

# Nanotecnología: innovación farmacéutica en sistemas de liberación oftálmicos

## Nanotechnology: pharmaceutical innovation in ophthalmic drug delivery systems

ISABEL C ANDUEZA G<sup>1</sup>

### Resumen

Los productos oftálmicos destinados a las enfermedades crónicas son de suma importancia puesto que su administración tiene el inconveniente de alcanzar concentraciones efectivas de ingredientes activos en la circulación sistémica, causando efectos secundarios no deseados. Esto es debido a que el ojo cuenta con eficientes barreras y fluidos protectores que impiden el fácil acceso de los compuestos. Es por ello que en la actualidad se ha evaluado la aplicación de la nanotecnología farmacéutica en oftalmología, la cual involucra la preparación y liberación de sustancias terapéuticas ultra pequeñas, en un rango de tamaño molecular o nanométrico, en el sitio específico de acción, sin afectar órganos y tejidos sanos. Recientes investigaciones han creado estos sistemas considerando la asociación de múltiples parámetros tecnológicos, bioquímicos y fisiológicos que mejoren la biodisponibilidad de los fármacos y disminuyan tanto frecuencia de administración como sus efectos adversos. El desarrollo de nanopartículas poliméricas bioadhesivas con quitosano como transportador tópico a nivel ocular empleando la técnica de gelificación iónica, ha sido aplicada para la elaboración de un nanosistema de liberación de fármaco oftálmico donde su implementación requirió de un cuidadoso estudio de las condiciones, criterios y control de procesos que se describen en este artículo en pro de contribuir con su divulgación para futuros desarrollos de las formulaciones farmacéuticas.

**Palabras claves:** nanopartículas, polimérica, quitosano, oftálmico, gelificación iónica

### Abstract

Ophthalmological products to treat chronic diseases are of paramount importance. Their administration has the disadvantage of reaching effective concentrations of active ingredients in the systemic blood circulation, implying side effects. This is because the eye has efficient barriers and protective fluids that prevent easy access to the compounds. Because of this, application of pharmaceutical nanotechnology in ophthalmology has been considered; these involve the preparation and delivery of minuscule therapeutic substances that go from a molecular to a nanometric size, without affecting organs or healthy tissue on the application site. Recent research has created this type of system by analyzing the interconnection of different technological, biological, and physiological parameters. This has resulted in development in the availability of drugs and the decrease in the frequency of administration and side effects. Bio-adhesive polymeric nanoparticles that include chitosan as means of topical carriage for the eye, and employs ionic gelling technique, has been developed. These nanoparticles have been used to elaborate on a nanodelivery system for ophthalmological drugs. The implementation of this formulation required a careful study of the conditions, criteria, and control of the process described in this article, which has the purpose of contributing to its diffusion for future development in pharmaceutical formulations.

**Key words:** nanoparticles, polymeric, chitosan, ophthalmic, ionic gelation

<sup>1</sup> Unidad de Formulación, Caracterización y Optimización. Instituto Investigaciones Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, UCV. Venezuela

\* Correspondencia: isabel.andueza@hotmail.es; isabel.andueza@ucv.ve

## Introducción

La nanociencia y la nanotecnología son la base de técnicas innovadoras para el transporte de fármacos con beneficios potenciales para el paciente. El desarrollo de nuevos sistemas de transporte y liberación controlada de moléculas con actividad terapéutica, es en la actualidad uno de los temas en que se centra la investigación farmacéutica que ha generado avances en el desarrollo para el cuidado de la salud y la vida humana (Madrigal-Carballo y col., 2007; Koopaei y Abdollahi, 2016).

Ha sido difícil entre los expertos llegar a una definición consensuada acerca de la nanotecnología, sin embargo, se puede decir que es una ciencia que abarca productos, procesos y propiedades a una escala nano/micrométrica, en donde la física, la química y la biología convergen para crearla (Lizarazo y col., 2018).

Una de las definiciones más conocida, es la que ha usado la Iniciativa Nacional de Nanotecnología de los Estados Unidos, que la define como la investigación y desarrollo a nivel atómico, molecular o macromolecular en un rango por debajo de 100 nm (1-100 nm), con el fin de crear estructuras, dispositivos y sistemas, que tengan nuevas propiedades funcionales. A este nivel, los investigadores pueden manipular los átomos y crear materiales (nanomateriales) con propiedades modificadas (Roco, 2011; Kargozar y Mozafari, 2018).

Considerando que los sistemas biológicos interactúan con su medio ambiente a través de moléculas y estructuras multimoleculares que ope-

ran en escala nanométrica, es fácil comprender por qué la nanotecnología tiene tanto potencial en el área de la medicina, en los productos farmacéuticos y en la biotecnología, donde se emplean biomateriales para mejorar los sistemas de liberación de fármacos, en el tratamiento de enfermedades como las metabólicas, genéticas, el cáncer y así como también en el desarrollo de equipos más eficientes de imágenes y diagnóstico (Timmermans y col., 2011; Koopaei y Abdollahi, 2016). Más aun, ha surgido un campo denominado nanoteradiagnóstico que contiene en una misma formulación, nanomedicamentos con un agente de diagnóstico y el ingrediente activo terapéutico con la finalidad de monitorear el tratamiento *in vivo* (Koopaei y Abdollahi, 2016).

Dentro de la investigación y desarrollo de los productos farmacéuticos, la nanofarmacia implica la preparación y liberación de medicamentos o sustancias terapéuticas ultra pequeñas, en un rango de tamaño molecular o nanométrico (preferiblemente entre 1-100 nm), en el sitio específico de acción del cuerpo humano, sin afectar órganos y tejidos sanos (Brayden, 2003; Koo y col., 2005, Abdifetah y Na-Bangchang, 2019). Este tamaño tan pequeño penetra en los tejidos, facilitando la captación del fármaco dentro de las células favoreciendo su liberación y asegurando su efecto terapéutico en un sitio específico destinado para ello. Así mismo, la nanoestructura favorece una mayor absorción si se compara con el mismo fármaco convencional con tamaños de partícula superiores que pueden oscilar entre 1 y 10  $\mu\text{m}$  (Patra y col., 2018). Como es sabido, el 95% de los fármacos descubiertos reciente-

mente, presentan pobres propiedades farmacocinéticas y de biodisponibilidad (Brayden, 2003; Koo y col., 2005; Abdifetah y Na-Bangchang, 2019), por lo que el objetivo primordial de la nanotecnología farmacéutica, es mejorar la farmacocinética, la farmacodinámica, la toxicidad no específica, la inmunogenicidad y el bioreconocimiento de los sistemas, a fin de obtener una eficacia máxima y un mínimo de efectos secundarios. Para poder lograr esto se deben considerar parámetros como: el fármaco, la formulación, ruta de administración y lugar específico de acción. Una de las aplicaciones de la nanotecnología farmacéutica que más promete, es la encapsulación de compuestos activos terapéuticos, para direccionar y localizar el sistema de administración de fármacos a un lugar estimado (Koo y col., 2005; Shengyan y col., 2016; Kargozar y Mozafari, 2018).

Por otro lado, la nanofarmacia también se ha enfocado en la síntesis de nanofármacos, que se definen como "...sistemas complejos de escala nanométrica constituidos al menos por dos componentes, siendo uno de ellos el agente bioactivo..." (Madrigal-Carballo y col., 2007). El objetivo ideal que se quiere alcanzar con ellos, es lograr una estructura química distintiva que se ajuste de forma perfecta con un único blanco farmacológico aportando actividad terapéutica sin toxicidad (Madrigal-Carballo y col., 2007). Esta revisión proporciona algunas consideraciones importantes que se deben tomar en cuenta para la elaboración de los sistemas de liberación de aplicación oftálmica, especialmente la experiencia adquirida en la formación de nanopartículas poliméricas por el método de gelificación iónica. Esta información podría contribuir en el

diseño de futuros estudios para el desarrollo de nuevas formulaciones de ingredientes activos terapéuticos destinados a ser instilados en el ojo.

#### **PRINCIPALES RETOS Y OBSTÁCULOS PARA LA ADMINISTRACIÓN OCULAR**

En cuanto a la terapia ocular, las barreras anatómicas y el mecanismo de depuración fisiológico en la superficie ocular, han presentado enormes retos para el desarrollo de productos de liberación. El ojo, un órgano tan importante para interpretar el medio ambiente a través de la visión, es un órgano pequeño y muy complejo que está protegido y separado del resto de cuerpo humano a través de múltiples barreras biológicas. Adicionalmente, las estructuras oculares internas y los tejidos, se protegen del entorno por una fuerte unión con el epitelio corneal y la superficie mucosal. Es por ello que para lograr niveles terapéuticos es necesario atravesar estas barreras protectoras del ojo a fin de alcanzar los tejidos intraoculares. La ventaja de la administración localizada en el ojo es que el fármaco y su elevada concentración para alcanzar los niveles terapéuticos, no circula primeramente por todo organismo pudiendo causarle efectos indeseados. Técnicas invasivas como la inyección intravítrea o periocular, se han desarrollado para mejorar la biodisponibilidad ocular de los fármacos en el segmento posterior, sin embargo, con ellas se corre el riesgo de afectar la visión mediante la aparición de hemorragias intravítreas y desprendimiento de la retina. Del mismo modo, la administración frecuente de fármacos oftálmicos bajo la forma de colirio en algunas terapias crónicas, han causado daños a nivel corneal y efectos adversos como resultado de alcanzar la

circulación sistémica a través de su eliminación por el conducto nasolagrimal (Nagai e Ito, 2014). Es entonces donde se necesitan sistemas eficaces y menos invasivos que proporcionen fármacos de liberación controlada que mejoren la permeabilidad y seguridad en esos tejidos (Jager y col., 2004; Shengyan y col., 2016).

#### SISTEMAS DE LIBERACIÓN OCULAR

Un gran número de estudios han demostrado que el uso de la nanotecnología en los colirios, es una oportunidad para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos por esta vía y disminuir la depuración precorneal, ya que favorece su permeabilidad en el ojo debido a su pequeño tamaño y alta capacidad de difundir a través del epitelio corneal. Igualmente, la elevada relación entre el área de superficie versus el volumen de estas nanoformulaciones, permite una buena interacción con la membrana mucosal, prolongando el tiempo de contacto y permitiendo que el ingrediente activo se encuentre más disponible para ser absorbido. Esto contribuiría con una menor frecuencia de administración del colirio, debido a la alta concentración retenida del ingrediente activo en la superficie ocular y como consecuencia una posible disminución de los costos del producto (Shengyan y col., 2016).

Otro aspecto fundamental a considerar en las formulaciones dirigidas para la terapia del ojo, es el desarrollo de sistemas bioadhesivos que proporcionen la adherencia y retención necesaria, mediante el empleo de biopolímeros. Los nanosistemas bioadhesivos pueden maximizar la absorción de los fármacos oculares

contribuyendo a prolongar el tiempo de residencia, minimizando la depuración y el metabolismo enzimático precorneal (Nakhlband y Barar, 2011; Shegyan y col., 2016). Estudios *in vitro* de las propiedades adhesivas de mezclas poliméricas entre el escleroglucano, dextrano y quitosano, han contribuido a mejorar la efectividad del tratamiento y predecir su posible comportamiento *in vivo* dentro de las mucosas (Andueza y col., 2018; Vieira y Andueza, 2018).

En consecuencia, las nanoformulaciones oftálmicas deben tomar en cuenta las siguientes características: Prolongar la acción del fármaco mediante la liberación sostenida del ingrediente activo farmacéutico, liberarlo en el sitio específico que favorezca su absorción protegiéndolo de la degradación enzimática o química, conseguir la pauta posológica óptima que permita una administración más cómoda reduciendo las instilaciones por día, disminuyendo así el riesgo de efectos no deseados (secundarios y tóxicos) (Mérida, 2018).

#### QUITOSANO

En la búsqueda de técnicas más efectivas y eficientes, estudios más recientes se han inclinado hacia el empleo de macromoléculas para el desarrollo de sistemas de liberación. Macromoléculas tanto naturales como sintéticas, anticuerpos, lipoproteínas, proteínas, polipéptidos y polisacáridos han ofrecido potenciales ventajas como transportadores de compuestos con actividad terapéutica.

Nuestra experiencia en el desarrollo de sistemas dispersos y nanoparticulados de aplicación oftálmica se ha dirigido al empleo de diferentes

polímeros biodegradables entre los que se encuentra el quitosano (Andueza y Hochhaus, 2013; Andueza y col., 2018; Vieira y Andueza, 2018). Este se obtiene por desacetilación de la quitina, un polisacárido que se encuentra en grandes cantidades en los crustáceos marinos. Su estructura es similar a la celulosa, a diferencia que cada monosacárido posee grupos amino. Tiene como ventaja que a pH ácido estos grupos se protonan confiriéndole una buena solubilidad en agua, vehículo fundamental para estas formulaciones. Asimismo, se ha utilizado para la formación de posibles sistemas de liberación (Agnihotri y col., 2004; Gómez-Gaete y col., 2007; Andueza, 2012).

Del mismo modo, sus características le permiten al quitosano interactuar en los ambientes biológicos con macromoléculas cargadas negativamente como es la mucina corneal, uniéndose fuertemente a ellas y trayendo como resultado la prolongación del tiempo de residencia y una mejor biodisponibilidad del ingrediente activo farmacéutico en los colirios (Gorantla y col., 2020). Esta carga superficial se ha demostrado en estudios realizados con nanopartículas de quitosano (Andueza y Hochhaus, 2013; Li y col., 2018; Gorantla y col., 2020).

#### GELIFICACIÓN IÓNICA

Para la elaboración de las nanopartículas poliméricas como sistema transportador, se han desarrollado diferentes metodologías entre las que se encuentra la de *Bottom-Up* (palabra compuesta del inglés) conocido como "autoensamblado" o "nanotecnología molecular", que involucra en la fabricación un proceso de ensamblaje

de los componentes en solución para formar estructuras definidas que en este caso serían las nanopartículas (Grenha, 2012). En su elaboración predominan diferentes fuerzas como las interacciones hidrofóbicas, fuerzas de Van der Waals, puentes de hidrógeno e interacciones iónicas. Estas técnicas por lo general presentan el inconveniente de obtener mucha variación en los tamaños de las partículas (partículas polidispersas), lo que es un reto lograr uniformidad en la distribución del tamaño entre las partículas (Nagai e Ito, 2014; Kargozar y Mozafari, 2018).

La gelificación iónica es una técnica enmarcada dentro de esta metodología. Se basa en la formación de complejos debido a la atracción de electrostáticas, originando partículas insolubles en medio acuoso. La carga positiva del grupo amino del quitosano en solución produce interacciones iónicas (inter e intramoleculares) con la carga negativa de la solución de un polianión como el tripolifosfato sódico (TPP), produciendo un cambio de estado líquido a gel, dando como resultado la formación de las nanopartículas (Calvo y col., 1997a,b; Csaba y col., 2009; Grenha, 2012; Catur y col., 2019; Shafiei y col., 2019). Esta técnica fue empleada en el desarrollo y evaluación de un nanosistema de liberación de un fármaco oftálmico donde su implementación requirió de un cuidadoso estudio de las condiciones, criterios y control de procesos que se sintetizan a continuación en pro de contribuir con su divulgación para futuros desarrollos de otras formulaciones farmacéuticas que así lo requieran (Andueza, 2012):

#### QUITOSANO (Qs)

o El grado de desacetilación, peso molecular y la viscosidad tienen

influencia en la eficacia de encapsulación y velocidad de liberación.

- o Concentraciones bajas (1-3 mg/mL) y la regulación del pH ácido (5,0-5,5) de la solución, promueve una encapsulación satisfactoria del ingrediente activo.

### **TPP**

- o El pH de la solución de TPP entre 4 y 8, beneficia los atributos de las nanopartículas de quitosano, sin embargo, prepararla y mantenerla a pH ácido ( $\leq 5$ ) con una solución amortiguadora, desplaza su equilibrio de disociación hacia la formación de mayor proporción de iones fosfóricos ( $P_3O_5^-$ ) que interactúa con el grupo amino del quitosano predominando en la reacción la interacción iónica y favorece la formación de las partículas.

### **CONDICIONES DE LA SÍNTESIS**

- o El añadido lento y constante de las soluciones (0,5 mL/min), el pH ácido del medio donde ocurre la reacción (5,0-5,5), el control de la temperatura (4-5°C) y el tiempo del entrecruzamiento (3 - 7 horas), son de suma importancia, a fin de obtener partículas homogéneas y completamente formadas.
- o La proporción de los reactantes Qs:TPP entre 3:1 - 6:1 es fundamental en el tamaño de las partículas obtenidas. Relaciones cercanas a 3:1, logran producir estructuras sólidas nanométricas de alto rendimiento que favorecen la encapsulación de macromoléculas (**Figura 1**).

### **PURIFICACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS**

- o El proceso de diálisis es un método lento y suave que tiende a disminuir los problemas de formación de

agregados y posterior redispersabilidad de las nanopartículas en medio ácido.

### **SECADO POR ATOMIZACIÓN**

- o La posterior atomización y secado de las nanopartículas purificadas, produce partículas sólidas dispersas.
- o La atomización de finas gotas con aire nebulizado, reduce el tamaño de las partículas tendiendo a una distribución unimodal.
- o La incorporación a la mezcla líquida purificada de un agente dispersante (lactosa o manitol) que englobe las partículas durante este proceso, favorece su separación y disminuye el fenómeno de agregación (**Figura 2**).

## **Conclusión**

La elaboración de los productos para las patologías crónicas en el ojo es un nuevo desafío en la investigación de los sistemas de liberación oftálmicos. La nanotecnología ha abierto en este campo un abanico de posibilidades con el objetivo fundamental de vectorizar los

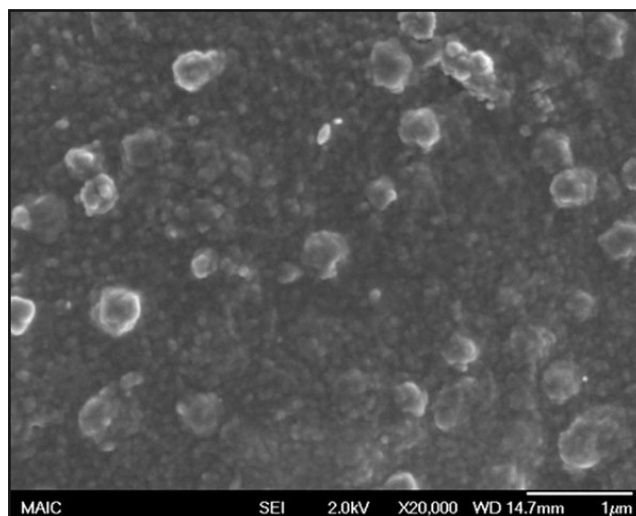


Figura 1. Micrografías (MEB) de  $NPs_{Qs}$  sin el añadido del agente dispersante.

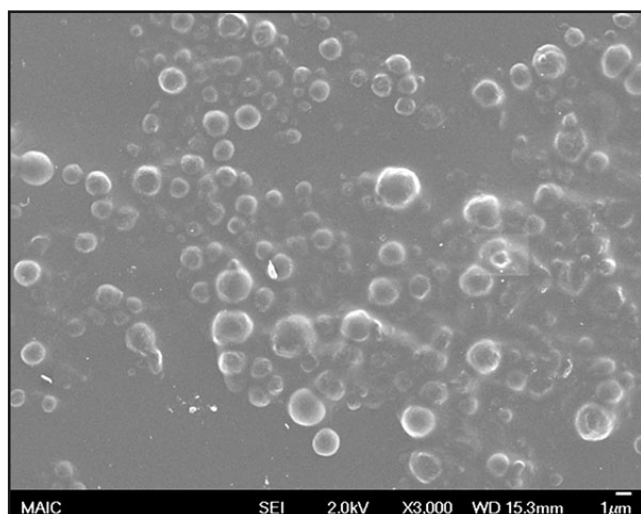


Figura 2. Micrografías (MEB) de NPs<sub>Qs</sub> secadas por atomización, con el añadido del agente dispersante.

ingredientes activos farmacéuticos hacia los tejidos oculares específicos, mejorando la biodisponibilidad, prolongando la concentración efectiva y disminuyendo los efectos adversos entre otros beneficios. El desarrollo de formulaciones con nanopartículas poliméricas, mucoadhesivas y biodegradables es una alternativa innovadora para estos tratamientos, en donde el estudio de nuevos materiales, asociaciones de técnicas para su elaboración y estrictos controles de procesos, contribuyen con la obtención de partículas con características deseadas en cuanto a forma, distribución de tamaño, carga superficial y liberación controlada del fármaco principalmente. Por lo tanto, estos avances podrían proporcionar rutas útiles y prometedoras para la generación de novedosos sistemas de liberación nanopartículas efectivas y seguras a nivel ocular.

## Referencias bibliográficas

- Abdifetah O, Na-Bangchang K. 2019. Pharmacokinetic studies of nanoparticles as a delivery system for conventional drugs and herb-derived compounds for cancer therapy: a systematic review. *Int J Nanomedicine* 14: 5659–5677.
- Agnihotri S, Mallikarjuna N, Aminabhavi T. 2004. Recent advances on chitosan-based micro- and nanoparticles in drug delivery. *J Control Release* 100(1): 5–28.
- Andueza I. Desarrollo de un Nanosistema para la liberación de Fármacos intravítreo. Tesis Doctoral. Universidad Central de Venezuela, Caracas, 2012.
- Andueza I, Calo K, Vieira M. 2018. Preparación y evaluación *in vitro* de las propiedades mucoadhesivas para dispersiones de Escleroglucano/Dextrano y Escleroglucano/Quitosano. *Rev Fac Farm UCV* 81(1 y 2): 90–98.
- Andueza I, Hochhaus G. 2013. Nanosistema Dextrano/Quitosano con potencial aplicación oftalmológica. *Rev Fac Farm UCV* 76(1 y 2): 50–57.
- Brayden D. 2003. Controlled release technologies for drug delivery. *Drug Discov Today* 8(21): 976–978.
- Calvo P, Remuñán-López C, Vila-Jato J, Alonso M. 1997a. Chitosan and chitosan/ethylene oxide-propylene oxide block copolymer nanoparticles as novel carriers for proteins and vaccines. *Pharm Res* 14(10): 1431–1436.
- Calvo P, Remuñán-López C, Vila-Jato J, Alonso M. 1997b. Novel hydrophilic chitosan-polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *J Appl Polymer Sci* 63(1): 125–132.
- Catur F, Nurulita I, Djauzi S, Sadikin M, Budi A, Yamazaki T. 2019. Preparation, characterization and evaluation of chitosan-based nanoparticles as CpG ODN carriers. *Biotechnol Biotechnol Equip* 33(1): 390–396.
- Csaba N, Köping-Höggård M, Alfonso M. 2009. Ionically crosslinked chitosan/tripolyphosphate nanoparticles for oligonucleotide and plasmid DNA delivery. *Int J Pharm* 382(1-2): 205–214.
- Gómez-Gaete C, Tsapis N, Besnard M, Bochet A, Fattal E. 2007. Encapsulation of dexamethasone into biodegradable polymeric nanoparticles. *Int J Pharm* 331(2): 153–159.
- Gorantla S, Krishna V, Waghule T, Prakash P, Kumar S, Saha R, Singhvi G. 2020. Nanocarriers for ocular

- drug delivery: current status and translational opportunity. *RSC Adv* 10: 27835–27855.
- Grenha A. 2012. Chitosan nanoparticles: A survey of preparation methods. *J Drug Target* 20(4): 291–300.
- Jager R, Aiello L, Patel S, Cunningham E Jr. 2004. Risks of intravitreal injection: a comprehensive review. *Retina* 24(5): 676–698.
- Kargozar S, Mozafari M. 2018. Nanotechnology and Nanomedicine: Start small, think big. *Mater Today* 5(7): 15492–15500.
- Koo O, Rubinstein I, Onyuksel H. 2005. Role of nanotechnology in targeted drug delivery and imaging: a concise review. *Nanomedicine* 1(3): 193–212.
- Koopaei N, Abdollahi M. 2016. Opportunities and obstacles to the development of nanopharmaceuticals for human use. *Daru J Pharm Sci* 24(23): 2–6.
- Li J, Tian S, Tao Q, Zhao Y, Gui R, Yang F, Zang L, Chen Y, Ping Q, Hou D. 2018. Montmorillonite/chitosan nanoparticles as a novel controlled-release topical ophthalmic delivery system for the treatment of glaucoma. *Int J Nanomedicine* 13: 3975–3987.
- Lizarazo C, González E, Arias C, Guarguati J. 2018. Nanomateriales: un acercamiento a lo básico. *Med Segur Trab* 64(251): 109–118.
- Madrigal-Carballo S, Porrás G, Esquivel M, Vega-Baudrit J, Sibaja M, Tamborero S, Vicent M. 2007. Conjugados poliméricos y su utilización como Nanomedicinas anticancerígenas. *Rev Iberoamer Polim* 8(5): 374–390.
- Mérida N. Sistemas portadores de fármacos oculares basados en nanomateriales. Trabajo final de grado en optometría. Universidad Politécnica de Cataluña, Barcelona, España, 2018.
- Nagai N, Ito Y. 2014. A new preparation method for ophthalmic drug nanoparticles. *Pharm Anal Acta* 5(7): 1–4.
- Nakhlband A, Barar J. 2011. Impacts of nanomedicines in ocular pharmacotherapy. *BiolImpacts* 1(1): 7–22.
- Patra J, Das G, Fernandes L, Ramos E, Rodriguez M, Acosta L, Diaz L, Grillo R, Swamy M, Sharma S, Habtemariam S, Shin H. 2018. Nano based drug delivery systems: recent developments and future prospects. *J Nanobiotechnol* 16(1): 71.
- Roco M. 2011. The long view of nanotechnology development: The National Initiative at 10 years. *J Nanopart Res* 13(2): 427–445.
- Shafei M, Jafarizadeh-Malmiri H, Rezaei M. 2019. Biological activities of chitosan and prepared chitosan-tripolyphosphate nanoparticles using ionic gelation method against various pathogenic bacteria and fungi strains. *Biologia* 74: 1561–1568.
- Liu S, Jones L, Gu F. 2016. Nanotechnology and nanomaterials in ophthalmic drug delivery. En: *Nano-biomaterials for ophthalmic drug delivery*. Eds: Pathak, YV, Sutariya, V, Hirani, AA. Springer International Publishing: Switzerland, pp. 83–109.
- Timmermans J, Zhao Y, Van den Hoven J. 2011. Ethics and Nanopharmacy: Value sensitive design of new drugs. *Nanoethics* 5(3): 269–283.
- Vieira M, Andueza I. 2018. Comparación de la adhesividad por diferentes ensayos *in vitro* para dispersiones poliméricas de uso oftálmico. *Rev Fac Farm UCV* 81(1 y 2): 13–24.

---

*Recibido: 07/10/2020*  
*Aceptado: 21/10/2020*