

34
2ej



Universidad Nacional
Autónoma de México

Facultad de Estudios Superiores
CUAUTITLAN



Miniaturización de un sistema iontoterapéutico experimen-
tal de permeación periódica de fármacos.

T E S I S

Que para obtener el Título de
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

p r e s e n t a n

BEATRIZ GUTIERREZ MARINES
FRANCISCO RODRIGUEZ REBOLLEDO

Director de Tesis:
D.E.S.S. RODOLFO CRUZ RODRIGUEZ

Cuautitlán Izcalli, Edo. de Méx.

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

CAPITULO I

1. Generalidades	
1.1. Introducción	1
1.2. Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada	2
1.3. Sistemas Transdérmicos de Liberación	4
1.4. Definición de Sistema Iontoforético de Liberación	6
1.4.1. Sistemas Iontoforéticos de Liberación	7
1.4.2. Piel	8
1.4.2.1. Propiedades Eléctricas de la Piel	10
1.4.3. Mecanismo de Permeación por Iontoforesis	13
1.4.4. Factores que Afectan la Velocidad de Permeación en Iontoforesis	14
1.4.5. Componentes de los Sistemas Iontoforéticos	16
1.4.6. Ventajas y Desventajas de un Sistema Iontoforético	18
1.5. Características del Fármaco	20

CAPITULO II

2. Planteamiento del Problema y Objetivos	
2.1. El Problema	24
2.2. Objetivos	25

CAPITULO III

3. Materiales y Métodos	
3.1. Material	26
3.2. Equipo	26
3.3. Método	26
3.3.1. Evaluaciones Previas	26
3.3.2. Metodología Experimental	27
3.3.2.1. Diseño del Sistema	27

3.3.2.2. Obtención de la Piel	28
3.3.2.3. Montaje del Sistema Ionofórico	28
3.3.2.4. Toma de Muestra	29
3.3.2.5. Caracterización del Sistema	30

CAPITULO IV

4. Resultados	
4.1. Evaluaciones Previas	32
4.2. Resultados Experimentales	34
4.3. Análisis Estadístico	39
4.4. Desarrollo del Sistema	41
4.5. Comportamiento del Sistema	46

CONCLUSIONES	48
---------------------	-----------

APENDICE	49
-----------------	-----------

REFERENCIAS	55
--------------------	-----------

CAPITULO I

1. GENERALIDADES

1.1. Introducción.

El desarrollo y consumo de medicamentos muestra que las formas farmacéuticas preferidas en la actualidad son las orales, a pesar de que presentan un índice de variabilidad elevado en los niveles sanguíneos de los fármacos en diferentes individuos. Los factores de variabilidad, resultado de la vía de administración (pH del tracto gastro intestinal, diferentes dietas y el metabolismo hepático) pueden evitarse si la liberación del fármaco se hace por una vía de administración diferente.

Actualmente pueden ser sintetizados, por medio de la biotecnología fármacos altamente ionizables, como péptidos y proteínas, estos compuestos son muy susceptibles a la degradación en el tracto gastro intestinal y al metabolismo del primer paso hepático cuando son administrados por vía oral, y cuando son administrados por vía parenteral es necesario una administración periódica debido a que su tiempo de vida media biológica es muy corta; por lo tanto, nace la importancia de desarrollar una nueva forma de dosificación para dichos fármacos (40,48).

Como consecuencia de estos problemas se han desarrollado nuevos sistemas de liberación que pueden controlar la velocidad de liberación de fármacos por diferentes vías de administración para

favorecer los efectos terapéuticos y disminuir los tóxicos, a estos sistemas se les han denominado "Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada".

12. Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada.

Los sistemas terapéuticos de liberación controlada surgen de la necesidad de mantener una liberación controlada del fármaco que inicialmente se realiza en rutas de administración oral, es así como los estudios siguientes se extienden a las rutas de administración parenteral. Se sabe que estos sistemas requieren de una cantidad óptima de principio activo, de tal forma, que al ser administrado el fármaco, se cumpla con la necesidad de curar o controlar una enfermedad en un tiempo mínimo, controlando la cantidad y velocidad de liberación.

El desarrollo de los sistemas de liberación controlada ha significado una forma de mejorar el suministro de los fármacos al organismo; estas formas de dosificación se fundamentan o tienen como principio el de dirigir el efecto farmacológico hacia un lugar en específico del organismo, controlando la velocidad con que los fármacos son liberados y manteniendo dicha velocidad de suministro más o menos constante, de tal manera que la concentración de los fármacos permanezca en los niveles terapéuticos necesarios (31).

La liberación controlada no se refiere únicamente a la prolongación de un efecto determinado, sino que también significa

que dicho efecto puede predecirse y reproducirse en su cinética de liberación (32).

La clasificación de éstos sistemas según Y. W. Chien es (33):

1. -Oculares
2. -Intravaginales
3. -Intrauterinos
4. -Parenterales
5. -Implantes
6. -Transdérmicos

OCULARES:

Un STLC de tipo ocular es aquel que presenta una administración tópica del medicamento en los alrededores del tejido de la cavidad ocular.

INTRAVAGINALES:

Son sistemas que se aplican en la vagina, la cual funciona como una ruta de administración que presenta varias ventajas, además de que la misma inserción y deposición son posibles.

INTRAUTERINOS:

Dispositivos diseñados para la anticoncepción en mujeres; su localización se da en la superficie endometrial del útero, con el fin de liberar agentes que controlan la concepción.

PARENTERALES:

Se caracterizan por la administración intravenosa de un fármaco, y alcanzan un rápido acceso al aparato circulatorio.

IMPLANTES:

Son sistemas que requieren de un implante en la piel, mediante una pequeña incisión en el tejido subcutáneo, donde se coloca un "pellet" que contiene el fármaco en su interior.

TRANSDERMICOS:

Estos sistemas consisten en la absorción de moléculas, mediante la permeación transdérmica que se origina en las diferentes capas de la piel siguiendo una serie de pasos en secuencia, los cuales son (4):

- 1.-La penetración de una molécula hacia el interior de la capa superficial que forma parte del estrato corneo.
- 2.-Difusión directa, a través de la epidermis viable y
- 3.-Llegar a la epidermis papilar.

Por lo anterior podemos determinar 3 rutas a seguir que son: El estrato corneo, folículo piloso y los conductos de las glándulas sudoríparas (5).

1.3. Sistemas Transdérmicos de Liberación.

A pesar de que la piel ha sido usada por mucho tiempo para administrar fármacos, el uso de la piel como un órgano de entrada para fármacos con efecto sistémico, es lo que se considera

novedoso. El primer problema, para pasar de un efecto local a uno sistémico es el control de la dosis; y el segundo gran problema es la penetrabilidad y potencia de los fármacos, la cual debe ser grande en ambos casos.

En base a lo antes mencionado se pueden definir a los sistemas de liberación transdérmica como: Sistemas que a través de permeación transdérmica o absorción percutánea proveen una liberación de fármacos preprogramada, a una velocidad y por un período de tiempo establecido, para satisfacer necesidades terapéuticas específicas (80).

Se sabe que la liberación transdérmica es más adecuada para fármacos que se administran en dosis pequeñas y que tienen un alto grado de permeabilidad a través de la piel (81).

La ventaja, a grandes rasgos, de la liberación transdérmica con respecto a la vía oral es que elimina el efecto del primer paso del metabolismo hepático (82).

Dado que la difusión pasiva a través de la piel es un fenómeno relativamente lento y que presenta inconvenientes para cierto tipo de fármacos, los investigadores han buscado y desarrollado nuevas formas para aumentar este transporte utilizando mejoradores químicos apropiados o aumentando la permeabilidad de la piel por medios físicos externos como el ultrasonido o la corriente eléctrica, los cuales proveen una energía externa para facilitar dicha permeabilidad; dichas categorías generales, son la

Sonoforesis y la Iontoforesis (31,40).

1.4. Definición de Sistema Iontoforético de Liberación.

La Iontoforesis, es un proceso o una técnica que involucra el transporte de moléculas dentro de un tejido mediante el paso de una corriente eléctrica a través de una solución electrolítica que contiene las moléculas que van a ser liberadas, utilizando un electrodo adecuado. Así, involucra la transferencia de moléculas dentro del cuerpo por una fuerza eléctrica. Las moléculas con carga positiva son dirigidas hacia la piel por el ánodo y las negativas por el cátodo (1,4, 10). Por lo tanto, la Iontoforesis es un proceso, el cual, causa un aumento en la penetración de moléculas de soluto dentro de los tejidos por el uso de una corriente eléctrica aplicada a dicho tejido (1,2,10,15,17, 23,33,37).

La Iontoforesis ha sido utilizada para aumentar la permeación de moléculas, tanto cargadas como neutras. El mecanismo que más influye, en el caso de moléculas neutras, es el flujo convectivo y las alteraciones que sufre la piel en presencia de un campo eléctrico. El flujo convectivo se da cuando un ión en movimiento acarrea con él una capa de solvente (13).

La iontoforesis induce el movimiento de iones en solución mediante un gradiente de potencial eléctrico (1,0), mientras que otros fenómenos electrocinéticos, como la electroforesis y la electroósmosis, involucran el movimiento de coloides (0).

La ventaja de este sistema de permeación es que compuestos, que normalmente no pueden penetrar por la piel pueden ser permeados, y el flujo del fármaco dentro de la circulación puede ser controlado variando la corriente aplicada (37).

1.4.1. Sistemas Iontoforéticos de Liberación.

El uso potencial de la electricidad en aplicaciones biomédicas fue explorado antes de descubrirse. Así, los toques del pez Torpedo fueron utilizados por el médico griego AETius para el tratamiento de la Gota. Desde entonces, la electricidad ha encontrado un lugar en la medicina, primordialmente para terapias físicas (48).

Cerca del año 1800, William Gilbert publica un libro titulado "De Magneto", el cual incrementa el interés del uso de la electricidad para tratamientos. La idea de aplicar una corriente eléctrica para incrementar la penetración de fármacos cargados a través de la superficie de tejidos fue probablemente originada por Veratti en 1747. El primer trabajo bien documentado fue hecho a principios del siglo XX por Leduc; colocó dos conejos en serie con un generador de corriente directa, demostrando la introducción de iones de estriquina y ciano en los conejos cuando aplicó la polaridad correcta. Los resultados fueron dramáticos ya que uno de los conejos fue atacado por convulsiones tetánicas debidas a la introducción de los iones de estriquina, mientras que el otro conejo murió con síntomas de intoxicación con ciano. En 1936, Ichihashi demostró que la sudoración podía reducirse con la transferencia de ciertos iones por métodos iontoforéticos. Esto

fue el origen de la aplicación de la Iontoforesis para el tratamiento de la hiperhidrosis. Por otro lado, Gibson y Coke utilizaron la técnica iontoforética para estimular la sudoración y facilitar el diagnóstico de la fibrosis quística administrando pilocarpina. Este procedimiento fue convincente, ya que no produce traumatismo y requiere solo 5 minutos para inducir una rápida sudoración hasta por 30 minutos (18).

Una característica importante de la iontoforesis es que permite el uso de fármacos con un tiempo de vida biológica corta.

Las investigaciones han continuado para lograr que el método iontoforético se pueda usar no solo localmente sino sistémicamente, así en los 80's se han investigado fármacos como el propanolol, metoprolol, oxycodina, hormona folículo estimulante, insulina, verapamil y vasopresina. Monkhouse y Hug suponen que en el futuro tal vez se verán pacientes usando sistemas transdérmicos controlados por "chips" en forma de relojes para liberar fármacos en los rangos deseados. Es importante denotar que se debe investigar más sobre el mecanismo de liberación iontoforética así como la reversibilidad de la permeabilidad de la piel, ya que aún existen muchas incógnitas (18).

1.4.2. Piel.

La piel de un adulto en promedio cubre una superficie de dos metros cuadrados y recibe alrededor de la tercera parte de la

circulación sanguínea a través del cuerpo. Es uno de los órganos más accesibles del cuerpo humano (17).

Microscópicamente, la piel es un órgano compuesto por multicapas divididas histológicamente en tres; la epidermis, la dermis y la hipodermis. La epidermis a su vez, se divide en cinco capas anatómicas, donde el estrato corneo forma la capa más externa quedando expuesta al medio (17). Las células estructurales de la epidermis que poseen una función biológica específica son: los melanocitos, células de Langerhans y de Merkle; las cuales tienen muy poco efecto en las propiedades físicas de la epidermis con respecto a la capacidad como barrera o reservorio. La parte más exterior de la cubierta, el estrato corneo, consiste de multicapas de queratinocitos terminales diferenciados incrustados en una matriz bicapa lipídica. Este estrato de la epidermis sirve como barrera, la cual previene la deshidratación de los tejidos internos, así como la entrada de sustancias nocivas del medio ambiente. La producción de esta cubierta es la principal función de la epidermis viva. El estrato corneo consiste, a su vez, de multicapas de células duras, las cuales son compactas, planas, deshidratadas y queratinizadas. Estas son inactivas fisiológicamente y son reemplazadas continuamente (14,17).

El estrato corneo tiene un contenido de agua de aproximadamente 20% comparado con el 70% del tejido fisiológicamente activo (17).

La mayor barrera para la difusión a través de la piel es el estrato corneo. Esta barrera ejerce su acción como tal por dos

factores:

1-El movimiento de moléculas extrañas es muy lento a través del estrato corneo; esto es, la energía de activación para el proceso de difusión es generalmente grande.

2-Para algunas moléculas, una fracción del material difundido se une con el estrato corneo, y se inmoviliza.

Todo el efecto de barrera de la piel es marcadamente dependiente del grado de hidratación del estrato corneo (5).

La piel produce una gran resistencia difusional al transporte de moléculas conducidas por un campo eléctrico. Las propiedades eléctricas de la piel están dominadas por la baja conductividad del estrato corneo. Bajo influencia de la corriente eléctrica, las moléculas son conducidas a través de la piel, posiblemente, vía los caminos de desviación y/o por los espacios intracelulares en el estrato corneo, así como por los poros (17).

El incremento en la permeabilidad de la piel, está bien documentado. Srinivasan et al (23) presentan algunas evidencias experimentales que sugieren que dicho incremento en la permeabilidad de la piel ocurre rápidamente seguido de un período en el cual la permeabilidad se puede considerar constante (23).

1.4.2.1. Propiedades Eléctricas de la Piel.

Cuando se aplica corriente eléctrica a la piel, el potencial eléctrico puede alterar el arreglo molecular de los compuestos de

la piel. El mecanismo de "flip-flop" puede ser un modelo operatorio para el voltaje, dependiendo de la formación del poro en el estrato corneo, el cual es rico en queratina (polipéptido α -helicoidal). El "flip-flop" de hélices de polipéptidos forma un arreglo paralelo, abriendo los poros por la repulsión de los dipolos, y las moléculas de agua y los iones pueden fluir por los canales del poro para neutralizar el momento dipolar (17).

Las capas superiores de la piel, tienen un punto isoeléctrico de pH 3-4, así los poros en el estrato corneo tendrán una carga positiva cuando se exponen a una solución con pH 3 o menor y una carga negativa en una solución con pH 4 o mayor. El flujo electroosmótico, también se espera que contribuya al flujo iontoforético. La dirección del flujo electroosmótico dependerá de la polaridad del electrodo y de la carga de la piel. Como la piel mantiene su carga negativa, la iontoforesis afecta el movimiento de las moléculas de agua electroosmóticamente dentro del cuerpo desde el electrodo positivo. Este proceso facilita la permeación transdérmica de cationes. Otros factores como la relación solvente-soluto y soluto-soluto pueden afectar la permeación iontoforética (17).

La piel también se compone de folículos pilosos, conductos sudoríparos y otras glándulas que proveen caminos para cruzar la piel; así, estos se consideran de vital importancia en la penetración percutánea de especies iónicas que presentan poca permeación. Bajo la aplicación de un campo eléctrico, las especies iónicas pueden penetrar la piel vía glándulas sebáceas,

sudoríparas, folículos pilosos y/o rutas intracelulares (14).

La impedancia de la piel humana disminuye con el aumento en la frecuencia (16,17).

El estrato corneo muestra dos características importantes, tiende a polarizarse cuando es continuamente aplicado un campo eléctrico, y su impedancia cambia con la frecuencia del campo eléctrico aplicado (16,17). Cuando un campo eléctrico con corriente directa es aplicado de manera continua al estrato corneo para facilitar la permeación de moléculas, ocurre una polarización de la piel. Esta polarización después opera contra el campo eléctrico aplicado, y disminuye la magnitud de la corriente efectiva que cruza la piel. Así, el gradiente de corriente disminuye exponencialmente, y por lo tanto la eficiencia disminuye (14,17).

Para evitar la polarización del estrato corneo, un pulso de corriente directa puede ser utilizado. La manera de pulsos es un voltaje directo el cual altera periódicamente con el 'on/off' el voltaje aplicado. En el estado de 'on', las moléculas cargadas son forzadas dentro de la piel y el estrato corneo pronto se polariza; mientras que en el estado 'off', no hay estimulación externa y el estrato corneo se despolariza. La frecuencia de 'on/off' controla la proporción del tiempo para el proceso de polarización y despolarización en cada ciclo. El número de ciclos 'on/off' en cada segundo es la frecuencia. Con una frecuencia de 2000 Hz con el rango de 'on/off' de 1:1 hay 2000 ciclos en cada segundo y cada duración del ciclo $1/2000$ o 0.5 ms, donde el radio

de polarización a despolarización es 1:2 (0.25 ms/0.25 ms) (14).

La efectividad de la corriente por pulsos en la liberación puede atribuirse también al cambio en el momentum y en la entropía, esto se observa más en moléculas grandes, como la insulina; por lo que un pulso de ondas se espera más efectivo que el modo de corriente directa simple en el transporte de macromoléculas a través de la piel (14).

1.4.3. Mecanismo de Permeación por Iontoforesis.

Se ha propuesto que en el mecanismo de liberación para especies iónicas, los folículos pilosos y los conductos sudoríparos actúan como barreras a la difusión. Así, durante la Iontoforesis, se espera que la mayor concentración de las especies ionizadas se muevan dentro de algunas regiones lesionadas, o a lo largo de las glándulas sudoríparas y folículos pilosos, según la resistencia a la difusión de cada parte (15).

Un estudio reciente sugiere que las glándulas sudoríparas son el canal primario en el transporte durante la Iontoforesis (15).

Además, la dependencia de formación en el estrato corneo se ha reportado que puede atribuirse a un mecanismo de "flip-flop", ya que se aplica un potencial eléctrico a través de la piel, el "flip-flop" de las hélices polipeptídicas en el estrato corneo ocurre para formar un arreglo paralelo en respuesta al potencial aplicado. Entonces se forman los poros, como resultados de la

repulsión entre dipolos vecinos, y moléculas de agua e iones fluirán a través de los poros para neutralizar los momentos dipolares. El punto isoeléctrico de la piel es de pH 3 y 4, así estos poros tendrán carga positiva cuando se exponga a un medio de pH menor a 3 o una carga negativa si el pH es mayor a 4. Así, el pH de la solución de la especie aplicada puede afectar la liberación iontoforética de dicha especie «17».

1.4.4. Factores que Afectan la Velocidad de Permeación.

Los factores que afectan la velocidad de permeación en un sistema iontoforético de liberación pueden clasificarse en factores fisicoquímicos y electrónicos «1».

A Factores Fisicoquímicos «1»:

A.1. Carga. Las moléculas del fármaco a liberar deben estar, de preferencia, ionizadas.

A.2. Conductividad. Se debe determinar la conductividad de cada fármaco para así saber cual es el más adecuado.

A.3. Iones extraños. La presencia de buffers o iones de sales tienen un efecto negativo en la liberación iontoforética, estos iones extraños compiten con las moléculas del fármaco cargado por la corriente eléctrica. De cualquier forma, la liberación del fármaco se verá afectada por iones de la misma carga o de carga opuesta.

A.4. pH. El grado de ionización de algunos fármacos depende del pH (1). El pH en la solución donadora que contiene electrolitos débiles es muy importante ya que de este pH dependerá el obtener las especies ionizadas que puedan incrementar la liberación de dicho fármaco. Se ha observado que la cantidad de fármaco ionizado es un factor muy importante en la liberación transdérmica (2).

A.5. Fuerza iónica. La fuerza iónica está relacionada con la concentración de iones presentes en la solución.

A.6. Concentración. La variación de la concentración de fármaco en el compartimiento donador es proporcional a la penetración a voltaje constante.

A.7. Tamaño molecular. Al aumentar el tamaño de una molécula aumentan sus características lipofílicas y disminuyen sus posibilidades de ser permeadas iontoforéticamente.

A.8. Tipo de piel. Se han utilizado diferentes tipos de piel en estudios iontoforéticos, dando el mejor resultado la piel rasurada y sin estrato córneo; sin embargo el mejor modelo para la piel humana es la piel sin pelo.

B Factores Electrónicos (1):

La cantidad de fármaco transferida depende en mayor medida de los factores electrónicos que de la concentración. La velocidad del

movimiento de los iones es directamente proporcional al voltaje aplicado y la cantidad de fármaco liberado está influenciado por el flujo de corriente y su duración (1).

B.1. Electrodo. El electrodo debe ser de material que conduzca bien la corriente. El tamaño y la distancia entre ellos juegan un papel importante en la conductividad de la piel. Los electrodos que se han usado, han sido diseñados para minimizar los cambios del pH subcutáneo debido a la migración de iones de hidrógeno e hidroxilo producidos por reacciones en el electrodo.

B.2. Tipo de corriente. Se ha encontrado que no es lo mismo utilizar corriente directa, alterna o pulsos eléctricos.

B.3. Frecuencia. Al aumentar la frecuencia disminuye la impedancia de la piel y por tanto aumenta la eficiencia del sistema.

Con lo mencionado anteriormente, se puede decir que el flujo iontoforético depende en gran medida de la concentración del fármaco y de la magnitud y duración de la corriente aplicada (17).

1.4.5. Componentes del Sistema Iontoforético.

Se han diseñado un gran número de aparatos para el estudio de la Iontoforesis; sin embargo, en general todos se componen básicamente de:

1) *Celda donadora y receptora.* El sistema de difusión de dos compartimientos (donador y receptor) es el que más se ha utilizado, además de ser el mejor modelo para un caso *in vivo*.

2) *Electrodos.* Para estudios *in vitro*, generalmente se utilizan dos electrodos, los cuales se colocan directamente en las soluciones donadora y receptora. Se han utilizado muchos materiales para su construcción, reportándose como los más apropiados los elaborados con platino.

3) *Membrana.* Como membrana se han utilizado materiales sintéticos, pero en realidad los que más aceptación han tenido son las pieles de animales, la más utilizada es la piel de ratón de la región abdominal, la cual es rasurada y se elimina el estrato corneo.

4) *Sistema electrónico.* Se han utilizado una gran variedad de sistemas electrónicos, los cuales no se describen con claridad. Pero se ha observado que los que mayor eficacia han tenido son los sistemas capaces de generar pulsos de corriente con determinada forma de onda, intensidad de corriente variable y radio "on/off" para tiempos específicos de aplicación.

1.4.6. Ventajas y desventajas del sistema iontoforético de liberación.

A) Ventajas.

Las ventajas de un sistema iontoforético son las siguientes (1):

1) Evita los riesgos e inconvenientes de la terapia parenteral.

2) Prevee variación en la absorción y metabolismo de la administración oral.

3) Aumenta la eficiencia terapéutica por eliminación del primer paso hepático.

4) Reduce la posibilidad de sobredosificación o baja dosificación por liberación continua de fármaco programada al grado terapéutico requerido.

5) Produce un régimen terapéutico simple, reduciendo las complicaciones al paciente.

6) Permite una rápida terminación de la medicación por simple alto al suministro del sistema liberador.

7) Minimiza el potencial de trauma por la inyección, así como

el riesgo de infección.

8) En el tratamiento local o tópico reduce los efectos sistémicos.

9) La cantidad de fármaco a liberar puede ser controlada y regulada.

B) Desventajas.

Las desventajas de un sistema iontoterapéutico son las siguientes (17):

1) Posibilidad de electro shock e irritación en la piel.

2) El electrodo no debe estar en contacto directo con la piel, pues puede producir quemaduras.

3) Posibilidad de activación de respuestas alérgicas en la piel.

4) Limitada a fármacos que no irriten la piel.

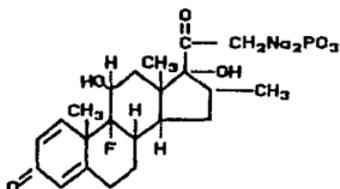
5) Probables dificultades de adaptación.

6) Propiedades de barrera de la piel.

7) Mayor costo comparado con otras formas farmacéuticas.

1.5. Características del fármaco.

FOSFATO SODICO DE DEXAMETASONA:



Fosfato Disódico de 9- α -Fluoro-11- β ,17- α ,21-Trihidroxi-16- α -
Metilpregnadien-1,4-Diona-3,20.

Peso molecular: 500.39.

Polvo blanco o ligeramente amarillo, inodoro o con un ligero olor alcohólico; higroscópico (50,51).

Solubilidad: Fácilmente soluble en agua; ligeramente soluble en etanol; muy ligeramente soluble en dioxano; insoluble en cloroformo y éter (51).

pH: Entre 7.5 y 10.8. Se determina en una solución 1 en 100 de la muestra (51).

Espectro U.V.: El fosfato sódico de dexametasona muestra una mayor absorbancia alrededor de la banda de 240 nm en solución, esto se atribuye al anillo cromóforo Δ -1,4-3 ceto A (50,51).

Estabilidad: El fosfato sódico de dexametasona sólida es estable

al aire pero debe protegerse de la luz. Muestra una excelente estabilidad en una gran variedad de presentaciones comerciales (50).

Tiempo de vida media: El $t_{1/2}$ es de 252 minutos para la eliminación del fosfato sódico de dexametasona intacta en plasma (50).

La dexametasona es un glucocorticoide sintético análogo del cortisol. Los glucocorticoides son hormonas esteroides pertenecientes al grupo de los corticoesteroides producidos por la corteza suprarrenal; presentan efectos importantes en el metabolismo intermediario, el catabolismo y la inflamación (52).

El fosfato sódico de dexametasona se administra por vía parenteral para producir rápidamente alta concentración en los líquidos orgánicos. Inyectándolo por vía intramuscular se obtiene un efecto duradero (50).

Los glucocorticoides son absorbidos desde lugares de aplicación local, como espacio sinovial, saco conjuntival y la piel. Cuando la administración es prolongada o cuando tiene lugar en grandes zonas de piel, la absorción puede ser suficiente para causar efectos generales, incluyendo la supresión corticosuprarrenal (50).

En circunstancias normales, 90% del cortisol plasmático está unido en forma reversible a la glucoproteína y a la albúmina plasmática.

teniendo mayor afinidad por la primera (50).

Todos los esteroides corticosuprarrenales biologicamente activos y sus congéneres sintéticos tienen una doble ligadura en la posición 4,5 y un grupo cetónico en el C 3. En sitios hepáticos y extra hepáticos es reducido el doble enlace de la posición 4,5 y se forma una sustancia inactiva. La reducción ulterior del grupo 3-ceto a 3-hidróxido se ha demostrado solo en el hígado. La mayoría de los metabolitos reducidos en el anillo A están enzimáticamente unidos en el hidróxido 3 con el ácido sulfúrico o con el ácido glucurónico y forman ésteres, que se excretan disueltos en la orina. Estas reacciones de conjugación tienen lugar principalmente en el hígado y algo en el riñón (50).

Normalmente los sujetos a los que se les administra 1.6 µg por vía oral eliminan el 15% del total en la orina, en un período de 4 horas después de la administración. Aproximadamente el 50% de lo excretado está en forma conjugada (probablemente un glucurónido) y el resto en forma libre o no conjugada (50).

En otro estudio, se observó que cuando es administrado por vía intravenosa en forma de solución salina después de 4 y 24 horas es eliminado el 16 y 64%, respectivamente para dosis de 0.5 a 1.5 mcg. El metabolismo de la dexametasona involucra la formación de derivados polares no conjugados (50).

J. M. Glass et al reportaron que la iontoforesis *in vivo* aumenta eficazmente el grado de transporte transdérmico de la dexametasona

en el mono (26,53). Mientras que P. R. Harris demostró que la dexametasona es clínicamente efectiva en el tejido inflamado del humano así como en pacientes con disfunción relacionada a tendinitis primaria cuando es administrada por iontoforesis (26,54).

CAPITULO II

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y OBJETIVOS.

2.1. El Problema.

Como se ha mencionado, actualmente la vía de administración más utilizada y desarrollada es la vía oral, la cual presenta índices de variabilidad elevados en los niveles plasmáticos de fármacos; por tal motivo es importante tratar de desarrollar nuevos sistemas de liberación controlada de fármacos, los cuales no presenten los problemas de la dosificación por vía oral.

Recientemente, algunos investigadores (1,2,3,4,6,7,10,11,13, 15,18,19,20,22,23,25,26,27,28,35,36,37,38,40,41,43,46,47) se han interesado por los sistemas Iontoforéticos de permeación, los cuales utilizan una corriente eléctrica para mejorar la absorción percutánea; encontrándose resultados satisfactorios. Sin embargo, todavía queda mucho por hacer en relación a estos sistemas.

En la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlan CUNAM, se han desarrollado tres trabajos de investigación sobre dichos sistemas, en el primer trabajo se encontró que las variables que afectan al sistema son el pH, la solución receptora, la intensidad de corriente y la concentración del fármaco; en el segundo se determinaron los flujos y gastos energéticos del sistema y en el tercero se llevó a cabo una optimización del sistema.

A partir de estos hechos, y tomando en cuenta que el perfeccionamiento en su diseño es un factor de gran importancia, es necesario la miniaturización de dicho sistema utilizando una fuente de poder mucho más pequeña que las utilizadas hasta ahora; además de utilizar una celda receptora de mucho mayor volumen (un litro) con el fin de tener un sistema experimental *in vitro* más aproximado a las condiciones fisiológicas reales.

2.2. OBJETIVOS.

1.-Demostrar que mediante la generación de pulsos eléctricos se puede facilitar la permeación cutánea de fármacos.

2.-Desarrollar un sistema Iontoforético bicompartamental de permeación periódica para estudios *In Vitro*.

3.-Miniaturización del sistema generador de pulsos eléctricos.

4.-Caracterizar el sistema Iontoforético de permeación, utilizando como fármaco Fosfato Sódico de Dexametasona.

CAPITULO III

3. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. Material.

- Fosfato Sódico de Dexametasona (Grado farmacéutico).
- Cloruro de sodio, QP (J T Baker).
- Agua destilada.

3.2. Equipo.

- Sistema Iontoforético de permeación.
- Baño de arena.
- Termómetro (Taylor).
- Agitador magnético (Craft).
- Espectrofotómetro (Espectronic Bausch and Lomb 21).
- Material de vidrieria común (Pyrex).
- Balanza analítica (Sauter KG. D-7470 Ebingen 1).
- Equipo de disección.
- Multímetro (Micronta[®] 22-171A).

3.3. Método.

3.3.1. Evaluaciones previas.

- Volumen de la celda donadora y receptora.
- Area de exposición de la piel.

- Electrodo de platino.
- Resistencia eléctrica entre electrodos en el sistema.
- Voltaje variable.
- Temperatura.
- pH.
- Fármaco.
- Concentración.
- Piel sin estrato córneo.
- Barrido para determinar la longitud de onda de absorción máxima para el Fosfato Sódico de Dexametasona.
- Curva de calibración para el Fosfato Sódico de dexametasona en la solución receptora.

3.3.2. Metodología experimental.

3.3.2.1. Diseño del sistema.

- Celdas de difusión de vidrio con capacidad de 12 ml y 1 lt, donadora y receptora respectivamente, protegidas de la luz del medio ambiente.
- Electrodo de platino.
- Fuente de poder:
 - * Voltaje variable (6, 12 y 15 Volts).
 - * Frecuencia 2 KHz, con un ratio de "on/off" de 1:1.

3.3.2.2. Obtención de la piel.

Se utilizan ratones machos de aproximadamente tres meses de edad, sacrificados por dislocación cervical. Con ayuda de una rasuradora desechable, se elimina el pelo de la región abdominal para proceder a quitar el estrato corneo pegando y despegando una cinta adhesiva (10 veces). Finalmente, con ayuda de bisturí y tijeras, se retira la piel.

3.3.2.3. Montaje del sistema iontoforético.

La piel se coloca entre el compartimento donador y receptor, dirigiendo la zona del estrato corneo hacia el compartimiento donador. Dicho compartimiento donador es llenado con 12 ml de la solución que contiene el fármaco. Mientras que el compartimiento receptor se llena con 1 litro de solución isotónica de cloruro de sodio.

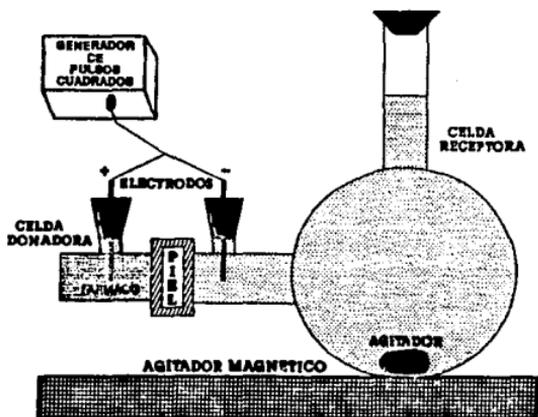


Figura I. Diagrama del Sistema Iontoterapéutico Experimental.

El cátodo y el ánodo se colocan en el compartimiento donador y receptor respectivamente (20); dichos electrodos se encuentran conectados a una fuente de poder que envía un voltaje variable (6, 12 y 15 volts) con una frecuencia de 2 KHz, una forma de onda cuadrada y un radio de "on/off" de 1:1.

En el caso del fosfato sódico de dexametasona la corriente total es llevada por el ión fosfato de dexametasona, el ión sodio en la celda donadora, y los iones sodio y cloro en la receptora (20).

La temperatura utilizada es la temperatura ambiente la cual va de 22 a 24 grados y es controlada por medio de una cama de arena colocada sobre el agitador magnético.

3.3.2.4. Toma de muestra.

Cada experimento tiene una duración de cuarenta y ocho horas, el muestreo se realiza de la siguiente forma:

- Cada 30 minutos durante la primera hora.
- Las siguientes 7 horas se muestrea cada hora.
- De la hora 8 a la 22 no se toma muestra.
- De la hora 23 a la 30 se muestrea cada hora.
- De la 31 a la 46 no se toma muestra.
- Finalmente de la hora 47 a la 48 se muestrea cada hora.

Las muestras son tomadas del compartimiento receptor y son cuantificadas por medio de un método espectrofotométrico. El volumen tomado (5 ml) es regresado al compartimiento receptor. En

caso de que sea necesario, se debe realizar una dilución con solución isotónica de cloruro de sodio.

3.3.2.5. Caracterización del sistema.

La tabla siguiente muestra el número de experimentos, el voltaje, la intensidad de corriente, el tipo de solución receptora, el fármaco y la concentración que se utiliza en cada uno de los experimentos que se llevan a cabo.

Cada experimento se lleva a cabo por triplicado, determinando en cada experimento la cantidad y fracción de fármaco que ha sido permeada a través de la piel utilizando un método espectrofotométrico.

Exp.	Voltaje.	I.C.	S.R.	Farm.	Conc.
1	0	0.00	S.I.	F.S.D.	10
2	6	8.39	S.I.	F.S.D.	10
3	12	16.78	S.I.	F.S.D.	10
4	15	20.98	S.I.	F.S.D.	10
5	0	0.00	S.I.	F.S.D.	30
6	6	8.39	S.I.	F.S.D.	30
7	12	16.78	S.I.	F.S.D.	30
8	15	20.98	S.I.	F.S.D.	30

Tabla 1. Experimentos que se llevan a cabo para la caracterización del sistema.

Donde:

Exp = Número de experimento.

Voltaje = Volts.

I.C. = Intensidad de corriente (μ A).

S.R. = Solución receptora.

S.I. = Solución isotónica de cloruro de sodio.

Farm. = Fármaco.

F.S.D. = Fosfato sódico de dexametasona.

Conc. = Concentración del fármaco en mg/ml.

CAPITULO IV

4. RESULTADOS

4.1. Evaluaciones Previas.

*El volumen de la celda donadora y receptora es de 12 mL y 1 litro respectivamente.

*Colocando los electrodos del multimetro en el lugar de los electrodos de platino se obtiene que la resistencia eléctrica del sistema es de aproximadamente 715 Kiloohms.

*Ya que la intensidad de la corriente es directamente proporcional a la diferencia de potencial aplicado e inversamente proporcional a la resistencia (ley de Ohm), sabemos que las distintas intensidades de corriente utilizadas son 8.4, 16.8 y 21 μ A.

* El área de exposición de la piel es de 1.0028 cm².

*El material de fabricación de los electrodos es platino.

*La temperatura utilizada es la temperatura ambiente.

*El pH de la solución donadora es de 8.0.

*El barrido para determinar la longitud de onda de absorción máxima, para el Fosfato Sódico de Dexametasona, muestra que la

longitud de onda máxima de absorción es de 242 nm en solución salina isotónica (SSI).

*La curva de calibración para el Fosfato Sódico de Dexametasona en la solución receptora (SSI) se muestra en la siguiente tabla:

CONC. $\times 10^{-3}$	ABSORBANCIA				SD
	A ₁	A ₂	A ₃	\bar{A}	
10.2	0.319	0.316	0.316	0.3170	1.73×10^{-3}
12.8	0.213	0.203	0.207	0.2077	5.03×10^{-3}
9.6	0.156	0.149	0.150	0.1517	3.79×10^{-3}
6.4	0.101	0.091	0.094	0.0953	5.13×10^{-3}
3.2	0.048	0.036	0.036	0.0400	6.93×10^{-3}

$$r = 0.999092519 \quad r^2 = 0.998165861 \quad m = 16.79419643 \quad b = -8.027143 \times 10^{-3}$$

Tabla II. Datos de la curva de calibración para el Fosfato Sódico de Dexametasona en solución salina isotónica.

La gráfica correspondiente es la siguiente:

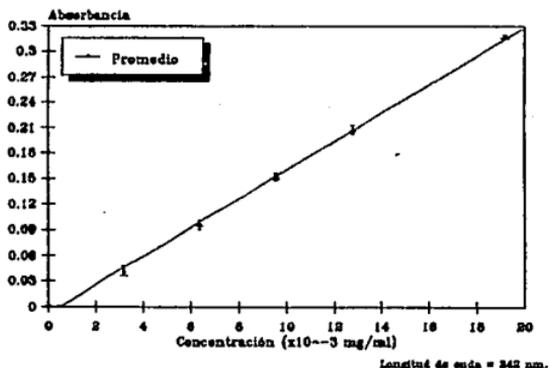


Figura II. Curva de calibración para el Fosfato Sódico de Dexametasona en solución salina isotónica.

El intervalo de confianza para el intercepto con un 95% de confianza es:

$$-0.256 \leq \alpha \leq 0.239$$

Ya que el cero cae dentro del intervalo de confianza, se puede tomar como cero (los cálculos se presentan en el Apéndice).

4.2. Resultados Experimentales.

De los resultados obtenidos experimentalmente, se calcula la cantidad permeada promedio de las tres repeticiones (C_p), por medio del método espectrofotométrico descrito anteriormente y la curva de calibración representada en la Tabla I para cada hora, y posteriormente se grafican.

Los resultados presentados en las Tablas III y IV son la cantidad permeada promedio de las tres repeticiones en miligramos (mg) y la desviación estándar (SD) por cada hora según cada uno de los voltajes (donde $V_1=0$, $V_2=8$, $V_3=12$ y $V_4=15$ volts) utilizados.

A continuación, se presentan las tablas de resultados globales para cada una de las concentraciones iniciales utilizadas:

Concentración Inicial de 10 mg/mL				
TIEMPO (Hrs.)	V ₁	V ₂	V ₃	V ₄
	SD	SD	SD	SD
0	0	0	0	0
1	0.239 0.413	0	1.410 1.346	1.351 0.631
2	0.358 0.619	2.205 0.622	1.907 1.824	2.225 0.463
3	0.635 1.101	2.383 0.687	2.840 2.466	3.138 0.611
4	0.715 1.238	2.701 0.809	3.654 2.294	3.812 0.834
5	1.053 1.340	3.157 0.781	4.249 1.893	4.805 0.804
6	1.510 1.380	3.396 0.702	4.765 1.769	5.758 1.105
7	1.867 1.483	3.971 0.656	5.510 2.147	6.432 1.282
23	7.385 1.038		10.005 2.519	13.201 1.676
24	8.040 1.134	9.807 3.142	10.382 2.485	13.875 2.129
25	8.298 1.224	10.025 3.366	10.640 2.453	14.193 2.198
26	8.496 1.170		11.176 1.882	14.352 2.117
27	8.636 1.160	10.382 3.276	11.732 2.035	14.550 1.983
28	8.893 1.222	10.580 3.467		14.650 2.179
29	9.231 0.877	11.454 3.328	12.148 1.823	14.689 2.139
30	9.291 0.806	11.573 3.295	12.605 1.819	14.788 2.263
47	14.709 3.816	15.503 2.139	16.139 3.621	18.819 2.829
48	14.948 3.784	15.884 2.007	16.555 2.807	18.778 2.669

Tabla III. Resultados globales de la cantidad permeada en mg para la concentración inicial de 10 mg/ml

Concentración Inicial de 30 mg/mL				
TIEMPO (Hrs.)	V ₁	V ₂	V _a	V ₄
	SD	SD	SD	SD
0	0 0	0 0	0 0	0 0
1	0 0	2.224 1.026	1.113 0.847	1.410 1.281
2	0.219 0.379	3.515 1.038	3.177 0.705	2.224 2.204
3	0.557 0.482	4.170 1.112	4.011 0.620	3.753 2.389
4	0.835 0.726	4.408 1.251	4.648 0.744	4.666 2.939
5	1.024 0.890		5.520 1.380	6.393 3.061
6	1.192 1.039	5.400 1.412	6.591 2.174	8.080 3.625
7	1.370 1.205	5.936 1.542		
23		14.173 3.713	17.349 9.968	29.555 4.145
24	7.802 5.568	14.828 3.920	18.699 11.233	29.996 4.100
25	8.399 5.149	15.443 4.263	19.869 10.927	30.806 3.008
26	8.954 4.738	16.039 4.419		31.481 3.148
27	9.549 4.258	16.714 4.608	21.015 12.083	32.930 2.828
28	10.183 3.980	17.468 4.883	21.497 12.088	
29	10.739 3.662	18.063 5.247	22.827 12.241	34.795 2.073
30	11.434 3.546	18.659 5.503	23.880 12.187	35.328 2.022
47		32.711 10.652	32.731 13.404	51.646 1.625
48	20.008 0.529	33.622 11.055	34.299 14.933	51.766 0.836

Tabla IV. Resultados globales de la cantidad permeada en mg para la concentración inicial de 10 mg/ml

Gráficas de los resultados globales para cada concentración:

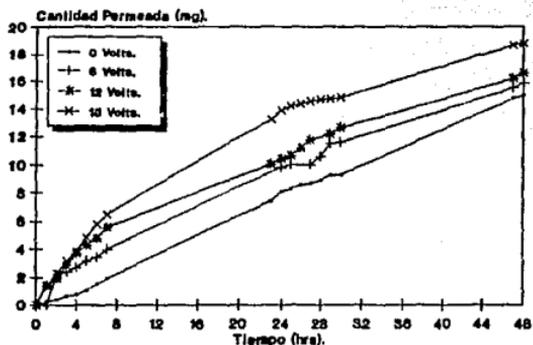


Figura III. Perfil de liberación iontoforético para la concentración inicial de 10 mg/ml.

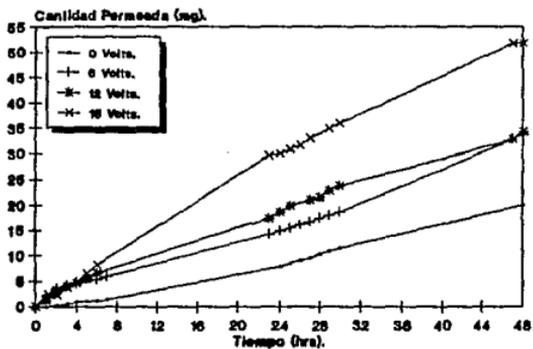


Figura IV. Perfil de liberación iontoforético para la concentración inicial de 30 mg/ml.

Para poder caracterizar el comportamiento del sistema Iontoterapéutico a partir de los resultados experimentales se linealizan los datos anteriores utilizando logaritmos naturales del tiempo y de la fracción permeada; para así obtener la constante de permeación para cada experimento de la Tabla I a partir de las pendientes.

La siguiente tabla muestra los resultados de las pendientes y el coeficiente de regresión para cada concentración y voltaje utilizado:

CONCENTRACION (mg/ml)	V O L T A J E (VOLTS)		
	6	12	15
10	$m_2 = 0.6566$ $r^2 = 0.989$	$m_2 = 0.6794$ $r^2 = 0.982$	$m_2 = 0.6921$ $r^2 = 0.991$
30	$m_2 = 0.7011$ $r^2 = 0.971$	$m_2 = 0.7959$ $r^2 = 0.979$	$m_2 = 1.0206$ $r^2 = 0.993$

Tabla V. Resultados de las pendientes y el coeficiente de regresión según la concentración y el voltaje utilizado.

Gráficas correspondientes a la linealización:

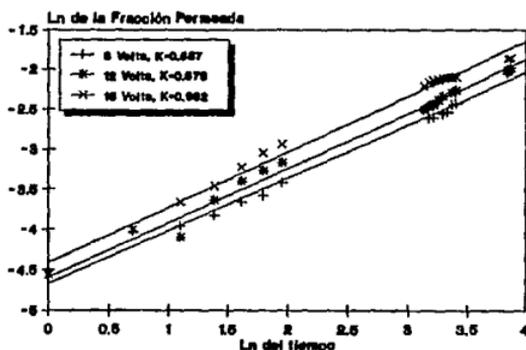


Figura V. Linealización de los resultados globales para la concentración inicial de 10 mg/ml.

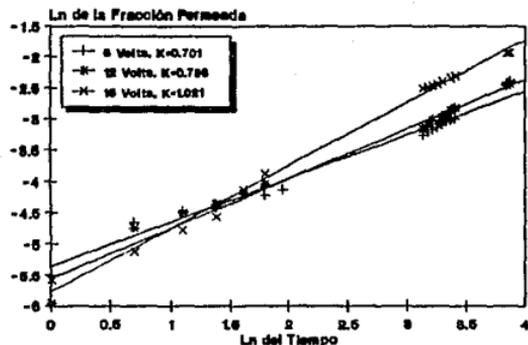


Figura VI. Linealización de los resultados globales para la concentración inicial de 30 mg/ml.

4.3. Análisis Estadístico.

Para el análisis estadístico se escogió el modelo factorial de dos niveles (voltaje y concentración) con una observación por celda (pendiente de los datos promedio del ln del tiempo y la fracción permeada).

CONCENTRACION (mg/ml)	V O L T A J E (VOLTS)			Y _i .
	6	12	15	
10	0.6566	0.6704	0.6921	2.0281
30	0.7011	0.7959	1.0206	2.5178
Y. J	1.3577	1.4753	1.7127	4.5457

Tabla VI. Datos de las pendientes correspondientes a la linealización. Donde j está asociado con la concentración e i con el voltaje.

Hipótesis:

a) Voltaje:

H₀: El voltaje no afecta al sistema.

H₁: El voltaje afecta al sistema.

b) Concentración:

H₀: La concentración no afecta al sistema.

H₁: La concentración afecta al sistema.

c) Interacción:

H₀: No existe una interacción entre el voltaje y la concentración dentro del sistema

H₁: Existe una interacción entre el voltaje y la concentración dentro del sistema.

La hipótesis nula no se rechaza si la F calculada es menor que la F de tablas.

A N O V A				
FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADOS	F ₀
CONCENTRACION	0.0399	1	0.0399	255.1020
VOLTAJE	0.0327	2	0.0164	104.4498
RESIDUO O NO ADITIVIDAD	0.0216	1	0.0216	138.2397
ERROR	1.585×10^{-4}	1	1.585×10^{-4}	
TOTAL	0.0944	5		

Tabla VII. Análisis de variancia para los datos de pendientes.

Ya que las F's calculadas (255.1020, 104.4498 y 138.2397) son mayores a las de tablas (39.86, 49.50 y 39.86), con un 90% de confianza, se rechazan las tres hipótesis nulas, por lo cual se dice que existe efecto significativo de la concentración, el voltaje y la interacción de ambos sobre el sistema.

Como auxiliar en la interpretación de los resultados se contruye la gráfica de las constantes de permeación promedio de cada concentración para cada uno de los voltajes utilizados.

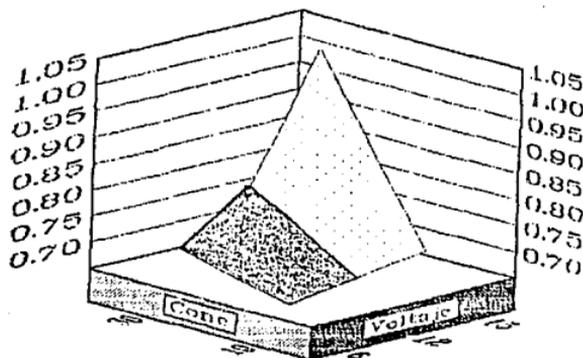


Figura VII. Gráfica de las constantes de permeación promedio según la concentración inicial y el voltaje utilizados.

En general, a menor voltaje menor es la constante de permeación, independientemente de la concentración.

4.4. Desarrollo del sistema.

En base a las investigaciones anteriores, se desarrolló un sistema

iontoterapéutico bicompartamental de permeación periódica que asemeja de manera más real lo que ocurre en el organismo humano; es decir, en condiciones *in vivo*.

El sistema iontoforético se puede dividir en:

- 1.- Sistema de difusión;
- 2.- Sistema electrónico.

Sistema de difusión.

a) Celdas de difusión de vidrio de dos compartimentos. La mejor celda de difusión para estudios iontoforéticos es la de dos compartimentos, por ser la más fácil de manejar y sobre todo porque es la más representativa de las condiciones reales, se utilizó una celda donadora con capacidad de 12 mly una receptora con capacidad de 1 litro, esto tiene la finalidad de asemejar lo que ocurre en condiciones *in vivo*, ya que el compartimento receptor (el organismo) tiene un volumen mucho mayor a la del compartimento donador. Además de lo anterior, el área de exposición de la piel entre los dos compartimentos se mantuvo constante, con un valor de 1.0028 cm^2 .

b) Electroodos. De acuerdo a lo reportado se sabe que el material más adecuado para la fabricación de los electrodos, es el platino (9,10,15,19,21,26,28,29). Tiene la ventaja de no precipitar proteínas, aunque se reporta que causan caída en el pH cuando se aplican altas densidades de corriente(10).

La distancia entre electrodos y piel es una variable importante, ya que mientras mayor sea la distancia entre ellos mayor será la resistencia eléctrica y por lo tanto, afectara los parámetros eléctricos. Por tal motivo dicha distancia se mantuvo constante gracias a que las celdas cuentan con orificios especialmente diseñados para los electrodos. La parte superior de los electrodos fue recubierta con vidrio esmerilado para facilitar el embone a las celdas.

Es importante hacer notar la necesidad de disminuir esta distancia para futuras investigaciones; ya que con la distancia utilizada se obtiene una resistencia de aproximadamente 715 Kiloohms; la cual disminuye enormemente la intensidad de corriente del sistema. En un trabajo reciente se sugiere que los electrodos deben estar a una distancia de la piel de aproximadamente 3 mm.

c) Piel. Según lo reportado se sabe que el modelo más adecuado para estudios de este tipo es la piel de ratón de la zona del abdomen sin pelo y sin estrato corneo (10,19,23,34). En base a esto, la piel se tomo de la región abdominal, la cual es más delgada y con menor contenido de queratina (36,37), y por el método de Wearley (34) se eliminó el estrato corneo con cinta adhesiva por ser la principal barrera a la permeación. Sin embargo, este método no es totalmente confiable, por lo que deben buscarse alternativas para remover el estrato corneo.

Las variaciones observadas durante la experimentación pueden atribuirse en gran medida a la piel, ya que para cada experimento

se utiliza un ratón diferente, aumentando las diferencias en cuanto a grosor, hidratación y demás componentes de la piel. Lo anterior se comprobó al utilizar una membrana sintética, la cual presenta una mínima variación (ver apéndice).

d) Temperatura. La temperatura utilizada, fue la temperatura ambiente, la cual es de 22 a 24 grados.

e) Agitación. El sistema de agitación se mantuvo constante, para evitar variaciones en los resultados.

f) Toma de muestra. Se tomó un volumen de 5 ml de la solución receptora para leer en el espectrofotómetro y más tarde se regresa al sistema para evitar errores por diferencias de volumen.

Sistema electrónico.

El sistema electrónico tiene como finalidad generar una corriente eléctrica alterna con una forma de onda cuadrada y una frecuencia de 2 KHz.

La salida del sistema electrónico debe ser proporcional a la tensión aplicada para poder variar así la intensidad de corriente de salida. Sin embargo, debe de mantener una frecuencia fija de 2 KHz.

La miniaturización del sistema se logró utilizando un circuito integrado (el cual genera la onda cuadrada) y elementos pasivos

(resistencias y capacitores) conectados a una tarjeta impresa de cobre. Las dimensiones físicas del sistema son de 1.5 x 1.5 x 0.8 cms. sin pilas.

La frecuencia de la onda cuadrada que genera el circuito integrado es controlada por los elementos pasivos externos.

La amplitud de la onda cuadrada se controla al aplicar una tensión variable al circuito integrado; dicha tensión se obtiene de pilas tipo reloj, las cuales manejan tensiones de 3 volts, por lo que se obtiene un rango de tensión variable en múltiplos de tres.

Debido a las limitaciones del circuito integrado, no es posible aplicar una tensión superior a 15 volts, ni inferior a 5 volts a la entrada del sistema.

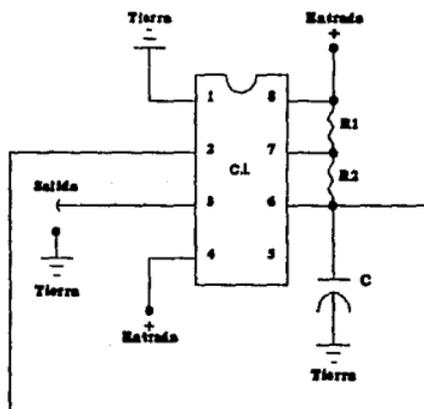


Figura VIII. Diagrama del sistema electrónico generador de pulsos cuadrados. Donde: C.I. = Circuito integrado, R1 y R2 = Resistencias de 100 y 270 Ohms y C = Capacitor de 1 mcF.

4.5 Comportamiento del sistema.

En general, para los experimentos en los cuales se utiliza corriente eléctrica, el sistema muestra una tendencia no lineal en las 48 horas. Esto se puede observar en las gráficas del perfil de liberación iontoforético para cada una de las concentraciones utilizadas. Por tal razón se realiza la linealización de los datos utilizando logaritmos naturales, tanto para la fracción permeada como para el tiempo; encontrándose como la mejor variable de respuesta, a dichos experimentos, la pendiente, la cual representa la constante de velocidad de permeación transdérmica. Dicha constante representa una constante que engloba diferentes parámetros que son: la velocidad de permeación en función de la difusión, de la permeación y del flujo eléctrico.

En la tabla donde se muestran los diferentes valores de la constante de velocidad transdérmica para cada concentración y voltaje utilizado, se observa que esta constante es mayor a medida que aumenta la concentración y el voltaje.

Para los experimentos en donde no se utiliza corriente eléctrica se puede observar un comportamiento lineal durante las 48 horas. Dichos experimentos no son tomados en cuenta para el análisis estadístico ya que se corrieron como parametro de comparación, además de no darles el mismo tratamiento.

Se llevó a cabo un análisis estadístico bifactorial con una observación por celda con un 90% de confianza para apoyar las

observaciones experimentales con respecto al efecto de las dos variables utilizadas (voltaje y concentración).

En base a los resultados obtenidos y con el apoyo del análisis estadístico podemos decir que a concentraciones bajas (10 mg/ml) no se observa un efecto significativo por el aumento del voltaje; sin embargo, a concentraciones más altas (30 mg/ml), el efecto debido al voltaje se ve incrementado en un 38.65%, por lo que podemos decir que existe una interacción entre ambas variables. Por tal razón, si lo que se busca es obtener una velocidad de permeación adecuada para cada tipo de fármaco se debe tomar en cuenta la corriente eléctrica y la concentración del fármaco.

CONCLUSIONES

1.-Mediante la medición del flujo iontoforético del ión fosfato de dexametasona se demuestra que al aplicar un gradiente de potencial eléctrico la permeación cutánea se ve incrementada en un 38.65%.

2.-Se desarrolló un sistema bicompartamental de permeación periódica experimental más aproximado a las condiciones fisiológicas reales.

3.-Se logró la miniaturización del generador de pulsos eléctricos mejorando su diseño.

4.-Se comprobó que la corriente eléctrica, la concentración y una interacción entre ellas influyen significativamente sobre la constante de velocidad de permeación.

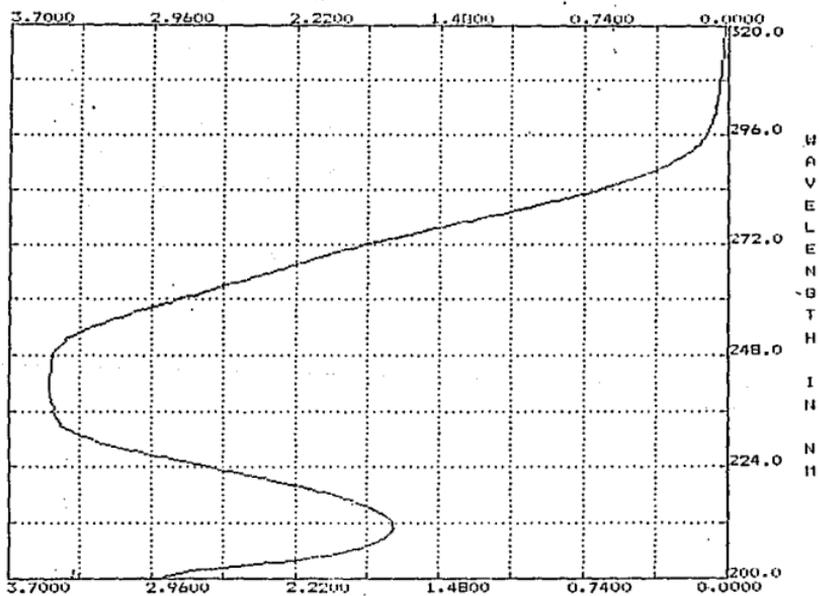
5.-La iontoforesis es una buena alternativa como vía de administración percutánea para fármacos que son susceptibles a la degradación en el tracto gastro intestinal y al metabolismo del primer paso hepático.

APENDICE

1-Barrido para determinar la longitud de onda de absorción máxima para el fosfato sódico de dexametasona:

BECKMAN
DU-65 SPECTROPHOTOMETER

ABSORBANCE



Scan Speed: 750 nm/min

2.-Determinación de un intervalo de confianza para el intercepto:

1) Se elige un nivel de confianza γ (95%).

2) Se determina la solución c de la ecuación:

$$F(c) = 1/2 (1 + \gamma)$$

$$c = .979$$

3) Con una muestra $(X_1, Y_1), \dots, (X_n, Y_n)$, se calcula:

$$S_x^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (X_j - \bar{X})^2$$

$$S_x^2 = 4.779 \times 10^{-5}$$

$$S_{xy} = \frac{1}{n-1} \left[\sum_{j=1}^n X_j Y_j - \frac{1}{n} \left[\sum_{i=1}^n X_i \right] \left[\sum_{j=1}^n Y_j \right] \right]$$

$$S_{xy} = 8.025 \times 10^{-4}$$

$$b = \frac{S_{xy}}{S_x^2}$$

$$b = 18.7941$$

$$S_y^2 = \frac{1}{n-1} \sum_{j=1}^n (Y_j - \bar{Y})^2$$

$$S_y^2 = 0.0135$$

$$q = (n - 1) (Sy^2 - b^2 Sx^2)$$

$$q = 67.51 \times 10^{-8}$$

$$h^2 = \frac{1}{n} + \frac{(X - \bar{X})^2}{(n-1)Sx^2}$$

$$h = 0.6856$$

$$K(x) = c \frac{h \sqrt{q}}{\sqrt{n-2}}$$

$$K(x) = 0.248$$

4) El intervalo de confianza es:

$$(Y - K(x)) \leq \alpha \leq Y + K(x)$$

$$-0.258 \leq \alpha \leq 0.239$$

3.-Análisis de variancia para un modelo bifactorial con una observación por celda.

ANOVA				
FUENTE DE VARIACION	SUMA DE CUADRADOS	GRADOS DE LIBERTAD	MEDIA DE CUADRADO	Fo
CONCENTRACION	$\sum_{i=1}^a \frac{y_{i.}^2}{b} - \frac{y_{..}^2}{ab}$	a - 1	SSc/GL	MSc/MSE
VOLTAJE	$\sum_{j=1}^b \frac{y_{.j}^2}{a} - \frac{y_{..}^2}{ab}$	b - 1	SSv/GL	MSv/MSE
RESIDUO O NO ADITIVIDAD	SSr - SSc - SSv	(a-1)(b-1)	SSr/GL	MSr/MSE
ERROR	SSR - SSN	(a-1)(b-1)-1	SEe/GL	
TOTAL	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b y_{ij}^2 - \frac{y_{..}^2}{ab}$	ab - 1		

Donde:

SS = Suma de cuadrados.

GL = Grados de libertad.

MS = Media de cuadrados.

a = Número de concentraciones utilizadas.

b = Número de voltajes utilizados.

$$SSN = \frac{\left[\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b y_{ij} y_{i.} y_{.j} - y_{..} \left(SSc + SSv + \frac{y_{..}^2}{ab} \right) \right]^2}{abSScSSv}$$

4.- Resultados experimentales para la membrana sintetica.

CONCENTRACION INICIAL: 30 mg/ml.

VOLTAJE: 15 Volts.

TIEMPO (Hrs.)	C _{pp} (mg)	DES. ESTD.	FRAC. PERM.
0	0	0	0
1	146.736	10.527	0.408
2	155.587	10.245	0.432
3	163.759	8.375	0.455
4	164.493	5.946	0.457
5	166.298	5.252	0.462
6	167.102	4.470	0.464
24	197.252	9.282	0.548
25	199.572	7.688	0.554
26	202.484	7.570	0.562
27	204.110	6.871	0.567
28	207.075	8.009	0.575
29	211.791	5.308	0.588
30	215.075	2.412	0.597
47	220.004	4.358	0.611
48	226.918	2.519	0.630

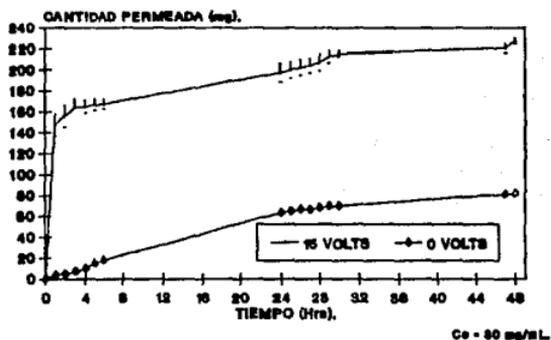
TIEMPO TOTAL: 48 horas.

CANTIDAD PERMEADA TOTAL: 226.918 mg.

FRACCION PERMEADA TOTAL: 63.03 %.

Gráfica de los datos para la membrana sintética:

PERFIL DE LIBERACION IONTOFORETICO MEMBRANA SINTETICA



5.- Paquetería software utilizada:

-Chi-Writer versión 3.02.

-Harvard Graphics versión 2.3021.

-Lotus 1-2-3 versión 2.2.

REFERENCIAS.

- 1.-A. Banga and W. Chien. *"Iontophoretic Delivery of Drugs: Fundamentals Developments and Biochemical Applications"*. J. of Cont. Rel. 7, (1988).
- 2.-G.B. Kasting, E.W. Merrit and J.C. Keister. *"An In Vitro Method for Studing the Iontophoretic Enhancement of Drug Transport Through Skin"*. J. of Memb. Science, 35, (1988).
- 3.-P. Glikfeld, C. Cullander, R.S. Hinz and R.H. Guy. *"New System for In Vitro Studies of Iontophoresis"*. Pharm. Res. Vol. 5, No. 7, (1989).
- 4.-V. Srinivasan, W.I. Higuchi and M.H. Su. *"Baseline Studies with the Four Electrode System: The Effect of Skin Permeability and Water Transport on the Flux of a Model Uncharged Solute During Iontophoresis"*. J. of Cont. Rel. 10, (1989).
- 5.-M. I. Foreman. *"Stratum Corneum Hydration; Consequences for Skin Permeation Experiments"*. Drug Dev. and Ind. Pharm. 12 (3), (1986).
- 6.-J.B. Phipps, R.V. Padmanabhan and G.A. Lattin. *"Iontophoretic Delivery of a Model Inorganic and Drug Ions"*. J. of Pharm. Sciences. Vol. 78, No. 5, May (1989).
- 7.-O. Siddiqui, M.S. Roberts and A.E. Polack. *"Iontophoretic*

Transport of Weak Electrolytes Through the Excised Human Stratum Corneum'' . J. Pharm. Pharmacol. 41, (1989).

8.-Y.W. Chien and A.K. Banga. ''*Iontophoretic (Transdermal) Delivery of Drug: Overview of Historical Development*'' . J. of Pharm. Sciences. Vol. 78, No. 5, May (1989).

9.-K. Tojo, C.C. Chiang, U. Doshi and Y.W. Chien. ''*Stratum Corneum Reservoir Capacity Affecting Dynamics of Transdermal Drug Delivery*'' . Drug Development and Industrial Pharmacy. 14 (4). (1988).

10.-N.H. Bellantone, S. Rim et al. ''*Enhance Percutaneous Absorption Via Iontophoresis. I. Evaluation of an In Vitro System and Transport of Model Compounds*'' . International Journal of Pharmaceutics. 30, (1986).

11.-P.G. Green et al. ''*Iontophoresis Delivery of Aminoacids and Aminoacid Derivatives Across the Skin In Vitro*'' . Pharmaceutical Research. Vol. 8, No. 9, (1991).

12.-P.G. Green, R.S. Hinz, A. Kim and R.H. Guy. ''*Iontophoresis Delivery of a Series of Tripeptides Across the Skin In Vitro*'' . Pharmaceutical Research. Vol. 8, No. 9, (1991).

13.-Y.B. Bannan et al. ''*Iontophoretically Induce Transdermal Delivery of Salbutamol*'' . Drug Development and Industrial Pharmacy. 14 (15-17), (1988).

14.-Y.W. Chien et al. *"Blood Glucose Control in Diabetic Rats by Transdermal Iontophoretic Delivery of Insulin"*. International Journal of Pharmaceutics. 44, (1988).

15.-H. Inada et al. *"Factors Affecting Sulfisoxazole Transport Through Excised Rat Skin During Iontophoresis"*. Chem. Pharm. Bull. 37, (1989).

16.-R.Ch. Behl. *"Iontophoretic Drug Delivery: Effects of Physicochemical Factors on the Skin Uptake of Nonpeptide Drugs"*. J. of Pharmaceutical Sciences. Vol. 78, No. 5, (1989).

17.-Y.W. Chien et al. *"Direct Current Iontophoretic Transdermal Delivery of Peptide and Protein Drugs"*. J. of Pharmaceutical Sciences. Vol. 78, No. 5, (1989).

18.-J.E. Sanderson, Staton de Riel and D. Ross. *"Iontophoretic Delivery of Nonpeptide Drugs. Formulation, Optimization Form Maximum Skin Permeability"*. J. of Pharmaceutical Sciences. Vol. 78, No. 5, (1989).

19.-S. Del Terzo, B.R. Charanjit and R.A. Nash. *"Iontophoretic Transport of Homologous Series of Ionized and nonionized Model Compounds: Influence of Hydrobicity and Mechanistic Interpretation"*. Pharm. Research. Vol. 6, No. 1, (1989).

20.-L.L. Miller and A.G. Smith. *"Iontophoretic Transport of Acetate and Carboxylate Ions Through Hairless Mouse Skin. A Cation*

Exchange Membrane Model'' . Int. J. of Pharmaceutics. 49, (1989).

21.-Y.B. Bannon, J. Corish and I. Corrigano. ''*Iontophoretic Transport of Model Compounds from Gel Matrix Across a Cellophane Membrane*'' . Drug Development and Industrial Pharmacy. 13(14), (1987).

22.- W.J. Lambert, W.J. Higuchi et al. ''*Effects of Long Term Hydration Leading to the Development of Polar Channels in Hairless Mouse Stratum Corneum*'' . J. of Pharm. Sciences. Vol. 78, No. 11, (1989).

23.-V. Srinivasan, W.I. Higuchi et al. ''*Transdermal Iontophoretic Drug Delivery: Mechanistic Analysis and Application to Polypeptide Delivery*'' . J. of Pharm. Sciences. Vol. 78, No. 5, (1989).

24.-P.M. Elias. ''*Structure and Function of the Stratum Corneum Permeability Barrier*'' . Drug Development Research. 13: 97-105 (1988).

25.-C.L. Slough et al. ''*Transdermal Delivery of Etidronate in the Pig Via Iontophoresis*'' . J. of Membrane Sciences. 35, (1988).

26.-Y.H. Tu, L.V. Alle Jr. ''*In Vitro Iontophoretic Studies Using a Synthetic Membrane*'' . J. of Pharm. Sciences. Vol. 78, No. 3, (1989).

27.-L. Wearley, J.Ch. Liu, Y.W. Chien. ''*Iontophoretic Facilitated*

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Transdermal Delivery of Verapamil. I. In Vitro Evaluation and Mechanistic Studies'' . J. of Controlled Release. 8, (1989).

28.-T. Koizumi et al. ''Transfer of Diclofenac Sodium Across Excised Guinea's Pig Skin on High Frequency Pulse Iontophoresis. I. Equivalent Circuit Model'' . Chem. Pharm. Bulletin. 38, (1990).

29.-T. Koizumi et al. ''II. Factors Affecting Steady State Transport Rate'' . Chem. Pharm. Bulletin. 38, (1990).

30.-N. A. Parikh, A. Babar and F. M. Plakoiannis. ''Transdermal Therapeutic Systems I'' . Pharm. Acta Helv. 59, 290, (1984).

31.-L. Villafuerte, J. Chavarín, A. García, A. Baltierra, F. Alvarez, E. Rodriguez y J. Angeles. ''Sistemas de Liberación Transdérmica'' . ENCB-IPN.

32.-N. H. Bhargava, B. J. Oza and Y. Rojanaskul. ''Transdermal Drug Delivery Systems'' . Drug Cosm. Ind. Jan. 52, (1989).

33.-L. Wearley and Y. W. Chien. ''Enhancement of the In Vitro Skin Permeability of Acidothymidine (AZT) Via Iontophoresis and Chemical Enhance'' . Pharm. Research. Vol. 7, No. 1, (1990).

34.-L. Wearley and Y. W. Chien. ''Iontophoretic Transdermal Permeation of Verapamil III. Effect of Binding and Concentration Gradient of Reversibility of Skin Permeation Rate'' . Int. J. of Pharmaceutics. 59, (1990).

- 35.-G.B. Kasting and J.C. Kelster. *"Application of Electrodiffusion Theory for a Homogeneous Membrane to Iontophoretic Transport Through Skin"*. J. of Controlled Release, 8, (1989).
- 36.-P. Glinkfeld, R.S. Hinz and R.H. Guy. *"Noninvasive Sampling of Biological Fluids by Iontophoresis"*. Pharm. Research. Vol. 6, No. 11, (1989).
- 37.-J.E. Riviere, B. Sage and P.L. Williams. *"Effects of Vasoactive Drugs on Transdermal Lidocaine"*. J. of Pharm. Sciences. Vol. 80, July No. 7, (1991).
- 38.-R.R. Burnette and B. Ongpipatanakul. *"Characterization of the Permeable Properties of Excised Human Skin During Iontophoresis"*. J. of Pharm. Sciences. Vol.78, No. 10. October, (1987).
- 39.-R.R. Burnette and B. Ongpipatanakul. *"Characterization of the Pore Transport Properties and Tissue Alteration of Excised human Skin During Iontophoresis"*. J. of Pharm. Sciences. Vol.77, No. 2, February, (1988).
- 40.-L.L. Miller, G.A. Smith and A. Ch. Chang. *"Electrochemically Controlled Release"*. J. of Controlled Release. 6, (1987).
- 41.-P. Lelawongs, J.C. Liu, O. Siddiqui and Y.W. Chien. *"Transdermal Iontophoretic Delivery Of Arginine-Vasopressin I. Physicochemical Considerations"*. International Journal of

Pharmaceutics. 58, (1990).

42.-V. Srinivasa and W.I. Higuchi. *"A Model for Iontophoresis Incorporating the Effect of Convective Solvent Flow"*. International Journal of Pharmaceutics. 60, (1990).

43.-M.J. Pikal. *"Transport Mechanisms in Iontophoresis. I. A Theoretical Model for the Effect of Electroosmotic Flow on Flux Enhancement in Transdermal Iontophoresis"*. Pharm. Research. Vol. 7. No. 2, (1990).

44.-M.J. Pikal and S. Saroj. *"II. Electroosmotic Flow and Transference Number Measurements for Hairless Mouse Skin"*. Pharm. Research. Vol. 7. No. 3, (1990).

45.-M.J. Pikal and S. Saroj. *"III. An Experimental Study of the Contributions of Electroosmotic Flow and Permeability Change in Transport of Low and High Molecular Weight Solutes"*. Pharm. Research. Vol. 7. No. 3, (1990).

46.-Y. Morimoto, S. Numajiri and K. Sugibayashi. *"Effect of Ion Species and their Concentration on the Iontophoretic Transport of Benzoic Acid through Poly (vinyl acetate) Membrane"*. Chem. Pharm. Bull. 39(0), (1991).

47.-F. Lescure et al. *"Utilisation du Principe de l'iontophorèse ou de l'électrophorèse pour le Contrôle de la Libération de Substances Médicamenteuses"*. Pharm. Acta Helv. 64, No. 8, (1989).

48.-L.L. Miller, Ch.J. Kolaskie and J. Rivier. *"Transdermal Iontophoresis of Gonadotropin Releasing Hormone (LHRH) and Two Analogous"*. J. of Pharm. Sciences. Vol. 79, No. 6, June (1990).

49.- P.P. Sarpotdar et al. *"Percutaneous Absorption Enhancement by Nonionic Surfactants"*. Drug Development and Ind. Pharmacy. 13(1), (1987).

50.-K. Florey. *"Analytical Profiles of Drug Substances"*. Academic Press, Inc. Tomo 2. California, USA, (1988).

51.-The Pharmaceutical Society of Great Britain. *"Clarke's Isolation and Identification of Drugs"*. Part 2. Ed. Staff. July (1985).

52.-B.G.Katzung. *"Farmacología Básica y Clínica"*. Cuarta edición. El Manual Moderno. México, D.F., 1991.

53.-J.M. Glass, R.L. Stephen, S.C. Jacobson. Int. Journal of Dermatology. 19, (1980).

54.-P.R. Harris. J. Orthopaedic Sports Phys. Ther. 4,(1982).

55.-D.C. Montgomery. *"Diseño y Análisis de Experimentos"*. Editorial Iberoamericana. México, 1991.

56.-D.H. Cormack et al. *"Histología de Ham"*. Editorial Harla. Novena edición. México, 1989.

57.-Y.W. Chien. *Novel Drug Delivery Systems*'. Marcell Dekker Inc. N. Y., 1982.

58.-L.S. Goodman y G.A. Gilman. *Bases Farmacológicas de la Terapéutica*'. Quinta edición. Editorial Interamericana. México, 1980.

59.-E.S. García Jacobo. *Revisión Bibliográfica de los Sistemas Terapéuticos de Liberación Controlada. 1982-1992*'. (Tesis), UNAM (FES-Cuautitlan), 1993.