

© 2022 Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Zaragoza.

Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas, 25: 1-9, 2022.

<https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.465>

## Películas orales ultradelgadas con extractos de *Agastache mexicana* con actividad hipnótica como potencial tratamiento del insomnio

Dulce Maribel Martínez-Cortés, Jonathan Vera-Pérez  
y Yolanda Gómez-y-Gómez\*

Laboratorio de Farmacología, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología,  
Instituto Politécnico Nacional, Av. Acueducto s/n Barrio La laguna, Col. Ticomán, Alcaldía  
Gustavo A. Madero 07340, Ciudad de México, México. E-mail: \*ygomez@ipn.mx

### RESUMEN

Las películas orales ultradelgadas son sistemas de administración novedosos que no requieren agua para ingerirlas, son de rápida liberación sistémica y permiten una dosificación cómoda y precisa, representan una opción para el suministro de metabolitos de plantas medicinales usadas para problemas de insomnio como *Agastache mexicana*. Sin embargo, la incorporación de moléculas complejas puede alterar la función de las películas. Por ello, el objetivo de esta investigación fue el análisis de la reacción fisicoquímica de las películas ultradelgadas de alginato de sodio y su actividad biológica al mezclarlas con los extractos etanólicos de *A. mexicana*. Se observó que después de integrar los extractos, las películas conservaron su morfología homogénea, grosor menor a 50  $\mu\text{m}$ , y un tiempo de solubilidad por debajo de los 10 min., mientras que la dureza y la elasticidad se incrementaron más del 40% y 60% respectivamente. Mediante el uso de la espectroscopía infrarroja encontramos que los grupos funcionales de los extractos se conservan y no modifican la estructura química de las películas ultradelgadas. Adicionalmente, demostramos que las películas conservan el efecto hipnótico de *Agastache mexicana*, ya que los tiempos de latencia y de sueño en un modelo murino no sufrieron cambios significativos, lo que significa un potencial tratamiento de origen natural ante desórdenes del sueño como el insomnio.

**Palabras clave:** películas ultradelgadas, *Agastache mexicana*, administración oral, insomnio.

**Ultrathin oral films with extracts of *Agastache mexicana* and its hypnotic activity as a potential treatment for insomnia**

### ABSTRACT

Ultrathin oral films are novel delivery systems that do not require water to swallow, show rapid systemic release, and allow a comfortable and precise dosage. These films represent an option for administering active metabolites from medicinal plants used against insomnia, such as *Agastache mexicana*. However, incorporating complex bioactive molecules can compromise the functionality of the films. This study evaluated the physicochemical properties and biological activity of sodium alginate films added with the ethanolic extracts of *Agastache Mexicana*. After incorporating the extracts, the films preserved their homogeneous morphology, thickness (<50  $\mu\text{m}$ ), and solubility time (<10 min). In contrast, hardness increased more than 40%, and elasticity increased 60%. Infrared spectroscopy analysis revealed that, after the preparation of the films, the functional groups of the extracts and the chemical structure of the ultrathin films were maintained. Moreover, we demonstrated that the hypnotic effect of *Agastache mexicana* was preserved, since the sleep onset latency and total sleep time in a murine model were similar between the liquid extract and the film formulation. These data support the use of ultrathin films with natural extracts as a potential treatment for sleep disorders like insomnia.

**Keywords:** ultrathin films, *Agastache mexicana*, oral administration, insomnia.

## INTRODUCCIÓN

**L**as películas orales son matrices compuestas generalmente por polímeros, se les considera un nuevo sistema de liberación de fármacos, que además de ser eficaces están orientadas al paciente y representan una alternativa a las formas de dosificación sólidas tradicionales (comprimidos o cápsulas) especialmente para pacientes con disfagia (dificultad para deglutir) (Castro *et al.*, 2015; Gupta & Kumar, 2020). También son definidas como láminas delgadas que se colocan en la cavidad bucal, de una o más capas y que pueden o no contener un ingrediente activo (USP, 2017). Actualmente ha crecido el interés en el uso de polímeros naturales para el desarrollo de películas orales, como los alginatos, por ser biocompatibles, de nula toxicidad y fácil disponibilidad, su aplicación se extiende desde pequeñas moléculas químicas hasta proteínas macromoleculares (Santos, Correia, Silva & Mano, 2018).

El uso de estos polímeros permite el desarrollo de películas orales ultradelgadas consideradas así por su grosor que ronda entre 50 y 150  $\mu\text{m}$ , esto les ayuda a disolverse rápidamente en contacto con la saliva mejorando la absorción de los compuestos activos, los cuales pueden ser sintéticos o de fuentes naturales como los extractos de las plantas medicinales (Alshhab & Yilmaz, 2020; Bodini, Pugine, de Melo & de Carvalho, 2020; Gupta *et al.*, 2020). Las películas ultradelgadas se integran, sin problema, con los extractos de las plantas en comparación a otros sistemas de liberación que solo admiten un componente, esto es de suma importancia debido a que el efecto terapéutico de algunas plantas medicinales se debe al sinergismo de sus múltiples metabolitos y en ocasiones su purificación o separación puede conducir a una pérdida parcial o completa de la actividad (Kesarwani & Gupta, 2013), por ejemplo, el extracto de la planta *Agastache mexicana* usado contra el insomnio, tiene un mayor efecto hipnótico que el flavonoide (tilianina) al que se le atribuye esta característica (González-Trujano, Ponce-Muñoz, Hidalgo-Figueroa, Navarrete-Vázquez & Estrada-Soto, 2015). Además, la administración de compuestos activos a través de películas ultradelgadas tiene ciertas ventajas frente a las formas líquidas, como una dosificación más cómoda y precisa, ya que no es necesaria su agitación y medición antes de la ingesta, es práctica y se puede usar de manera segura incluso cuando no se tiene acceso al agua (Özakar & Özakar, 2021).

Las películas orales ultradelgadas representan una posible forma de administración de los extractos de *A. mexicana* con efecto hipnótico para tratar problemas de insomnio, sin embargo, las propiedades fisicoquímicas características de las películas ultradelgadas pueden verse afectadas después de la incorporación de los compuestos bioactivos, sobre todo cuando se emplean moléculas complejas como las de los extractos naturales (fenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, etc.), por lo tanto es necesario caracterizar sus propiedades para asegurar su integridad y evaluar su capacidad como sistema de administración de extractos con

actividad terapéutica (Bodini *et al.*, 2020; Tedesco, Monaco-Laurenço & Carvalho, 2017).

Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue desarrollar y caracterizar fisicoquímicamente películas ultradelgadas de alginato de sodio antes y después de la adición de los extractos de *Agastache mexicana mexicana* y *Agastache mexicana xolocotziana*, así como la evaluación del efecto hipnótico para corroborar que se mantenga inalterable.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Materiales vegetales

Las plantas *A. mexicana* ssp. *mexicana* (Kunth) Lin & Epling y *A. mexicana* ssp. *xolocotziana* Bye, Linares & Ramamoorthy fueron adquiridas en el “Mercado de Sonora” de la Ciudad de México e identificadas en el Herbario Medicinal del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS) con el número de registro 16,257 y 16,259, respectivamente.

### Preparación de los extractos de *A. mexicana mexicana* y *A. mexicana xolocotziana*

Se llevó a cabo una extracción sólida líquido de acuerdo con la metodología modificada de Hernández-Abreu *et al.* (2011), por lo que en 250 mL de etanol se vertieron 20 g de *A. mexicana mexicana* (AM) y *A. mexicana xolocotziana* (AX) secas y molidas. Se mantuvieron en agitación a temperatura ambiente por 24 horas y posteriormente se removieron los sólidos. Se realizó un proceso de microfiltración, empleando un módulo de filtración Mintrech (modelo Fiber flow) de 0.05 micras.

### Obtención de películas orales

Las películas se obtuvieron con la técnica solvent casting, al preparar 15 mL de una solución de alginato de sodio al 1.5%, en agitación durante 24 horas. Las soluciones se depositaron en moldes de teflón de 30  $\text{cm}^2$  y se secaron en una estufa de vacío a 45  $^{\circ}\text{C}$  y 15 inHg. Las películas con extractos se obtuvieron al adicionar 1mg de sólidos de extracto por mL de solución de alginato de sodio.

### Caracterización de las películas orales

#### Aspecto visual

Las películas se evaluaron en el inicio visualmente para detectar posibles alteraciones después de la incorporación de los extractos de *Agastache mexicana*.

#### Microscopía electrónica de barrido

La estructura superficial de las películas fue observada a través de un microscopio electrónico de barrido JEOL JCM-6000 plus. Las películas se recubrieron con grafito coloidal para su procesamiento.

#### Microscopía de fuerza atómica

La topografía de la superficie de las películas de 225  $\mu\text{m}$  cada una, se analizó con un Microscopio de Fuerza Atómica

(diMultimode V conectado a un microcontrolador di Nanoscope V, Veeco, USA), escaneadas, usando el modo “tapping air” a una velocidad de escaneo de 1 Hz. Para procesar las imágenes se utilizó el software NanoScope Versión 1.5.

### Grosor

El espesor de las películas se midió con un micrómetro digital (Big Horn) de una sensibilidad de 0.001 mm y fueron colocadas entre los palpadores del micrómetro, la medición se tomó en la primera indicación de contacto entre la película y los palpadores. De acuerdo con Ashikin, Wong & Law (2010), se realizaron 15 mediciones en distintos puntos de cada película.

### Solubilidad

Para determinar el tiempo de solubilidad se adaptó la metodología propuesta por Dinger & Nagarsenker (2008). Las películas se colocaron en una canastilla y ésta en el centro de un vaso de precipitados de vidrio de 50 mL que contenía 20 mL de buffer de fosfatos pH 6.4, a  $37 \pm 0.5$  °C y agitación a 100 rpm con un agitador magnético que no tocara la canastilla. Se tomaron alícuotas cada minuto y se midió la absorbancia a 205 nm para las películas de alginato y 560 nm para las películas de alginato con extractos, hasta obtener mediciones constantes.

### Color

El color de las películas se midió con una esfera de integración en un espectrofotómetro (GBC, modelo Cintra 10), las mediciones se realizaron de acuerdo con el espacio de color CIE L\*a\*b\* utilizando un observador de 2° y un iluminante A.

### Propiedades mecánicas por nanoindentación

Las propiedades mecánicas de las películas orales de alginato se obtuvieron con un Nano-Hardness Tester (NHT) desarrollado por CSM Instruments (Suiza). Los parámetros empleados fueron; valor de carga máxima 5 mN, tiempo de pausa 10 s y velocidad de carga y descarga 15 mN/min. Se utilizó una punta de diamante piramidal y base triangular conocida como Berkovich.

### Análisis químico estructural con FT-IR

Las películas y los extractos se analizaron mediante espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier en un espectrómetro Spectrum Two de la marca Perkin Elmer con el módulo ATR, las lecturas se tomaron en el rango de 4,000 a 500  $\text{cm}^{-1}$ .

### Prueba de inducción al sueño con dosis hipnótica de pentobarbital sódico

Todos los animales fueron manipulados de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999, la directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo sobre la protección de los animales utilizados para fines científicos y la declaración de Helsinki sobre el bienestar de los animales en experimentación.

Para la prueba de potenciación de sueño inducido con pentobarbital sódico se utilizaron seis grupos de siete ratones macho CD1. Dos grupos fueron tratados con los extractos de *A. mexicana mexicana* (AM) y *A. mexicana xolocotziana* (AX) respectivamente, por vía oral a dosis de 100 mg/kg de peso del ratón. Dos grupos más fueron tratados con las películas que contenían los extractos de *A. mexicana mexicana* (AMF) y *A. mexicana xolocotziana* (AXF), por lo que se cortaron fragmentos de las películas para administrar la misma dosis de cada extracto. Como control, en un grupo se usó el fármaco clonazepam (CL) por vía intraperitoneal (0.5 mg/kg i.p.) y el último grupo no recibió tratamiento. Después de treinta minutos de administrar los tratamientos, a todos los ratones se les inyectó una dosis hipnótica de pentobarbital sódico (PB; 42 mg/kg i.p.) y se evaluó el tiempo en que tardaron en dormirse (pérdida del enderezamiento o latencia) y el tiempo que permanecieron dormidos (tiempo que tardan en recobrar el conocimiento y el equilibrio).

### Análisis estadístico

A los resultados obtenidos de las pruebas de potenciación de sueño inducido con pentobarbital sódico se les aplicó un análisis de varianza de una vía (ANOVA), seguido de la prueba de Dunnett. Los valores de  $p < 0.05$  se consideraron significativos. El análisis se realizó con ayuda del software OriginLab 2015.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Caracterización de las películas

#### Aspecto visual

Se formularon películas de alginato de sodio (SAF) delgadas, sin poros, sin fracturas visibles, translúcidas y sin color, con la incorporación de los extractos de *A. mexicana mexicana* (AM) *A. mexicana xolocotziana* (AX) (Figura 1), hubo un cambio de coloración a amarillo olivo, conservando su integridad física y al igual que las películas sin extracto presentaron un aspecto homogéneo, translúcido y sin problemas de adhesión al material en el que se elaboraron, por lo que no fue necesario el uso de plastificantes.

#### Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Debido a que las películas con y sin extracto mostraron un aspecto homogéneo, se decidió analizar su superficie mediante MEB con el fin de observar diferencias en la estructura y morfología superficial. En la micrografía de SAF (Figura 2a), se observó una superficie lisa y homogénea con ligeras marcas atribuidas al molde de teflón empleado para su formación. Por otra parte, después de la incorporación de los extractos, las películas AMF (Figura 2b) y AXF (Figura 2c) conservaron su estructura homogénea y ligeros relieves en la superficie, que de acuerdo con Bodini *et al.* (2020), se deben a la disminución en la compactación polimérica de la matriz, causados por los metabolitos de los extractos. En otras investigaciones se ha reportado que los extractos de plantas se distribuyen también

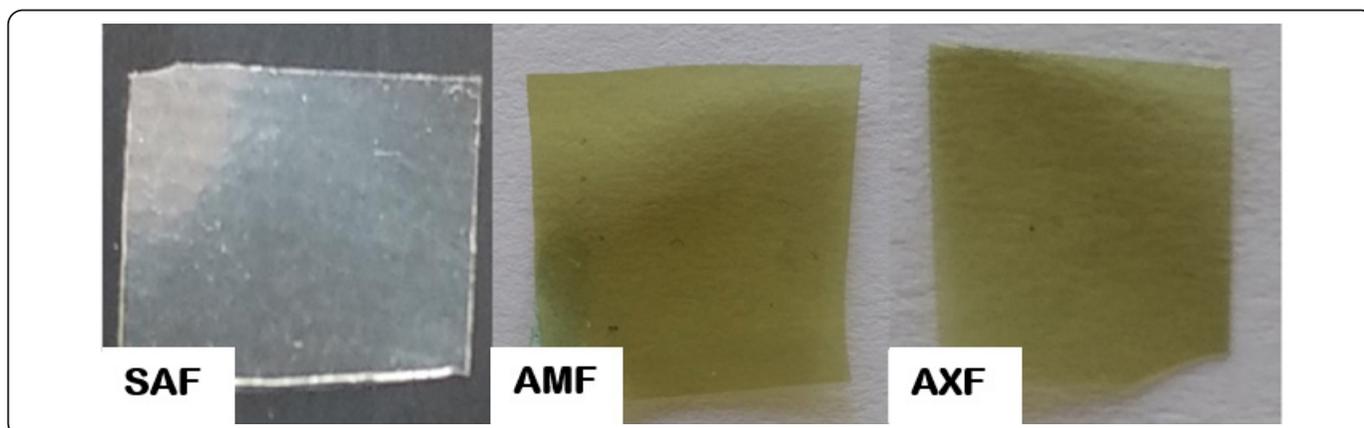


Figura 1. Fragmentos de las películas de alginato de sodio (SAF) y de alginato de sodio con extractos de *Agastache mexicana mexicana* (AMF) y *Agastache mexicana xolocotziana* (AXF).

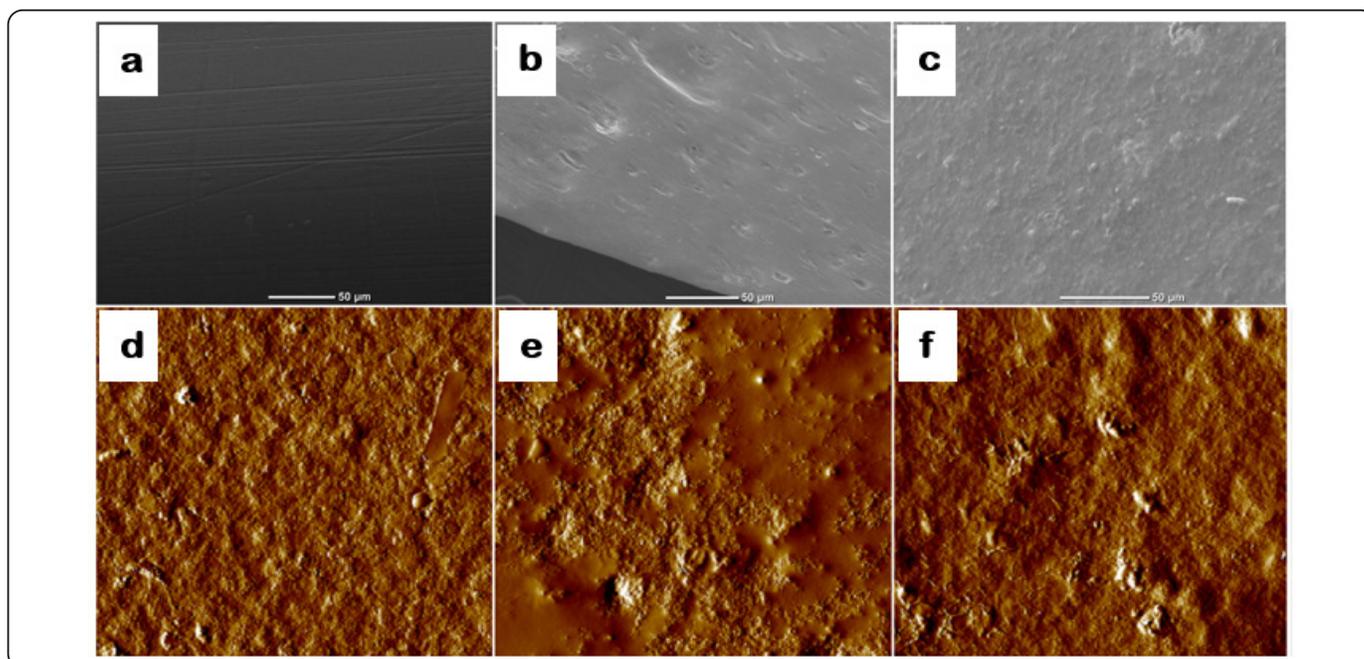


Figura 2. Morfología superficial de las películas de alginato de sodio (SAF, a), alginato de sodio con extractos de *Agastache mexicana mexicana* (AMF, b) y alginato de sodio con *Agastache mexicana xolocotziana* (AXF, c) obtenidas mediante Microscopía Electrónica de Barrido, y de SAF (d), AMF (e) y AXF (f) obtenidas por Microscopía de Fuerza Atómica.

de forma homogénea y al integrarse a las películas de alginato, mejoran su estructura interna y la apariencia es más uniforme (Bashir *et al.*, 2018; Kim, Baek, Song & Bin, 2018; Synowiec *et al.*, 2014).

#### Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

Como un complemento al estudio de la morfología superficial de las películas se empleó la MFA, donde las imágenes topográficas obtenidas (Figura 2d-2f) muestran la presencia de valles (zonas más oscuras) y crestas (zonas más claras). La homogeneidad mencionada se corroboró al ver en las imágenes de MFA de SAF,

AMF y AXF una disminución de los parámetros de rugosidad, o sea una rugosidad promedio aritmética ( $R_a$ ) de 72.8 nm, 21.3 nm y 33.7 nm, respectivamente y rugosidad media cuadrática ( $R_q$ ) de 93.6 nm, 27.5 nm y 45.1 nm, respectivamente. Otras investigaciones también relacionan la disminución de la rugosidad de las películas y sus óptimas propiedades físicas con la adición de ingredientes activos (Wang *et al.*, 2017).

#### Propiedades físicas de las películas orales

Medir las propiedades físicas de las películas es importante cuando se adicionan sustancias complejas como los extractos

de las plantas, porque pueden beneficiar o alterar la estructura y composición de las películas (Mir, Dar, Wani & Shah, 2018).

Debido a que el grosor de las películas ultradelgadas garantiza una administración más cómoda (Niese & Quodbach, 2018; Özakar & Özakar, 2021), éstas se midieron con y sin extractos. Los valores obtenidos (Tabla I) indican que las películas SAF, AMF y AXF son ultradelgadas por presentar un grosor inferior a 50 µm, esta característica es relevante porque las películas de menor grosor permiten una rápida adsorción del compuesto activo al disolverse fácilmente en la boca cuando entran en contacto con la saliva (Gupta et al., 2020). Es importante resaltar que las películas de alginato (SAF) no presentaron un cambio significativo en el grosor después de la incorporación de los extractos, a diferencia de otros trabajos en los que se han reportado incrementos de hasta el doble de su grosor después de adicionar el compuesto activo o el fármaco (Ho et al., 2020; Pacheco, da Silva, Tomoda & de Moraes, 2020). Por esto inferimos que el grosor característico de las películas ultradelgadas se conserva gracias a que los metabolitos de las plantas se mezclaron con la matriz polimérica, evaporando el medio en el que estaban disueltos.

En cuanto al ensayo de solubilidad, las películas se disolvieron completamente en un intervalo de 8 a 10 min., y aunque no corresponde al tiempo real en que se disuelven en la boca por todas las variables fisiológicas involucradas (Borges & De Carvalho, 2015; Speer et al., 2019), sí es posible comparar ese tiempo con y sin un compuesto activo, al observarse su incremento, aunque, ligero en AMF y AXF respecto a SAF

debido a la similitud del grosor de las películas y a la afinidad de los metabolitos con el buffer empleado.

Adicional, se midió el parámetro de color, los resultados concuerdan con los aspectos visuales ya descritos. La película SAF presentó valores de a\* y b\* cercanos a cero e indica que es incolora y translúcida, mientras que L\* con un valor de 98 hace referencia a que es luminosa. Después de la adición de los extractos las películas AMF y AXF mostraron valores correspondientes al color verde (-a) y amarillo (+b), además de baja luminosidad (L\*), el cambio en las coordenadas L\*a\*b\* se debe a la presencia de los compuestos fenólicos de los extractos, que además de conferirles color les proporcionan propiedades antioxidantes y de protección ante la radiación UV (Kim et al., 2018; Tedesco et al., 2017).

**Propiedades mecánicas al utilizar nanoindentación**

La dureza, módulo elástico y desplazamiento de la indentación a nanoescala, son parámetros relevantes relacionados con la estructura química y propiedades mecánicas de las películas. Los resultados obtenidos (Tabla II) sugieren que la adición de los extractos (AM y AX), disminuyen el desplazamiento de la indentación reflejado en el aumento de la dureza en las películas AMF (42%) y AXF (46%), así como en un incremento del módulo elástico en un 69% (AMF) y un 64% (AXF) respecto a SAF. Si bien es cierto que la incorporación de extractos en las películas poliméricas puede afectar o beneficiar sus propiedades mecánicas (Mir et al., 2018), nosotros observamos que AMF y AXF mejoraron las propiedades de dureza y elasticidad, al mantener su integridad, aspectos importantes para su manipulación, administración, almacenamiento y transporte

**Tabla I. Grosor, solubilidad, y valores de color (CIELAB) de las películas.**

	Grosor (µm)	Solubilidad (min)	Color		
			L*	a*	b*
SAF	46 ± 7.09	8 ± 1.3	98.121	0.324	2.138
AMF	48 ± 6.90	9.5 ± 0.7	65.359	-1.728	32.381
AXF	47 ± 4.31	10 ± 0.8	69.284	-3.623	54.402

Película de alginato de sodio (SAF) y películas con extractos de *Agastache mexicana mexicana* (AMF) y *Agastache mexicana xolocotziana* (AXF). Los resultados se muestran como la media ± DE.

**Tabla II. Propiedades mecánicas de las películas obtenidas mediante nanoindentación.**

	Dureza (MPa)	Módulo elástico (GPa)	Desplazamiento de indentación (%)
SAF	71.88 ± 13.50	0.53 ± 0.07	9.20 ± 1.40
AMF	123.57 ± 3.42	1.73 ± 0.05	7.71 ± 0.33
AXF	133.97 ± 12.73	1.49 ± 0.05	7.94 ± 0.48

Película de alginato de sodio (SAF) y películas con extractos de *Agastache mexicana mexicana* (AMF) y *Agastache mexicana xolocotziana* (AXF). Los resultados se muestran como la media ± DE.

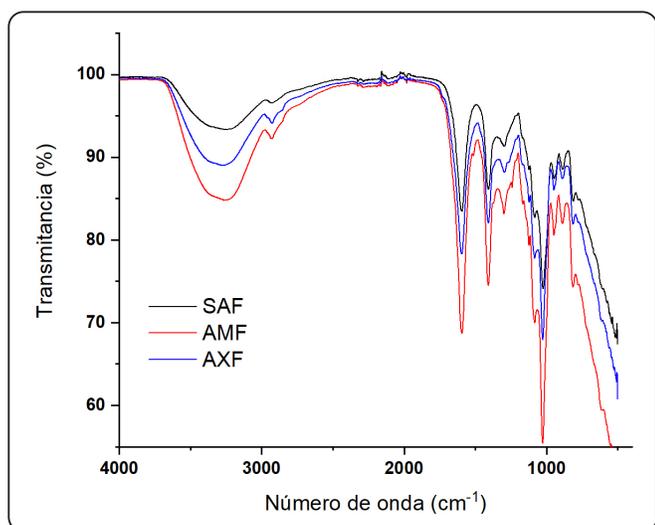


Figura 3. Composición macroestructural de películas de alginato de sodio (SAF) y de alginato de sodio con extractos de *Agastache mexicana mexicana* (AMF) y *Agastache mexicana xolocotziana* (AXF), mediante espectroscopía infrarroja.

(Alaei & Omidian, 2021; Pimparade *et al.*, 2017). En otros trabajos también se reporta que la adición de los extractos mejora las propiedades mecánicas de las películas, atribuidas principalmente a la formación de puentes de hidrógeno de los grupos hidroxilo de los metabolitos con los biopolímeros usados (Kaczmarek, 2020; Mir *et al.*, 2018; Torres Vargas, Galeano Loaiza & González, 2021).

### Espectroscopía Infrarroja

A través de FT-IR se analizó la composición macroestructural de las películas después de la adición de los extractos de *A. mexicana*. Los espectros de las tres películas (Figura 2) con señales típicas del alginato presentaron cerca de 1,605 y 1,410  $\text{cm}^{-1}$  vibraciones de estiramiento asimétricas y simétricas de los aniones carboxilato, respectivamente, con una banda fuerte y ancha a 3,293  $\text{cm}^{-1}$  relacionada al estiramiento de los grupos O-H y una banda de estiramiento C-H alifático débil alrededor de 2,926  $\text{cm}^{-1}$ , además de los picos en 1,298  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento en C-O), 1,124  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento en C-C), 1,086  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento en C-O), 1,031  $\text{cm}^{-1}$  (C-O-C estiramiento) y 948  $\text{cm}^{-1}$  (estiramiento C-O) (Kulig, Zimoch-Korzycka & Jarmoluk, 2017; Mahcene *et al.*, 2020; Pacheco *et al.*, 2020; Sibaja *et al.*, 2015). La identificación de los grupos funcionales del alginato nos permitió comprobar que se logró la incorporación de los extractos sin cambios en la composición química de las películas, además se observa un incremento en la intensidad de las señales que se pueden atribuir a la presencia de los compuestos de *A. mexicana*, como fenoles, flavonoides, taninos y saponinas (Estrada-Reyes *et al.*, 2014), específicamente, la banda de 3,262  $\text{cm}^{-1}$  corresponde al grupo funcional OH característico de la familia de compuestos fenoles y alcoholes en las bandas de 3,200  $\text{cm}^{-1}$  – 3,400  $\text{cm}^{-1}$ , el pico a 1,625  $\text{cm}^{-1}$  pertenece al grupo carbonilo (C=O) de los ácidos fenólicos, el pico a 1,263  $\text{cm}^{-1}$  confirma la presencia de grupos hidroxilo debido a compuestos fenoles y la señal a 1,015  $\text{cm}^{-1}$  indica la existencia de aminas, del grupo C-N (Kaczmarek, 2020; Petenatti *et al.*, 2014; Sundaramurthy &

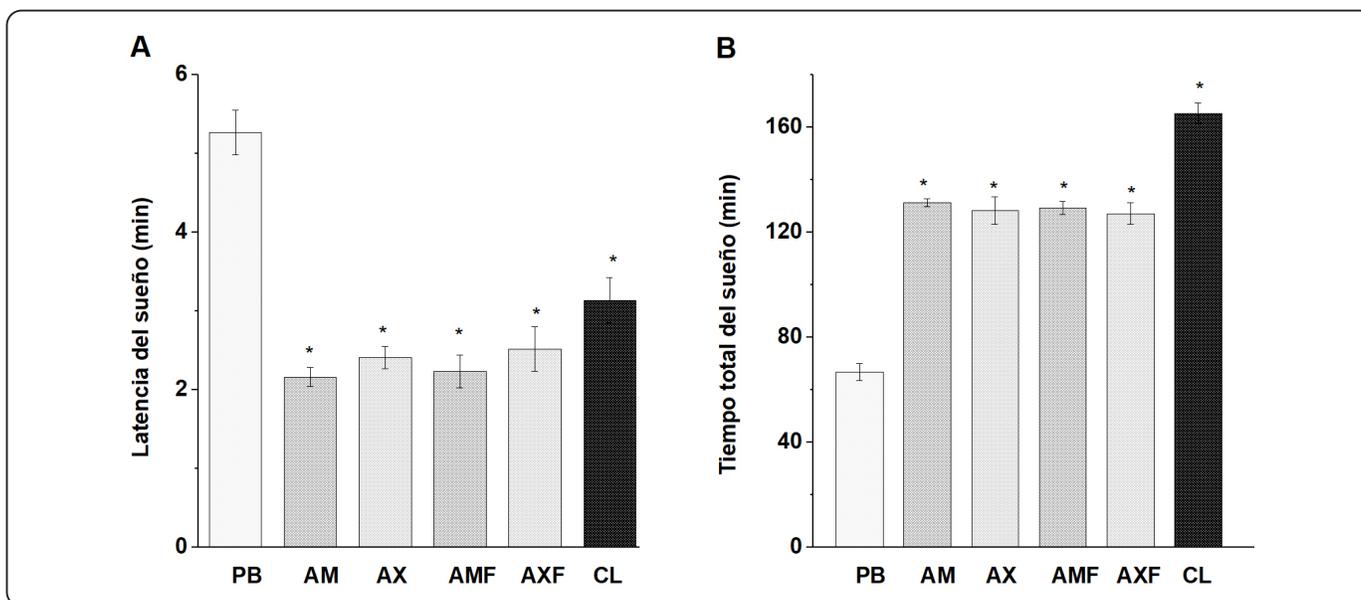


Figura 4. Tiempo de latencia (A) y de duración del sueño (B), con extractos etanólicos de *Agastache mexicana mexicana* (AM), *Agastache mexicana xolocotziana* (AX) y películas ultradelgadas con extracto (AMF y AXF), en ratones inducidos al sueño por dosis hipnóticas de pentobarbital (PB), usando como fármaco de referencia clonazepam (CL). Cada columna representa la media  $\pm$  DE (n = 7). \*indica diferencia significativa respecto al grupo control PB.

Parthiban, 2015). Estos resultados también nos permiten inferir que los extractos mantienen su composición macroestructural sin alteraciones que pudieran perjudicar su actividad biológica.

### Prueba de inducción al sueño con dosis hipnótica de pentobarbital sódico

Con el fin de comprobar que las películas de alginato son capaces de preservar los metabolitos de *A. mexicana mexicana* y *A. mexicana xolocotziana* sin alterar su actividad biológica, se evaluó el efecto hipnótico de los extractos y de las películas con los extractos en un modelo *in vivo*. En este ensayo se encontró que los grupos tratados con los extractos y los grupos tratados con las películas con extractos (Figura 4), tardaron menos tiempo en dormirse (tiempo de latencia), que aquellos que fueron tratados con el fármaco control CL y los que no tuvieron tratamiento (solo PB). Se observó también que, los grupos AM, AX, AMF y AXF, no presentaron diferencia significativa, al demostrar que los metabolitos de las plantas antes y después de ser incorporados en las películas favorecen la inducción al sueño. Los tiempos de latencia de AM (2.4 min.), AX (2.9 min.), AMF (2.2 min.) y AXF (2.5 min.), fueron similares a lo reportado por González-Trujano *et al.*, (2015) con un extracto metanólico de *A. mexicana* (2.3 min.).

De igual manera el tiempo total de sueño de los grupos tratados con AXF y AMF no presentaron diferencia significativa respecto a los extractos AM y AX en medio líquido, con más de 120 minutos de duración del sueño. Estos resultados fueron mayores a lo reportado por González-Trujano *et al.* (2015) con un extracto metanólico de *A. mexicana* (40 min.). Este incremento en la duración del tiempo del sueño puede ser atribuida al tipo de extracción (etanólico) que empleamos, ya que se ha reportado que algunos flavonoides presentes en los extractos etanólicos de *A. mexicana* son efectivos en el tratamiento de trastornos del sistema nervioso central como la ansiedad y el insomnio (Argueta, Cano & Rodarte, 1994; Estrada-Reyes *et al.*, 2014; González-Trujano *et al.*, 2015). Además, existe la evidencia de que algunos flavonoides interactúan con sistemas de neurotransmisores como la adenosina, la dopamina, la glicina y GABA, este último, el principal neurotransmisor involucrado en la iniciación y mantenimiento del sueño (Johnston, 2015; Park *et al.*, 2020).

Los resultados obtenidos con la prueba de inducción al sueño nos permitieron comprobar que las películas de alginato de sodio son capaces de preservar la actividad farmacológica de los compuestos bioactivos. Además, comparado con el uso de extractos, las películas permiten transportar, administrar y almacenar (ocupan menos volumen) fácilmente los metabolitos incorporados, al mantener intacta la identidad química tanto de los extractos como de la matriz polimérica (analizada mediante FT-IR). También se ha reportado que las películas de alginato pueden mejorar las propiedades farmacocinéticas, proporcionar estabilidad, aumentar la biodisponibilidad y alargar la vida de

anaquel de los compuestos bioactivos (Irfan *et al.*, 2016; Karki *et al.*, 2016; Laffleur & Keckeis, 2020).

### CONCLUSIONES

En este trabajo se lograron formular películas orales de alginato de sodio ultradelgadas, capaces de mantener su estructura, tamaño y solubilidad, después de la adición de los extractos de *A. mexicana mexicana* y *A. mexicana xolocotziana*, que mejoraron la homogeneidad, resistencia y elasticidad de la matriz polimérica. Se demostró que las películas preservan la identidad química de los bioactivos de los extractos y se corroboró mediante la prueba de inducción al sueño que son capaces de conservar la actividad hipnótica de los metabolitos de la planta. Debido a esto, consideramos a las películas ultradelgadas de alginato de sodio como un potencial sistema de administración de plantas medicinales como *Agastache mexicana* para el tratamiento del insomnio.

### DECLARACIÓN DE CONFLICTOS DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos el apoyo académico al CONACYT y a la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología del IPN.

### REFERENCIAS

- Alaei, S. & Omidian, H. (2021). European Journal of Pharmaceutical Sciences Mucoadhesion and Mechanical Assessment of Oral Films. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **159** (September 2020), 105727. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2021.105727>
- Alshhab, A. & Yilmaz, E. (2020). Sodium alginate/poly(4-vinylpyridine) polyelectrolyte multilayer films: Preparation, characterization and ciprofloxacin HCl release. *International Journal of Biological Macromolecules*, **147**, 809–820. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.058>
- Argueta, A., Cano, L. & Rodarte, M. (1994). Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana. *Instituto Nacional Indigenista*, Vol. II. México, 559.
- Ashikin, W.H.N.S., Wong, T.W. & Law, C.L. (2010). Plasticity of hot air-dried mannuronate- and guluronate-rich alginate films. *Carbohydrate Polymers*, **81**, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2010.02.002>
- Bashir, A., Jabeen, S., Gull, N., Islam, A., Sultan, M., Ghaffar, A., Khan, S. M., Iqbal, S. S. & Jamil, T. (2018). Co-concentration effect of silane with natural extract on biodegradable polymeric films for food packaging. *International Journal of Biological Macromolecules*, **106**, 351–359. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.025>
- Bodini, R. B., Pugine, S. M. P., de Melo, M. P. & de Carvalho, R. A. (2020). Antioxidant and anti-inflammatory properties of orally disintegrating films based on starch and hydroxypropyl methylcellulose incorporated with *Cordia verbenacea* (erva baleeira) extract. *International Journal*

- of *Biological Macromolecules*, **159**, 714–724. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.075>
- Borges, J. G. & De Carvalho, R. A. (2015). Orally Disintegrating Films Containing Propolis: Properties and Release Profile. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **104(4)**, 1431–1439. <https://doi.org/10.1002/jps.24355>
- Castro, P. M., Fonte, P., Sousa, F., Madureira, A. R., Sarmiento, B. & Pintado, M. E. (2015). Oral films as breakthrough tools for oral delivery of proteins/peptides. *Journal of Controlled Release*, **211**, 63–73. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.05.258>
- US Pharmacopeial Convention. (2017). General Chapter <1790> Visual Inspection of Injections. USP 40–NF 35..
- Dinge, A. & Nagarsenker, M. (2008). Formulation and evaluation of fast dissolving films for delivery of triclosan to the oral cavity. *AAPS PharmSciTech*, **9(2)**, 349–356. <https://doi.org/10.1208/s12249-008-9047-7>
- Estrada-Reyes, R., López-Rubalcava, C., Ferreyra-Cruz, O. A., Dorantes-Barrón, A. M., Heinze, G., Moreno Aguilar, J. & Martínez-Vázquez, M. (2014). Central nervous system effects and chemical composition of two subspecies of *Agastache mexicana*; An ethnomedicine of Mexico. *Journal of Ethnopharmacology*, **153(1)**, 98–110. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.12.057>
- González-Trujano, M. E., Ponce-Muñoz, H., Hidalgo-Figueroa, S., Navarrete-Vázquez, G. & Estrada-Soto, S. (2015). Depressant effects of *Agastache mexicana* methanol extract and one of major metabolites tilianin. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, **8(3)**, 185–190. [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(14\)60312-6](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(14)60312-6)
- Gupta, M. S. & Kumar, T. P. (2020). Characterization of Orodispersible Films: An Overview of Methods and Introduction to a New Disintegration Test Apparatus Using LDR - LED Sensors. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **109(10)**, 2925–2942. <https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.06.012>
- Gupta, M. S., Kumar, T. P. & Gowda, D. V. (2020). Orodispersible Thin Film: A new patient-centered innovation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, **59**, 101843. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2020.101843>
- Hernández-Abreu, O., Durán-Gómez, L., Best-Brown, R., Villalobos-Molina, R., Rivera-Leyva, J. & Estrada-Soto, S. (2011). Validated liquid chromatographic method and analysis of content of tilianin on several extracts obtained from *Agastache mexicana* and its correlation with vasorelaxant effect. *Journal of Ethnopharmacology*, **138(2)**, 487–491. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.09.041>
- Ho, T.C., Kim, M.H., Cho, Y.J., Park, J.S., Nam, S.Y. & Chun, B.S., 2020. Gelatin-sodium alginate based films with *Pseuderanthemum palatiferum* (Nees) Radlk. freeze-dried powder obtained by subcritical water extraction. *Food Packaging and Shelf Life*, **24**, 100469. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2020.100469>
- Irfan, M., Rabel, S., Bukhtar, Q., Qadir, M. I., Jabeen, F. & Khan, A. (2016). Orally disintegrating films: A modern expansion in drug delivery system. *Saudi Pharmaceutical Journal*, **24(5)**, 537–546. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2015.02.024>
- Johnston, G. A. R. (2015). Flavonoid nutraceuticals and ionotropic receptors for the inhibitory neurotransmitter GABA. *Neurochemistry International*, **89**, 120–125. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2015.07.013>
- Kaczmarek, B. (2020). Improving sodium alginate films properties by phenolic acid addition. *Materials*, **13(13)**, 2895..
- Karki, S., Kim, H., Na, S., Shin, D., Jo, K. & Lee, J. (2016). Thin films as an emerging platform for. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, **11(5)**, 559–574. <https://doi.org/10.1016/j.ajps.2016.05.004>
- Kesarwani, K. & Gupta, R. (2013). Bioavailability enhancers of herbal origin: An overview. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **3(4)**, 253–266. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60060-X](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60060-X)
- Kim, S., Baek, S. K. & Song, K. Bin. (2018). Physical and antioxidant properties of alginate films prepared from *Sargassum fulvellum* with black chokeberry extract. *Food Packaging and Shelf Life*, **18**, 157–163. <https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2018.11.008>
- Kulig, D., Zimoch-Korzycka, A. & Jarmoluk, A. (2017). Cross-linked alginate/chitosan polyelectrolytes as carrier of active compound and beef color stabilizer. *Meat Science*, **123**, 219–228. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2016.08.010>
- Laffleur, F. & Keckeis, V. (2020). Advances in drug delivery systems: Work in progress still needed? *International Journal of Pharmaceutics*, **590**. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.119912>
- Mahcene, Z., Khelil, A., Hasni, S., Akman, P. K., Bozkurt, F., Birech, K., Goudjil, M. B. & Tornuk, F. (2020). Development and characterization of sodium alginate based active edible films incorporated with essential oils of some medicinal plants. *International Journal of Biological Macromolecules*, **145**, 124–132. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.12.093>
- Mir, S. A., Dar, B. N., Wani, A. A. & Shah, M. A. (2018). Effect of plant extracts on the techno-functional properties of biodegradable packaging films. *Trends in Food Science and Technology*, **80**, 141–154. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.08.004>
- Niese, S. & Quodbach, J. (2018). Application of a chromatic confocal measurement system as new approach for in-line wet film thickness determination in continuous oral film manufacturing processes. *International Journal of Pharmaceutics*, **551(1–2)**, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.09.028>

- Özakar, S. R. & Özakar, E. (2021). Current overview of oral thin films. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, **18**(1), 111–121. <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2020.76390>
- Pacheco, M. S., da Silva, T. B., Tomoda, B. T. & de Moraes, M. A. (2020). Evaluation of diclofenac sodium incorporation in alginate membranes as potential drug release system. *Materialia*, **12**. <https://doi.org/10.1016/j.mtla.2020.100827>
- Park, S., Kang, I., Edden, R. A. E., Namgung, E., Kim, J. & Kim, J. (2020). Shorter sleep duration is associated with lower GABA levels in the anterior cingulate cortex. *Sleep Medicine*, **71**, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.sleep.2020.02.018>
- Petenatti, M. E., Gette, M. A., Camí, G. E., Popovich, M. C., Marchevsky, E. J., Del Vitto, L. A. & Petenatti, E. M. (2014). Micrografía cuantitativa y perfiles de HPLC y FTIR de *Melissa officinalis* y *Nepeta cataria* (Lamiaceae) de Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, **46**(2), 15–27.
- Pimparade, M. B., Vo, A., Maurya, A. S., Bae, J., Morott, J. T., Feng, X., Kim, D. W., Kulkarni, V. I., Tiwari, R., Vanaja, K., Murthy, R., Shivakumar, H. N., Neupane, D., Mishra, S. R., Murthy, S. N. & Repka, M. A. (2017). Development and evaluation of an oral fast disintegrating anti-allergic film using hot-melt extrusion technology. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, **119**, 81–90. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2017.06.004>
- Santos, L. F., Correia, I. J., Silva, A. S. & Mano, J. F. (2018). Biomaterials for drug delivery patches. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, **118**, 49–66. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2018.03.020>
- Sibaja, B., Culbertson, E., Marshall, P., Broughton, R. M., Solano, A. A., Esquivel, M., Parker, J., De La Fuente, L. & Auad, M. L. (2015). Preparation of alginate-chitosan fibers with potential biomedical applications. *Carbohydrate Polymers*, **134**, 598–608. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.07.076>
- Speer, I., Preis, M. & Breitzkreutz, J. (2019). Dissolution testing of oral film preparations: Experimental comparison of compendial and non-compendial methods. *International Journal of Pharmaceutics*, **561**, 124–134. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2019.02.042>
- Sundaramurthy, N. & Parthiban, C. (2015). Biosynthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Pyrus pyrifolia* Leaf Extract and Evolve the Catalytic Activity. *International Research Journal of Engineering and Technology*, **02**(06), 332–338.
- Synowiec, A., Gniewosz, M., Kraśniewska, K., Przybył, J. L., Bączek, K. & Węglarz, Z. (2014). Antimicrobial and antioxidant properties of pullulan film containing sweet basil extract and an evaluation of coating effectiveness in the prolongation of the shelf life of apples stored in refrigeration conditions. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, **23**, 171–181. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2014.03.006>
- Tedesco, M. P., Monaco-Lourenço, C. A. & Carvalho, R. A. (2017). Characterization of oral disintegrating film of peanut skin extract—Potential route for buccal delivery of phenolic compounds. *International Journal of Biological Macromolecules*, **97**, 418–425. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.01.044>
- Torres Vargas, O.L., Galeano Loaiza, Y.V. & González, M.L. (2021). Effect of incorporating extracts from natural pigments in alginate/starch films. *Journal of Materials Research and Technology*, **13**, 2239–2250. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.05.091>
- Wang, Z., Hu, S. & Wang, H. (2017). Scale-Up Preparation and Characterization of Collagen/Sodium Alginate Blend Films. *Journal of Food Quality*, 2017, 4954259, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2017/4954259>