los componentes del gel liposomal que fue la lecitina y por lo tanto se tuvo un sesgo en los resultados.

### **Graficas.**

El estudio realizado con la prueba de formalina en ratas reveló las siguientes graficas:

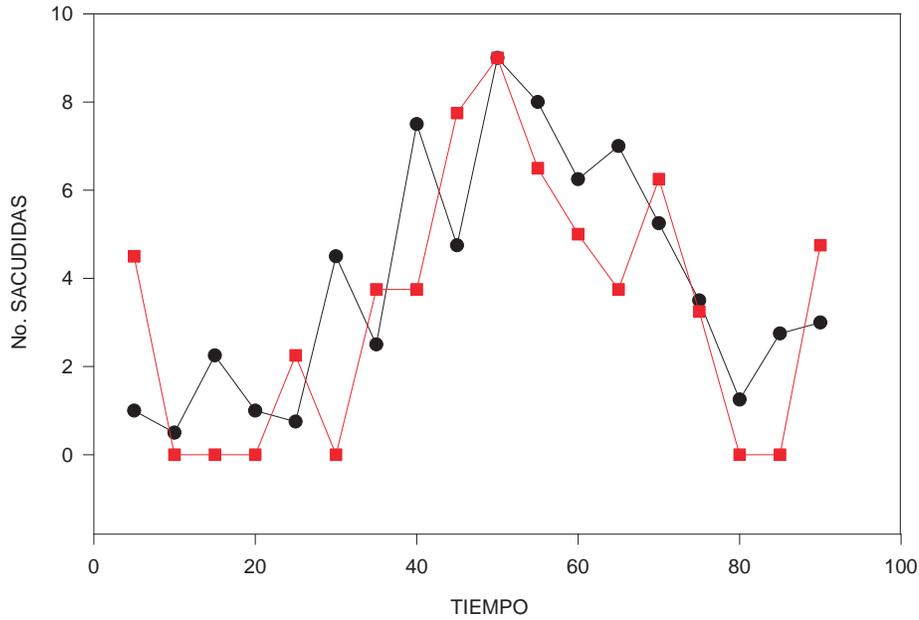
La Grafica 1 muestra un máximo de dolor en el minuto 55 posteriormente hubo un descenso evaluado hasta el minuto 90 lo cual fue registrado como grupo control para después compararlo con los grupos restantes.



Grafica 1: Efecto posterior a la administración de formalina por vía subcutánea en ratas.

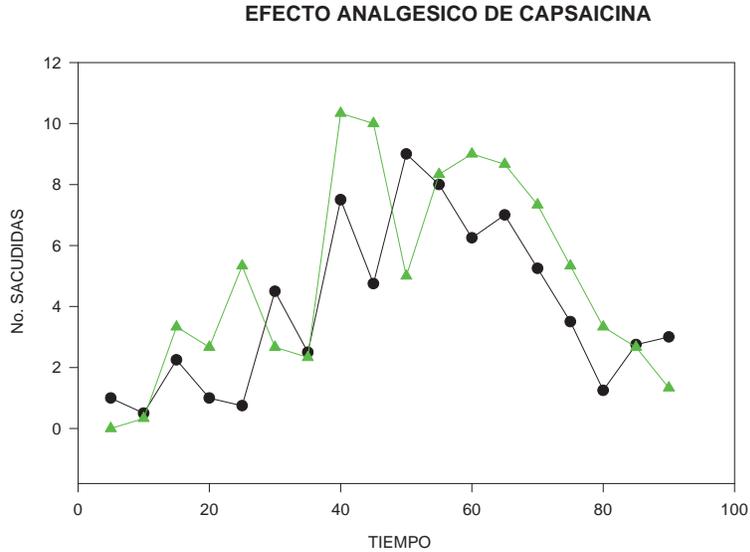
La Grafica 2 muestra el curso temporal de la inflamación (control) contra el efecto analgésico del gel de resina de capsicum tradicional al 0.025% donde observamos que el dolor producido por la formalina tuvo una tendencia a disminuir el dolor después del minuto 55 lo cual tiene un efecto favorable.

### EFFECTO ANALGESICO DE CAPSAICINA



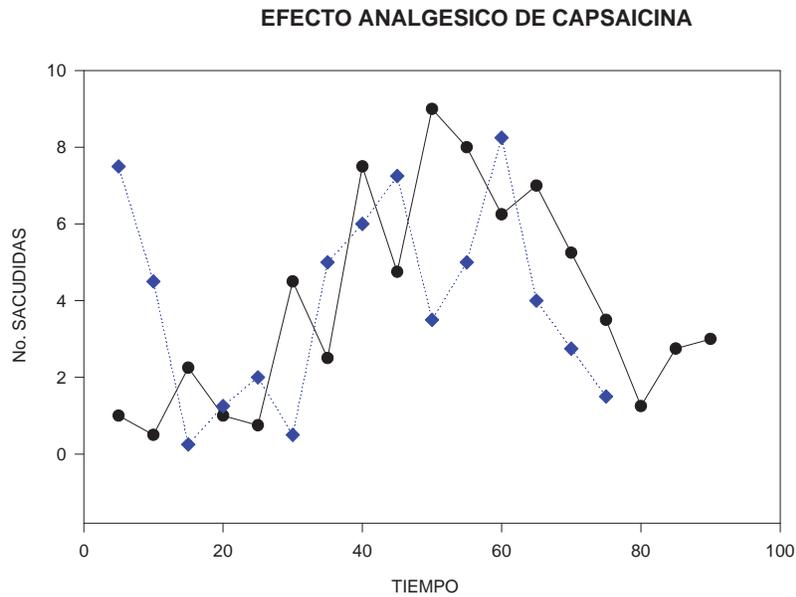
Grafica 2: Control (negro) VS Gel tradicional de resina de capsicum al 0.025% (rojo).

La Grafica 3 muestra el curso temporal de la inflamación (control) contra el efecto analgésico del gel con resina de capsicum liposomal al 0.025% donde observamos que el dolor producido por la formalina tuvo una tendencia a disminuir el dolor después del minuto 65 por lo cual en este comportamiento no hay una diferencia estadísticamente.



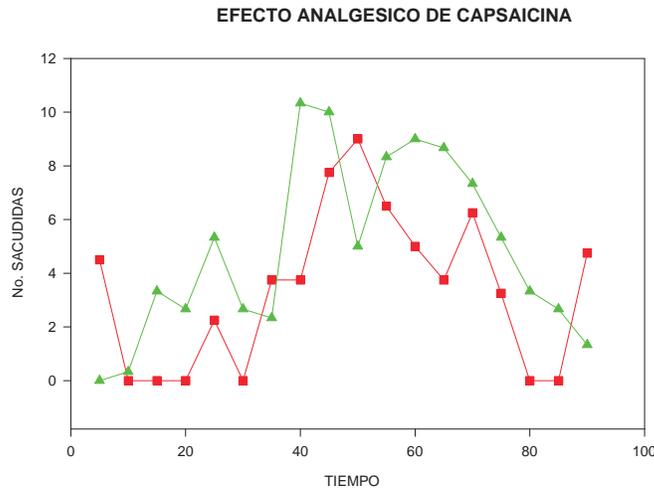
Grafica 3 : Control (negro) VS Gel con resina de capsicum liposomal al 0.025%(verde).

La Grafica 4 muestra el curso temporal de la inflamación (control) contra el efecto analgésico del con resina de capsicum liposomal al 0.05% donde observamos que el dolor producido por la formalina tuvo una tendencia a disminuir el dolor después del minuto 45 por lo cual en este comportamiento tiene un efecto favorable.



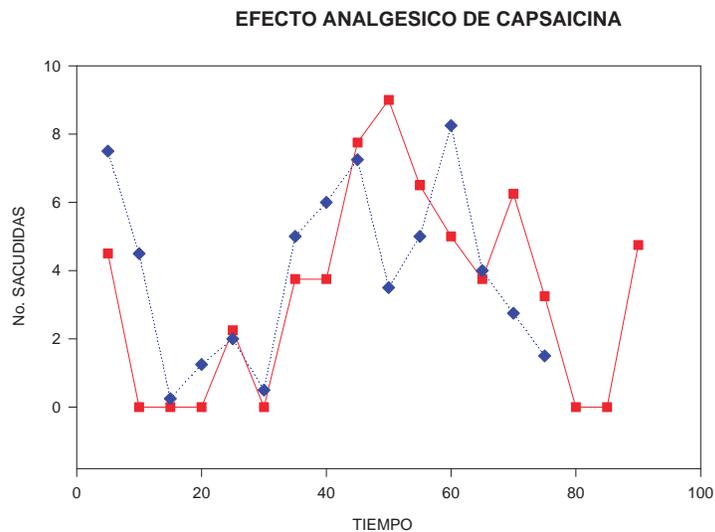
Grafica 4: Control (negro) VS Gel con resina de capsicum liposomal 0.05% (azul).

La Grafica 5 muestra que el gel con resina de capsicum tradicional 0.025% tiene un efecto de disminución del dolor al minuto 50 y el gel con resina de capsicum liposomal 0.025% tiene una disminución de dolor al minuto 45 pero el efecto de disminución de dolor se prolonga por mayor tiempo lo cual tiene mayor tendencia a disminuir el dolor.



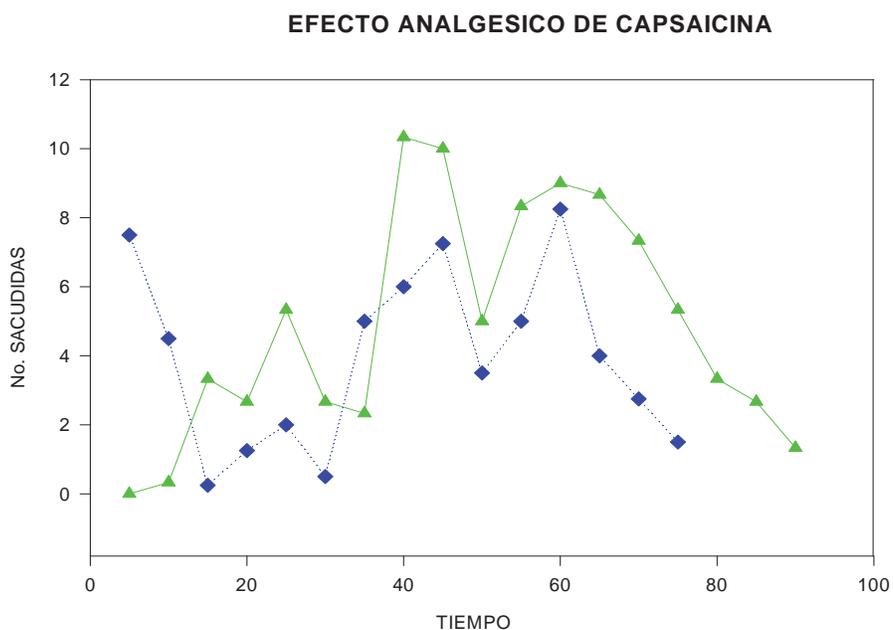
Grafica 5: Gel con resina de capsicum tradicional 0.025% (rojo) VS Gel con resina de capsicum liposomal 0.025% (verde).

La Grafica 6 muestra que el gel con resina de capsicum tradicional 0.025% tiene un efecto de disminución del dolor al minuto 50 y el gel con resina de capsicum liposomal 0.05% tiene una disminución de dolor al minuto 45 el cual tiene una tendencia favorable significativa.



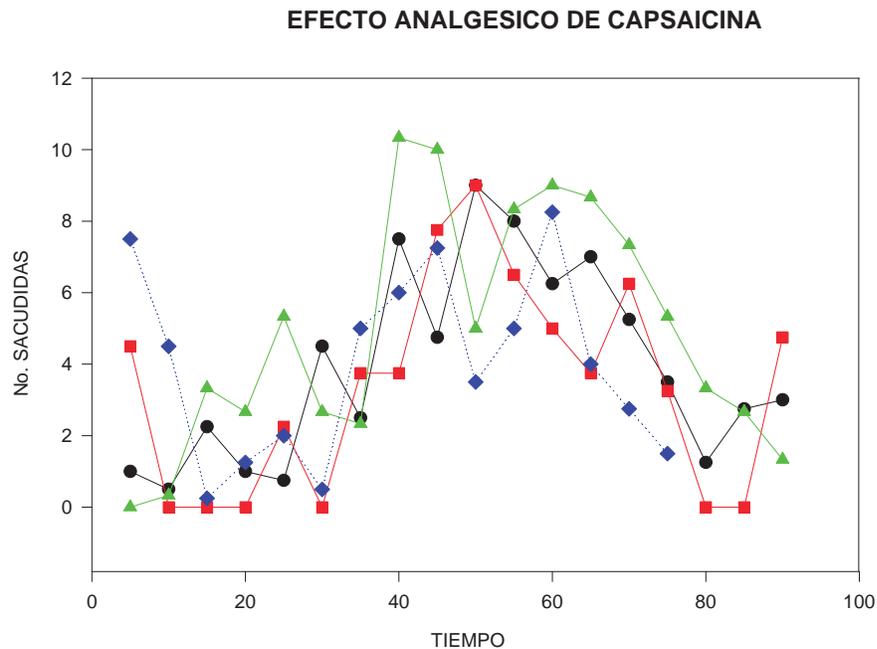
Grafica 6: Gel con resina de capsicum tradicional 0.025% (rojo) VS Gel con resina de capsicum liposomal 0.05% (azul).

La Grafica 7 muestra que el gel con resina de capsicum liposomal 0.025% tiene un efecto de disminución del dolor al minuto 40 pero este tiene un efecto mas prolongado y el gel con resina de capsicum liposomal 0.05% tiene una disminución de dolor al minuto 45 lo cual tiene una tendencia de disminución de dolor en menor tiempo.



Grafica 7: Gel con resina de capsicum liposomal 0.025% (verde) VS Gel con resina de capsicum liposomal 0.05% (azul).

La Grafica 8 muestra los cursos temporales de la inflamación así como el efecto analgésico de cada uno de los grupos tratados estadísticamente no hay una diferencia significativa en varios grupos.



Grafica 8: Control (negro), Gel tradicional de resina de capsicum 0.025% (rojo), Gel con resina de capsicum liposomal 0.025% (verde), Gel con resina de capsicum liposomal 0.05% (azul).

## DISCUSIÓN.

El efecto que tiene la resina de *capsicum annuum* es utilizada como analgésico local, atribuible a los capsaicinoides, la hidrocapsaicina y capsaicina que contiene; el posible mecanismo por el que producen éste efecto se reporta como la estimulación, de las fibras eferentes primarias para liberar sustancia P un neurotransmisor de las fibras C y al estar aplicando por cierto tiempo provoca, lesiones neurotóxicas de las células que contienen sustancia P impidiendo su reposición y por lo tanto hay una depleción de ésta y al no haberla no hay forma para que se perciba el dolor y como la sustancia P esta asociada al inicio de la transmisión del estímulo doloroso y no hay una liberación de esta, el dolor no se percibe.

Al aplicarse la formalina se produce, una sensibilidad de la dermis y epidermis produciéndose el dolor, detectada en una curva sui géneris de la prueba de formalina en ratas, la resina de capsicum disminuye el dolor, en las formas farmacéuticas en las dos concentraciones probadas y aún en la forma farmacéutica no liposomal por los efectos antes mencionados y por lo tanto tiene un aumento en el umbral del dolor lo que se refleja en una disminución del número de patadas que se cuantifican en la rata.

## **CONCLUSIÓN.**

Las formas farmacéuticas liposomales probadas tienen algunos parámetros físicos diferentes con respecto a la forma tradicional, la untuosidad es uno de ellos ya que es mayor en éstas, situación que puede influir en una mayor aceptación de las formas liposomales que la tradicional. En cuanto al efecto farmacológico el estudio probó que el liposoma libera a pulsos el complejo activo sin aumentar el porcentaje de analgesia, cuando la concentración de la resina es la misma, sin embargo la forma liposomal con mayor cantidad de sustancias activas presenta una respuesta analgésica mayor con respecto a la forma tradicional y liposomal de la misma concentración.

## FOTOS.

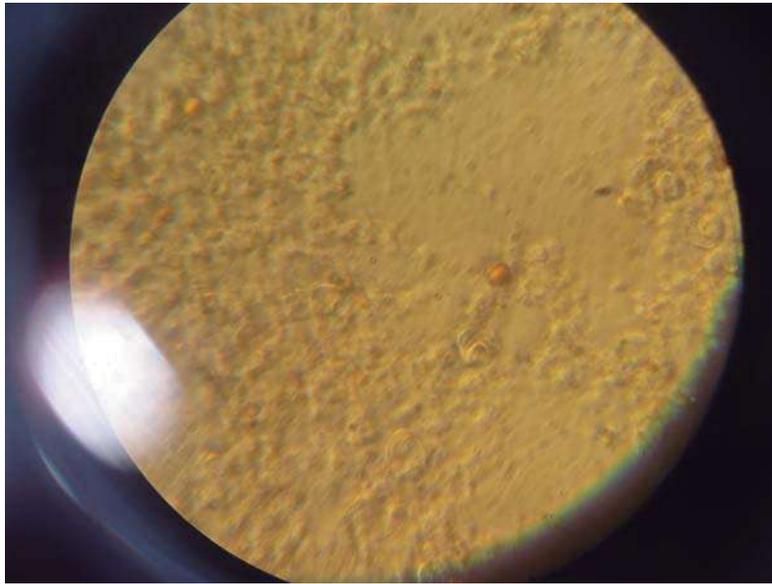


Foto1: Liposomas vistos en microscopio con objetivo de 100X.



Foto 2: Técnica de administración.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. **Miguel Ángel Reyes;** Monografías del Dolor, Thomson PLM S.A. de C.V. México D.F. 2005;pp:18-21,23.
2. **Gerard J. Tortura Nicholas P. Anagnostakos;** Principios de Anatomía y Fisiología 6ª ed. Ed Harla, México D.F. 1993: pp 476-477,507.
3. **Baños Diez J.E, Bosch Llonch F;** El futuro de la Farmacología analgésica mas alla de los opioides y de los AINES, Departamento de Ciencias Experimentales y de Salud Universitat Pompeu Fabra Capitulo XX pp:251-274.
4. **Goodman and Gilman;** Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica, 10ª ed. Ed Mc Graw Hill, México D.F. 2003: Vol.1, pp:124, 577, 588
5. **Vidal M. A., Calderón, E. Román, D et al;** Capsaicina tópica en el tratamiento del dolor neuropático, Rev. Soc. Esp. Dolor. Vol 11, no.5, jul. 2004; pp:306-318.
6. **Alpizar Lara, Trujillo A. J., Herrera Rodríguez F.J.;** Determinación de Capsaicinoides en Chile Habanero (capsicum chinese) colectados en Yucatán Univ. Autónoma de Yucatán, Facultad de Química CIRSE-INIFAP-CEUXMAL.
7. **Guillermo Murray Prisant;** “El poder curativo de los chiles” Ed. Selector, México DF, Abril 2000; pp:80.
8. **Dra. Irma Zarco Padrón de Coronado;** “La capsaicina del molcajete al cerebro” Departamento de Fisiología Facultad de Medicina UNAM. Cuadernos de Nutrición Vol.27, Núm 2, 2/Marzo/Abril 2004. México D.F.

9. **A. O. Vila, C. Rodríguez-Flores, F. Molina, J. Figueruelo;** Máster Internacional en Formas Farmacéuticas Liposomales Unidad 8 Técnicas experimentales básicas. España 2000.
10. **Smith/Reynard;** Farmacología Ed. Medica Panamericana México D.F. 1998; pp: 368-371
11. **Jesús Flores;** Farmacología Humana 3<sup>a</sup> ed. Ed. Masson S.A. Barcelona, 2001:424-425,1260,295-296, 1225.
12. **Alfonso R. Gennaro;** Remington Farmacia 20<sup>a</sup> ed. Ed. Panamericana, Argentina 2003: Tomo 1 y 2; 943, 1716,1728-1729, 2119.
13. **Alicia C. López Castellano, Lucrecia Moreno Royo, Victoria Villagrasa Sebastián;** Manual de Farmacología; Ed Elseiver, Madrid España; 2006: pp.242
14. **Vidal Fuentes, Tornero Molina;** Enfermedades del Sistema inmune, Tratamiento analgésico en la patología del aparato locomotor” Sección de Reumatología. Hospital General Universitario de Guadalajara.
15. **Robert Berkow, Andrew J. Fletcher;** El Manual Merck; 9<sup>a</sup> ed, Ed Harcourt Brace, Madrid España; 1998: pp.1568-1569.
16. **Loeser JD , Melzack R;** Pain an overview. Lancet 1999; 353: 1607-09.
17. **Carr DB , Goudas LC;** Acute pain. Lancet 1999; 353: 2051-58.

18. **Ashburn MI, Staats PS**; Management of chronic pain. Lancet 2001;357: 1865.
19. **Cerveró F, Laird JMA . A Aliaga L . Baños JE, Barutell C te a el ( eds ).** Fisiología del dolor, Tratamiento del dolor, Teoría y Práctica. Barcelona, MCR 1995: 9-25.
20. [http://www.tsa.org/public\\_resources/pain\\_management\\_sp.html](http://www.tsa.org/public_resources/pain_management_sp.html)
21. **Alberto Herreros de Tejada**; Serie Medicamentos Esenciales y Tecnología, División de Sistemas y Servicios De Salud, Organización Panamericana de la Salud, Organización Mundial de la Salud, 5.7 Guía para el Desarrollo de Servicios Farmacéuticos Hospitalarios: Formulaciones Magistrales, Madrid, España, Octubre, 1997: 20-21.
22. **Penélope Ody**, Las Plantas Medicinales, 4ª ed. Ed. Dorling Kindersley Book, 1993: 6.
23. **Secretaria de Salud**, Farmacopea Herbolaria de los Estados Unidos Mexicanos, Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 1ª ed. México. 2001:15
24. J.A.F. Tresguerras, Fisiología Humana, 2ª ed. Ed. McGraw Hill Interamericana, España, 1999:88.
25. **E. Chicharro Luna, A.I. Chicharro Luna, M.J. Bustos García**; “Neuropatía Diabética” El Peu 2002; 22(4) : 186-191
26. Markovits E, Glihar A. Capsaicin. Int J Dermatol 1997; 36: 401-404.

27. [http://www.puritan.com/vf/healthnotes/HN\\_Live/Spanish/Es-Concern /Diabetes.htm](http://www.puritan.com/vf/healthnotes/HN_Live/Spanish/Es-Concern /Diabetes.htm)

28. [http://servicios.laverdad.es/cienciaysalud/5\\_1\\_4.html](http://servicios.laverdad.es/cienciaysalud/5_1_4.html)

29. <http://www.infodoctor.org/dolor/CP063.html>

30. **Yayeh Zewdie, Paul W. Bosland;** Capsaicinoids profiles are not good chemotaxonomic indicators for Capsicum species, Biochemical Systematics and Ecology Vol.29, 2001: 161-169.

31. [http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.go\\_fulltext \\_o\\_ resumen? esadmin=si&pident=12003536](http://db.doyma.es/cgi-bin/wdbcgi.exe/doyma/mrevista.go_fulltext _o_ resumen? esadmin=si&pident=12003536)

32. [http://www.abcmedicus.com/articulo/medicos/2/id/218/pagina/2/dolor\\_cronico\\_ning un.html](http://www.abcmedicus.com/articulo/medicos/2/id/218/pagina/2/dolor_cronico_ning un.html)

33. Luis Martoll Calatayud, Berta García Calayud, Miguel Peñarrocha Diago; Actualización en el tratamiento del dolor orofacial, Medicina y Patología Oral, Med Oral, Vol. 9, 2004; 293-9.