



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

**“Propuesta de una base polimérica con
Eudragits para ser usada en un parche trans-
dérmico con *Equinácea*”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A :

CARRANZA QUINTANA CÉSAR

ASESORA DE TESIS: DRA. LETICIA CRUZ ANTONIO



México DF.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

A mis padres.

Mis agradecimientos para mi asesora la Dra. Leticia Cruz Antonio por su comprensión, por guiarme en el transcurso de este trabajo y por aportarme sus valiosos conocimientos.

Y por supuesto para la QFB. Ma. de los Ángeles Vidal Millán (†) porque su esencia y carácter se encuentran en este trabajo.

INDICE

INTRODUCCIÓN	1
I. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	3
A. Sistemas de Liberación Controlada	3
1. Clasificación de los sistemas de Liberación Controlada	4
a. Sistemas de Liberación de Fármacos de Velocidad-preprogramada	5
b. Sistemas de Liberación de Fármacos de Activación Modulada	5
1) Medios físicos	5
2) Medios fisicoquímicos	6
3) Medios bioquímicos	6
c. Sistemas de liberación de Fármacos Retroalimentación-regulada	6
d. Sistemas de Liberación de Fármacos Sitio-específico	6
B. Sistemas Terapéuticos Transdérmicos de Liberación Controlada	7
1. Antecedentes	9
2. Composición	10
a. Polímeros usados en Sistemas Terapéuticos Transdérmico	13
b. Plastificantes	14
c. Potenciadores o Acarreadores de la Penetración	15
3. Tecnología de Los Sistemas Transdérmicos	19

a. Sistemas de Liberación Moderados por Membrana	20
b. Sistemas de Dispersión Adhesiva	22
c. Sistemas de Difusión Controlados por una Matriz	23
4. Ventajas y Desventajas de los Sistemas Transdérmicos	26
5. Métodos de Fabricación	27
a. Método del Solvente	27
b. Método de Difusión	27
C. La Piel como Sitio de Absorción Transdérmica	28
1. Rutas de Penetración a través de la Piel	31
D. Absorción Percutánea: Características Principales	34
1. Factores Físicoquímicos que Afectan la Absorción	37
a. Solubilidad y Coeficiente de Partición	38
b. Concentración del Fármaco	39
c. Hidratación de la Piel	41
d. Efecto del vehículo	42
e. Surfactantes	43
f. Otros Factores que Influyen la Absorción Percutánea	44
E. Métodos de Estudio para la Evaluación de	
Formulaciones Tópica	45
1. Métodos <i>in vivo</i>	46
2. Métodos <i>in vitro</i>	47
a. Modelos de Liberación	49
b. Modelos de Absorción	52
1) Sistemas con una Capa	53
2) Sistemas Multicapas	54
3. Prueba de Disolución de Sistemas de	
Liberación Transdérmica	55

a. Aparato de Cilindro Rotator	58
b. Discos Reciprocantes	59
4. Equipo	63
5. Factores que Influyen en la Velocidad de Disolución	63
6. Factores relacionados en la formulación del producto	64
7. Factores Relacionados a la Forma Farmacéutica	64
8. Factores Relacionados al Aparato de la Prueba de Disolución	64
F. Evaluación de los Perfiles de Disolución	64
1. Área Bajo la Curva (ABC)	65
2. Tiempo Medio de Disolución (TMD) y Tiempo Medio de Resistencia (TMR)	65
3. Eficiencia de Disolución	67
G. Parámetros Farmacocinéticas de Transdérmicos	69
1. Fase de Retardo	69
2. Coeficiente de Permeabilidad	70
H. Validación	71
1. Definición	71
II. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DE LOS EXCIPIENTES Y PRINCIPIO ACTIVO	72
A. Equinácea	72
1. Descripción	72
2. Acción Farmacológica	72
3. Aplicación y Usos	73
4. Contraindicaciones	73

5. Dosificación	74
B. Eudragits (polimetacrilatos)	74
1. Eudragits RL/RS	75
C. Acetona	76
D. Alcanfor	77
1. Características	77
2. Acción Farmacológica	77
E. Acetil trietil citrato (Citroflex)	78
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	79
IV. OBJETIVOS	81
V. HIPÓTESIS	81
VI. EQUIPO, MATERIAL Y REACTIVOS	82
A. Material	82
B. Equipo	83
C. Reactivos	83
D. Materias Primas	84
VII. METODOLOGÍA	85
A. Diagrama de Bloques de la Parte Experimental	85
B. Preformulación	86
1. Control de Calidad del Principio Activo	86
2. Selección de Componentes	86
3. Evaluación Física de la Formulación	88

4. Compatibilidad Fármaco-Excipiente	90
C. Formulaci3n	91
D. Desarrollo y Validaci3n del M3todo Anal3tico	92
E. Prueba de Liberaci3n del Principio Activo	93
VIII. RESULTADOS	94
IX. ANALISIS DE RESULTADOS	105
X. CONCLUSIONES	116
XI. SUGERENCIAS	117
XII. BIBLIOGRAFÍA	118
XIII. ANEXOS	128

INTRODUCCIÓN

Cada vez son más las personas que comprenden que no siempre es necesario recurrir a medicamentos químicos, muchas veces agresivos pero de acción contundente y rápida, para calmar dolencias corrientes que bien pudieran ser aliviadas con soluciones acaso más lentas, pero también mejor adaptadas a la respuesta natural del organismo. Trastornos digestivos, catarros y afecciones respiratorias, dolores de cabeza y musculares, inflamaciones osteoarticulares, infecciones genitourinarias, trastornos ginecológicos, problemas dermatológicos y una gran diversidad de dolencias relacionadas con los nervios pueden encontrar en las plantas una vía amable y a la vez eficaz de disminuir e incluso disipar sus efectos.

Cierto es que la medicina a evolucionado de manera acelerada y que lo seguirá haciendo, para beneficio del ser humano. Pero también es cierto que una gran parte de los medicamentos actuales (hay quien lo cifra en el 50%) están basados en principios activos aislados de las plantas medicinales.

La industria farmacéutica se ha preocupado por generar nuevas formas farmacéuticas, con lo que permite al consumidor tener diferentes opciones en la administración de un medicamento, y en el desarrollo de nuevos principios activos ha mostrado mucho interés con la finalidad de obtenerlos de plantas y que estos a su vez sean presentados en una forma farmacéutica convencional o bien en una nueva.

Entre otras formas farmacéuticas que se han encontrado están los sistemas terapéuticos transdérmicos, de los cuales, ya existen algunos con principios activos como lo son los de nitroglicerina, nicotina y algunos con hormonas (progesterona y testosterona).

En el presente trabajo se propuso desarrollar un sistema de liberación de tipo transdermal con equinácea, mediante un sistema de dispersión de matriz,

usando como base polimérica Eudragit RL100 y Eudragit RS100; evaluando la liberación del principio activo utilizando el método de celdas de difusión de Franz modificadas para perfiles de disolución.

Para la elaboración del parche transdérmico se tuvieron que considerar diferentes factores como son: propiedades fisicoquímicas del principio activo y las de los polímeros usados, así como las propiedades de los excipientes y las de los disolventes.

I. FUNDAMENTACION TEÓRICA

A. SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

La realidad del desarrollo y consumo de medicamentos indica que aunque en los años pasados, las formas de dosificación fueron diseñadas para una terapia de administración oral, rectal, parenteral, etc. En los recientes años una gran actividad en el área de tecnología de liberación controlada ha abierto nuevas fronteras para el diseño de novedosas modalidades de medicamentos.

Antes del diseño de estas formas farmacéuticas, los inyectables eran considerados como la forma más eficaz para liberar medicamentos, no sólo por la eliminación del primer paso a través del hígado, sino por que también mantienen un nivel efectivo-terapéutico constante y prolongado, evitando dosis repetidas en el caso de medicamentos los cuales contienen un principio activo con tiempo de vida media corta.

Recientemente, el estudio y conocimiento de estos ha incrementado, de tal forma que los beneficios de una administración inyectable pueden ser duplicados sin ningún riesgo potencial por una administración continua a través de la piel.

En respuesta a esta nueva idea, varios sistemas transdérmicos de liberación de medicamentos han sido desarrollados con el fin de generar sistemas de medicamentos que se apliquen a través de la superficie de la piel intacta.

Estas nuevas modalidades se han desarrollado intentando obtener un mayor valor terapéutico, tanto para fármacos conocidos como para fármacos nuevos, a través de mantener su nivel sanguíneo dentro del rango terapéutico por periodos prolongados.

El desarrollo de los sistemas de liberación controlada ha significado hasta ahora, una manera de mejorar el suministro de los fármacos al cuerpo de un paciente.

Estas formas de dosificación, que en 1984 fueron un método novedoso de administración, que se fundamenta o tiene como principio dirigir el efecto farmacológico hacia un lugar 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 en el sitio de acción permanezca en los niveles terapéuticos necesarios para restablecer la salud del paciente, dado que significa un número menor de tomas o aplicaciones y en muchos casos la desaparición de los efectos secundarios observados, al alcanzar los niveles del fármaco mayores a los necesarios, al administrar formas de dosificación en las cuales no se controla la velocidad de liberación.

La liberación controlada no significa únicamente la prolongación de un efecto determinado, sino que también significa que ese efecto puede predecirse y reproducirse en una cinética de liberación.¹⁻⁴

1. Clasificación de los sistemas de liberación controlada

En la actualidad, se pueden clasificar los sistemas de liberación controlada con base a su vía de administración, y Chien en 1992² presenta una clasificación en relación al avance técnico.

Con base a su vía de administración se clasifican en:

- Orales
- Transdérmicos
- Intradérmicos
- Vaginales
- Rectales
- Uterinos
- Oculares

Con base al avance técnico se clasifican en:

a. Sistemas de liberación de fármacos de velocidad-preprogramada

En este grupo de sistemas de liberación controlada, las moléculas del fármaco son liberadas a través de un sistema de liberación que ha sido preparado con perfiles específicos de velocidad. Este es acompañado por sistemas designados que controlan la difusión molecular en y/o a través de la barrera del medio, dentro o alrededor del sistema de liberación. Estos sistemas se pueden clasificar en:

- Sistemas de permeabilidad controlada por membrana.
- Sistemas adhesivos de dispersión.
- Sistemas de difusión controlada desde la matriz.
- Sistemas de disolución controlada desde un microdepósito.

b. Sistemas de liberación de fármacos de activación modulada

En este grupo de sistemas de liberación controlada, las moléculas del fármaco son liberadas a través de un sistema de liberación activado por algunos procesos físicos, fisicoquímicos o bioquímicos y/o facilitados por la energía suministrada externamente.

La velocidad del fármaco liberado es controlada por un proceso natural aplicado o el tipo de energía usada, estos sistemas de liberación activación modulada se pueden clasificar en:

1) Medios físicos

- Presión osmótica-activada
- Presión hidrodinámica-activada.
- Presión de vapor-activada.

- Mecánicamente-activada.
 - Magnéticamente-activada.
 - Sonoforesis-activada.
 - Iontoforesis-activada.
 - Hidratación-activada.
- 2) **Medios fisicoquímicos**
- pH-activado.
 - Ion-activado.
- 3) **Medios bioquímicos**
- Enzima-activada.
 - Bioquímicos-activados.

c. Sistemas de liberación de fármacos retroalimentación-regulada

En este grupo de sistemas de liberación controlada, la molécula del fármaco es liberada a través de un sistema el cual es activado por un agente, funcionando como una sustancia bioquímica en el cuerpo y también es regulada la concentración vía algunos mecanismos de retroalimentación. Por lo tanto la velocidad para el fármaco es controlada por la concentración del agente activador detectado por un sensor en el mecanismo de retroalimentación regulada.

d. Sistemas de liberación de fármacos sitio- específico

De la primera clasificación, quizá la de mayor aceptación y la de mayor desarrollo en los últimos años, han sido los sistemas oculares, transdérmicos e intrauterinos, debido principalmente al gran beneficio terapéutico que han logrado en la actualidad. Tales sistemas tienen bastante similitud en su estructura ya que utilizan un reservorio o matriz polimérica, del cual el fármaco es liberado por difusión de manera constante y con una cinética de orden cero, logrando así mantener los niveles terapéuticos por periodos prolongados.^{2,3}

B. SISTEMAS TERAPÉUTICOS TRANSDÉRMICOS DE LIBERACIÓN CONTROLADA

Sobre las pasadas décadas muchos científicos farmacéuticos han trabajado sobre una alternativa posible a métodos tradicionales y arcaicos de liberación de fármacos: inyecciones y liberación oral. El dolor y la infección asociada con la inyección tienen como resultado la conformidad baja del paciente. La liberación transdérmica de fármacos parece como una respuesta a todos estos problemas. Es en esencia, un transporte de moléculas de fármaco a través de la piel, y ofrece varias ventajas sobre métodos tradicionales. Primeramente se comparó con las inyecciones, la liberación transdérmica elimina el dolor y la posibilidad de infección, y contra la liberación oral, reduce la eliminación por el hígado y proporciona la liberación sostenida del fármaco hasta 7 días.⁵

Como concepto de tales sistemas puede referirse al de una preparación o forma farmacéutica de dosificación, en la que se produce la liberación del fármaco o fármacos que contiene, de una forma continua o preestablecida, durante un periodo prefijado de tiempo, bien sea sistémicamente, o bien dirigida hacia un órgano específico. Lo esencial por lo tanto, radica en el hecho de la liberación controlada continua a lo largo del tiempo, lo que los diferencia claramente y se hace preciso no confundir, con las formas o sistemas de liberación prolongada o retardada en los que se consigue prolongar la duración de la acción farmacológica y alargar así la frecuencia de administración.^{6,7}

Un sistema de liberación transdérmica se define como: sistema que a través de permeación transdérmica o absorción percutánea (paso el fármaco desde el exterior por las varias capas de la piel, hasta la corriente sanguínea) libera un fármaco a una velocidad constante, por un periodo de tiempo establecido y con

una cinética de orden cero hacia el torrente sanguíneo, para satisfacer necesidades terapéuticas específicas.

La forma típica de estas formulaciones es un parche, definido como un sistema en el cual se encuentra el fármaco disperso en un polímero que actúa como una matriz, que controla la liberación de este.⁸

Con las formas de dosificación convencionales (tabletas, cápsulas), la cantidad de fármaco absorbido a través del tracto gastrointestinal, varía dependiendo de la cantidad y tipo de alimento en el estómago, del tiempo de tránsito y motilidad del tracto gastrointestinal y de la flora microbiana que puede destruir algunos agentes farmacológicamente activos. En el caso de fármacos con alta extracción hepática, se corre el riesgo de que sean desactivados antes de alcanzar la circulación sistémica por efecto del metabolismo del primer paso, por lo que la absorción de fármacos a través del tracto gastrointestinal puede resultar en niveles sanguíneos variables e impredecibles.

Algunos de estos inconvenientes pueden ser minimizados por la administración de tabletas o cápsulas de liberación controlada, sin embargo, estas formas de dosificación no pueden eliminar la variabilidad asociada con el efecto del metabolismo de primer paso.⁹

Sin embargo, la liberación transdérmica no es práctica ni recomendada cuando se requiere liberar grandes cantidades de fármaco, cuando el fármaco o la formulación irritan o sensibilizan la piel, cuando el fármaco es metabolizado en la piel o cuando el tamaño molecular del fármaco es lo bastante grande para impedir la difusión de las moléculas a través de la piel.^{9,10,11,12}

1. Antecedentes

Los parches se aplicaron a la piel eliminando la necesidad de uso de jeringas; pero el desarrollo histórico del parche no se encuentra bien documentado, sin embargo, su uso data de algunos cientos de años en China; un ejemplo lo constituye el parche Yang-Chen; estos parches tienden a contener ingredientes múltiples de fármacos naturales, mismos que son indicados para acción local en los tejidos ubicados bajo el sitio de aplicación.

Durante la segunda guerra mundial, muchos trabajadores experimentaron menos ataques de angina cuando ellos trabajaron con glicerina, este desarrollo se dirigió al desarrollo de ungüentos de nitroglicerina durante los años cincuenta. El interés en la liberación de fármacos transdérmicos recayó más tarde hasta finales de 1960 y principios de 1970, cuando muchos avances se hicieron en estos sistemas.

Los parches transdérmicos fueron desarrollados en 1970 y el primero fue aprobado por la FDA (Federal Drug Administration) en 1979 para el tratamiento de la enfermedad del movimiento. Este era un parche con tratamiento para tres días que liberaba Escopolamina. Ahí es donde evolucionó una alternativa exitosa para la liberación del fármaco sistémicamente. Los parches transdérmicos han probado ventajas para la liberación de fármacos seleccionados.^{38, 39}

En 1981, los parches que se aprobaron fueron los de Nitroglicerina y hasta hoy existen una gran cantidad de parches con diferentes tipos de fármacos.⁴⁴ Dependiendo del fármaco, los parches duran generalmente a partir de uno a siete días. A mediados de los años ochenta, la industria farmacéutica reconoció la oportunidad de desarrollar un parche de nicotina para ayudar a fumadores a salir adelante. Aunque la influencia de varios factores hizo que la respuesta fuera acertada.⁹

Muchos otros parches se introdujeron durante los años noventa, entre ellos se incluyen: Estraderm, Duragesic, Deponit, Nitrocine, Minitram. El interés que se presentó fue que se le atribuyeron varias ventajas que afectaban la absorción gastrointestinal de la medicación, tal como el pH, la actividad y la interacción enzimática entre fármaco-alimento.⁴⁰

Como evidencia de esto, todos los fármacos administrados por la piel dependen de tres cosas: masa molecular baja, lipofilicidad alta y dosis pequeña requerida. El fármaco más pequeño formulado actualmente en un parche es la nicotina y la más grande es la oxibutina. Abrir la ruta transdermal en los fármacos hidrofílicos grandes es uno de los desafíos principales en el campo de la liberación transdermal del fármaco.⁴¹

A través de las dos décadas pasadas, los parches transdermales han llegado a ser una tecnología que ofrece una variedad de beneficios clínicos significativos sobre otras formas de dosificación. Aunque los parches de liberación transdérmica tengan una forma regulatoria relativamente corta, en comparación con otras formas convencionales de dosificación, cuentan con un registro de aprobación por la FDA.⁸⁷

2. Composición

Para controlar la liberación de los sistemas terapéuticos, el químico farmacéutico debe saber que la formulación y las variables que se presentan en su fabricación debido a los componentes del producto pueden afectar a la reproducibilidad de liberación del principio activo; en estrato córneo y epidermis.

Los cambios en adhesivos, disolventes, agentes que modifican la viscosidad y cambios en las películas semipermeables pueden tener un efecto significativo en la liberación del fármaco.¹³

En términos generales, un sistema terapéutico transdérmico, o en lenguaje común, parche cutáneo, queda configurado por los siguientes elementos: cubierta protectora exterior impermeable, reservorio conteniendo el fármaco, membrana microporosa controladora de liberación del principio activo, por su permeabilidad específica y selectiva, superficie o capa adhesiva para la fijación del dispositivo de la piel y la película protectora del sistema, a retirar en el momento de su aplicación al paciente.

Todos ellos son esenciales para que se cumpla el programa terapéutico en su diseño, el reservorio del medicamento y la membrana controladora de liberación. Ambos constituyentes garantizan que se satisfaga plenamente el principio farmacocinético fundamental que se exige a todo sistema de esta naturaleza, es decir, que la velocidad de liberación del fármaco, desde el dispositivo, sea en cualquier caso menor que la de absorción a través de la piel, de forma que aquella se constituya en el factor limitante de la entrada del medicamento en el organismo. ⁶

Los sistemas terapéuticos transdérmicos contienen además del fármaco(s), vehículos como aceites, alcohol, glicerina, agua, surfactantes y otros excipientes como lactosa, bióxido de silicio y celulosa. Durante los ajustes en los niveles de estos componentes pueden ser hechos de acuerdo a la liberación del fármaco y/o a la adhesión del producto que sea el apropiado y las características de su uso mientras la irritación disminuye.

Así el farmacéutico debe entender la relación entre los componentes del producto y los excipientes y en el orden en el que se deben adicionar. Con respecto al efecto del adhesivo, un ejemplo claro es el uso de caucho de silicona o poliisobutileno que afecta la solubilidad del fármaco y el coeficiente de la difusión del fármaco dentro de la matriz adhesiva. La interacción del fármaco no

es el único parámetro de la formulación que puede afectar la liberación, otros lo son, como la composición del vehículo, la porosidad y el espesor de la matriz.¹³

En el caso especial y particular de fármacos muy liposolubles y de pequeño tamaño molecular, como es el de Nitroglicerina, este principio fundamental se cumple siempre, aun sin necesidad de incluir en el dispositivo, ni el reservorio con el medicamento, ni la membrana controladora de la liberación, puede ser ventajoso para el paciente.

Ello es así debido a que en este supuesto, la absorción de fármacos a través del estrato córneo y del resto de estructuras cutáneas es prácticamente instantánea, de forma que el paso del medicamento a la circulación sistémica depende o se ve limitado exclusivamente por la superficie de absorción de la referida capa córnea, o lo que es lo mismo, por el tamaño de dispositivo o parche, siendo totalmente independiente de la cantidad de principio activo contenido en éste, o liberada a partir de él. De hecho, algunos sistemas de Nitroglicerina presiden de tales estructuras e incorporan el medicamento, en forma microemulsionada, directamente en la capa del adhesivo para la piel.⁶

Desde un punto de vista histórico los sistemas terapéuticos se controlaban con membranas y yesos como matriz.

Los primeros sistemas de tipo matriz contenían una capa adhesiva adicional, mientras que los sistemas modernos se componen de matrices con su propio adhesivo. Por contraste los sistemas de membrana se construyen de una membrana de control que principalmente es de etilenvinilacetato o de polietileno. En el caso de las matrices con sistemas en que el fármaco se disuelve o es suspendido se usa una matriz hidrofílica o lipofílica.

Un ejemplo para un sistema transdermal que ya está en el mercado es Transtecw un parche de liberación lenta con una matriz que sirve para el tratamiento de dolor severo. Contiene el principio activo incorporado con una

matriz de polímero que al mismo tiempo es la capa adhesiva. El parche es capaz de controlar la liberación del fármaco y producir concentraciones fijas en plasma.

Este sistema transdermal proporciona analgesia excelente y una incidencia baja de acontecimientos adversos. Su comodidad de uso tiene como resultado la conformidad. Hay muchos estudios en sistemas transdermales con otros fármacos candidatos que están en etapas diferentes de desarrollo. Un enfoque es la mejora de adhesivos en la piel combinando polímeros diferentes. El efecto de una combinación de metacrilatos con éteres de celulosa o polivinilpirrolidona (PVP) puede tener un aumento significativo de la cohesión de matriz que se debe a la interacción entre el grupo amida de PVP y el grupo ácido carboxílico de metacrilatos.

Este sistema se puede quitar de la piel fácilmente y es adecuado para aplicaciones repetidas en el mismo sitio y las propiedades adhesivas tenidas podrían ser modificadas cambiando las proporciones de los componentes. Los parches transdérmicos prometen ser candidatos para uso veterinario.¹⁴

a. Polímeros usados en sistemas terapéuticos transdérmicos

De tal manera que todo el material usado para estas aplicaciones debe demostrar que no originará infección o irritación alguna en la piel humana.^{15,16.}

Dentro de los polímeros evaluados y que se pueden utilizar como recurso en sistemas transdérmicos se pueden enlistar los siguientes:

- Polímeros de silicón
- Polietileno.
- Polipropileno.

- Cloruro de polivinilo.
- Metacrilatos.
- Poliuretano.
- Hidrogeles.
- Colágeno.¹⁷

b. Plastificantes

Un plastificante es un compuesto líquido que no es reactivo o bien un sólido de bajo peso molecular que se puede incorporar a un polímero rígido.

La plastificación se usa generalmente para mejorar las propiedades mecánicas de una matriz polimérica. Sin embargo un plastificante puede mejorar también la permeación del fármaco por una membrana.

Esta conducta ocurre por que el agente plastificante puede debilitar las fuerzas intermoleculares entre las cadenas del polímero, haciendo el volumen libre más grande. Así la permeabilidad del fármaco por la membrana puede ser afectada por la adición de un plastificante.

Las características más importantes que debe poseer son:

- 1) No ser tóxico.
- 2) No producir irritación alguna.
- 3) Ser totalmente miscible con el polímero al que se va a incorporar.

Algunos ejemplos de plastificantes usados comúnmente incluyen:

- Ésteres de ftalato
- Ácidos adiposos
- Derivados de citratos
- Glicerol
- Benzoato de bencilo

- Sebacato de dibutilo
- Aceite mineral
- Petrolato y alcohol lanolínico
- Propilenglicol y Polietilenglicol (líquido). ^{18,19}

En general los plastificantes son agentes que son aplicados a sistemas poliméricos con permeación controlada de fármaco. Sin embargo la combinación de ambas estrategias para obtener membranas para la permeación del fármaco no ha sido estudiada extensamente hasta ahora.

Otro ejemplo de un estudio realizado es el acetato de celulosa, que se eligió como el polímero formador de membrana, caprolactama como el plastificante y agua como el disolvente para generar la flexión. El estudio que se realizó fue para analizar la influencia de los efectos del disolvente y el plastificante; determinado por los perfiles de permeación. Primero la influencia de cantidades diferentes de agua en la solución del polímero afectó la porosidad de la membrana consecuentemente en el perfil de permeación. ^{20,21}

c. Potenciadores ó Acarreadores de la penetración

Se ha planteado que el éxito de todo sistema terapéutico transdérmico depende de la capacidad de la sustancia de difundirse a través de la piel en cantidades suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado. Todos los sistemas de este tipo, contienen principios activos con un coeficiente de difusión dependiente de la naturaleza del polímero y del tamaño molecular del principio activo, para obtener niveles constantes de sustancia activa en plasma; otra de las características que deben cumplir estos compuestos es que se requieren bajos niveles plasmáticos para lograr su efectividad terapéutica.

Algunas de las sustancias activas que se encuentran en investigación no poseen la capacidad intrínseca de atravesar la piel de manera eficiente, por lo que ha sido necesaria la búsqueda de vías para modificar esta barrera difusional.

Una de las formas que ha sido estudiada con mayor rigor es el uso de agentes potenciadores de la penetración, que son sustancias químicas capaces de disminuir la resistencia difusional que ofrece la piel. Esta opción pudiera ser la solución para aquellas sustancias con dificultad para atravesar el estrato córneo; sin embargo; no podemos olvidar las reacciones adversas, en cuanto a irritación se refiere, que estos agentes ocasionan por su naturaleza oclusiva, conduciendo a la acumulación del sudor e incrementando el crecimiento microbiano.²²

Los fármacos liberados transdérmicamente en general son considerados como una ruta deseable de administración para medicamentos; sin embargo el mayor problema encontrado en estos, es la baja permeabilidad a través de la piel humana, más específicamente en el estrato córneo que ha sido considerado como la mayor barrera de penetración a fármacos aplicados tópicamente, donde una importante consideración se tiene sobre la variedad biológica de la piel, ya que el proceso de absorción percutánea se considera complejo, puesto que involucra la difusión de moléculas a través de multicapas de la piel y la absorción a la circulación sistémica.^{23, 24, 25, 26}

La importancia de la piel como un sitio de absorción para fármacos es muy conocida. Se han usado varios medios para aumentar la permeación de fármacos en la piel. Entre ellos, los potenciadores de la penetración es una de los medios más convenientes que muestra efectos relativamente fuertes.

Los potenciadores, mejor conocidos como mejoradores de la penetración son aquellas sustancias que incrementan la penetración de ciertas sustancias o

fármacos cuando son aplicados tópicamente por tener un efecto directo sobre la permeabilidad de la piel.

Estos agentes actúan recíprocamente con los componentes del estrato córneo para inducir un aumento temporal y reversible en la permeabilidad de la piel. Se incorporan a la formulación que reduciría reversiblemente la resistencia de la barrera de la piel y así permitirá que el fármaco pueda penetrar a los tejidos viables y entrar en la circulación sistémica.²⁷

A causa de sus estructuras estrictamente diferentes, el mejorador; como un mecanismo con actividad precisa de mejorador dependerá de sus propiedades fisicoquímicas. De tal modo que estos excipientes deben ser farmacológicamente inertes, inodoros, insípidos, sin color, económicos y tener propiedades de disolvente buenas. El mejorador no debe permitir la pérdida de líquidos del cuerpo.²⁸

Estos potenciadores o mejoradores pueden actuar por efecto químico directo sobre la piel, o afectar las propiedades fisicoquímicas del fármaco o el sistema de liberación. Se sabe que el alcohol, éter y benceno alteran la función de barrera de la piel, por la reposición de los lípidos en el estrato córneo. Sin embargo, el uso de potenciadores de la penetración es generalmente limitado, debido a que existen muy pocos potenciadores que puedan incrementar la absorción percutánea sin dañar o irritar la piel.

La aplicación de fármacos en la superficie de la piel tiene como propósito el liberar el fármaco en la piel (liberación dermal), o por la piel y en la corriente sanguínea (liberación transdermal). Los fármacos se aplican típicamente en la cantidad suficiente de la piel y así prolongar la liberación en un periodo de varias horas hasta unos pocos días. Los sistemas terapéuticos para la liberación transdérmica, incluye a los parches.

El paso del principio activo a la corriente sanguínea sucede por difusión. En este proceso, la capa keratinizada de la epidermis (el estrato córneo) presenta una barrera formidable de permeación debido a su estructura extraordinaria biofísica. La cantidad de fármaco que pasa es controlada por la cantidad liberada en el sistema o la cantidad de permeación por el estrato córneo.

Cuando los parches se emplean, la liberación es regulada frecuentemente por membranas poliméricas. La permeación de la membrana depende de su estructura química y el disolvente empleado.

Los componentes de la formulación pueden actuar recíprocamente con el estrato córneo de una manera que altere sus características de permeabilidad del fármaco y que aumente el transporte a través de la piel.^{28, 29, 30}

Desgraciadamente la liberación de fármacos por la piel no es una tarea sencilla. De hecho, la mayoría de los fármacos no pueden penetrar la piel en un estado suficientemente alto para que haya una eficacia terapéutica y sólo los que tienen características fisicoquímicas apropiadas son los candidatos para la liberación transdérmica.

Se reportó que varios esteres aumentan la permeabilidad del fármaco y esto se ha realizado comparando la relación en el aumento de su lipoficidad y el tipo de fármaco al que se administró.³¹

Para aumentar esta permeabilidad, se realizan varias pruebas *in-vitro* para las cuales se estudiaron en piel de ratón, con varios sistemas de disolventes como terpenos, ácido oléico y linoléico.

Otras pruebas que se pueden realizar para la absorción percutánea es el uso membranas artificiales o naturales.³²

La siguiente lista indica algunos compuestos químicos usados como potenciadores de la penetración:

- Alcoholes.
- Ácidos grasos y alcoholes grasos.
- Lactamas y aminas.
- Cetonas cíclicas y lactosas.
- Pirrolidonas.
- Terpenos (limoneno y pineno).
- Fosfolípidos.
- Alquil morfolidinas.
- Ácido salicílico y salicilatos.
- Ácidos orgánicos.
- Aminas.
- Miristrato de isopropilo

Los estudios recientes en el aumento químico de permeación en la piel se han dirigido a determinar la potencia del mejorador, bajo condiciones en que el mejorador permanece esencialmente en equilibrio con el estrato córneo durante el transporte.^{33, 34, 35, 36, 37.}

3. Tecnología de los Sistemas Transdérmicos

Existen dos tipos básicos de sistemas de liberación transdérmica en relación a la velocidad de liberación del fármaco: **1)** aquellos que controlan la liberación del fármaco a la piel, y **2)** aquellos que permiten que la piel controle la velocidad de absorción del fármaco.

La liberación del fármaco en los primeros sistemas es relativamente constante, tan largo como la solución del fármaco permanezca saturada en el depósito.

Y en el caso de los que permiten que la piel controle la liberación del fármaco, se requiere de una matriz, la cual va controlando la liberación del fármaco con respecto al tiempo.⁴²

Este tipo de sistema es útil cuando se requiere dosificar algún fármaco con un amplio rango de concentraciones plasmáticas, sobre las cuales el fármaco es efectivo pero no tóxico. Para este tipo de fármacos, los sistemas de liberación transdérmica, pueden ser diseñados y desarrollados en varios tamaños y dosis, hasta obtener el efecto terapéutico deseado.

Sin embargo, para muchos fármacos es importante controlar más estrecha y predeciblemente la velocidad de liberación del sistema y su absorción percutánea, por lo que en estos casos, los sistemas de liberación transdérmica son diseñados y desarrollados para controlar la liberación del fármaco a la piel para su subsiguiente absorción.

Los sistemas de liberación de este tipo, liberan cantidades uniformes del fármaco a la piel por un tiempo determinado. La cantidad de fármaco liberado del sistema por unidad de tiempo deberá ser menor que la cantidad de fármaco absorbible por cada tipo de piel, y de esta forma, el sistema de liberación y no la piel controlará la cantidad de fármaco, que será absorbido y que alcanzará la circulación general. ¹⁰.

Tecnológicamente, existen cuatro tipos de sistemas de liberación transdérmica disponibles comúnmente en el mercado. Sin embargo, siendo más precisos, hay solo dos conceptos básicos en el diseño de los sistemas de liberación transdérmica: **1)** los sistemas de liberación tipo reservorio y **2)** los sistemas de liberación tipo matriz. Los demás tipos de sistemas de liberación caen dentro de estas dos categorías. ^{10, 12, 43}.

a. Sistemas de liberación moderados por membrana

En los sistemas moderados por membrana el fármaco es totalmente guardado en un compartimiento plástico impermeable al fármaco y una membrana polimérica que controla la liberación.

Las moléculas del fármaco sólo se pueden liberar por la membrana polimérica que controla la velocidad.

En el compartimiento de depósito, los sólidos del fármaco son dispersados homogéneamente en una matriz polimérica sólida, suspendida en un medio líquido viscoso, para formar una dispersión, o disolverse en un disolvente apropiado.

La membrana que controla la velocidad de liberación del fármaco puede ser microporosa o no porosa con una permeabilidad definida del fármaco.

En la superficie externa de la membrana polimérica se encuentra una capa delgada hipoalérgica de polímero adhesivo sensible a la presión, que es aplicado para proporcionar un mejor contacto entre el sistema terapéutico transdermal con la superficie de la piel.

La velocidad de liberación del fármaco de este sistema transdermal puede ser modificada variando la composición del polímero, el coeficiente de permeabilidad y/o el espesor de la membrana del control de liberación.

Varios sistemas terapéuticos transdérmicos se han desarrollado exitosamente con esta tecnología y como mejor ejemplo están: el sistema transdérmico Transderm-Nitro, aprobado por la FDA, para el tratamiento de mareos; Catapres-TTS para la hipertensión y Estraderm para el tratamiento del síndrome postmenopáusico.^{3, 4,7}

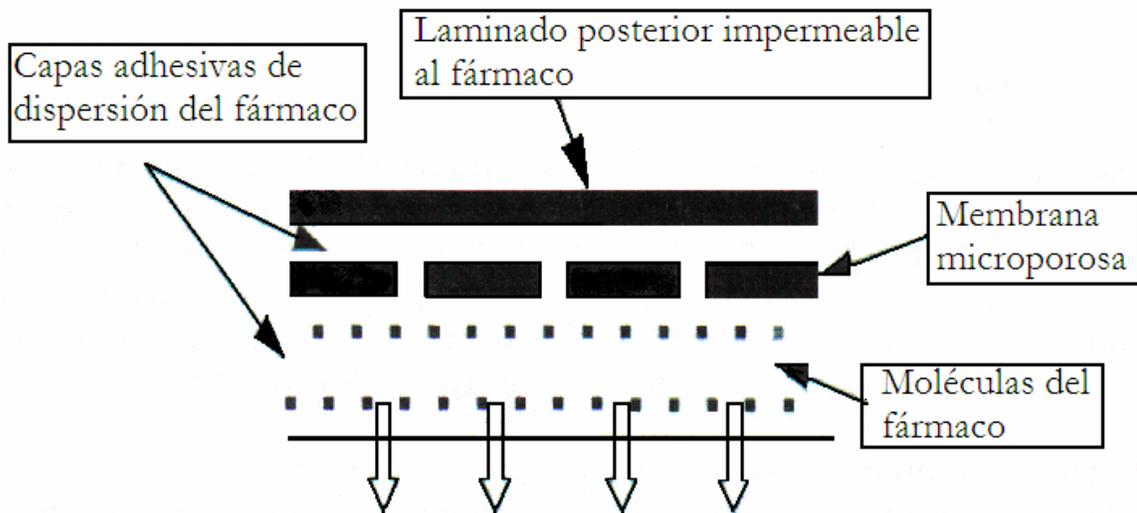


FIGURA 1. CORTE TRANSVERSAL DE UN SISTEMA TERAPÉUTICO TRANSDÉRMICO DE PERMEABILIDAD CONTROLADA POR MEMBRANA. Cortesía de Chien W Y. En Drug Dev Ind Pharm. 1987 ; 13 : 589-651

b. Sistemas de dispersión adhesiva

Este sistema es una versión simplificada del sistema de liberación moderado por membrana, en vez de estar almacenado completamente el fármaco en el compartimiento plástico e impermeable al fármaco, el sistema de depósito del fármaco es formulado por una dispersión directa en un polímero adhesivo, posteriormente se esparce y se moldea con disolventes o por calentamiento sobre una lámina impermeable al fármaco que sirve de apoyo, hasta formar un laminado simple o múltiple de depósito de fármaco.

La velocidad de liberación del fármaco en este sistema, no es constante. Para solucionar la liberación, este tipo de sistemas se puede modificar, variando el contenido de fármaco a manera de incremento para formar un gradiente de concentración del fármaco a lo largo de la capa adhesiva multilaminar. ^{4, 43, 44, 45.}

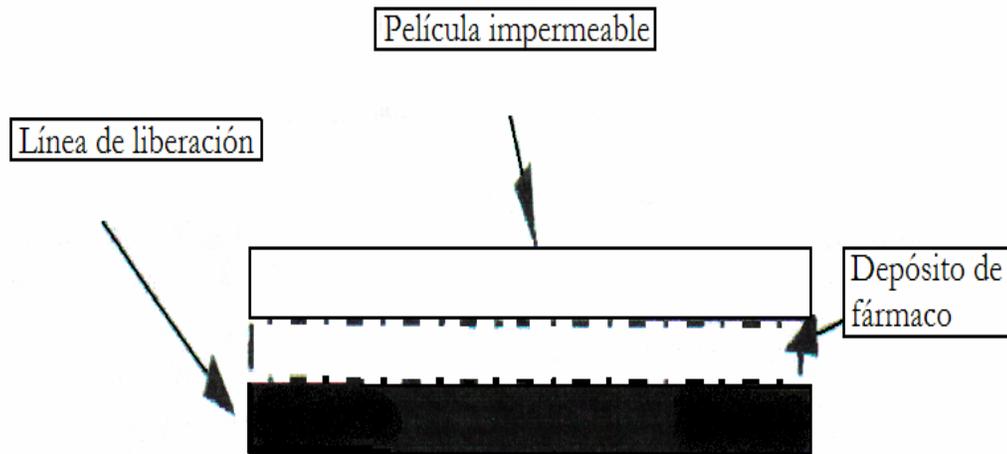


FIGURA 2. CORTE TRANSVERSAL DE UN SISTEMA TERAPÉUTICO TRANSDÉRMICO DE DISPERSIÓN ADHESIVA MOSTRANDO SUS PRINCIPALES COMPONENTES. Cortesía de Chien W Y. En Drug Dev Ind Pharm. 1987 ; 13 : 589-651

c. Sistemas de difusión controlados por una matriz

Los sistemas de liberación transdérmica tipo matriz de manera general, están compuestos por un depósito que se forma por dispersión homogénea del fármaco sólido en una matriz polimérica hidrofílica o lipofílica. El polímero medicinal formado posteriormente es moldeado en una forma de disco con un área superficial y espesor controlado, este depósito de fármaco en forma de disco es montado sobre una placa base oclusiva fabricado en un material impermeable al fármaco.

A diferencia de los sistemas mencionados con anterioridad, en éste, el polímero adhesivo es esparcido a lo largo de la circunferencia del parche, formando un anillo adhesivo alrededor del disco.⁴

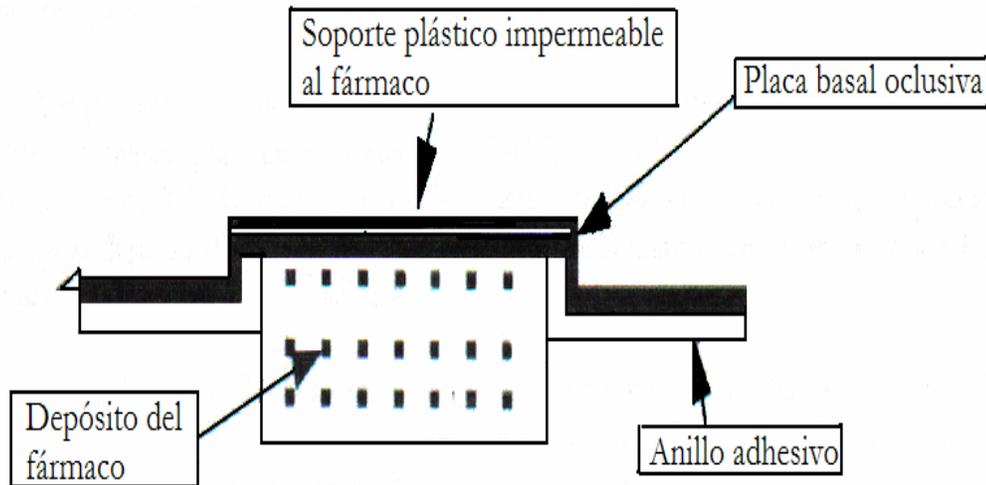


FIGURA 3. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE UN SISTEMA TERAPÉUTICO TRANSDÉRMICO DE DIFUSIÓN CONTROLADA DESDE UNA MATRIZ. Cortesía de Chien WY. Drug Dev Ind Pharm. 1987; 13: 589-651

En la mayoría de las veces estos sistemas no contienen una capa adhesiva, pero en su lugar contienen un adhesivo colocado por toda la periferia del sistema de liberación.

Hymes y Rolf (1987) describen la matriz polimérica como una esponja molecular de celdas abiertas que contienen en su interior una dispersión o solución del fármaco en un disolvente, en donde las moléculas del solvente se organizan en la red polimérica de tal forma que el fármaco disperso o disuelto se retiene en los microespacios de la red polimérica. La orientación y organización de las moléculas del fármaco y disolvente en la red polimérica, se ve afectada en gran parte por la composición de los polímeros.⁴⁶

Los polímeros más comúnmente usados por la elaboración de una matriz polimérica son: polivinilpirrolidona, poliésteres, polipropilenos porosos, cloruros de polivinilo y algunos polisacáridos.¹²

Los sistemas de liberación tipo matriz pueden ser diseñados de dos formas, con o sin exceso de fármaco en la matriz, que servirá para mantener el equilibrio

de solubilidad y el gradiente de concentración del fármaco en el estrato córneo en el sitio de aplicación.

Las principales características que debe cumplir una matriz polimérica para ser usada en la formulación de un sistema de liberación transdérmica, son las siguientes:

- Debe ser estable y capaz de mantener el fármaco en condiciones estables.
- No debe irritar la piel y debe adherirse bien para proveer una buena unión entre la piel y el fármaco.
- No deben presentarse interacciones químicas entre los polímeros y el fármaco.
- Deben mantener su integridad a altas temperaturas y humedades.¹²

Los componentes en el sistema transdérmico de liberación tipo matriz, caen en cuatro categorías: a) empaques de aluminio, b) cojinete absorbente, c) componentes de adhesión, y d) la matriz polimérica.

Las películas finas de aluminio funcionan como empaques de protección y base de matriz. La matriz polimérica es envuelta completamente por estos dos componentes durante su vida útil. Al momento de la aplicación, la película de aluminio de protección se despega dejando al descubierto una de las caras de la matriz polimérica que entrará en contacto con la piel.

Las películas de aluminio sirven además para eliminar la posibilidad de que algún componente volátil de la matriz pueda evaporarse. La película base es colocada detrás de la matriz para servir como barrera de la matriz y algún otro componente líquido de la matriz.

La pérdida de agua transepidérmica, así como la sudoración, pueden incrementar la humedad en la interfase sistema/piel en el sitio de aplicación, que puede afectar notablemente la adhesión del sistema a la piel, éste problema se

puede solucionar al formular el sistema con un adhesivo microporoso o un cojinete absorbente que servirá para evitar la entrada excesiva de humedad al sistema y mantener así, una buena adhesión del sistema al sitio de aplicación durante su uso. ¹².

4. Ventajas y Desventajas de los Sistemas Transdérmicos

Las ventajas que ofrecen los sistemas transdérmicos son las siguientes:

- Prolongar la acción del fármaco.
- Disminución del tiempo de dosificación.
- Eliminación o disminución de efectos colaterales mejorando la eficacia terapéutica.
- Evita el metabolismo en hígado, disminuyendo la toxicidad por metabolitos tóxicos.
- Se evita el efecto del primer paso y las incompatibilidades del tracto gastrointestinal con el fármaco.
- Permite dosis menores debido a un metabolismo hepático menor y a la absorción continua.
- Permite el uso de fármacos con vidas medias biológicas cortas.
- Producción de niveles plasmáticos de fármacos muy potentes, constantes, sostenidos y controlados.
- La administración del fármaco se interrumpe rápidamente al despegar el sistema de la piel en caso de que sea necesario.
- Administración controlada con estrecho límite terapéutico.
- Reducción de los efectos colaterales.
- Menor oportunidad de sobre o infra-dosis a causa de una terapia común prolongada.
- Se reduce el desperdicio de medicamento.
- La ruta transdérmica es inadecuada para fármacos que irritan o sensibilizan la piel y requieren altos niveles sanguíneos.
- Incosteable desde el punto de vista económico para el paciente.
- Aceptación del paciente por la manera de administración.
- Pueden existir problemas de absorción si el adhesivo no puede adherirse bien en todos los lugares donde se coloque.

- Posiblemente no se logre el efecto terapéutico si se presentan diferencias de absorción en diferentes zonas de un mismo paciente y diferencias de absorción en el mismo sitio en diferentes pacientes.
- Pueden presentar tiempo de latencia significativo.^{3,4, 43, 44, 46, 47}

5. Métodos de Fabricación

En términos generales se puede hablar de dos métodos generales de fabricación:

a. Método del disolvente

Un disolvente es una sustancia líquida (orgánica o inorgánica) que disuelve o disocia a otra sustancia en una forma más elemental y que normalmente está presente en mayor cantidad que esa otra sustancia.

Este líquido es utilizado como vehículo en la preparación de soluciones. El agua, es el disolvente más común.¹¹³

Aquí todos los materiales sólidos junto con el principio activo, se disuelven en un disolvente apropiado, después se mezclan todos los materiales, se moldean y se dejan evaporar con o sin temperatura hasta obtenerse el parche.

b. Método de difusión

Aquí se tienen dos opciones; una es que el material de temperatura de fusión más baja se funda y los componentes se disuelvan en este fundido o que todos los materiales junto con el principio activo se fundan, se mezclen, se

moldeen y se dejen enfriar hasta obtenerse el parche, considerando que este método no es aplicable a principios activos o materiales termolábiles.^{3,4}

En el diagrama 1 se presenta un ejemplo del proceso de fabricación de los sistemas terapéuticos transdérmicos controlados por membrana.

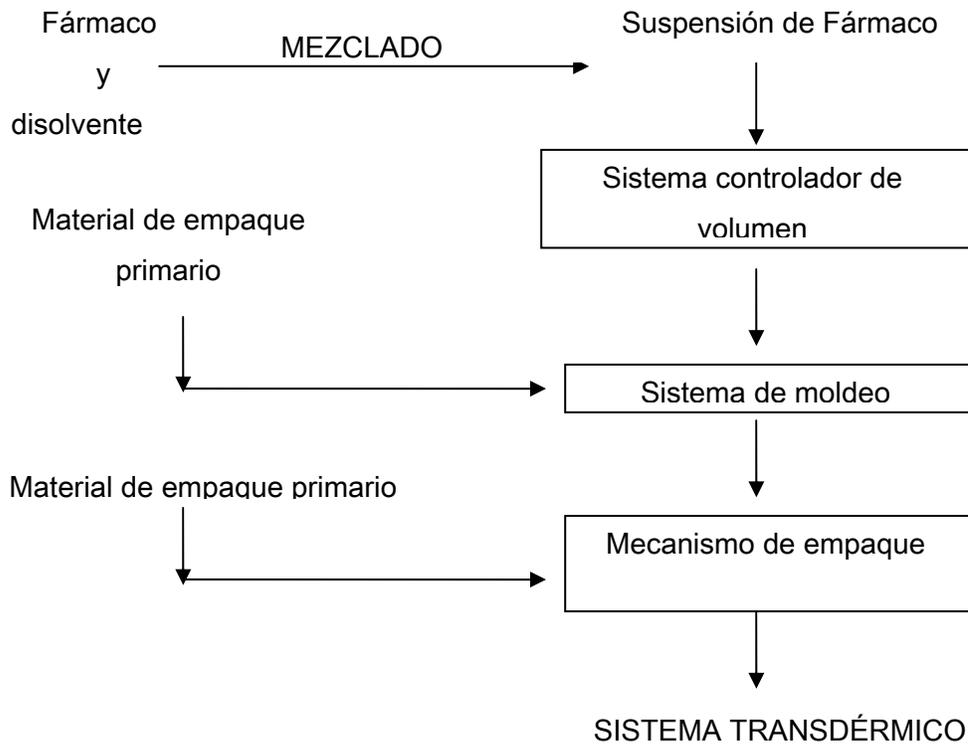


Diagrama 1. Ilustración para la manufactura de sistemas terapéuticos transdérmicos moderado por membrana

C. LA PIEL COMO SITIO DE ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA

La aplicación de sustancias medicinales sobre la piel o en los diversos orificios del cuerpo es sin duda un concepto tan antiguo como la humanidad. Los papiros del antiguo Egipto describen una variedad de esas medicaciones para uso externo.

Los fármacos se aplican en una variedad de formas que reflejan el ingenio y la imaginación científica de los farmacéuticos a través de los siglos. Se han desarrollado nuevos modos de administración de fármacos para remediar los inconvenientes de los primeros vehículos utilizados o, recientemente, para mejorar la liberación de fármacos.

Por el contrario, algunos medicamentos de uso externo han caído en desuso debido a los cambios en la práctica de la medicina.

Desgraciadamente, la liberación de fármacos vía piel, no es una tarea sencilla; de hecho, la mayoría de los fármacos no parece penetrar la piel en una tasa suficientemente alta para la eficacia terapéutica.^{32, 33}

La piel es una membrana muy heterogénea, pero la capa que controla la absorción es la exterior, el estrato córneo. Esta capa tiene entre 20 y 25 mm de grosor, pero no obstante proporciona una barrera muy efectiva hacia la penetración y la impermeabilidad, y esto es un problema considerable en la liberación de fármacos por la piel.^{14.}

La piel es un complejo de varios componentes con características fisicoquímicas que son diferentes de un individuo a otro. El proceso de permeación de un fármaco por la piel implica dos aspectos: como el fármaco se distribuye en los componentes de la piel y por cual componente es permeable el fármaco.^{48.}

Muchas veces se ha dicho que la piel es el más grande de los órganos del cuerpo: la piel de un adulto común tiene una superficie de 2m² aproximadamente. Es probable que la piel sea el órgano más pesado del cuerpo. Su accesibilidad y la oportunidad que ofrece para mantener aplicados preparados intactos por un

tiempo prolongado, han determinado su uso creciente como vía para administrar fármacos, con el fin de obtener efectos locales, regionales o sistémicos.

Desde el punto de vista anatómico la piel humana puede ser descrita como un órgano estratificado con tres capas diferentes: la epidermis, la dermis y la capa adiposa subcutánea.

La epidermis, que es la capa externa de la piel, consiste en células epiteliales pavimentosas estratificadas. En la superficie de la piel hay restos aplanados y queratinizados de estas células epidérmicas que se dividen activamente y estos restos se acumulan en la forma de una lámina relativamente delgada (alrededor de 10 μm de espesor) denominada estrato córneo.

La capa córnea propiamente dicha es laminar, porque las células queratinizadas se superponen entre sí, vinculadas por puentes intercelulares y comprimidas en unas 15 capas.

El espacio intercelular rico en lípidos del estrato córneo está formado por matrices laminares con capas hidrofílicas alternadas con bicapas lipofílicas formadas durante el proceso de queratinización. La región se comporta como una membrana coherente, fuerte pero flexible.

Por otra parte el estrato córneo, que es muy higroscópico (mucho más que otros materiales queratinosos como el pelo y las uñas) cuando es aislado y sumergido en agua se hincha hasta tener el triple de su espesor original y absorbe cuatro a cinco veces su peso en agua durante el proceso.

El estrato córneo funciona como una barrera física y química protectora, es solo levemente permeable al agua y retarda la pérdida de agua por parte de los tejidos subyacentes, minimiza la penetración de la luz ultravioleta y limita la entrada de microorganismo, fármacos y sustancias tóxicas desde el exterior.

El estrato córneo tiene un contenido de solo el 20% de agua, comparado con el nivel normal fisiológico del 70%, semejante en la actividad fisiológica del estrato germinativo (la cual es la capa regenerativa de la epidermis). Esta barrera es de un grosor del orden de 10-50 μm y esta compuesta de proteínas, principalmente queratina (40%), agua (20-40%) y lípidos en forma de triglicéridos, ácidos grasos libres, colesterol y fosfolípidos (15-20%); el contenido de agua varía en función de la parte de cuerpo y de las condiciones ambientales.¹

Como el estrato córneo se desprende en forma continua, tiende a ser más delgado en las regiones más sometidas a la abrasión o al soporte del peso corporal, pero su regeneración se realiza por la rápida división celular en la capa de las células basales de la epidermis.

La dermis aparentemente es una estructura gelatinosa que involucra una matriz proteica fibrosa incluida en una sustancia fundamental coloidal y amorfa. Las proteínas, que incluyen colágeno y fibras de elastina, se orientan aproximadamente paralelas a la epidermis. La dermis, sostiene a la epidermis e interactúa con ella para facilitar su conformación a los músculos y a los huesos subyacentes. En la dermis hay vasos sanguíneos, linfáticos y nervios, aunque sólo las fibras nerviosas llegan más allá de las papilas dérmicas, hasta la región germinativa de la epidermis.⁴⁹

1. Rutas de Penetración a Través de la Piel

El estudio de la absorción percutánea de fármacos, requiere de considerar las rutas y mecanismos de absorción, así como los parámetros que afectan este proceso.

Desde el punto de vista anatómico, existen varias rutas posibles para la absorción percutánea del fármaco.

De manera general existen dos rutas posibles para la absorción de sustancias a través de la piel: la ruta transepidérmica y la ruta de penetración a través de los apéndices de la piel.^{50, 51, 52, 10, 53, 54.}

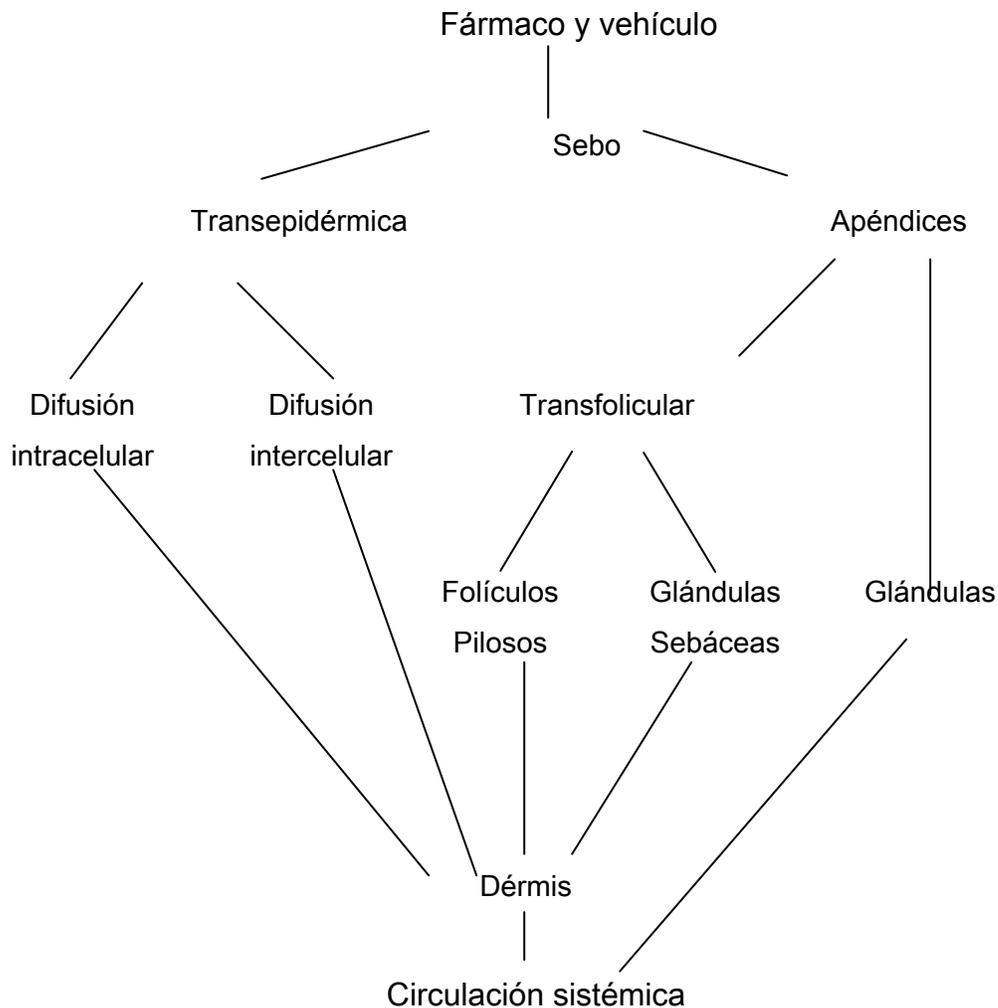


FIGURA 4. RUTAS POSIBLES PARA LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA DE FÁRMACOS. (Waseen A M, Smith E R. Topical drug delivery systems «skin»)

La primera de ellas, la ruta transepidérmica se refiere a la penetración de sustancias a través de las células o canales intercelulares epidérmicos, por lo que es la mejor ruta de penetración transdérmica.

La segunda ruta por otro lado, se refiere a la penetración de sustancias, vía los apéndices de la piel, que envuelve estructuras tales como folículos pilosos, glándulas sudoríparas y polibébaceas, que a pesar de ocupar sólo el 0.2 y 0.4 % de la superficie de la piel respectivamente, son de gran importancia principalmente en la fase inicial de la penetración del fármaco a través de la piel.

Estos apéndices representan una vía o desviación paralela potencial a la rápida penetración o difusión de fármacos a través de la piel, a causa de su alta permeabilidad. Sin embargo, solo representan una muy pequeña superficie de absorción, que es de 100, 000 veces menos que el estrato córneo, debido a esto, la ruta transepidérmica aunque más lenta, permanece como la principal ruta, con los apéndices teniendo un rol relativamente menor. ^{50, 53,54.}

D. ABSORCIÓN PERCUTÁNEA. CARACTERÍSTICAS PRINCIPALES

Casi desde la introducción del estudio científico moderno de la absorción percutánea los investigadores han debatido en la importancia relativa de la relación potencial de penetración de la piel al tejido subepidermal, por los folículos que van asociados con glándulas sebáceas a través del estrato córneo. ^{55.}

La absorción percutánea involucra la transferencia de un fármaco desde la superficie de la piel hacia el interior del estrato córneo, bajo el amparo de un gradiente de concentración, y su posterior difusión por ese estrato y la epidermis subyacente, a través de la dermis y la microcirculación. La piel se comporta como una barrera pasiva ante la difusión de las moléculas.

Es preciso considerar el papel de los folículos pilosos y de las glándulas sudoríparas; como regla general, su efecto es minimizado por las relativamente pequeñas áreas fraccionales ocupadas por estos anexos. Por otra parte, los vehículos liposómicos y las suspensiones de microesferas (3 a 10 μm de

diámetro) parecen acumularse selectivamente en áreas polibacilares y polifoliculares.

En las etapas muy tempranas de la absorción, el tránsito a través de los anexos puede ser comparativamente grande, sobre todo para las moléculas liposolubles y para aquellas cuya penetración a través del estrato córneo es relativamente baja.

La penetración del fármaco a través de la piel humana intacta involucra una vía intercelular o transcelular en el estrato córneo. El conocimiento convencional es que, en su mayor parte, los compuestos lipófilos se transfieren preferentemente a la fase lipídica intercelular del estrato córneo, mientras que los compuestos relativamente más hidrófilos son transferidos al campo intracelular de dicho estrato.

El estrato córneo puede ser considerado como una membrana de difusión pasiva pero no como un sistema inerte. La correlación entre la concentración externa y la concentración superficial está dada en términos del coeficiente de distribución del disolvente en la membrana K_m . La forma integrada de la ley de Fick es como sigue.

$$J_s = \frac{K_m D C_s}{\delta}$$

$$K_p = \frac{K_m D}{\delta}$$

en donde K_p es el coeficiente de permeabilidad, J_s es el estado de flujo constante del soluto, C_s es la diferencia de concentración del soluto a través de la membrana, δ es el espesor de la membrana,

$$Km \text{ es el } = \frac{\text{solute absorbido por cm}^3 \text{ de tejido}}{\text{solute en solución por cm}^3 \text{ de solvente}} = \frac{Cm}{Cs}$$

D es el coeficiente medio de difusión a través de la membrana para el soluto.

Los experimentos sobre permeabilidad han demostrado que el estrato córneo hidratado tiene afinidad por los compuestos lipófilos e hidrófilos. Por eso los intentos de predecir constantes de permeabilidad a partir de coeficientes de partición aceite:agua o disolvente:agua han tenido un éxito limitado.

En términos generales los datos sugieren el siguiente orden para la difusión de moléculas simples a través de la piel: plantar < palmar < brazos, piernas, tronco, dorso de las manos < escrotal y posauricular < axilar < cuero cabelludo. Los electrolitos en solución penetran escasamente la piel. ^{49, 56}

Aunque la piel intacta es mucho menos permeable que otros tejidos, recientemente se ha reconocido su potencial como vía de administración de un número considerable de fármacos sistémicamente activos para lograr una acción farmacológica localizada. ^{43, 44, 53.}

Para que un principio activo en contacto con la piel, alcance la circulación sistémica, debe de atravesar las diferentes estructuras que la componen, hasta alcanzar el territorio de la microcirculación dérmica, situado en la frontera de la epidermis y la dermis, dentro ya de este último tejido; de tal manera que a partir de ahí, el fármaco sea rápidamente arrastrado hasta la circulación general. Así la primera barrera que condiciona y limita esta penetración, es el estrato córneo. Superada ésta, se encuentra una segunda barrera, integrada por la agrupación epidermis/dermis, en la que la absorción es mucha más fácil, dado su carácter hidrofílico. ⁶

La absorción percutánea, a pesar de tener etapas de difusión simple, tiene partes más complejas, la epidermis en la primera fase y la dermis en la segunda fase.

En esta última influyen otros factores, los cuales determinan su penetrabilidad y son:

- El flujo sanguíneo.
- El movimiento de los fluidos intersticiales.
- Otros factores como la combinación de los constituyentes de la dermis.

La difusión con la cual se realiza la absorción se puede describir en dos fases, la primera sería un periodo de retraso, después de colocar el sistema o fármaco sobre la superficie de la barrera a difundir. Durante este periodo, la membrana se carga o impregna del penetrante.

En la segunda fase se da una penetración constante, la cual continúa mientras exista fármaco en una concentración suficiente sobre la superficie para ser removida a través de una superficie interior, la velocidad de penetración será proporcional a la diferencia o gradiente de concentración en la membrana.^{3,57,58.}

La relación entre la velocidad de penetración y la concentración aplicada es una constante y se denomina constante de permeabilidad; este valor es una medida de la permeabilidad de la piel para un fármaco en un solvente o vehículo determinado y es además una referencia para comprobar la permeabilidad de diferentes sustancias o cuando se usan diferentes vehículos para una misma sustancia.

En términos generales, podemos decir que la difusión ocurre inicialmente de manera importante por los folículos y conductos, que después de alcanzar el estado estacionario o difusión constante, la penetración se llevará a cabo principalmente a través del estrato córneo.^{3,58,59.}

1. Factores Fisicoquímicos que Afectan la Absorción

Muchos factores pueden afectar la formación de la película y la interacción entre la película y el sustrato, así como también la estabilidad de la película sobre el envejecimiento y por consiguiente; la absorción.

La formulación y el sistema designado son muy importantes puesto que el fármaco incluido en un sistema transdérmico debe ser liberado de manera constante y alcanzar una concentración tal que permita obtener el efecto terapéutico.

La liberación de un fármaco a través de un sistema de liberación tópica depende de un número de factores de los cuales se pueden mencionar. ^{60,61, 62.}

Factores relacionados con el fármaco:

- Solubilidad (gradiente de concentración, actividad termodinámica).
- Coeficiente de partición.
- Coeficiente de difusión.
- Características de disolución.
- Concentración del fármaco.

Factores relacionados con la membrana o plataforma:

- Polímero (cristalinidad).
- Porosidad.
- Vehículo (plastificante, solvente).

Otros factores:

- Espesor.
- Límite de capas.

a. Solubilidad y coeficiente de partición.

Las características de solubilidad de un fármaco en el vehículo, influyen notablemente en su facilidad para penetrar la piel, y determinan la concentración del fármaco en el sitio de acción, afectando de esta manera el grado y la velocidad de absorción percutánea. El uso de disolventes afecta la función de la barrera en la piel y es una estrategia clásica para el aumento de la penetración.⁵

Se ha observado que la permeabilidad a través de la piel, esta directamente relacionada con el coeficiente de partición lípido/agua de muchos fármacos. El coeficiente de partición es un índice de la solubilidad relativa del fármaco en el vehículo y estrato córneo, que tiene una profunda influencia en la transferencia del fármaco del vehículo a la piel.

Usualmente los coeficientes de partición se determinan en un sistema compuesto por dos fases en contacto una con otra, donde una de las fases es agua y la fase restante es un lípido como aceite vegetal, éter, octanol, cloroformo o benceno el cual representa la piel. Realmente el único coeficiente de partición que puede ser exactamente relacionado a la velocidad de difusión del fármaco a través de la piel, es el valor determinado por el equilibrio de distribución del penetrante entre el vehículo y el estrato córneo.

Los coeficientes de partición determinados experimentalmente reflejan no solo la solubilidad relativa del penetrante en el estrato córneo, si no que además ponen de manifiesto las posibles interacciones (formación de enlaces o reacciones de complejación) entre el penetrante y la piel o el vehículo.

El coeficiente de partición piel/vehículo de un fármaco es aproximadamente proporcional a la solubilidad relativa del fármaco en el estrato córneo y el

vehículo, y puede en un momento dado ser considerado como un índice de la baja o elevada afinidad del fármaco por el vehículo.

La magnitud del coeficiente de partición para la gran mayoría de fármacos es muy variable, con valores que van del rango de menos de 1 a valores mucho mayores que 1. De manera general, los fármacos con valores pequeños de coeficiente de partición, tenderán fuertemente a permanecer en el vehículo y como consecuencia presentarán velocidades de penetración bajas, mientras que los fármacos con valores altos de coeficiente de partición, tendrán una escasa afinidad por el vehículo, por lo que sus velocidades de penetración serán mayores. Sin embargo, modificando las características de solubilidad, cambios estructurales del fármaco o alterando la composición del vehículo, se puede lograr un incremento en los valores del coeficiente de permeación piel/vehículo para aquellos fármacos con velocidades de penetración bajas.

La relación de la solubilidad de un fármaco en el vehículo y su coeficiente de partición provee un excelente ejemplo de este concepto y debe ser considerado en el diseño de una forma de dosificación tópica.⁵³

b. Concentración del fármaco.

El gradiente de concentración del fármaco en el vehículo y en la piel, es generalmente la fuerza que permite la difusión del fármaco del vehículo al sitio de absorción y su posterior penetración a través de la piel, por lo que un fármaco disuelto en concentraciones altas en el vehículo, presentará velocidades de absorción elevadas.

Sin embargo, la concentración de saturación del fármaco en el vehículo, deberá ser la concentración máxima disuelta posible, que tendrá como resultado velocidades de absorción elevadas en comparación con otras concentraciones.

Aunque la concentración del fármaco en el vehículo es un factor importante, existen muchos otros factores que influyen significativamente en la concentración efectiva del fármaco disponible para su absorción. La posible complejación del fármaco con algún componente del vehículo es un factor que puede causar bajas concentraciones efectivas del fármaco en el sitio de absorción. En el caso de fármacos iónicos, debido a su relativa solubilidad lipídica, sólo la forma no ionizada puede penetrar la piel en cantidades significativas, por lo que la concentración efectiva de un fármaco iónico disuelto en un vehículo acuoso, dependerá de la constante de disociación del fármaco al pH del vehículo.

En los vehículos tipo emulsión, la concentración del fármaco en la fase externa del vehículo es el factor limitante de la penetración del fármaco a través de la piel, debido a que esta fase es la que se encuentra en contacto directo con la piel.

Pueden también ocurrir cambios en la concentración efectiva del fármaco en el sitio de absorción por factores tales como la pérdida de compuestos volátiles del vehículo, la captación de agua por el vehículo ya sea de la piel o de la atmósfera, o por la inversión de fases en el caso de vehículos tipo emulsión.

Se ha encontrado que la penetración de fármacos disminuye notablemente cuando se ha prevenido la evaporación de los componentes volátiles, esto sugiere que la evaporación de algún componente del vehículo después de su aplicación en la piel, incrementará la concentración efectiva del fármaco en el sitio de absorción.⁵³

c. Hidratación de la piel

La piel normal funciona como una barrera dependiendo de su facilidad para retener el agua. Esta propiedad de la piel, es debida a ciertos componentes del estrato córneo. El contenido normal de agua del estrato córneo es del 10 al 20 % de su peso, esta mínima hidratación es crítica para mantener la textura, suavidad y función normal de la piel.

Un aumento en la hidratación de la piel, generalmente producirá un incremento en la absorción percutánea, esto se puede conseguir, remojando la piel en agua o aplicando una cubierta oclusiva que prevenga la pérdida de agua.

Las cubiertas oclusivas tales como lanolina, petrolato, grasas y aceites aplicadas sobre la piel pueden incrementar la retención de agua en el estrato córneo hasta en un 50% o más, como resultado de la difusión de agua de las capas inferiores de la piel o la acumulación de agua por transpiración. Además pueden incrementar la temperatura superficial de la piel, debido al decremento de la evaporación de agua local y el incremento del flujo sanguíneo dentro de las capas dérmicas facilitando de esta forma la absorción percutánea.

La hidratación excesiva del estrato córneo produce el efecto de hinchazón de las células debido a que estas probablemente absorban gran cantidad de agua en la capa de queratina intracelular y tal vez en otras capas de proteínas, formando una región polar rica en agua, reduciendo de esta forma la densidad de su estructura y su resistencia a la difusión. El resultado de todos estos factores es el cambio de solubilidad e incremento del coeficiente de difusión del fármaco. Se ha estimado que la oclusión puede incrementar la absorción percutánea en un factor de 5 a 10.

De tal forma, cualquier factor que pueda alterar el estado de hidratación de la piel tendrá un efecto sobre la absorción percutánea de fármacos.

d. Efecto del vehículo

Un vehículo puede influir en la absorción percutánea por su efecto sobre el fármaco y la piel; generalmente la liberación del fármaco del vehículo es mayor si este se encuentra completamente disuelto, que cuando se presenta como partículas sólidas parcialmente disueltas; este punto pone de manifiesto la importancia de evaluar el sistema de liberación en su totalidad cuando se desea evaluar la absorción transdérmica del fármaco.

El coeficiente de partición del fármaco entre la fase dispersa y la fase continua adquiere importancia en el vehículo debido a que influye notablemente en la concentración efectiva del fármaco disponible para su absorción en la superficie de la piel. Si el fármaco es muy soluble en el vehículo, puede tener la afinidad que no pueda liberarse del vehículo, y en este caso el coeficiente de partición estrato córneo/vehículo será muy pequeño y desfavorable para la absorción. El vehículo puede alterar las propiedades de barrera de la piel, al modificar el estado de hidratación de la misma, debido a esto, las grasas, aceites y bases de parafina que son vehículos muy oclusivos pueden favorecer la absorción percutánea, al incrementar la cantidad de agua en la piel.

La evaporación de agua en las emulsiones aceite en agua, lociones o geles y al evaporación de alcohol de las soluciones alcohólicas después de su aplicación en la piel, tendrá como consecuencia cambios en la naturaleza del sistema de liberación y por lo tanto puede afectar potencialmente la concentración efectiva del fármaco disponible en el sitio de absorción.

El uso de vehículos solos no favorece siempre la permeación transdermal, pero el uso de combinaciones de estos, si la favorece, varios investigadores han demostrado que la permeación aumenta usando una mezcla de vehículos hidrofílicos, como pueden ser alcohol isopropílico/agua, polietilenglicol/agua y etanol/agua.⁶³

e. Surfactantes

Los surfactantes incorporados en las preparaciones tópicas de manera general incrementan la permeabilidad y la absorción percutánea de fármacos. Los surfactantes pueden afectar la absorción de fármacos a través de la piel al alterar la solubilidad y la concentración efectiva del fármaco en el vehículo, por el incremento de la humedad o por alterar las funciones de barrera de la piel.

La solubilidad del fármaco puede ser incrementada por solubilización micelar, sin embargo, el factor primario parece ser el incremento de la permeabilidad de la piel, consecuencia de la facilidad de los surfactantes de alterar la estructura del estrato córneo, al enlazarse a las proteínas de la membrana celular.

Aunque los surfactantes son ampliamente utilizados como humectantes, agentes emulsificantes, estabilizantes físicos y agentes suspensores en algunas preparaciones tópicas, productos cosméticos y en alimentos; su uso como potenciadores de la penetración exclusivamente, no es tan extenso, debido a que:

- 1) Son irritantes de la piel en elevadas concentraciones
- 2) Producen un decremento del coeficiente de partición estrato córneo/vehículo, debido al incremento de la afinidad de fármaco por el vehículo en ciertos casos.

- 3) Los surfactantes son más efectivos como auxiliares de la absorción cuando el fármaco es pobremente soluble en el vehículo.

Además los surfactantes son muy conocidos por la característica de efecto en la permeabilidad de varias membranas biológicas, inclusive la piel.

El tetradecil sulfato de sodio, propilenglicol, polisorbato y ésteres alquílicos, son algunos de los surfactantes más usados en el desarrollo de productos tópicos.^{19, 32.}

f. Otros factores que influyen la absorción percutánea

La absorción transdérmica de fármacos puede ser afectada por muchos otros factores entre los que se encuentran 1) el sitio y duración de aplicación del sistema en la piel, 2) la condición general de la piel, 3) la temperatura de la piel, y por último, 4) la biotransformación del fármaco en la piel.

La absorción percutánea también depende del tiempo en el que el sistema este en contacto con la piel. En muchos casos, a mayor tiempo de contacto del sistema con la piel, mayor será la cantidad de fármaco absorbido.

Otros factores importantes en la absorción percutánea es el envejecimiento de la piel y la condición general de la piel, debido a daños físicos causados por el uso repetido de una sustancia química como jabones o cosméticos o de una vida de exposición a radiación ultravioleta como la luz de sol o una deshidratación de la piel en edad avanzada o alguna condición de la piel como callosidades.⁶⁴

La temperatura de la piel puede afectar notablemente la absorción percutánea de fármacos. En un medio ambiente frío la piel expuesta al sistema presentará baja permeabilidad a las moléculas del fármaco, mientras que en un medio ambiente cálido la permeabilidad de la piel a las moléculas del fármaco se verá incrementada notablemente como consecuencia de una vasodilatación, acompañada por el incremento del flujo sanguíneo y mayor difusión de las moléculas del fármaco.^{50, 53, 54}

E. MÉTODOS DE ESTUDIO PARA LA EVALUACIÓN DE FORMULACIONES TÓPICAS

Algunos clasifican los métodos empleados para medir la absorción percutánea en dos tipos, métodos *in vitro* y métodos *in vivo*. Los métodos *in vitro* de manera general tienen un valor limitado, sin embargo, son un medio importante para el estudio de la liberación del fármaco del vehículo, bajo las condiciones de prueba. Los métodos *in vivo* presentan una relación más exacta de la absorción percutánea de fármacos, sin embargo, los resultados obtenidos de tales métodos son a menudo algo confusos.

El interés de la liberación de fármacos transdermales ha aumentado en años recientes debido a que tiene muchas ventajas sobre otras rutas de administración. Para evaluar el producto transdermal efectivamente, tres consideraciones principalmente se deben tomar:

- La clase de modelo de piel que se usará para evaluar la permeación del fármaco.
- El modelo matemático que se usará para caracterizar la permeación del fármaco a través de la piel.
- El aparato de difusión que se usará para conducir el estudio de permeación.

El desarrollo de productos transdérmicos es difícil, así como también los modelos para probar los productos en humanos inicialmente, debido al potencial tóxico de agentes farmacéuticos. Por lo tanto los modelos tradicionales de piel de animal se han usado para estudios *in vitro* e *in vivo*.

Prácticamente, sería ventajoso usar piel de cadáver humano para los estudios de permeación, pero para la mayoría de los investigadores, la piel humana de cadáver no es fácilmente disponible. También, las muestras de piel se obtienen típicamente de una variedad de sitios anatómicos y después de muchos estados diferentes de enfermedad, quizá alteren la permeabilidad percutánea del fármaco.⁴⁰

1. Métodos *in vivo*

Los métodos *in vivo* más usados para medir la absorción percutánea de sustancias son las técnicas histológicas, que incluyen el uso de trazadores, el análisis de tejidos y fluidos biológicos y el análisis de respuestas biológicas. El estudio en los cambios de la piel después de la aplicación de varias sustancias en la superficie cutánea puede proporcionar información específica acerca del tejido afectado y la posible ruta de penetración, sin embargo este método es limitado a colorantes y algunas sustancias que producen productos coloridos perceptibles como resultado de reacciones químicas específicas

Para los estudios *in vivo* de penetración percutánea los experimentos requieren de humanos. Pero estos experimentos son a menudo, moralmente incorrectos, costosos y de tiempo algo extenso.

La interpretación de los resultados es complicada por que el error es un poco alto y los datos tienen variabilidad intraindividual. Las alternativas a estudios *in vivo*

en humanos incluyen los estudios *in vivo* en animales y experimentos *in vitro* con piel extirpada de humano o animal. La correlación entre piel extirpada de humano y el estudio de penetración *in vivo* realizado en humanos ha sido demostrada en un número limitado de estudios.⁶⁵

Los estudios de transdérmicos *in vivo* en animales han sido reconocidos desde 1960 y se usan en una base rutinaria durante el desarrollo de un producto transdérmico. Los modelos de animales proporcionan los parámetros importantes de permeabilidad cuando se sabe poco acerca de la toxicidad clínica en pacientes humanos. La selección de un modelo animal o un modelo de tejido, es una decisión muy difícil de hacer porque no hay ejemplar disponible que se acerque a la piel humana en términos de permeabilidad, histología y composición de lípidos.⁴⁰

2. Métodos *in vitro*

En estudios con respecto a la absorción de fármacos y otras sustancias químicas por la piel humana, puede ser ventajoso el usar métodos de permeabilidad *in vitro*. Sin embargo, la elección del tipo de piel para usar depende del propósito del estudio transdermal. Para obtener los perfiles exactos de permeación para fármacos en la piel humana y una predicción segura de datos farmacocinéticas, un modelo de piel humana sería el indicado.

Aquí, fisiológicamente y las diferencias metabólicas serían las condiciones mayores y un modelo de piel animal solo sería aplicable para un fármaco dado. Sin embargo, si el propósito del estudio es el examinar las características de la liberación del fármaco, del vehículo o el efecto de los parámetros de la formulación farmacéutica, el reproducir el modelo de piel es el parámetro más importante.

En esta situación, un modelo de piel animal es ventajoso aunque no sea de igual exactitud que el de piel humana, por ejemplo con respecto a la cantidad de folículos de cabello, la estructura, la resistencia enzimática de la actividad y permeabilidad.⁶⁶

La liberación transdérmica de fármacos tiene varias ventajas, sin embargo, esta ruta atractiva de administración es limitada a fármacos poderosos con propiedades especiales tal como: un peso molecular bajo, un buen equilibrio hidrofílico y lipofílico, *pka* apropiado y un coeficiente de partición aparente alto.⁶⁷

La mayoría de pruebas de transdérmicos se realizan en piel de ratón sin pelo. Sin embargo, otros modelos se usan incluyendo ratas, conejillo de indias, conejo, piel de serpiente, piel de cerdo y membranas artificiales equivalentes a la piel viva. Aunque hay muchas características semejantes entre estos modelos y la piel humana de cadáver; ningún modelo que se probó tuvo completamente los resultados que se obtuvieron con la piel humana de cadáver.

La piel de ratón sin pelo se usa predominantemente porque es económica, accesible y fácil de albergar. Sin embargo la composición de lípidos en la piel de ratón es muy diferente a la que se encontró en la piel de cadáver humano.

La piel de cerdo es conocida como la alternativa más cercana a la piel de cadáver humano, en composición de lípidos y permeabilidad. Sin embargo, hay algunas diferencias estructurales entre la piel de cerdo y la piel de cadáver humano, inclusive en cerdas, el tejido subcutáneo es más gordo y tiene menos vascularización.^{40, 66, 68}

Comparada con la piel humana, la piel animal es más fácil de trabajar, además de que, implica un riesgo menor para la transferencia de enfermedades

al ser manejada por el personal del laboratorio. La piel humana para estudios *in vitro* es obtenida de cadáveres o por procedimientos quirúrgicos que tienen como variabilidad la edad, el sexo, el sitio anatómico, raza y salud general del donante. La longitud y el método de almacenamiento de piel pueden introducir también la variedad.⁶⁵

Es muy conocido que para que un fármaco ejerza su actividad terapéutica es necesario que éste sea liberado de la forma farmacéutica (tabletas, cápsulas, suspensiones, etc.)

Una manera de medir la liberación del fármaco es a través de pruebas *in vitro*, estas deben estar estandarizadas para ser utilizadas y poder evaluar la velocidad de liberación del fármaco de la forma farmacéutica. El contar con métodos *in vitro*, permite economizar, ya que los métodos *in vivo* son costosos y no tan fáciles de controlar.^{69,70}

En décadas pasadas, se han hecho esfuerzos para el desarrollo de métodos que permitan la evaluación de la biodisponibilidad farmacéutica de formulaciones dermatológicas; el modelo a emplear dependerá:

1. Del proceso involucrado para que el medicamento ejerza su acción, si sólo depende de la liberación del vehículo o si involucra penetración y/o absorción a través de la piel.
2. Del modo de acción, si es a nivel de la superficie de la piel, o se desea que penetre a capas más profundas.

a. Modelos de liberación

Los modelos de liberación del fármaco del vehículo fueron los primeros en desarrollarse para la evaluación biofarmacéutica de medicamentos dermatológicos. El equipo más usado para efectuar este tipo de estudio es la celda de difusión, la cual consiste en general de:

- Un compartimiento de donador, el cual contiene la formulación tópica.
- Un aceptor donde se encuentra una solución a la que pasa el fármaco llamada fase aceptora.
- Un compartimiento donador donde se encuentra la formulación tópica.
- Una membrana (no siempre ésta presente, depende del tipo de estudios).
- Un sistema de agitación.
- Toma de muestra.
- Un sistema que pueda regular la temperatura.

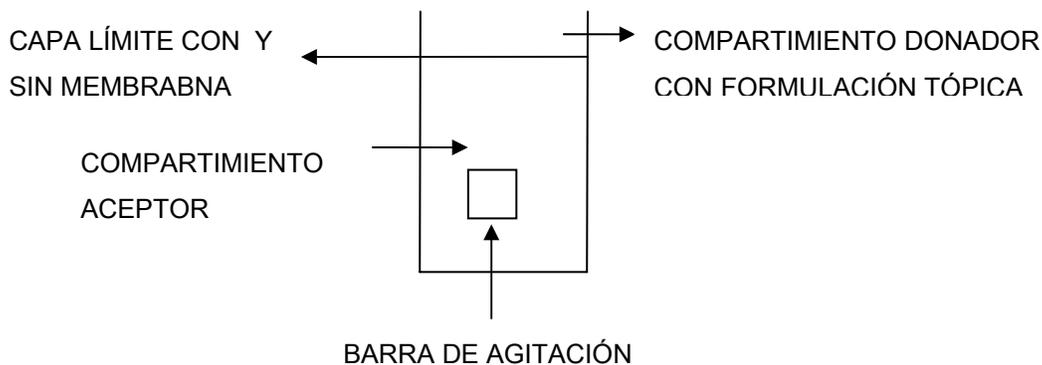


FIGURA 5. CELDA DE DIFUSIÓN. (72)

En las medidas de flujo *in vitro* a menudo se llevan a cabo en celdas de difusión que se componen de un donante y un compartimiento de receptor que se encuentran separados con una muestra de piel. El compartimiento del donante contiene el vehículo con una concentración definida de fármaco y el compartimiento del receptor simula las condiciones de la epidermis y dermis. Existen varios diseños de celdas de difusión, las cuales pueden ser verticales como la celda de Franz, que es la más popular y horizontales como la de Valia-Chien. ^{71, 72, 73.}

El uso de celdas de difusión es la principal técnica *in vitro* para el estudio de la penetración de sustancias a través de la piel. En este tipo de estudio, se colocan muestra de la piel humana o de alguna especie animal en la celda de difusión como soporte y un líquido como receptor, en el cual se determina la cantidad de sustancia que ha difundido a través de la piel a diferentes tiempos. 50,74.

La principal desventaja de las técnicas *in vitro* es que proveen poca información acerca del metabolismo y distribución del fármaco, y no existe la posibilidad de estudiar alguna respuesta fisiológica o farmacológica de una sustancia después de la absorción.

La principal ventaja de este tipo de ensayos, es que las condiciones experimentales pueden ser controladas fácilmente, y los parámetros matemáticos y fisicoquímicos relacionados con la absorción de la piel pueden ser establecidos con facilidad. 51.

La mayoría de los ensayos de permeación de la piel *in vitro*, son realizados en celdas de difusión de Franz (**figura 6**). Esta celda consta de un compartimiento receptor, rodeado por una chaqueta de calentamiento y un sistema de agitación.

El compartimiento receptor consta de un volumen efectivo aproximado de 10-12 mL, y un área superficial efectiva para la permeación que varía de 1.57 a 4.71 cm².

La solución en el compartimiento receptor se agita de una forma general a una velocidad de 60 rpm en el caso de líquidos de baja densidad como solución salina. La temperatura de la solución receptora se mantiene constante a 37 °C ± 1°C con la ayuda de la chaqueta colocada alrededor del compartimiento receptor. 32,75, 76, 77.

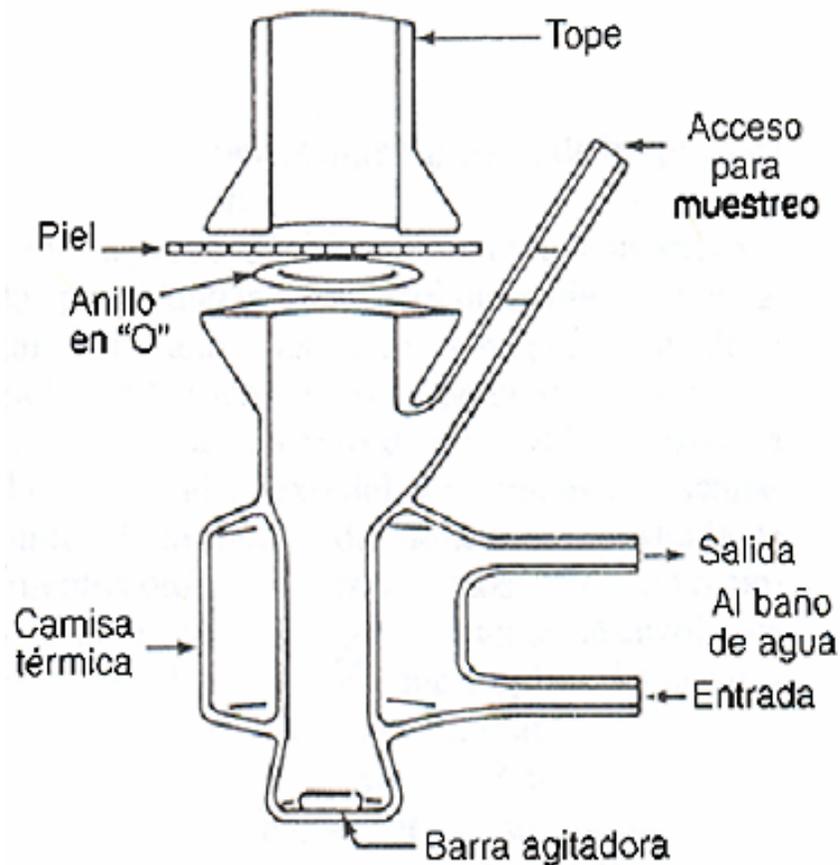


FIGURA 6. CELDA DE DIFUSIÓN DE FRANZ (67)

Este tipo de celdas de difusión es adecuado para medir la penetración de fármacos a través de la piel en diferentes formas farmacéuticas, que incluyen soluciones, suspensiones, polvos, cremas, geles, ungüentos, aerosoles y sólidos que han sido depositados en algún disolvente. Recientemente se han realizado modificaciones a este sistema para su uso con sistemas de liberación transdérmica.^{51,67.}

b. Modelos de absorción

Lo convencional es el uso de membranas poliméricas como barrera imitando la piel, en la evaluación de sistemas terapéuticos transdérmicos.

Las membranas sintéticas proporcionan la información más útil acerca del proceso de liberación transdérmica *in vitro* cuando:

- La barrera pasiva difusional impuesta por el estrato córneo tiene mayor resistencia de transportador.
- El fármaco de interés se sabe que es metabólicamente inerte y no es específicamente viable a la piel.
- La formulación no tiene un potenciador de penetración que pueda actuar recíprocamente con la piel, pero no con la membrana.

Las pruebas de liberación *in vitro* de los sistemas terapéuticos transdérmicos apuntan a predecir si se puede lograr la liberación requerida *in vivo* y su dependencia puntual por adelantado de un estudio *in vivo*, para que los estudios clínicos del parche desarrollado puedan ser obtenidos en lo más mínimo.⁶⁵

Los modelos para estudios de absorción *in vitro* usan el mismo tipo de celdas de difusión, solo que estos llevan una membrana, cuya función no es separar la formulación de aceptor como en el caso de los estudios de liberación, sino para medir la penetración y/o permeación del fármaco a través de ésta.

Estos se clasifican en: sistemas de una capa y sistemas multicapas

1) Sistemas con una capa. En algunos estudios se hace mención de la utilización de membranas poliméricas principalmente de polidimetilsiloxano (PDMS), para estudiar el transporte de fármacos después de aplicaciones tópicas; y la técnica del filtro membrana la cual ha sido la más aplicada para estos estudios, donde los filtros son impregnados con varios lípidos.

En base a esta técnica se han desarrollado membranas impregnadas con algún lípido que representará las propiedades de la piel; de los compuestos que más se han utilizado para impregnar los filtros son: miristrato de isopropilo, palmitato de fosfatidilcolina, ácido linoléico y tetradecana.

Los estudios realizados se han hecho con diferentes modelos que involucran celdas de flujo y membranas sintéticas que a la vez han presentado modificaciones sobre estos mismos modelos.⁷⁰

2) Sistemas multicapas. Estos sistemas consisten de varias capas de membranas y han sido desarrollados recientemente con el objetivo de tener modelos óptimos de penetración y absorción de fármacos a través de la piel.

En el primer modelo que se tiene antecedente se uso capas textiles y filtros. La permeación en sistemas de tres capas fue extendida para el estudio de ungüentos con sistemas multimembranas donde las membranas utilizadas se generaron a partir de tubos de diálisis impregnados con agua o aceite de olivo y fue medida la cantidad de fármaco difundida.

Los sistemas de dos capas se desarrollaron para la separación óptima de base de ungüentos y la solución aceptora.⁷⁰

Debido a que la absorción percutánea de fármacos tópicos involucra dos procesos consecutivos, primero la absorción del fármaco de la forma farmacéutica y segundo, la absorción de en/ y a través de la piel del sitio de aplicación, es necesario realizar pruebas que determinen que primero si existe una liberación y que después se logra la absorción del fármaco en el sitio de aplicación, asegurando la biodisponibilidad del fármaco.^{78 79, 80,81, 82,83.}

En la tabla 1 se presentan algunos ejemplos de tipos de membranas utilizadas en estudios de liberación en formulaciones tópicas.

TABLA 1. ESTUDIO DE LIBERACIÓN EN FORMULACIONES TÓPICAS			
Fármaco	Medio de disolución	Equipo	Membrana
Indometacina	Buffer pH 7.4	Celda de difusión	Silicón
Ibuprofeno	Buffer pH 7.5	Valia - Chien	Filtro membrana/suspensión estrato córneo
Progesterona	Acuoso	Ghannam-Chien	Silicón
Corticoesteroides	Miristrato de isopropilo Etanol	Franz	Polisulfona
Testosterona	Metanol diluído	Celda de difusión	Silicón
Sales de diclofenaco	Acuoso	Celda de difusión horizontal	Silicón
Nitroglicerina	Acuoso	Franz	Polisulfona Polímero acrílico Silicón Polipropileno Fibra de vidrio Politetrafluoetileno
Nicotinato de metilo	Solución isotónica pH 7.4	Franz	Silicon Acetato de celulosa Dracón
Salicilato de metilo	Acuoso	Celda de difusión	Celulosa Silicón Politileno

3. Prueba de Disolución de Sistemas de Liberación Transdérmica

Los primeros estudios en tecnología de disolución se preocuparon por formas de dosificación oral. Recientemente, la atención se ha dirigido hacia la piel como un portal para la entrada y la actividad biológica de algunos fármacos, esto incluye a los parches y a algunas sustancias químicas; como cosméticos.

Aunque este estudio no está limitado a pruebas *in vitro*; estos métodos son apropiados para la aplicación en investigaciones de: formulaciones donde el fármaco está mejor situado para liberación transdérmica, métodos para diseño de parches, modelos *in vitro* para el paso a la piel u otras barreras y evaluación de la exposición a sustancias químicas en cosméticos o entorno a uso industrial.

El diseño para la dosificación transdermal es caracterizado por varias barreras farmacocinéticas, cada una demuestra características de transferencia individual. Algunas de estas barreras se pueden entender mejor por estudios de permeabilidad *in vitro*.⁸⁴

Estas barreras se pueden clasificar como sigue:

- Liberación cinética de fármaco (todas las formas de dosificación)
- Membrana de vehículo (formas transdérmicas e implantes)
- Estrato córneo (formas transdérmicas)
- Epidermis viable (formas transdérmicas)
- Dermis (todas las formas de dosificación)
- Transporte en sangre/metabolismo/excreción (todas las formas de dosificación)

Las primeras cinco en esta lista (liberación cinética del fármaco, membrana de vehículo, estrato córneo, epidermis viable y dermis.) pueden ser determinadas por pruebas *in vitro*.

La última barrera (transporte en sangre/metabolismo/excreción) en el presente solo puede ser determinada por pruebas *in vivo*.

Los sistemas *in vitro* para estudios de parches transdérmicos, implantes, ungüentos y cosméticos son complejos, especialmente cuando uno considera los múltiples acontecimientos y variables en la tortuosa difusión de estas barreras.

Esta prueba de disolución es aplicada a este tipo de forma de dosificación, que puede llevar un potenciador en la solución, o en la suspensión en una membrana como la piel y típicamente el lado de la membrana puede estar en contacto con una solución acuosa, por ejemplo buffer de fosfatos.³⁷

Dentro de la USP XXIII (The Pharmacopeia of the United States of America. 23th), se propone el uso del aparato 5 para la prueba de liberación de fármacos en parches transdérmicos, el cual utiliza el equipo de disolución convencional, sólo que la muestra que es el transdérmico se coloca en una malla de acero inoxidable y esta se coloca en el fondo del vaso de disolución y se agita con la paleta colocada a 2.5 cm arriba del disco, el cual ha sido llamado método de paleta sobre disco.

El sistema de liberación transdérmica se monta sobre el disco y se coloca en el vaso de disolución. El medio de disolución es generalmente una solución isotónica de fosfatos a un pH de 7.4. Los detalles del montaje del disco no son firmemente definidos, pero un disco de millipore es descrito como satisfactorio.⁶⁹

Este montaje es limitado a aquellos parches que el interior de su boquilla tiene un diámetro de 16 mm. Este método ha sido sujeto a investigación por parte de la FDA (Federal Drug Administration), y ha tenido como objetivo primordial el desarrollo de un método *in vitro*, simple, reproducible y confiable para asegurar la liberación del fármaco del parche transdérmico.^{69, 85}

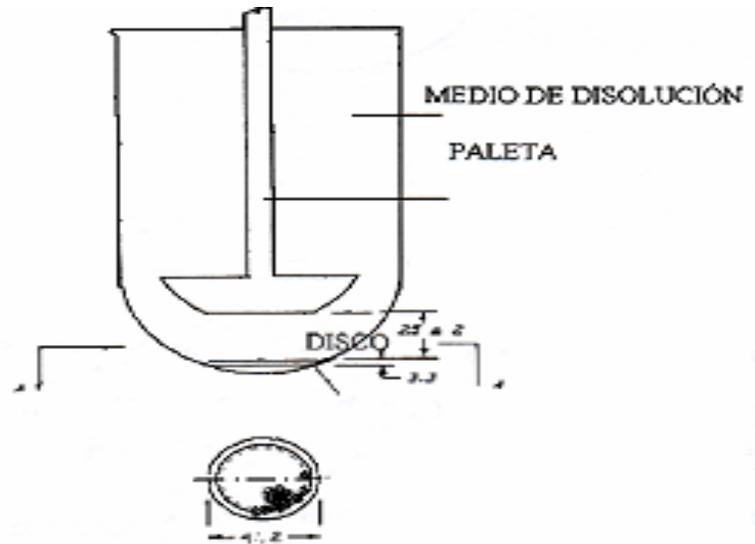


FIGURA 7. APARATO 5, MÉTODO DE PALETA SOBRE DISCO (USP XXIII)

Un montaje de disco menos costoso y más universal ha sido desarrollado y sugerido por investigadores de la FDA que es un método similar al método 5 de la USP XXIII de paleta sobre disco. Se compone de un vidrio de reloj y un montaje sujeto por clips de plástico y sobre el cual se coloca una malla, en un medio adecuado a 32 ± 0.5 °C. ^{72, 86, 87, 84, 88.}

Una sofisticada variación implica el soporte sujeto en lugar con anillos que sostienen el vidrio de reloj. Esta técnica reciente permite que una membrana adicional simule la piel, para ser metida entre el parche y el montaje. Los parches más grandes pueden ser acomodados. Estas variaciones están bajo extensos estudios.

a. Aparato de cilindro rotatorio.

Listado como aparato 4 en la USP XXIII y cambiado a aparato 6 en la revisión de la USP XXIII. Éste método también usa equipo de disolución. Un cilindro especial es conectado al mango rotatorio y puede acomodarse a varias medidas de parches. La temperatura es controlada a 32 ± 0.5 °C. ⁶⁹

La ventaja del aparato involucra la paleta sobre disco y un cilindro rotatorio, estas técnicas emplean el equipo existente de disolución de USP XXIII.

Una desventaja en este método, sin embargo, es un amplio volumen de medio resultando en una concentración diluida del ingrediente activo liberado que en cambio complica el análisis. La extensión larga en el tiempo medio de disolución incrementa la probabilidad de productos de degradación adicionales.

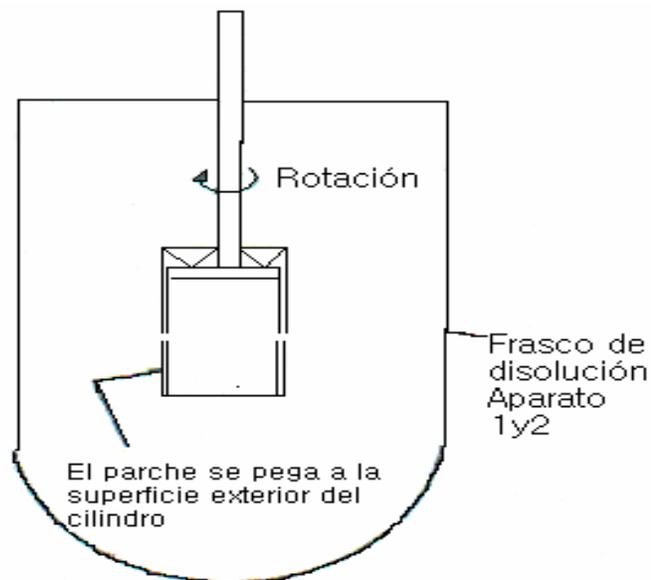


FIGURA 8. APARATO 4, MÉTODO DE CILINDROS ROTATORIOS. (USP XXIII)

b. Discos recíprocos.

Los discos recíprocos fueron enlistados como el aparato 5 en la USP XXIII y fue cambiado por el aparato 7 en la revisión de la USP XXIII. En el método de discos recíprocos, los parches son anexados a un sostenedor vertical oscilante desde arriba hasta abajo, a través de 1.9 cm en una velocidad de 30 ciclos/min, que es similar al aparato de desintegración de la USP XXIII. Cada parche recíproco en un recipiente separado por un periodo prescrito de tiempo que luego es transferido a un vaso nuevo periódicamente durante la prueba. Una sucesión de tubos es analizada para el ingrediente liberado.⁶⁹

Una obvia ventaja de este método es una conveniente selección de volumen de disolvente, llevando al máximo las concentraciones que se pueden analizar exactamente al mismo tiempo. Esa condición óptima, es mantenida. Adicionalmente esta prueba permite protocolos que minimizan el tiempo en los medios y por esto reduce la probabilidad de productos de degradación.

Finalmente, por la naturaleza del diseño de instrumentación es especialmente adaptable al tratamiento masivo de muestras y control automático.

La desventaja del método de disco oscilante es que requiere de una inversión en el equipo de disolución que es totalmente diferente a los artefactos uniformes de más laboratorios farmacéuticos.^{84.85}

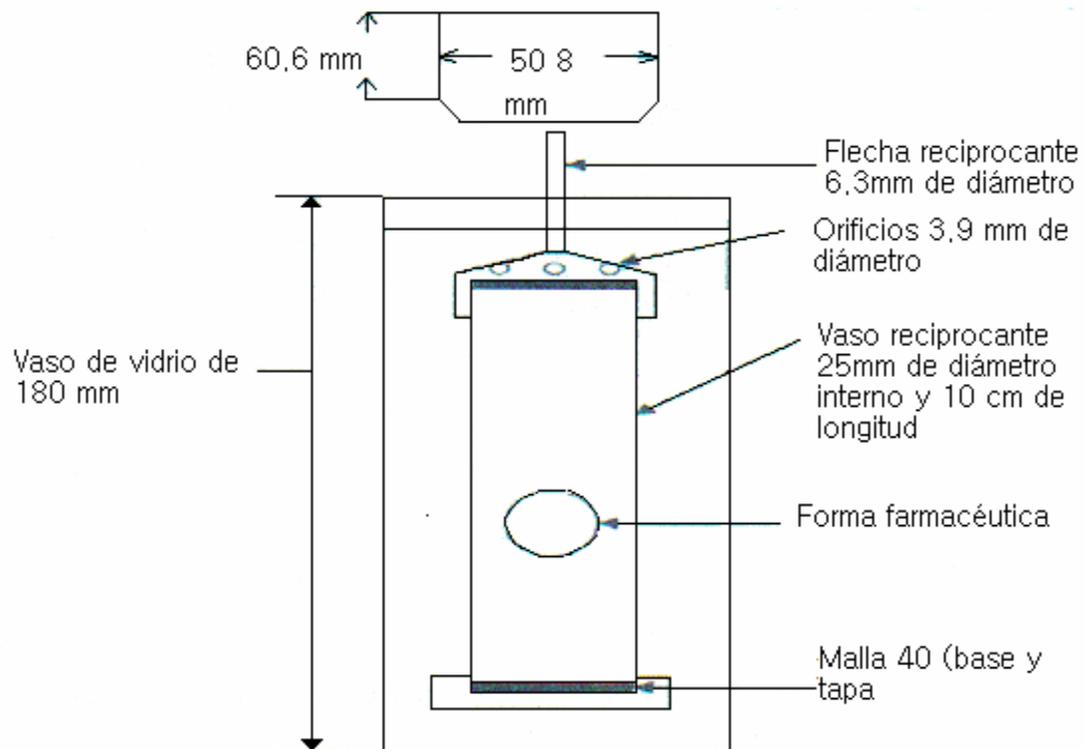


FIGURA 9. APARATO 7, MÉTODO DE DISCOS RECÍPROCOS (USP XXIII)

Usando el principio de paleta sobre disco el cual es propuesto para parches trasdérmicos, se han realizado estudios donde se reporta el uso de una celda mejorada para la prueba de liberación de parches transdérmicos, la cual se usa en lugar del disco de acero inoxidable de la USP XXIII y del vidrio de reloj cubierto por una malla. ⁷².

En un estudio realizado se compara esta celda mejorada usando el sistema de paleta sobre disco, contra la celda de Franz, la cual es reconocida como la más popular para realizar estudios de difusión de medicamentos tópicos a través de una membrana, concluyendo que esta nueva celda mejorada da mejores resultados y con algunas ventajas adicionales. ⁷¹.

La celda mejorada utiliza también el principio del método de paleta sobre disco, excepto que en lugar de la malla de acero inoxidable usada en la USP XXIII sobre el vidrio de reloj de FDA, se usa una celda de teflón la cual se muestra figura 10, utiliza vasos más pequeños (200 mL de capacidad) y por lo tanto la dimensión de la paleta también cambia.

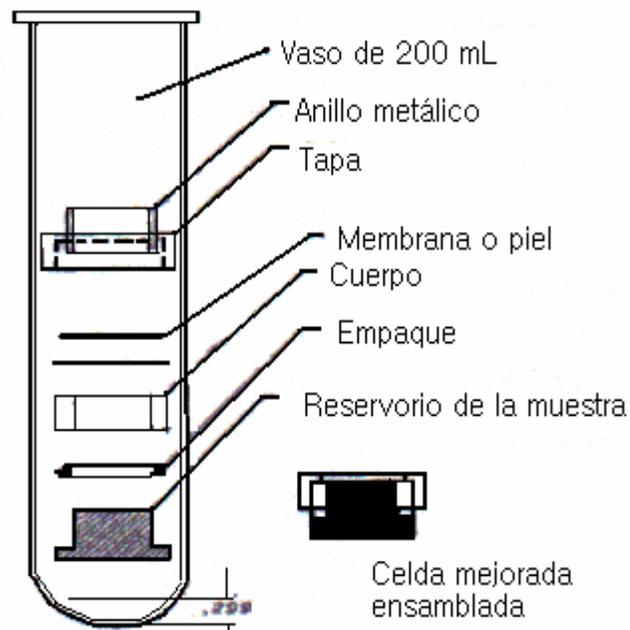


FIGURA 10. "CELDA MEJORADA", APARATO DE PALETA SOBRE DISCO (USP XXIII)

La celda mejorada tiene las siguientes ventajas:

- Forma, tamaño y superficie expuesta de la muestra puede ser controlada por un sistema de tornillo.
- Puede usarse con o sin membrana en los casos en los que se requiera realizar estudios de liberación o absorción lo cual no permite los métodos de la USP XXIII y FDA.
- Utiliza el mismo equipo de disolución existente en los laboratorios y por lo tanto el manejo, toma de muestra y automatización es similar al método convencional.
- Fácil de automatizar.
- Se conocen las variables del sistema.
- No se requiere de entrenamiento especializado
- Se pueden hacer estudios de permeación con membranas sintéticas y biológicas (cinéticas de transferencia de masas)
- Se pueden estudiar parches y semisólidos (cremas, géles, ungüentos)

Se han realizado modificaciones al método para parches transdérmicos de la USP XXIII utilizando el método de "celda modificada", el cual ha sido utilizado para realizar estudios de liberación en formulaciones tópicas.⁷²



FIGURA 11. CELDA MODIFICADA (72)

4. Equipo

- Celda de difusión: Horizontal, vertical, diferentes, tamaños y forma.
- Paleta sobre disco: USP XXIII, FDA, Celda mejorada.
- Membrana: sintética
 - Porosa hidrofílica (derivados de celulosa y policarbonato)
 - Porosa impregnada (con ácidos y alcoholes de grasas)
 - No porosa lipofílica (polidimetilsiloxano)
- Membrana: biológica.
 - Cerdo, serpiente, ratón sin pelo y humana.
- Medio de disolución
 - Acuoso (sales como cloruro de sodio o fosfatos pH 7.4)
 - No acuoso (alcoholes, glicoles y ácidos, alcoholes y ésteres grasos)
- Temperatura: 25, 32 y 37 °C
- Tipo de agitación:
 - Barra magnética (celda de difusión)
 - Paleta (paleta sobre disco)
- Velocidad de agitación: 400 a 800 RPM en celda de difusión y de 50 a 150 RPM en paleta sobre disco.

5. Factores que Influyen en la Velocidad de Disolución

- a. Factores relacionados a las propiedades fisicoquímicos de los fármacos.
- b. Factores relacionados a la formulación del producto.
- c. Factores relacionados a la forma farmacéutica.
- d. Factores relacionados al aparato de la prueba de disolución.
- e. Factores relacionados a los parámetros de la prueba de disolución.
- f. Otros factores.

6. Factores Relacionados a la Formulación del Producto

- a. Tipo y cantidad de excipientes (agentes, aglutinantes, desintegrantes y lubricantes).
- b. Tamaño de partícula.
- c. Tensión superficial entre el fármaco y el medio de disolución.

7. Factores Relacionados a la Forma Farmacéutica

- a. Proceso y/o procesos de manufactura.
- b. Empaque y edad del producto.
- c. Distribución y tamaño de poros.

8. Factores Relacionados al Aparato de la Prueba de Disolución

- a. Excentricidad del agitador.
- b. Vibración.
- c. Velocidad de agitación.
- d. Tipo de aparato

F. EVALUACIÓN DE LOS PERFILES DE DISOLUCIÓN

La biodisponibilidad farmacéutica de un fármaco en una forma farmacéutica puede ser evaluada por la liberación del principio activo de la forma farmacéutica y por estudios de absorción al transporte de fármacos a través de la membrana.

Algunos autores usan la evaluación del tiempo para alcanzar el 50% o el 90% disuelto.⁸⁴ Estas aproximaciones son determinaciones a un solo punto y no caracterizan adecuadamente el proceso completo de disolución, por lo que es

mejor hacer la determinación a varios tiempos (perfiles de disolución), ya que reflejan mejor comportamiento del producto. Entre los métodos de análisis de datos de perfiles de disolución tenemos los siguientes:

1. Área Bajo la Curva (ABC).

El principio de la correspondencia del área bajo la curva para la determinación de biodisponibilidad siguiendo una administración sistémica, fue aplicado a los perfiles de disolución y este principio se ha aplicado para la evaluación de la penetración en la piel en estudios de absorción. En un estudio realizado por Reinar (1990) usando el ABC como un parámetro de medida de perfil de liberación, la ventaja es que reduce a un solo resultado los perfiles, facilitando su análisis e interpretación, pero teniendo la desventaja que si existen errores en el método de medir ABC, dará resultados erróneos.^{70,89.}

2. Tiempo Medio de Disolución (TMD) y Tiempo Medio de Resistencia (TMR).

El área bajo la curva obtenida en un perfil de liberación puede ser tratada como una distribución estadística de tiempos de liberación (disolución del fármaco en un medio de disolución) o de residencia del fármaco en al forma farmacéutica. Cada función de distribución puede ser descrita matemáticamente por medidas de tendencia central y de dispersión, las cuales se basan en los momentos estadísticos de primero y segundo grado.⁹⁰

La teoría de los momentos estadísticos se basa en el supuesto de que el movimiento individual de una molécula de fármaco a través de un sistema, está gobernada por la probabilidad (proceso estocástico). En el caso de disolución, una molécula de fármaco contenida en la forma farmacéutica se transfiere con

cierta probabilidad desde el estado sólido al estado disuelto; el resultado que se observa experimentalmente, es el resultado promedio de numerosas moléculas.

Para una distribución normal, el primer momento es igual a la medida aritmética y el segundo a la varianza. Los tres primeros parámetros cuantitativamente útiles para caracterizar la distribución de frecuencias por medio de los denominados momentos estadísticos:

- Área bajo la curva (ABC).
- Tiempo medio de residencia (TMR).
- Varianza del tiempo de residencia (VTMR)

El TMR y VTMR reflejan la conducta general de la gran masa de moléculas, el TMR, es definido por Dost (1958) como la medida estática de los tiempos de moléculas individuales en el sistema de tiempo cero, que son retenidos de este sistema antes de su liberación (disolución *in vitro*).

La media aritmética de cualquier perfil de disolución (%liberado) es llamado TMD, pero si el contenido del fármaco que permanece en la forma farmacéutica se grafica en función del tiempo, la media aritmética es llamada TMR. Para calcular el TMR y TMD se puede usar la siguiente ecuación:

$$\text{TMR} = \text{ABCm}/\text{ABC} \dots\dots\dots 1$$

donde ABCm es el área bajo la curva en el primer momento estadístico y ABC es el área bajo la curva de lo que permanece en la formulación para el caso de TMR y lo que se disuelve en el caso de TMD. ⁹⁰.

Una importante fuente de error en la determinación de TMR y TDM es el hecho de que no siempre se alcanza el 100% de liberación, el cálculo en tales casos se basa en el máximo del fármaco disuelto. Para sistemas los cuales

tienen una liberación completa del fármaco, el error depende del número de puntos medidos y de la forma de la curva, la cual es una expresión de la cinética de liberación.

El TMD y TMR se han utilizado para calcular la correlación *in vitro-in vivo* de perfiles de disolución, como modelos de absorción de fármacos, como prueba de equivalencia entre perfiles de disolución o para comparar estadísticamente diferentes de disolución.⁹⁰

Todo lo anterior juega un papel en el desarrollo de formas farmacéuticas, un método de prueba estadístico basado en datos originales, es característica importante para realizar comparaciones.

El método usado para el cálculo de TMD y TMR debe cubrir los siguientes criterios:

- En la determinación de ABC el error debe ser mínimo.
- El cálculo debe aplicarse a varios tipos de cinética de disolución.
- Los valores deben ser capaces de diferenciar entre curvas de Diferente forma y grado de liberación.
- Si no se obtiene el 100% de liberación, los valores obtenidos deben ser similares a los que se tienen calculados con perfil completo.

3. Eficiencia de Disolución.

Una forma de expresar los resultados de la prueba de disolución ha sido empleada por Khan y Rodees (1975), quienes ha reportado el concepto de “eficiencia de disolución”, que definen como el porcentaje del área de un rectángulo descrito por el 100% disuelto y el tiempo como lo muestra la figura 12 A y 12B.

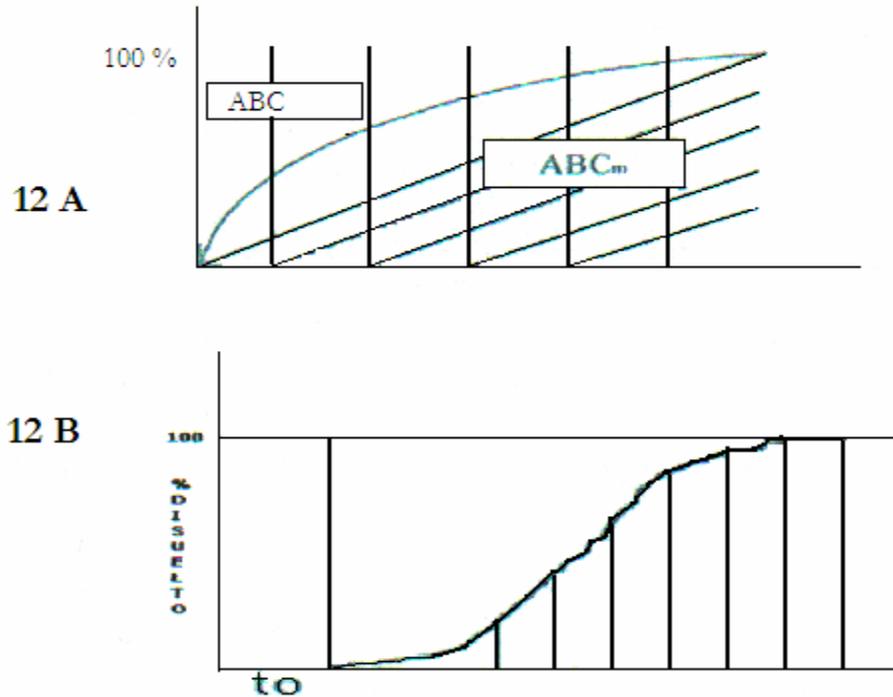


FIGURA 12. DETERMINACIÓN DE EFICIENCIA DE DISOLUCIÓN **A.** EMPLEANDO EL PRINCIPIO DEL RECTÁNGULO **B.** EMPLEANDO EL PRINCIPIO DE TRAPECIOS

En la figura 12 B el t_0 es el tiempo de latencia o de inducción, que representa el tiempo necesario para que la forma farmacéutica comience a ceder su principio activo al medio de disolución.

La eficiencia de disolución esta definida por la siguiente ecuación:

$$\frac{ABC_m}{ABC} \dots\dots\dots 2$$

Donde el ABC_m es el área bajo la curva de la muestra y la ABC es el área bajo la curva del rectángulo formado por el 100% disuelto al tiempo t . De este modo, es posible comparar diferentes formulaciones a condición de que ésta comparación sea realizad a los mismos tiempos.

Al comparar formas farmacéuticas donde exista tiempo de latencia (t_0), pueden emplearse dos criterios. Uno que incluya este tiempo y otro que no lo incluya.^{91, 92.}

G. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TRANSDÉRMICOS

La absorción percutánea está relacionada con la transferencia de principio activo desde la superficie de la piel a través del estrato córneo, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación. La penetración molecular a través de las diferentes regiones de la piel esta limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas.

La difusión de la sustancia activa está limitada, además por la oposición que ofrece la microvasculatura a la liberación sistémica del principio activo. Existen otros factores que controlan la penetración o velocidad de permeación, entre ellos esta la densidad del medio de difusión, que es inversamente proporcional al coeficiente de distribución.

La estructura molecular y el orden en que se encuentra dispuesto el medio de difusión también influyen de manera significativa.

El paso limitante en la absorción percutánea tiende a ser la difusión del estrato córneo. Para la determinación del flujo del soluto en el estado de equilibrio y del coeficiente de permeabilidad, se utiliza la formula integrada de la primera ley de Fick.

1. Fase de Retardo

Conocida mejor como tiempo de latencia o de inducción, que representa el tiempo necesario para que la forma farmacéutica comience a liberar el fármaco. Este tiempo de latencia se puede determinar en un perfil de liberación, de la fase lineal con el intercepto sobre el tiempo de la gráfica.

2. Coeficiente de Permeabilidad

Es una relación existente del coeficiente de partición y la difusividad de una molécula penetrante con respecto al espesor total donde se lleva a cabo el fenómeno o en otras palabras es la relación entre la velocidad de penetración y la concentración aplicada, es una constante y se denomina constante de permeabilidad, este valor es una medida de la permeabilidad de la piel para un fármaco en un solvente o vehículo determinado y es además una referencia para comprobar la permeabilidad de diferentes sustancias o cuando se usan diferentes vehículos para la misma sustancia. Se puede determinar de la siguiente manera:

$$P_e = J_s / \Delta C \dots\dots\dots 3$$

P_e es el coeficiente efectivo de permeabilidad (cm/h), y ΔC es el gradiente de concentración a través de la piel. En muchos casos ΔC se asume que es la concentración de la fase donadora, ya que proviniendo la concentración del fármaco en el compartimiento reservorio no exceda el 10% de la concentración del donador.^{43, 93.}

También se puede determinar de la siguiente manera:

$$J_s = DC_o K/L = K_p C_o. \quad K_p = P_e \dots\dots\dots 4$$

donde J_s es el flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$), L es el espesor de la membrana, D es el coeficiente de difusión (cm^2/h), C_o es la concentración a tiempo 0, K es el coeficiente de partición del fármaco entre el vehículo y la piel, y K_p es el coeficiente de permeabilidad (cm/h).^{94.}

Flujo: es la cantidad del fármaco que pasa de la fase donadora a la fase aceptora por área expuesta.

Se puede expresar de la siguiente manera:

$$J_s = 1 / A (dM/dt) \dots\dots\dots 5$$

Donde J_s es el flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$), dM/dt es la cantidad de fármaco perneado por unidad de tiempo, el cual se puede determinar de la pendiente obtenida de la fase lineal en el perfil de liberación. A es el área de difusión (cm^2).⁹⁵

H. VALIDACIÓN

1. Definición

La validación de los métodos analíticos puede definirse como un proceso a través de estudios de laboratorio que establece que la capacidad del método satisface los requerimientos necesarios para las aplicaciones analíticas deseadas. Por medio del cual queda documentada la influencia de las variables físicas, químicas, cinéticas, instrumentales y aleatorias en su capacidad para proporcionar resultados analíticos.

El escoger cuáles son los puntos para validar un método depende de las necesidades del laboratorio, de la aplicación que tenga el método y de los requerimientos oficiales.

Por lo que es lógico suponer que diferentes métodos de ensayo requieren diferentes esquemas de evaluación. Sin embargo los parámetros de evaluación para el método analítico usado son los siguientes:

- a) Exactitud.
- b) Linealidad.
 - 1) Linealidad del Sistema
 - 2) Linealidad del Método
- c) Precisión.
- d) Selectividad.
- e) Estabilidad de la muestra.

II. PROPIEDADES FISICO-QUÍMICAS DE LOS EXCIPIENTES Y EL PRINCIPIO ACTIVO.

A. EQUINÁCEA

La Equinácea es una droga inmunoreguladora que estimula la capacidad inmunológica, es decir, facilita la respuesta del organismo frente a agentes infecciosos (virus, bacterias, etc.) y contra determinadas células cancerosas. Actúa activando, en general, todo el sistema inmunitario.

1. Descripción.

Tintura o extracto líquido que posee del 30 % al 40 % de contenido hidroalcohólico con color verde claro a amarillento con olor y sabor característico. La tintura posee un color ámbar rojizo ligeramente turbio y con sabor característico. Líquido ligeramente turbio con olor y sabor característico, presenta un color ámbar rojizo.

2. Acción Farmacológica.

La equinácea estimula la inmunidad celular de forma inespecífica. Aumenta la actividad de los PMN (polimorfonucleares), promueve la liberación de linfoquinas por parte de los linfocitos y aumenta el poder citotóxico de los macrófagos. Tiene acción inmunoestimulante debida a los polisacáridos y a las isobutilamidas. Presenta actividad antiviral, que es una acción directa debida a los polifenoles o una acción secundaria del efecto estimulante. Tiene acción vulneraria debida a los derivados de ácido caféico. Activa la formación de leucocitos reforzando la capacidad de resistencia del organismo ante infecciones.

La fracción de polisacáridos activa los macrófagos, provocando un incremento en la secreción de radicales libres y de interleuquina I; posiblemente esto explique su acción contra infecciones y algunos sistemas antitumorales. Algunos científicos consideran que los polisacáridos podrían inhibir la hialuronidasa, enzima que producen las bacterias para desintegrar al ácido hialurónico (componente fundamental del tejido conjuntivo), lo cual permite la difusión de los gérmenes. Al inhibir esta enzima se detiene la difusión de los gérmenes por los tejidos.

3. Aplicación y Usos.

Previene infecciones de etiologías diversas incluidas las infecciones víricas. Se usa en tratamientos de catarros náseo-faríngeos y en la prevención de estados gripales. Se utiliza como coadyuvante en tratamientos como el cáncer, para corregir la disminución de leucocitos (leucopenia) y en defensas que se producen tras la aplicación de radioterapia o quimioterapia. Es útil en el tratamiento de llagas, heridas, quemaduras, dermatitis y acné juvenil. Se usa en el tratamiento y prevención de trastornos inflamatorios de las vías urinarias y de la próstata, amigdalitis, rinitis o sinusitis a alergias diversas. Tiene un claro efecto preventivo y es muy útil en el reestablecimiento de organismos debilitados, en personas convalecientes o con defensas muy bajas, en situaciones de agotamiento y anemia. Es también un buen apoyo en ataques leves de asma, y una alternativa válida para contrarrestar las infecciones de oído y muelas.

4. Contraindicaciones.

No se debe administrar en presencia de múltiple esclerosis, leucosis, enfermedad de colágeno y tuberculosis. La administración parenteral no se debe usar en pacientes con tendencias a alergias, no se debe usar durante el embarazo.

Cuando se usa parenteralmente puede presentar reacciones de fiebre, náusea y vómito a corto plazo; esto puede ocurrir dependiendo de la dosis. Se debe ejercitar el cuidado si el fármaco es administrado parenteralmente en personas con diabetes. Se ha informado hipersensibilidad con anafilaxis, salpullidos, mareo y un descenso en la presión de sangre se ha observado después de la administración de preparaciones que contienen Equinácea.

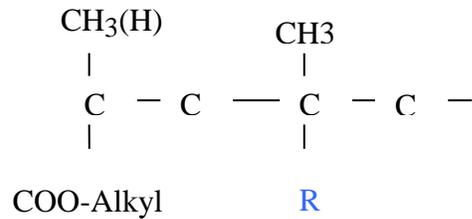
5. Dosificación.

La administración se puede presentar en extracto fluido, en decocción y en preparaciones galénicas de uso interno y externo.

El extracto fluido se prepara en una concentración de 2.5:1 y es estabilizada con 22% de alcohol. Cuando se usa diariamente se recomienda la dosis de 6 a 9 mL del jugo; en decocción, 50 mL en tres dosis diarias; en tintura, 50 gotas en tres dosis; en extracto líquido o tintura la dosis es de 2-4 mL. La dosis recomendada para la administración parenteral se debe individualizar, dependiendo de la seriedad de la condición, así como también de la naturaleza específica de la preparación respectiva.^{96, 97, 98, 99.}

B. EUDRAGITS (POLIMETACRILATOS)

Son polímeros sintéticos catiónicos o aniónicos derivados de ácido metacrílico, dimetilaminoetilmetacrilato, y ésteres de ácido metacrílico en diferentes porciones; varios tipos de estos productos se encuentran disponibles comercialmente como polvo, gránulos, dispersiones acuosas o soluciones orgánicas.



1. Eugragits RL/RS

Poli (etil acrilato, metil metacrilato, trimetilaminoetil metacrilato, cloruro)

RL 100 1:2:0,2 ; RS 1:2:0,1

Los polímeros acrílicos EUDRAGIT RL, EUDRAGIT RS, fueron desarrollados para pH independiente, retardando la liberación de fármacos en las formas de dosificación oral.

Son copolímeros de ácido acrílico y ésteres de ácido metacrílico con grupos de amonio cuaternario. Los grupos de amonio cuaternario determinan la facultad de hinchamiento y la permeabilidad de las películas; estos grupos están presentes como sales. El peso promedio molecular es de 150000. Son gránulos o sustancias sólidas, incoloras, claras o turbias con un ligero olor a amoniac, viscosidad máxima 15 mPas; índice de refracción 1.380-1385; densidad relativa 0.816-0.836.

EUDRAGIT RL contiene más de estos grupos, las películas las hace altamente permeables con pequeña acción de demora. Por el contraste, el contenido de grupos cuaternario reducido lo presentan las películas con EUDRAGIT RS, que se hinchan menos fácilmente y son sólo levemente permeable a ingredientes activos.

Los grupos de amonio cuaternario, se presentan como cloruros en polímeros EUDRAGIT RL/RS. Son completamente dissociados en un pH fisiológico cerca de 1 a 8. En la formación inicial de la película, la capa de permeabilidad es independiente del pH.

Las matrices de EUDRAGIT proporcionan a las formas de dosificación una buena fuerza mecánica y controlan la difusión de ingredientes activos.

En forma de soluciones o dispersiones acuosas los polímeros EUGRAGIT RL y EUDRAGIT RS son libremente miscibles. Dependiendo de si es altamente permeable (EUDRAGIT RL) o levemente permeable (EUDRAGIT RS), el componente que predomina en la formación de la mezcla varía la permeabilidad. La difusión de sustancia activa disminuye continuamente con el espesor creciente que reviste.

Un gramo de EUDRAGIT RL 100/ RS 100 se disuelve en 7 gramos de metanol, etanol, alcohol isopropílico, así como en acetona, acetato de etilo y cloruro de metileno. Prácticamente insoluble en éter de petróleo, hidróxido de sodio 1N y agua. ^{18, 100, 101.}

C. ACETONA

La acetona es uno de los disolventes industriales extensamente usados. La acetona se usa en capas de superficie, en líquidos que limpian, en aplicaciones farmacéuticas, en adhesivos. La acetona se usa en extractos de aceites, ceras y resinas de productos naturales; se usa en la fabricación de fibras de acetato de celulosa; como un químico intermedio. ^{102.}

La acetona se absorbe rápidamente por inhalación, por ingestión y por exposición termal; se distribuye mejormente a través del cuerpo, particularmente en órganos con alto contenido de agua. Una vez que se ha absorbido es extensamente metabolizada.

Las propiedades físicas de la acetona se enlistan en la tabla 2.

TABLA 2. PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DE LA ACETONA	
Nombre químico	Acetona
Formula empírica	C ₃ H ₆ O
Sinónimos	Dimetil cetona, 2-propanona
Numero de cas	67-64-1
Apariencia y olor	Transparente, líquido incoloro con olor característico, flamable, volátil
Peso molecular	58.08
Densidad	0.774 g/cm ³ a 25 °C
Punto de ebullición	56.2 °C a760 mmHg
Punto de congelamiento	-94.7AC
Presión de vapor	185 mmHg a 20 °C
Solubilidad	Miscible en agua, cloroformo, alcohol, éter y con aceites volátiles

D. ALCANFOR

1. Características.

Originario del Extremo Oriente (China, Japón). Ampliamente cultivado en Asia y América del Norte.

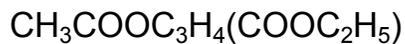
El árbol permite obtener un 2-3% de esencia con un 50% de alcanfor. El alcanfor es una sustancia cristalina, incolora, con olor característico, sabor picante y que produce sensación de frío. El alcanfor sublima formando incrustaciones en las paredes del recipiente que lo contiene.

2. Acción Farmacológica.

Por vía interna es antiséptico pulmonar, febrífugo, analgésico y excitante del sistema nervioso central a nivel del bulbo raquídeo (estimulante cardiorrespiratorio).

Para conseguir estimulación cardiorrespiratoria precisa dosis elevada que pueden resultar tóxicas, por lo que actualmente no se utiliza con este fin, aunque si se usa a dosis bajas como expectorante y antiséptico de las vías respiratorias. Por vía externa es rubefaciente, antiséptico y antirreumático.⁹⁹

E. ACETIL TRIETIL CITRATO (CITROFLEX)



Líquido incoloro, inodoro, rango de destilación 131-132 °C (1mmHg); índice de refracción 1, 438 (25°C); viscosidad 53.7 Cps (25°C); ligeramente soluble en agua, soluble en metanol, etanol, acetona. Combustible; se utiliza en la industria farmacéutica como plastificante.¹⁰⁵

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Si no se tomara en cuenta la administración por vía intravenosa, puede señalarse que las formas farmacéuticas convencionales de dosificación de medicamentos, presentan ciertos inconvenientes o limitaciones, para alcanzar el fin que se persigue de una utilización racional de estas sustancias. La liberación del principio activo, a partir de la forma de administración, se produce de una manera brusca y rápida, lo que se traduce en el organismo, en una gran fluctuación entre las concentraciones máxima y mínima que se obtiene, tanto en plasma, como en los diferentes tejidos. Ello comporta a su vez, un mayor riesgo de toxicidad en algunos momentos, o de pérdida de eficacia en otros, dentro del intervalo de dosificación aplicado.

Con objeto de superar estos inconvenientes, han surgido alternativas para satisfacer las necesidades del consumidor, llevando al lanzamiento de nuevas formas farmacéuticas, que presenten una mejora en la eficacia terapéutica de los fármacos que ya existen. Los sistemas de liberación prolongada son un ejemplo claro y es que las propiedades terapéuticas de una sustancia, dependen mucho más del grado y velocidad de absorción en el organismo, que de la propia dosis administrada ya que su objetivo principal es la de prolongar la acción del principio activo disminuyendo el tiempo de dosificación.

Dentro del conjunto de los sistemas terapéuticos, puede afirmarse que los Sistemas Terapéuticos Transdérmicos representan hasta ahora, la máxima actualidad e interés, sobre todo por que respecta a la aplicación clínica inmediata de tales sistemas.

Ello es debido, entre otras razones, a las ventajas que ofrece la vía transdérmica para la administración de medicamentos.

Con todas estas ventajas un parche transdérmico debe tener propiedades adecuadas para su funcionamiento y que la liberación del principio activo se realice lo mejor posible, por lo cual se preparó este parche con equinácea ya que en el mercado no se ha reportado una formulación de este tipo, que en este momento resulta innovador.

IV. OBJETIVOS

Objetivo General

Desarrollar una matriz polimérica para una formulación de parche transdérmico de equinácea evaluando mediante sus perfiles de disolución la liberación de la sustancia activa.

Objetivos Específicos.

Seleccionar los polímeros que por sus diferentes características se adapten a las necesidades requeridas para una formulación transdérmica

Realizar los estudios preliminares que dicten al polímero o polímeros y a su vez el plastificante que deberán ser usados en el parche transdérmico

Desarrollo y Validación de un método analítico para determinar equinácea en la prueba de permeación *in vitro* .

V. HIPÓTESIS

En los sistemas de liberación controlada como es el caso de los parches transdérmicos, la liberación del principio activo se ve afectada por varios factores; las características fisicoquímicas de la matriz polimérica y la concentración de los polímeros y plastificante son unos de los factores más críticos que la afectan. Así al utilizar los polímeros Eudragits RS 100 y RL 100 y mezclarlos en proporciones diferentes se puede incrementar o disminuir la absorción del principio activo evidenciado para conocer los perfiles de disolución a través de una celda de Franz modificada.

VI. EQUIPO, MATERIAL Y REACTIVOS

A. MATERIAL

- Papel aluminio de grueso calibre[®] Bago-bag
- 1 Pliego de papel couche sintético polypap de 4 puntos
- 4 Vasos de precipitado 100 mL
- 5 Vasos de precipitado 50 mL
- 3 Vasos de precipitado 20 mL
- 2 Vasos de precipitado 150 mL y 250 mL
- 4 Pipetas graduadas de 10 mL 1/10
- 2 Pipetas graduadas de 5 mL 1/10
- 1 Pipetas graduadas de 1 mL 1/100
- 1 Probeta de 50 mL
- 2 Termómetros de inmersión de -10 a 150 °C
- 20 Portaobjetos 25.4 x 76.2 mm Corning
- 3 Pipetas Pasteur con bulbo de hule
- 3 Barras magnéticas PTFE 10 x 6 mm, cilíndrica sin anillo
- 1 Baño maría[®] Pyro-rey de 20 x10.5 cm
- 4 Matraces volumétricos con tapón de vidrio 100 mL
- 5 Matraces volumétricos con tapón de vidrio de 10 mL
- 1 Bureta de 10 mL
- 1 Soporte universal con varilla de 60 cm
- 1 Pinzas dobles para bureta
- 40 Tubos de ensayo (13 x 100 mm)
- 15 Tubos de ensayo (16 x 150 mm)
- 2 Gradillas metálicas para 40 tubos
- 5 Jeringas de 5 mL
- 2 Agitadores de vidrio 300 x 6 mm Kimax
- Papel pH escala 5-10 Neutralit[®] Merck
- Papel filtro Whatman # 40
- 84 Frascos de vidrio ámbar con tapas de hule de 10 mL
- 40 Tubos capilares sin heparina 75 mm Marienfeld
- 5 Cámaras cromatográficas (frascos de vidrio con tapa hermética ~250 mL)
- Cámara de humedad (recipiente con tapa hermética ~2 L)

B. EQUIPO

- 3 Celdas modificadas de Franz de 90 mL de capacidad
- Cronómetro CASIO®
- Agitador para tubos tipo Vortex
- Balanza analítica OHAUS®
- Estufa 20, 40, y 60 °C marca CAISA
- Revalador de placas cromatográficas con lámpara de luz UV de onda corta 254 nm y larga 365 nm UV-Betrachter; Camag
- Higrómetro; Termo-Hygro, Organon, MOD Taylor 5368.
- Placa de calentamiento y agitación, Termolyne 1000
- Espectrofotómetro UV-Visible Perkin Elmer; Lambda 2
- Viscosímetro Brookfield con aguja No.6

C. REACTIVOS

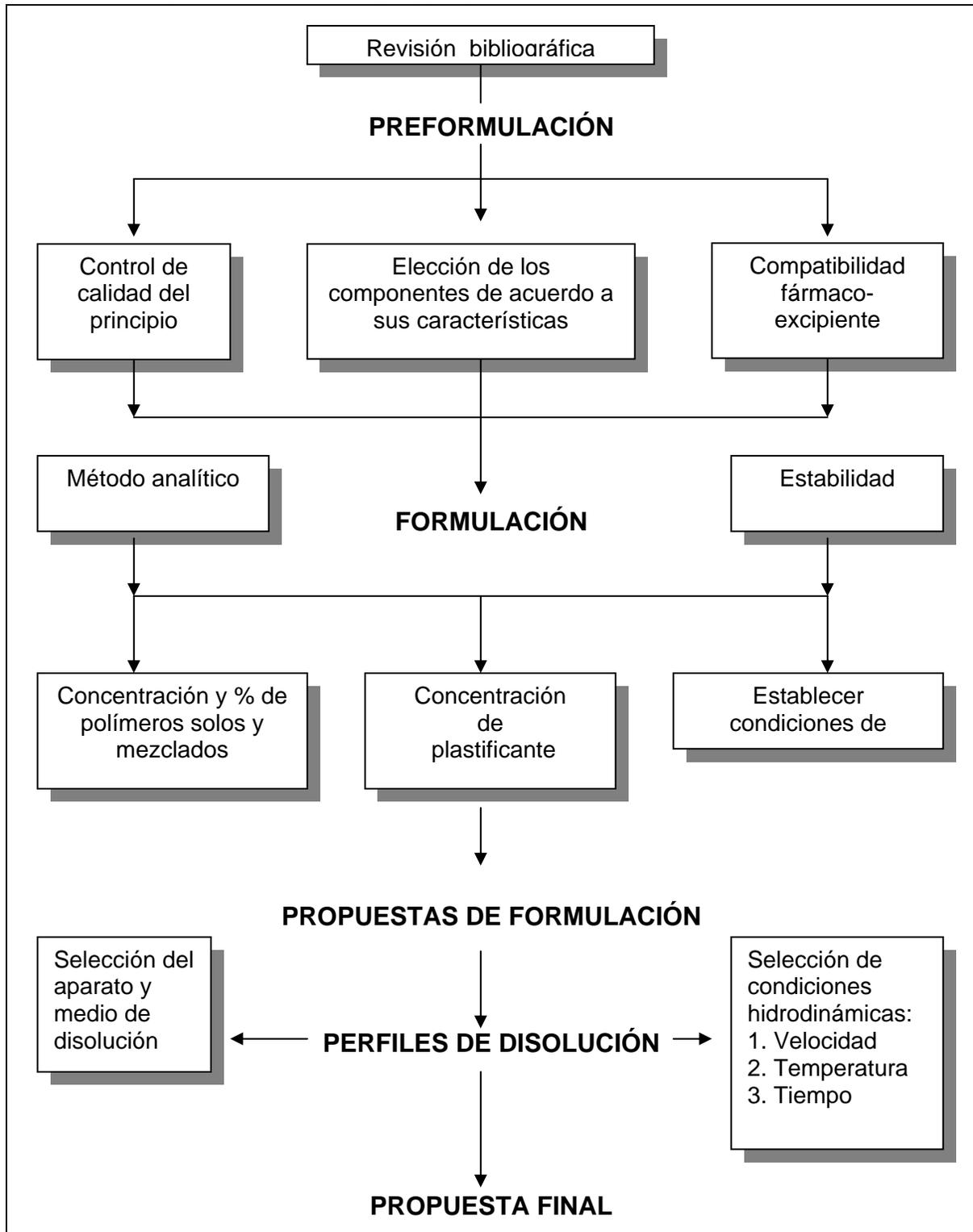
- Sílica gel GR
- Acetato de etilo GR
- Ácido fórmico GR
- Cloroformo GR
- Metanol GR
- Etanol GR
- Acetona GR
- Agua destilada GR
- Ácido sulfúrico GR
- n-hexano GR

D. MATERIAS PRIMAS

- Tintura de equinácea Equinácea[®] *Bioextracto*
- Eudragit RL 100 Eudragit[®] *Röhm Pharma*
- Eudragit E 100 Eudragit[®] *Röhm Pharma*
- Eudragit RS 100 Eudragit[®] *Röhm Pharma*
- Eudragit L 100 Eudragit[®] *Röhm Pharma*
- Polivinilpirrolidona Kollidon[®]25 *BASF*
- Citroflex Helm de México
- Plastoid
- Polietilenglicol 400 Merck
- Mentol
- Alcanfor

VII. METODOLOGÍA

A. DIAGRAMA DE BLOQUES DE LA PARA EXPERIMENTAL



B. PREFORMULACIÓN.

1. Control de Calidad del Principio Activo

El control de calidad del principio activo esta dado en la tabla 4, las especificaciones reportadas fueron realizadas por el proveedor, verificándose únicamente en nuestro estudio la prueba de solubilidad de acuerdo al método general de análisis 0821 de FEUM, usando agua y disolventes orgánicos.

Solubilidad. Se colocó 1mL de la muestra en un tubo de ensayo (16 x 150 mm), se agregó mililitro a mililitro de disolvente, se agitó suavemente para obtener la solución empleando un Vortex y se determinó la solubilidad de acuerdo al siguiente criterio.

Descripción	Partes de solvente por 1 parte de soluto
Muy soluble	Menos de 1
Fácilmente soluble	De 1 a 10
Soluble	De 10 a 30
Escasamente soluble	De 30 a 100
Ligeramente soluble	De 100 a 1000
Muy ligeramente soluble	De 1000 a 10,000
Prácticamente insoluble o insoluble	Más de 10, 000

2. Selección de Componentes

La selección se realizó elaborando películas con los excipientes que se muestran en la siguiente lista para formar la base de la matriz polimérica; los excipientes combinados o solos estaban en diferentes concentraciones, así como los diferentes plastificantes usados. Usando como disolvente acetona.

La evaluación de las películas así como de sus componentes se efectuó físicamente tomando en cuenta su apariencia, color, y adhesividad.

Película	Polímero (s) al 65%	Plastificante al 35 %	Disolvente
1	Eudragit RL100-Eudragit E100 (1:1)	Citroflex	Acetona
2	Eudragit RL100-Eudragit E100 (1:1)	Polietilenglicol	Acetona
3	Eudragit RL100-Eudragit E100 (1:1)	Citroflex	Acetona
4	Eudragit E100-Eudragit RS100 (1:1)	Citroflex	Acetona
5	Eudragit RL100	Polietilenglicol	Acetona
6	Eudragit E100	Citroflex	Acetona
7	Eudragit RL100	Citroflex	Acetona
8	Eudragit RS100	Citroflex	Acetona
9	Eudragit RS100-Eudragit L100 (1:1)	Polietilenglicol	Acetona
10	Eudragit RL100-Plastoid (75:25)	Citroflex	Acetona
11	Eudragit RL100-Plastoid (25:75)	Citroflex	Acetona
12	Eudragit E100-Plastoid (25:75)	Citroflex	Acetona
13	Eudragit E100-Plastoid (75:25)	Citroflex	Acetona
14	Eudragit RS100-Eudragit L100 (75:25)	Polietilenglicol	Acetona
15	Eudragit RL100-Eudragit E100 (75:25)	Citroflex	Acetona
16	Eudragit RL100-Eudragit E100 (75:25)	Polietilenglicol	Acetona
17	Eudragit RS100-Eudragit S100 (75:25)	Polietilenglicol	Acetona
18	Eudragit RL100-Eudragit E100 (75:25)	Polietilenglicol	Acetona
19	Eudragit RL100-Eudragit E100- Eudragit RS100 (70:20:10)	Citroflex	Acetona
20	Eudragit RL100-Eudragit E100- Eudragit RS100 (65:20:15)	Citroflex	Acetona
21	Eudragit RL100-Eudragit E100- Eudragit RS100	Citroflex	Acetona

22	(60:10:30) Eudragit RL100-PVP –Eudragit RL100	Citroflex	Acetona
23	(70 :20 :10) Eudragit RL100-PVP –Eudragit RL100 (65:20:15)	Citroflex	Acetona

De todos los excipientes usados se seleccionaron aquellos que presentaron en las películas mejor color, apariencia y adhesividad. Tomando estos criterios se eligieron las dos últimas matrices de la lista anterior. Con los componentes de las matrices se realizó las propuestas de formulación para después llevar a cabo el estudio de liberación del principio activo.

3. Evaluación Física de la Formulación

Prueba	Especificación
Apariencia	La película debe ser uniforme , libre de grumos o partículas extrañas, no debe de haber presencia de burbujas y al manejarse no debe de romperse. ¹⁷
Color	Debe presentar color homogéneo, no presentarse opaca, casi transparente.
Adhesividad	La muestra debe presentar una adhesiva requerida.
Variación de peso	Sujeta al resultado obtenido

a. Apariencia. La película se evaluó visualmente en una superficie plana y horizontal para determinar su uniformidad y la presencia de burbujas o grumos dentro de la formulación, la inspección visual de cada película se reportó como buena, media y baja.

Buena: No presentó burbujas, grumos o alguna partícula extraña y la uniformidad de la matriz se presentaba constante en cualquier parte de la película

Media: No presento burbujas, aunque hubo presencia de algunos grumos en la orillas de la película y debido a esto el grosor en estas partes de la matriz era mayor.

Baja: Presenta algunas burbujas distribuidas en toda la matriz y mayor presencia de grumos, lo que hace difícil precisar una uniformidad.

b. Color. El análisis fue visual, teniendo como respuesta el criterio de 10 personas voluntarias. Se les indicó que era para un parche transdérmico y así los criterios fueron: Agradable, Bueno y Normal.

Agradable: Que tuviera un color casi transparente

Bueno: La película tuviera una coloración un tanto opaca.

Normal. Que presentara una coloración muy opaca, casi blanco.

c. Adhesividad. La prueba se realizó con 3 personas voluntarias a las cuales se les adhirió en el brazo una sección de película de aproximadamente 5 x 4 cm; se monitoreo cuanto tiempo permanecía el parche en el mismo lugar que fue colocado y se reportó la adhesividad de la siguiente manera:

Nula: No se adhiere el parche a la piel

Baja: Se adhiere, pero no se sostiene más de 10 min.

Media: Se adhiere a la piel y se mantiene por al menos 2 horas

Alta: Se adhiere a la piel y se mantiene por al menos 2 días.

Cabe mencionar que los voluntarios seguían con su rutina diaria de aseo y cambio de ropa.

d. Variación de peso. De cada lote preparado se determinó el peso de los parches, la prueba se efectuó con 10, se calcularon la media y desviación estándar.

4. Compatibilidad Fármaco-excipiente

Se prepararon por triplicado las muestras que se mencionan a continuación: en una proporción de 1:1 y se sometieron a las condiciones de 20 °C, 40 °C, 60 °C y 60 °C 75 % HR.

- Equinácea
- Equinácea + Eudragit RL 100.
- Equinácea + Eudragit RS 100.
- Equinácea + PVP.
- Equinácea + Citroflex.
- Equinácea + Mentol.
- Equinácea + Alcanfor.

Los recipientes utilizados para contener las muestras fueron frascos viales de vidrio ámbar de 10 mL de capacidad con tapa de hule.

Después de 30 días de estar en cada condición se analizaron las muestras mediante la técnica visual y cromatografía de capa fina.

Para la CCF la preparación de las muestras consistió en tomar una asada de la muestra que solo tenía equinácea a la temperatura de 20 °C y otra de la mezcla con cada uno de los excipientes a la misma temperatura, cada una se disolvió en 2 mL de etanol usando sílica gel GF 254 como fase estacionaria y como fase móvil una mezcla de hexano-acetato de etilo (2:1)¹⁰⁶, por último se midió el Rf de cada placa y se reportó.

C. FORMULACIÓN

Habiéndose obtenido los resultados del estudio de compatibilidad, se procedió a formular las matrices poliméricas. En la tabla 6 se muestran las formulaciones propuestas con los polímeros o mezcla de polímeros y sus respectivos porcentajes dentro de la formulación. Todas las matrices realizadas se prepararon en mezclas de 5 g totales de película.

Los excipientes y el principio activo se pesaron en balanza analítica. Los Eudragits se disolvieron en vasos de precipitados de 100 mL con 7 mL de acetona como disolvente y se agitó manualmente con agitador de vidrio hasta que se disolvieron, posteriormente ya disueltos los Eudragits se incorporó el citroflex para hacer una sola mezcla y se agitó durante 10 minutos; por otra parte la PVP se disolvió en un vaso de precipitados de 50 mL con una mezcla de 2 mL de etanol-2 mL de agua destilada.

En otro vaso de precipitados de 50 mL se disolvió el alcanfor y mentol con 2 mL de etanol, ya disueltos se adicionó 1.5 mL de equinácea y se mezclaron. A esta mezcla se le adicionó la PVP disuelta para así formar otra mezcla.

El alcanfor, mentol, PVP y equinácea ya en solución se adicionaron al vaso que contenía el polímero disuelto con el plastificante y se agitaron manualmente por un lapso de 5 minutos.

Esta mezcla se vertió sobre una base de polipapel de 10 x 9 cm, la cual se encontraba marcada con una cuadrícula de 1 x 1 cm por la parte inferior a la que se vació la mezcla; después se colocó en una plataforma plana totalmente nivelada. Una vez vertido se dejó evaporar a temperatura ambiente por 24 horas.

De todas las matrices poliméricas resultantes se eligieron solo 4 de ellas para realizar los estudios preliminares de liberación del principio activo.

D. DESARROLLO Y VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Se utilizó en este estudio un método analítico espectrofotométrico el cual es sustentado por el hecho de que nuestro principio activo es un compuesto orgánico cromóforo y por lo tanto es capaz de absorber energía en la región UV, comprobándose con los espectrogramas que se obtuvieron del principio activo. (**figura 14**).

El desarrollo del método analítico se llevó a cabo realizando una serie de barridos del principio activo en la región UV-Visible, en un análisis de 1ª derivada, el cual definió con un máximo a 270 nm.

1. Preparación de la Curva Estándar.

Se pesaron exactamente 2 mL de tintura de equinácea, los cuales se colocaron y aforaron en un matraz volumétrico de 100 mL, posteriormente con una bureta se tomaron alícuotas de 0.5 mL; 1 mL; 2 mL; 3 mL y 4 mL, las cuales se colocaron en matraces volumétricos de 10 mL y se aforaron. Todos los aforos se efectuaron con agua destilada.

E. PRUEBA DE LIBERACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO

El estudio de liberación *in vitro* se realizó usando un método de celdas modificadas de Franz (**figura 13**), realizándose por triplicado para cada una de las 4 formulaciones propuestas; procediéndose de la siguiente manera:



FIG. 13: APARATO PARA ESTUDIO DE LIBERACIÓN

Para cada disolución se uso agua destilada como medio de disolución

Se cortó una porción de parche (4 cm^2) y se adhirió en la parte inferior de la tapa de la celda de Franz, para que estuviera en contacto con el medio de disolución. El contenido de las celdas fue de 90 mL de agua destilada; la velocidad de agitación fue de 60 rpm dada por una barra magnética que era controlada por una placa de agitación y calentamiento; mientras que la temperatura se mantuvo constante en un rango de $32 \text{ }^\circ\text{C} \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$.

El volumen de las alícuotas tomadas fue de 3 mL con reposición de volumen y el tiempo de muestreo fue de cada 15 minutos durante la primera hora, después cada 30 minutos por la siguiente hora y finalmente cada 60 minutos por cinco horas más, dando un tiempo total de muestreo de siete horas.

Para el análisis de las muestras fue llevado por el método analítico propuesto y validado con anterioridad.

VIII. RESULTADOS

TABLA 3. COMPONENTES DE LA FORMULACIÓN.

Componente	Función
Eudragit RS 100	Polímero
Eudragit RL 100	Polímero
Polivinilpirrolidona	Formador de película
Citroflex	Plastificante
Equinácea	Principio activo
Mentol	Mejorador de absorción
Alcanfor	Aromatizante

TABLA 4. CONTROL DE CALIDAD DE TINTURA DE EQUINÁCEA.

Determinación	Especificación	Resultado
1. Descripción Aspecto Color Olor	Extracto líquido o tintura que posee 30 % de contenido hidroalcohólico con color verde claro a amarillento con olor y sabor característico. La tintura posee un color ámbar rojizo ligeramente turbio y con sabor característico.	Líquido ligeramente turbio con olor y sabor característico, presenta un color ámbar rojizo.
2. Ensayos de identidad a) Identificación del perfil por Cromatografía en Capa Fina	Positiva	Positiva
3. Solubilidad	Solubilidad en acetona Solubilidad en agua Solubilidad en metanol Solubilidad en etanol Solubilidad en acetato de etilo Solubilidad en Hexano Solubilidad en cloroformo	Soluble Fácilmente soluble Soluble Soluble Soluble Muy ligeramente soluble Muy ligeramente soluble

4. Densidad (20° C)	0.895 – 1.020	0.976
5. pH (20° C)	5.5 – 6.5	6.1
6. Índice de refracción	1.3365 – 1.3540	1.3447
7. Presencia de <i>E.coli</i> , <i>Salmonella</i> sp; <i>Staphylococcus</i> sp.	Negativo	Negativo
8. Cuenta total de hongos y levaduras	Máximo 100 UFC/g	Conforme
9. Cuenta total de mesófilos aerobios	100 UFC/g	Conforme
10. Microorganismos patógenos	Ausencia	Conforme

TABLA 5. RESULTADOS OBTENIDOS DE Rf Y OBSERVACIÓN VISUAL EN EL ENSAYO DE COMPATIBILIDAD ENTRE EL PRINCIPIO ACTIVO, POLÍMEROS Y CON EL PLASTIFICANTE PROPUESTOS

Muestra	Condición 20° C	Condición de 40 ° C	Condición de 60 ° C	Condición de 75 % HR a 60 ° C	Observación visual
Equinácea	0.56	0.55	0.56	0.57	—
Equinácea + Eudragit RL 100	0.57	0.58	0.55	0.56	—
Equinácea + Eudragit RS 100	0.55	0.56	0.56	0.76	*
Equinácea + PVP	0.56	0.57	0.55	0.58	—
Equinácea + Citroflex	0.55	0.55	0.58	0.57	—
Equinácea + Mentol	0.56	0.58	0.57	0.56	*
Equinácea + Alcanfor	0.55	0.57	0.56	0.78	*

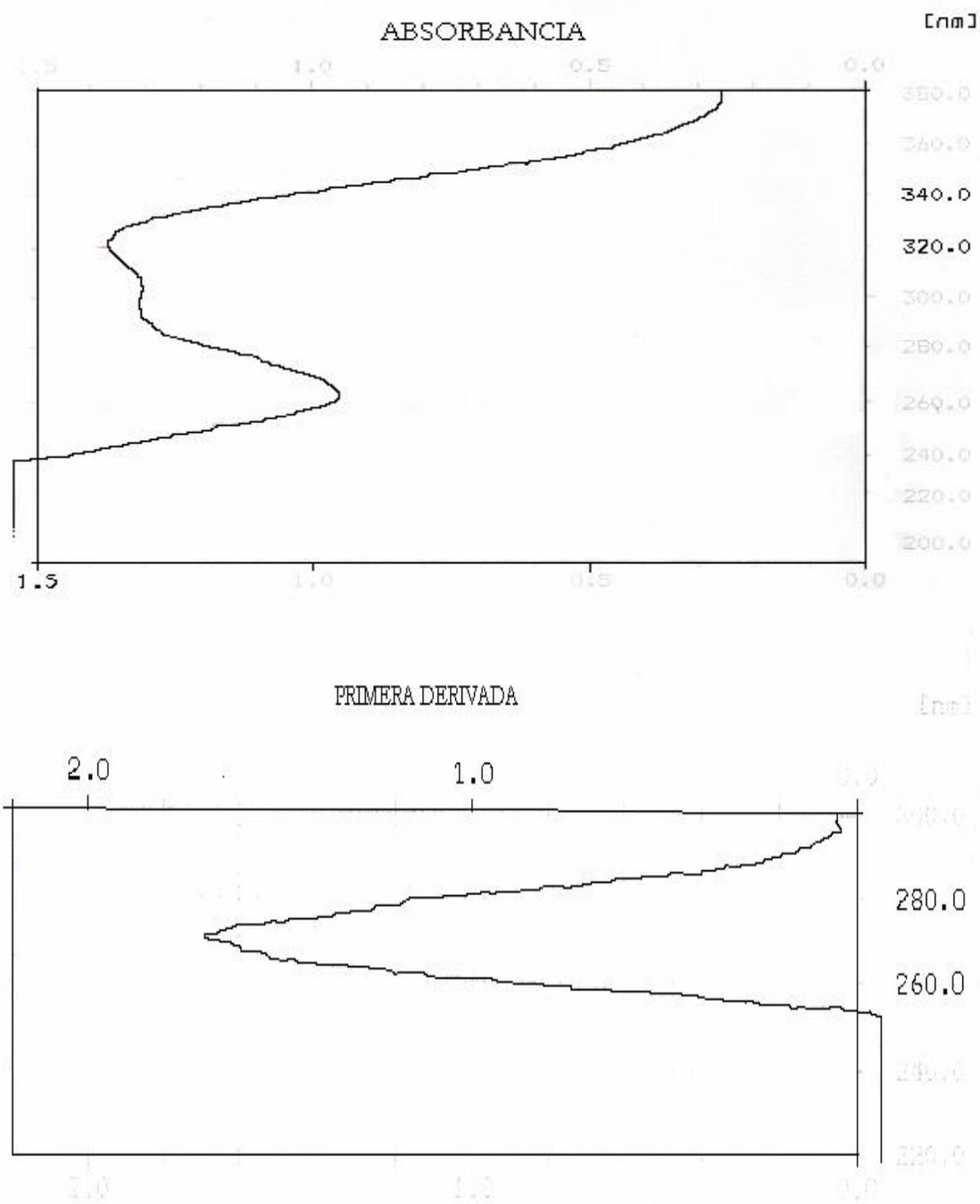
— No hay cambio físico

* Hay cambio físico

TABLA 6. PROPUESTAS DE FORMULACIÓN							
	Eudragit RL 100	Eudragit RS 100	PVP	Citroflex	Mentol	Alcanfor	Equinácea
Formulación 1	35 %	6%	14%	15%	1 %	3 %	26 %
Formulación 2	30 %	4 %	15 %	21 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 3	35 %	-----	20 %	15 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 4	30 %	-----	25 %	15 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 5	35 %	5 %	20 %	10 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 6	30 %	5 %	15 %	20 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 7	35 %	5 %	10 %	20 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 8	30 %	5 %	20 %	15 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 9	35 %	-----	15 %	20 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 10	30 %	-----	15 %	25 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 11	30 %	4 %	10 %	24 %	1 %	3 %	26 %
Formulación 12	35 %	6 %	15 %	14 %	1 %	3 %	26 %

TABLA 7. EVALUACIÓN DE LAS FORMULACIONES				
Formulación	Apariencia	Color	Adhesividad	Variación de peso $\bar{x} \pm \sigma$
1	Heterogénea, presenta grumos y es opaca.	Normal	Baja	0.975 ± 0.0351
2	Heterogénea, opaca, presenta grumos grandes.	Ligeramente desagradable	Baja	1.002 ± 0.0232
3	Heterogénea, presenta grumos muy grandes y burbujas.	Desagradable	Media	0.956 ± 0.0145
4	BUENA	BUENA	Media	1.026 ± 0.0153
5	BUENA	BUENA	Media	0.956 ± 0.0725
6	Homogénea, opaca con capa ligeramente blanquecina y presenta pequeños grumos.	Agradable	Media	0.936 ± 0.0645
7	BUENA	BUENA	BAJA	1.035 ± 0.0234
8	Heterogénea, presenta grumos y burbujas.	Ligeramente desagradable	ALTA	1.032 ± 0.0229
9	Homogénea, opaca con capa blanquecina y presenta pequeños grumos.	Desagradable	Media	
10	BUENA	BUENA	ALTA	0.926 ± 0.0073
11	Heterogénea, opaca y presenta grumos.	Normal	ALTA	0.963 ± 0.0151
12	BUENA	BUENA	ALTA	0.937 ± 0.0144

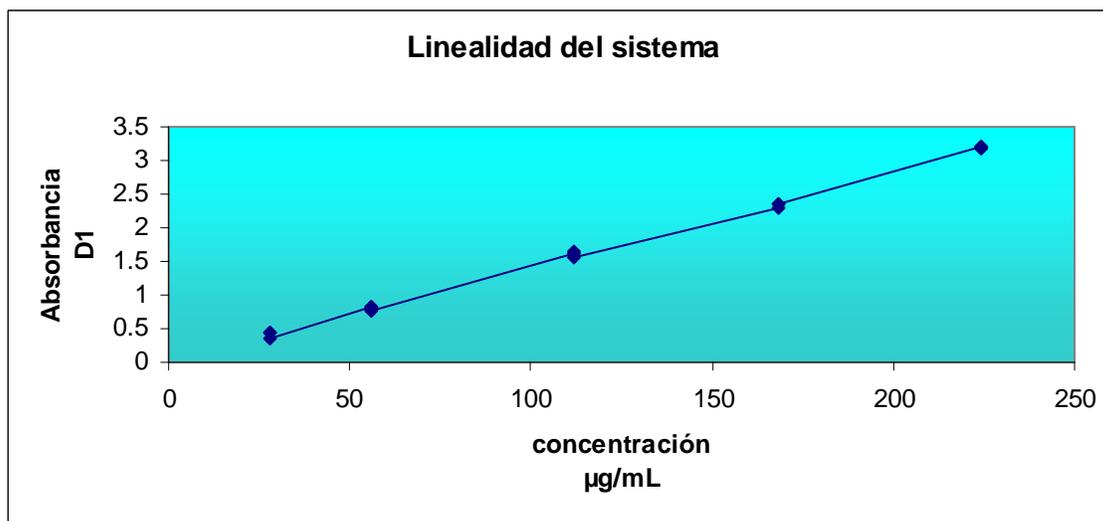
FIGURA 14. ESPECTROS DE ABSORCIÓN Y DE PRIMERA DERIVADA.



A. Linealidad del sistema

TABLA 8. ABSORBANCIA EN D1 DE 15 MUESTRAS DE UNA SOLUCIÓN DE EQUINÁCEA		
Muestras	Concentración x (µg/mL)	Resultados y (D1)
1	28.02	0.437
2	28.02	0.445
3	28.02	0.348
4	56.04	0.821
5	56.04	0.831
6	56.04	0.755
7	112.08	1.631
8	112.08	1.64
9	112.08	1.545
10	168.12	2.305
11	168.12	2.351
12	168.12	2.339
13	224.16	3.217
14	224.16	3.215
15	224.16	3.181

Grafica 1. Curva estándar de equinácea donde se representa la absorbancia D1 en función de diferentes concentraciones



m 0.014118037
 b 0.00926626
 r² 0.998189543
 % CV **0.03938569**

B. Precisión del sistema

TABLA 9. ABSORBANCIAS OBTENIDAS DE SEIS MUESTRAS DE UNA SOLUCIÓN TOMADA AL 100 %	
Muestra	D1
1	1.703
2	1.725
3	1.706
4	1.744
5	1.733
6	1.714

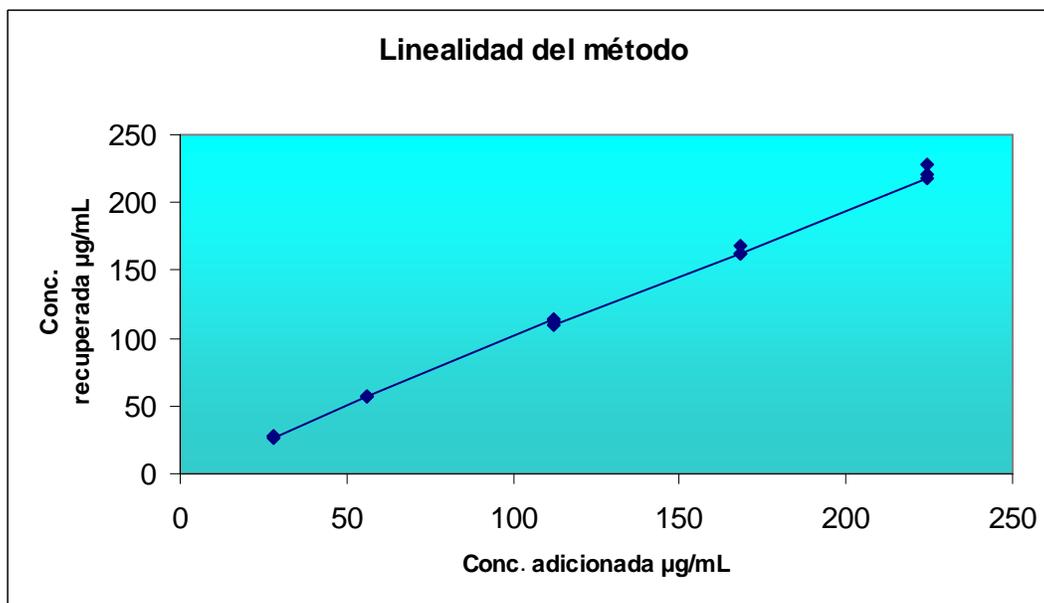
Promedio = 1.72083333
 DE = 0.01604265
 CV = 0.93226062

C. Linealidad del método

TABLA 10. LECTURAS DE CONCENTRACIÓN OBTENIDAS PARA LINEALIDAD DEL MÉTODO			
Solución	D1	Conc. ad. x (µg/mL)	Conc. Rec. y (µg/mL)
1	0.383	28.02	27.3418
2	0.394	28.02	28.1271
3	0.373	28.02	26.6279
4	0.808	56.04	57.6819
5	0.803	56.04	57.3250
6	0.799	56.04	57.0394
7	1.604	112.08	114.5072
8	1.584	112.08	113.0794
9	1.541	112.08	110.0097
10	2.265	168.12	161.6950
11	2.345	168.12	167.4061
12	2.263	168.12	161.5523
13	3.058	224.16	218.3061
14	3.192	224.16	227.8722
15	3.083	224.16	220.0909

m 0.9815391
 b 1.06601911
 r² 0.999875
 % CV **2.62188505**

Grafica 2. Curva estándar de equinácea donde se representa la absorbancia D1 en función de diferentes concentraciones.



D. Precisión y Exactitud

TABLA 11. % DE RECOBRO OBTENIDO DE PRECISIÓN Y EXACTITUD DEL MÉTODO

Solución	D1	Conc.. Adic. (µg/mL)	Conc. Rec. (µg/mL)	%recobro Y
1	1.579	112.08	112.7225	100.5732
2	1.661	112.08	118.5764	105.7962
3	1.576	112.08	112.5083	100.3822
4	1.571	112.08	112.1514	100.0637
5	1.569	112.08	112.0086	99.9363
6	1.569	112.08	112.0086	99.9363

Desvest 2.3077
 % CV 2.2823
 IC 98.69282 < 100 < 103.5364

E. Estabilidad de la Muestra

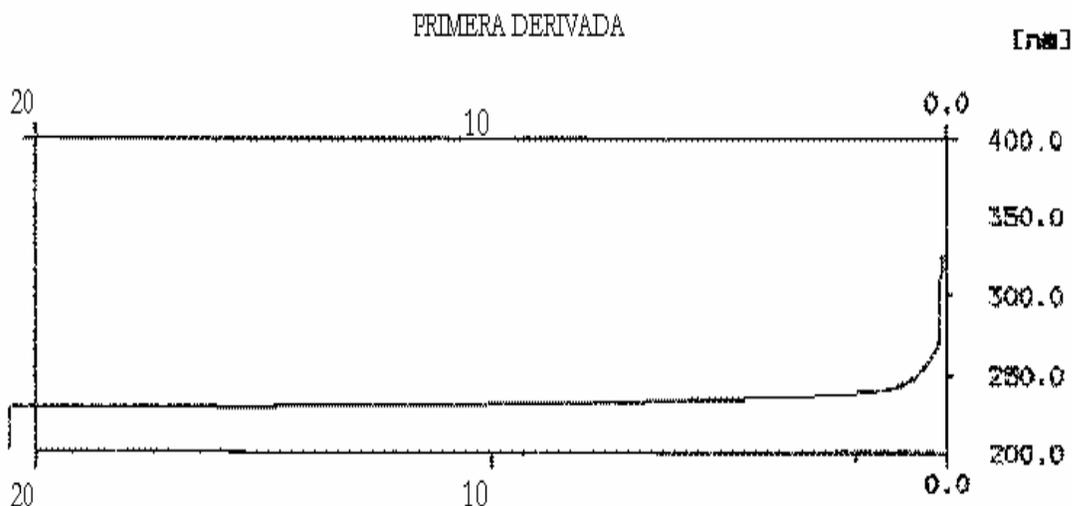
TABLA 12. ABSORBANCIAS EN 1ª DERIVADA OBTENIDAS PARA MUESTRAS SOMETIDAS A ESTABILIDAD						
Muestra	t0	t1	T2	t3	t4	t5
1	1.732	1.699	1.667	1.667	1.673	
2	1.73	1.715	1.683	1.684	1.646	
3	1.734	1.727	1.678	1.666	1.665	
Estándar	1.737	1.736	1.691	1.7	1.692	1.695

TABLA 13. PORCENTAJE DE RECOBRO EN MUESTRAS DE EQUINÁCEA SOMETIDAS ESTABILIDAD						
	Inicial	1 h	2 h	4 h	8 h	24 h
	y0	Y1	Y2	y3	y4	y5
1	99.7121	97.8886	98.5807	98.0588	98.8770	-----
2	99.5970	98.7903	99.5269	98.5673	97.2813	-----
3	99.8200	99.4815	99.2312	98.0000	98.4042	-----

TABLA 14. INTERVALOS DE CONFIANZA PARA MUESTRAS DE EQUINÁCEA SOMETIDAS A ESTABILIDAD		
Condición	IC	Conclusión
Temperatura ambiente 1 hora, protegida	-2.84991566 a 1.096449	Si es estable
Temperatura ambiente 2 horas, protegida	-1.9123524 a 2.47228574	Si es estable
Temperatura ambiente 4 horas, protegida	-2.07227298 a 0.26380632	Si es estable
Temperatura ambiente 8 horas, protegida	-1.79998891 a 1.75758891	Si es estable

F. Especificidad del Método

Gráfica 3. Tintura de equinácea sola en agua y gráfica de placebo en agua



G. Liberación del Principio Activo

TABLA 15. % LIBERADO DE LAS FORMULACIONES A PRUEBA				
	Promedio	Promedio	Promedio	Promedio
X	Formulación 10	Formulación 11	Formulación 12	Formulación 8
Horas	% Liberado	% Liberado	% Liberado	% Liberado
0.16	21.6278	10.8939	5.1692	4.9749
0.25	38.6477	19.4488	10.6641	14.3317
0.5	40.5599	20.5300	13.6516	36.2005
1	41.9533	21.4766	13.7408	37.9224
1.5	43.7188	22.6094	12.9554	38.7532
2	44.9421	23.4711	12.5757	39.5415
3	48.4975	25.7488	12.7363	40.4101
4	53.8566	28.9283	13.0794	39.6334
5	56.1743	30.5871	12.1679	31.2998
6	59.0490	32.5245	12.9676	31.5767
6.5	61.9521	34.2261	11.5841	28.6062
7	60.6534	33.8267	11.1131	29.0659

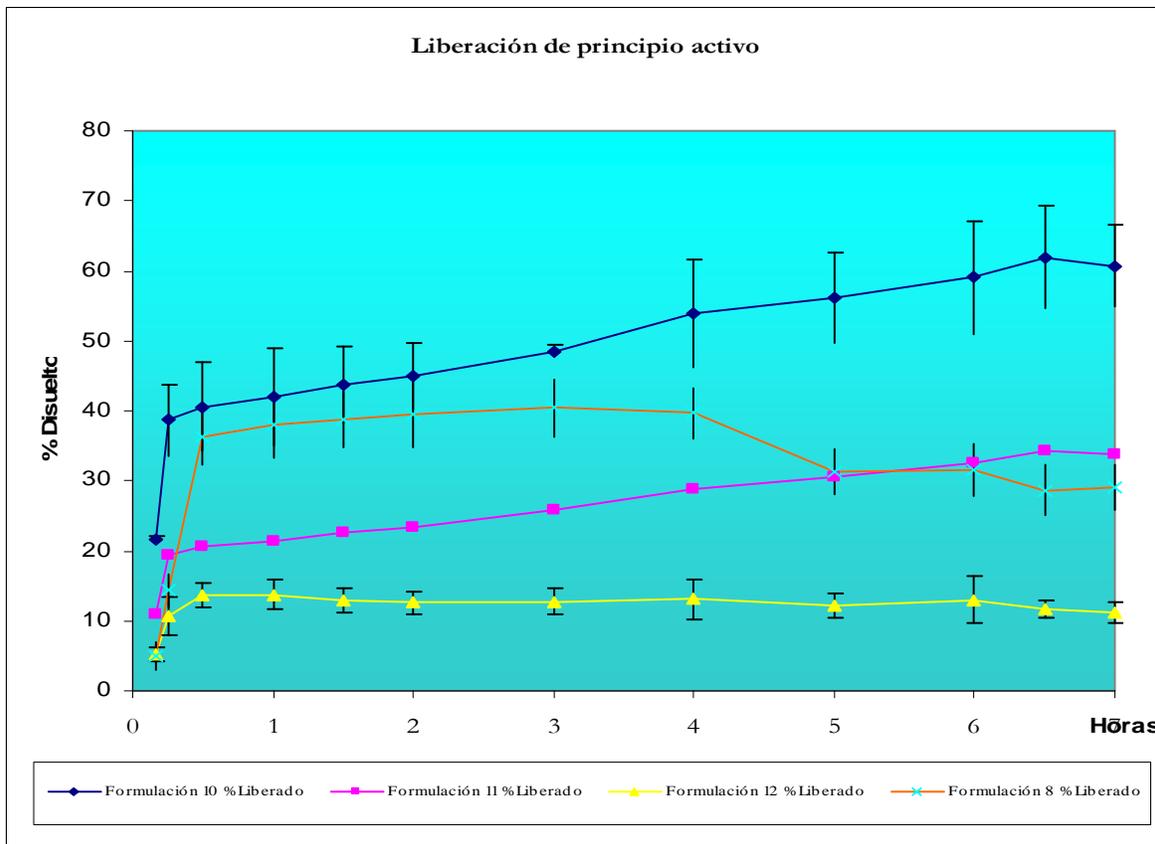


TABLA 16. RESULTADOS DE VISCOSIDAD

Formulación	pH superficie	Viscosidad ¹
8	7.0	1000 cpoises
10	7.0	800 cpoises
11	7.0	1100 cpoises
12	7.0	1500 cpoises

¹ Viscosímetro Brookfield modelo LV aguja No. 64 a 30 rpm

IX. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Los excipientes seleccionados para la formulación fueron elegidos por sus características de polímeros liberadores de fármaco, formador de películas, plastificante, mejorador de absorción y aromatizantes, todos excipientes mínimos necesarios para una formulación de parche transdérmico. El control de calidad del principio activo (tintura de equinácea) fue realizado por los laboratorios Mixim. Las pruebas a las que se sometió el activo y sus resultados se presentan en el certificado de análisis que fue proporcionado por el mismo laboratorio, el cual se reporta en la tabla 4, el control de calidad es de suma importancia porque con estas condiciones de análisis del principio activo tiene las características para ser usado en la formulación. A este estudio se le anexo la prueba de solubilidad como un indicativo para posteriores análisis a realizar.

El estudio de compatibilidad fármaco-excipiente fue realizado en proporción 1:1 de equinácea (sustancia activa) y cada uno de los excipientes enlistados en la tabla 3. El estudio se llevo a cabo a temperaturas de 20 °C, 30 °C, 60 °C y 60°C 75% humedad relativa durante 30 días donde se observó físicamente el comportamiento entre el ingrediente activo (tintura de equinácea) y los excipientes (tabla 5), además de evaluarse también su comportamiento por CCF donde el cambio de Rf del componente activo se tomo como referencia a la interacción fármaco-excipiente. Ningún efecto físico o cambio en el Rf de equinácea fue observado durante el lapso que duro el estudio; a 20°C, 30°C y 60°C sugiriendo que no existe interacción entre los componentes bajo estas condiciones, sin embargo, a condiciones extremas de 60°C con 75% HR se evidencio la incompatibilidad del principio activo con Eudragit RS100 y alcanfor, al observarse un cambio de coloración de los componentes, y al ser monitoreados por cromatografía en capa fina (tabla 5), se observó una sola señal muy densa en la placa cromatográfica que no permitía distinguir la

separación entre el activo y los excipientes mencionados (Eudragit RS100 y alcanfor).

Con base al estudio de compatibilidad se propusieron las formulaciones enlistadas en la tabla 6. No obstante Eudragit RL 100, mentol y alcanfor presentaron incompatibilidad con el activo, estos ingredientes están dentro de las formulaciones propuestas debido a que se considero que la incompatibilidad se presento solamente en condiciones extremas y además para el caso del mentol y alcanfor la proporción dentro de estos en la formulación propuesta son mucho menores que la evaluada en el estudio de compatibilidad. Para todas las formulaciones propuestas el principio activo, el mejorador de absorción y el aromatizante se mantuvieron constantes, mientras que los polímeros y el plastificante variaron en su porcentaje presente.

En este estudio los metacrilatos Eudragit RL100 y Eudragit RS100 usados como matrices fueron seleccionados por sus características de formar películas poliméricas adecuadas para parches transdérmicos¹⁰⁸. Eudragit RL100 forma películas altamente permeables pero con una acción de demora a la liberación de activos, en contraste Eudragit RS100 el cual es poco permeable y provee liberación rápida para los activos ¹⁰⁸. También estos polímeros son independientes de pH de tal modo que no se ven afectados por el pH de la piel¹⁰⁰. Por estos antecedentes en las formulaciones propuestas para obtener un parche transdérmico de liberación prolongada se propuso en algunos casos la combinación de los dos polímeros en diferentes proporciones y en otras propuestas de formulación contenían solo Eudragit RL100.

La polivinilpirrolidona (PVP) además de su baja toxicidad se reporta con características variables ya que en varios casos se utiliza como un formador de películas y en otros lo reportan como un ingrediente que mejorara la absorción del principio activo ¹⁰⁹ o como un vehículo factible para solubilizar fármacos poco solubles en agua cuando estén en solución ¹⁰⁹. Todas

nuestras formulaciones propuestas tuvieron PVP en diferentes proporciones con la finalidad de obtener formulaciones con apariencia homogénea debido al hecho de que nuestra sustancia activa se presenta como tintura de equinácea y fue mejor distribuida dentro de la mezcla PVP-etanol-agua.

Citroflex es otro excipiente usado en las formulaciones; un plastificante que regularmente se usa en películas poliméricas para parches transdérmicos, en formulaciones con Eudragit RL100 y RS100 se ha reportado su uso como plastificante para obtener películas con una flexibilidad adecuada¹¹⁰. Se recomienda que el porcentaje usado sea del 10 al 20% en dispersiones de polímeros Eudragit¹¹⁰, en nuestro estudio el citroflex fue incorporado en las formulaciones en un porcentaje del 10 al 25% donde además de plastificante en el proceso de fabricación este excipiente también fue usado como coadyuvante para la incorporación de los Eudragits en el momento de la formulación

Las 12 formulaciones propuestas presentaron características físicas muy semejantes, todas ellas físicamente fueron parches de película homogénea, sin grumos, color homogéneo y grosor semejante (tabla 7), sin embargo, solo 4 formulaciones (8,10,11 y 12) cumplieron con el criterio de adhesividad requerido, es decir el parche propuesto se adhirió a la piel y se mantuvo en esta al menos 2 días, resultado que no contradice el hecho que el citroflex proporciona a la formulación la característica de adhesividad requerida para esta forma farmacéutica; dado que de las cuatro formulaciones con adhesividad adecuada contenían mayor proporción de citroflex.

En función de los resultados obtenidos solo a las formulaciones 8, 10,11 y 12 se les realizó la prueba de disolución.

DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE MÉTODO

Para que un método analítico sea cuantificable se tienen que evaluar los parámetros que permitan establecer si la técnica es la apropiada para el análisis del principio activo y demostrar su validez de la misma.

Cuando se inicia el desarrollo de un nuevo método analítico se requiere de parámetros que permitan la selección de la técnica más apropiada para el análisis de un compuesto determinado, así como de la confiabilidad de la misma. En este estudio, el método de cuantificación del ingrediente activo se torna interesante dado que, la equinácea además de ser una sustancia de origen natural (constituida no solamente por un componente) tiene la presentación de una tintura; y debía cuantificarse en un rango amplio de concentraciones, por que el método sería aplicado para la descripción de los perfiles de liberación de la equinácea en la formulación de parche transdérmico. El método desarrollado fue por espectroscopia ultravioleta, usando la primera derivada.

La espectroscopia derivativa es una herramienta excelente para reducir o eliminar las fuentes de error que puede causar alguna interferencia ya sea causada por los excipientes o bien por los disolventes usados en una muestra dada, ya que estos pueden exhibir una relación directamente proporcional en la longitud de onda con la forma general. Estas interferencias se eliminan en mayor medida aplicando una derivada más alta.¹⁰⁷

El uso de la primera derivada se debe a que la campana que se forma de la lectura de absorbancia no tiene un máximo específico en la longitud de onda que tiene el principio activo por si solo. En el caso de nuestro parche las lecturas de absorbancia atribuida al activo forman una meseta poco específica, por lo que la aplicación de la primera derivada redujo la amplitud de la banda, definiendo mejor el pico de absorción en la de primera derivada

(figura 14), resultando para nuestro método mayor resolución y una reducción de las interferencias causadas por los componentes de la muestra (componentes de la Formulación y/o disolventes).

Los resultados que se obtienen por medio de un método analítico se encuentran influidos por diferentes factores como son: método de análisis, compuesto a analizar, forma farmacéutica y/o matriz donde se localiza el compuesto, niveles de concentración, analistas, entre otros. La validación tiene por objeto evaluar la influencia de todas estas variables y determinar la capacidad del método para medir una propiedad física o química de la muestra en estudio y así poder emitir un juicio para decidir si el método puede o no ser aplicado a una situación particular.

SISTEMA

Para el método analítico desarrollado en el sistema, los resultados obtenidos tienen una tendencia lineal debido a que en la medida en que aumenta la concentración aumenta la respuesta en primera derivada (grafica 1), resultado congruente con el coeficiente de determinación obtenido ($r^2 = 0.99818$) dentro del rango de 28 a 225 $\mu\text{g/mL}$ de tintura de equinácea; los valores de r y coeficiente de variación están dentro de los criterios de aceptación. La variación de la respuesta en primera derivada en términos del por ciento del coeficiente de variación para una sola concentración fue de 0.93% lo que expone la precisión del sistema en nuestro método.

METODO

Al graficar % adicionado vs % recuperado se obtuvo un grafico lineal (**grafica 2**) que indica que el procedimiento de procesamiento de muestra hasta su análisis no afecta la cuantificación de la equinácea ya que el %

recuperado fue directamente proporcional a % adicionado con un coeficiente de variación menor al 3% dentro del rango de concentraciones estudiada (28 a 225 µg/mL), la precisión del método en términos de precisión intra día e interdías fue adecuada al obtenerse coeficientes de variación menores al 3% en ambos casos.

Linealidad del método. En esta prueba los datos presentan una variabilidad significativa entre valores de concentración recuperada que se ven reflejados en los resultados estadísticos al observarse una ordenada al origen diferente de cero; aunque en la gráfica de fármaco recuperado contra el adicionado no se percibe esta variación entre valores, sino una tendencia linealidad aceptable, lo cual nos hace pensar que al no haber una desviación notable, el método trabaja adecuadamente y es apropiado para estas muestras, en la cual la cantidad adicionada y la recuperada siguen una tendencia directamente proporcional. Pero al trabajar los resultados matemáticamente nos damos cuenta que se presenta una variación notable y se confirma que el intervalo del promedio de recobro nos puede predecir un coeficiente de variación, como fue en nuestro caso, que estuvo muy cercano al 3 % que es el límite para estos métodos, pero que al no rebasar este parámetro se puede decir que se acepta.

Exactitud del método. La exactitud del método evaluada en el nivel de concentración central, se consideró dentro del criterio de aceptación (98 al 102% de recuperado), al encontrarse los resultados dentro del criterio indicando que el % recuperado no se aleja del valor de referencia establecido.

Estabilidad de la muestra. Se debe asegurar la integridad de la sustancia de interés desde la toma de muestra hasta su análisis final, por lo tanto la estabilidad de la muestra es la propiedad de ésta para que una vez preparada para su cuantificación conserve su integridad fisicoquímica hasta el momento de su análisis y/o después de almacenarse un determinado

tiempo, en este estudio la estabilidad de la muestra preparada para su análisis fue evaluada a través de la comparación del % recuperado inicial de la muestra y el % recuperado de la misma después de 1, 2, 4, 8 y 24 horas a temperatura ambiente y resguardadas de luz, dado que la equinácea es sensible a la luz.

Los resultados de las diferentes muestras sometidas a la temperatura ambiente, muestran que en un lapso de 8 horas, en comparación con los iniciales no excede del 3 %, con lo que se puede determinar que el principio activo mantiene sus propiedades fisicoquímicas y con esto estar seguros que durante 8 horas al realizar el análisis no tendremos ningún problema referente al principio activo, posterior a este tiempo la muestra no es confiable para su análisis ya que no se obtiene una respuesta de primera derivada (tabla 14) en el análisis.

Los resultados de la validación tanto del método como del sistema se mantienen dentro de los criterios establecidos, por lo tanto se puede decir que el método es el indicado para la detección del activo que se pretende cuantificar.

PRUEBA DE LIBERACIÓN POR FORMULACIÓN

La prueba de disolución es una prueba que se basa en la determinación cuantitativa del principio activo, que se encuentra en solución después de un determinado tiempo de agitación de la forma farmacéutica en un medio de disolución adecuado.

La prueba de disolución es importante, no solo por que es empleada como una herramienta de control de calidad, sino también como parámetro importante durante el desarrollo de formas farmacéuticas transdérmicas, así como también para conocer la variabilidad entre productos de diferentes fabricantes.

El por ciento liberado *in vitro* en las formulaciones estudiadas (formulaciones 10,11,12 y 8) y su representación gráfica se presenta en la gráfica 3, además de sus diferencias porcentuales. En las cuatro formulaciones, se tomó como base de parche a dos polímeros, Eudragit RS100 y Eudragit RL100. Para una formulación de liberación prolongada el % liberado con respecto al tiempo deberá ser tal, que dependiendo de las características de la formulación en la primera hora, el % liberado del principio activo debe ser menor al 15% con respecto a una formulación de liberación inmediata; para que en las siguientes horas el % liberado continúe incrementándose paulatinamente y que se alcance generalmente un 80% de liberación hasta el tiempo límite establecido para la formulación (al menos 8 horas).

En las formulaciones sometidas al estudio de disolución durante la primera hora de liberación, la formulación 12 liberó 13% del activo; la formulación 8 liberó 37%, la formulación 11 liberó 21% y la formulación 10 liberó 41%; en función a lo anterior, la formulación 12 presuponía una liberación adecuada para una formulación de liberación prolongada al liberar una pequeña cantidad de activo, condición que se requiere en una formulación de liberación prolongada; sin embargo conforme transcurría el tiempo no fue así, como se puede observar en el gráfico 3, donde se ve que el porcentaje liberado se mantiene sin ninguna variación en todo el tiempo de disolución, teniendo como máximo 14% liberado del activo hasta el tiempo de 7 horas. El comportamiento del por ciento liberado con respecto al tiempo en esta formulación puede explicarse por el criterio de que esta formulación contenía mayor cantidad de polímero base Eudragit RS100 comparado con las otras tres formulaciones; lo que pudo provocar este comportamiento ya que al contener en mayor cantidad Eudragit RS100, disminuyó el efecto de Eudragit RL100 y se hinchó menos e hizo poco permeable la película a la equinácea dado que como lo refiere Eudragit RS100 contiene un número reducido de grupos de amonio cuaternario

que determina la facultad de hinchamiento y permeabilidad de las películas al ingrediente activo¹¹².

Esto es congruente con las formulaciones que contienen este polímero en menor cantidad que la formulación 12 (8 y 11) donde se observa una mayor liberación de la sustancia activa en la primera hora de estudio.

En los perfiles *in vitro* de liberación se observa que pareciera que un aumento hasta del 6 % de Eudragit RS100 en peso de la formulación diera lugar a una disminución del % de liberación de equinácea. Por ejemplo, el porcentaje de equinácea liberado en la formulación 12 que contiene la mayor cantidad de Eudragit RS100 y mayor cantidad de Eudragit RL100, después de la segunda hora se mantuvo constante, mientras que los porcentajes liberados de equinácea de las formulaciones 8, 11 y 10 tuvieron un incremento en ese lapso de tiempo a medida que disminuía la concentración de Eudragit RS100 respectivamente, indicando el efecto que tiene ese polímero en la disminución de la liberación. Sumado a esto la PVP también jugó un papel importante en la liberación; la variación de porcentaje usado (15% a 20%) en las formulaciones; pudo estar compensando el efecto que tiene el Eudragit RS100 en la velocidad de liberación.

Es probable que la equinácea tuviera una menor permeabilidad cuando en la formulación se tiene la mezcla de los dos polímeros, resultando una disminución sensible en la liberación de la misma. Además el efecto de retardo en la liberación en la formulación 12 podría ser debido a la viscosidad ¹¹¹ que presenta esta formulación que estaba incrementada por la adición de Eudragit RS100 conduciendo a una reducción en la liberación. En otras palabras la viscosidad de Eudragit RL100-Eudragit RS100-PVP en la formulación 12 es mayor que la presentada en la formulación 10 (tabla 16).

Por otra parte con la adición del plastificante citroflex se esperaba que la liberación fuera constante y que este mejorara la liberación conforme transcurría el tiempo a modo de esperar un porcentaje liberado en cada parche mayor al 50% pasada la sexta hora, pero este efecto fue opacado por el Eudragit RS100 ya que en la formulación 11 que tenía el mayor porcentaje de plastificante no se obtuvo una mayor liberación. Por lo cual básicamente la adición del plastificante en nuestras formulaciones tuvo la función únicamente de darle flexibilidad y adherencia al parche.

Las formulaciones 8 y 11 dieron un máximo de no más del 50 % de principio activo liberado a la 3^a hora y 4^a hora respectivamente, liberación que se mantuvo casi constante hasta el término del estudio (7 horas). En función al máximo por ciento liberado de activo para estas formulaciones (8 y 11) se consideraron no factibles para una formulación de liberación no inmediata; es decir que las dos formulaciones ya no tuvieron liberación desde antes de la mitad de tiempo que llevo la disolución a excepción de la formulación 10 que tuvo un incremento constante y que a la séptima hora liberación ya no se produjo más.

La liberación de los parches tuvo un máximo de 70% de principio activo aproximadamente, en las 6 horas con 30 minutos y fue dada por la formulación 10. Los porcentajes de equinácea liberada en esta formulación revelaron un nivel típico de una formulación de liberación no inmediata con la capacidad de mantener los niveles de liberación adecuados para el parche durante un lapso de tiempo en al menos casi 7 horas, observándose una fase inicial algo rápida y una fase terminal más lenta de liberación. La fase inicial es más rápida en la formulación 10 por el efecto que se produjo al eliminar un polímero (RS100), causando una mejor permeabilidad del principio activo en la película, dando como resultado un aumento en la liberación.

Por lo tanto la formulación que contenía Eudragit RL100 como base, demostró tener mejor velocidad de liberación para una formulación de liberación no inmediata como era nuestro objetivo atribuyendo este comportamiento al predominio de una naturaleza hidrofílica (proporcionada por el Eudragit RL100) la cual lo hace más altamente permeable en forma suficiente para sugerir que después de 7 h de liberación la equinácea podría liberarse más haya del 70% alcanzado a este tiempo. No obstante durante la primera hora la liberación del activo se encuentra alrededor del 42%.

X. CONCLUSIONES

Se logra obtener una propuesta de formulación para parche transdérmico de equinácea.

Los efectos de la combinación de PVP, Citroflex y Eudragit RS100 en diferentes concentraciones con Eudragit RL100 demuestran que el índice de liberación de principio activo es dependiente de la concentración y tipo de excipiente. La relación directamente proporcional entre la liberación del principio activo y la concentración de PVP-Eudragit RS100 obtenida sugiere que debe ser mayor al 15% de PVP y por debajo del 5% de Eudragit RS100 para que se efectúe una liberación adecuada, manteniendo una concentración de Eudragit RL100 entre el 30 y 35%. El Citroflex tiene un efecto significativo en la liberación cuando se encuentra en los parches, especialmente cuando esta en una concentración mayor al 20% en la formulación total

De acuerdo al estudio del presente trabajo y tomando en cuenta los resultados, la validación del método analítico asegura que el método, los instrumentos, disolventes, reactivos y todo lo usado durante el proceso de ensayo no tuvo una interacción con el principio activo llevando consigo una medición satisfactoria de este. El método analítico desarrollado para la cuantificación de equinácea en la formulación propuesta demostró ser lineal, exacto y repetible; por lo tanto puede ser empleado con un alto grado de confiabilidad en el área de control de calidad para pruebas de rutina.

XI. SUGERENCIAS

- Reproducir la formulación 10 y evaluar el estudio de % de liberación del activo por más de 7 horas.

- Optimizar la formulación 10 para lograr un % de activo liberado menor al 15 % en la primera hora y manteniendo el perfil obtenido después de la primera hora al menos por 12 horas.

- Escalar el tamaño de lote de la formulación para evaluar si el % liberado mantiene el comportamiento obtenido.

- Evaluar la estabilidad de la formulación y su importancia sobre el % liberado del activo.

XII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bhargava HN. Transdermal drug delivery systems. Drug Cos Ind 52 (1984)
2. Chien WY. Drug and the pharmaceutical sciences. Novel drug delivery systems.vol. 50. Second edition. Marcel Dekker INC. New York. 1992, pp 1-41.
3. Chien WY. Drug and the pharmaceutical sciences. Transdermal controlled systemic medications. vol. 31. Marcel Dekker INC. New York. 1987, pp 11-17, 113-125.
4. Chien WY. Development of transdermal drug delivery systems. Drug Dev Ind Pharm 1987; 13:589-651
5. Rosado C, Monteiro RL. Solvent effects in permeation assessed in vivo by skin surface biopsy. J Con Rel 2002; 83: 13-22.
6. Marcotegui F. Boletín de Información Farmacoterapéutica de Navarra 1993, Vol 1 n° 3
7. Monkhouse CD, Hug SA. Transdermal drug delivery, problems and promises. Drug Dev Ind Pharm 1988; 14:183-209.
8. Padua C, Colombo G, Nicoli S, Catellani PL, Máximo G, Santi P. Bioadhesive film for the transdermal delivery of lidocaine: in vitro and in vivo behavior. J Con Rel 2003; 88: 277-285.
9. Aziz K. Transdermal absorption, unique opportunity for constant delivery of nitroglycerin. Drug. Dev Ind Pharm 1983; 9:671-689.
10. Ansel HC. Popovich GN. Pharmaceutical dosage forms and drug delivery systems. 5a. ed. USA: Editorial Lea & Febiger, 1990: 307-246.
11. Baker R. Controlled release of biologically active agents. USA. John Wiley & Sons, 1987:239-245

12. Govil KS. Transdermal drug delivery devices: Fundamentals and applications. USA. Marcel Dekker, 1988. vol 1: 385-419
13. Glen A, González M, Shah VP. y col. Scale-up of adhesive transdermal drug delivery systems. *Pharm Res* 1997; 14(7): 848-852
14. Valenta C, Auner GB. The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58:279-289
15. James W. Mc. Ginit. Drug and the pharmaceutical sciences: Aqueous polymeric coatings pharmaceutical dosage forms. Vol. 36; Marcel Dekker INC. New York. 1989, pp 236-239.
16. Swarbrick JB. Encyclopedia of pharmaceutical technology. Vol. 2. Marcel Dekker. New York. 1990, pp 61-88.
17. Park E, Chang S, Rhee Y, Chi S. Effects of adhesive and permeation enhancers on the skin permeation of captopril. *Drug Dev Ind Pharm* 2001; 27(9): 975-980
18. Wade A, Weller JP. Handbook of pharmaceutical excipients. Second edition. American Pharmaceutical association. 1994
19. Trottet L, Merly C, Mirza M, Hadgraft J, Davis AF. Effects of finite doses of propylenglycol on enhancement of in vitro percutaneous permeation of loperamide hydrochloride. *Int J Pharm* 2004; 274:213-219
20. Mainer M, Kanis A, Soldi V. Characterization and drug-permeation profiles of microporous and dense cellulose acetate membranes: influence of plasticizer and pore forming agent. *Int J Pharm* 2004; 278:99-110
21. Minghetti P, Cilurzo F, Tosi L, Casiraghi A, Montanari L. Design of a new water-soluble pressure-sensitive adhesive for preparation. *AAPS Pharm Sci Tech* 2003; 4(1)

22. Rodríguez Ol. Agentes promotores de la permeación percutánea. Centro de investigación y desarrollo de medicamentos. La Habana Cuba. 1997
23. Okabe H, Takamaya y Nagai T. Percutaneous absorption of ketoprofen from acrylic gel patches containing d-limonene and ethanol as absorption enhancer. *Chem Pharm Bull* 1992; 40(7): 1906-1910
24. Takayma K, Nagai T. Simultaneous optimization for several characteristics concerning percutaneous absorption and skin damage of ketoprofen hydrogels containing d-limonene. *Int J Pharm* 1993; 92:89-95
25. Catz P et. al. Alkyl esters as skin permeation enhancers for indometacin. *Int J Pharm* 1984;55:17-23
26. Turunen MT. Enhanced delivery of 5-fluorouracil through shed snake skin by two new transdermal penetration enhancers. *Int J Pharm* 1983; 92:89-95
27. Shin S, Lee H. Enhanced transdermal delivery of triprolidine from the ethylene-vinyl acetate matrix. *Eur J Pharm Biopharm* 2002; 54:325-328
28. Shina RV, Pal KM. Permeation enhancers for transdermal drug delivery. *Drug Dev Ind Pharm* 2000; 26(11): 1131-1140
29. Ghafourian T, Zandasrar P, Hamishekar H, Nokhodchi A. The effect of penetration enhancers on drug delivery through skin: a QSAR study. *J Con Rel* 2004; 99:113-125
30. Wagner H, Kostka K, Adelhardt W, Schaefer U. Effect of various vehicles on the penetration of flufenamic acid into human skin. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58:121-129
31. Takahashi K, Sakano H, Numata N, Kuroda S, Mizuno N. Effect of fatty acid diesters on permeation of antiinflammatory drug through rat skin. *Drug Dev Int Pharm* 2002; 28(10):1285-1294

32. Shokri J, Dashbolaghi A, Hassan-Zadeh D, Ghafourian T, Barzegar-jalali M. The enhancement effect of surfactants on the penetration of lorazepam through ray skin. *Int J Pharm* 2003; 250: 359-369
33. Conrex Pharmaceutical Coro. Structure activity relationship of permeation enhancers and their possible mechanism. *Pharm Tech Conference*. pp 233-247.
34. Bonina FP, Montenegro L. Effects of some non-toxic penetration enhancers on in vitro heparin skin permeation from gel vehicle. *Int J Pharm* 1994; 111:191-196
35. Missuhito H, Sutoh S, Maibach I. Classification of percutaneous penetration enhancers: a conceptual diagram. *J Pharm Pharmacol* 1990; 42:71-72
36. Annuaikit C, Ikeuchi I, Ogawara K, Higaki K, Kimura T. Skin permeation of propranolol from polymeric film containing terpene enhancers for transdermal use. *Int J Pharm* 2005; 289: 167-178
37. Kevin S, Marjukka ST, Bolikal D, Higuchi I. Structure- activity relationship for chemical skin permeation enhancers: probing the chemical microenvironment of the site of action. Department of pharmaceutical and pharmaceutical chemistry. Utha. 2000
38. Metha R. Topical and transdermal drug delivery: what a pharmacist needs to know. *Pharm Sci Coll Pharm. Arizona*
39. Langer R. Transdermal drug delivery: past progress, current status, and future prospects. *Adv Drug Deliv R* 2004; 56: 557-558.
40. Kattan A, Charles S, Haidar S. Transdermal testing : practical aspects and methods. *PSTT* 3(12)
41. Godman M. Delivery of the drug of transdermal. *Drug Mark Dev* 2004; 6(8)

42. Pongjanyakul T, Prakongpan S, Priprem A. Acrylic matrix type nicotine transdermal patches: in vitro evaluations and batch-to-batch uniformity. *Drug Dev Int Pharm* 2003; 29(8): 843-853
43. Chien WY. Logistics of transdermal controlled drug administration. *Drug Dev Ind Pharm* 1983; 9: 497-520.
44. Good RW. Transder-Nitro: controlled delivery of nitroglycerin via transdermal route. *Drug Dev Ind Pharm* 1983; 9:647
45. 1982 Industrial pharmaceutical R&D symposium on transdermal controlled release medication. Rutgers College of Pharmacy, Piscataway, N.Y, January 14-15. Proceedings published in *Drug Dev Ind Pharm* 1983; 9(4):487
46. Hymes AC, Rolf D. Transdermal delivery of drugs. USA: CRC Press, 1987. vol. 1:157
47. Cho Y-J., Choi H-K. Enhancement of percutaneous absorption of ketoprofen: effect of vehicles and adhesive matrix. *Int J Pharm* 1998; 169:95-104
48. Inoue K, Ogawa K, Suzuki Y. et al. The skin permeation mechanism of ketoprofen: evaluation of permeation pathways and barrier components in the stratum corneum. *Drug Dev Ind Pharm* 2000; 26(1): 45-53
49. Block LH. Medicamentos de aplicación tópica. En: Remington, Farmacia. 20ª edición. Editorial Médica Panamericana; 2000: tomo 1: 970-980.
50. Lachman L, Lieberman AH, Kanig LJ. The theory and practice of industrial pharmacy. 3a. ed. Philadelphia, USA: Lea & Febiger, 1986: 534-544
51. Walters AK. Percutaneous absorption and transdermal therapy. *Pharm Technol* 1986; 10: 30-44

52. Walters AK. Transdermal drug delivery. Penetration enhancers and their use in transdermal therapeutic systems. Marcel Dekker, 1989: 197-233.
53. Waseem AM, Smith E R. Topical drug delivery systems (skin). *Pharmaceutics and pharmacy practice*. Philadelphia, USA: Edit J.B. Lippincott Company, 1982: 283-294.
54. Barr M. Percutaneous Absorption. *J Pharm Sci* 1962; 51:5: 395-409
55. Barry WB. Drug delivery routes in skin: a novel approach. *Adv Drug Deliv Rev* 2002; 54(suppl.1):531-540
56. Hadgraft J. Skin deep. *Eur J Pharm Biopharm* 2004; 58: 291-299
57. Guy RH and Hadgraft J. Advances in drug delivery. Transdermal drug delivery: the ground routes are emerging. *Pharm Int* mayo1985; 112
58. Barry WB. *Dermatological formulations, percutaneous absorption*. New York: Marcel Dekker, 1983
59. Idson B. Percutaneous absorption. *J Pharm Sci* 1975; 64(6): 901
60. Asche H, Botta L, Rettig H, Weirich EG. Influence of formulation factors on the availability of drugs from topical preparations. *Pharm Acta Helv* 1985; 60(8):232-237
61. Parkin NH. Transdermal therapeutic systems (part 2). *Pharm Acta Helv* 1985; 60(2): 34-38
62. Missaghi S, Fassihi R. A novel approach in the assessment of polymeric film formation and film adhesive on different pharmaceutical solid substrates. *AAPS Pharm Sci Tech* 2004; 5(2) Article 29
63. Suwanpipidokkul N, Thongnophua P, Umprayna K. Transdermal delivery of zidovudine (AZT): the effect of vehicles, enhancers and polymer membranes on permeation across cadaver pig skin. *AAPS Pharm Sci Tech* 2004; 5(2) article 48

64. Bissett DL. Anatomy and biochemistry of the skin. In: transdermal delivery of drugs. CRC Press, 1987: vol1: 29-42
65. Mikhail M, Igor M, Alexey L, Hadgraft J. Modeling of percutaneous drug transport in vitro using skin-imitating carbosil membrane. J Cont Rel 1998; 52:25-40
66. Michael H, Hoeck U, Kreilgaard B, Madsen F, Frokjaer S. Evaluation of gottingen minipig skin for transdermal in vitro permeation studies. Eur J Pharm Sci 2000; 11: 59-68
67. Delgado MI, Cucala J, Obach R. Validation of an automated sampling system with Franz difusión cells. Drug Dev Ind Pharm 1994; 20(14): 2267-2283
68. Lewis D, Paulo M, Faustino E. In vitro comparative studies of transdermal nicotine delivery systems. Int J Pharm 1997; 148: 177-189
69. The Pharmacopeia of the United States of America. 23th; Mack Publishers Co. USA, Easton, pp 1791-1798.
70. Reinhard N, Wohlrab W. In vitro methods for the biopharmaceutical evaluation of topical formulations. Acta Pharm Technol 1990; 36(4): 197-206
71. Sanghui P, Collins C. Comparison of diffusion studies of hydrocortisone between the franz cell and the enhancer cell. Drug Dev. Ind. Pharm. 1993; 19(13): 1573-1585
72. Medina AA. Aplicación del método de paleta sobre disco para estudiar la liberación *in vitro* de dos marcas comerciales de una formulación tópica. Tesis de Licenciatura. UNAM, FES ZARAGOZA. pp 4-17. (1997)
73. Csóka I, Csányi E, Zapantis G y col. *In vitro* and *in vivo* percutaneous absorption of topical dosage forms: case studies. Int J Pharm 2005; 291: 11-19

74. Mutalik S, Udupa N. Glibenclamide transdermal patches: pharmacodynamic, and pharmacokinetics evaluations. College of Pharmaceutical Sciences 2003
75. Tojo K. Transdermal controlled systemic medication: Design and calibration of *in vitro* permeation apparatus. USA; Marcel Dekker, Inc. 1987. vol. 31: 127-158.
76. Gregorios G, Parakevas P, Dimitrios M. Development and *in vitro* evaluation of furosemide transdermal formulations using experimental design techniques. Int J Pharm 2004; 281: 35-43
77. Tehrani-Rafiee M, Mehramizi A. *In vitro* release studies of piroxicam from oil-in-water creams and hydroalcoholic gel topical formulations. Drug Dev Ind Pharm 2000; 26(4): 409-414
78. Juhász J, Mahashabde S, Sequeira J. Comparison of *in vitro* release rates of nitroglycerin by diffusion through a teflon membrane to the USP method. Drug Dev Ind Pharm 1996; 22(11): 1139-1144
79. Hayashi T, Sugibayashi K, Morimoto Y. Calculation of skin permeability coefficient for ionized and unionized species of indomethacin. Chem Pharm Bull 1992; 40(11): 3090-3093
80. Miyajima K, Tanikawa S, Nagai T. Effects of absorption enhancers and lipid composition on drug permeability through the model membrane using stratum corneum. Chem Pharm Bull 1994; 42(6): 1345-1347
81. Claramonte C, Vialard P. *In vitro* percutaneous absorption of naproxen from gels using a double-layer artificial membrane. Int J Pharm 1993; 98: 37-43
82. Hadgraft J, Ridout G. Development of model membranes for percutaneous absorption measurements. II dipalmitoyl phosphatidylcholine, linoleic acid and tetradecane. Int J Pharm 1998; 42: 97-104

83. Neubert R, Bendas Ch, Wohlrab W, Gineau B. A multilayer membrane system for modelling drug penetration skin. *Int J Pharm* 1991; 75: 89-94
84. Hanson WA. Handbook of dissolution testing. Segunda edicion. United States of America: Aster Publishing Corporation, 1991: 53-67
85. Verma P, Iyer SS. Transdermal delivery of propranolol using mixed grades of eudragits: desing and *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Drug Dev Ind Pharm* 2000; 26(4): 471-476
86. Shap VP. *In vitro* evaluation of transdermal drug delivery. *Eur J Pharm Biopharm* 1995; 41(3): 163-169
87. Shap VP. New and generic transdermal nitroglycerin systems: regulatory considerations. *Eur J Pharm Biopharm* 1995; 41(3): 189-193
88. Aquil M, Sultana AY. Matrix type transdermal drug delivery systems of metoprolol tartrate: *in vitro* characterization. *Acta Pharm* 2003; 53:119-125
89. Reinhar N, Bendas B, Wohrab W. Use of multilayer membrana system and excised human skin for studying the topical availability of glucocorticoids. *Eur J Pharm Biopharm* 1992; 38(1): 11-16
90. Podezeck F. Comparison of *in vitro* dissolution profiles by calculating mean dissolution time (MTD) or mean residence time (MRT). *Int J Pharm* 1993; 97: 93-100
91. Edison CC. (1981): Cinética de disolución de medicamentos. Secretaria General de la Organización de los Estados Americanos. Washington, D.C. pp 45-60
92. Khan AK. The concep of dissolution efficiency. *J Pharm Pharmacol* 1975; 27:48-49
93. Shah V. *In vitro* release from corticosteroid ointments. *J Pharm Sci* 1995; 84(9): 1139-1140

94. Uchida T, Lee KCh, Shekiya N, Goto S. Skin permeation enhancement of tegafur by ethanol/panasate 800 or ethanol/water binary vehicle and combined effect of fatty acids and fatty alcohols. *J Pharm Sci* 1993; 82(11):1155-1159
95. Roy DS, Manuokian E. Transdermal delivery of ketorolac tromethamine : permeation enhancement, device desing, and pharmacokinetics in healthy humans. *J Pharm Sci* 1995; 84(10): 1190-1196
96. Wren RC. Enciclopedia de medicina herbolaria y preparados botánicos. México: Grijalbo, 1994: vol. 1: 262-263.
97. Diccionario integral de plantas medicinales. Barcelona, 2002: 7-12, 31-32.
98. Hwang S, Dasgupta A, Actor JK. Cytokine production by non-adherent mouse splenocyte cultures to echinacea extracts. *Clin Chim Acta* 2004; 343: 161-162
99. Kuklinski C. Farmacognosia: estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Primera reimpresión. Ediciones Omega, 2003: 365,381-383.
100. Methacrylate Polymers for Pharmaceutical Applications. Röhm Pharma Polymers. Röm GmbH & Co. KG
101. Fujimori J, Yoshihashi Y, Yomenochi E, Terada K. Aplicacion of Eudragits RS to termo-sensitive drug delivery systems II. Effects of temperature on drug permeability through membrane consisting of eudragit RS/PEG 400 blend polymers. *J Con Rel* 2005; 102: 49-57
102. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de salud. 8va edición, México, Secretaría de Salud, 2004, Vol 1 355-357, 396-483.
103. The Merk Index. (1996). Susan Budavari Editor. 12th Edition.

104. Smolinske SC. Handbook of food, drug and cosmetic excipients. USA: CRC Press, 2000: 287-291
105. Hawley's Condensed Chemical Dictionary. (1993). Twelfth Edition. New York. pp 14
106. Gocana S, Cimpana G, Muresana L. Automated multiple development thin layer Chromatography of some plant extracts. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 1996; 14: 1221-1227.
107. Thomas M. Ultraviolet and Visible Spectroscopy. Wiley. Second Edition, 1995:143-161.
108. Kusum V, Saisivam SG, Maria R. Design and Evaluation of Matrix Diffusion Controlled Transdermal Patches of Verapamil Hydrochloride. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2003; Vol. 29, No. 5: 495–503
109. Atsuko K, Makiko F, Masuo K. Effect of N-methyl-2-pyrrolidone on skin permeation of estradiol. Eur J Pharm Biopharm 57 (2004) 473–478
110. Yucun Z, Navnit H, Waseem M. Solid-state plasticization of an acrylic polymer with chlorpheniramine maleate and triethyl citrate. Int J Pharm 241 (2002):301–310.
111. Lippacher A, Muñllera RH. Liquid and semisolid SLNe dispersions for topical application. Eur J Pharm Biopharm 58 (2004) 561–567
112. Kusum V, Saisivam S. Design and Evaluation of Matrix Diffusion Controlled Transdermal Patches of Verapamil Hydrochloride. Drug Development and Industrial Pharmacy. 2003, Vol. 29, No. 5, pp. 495–503
113. Carey F. Química orgánica. 3ª ed, Madrid: Mc Graw Hill Interamericana, 2000: 945-950

XII. ANEXOS

TABLA A1. % LIBERADO DE 3 FORMULACIONES DEL PARCHES #10					
Parche # 10					
X	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Promedio	Desvest
Horas	% Liberado	% Liberado	% Liberado	% Liberado	
0.16	21.7929	21.0740	22.0164	21.6278	0.4924
0.25	33.0943	41.0454	41.8033	38.6477	4.8243
0.5	34.2561	41.2659	46.1578	40.5599	5.9822
1	34.6786	43.9435	47.2377	41.9533	6.5118
1.5	37.9176	45.8965	47.3422	43.7188	5.0757
2	39.9244	46.9676	47.9344	44.9421	4.3723
3	47.9867	48.0386	49.4672	48.4975	0.8402
4	62.3510	49.2986	49.9201	53.8566	7.3630
5	63.1960	51.8187	53.5082	56.1743	6.1394
6	66.4350	56.8903	53.8217	59.0490	6.5779
6.5	67.0335	52.6692	66.1537	61.9521	8.0513
7	66.7871	52.9212	62.2521	60.6534	7.0698

Gráfica A1. % liberado de 3 formulaciones del parche #10

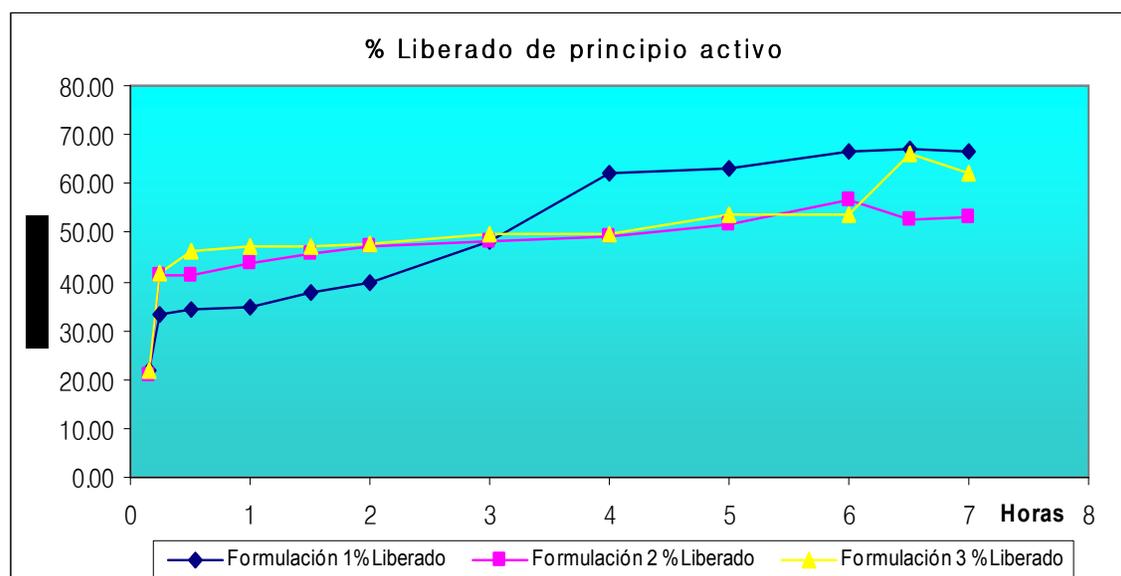


TABLA A1.1. % LIBERADO DE 3 FORMULACIONES DEL PARCHES #12					
Parche # 12					
X	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Promedio	Desvest
Horas	% Liberado	% Liberado	% Liberado	% liberado	
0.16	5.9258	4.1615	5.4202	5.1692	0.9086
0.25	12.6095	7.8606	11.5223	10.6641	2.4881
0.5	15.4691	12.3611	13.1245	13.6516	1.6196
1	15.7447	12.1145	13.3631	13.7408	1.8443
1.5	14.5733	11.7138	12.5791	12.9554	1.4664
2	14.2977	11.4980	11.9314	12.5757	1.5070
3	14.7456	11.4980	11.9654	12.7363	1.7557
4	16.1237	11.2514	11.8632	13.0794	2.6541
5	13.8843	11.0972	11.5223	12.1679	1.5015
6	16.4682	10.9123	11.5223	12.9676	3.0469
6.5	11.2314	10.6349	12.8859	11.5841	1.1662
7	12.6784	9.9567	10.7041	11.1131	1.4062

Gráfica A1.1. % liberado de 3 formulaciones del parche #12

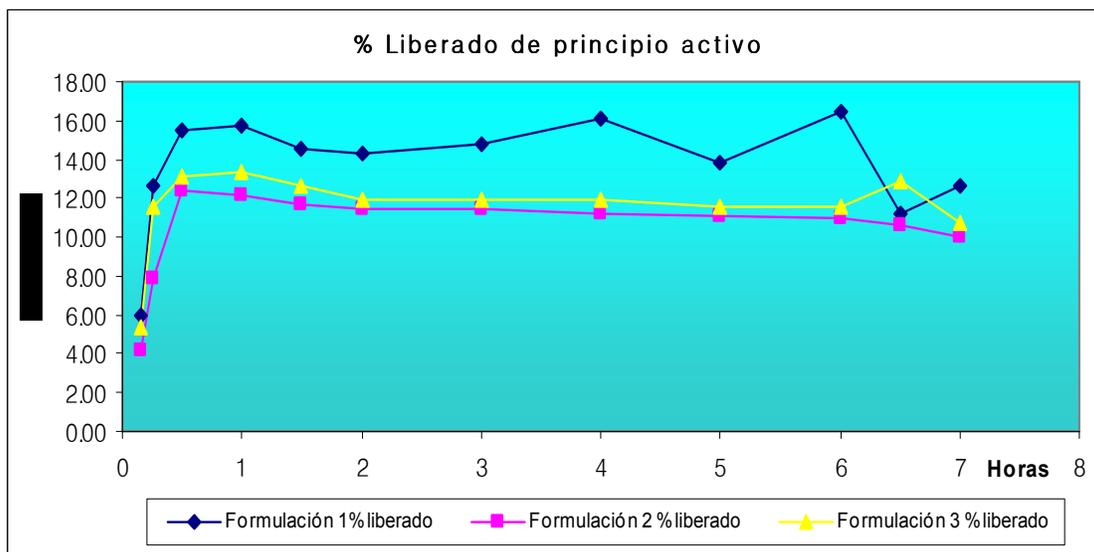


TABLA A1.2. % LIBERADO DE 3 FORMULACIONES DEL PARCHES #8

Parche # 8					
X	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Promedio	Desvest
Horas	% Liberado	% Liberado	% Liberado	% Liberado	
0.16	6.9472	2.9611	5.0164	4.9749	1.9934
0.25	15.8167	15.4038	11.7746	14.3317	2.2241
0.5	38.8841	31.8157	37.9017	36.2005	3.8290
1	41.582	32.8552	39.3299	37.9224	4.5305
1.5	41.7844	34.5878	39.8873	38.7532	3.7299
2	43.5043	34.7453	40.375	39.5415	4.4386
3	44.0439	36.2888	40.8976	40.4101	3.9005
4	39.1876	36.4463	43.2664	39.6334	3.4318
5	33.0498	27.7206	33.1291	31.2998	3.1000
6	30.5879	28.5396	35.6025	31.5767	3.6338
6.5	30.1495	24.6651	31.0041	28.6062	3.4398
7	31.0263	25.5156	30.6557	29.0659	3.0802

Gráfica A1.2. % liberado de 3 formulaciones del parche # 8

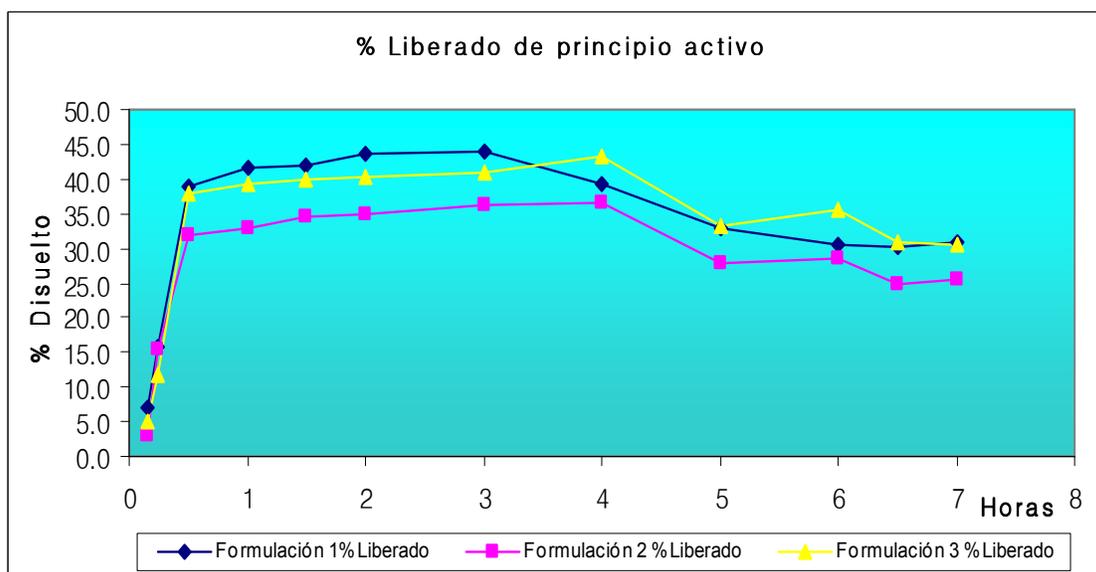


TABLA A1.3. % LIBERADO DE 3 FORMULACIONES DEL PARCHES # 11

Parche # 11					
X	Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3	Promedio	Desvest
Horas	% Liberado	% Liberado	% Liberado	% Liberado	
0.16	13.3548	21.2945	7.5943	14.0812	6.8789
0.25	29.475	39.7539	23.8279	31.0189	8.0745
0.5	32.5102	41.6754	40.1312	38.1056	4.9069
1	43.9427	42.4945	40.2705	42.2359	1.8497
1.5	44.651	44.416	41.6291	43.5654	1.6810
2	46.5395	45.361	42.1517	44.6841	2.2709
3	46.7419	45.991	42.6742	45.1357	2.1645
4	47.4501	48.8261	43.998	46.7581	2.4873
5	42.6949	36.0683	45.5656	41.4429	4.8709
6	43.4032	35.6588	45.1824	41.4148	5.0636
6.5	43.0322	41.2344	39.1209	41.1292	1.9578
7	39.0864	39.9429	38.4939	39.1744	0.7285

Gráfica A1.3. % liberado de 3 formulaciones del parche # 11

