

Formulación vaginal a base de melatonina para el tratamiento de cáncer cervicouterino

Melatonin-based vaginal formulation for treatment of cervical cancer

Regina Julieta Delgadillo-Hernández¹, Zaira Yunuen García-Carvajal¹, Gregorio Guadalupe Carbajal-Arízaga², José Alfonso Cruz-Ramos³, Rodolfo Hernández-Gutiérrez¹ y Moisés Martínez-Velázquez^{1*}

¹ *Biología Médica y Farmacéutica, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C., Guadalajara, México.*

² *Centro Universitario de Ciencias Exactas e Ingenierías, Universidad de Guadalajara, Guadalajara, México.*

³ *Instituto Jalisciense de Cancerología, Secretaría de Salud Jalisco, Guadalajara, México.*

*Autor de correspondencia: Moisés Martínez-Velázquez, mmartinez@ciatej.mx

Palabras clave:

cáncer cervicouterino, melatonina, formulaciones vaginales

Keywords:

cervical cancer, melatonin, vaginal formulations

Resumen

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un dispositivo intravaginal con melatonina para potenciar los efectos localizados de agentes antineoplásicos. Dado que la melatonina tiene buena biodisponibilidad cuando se aplica localmente, se utilizó glicofurol como excipiente debido a su aprobación para uso farmacéutico. Se evaluaron los efectos de la melatonina disuelta en glicofurol sobre la viabilidad de células HeLa mediante un ensayo MTT. Se observó una reducción a 28%, a 10 mM y cierta toxicidad del disolvente a concentraciones elevadas. También se analizó el efecto combinado de melatonina más la IC₅₀ de cisplatino. La formulación vaginal se desarrolló según la FEUM, y su caracterización incluyó FTIR, DRX, tiempo de desintegración, dureza y uniformidad de peso. Los resultados confirmaron la presencia de melatonina y mostraron un tiempo de desintegración adecuado en fluido vaginal simulado, con suficiente resistencia para su manipulación. Se obtuvo así una formulación viable para su uso en dispositivos intravaginales.

Abstract

The goal of this research was to develop an intravaginal device with melatonin to enhance the localized effects of antineoplastic agents. Since melatonin has good bioavailability when applied locally, glycofurol was used as an excipient due to its approval for pharmaceutical use. The effects of melatonin dissolved in glycofurol on the viability of HeLa cells were evaluated using an MTT assay, showing a reduction to 28 % at 10 mM and some solvent toxicity at high concentrations. The combined effect of melatonin plus the IC₅₀ of cisplatin was also analyzed. The vaginal formulation was developed according to FEUM, and its characterization included FTIR, XRD, disintegration time, hardness, and weight uniformity. The results confirmed the presence of melatonin and showed an adequate disintegration time in simulated vaginal fluid, with sufficient resistance for handling. Thus, a viable formulation was obtained for use in intravaginal devices.

Recibido: 07 de marzo 2025
Revisado: 30 de abril 2025
Aceptado: 06 de junio 2025
Publicado: 21 de julio 2025



Este artículo es un artículo de acceso abierto distribuido bajo los términos y condiciones de la licencia CC BY-NC-SA 4.0. Para ver una copia de esta licencia visite <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>



Introducción

Actualmente el cáncer cervicouterino es considerado un problema de salud pública. A nivel mundial, se encuentra entre los cuatro tipos de cáncer con mayor incidencia y mortalidad. En el año 2022 se registró un número estimado de 662,301 casos y 348,874 muertes (Globocan, 2022). En México, es el segundo cáncer más frecuente en la población femenina. El principal factor de riesgo para el desarrollo de la neoplasia es el virus del papiloma humano (VPH). El VPH está considerado como uno de los agentes causantes de enfermedades de transmisión sexual más comunes en hombres y mujeres, por su forma de contagio piel a piel o mucosa a mucosa (Rojas et al., 2012). Aunque el virus puede afectar a ambos sexos, las lesiones en la cavidad cervical femenina causadas por el VPH han tenido un mayor impacto en las mujeres. Estas lesiones provocan cambios en las células cervicales, que pueden derivar en neoplasias intraepiteliales cervicales (NIC) y cáncer cervicouterino (Ramírez et al., 2022). Los patrones de tratamiento actuales para este tipo de cáncer son la quimioterapia, ablación quirúrgica, radioterapia externa y braquiterapia. No obstante, estos tratamientos clínicos suelen presentar una alta toxicidad y efectos secundarios severos. Además, su carácter invasivo y alto costo pueden provocar su discontinuación, lo que podría favorecer el desarrollo de resistencia en las células cancerosas (Lin et al., 2022).

Dada la alta toxicidad y resistencia celular generada por estos tratamientos, se propone el uso de melatonina (MEL) como agente para terapia de combinación. La melatonina, una hormona producida principalmente por la glándula pineal, posee múltiples propiedades, entre ellas su actividad antioxidante y su papel en el sistema inmunológico. Además, se ha utilizado en el tratamiento de diversos trastornos, como el insomnio, y en enfermedades como la diabetes, afecciones neurodegenerativas, infecciosas y algunos tipos de cáncer. Por lo tanto, podría mejorar la eficacia de las terapias existentes y reducir sus efectos adversos (Fernandez, 2019; Abbaszadeh et al., 2017). Actualmente, la administración oral en estado sólido es la forma más común de suministrar melatonina; sin embargo, estudios han demostrado que esta vía presenta una baja biodisponibilidad (Zetner et al., 2021). Por ello, cuando se requieren dosis altas y localizadas, se prefieren otras vías de administración, como la vaginal, rectal o pulmonar. Esto se debe a que mejora la biodisponibilidad de la hormona y reduce significativamente los efectos secundarios generales y gastrointestinales (Abass et al., 2012). Además, la administración a través de las membranas mucosas, como la vaginal y rectal, evita el metabolismo hepatogastrointestinal de primer paso que se asocia con la vía oral. En el presente trabajo de investigación se pretende la formulación de un dispositivo intravaginal cargado con melatonina en un entorno celular de cáncer, para evaluar su efecto potenciador de la quimioterapia (Zetner et al., 2021). Este enfoque



innovador busca contribuir al desarrollo de tratamientos menos invasivos y más efectivos para el cáncer cervicouterino, promoviendo así la salud de las pacientes afectadas.

Materiales y Métodos

Reactivos y equipos

Para la elaboración del óvulo se utilizó grenetina (Fermont, Monterrey, México), alcohol polivinílico (PVA), glicerina (ALDROPAZ, Guadalajara, México), propilenglicol (ALDROPAZ, Guadalajara, México), melatonina (MEL) (SHQ, México), PEG 6000 wt (Sigma Aldrich, EE. UU), etanol (AZ, México), dimetilsulfóxido (DMSO) (Sigma Aldrich), glicofurol (Sigma Aldrich, EE. UU) y agua doble destilada. Vortex (CORNING, LSE vortex mixer, EE. UU), incubadora de agitación (LUZEREN, México), plancha de calentamiento y agitación (CORNING, PC-OD, EE. UU), NanoDrop, (Thermo Fisher Scientific, EE. UU) y moldes para óvulos genéricos.

Fluido vaginal simulado

Se desarrolló un medio para simular el fluido producido en la vagina humana. La formulación para 1 litro de solución se preparó de acuerdo con Owen & Katz (1999) e incluyó cloruro de sodio (3.51 g), hidróxido de potasio (1.40 g), hidróxido de calcio (0.222 g), albúmina bovina (0.018 g), ácido láctico (2.00 g), ácido acético glacial (1.00 g), glicerina (0.16 g), urea (0.40 g), dextrosa (5.00 g) y agua suficiente para completar un litro. Al finalizar la preparación, la mezcla se ajustó a un pH de 4.2 utilizando ácido clorhídrico.

Determinación de la solubilidad de la melatonina

Para evaluar la solubilidad de la MEL, se realizaron pruebas en distintos medios dispersantes: agua, etanol, propilenglicol, glicofurol y DMSO, identificando el punto de disolución y precipitación. Para las soluciones, se prepararon concentraciones ascendentes de MEL (de 0 a 100 mg) en 1 ml de cada medio dispersante, en tubos Eppendorf de 1.5 mL. La cantidad calculada de MEL se disolvió en los diferentes disolventes y se sometió a vortex durante dos minutos. Posteriormente, las muestras se agitaron a 300 rpm a 35 °C durante 20 minutos.

Análisis espectrofotométrico

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite cuantificar la concentración de un compuesto en solución (Ramírez et al., 2009). La absorbancia de las soluciones de melatonina con los diferentes disolventes (agua, etanol, propilenglicol, glicofurol y DMSO) se determinó utilizando un espectrofotómetro NanoDrop en un rango de 200 a 400 nm.



Cultivo celular

La línea celular de cáncer cervicouterino HeLa se cultivó en medio DMEM alto en glucosa (BIOWEST), suplementado al 10% de suero fetal bovino (FBS) (BIOWEST) y 1% de mezcla de antibióticos Penicilina-Estreptomicina-Neomicina (PSN) (Sigma Aldrich, EE. UU.), en condiciones de incubación a 37 °C, 80% de humedad relativa y 5% de CO₂.

Determinación de la citotoxicidad por MTT

Para los tratamientos, se sembraron 1×10^4 células por pozo en microplacas de 96 pocillos, con un volumen de 100 μ L de medio, 24 horas antes del experimento. La MEL se diluyó en glicofurol y se prepararon concentraciones de forma seriada, comenzando con una concentración máxima de 10 mM, seguida de 5, 2.5, 1.25, 0.65, 0.31 y 0.15 mM. Además, se evaluó la toxicidad del vehículo por separado bajo las mismas condiciones. Se diseñó otro experimento en el que la MEL se aplicó en serie, como en el tratamiento anterior, pero con una incubación de 3 horas. Posteriormente, se retiró y fue sustituida por la IC₅₀ de cisplatino, incubándose por 24 horas. Los experimentos se realizaron en cuadruplicado para cada concentración. Después de 24 horas, se añadieron 10 μ L de MTT y se incubaron nuevamente por 3 horas. Luego, se retiró el medio y las sales de formazán se solubilizaron con DMSO. Finalmente, se midió la absorbancia a 570 nm en un lector de placas (Bio-Rad, EE. UU.).

Formulación

La formulación del óvulo se realizó modificando el protocolo de Abass et al. (2012), adoptando el método de preparación por fusión. Para su elaboración, primero se estandarizaron los parámetros necesarios para obtener las fórmulas finales, las cuales se componen de: fórmula 16: grenetina, glicerina, PVA 4%, PEG 6000 wt 4%, glicofurol, MEL y agua. Fórmula 17: grenetina, glicerina, PVA 5%, PEG 6000wt 5%, glicofurol, MEL y agua. Ambas formulaciones contienen concentraciones optimizadas de cada ingrediente.

Caracterización farmacotécnica del óvulo vaginal

Tiempo de desintegración

La prueba se realizó colocando tres óvulos por separado en 25 mL de fluido vaginal simulado, en tubos de 50 mL, que fueron puestos en el equipo shaking incubador (LUZEREN, THZ-100, México) a 37 °C a 130 rpm. El tiempo de desintegración,



así como las observaciones, se registraron tan pronto como los óvulos se empezaron a derretir o desintegrar por completo.

Prueba de dureza

La prueba de dureza se realizó utilizando un probador de dureza (VTSYIQI, Francia), aplicando un aumento de presión a temperatura ambiente. Se calculó el peso, en kilogramos, necesario para la deformación y ruptura de los óvulos. Este análisis es fundamental, ya que determina la resistencia mecánica de los óvulos y su capacidad para soportar la presión durante la manipulación, el envío y la aplicación.

Prueba de uniformidad de peso

La prueba de uniformidad de peso se llevó a cabo evaluando los óvulos dentro de los límites establecidos por la farmacopea (B.P., 2011). Se pesaron 10 óvulos de cada fórmula y se determinó su peso medio y desviación estándar (Hargoli, Farid, Azarmi, Ghanbarzadeh, & Zakeri, 2013).

Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR)

La espectroscopia FTIR se empleó para analizar la composición química, las propiedades moleculares y la adsorción superficial de los grupos funcionales presentes en las formulaciones. Para ello, se realizaron cortes sagitales en los óvulos vaginales de las formulaciones finales, los cuales fueron colocados en el porta muestras del equipo FTIR y sometidos a presión. La adquisición de los espectros se llevó a cabo mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR), utilizando un espectrómetro Thermo Fisher Scientific Nicolet iS5. Cada espectro se registró promediando ocho escaneos, con una resolución espectral de 4 cm^{-1} .

Difracción de Rayos X (DRX)

La difracción de rayos X se realizó con un difractómetro Panalytical Empyrean (Panalytical, Malvern, Reino Unido) con un tubo de ánodo de cobre que emite radiación $\text{CuK}\alpha = 0,154\text{ nm}$. El análisis se realizó con tres cortes de diferentes partes del óvulo vaginal de cada formulación sobre un soporte de vidrio. Este análisis permite determinar si el principio activo se encuentra en su forma cristalina original o si ha sufrido transformaciones durante el proceso de formulación.

Análisis estadístico

Los datos de viabilidad celular fueron expresados como la media \pm desviación estándar. Estos datos fueron sujetos a un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de



Tukey de comparaciones múltiples. Las diferencias se consideraron significativas a $*p < 0.05$, $**p < 0.001$, $****p < 0.0001$. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa GraphPad Prism 9.

Resultados y Discusión

Solubilidad de la melatonina

Se prepararon soluciones con concentraciones crecientes de MEL en distintos disolventes: agua, propilenglicol, etanol, DMSO y glicofurol, como se muestra en la Figura 1. Se observó que la solubilidad de la MEL fue mayor en DMSO y glicofurol, seguidos de etanol, propilenglicol y agua. En el diseño de la formulación vaginal con MEL, se consideró fundamental la selección de excipientes que permitieran una adecuada solubilización del principio activo, así como tolerancia por mucosas y estabilidad fisicoquímica. Entre los disolventes evaluados, el glicofurol (GCF) fue seleccionado debido a sus propiedades tecnológicas y farmacológicas favorables. El glicofurol demostró una excelente capacidad para disolver MEL, lo que permitió obtener soluciones homogéneas y estables. Además, se encuentra aprobado por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2020) para su uso en dispositivos de administración intravaginal, lo que respalda su seguridad regulatoria en este tipo de formulaciones. A diferencia de otros disolventes potenciales como el DMSO o el etanol, el glicofurol ha demostrado una mayor compatibilidad con tejidos sensibles como la piel y las mucosas, reduciendo significativamente el riesgo de irritación local, especialmente en aplicaciones parenterales o mucosas. Esta característica lo ha consolidado como un excipiente de elección en formulaciones inyectables, oftálmicas y vaginales. Aunque puede generar irritación en concentraciones elevadas o cuando se emplea sin diluir, en las proporciones utilizadas como excipiente se considera seguro, no tóxico y bien tolerado. Además, presenta una alta estabilidad química, ya que no se oxida ni se degrada fácilmente con el tiempo, lo que contribuye favorablemente a la vida útil y estabilidad del producto final. A esto se suma su excelente compatibilidad con una amplia gama de principios activos y excipientes, permitiendo su incorporación en sistemas multicomponente sin comprometer la funcionalidad ni la integridad del sistema de liberación (Rowe et al., 2009; Allen & Ansel, 2013). Con base en estas características, el glicofurol fue incorporado como componente clave en la formulación vaginal desarrollada, permitiendo optimizar la solubilidad, estabilidad y seguridad del sistema de administración propuesto para MEL.

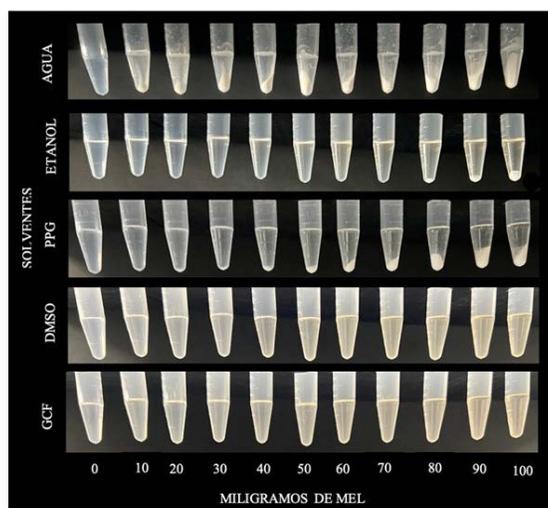


Figura 1. Solubilidad de la melatonina en diferentes disolventes: agua, etanol, propilenglicol (PPG), DMSO y glicofurol (GCF)

Fuente: propia

Análisis espectrofotométrico

La caracterización espectroscópica de MEL se llevó a cabo mediante espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis), registrando su máxima absorción en el intervalo de 323 a 327 nm, dependiendo del disolvente utilizado. Los resultados evidencian que el comportamiento espectral de MEL varía significativamente con el medio disolvente, lo cual sugiere una influencia directa del entorno químico sobre su transición electrónica $\pi \rightarrow \pi^*$ característica. La Figura 2 muestra los espectros de absorción obtenidos para MEL disuelta en cinco disolventes: agua, DMSO, propilenglicol, etanol y glicofurol. En DMSO, propilenglicol, etanol y glicofurol se observaron picos de absorción bien definidos dentro del rango esperado, lo que confirma la solubilidad y estabilidad espectral de la MEL en estos medios. En contraste, en medio acuoso no se detectó una señal espectral atribuible a la MEL, debido a su baja solubilidad en agua, la cual provocó la formación de precipitados visibles, impidiendo su adecuada detección por UV-Vis. Estos resultados subrayan la importancia de seleccionar un disolvente adecuado para estudios espectrofotométricos y aplicaciones farmacéuticas de la MEL, ya que el medio no solo afecta su solubilidad, sino también su comportamiento óptico, lo cual podría repercutir en la eficacia y estabilidad de las formulaciones desarrolladas.

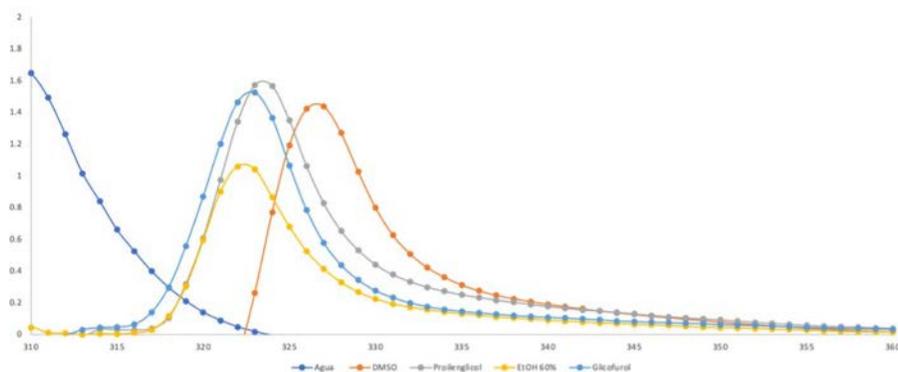


Figura 2. Absorbancias de la MEL evaluada en cinco disolventes: agua, DMSO, propilenglicol, etanol y glicofuro, en función de la longitud de onda (310 a 360 nm). Cada curva representa cómo el entorno químico (disolvente) influye en la absorción de luz UV de la MEL; el eje x representa la longitud de onda en nanómetros y la absorbancia se muestra en el eje y

Fuente: propia

Determinación de la citotoxicidad por MTT

En el primer experimento se evaluaron los efectos de la MEL disuelta en glicofuro sobre la viabilidad de células HeLa; se realizó un ensayo MTT aplicando distintas concentraciones de MEL y del vehículo por separado (Figura 3A). Los resultados mostraron una disminución en la viabilidad celular conforme aumentaba la concentración de MEL, alcanzando un 28% a 10 mM. Sin embargo, también se observó cierta toxicidad del disolvente en las concentraciones más elevadas. Además, se realizó un tratamiento combinado de MEL más la IC_{50} de cisplatino. En esta prueba se incluyeron un control negativo (células sin tratamiento) y un control positivo (células tratadas solo con la IC_{50} de cisplatino). Las barras en cada columna representan la desviación estándar. Los resultados sugieren que la MEL potencia de manera significativa los efectos citotóxicos del cisplatino en las concentraciones de 1.25 a 10 mM (Figura 3B). Estos resultados están en concordancia con los hallazgos reportados por Pariente et al., (2016) y Chen et al., (2018). El cisplatino ejerce sus efectos citotóxicos a través de la unión covalente del platino a las bases púricas guanina y adenina en el ADN. Esta unión covalente conduce a entrecruzamientos intra e intercatenarios, lo que provoca rompimientos de cadena, interfiriendo con los mecanismos de reparación del ADN y provocando la inducción de apoptosis en las células cancerosas (Dasari & Tchounwou, 2014). Por su parte, la MEL ejerce su acción citotóxica en células de cáncer al inhibir vías de señalización como JNK (Chen et al., 2018) y NF- κ B (Minocha et al., 2022). Asimismo, puede suprimir la glicólisis aeróbica (metabolismo tipo Warburg), conduciendo a la muerte celular (Mihanfar, et al., 2022).

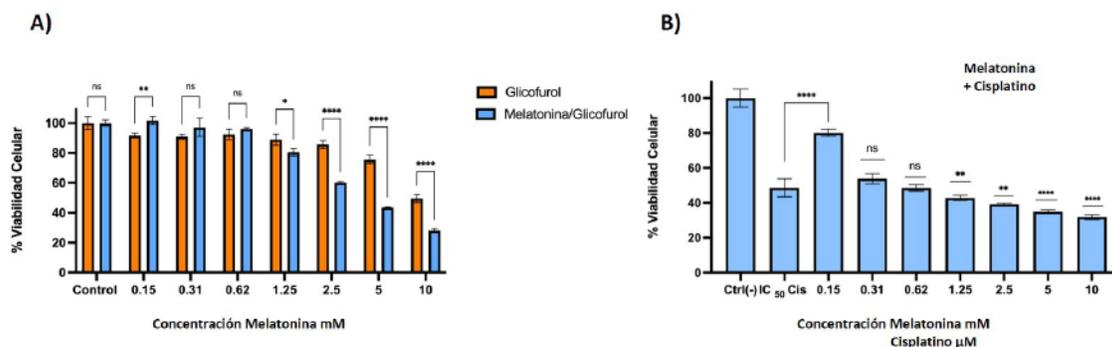


Figura 3. Actividad citotóxica en células HeLa, tras el tratamiento con A) MEL diluida en glicofurolo y glicofurolo solo, en diferentes concentraciones, y B) 24 horas después de la aplicación del tratamiento combinado de MEL e IC₅₀ de cisplatino. Los asteriscos indican diferencias significativas entre los tratamientos a * $p < 0.05$, ** $p < 0.001$, **** $p < 0.0001$. ns - no significativo

Fuente: propia

Formulación de los óvulos vaginales

Durante la etapa inicial de desarrollo se formularon distintas composiciones de óvulos con el objetivo de optimizar su desempeño físico y funcional. Las formulaciones fueron evaluadas mediante pruebas de tiempo de desintegración, dureza y uniformidad de peso, parámetros críticos para garantizar la estabilidad, manipulación y liberación adecuada del principio activo. Algunas de las formulaciones presentaron una morfología apropiada, con óvulos bien conformados. Sin embargo, varios de ellos mostraron una consistencia excesivamente blanda, lo que los hacía susceptibles a la deformación a temperaturas superiores a 30 °C (Figura 4). Este comportamiento térmico indicaba una baja resistencia estructural, comprometiendo la integridad del óvulo durante su manipulación y potencialmente durante su administración intravaginal. Como resultado, estas formulaciones fueron descartadas, dado que no cumplían con los requisitos mínimos de resistencia mecánica y estabilidad térmica, esenciales para garantizar tanto la seguridad del producto como la reproducibilidad en su aplicación clínica.



Figura 4. Primeras formulaciones vaginales, en donde se observa su desintegración solo con la manipulación

Fuente: propia



Las formulaciones 16 y 17 se desarrollaron cumpliendo los parámetros necesarios para su adecuada aplicación y manejo, descartando aquellas que no cumplieran con los requisitos establecidos. Estas formulaciones se lograron modificando las concentraciones de los excipientes, seleccionándolos en función del tiempo de desintegración obtenido mediante la prueba correspondiente. Tienen una consistencia sólida y uniforme, presentan una forma ovalada, son de color amarillo y pesan alrededor de 1.5 g; sin embargo, el peso puede variar dependiendo de la base y los productos utilizados en su fabricación. En este caso, se trata de óvulos hidrofílicos a base de glicerina y gelatina (Figura 5).



Figura 5. Formulaciones 16 y 17 de óvulos vaginales
Fuente: propia

Caracterización farmacotécnica de los óvulos vaginales

Tiempo de desintegración

La prueba de desintegración se realizó utilizando un fluido vaginal simulado, registrando el tiempo transcurrido desde la aparición de los primeros cambios físicos hasta la pérdida completa de la forma sólida. Ambas formulaciones evaluadas (F16 y F17) presentaron comportamientos similares durante la fase inicial, permaneciendo intactas durante el primer minuto de exposición. No obstante, conforme aumentó el contacto con el fluido y la temperatura, los óvulos comenzaron a ablandarse progresivamente y a fundirse, completando el proceso de desintegración en un intervalo de 20 a 30 minutos. Al finalizar este periodo, las formulaciones habían perdido completamente su estructura sólida, formando un gel homogéneo en el fondo de los tubos de ensayo (Figura 6). Estos resultados se consideran aceptables desde el punto de vista farmacotécnico. Aunque la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2020) no establece un tiempo específico de desintegración para los óvulos vaginales, se ha documentado que tanto los óvulos como

los supositorios deben desintegrarse en un tiempo no mayor a 60 minutos, criterio que fue cumplido por ambas formulaciones.

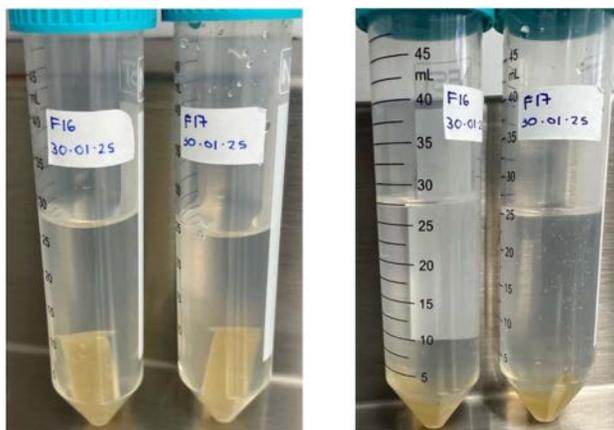


Figura 6. Prueba de desintegración de contenido. Imagen de la izquierda, formulaciones al minuto cero incorporadas al fluido vaginal simulado; imagen de la derecha, prueba concluida
Fuente: propia

Prueba de dureza

La dureza de las formulaciones fue evaluada mediante un probador de dureza VTS-YIQI, aplicando presión de forma controlada a temperatura ambiente. Esta prueba permite determinar la resistencia mecánica de los óvulos frente a las fuerzas de manipulación, transporte e inserción. Los resultados mostraron que la formulación F16 presentó una dureza de 2.12 kg, mientras que la formulación F17 alcanzó 2.53 kg. Estos valores se consideran adecuados para garantizar la estabilidad estructural de las unidades durante su manipulación, sin comprometer la capacidad de desintegración posterior en condiciones fisiológicas.

Prueba de uniformidad de peso

La uniformidad de peso es un parámetro esencial en el control de calidad de formas farmacéuticas sólidas individuales. Para esta prueba se pesaron individualmente los óvulos de cada lote, comparando su masa con el peso promedio de la muestra. Los resultados fueron evaluados conforme a los criterios establecidos por la FEUM, la British Pharmacopeia (BP) y la United States Pharmacopeia (USP), que establecen rangos aceptables de variación porcentual en productos sólidos unitarios. Ambas formulaciones cumplieron satisfactoriamente con los límites de tolerancia: F16: valores entre 1291 mg y 1426 mg y F17: valores entre 1271.7 mg y 1405.5 mg. Los óvulos analizados se mantuvieron dentro del margen permitido, por lo que la prueba de uniformidad de peso fue aprobada, confirmando la consistencia del proceso de fabricación y la confiabilidad de los lotes producidos.



Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

A través del análisis por FTIR se verificó la presencia de MEL pura y de MEL combinada con los demás componentes de las formulaciones (Figura 7). El espectro de la MEL reveló bandas nítidas en 3272 (estiramiento N-H), 3018 (vibración CH), 2924 (estiramiento OH), 1606 (estiramiento C=O), 1587 (estiramiento C=C) y 1382 (estiramiento C-N) cm^{-1} . Estos resultados concuerdan con lo reportado por Aghaz et al. (2023). Estas bandas pudieron observarse también en las formulaciones, lo que indica la presencia de MEL en las mismas.

De manera similar, se realizó el análisis con las formulaciones que no contenían MEL, en donde se pudieron observar los diferentes componentes, en comparación con los parámetros de longitud de onda que muestra la MEL (Figura 8).

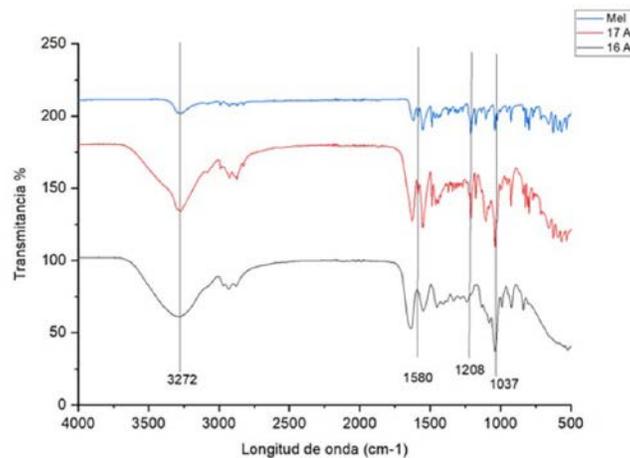


Figura 7. Espectros de FTIR de las formulaciones 16 y 17 cargadas con melatonina
Fuente: propia

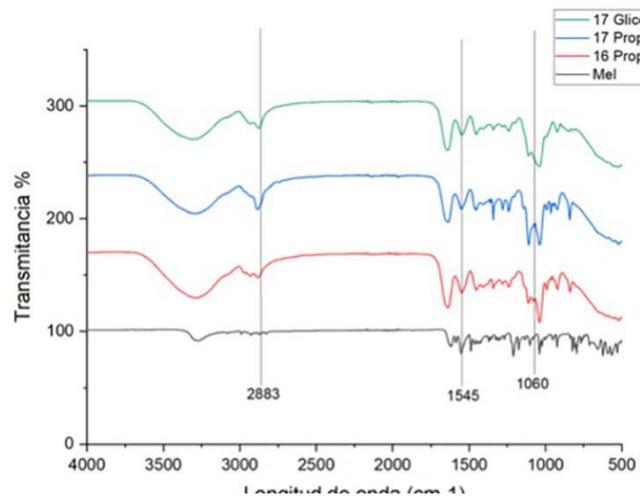


Figura 8. Comparación de los espectros de FTIR de melatonina, con las formulaciones 16 y 17 sin melatonina. La formulación 17 se muestra en dos disolventes, glicofuro y propilenglicol
Fuente: propia

Difracción de Rayos X

El análisis por DRX demostró que la MEL se segregó, formando cristales a partir de la acumulación de sus moléculas. La curva de color azul (MEL pura) muestra múltiples picos definidos y estrechos en 16.5, 19.0, 24.5, 25.5 y 26.5° 2 θ , lo que indica una estructura altamente cristalina (Figura 9). Estos resultados coinciden con lo reportado por Borrego-Sánchez et al., (2021). Las curvas en rojo (F17-1), morado (F17-2) y naranja (F16) presentan un comportamiento más difuso, con menos picos marcados, lo que podría indicar que la MEL se encuentra en una fase parcialmente amorfa o dispersa en la matriz del excipiente; además, se pueden observar regiones sombreadas en zonas donde los picos coinciden, sugiriendo que las formulaciones contienen huella de la fase cristalina original (Figura 9).

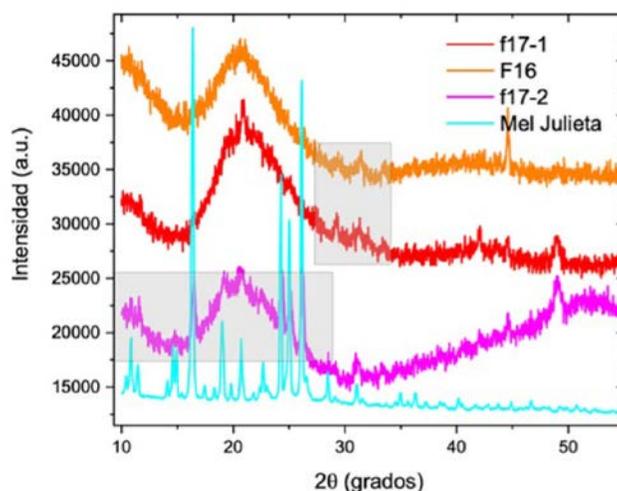


Figura 9. Patrón de difracción de rayos X de melatonina, formulación F16 y dos formulaciones F-17
Fuente: propia

Conclusiones

En el presente trabajo de investigación se logró determinar la solubilidad de la MEL, lo que permitió seleccionar el mejor vehículo para su incorporación en forma líquida, siendo el glicofurol la opción más adecuada. Además, se evaluó un aspecto fundamental del estudio: la citotoxicidad de la MEL, tanto de manera individual como en combinación con el fármaco oncoterapéutico cisplatino en un cultivo de células HeLa. Con base en estos resultados, y en concordancia con otras investigaciones, se sugiere que la MEL tiene la capacidad de potenciar los efectos de los fármacos antineoplásicos. Las formulaciones vaginales finales se obtuvieron tras la optimización de los excipientes hasta alcanzar la consistencia y los parámetros aceptables. Para validar estas características, se realizaron pruebas de desintegración y dureza,



asegurando que los óvulos presentaran las propiedades físicas necesarias para un manejo y aplicación óptimos. Por otro lado, los análisis de FTIR y DRX confirmaron la presencia de MEL, incluso después de su incorporación en la formulación. Estos parámetros son fundamentales en el control de calidad de las formulaciones, garantizando su eficacia y seguridad.

Conflicto de interés

Los autores declaran que la investigación se realizó en ausencia de cualquier relación comercial o financiera que pudiera interpretarse como un posible conflicto de interés.

Financiamiento

El financiamiento fue otorgado por CONAHACYT-CBF2023-2024-2164 para la realización de esta investigación.

Referencias

- Abass, H., Kamel, R., & Abdelbary, A. (2012). Metronidazole bioadhesive vaginal suppositories: formulation, *in vitro* and *in vivo* evaluation. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1), 344-353. ISSN- 0975-1491.
- Abbaszadeh, A., Haddadi, G. H., & Haddadi, Z. (2017). Melatonin role in ameliorating radiation-induced skin damage: from theory to practice (a review of literature). *Journal of Biomedical Physics & Engineering*, 7(2), 127-136. PMID: 28580334; PMCID: PMC5447249.
- Aghaz, F., Asadi, Z., Sajadimajd, S., Kashfi, K., Arkan, E., & Rahimi, Z. (2023). Codelivery of resveratrol melatonin utilizing pH responsive sericin based nanocarriers inhibits the proliferation of breast cancer cell line at the different pH. *Scientific Reports*, 13, 11090. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-37668-y>
- Allen, L. V., & Ansel, H. C. (2013). *Ansel's pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems (10th ed.)*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Borrego-Sánchez, A., Muñoz-Santiburcio, D., Viseras, C., Hernández-Laguna, A., & Sainz-Díaz, C. I. (2021). Melatonin/nanoclay hybrids for skin delivery. *Preprints*, 1-23. doi:10.20944/preprints202107.0395.v1
- British Pharmacopoeia Commission, Stationery Office (Great Britain). (2011). *British Pharmacopoeia*. Stationery Office
- Chen, L., Liu, L., Li, Y., & Gao, J. (2018). Melatonin increases human cervical cancer HeLa cells apoptosis induced by cisplatin via inhibition of JNK/Parkin/mitophagy axis. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Animal*, 54, 1-10. <https://doi.org/10.1007/s11626-017-0200-z>



- Dasari, S., & Tchounwou, P. B. (2014). Cisplatin in cancer therapy: Molecular mechanisms of action. *European Journal of Pharmacology*, 740, 364-378. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.07.025>
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. (2020). *Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 13a ed.* <https://www.farmacopea.org.mx>
- Fernández, G. (2019). *La melatonina incrementa la citotoxicidad de la radioterapia y del cisplatino en un modelo de cáncer de cabeza y cuello estimulando la generación de ros mitocondriales, la apoptosis y la autofagia.* Universidad de Granada. <http://hdl.handle.net/10481/55495>
- Hargoli, S., Farid, S., Azarmi, S., Ghanbarzadeh, P., & Zakeri, M. (2013). Preparation and in vitro evaluation of naproxen suppositories. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 75(2), 143-148
- International Agency for Research on Cancer. (2022). *Global Cancer Observatory.* <https://gco.iarc.fr/en>
- Lin, X., Kong, D., & Chen, Z. (2022). Chemo-radiation-resistance in cancer therapy. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/FPHAR.2022.904063/FULL>
- Mihanfar, A., Yousefi, B., Azizzadeh, B., & Majidinia, M. (2022). Interactions of melatonin with various signaling pathways: implications for cancer therapy. *Cancer Cell International*, 22, 420. <https://doi.org/10.1186/s12935-022-02825-2>.
- Minocha, T., Das, M., Rai, V., Verma, S. S., Awasthee, N., Gupta, S. C., Haldar, C., & Yadav, S. K. (2022). Melatonin induces apoptosis and cell cycle arrest in cervical cancer cells via inhibition of NF- κ B pathway. *Inflammopharmacology*, 30, 1411-1429. <https://doi.org/10.1007/s10787-022-00964-6>
- Owen, D. H., & Katz, D. F. (1999). A vaginal fluid simulant. *Contraception*, 59(2), 91-95. [https://doi.org/10.1016/s0010-7824\(99\)00010-4](https://doi.org/10.1016/s0010-7824(99)00010-4).
- Pariente, R., Pariente, J. A., Rodríguez, A. B., & Espino, J. (2016). Melatonin sensitizes human cervical cancer HeLa cells to cisplatin-induced cytotoxicity and apoptosis: effects on oxidative stress and DNA fragmentation. *Journal of Pineal Research*, 60, 55-64. Doi:10.1111/jpi.12288
- Ramírez, M., Castineira, M., & Nieto, O. (2009). Desarrollo de un método y su validación para la determinación de melatonina en tabletas. *Superficies y vacío*, 22(3), 29-32. Recuorado de https://www.redalyc.org/pdf/942/Resumenes/Abstract_94216153007_2.pdf
- Ramírez, K., Castillo, A., Barragan, E., & Carbo, S. (2022). Virus del papiloma humano y su relación con el cáncer de cérvix. *RECIMUNDO*, 6(2), 346–354. [https://doi.org/10.26820//recimundo/6.\(2\).abr.2022.346-354](https://doi.org/10.26820//recimundo/6.(2).abr.2022.346-354)



- Rojas, M., Córdova, C., & Sánchez, J. (2012). Evaluación del estudio de Papanicolaou y la colposcopia en el diagnóstico de neoplasia intraepitelial cervical en la Unidad Especial Centro de Apoyo Diagnóstico San Rafael. *Revista de Especialidades Médico-Quirúrgicas*, 17(2), 76-80
- Rowe, R. C., Sheskey, P. J., & Quinn, M. E. (2009). *Handbook of pharmaceutical excipients (6th ed.)*. Pharmaceutical Press / American Pharmacists Association.
- United States Pharmacopeial Convention. (2020). *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 43-NF 38)*. United States Pharmacopeial Convention. <http://182.160.97.198:8080/xmlui/handle/123456789/1493>
- Zetner, D., & Rosenberg, J. (2020). Solubility and stability of melatonin in propylene glycol, glycofurol, and dimethyl sulfoxide [version 1; peer review: 2 approved with reservations]. *F1000Research*, 9, 85. <https://doi.org/10.12688/f1000research.21992.1>
- Zetner, D., Andersen, L. P. K., Alder, R., Jessen, M. L., Tolstrup, A., & Rosenberg, J. (2021). Pharmacokinetics and safety of intravenous, intravesical, rectal, transdermal, and vaginal melatonin in healthy female volunteers: a cross-over study. *Pharmacology*, 106(3-4), 169-176. <https://doi.org/10.1159/000510252>.