



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE  
MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

**Liberación transdérmica de Pravastatina Sódica  
formulada en microagujas poliméricas biodegradables.**

**TESIS**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN FARMACIA**

**P R E S E N T A:**

**MARTÍNEZ HERNÁNDEZ JESSICA**

**ASESOR:**

**DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ**

**CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO 2014**



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.

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	1
INDICE DE ABREVIATURAS .....	5
INDICE DE FIGURAS.....	6
INDICE DE TABLAS.....	8
1.RESUMEN.....	9
2. INTRODUCCIÓN.....	11
2.1. La piel .....	12
2.2. Anatomía y estructura de la piel. ....	13
2.3. Epidermis .....	14
2.4. Epidermopoyesis.....	16
2.5. Unión dermoepidérmica .....	16
2.6. Anexos de la piel .....	17
2.6.1. Pelo.....	18
2.6.2. Folículos pilosos.....	18
2.6.3. Glándulas .....	19
2.6.3.1. Glándulas sudoríparas ecrinas.....	20
2.6.3.2. Glándulas sudoríparas apocrinas.....	20
2.6.3.3. Glándula sebácea .....	20
2.6.3.4. Uñas.....	21
2.7. Funciones de la piel .....	21
2.8. Absorción transdérmica.....	25
2.8.1 Factores que intervienen en la absorción transdérmica.....	25

2.9. Ley de Fick.....	26
2.10. Rutas de accesos a fármacos .....	27
2.11. Factores biológicos que intervienen en la absorción percutánea de fármacos.....	30
2.12. Actividad enzimática de la piel.....	30
2.13. Vía de administración transdérmica.....	31
2.14. Mecanismos para incrementar la absorción percutánea.....	32
2.15. Promotores físicos y químicos de la penetración transdérmica .....	34
2.15.1. Microagujas como promotores físicos.....	37
2.15.2. Clasificación de las microagujas .....	38
2.15.3. Ventajas y desventajas del uso de microagujas .....	39
2.16. Usos y aplicaciones en el área transdérmica.....	41
2.17. Métodos para cuantificar fármacos a través de la piel .....	46
2.17.1. Métodos <i>in vivo</i> .....	46
2.17.2. Métodos <i>in vitro</i> .....	49
2.18. Dislipidemias .....	52
2.18.1. Clasificación de las dislipidemias. ....	53
2.18.2. Tratamiento de las dislipidemias .....	55
2.18.3. Tratamiento no farmacológico.....	55
2.18.4. Tratamiento farmacológico.....	56
2.19. Pravastatina.....	61
2.19.1. Posología de la pravastatina .....	64
2.20. Quitina y Quitosan.....	65
2.20.1. Propiedades del quitosan.....	67
2.20.2. Aplicaciones del quitosan.....	68

3. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS.....	70
3.1. JUSTIFICACIÓN .....	70
3.2. HIPÓTESIS.....	71
4. OBJETIVOS.....	71
4.1. OBJETIVO GENERAL.....	71
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES .....	71
5. METODOLOGÍA .....	72
5.1. Materiales.....	72
5.2. Métodos. ....	73
5.2.1. Cinética de mezclado.....	73
5.2.2. pH de las formulaciones.....	74
5.2.3. Preparación de microagujas biodegradables. ....	74
5.2.4. Microscopía óptica. ....	74
5.2.5 Resistencia a la ruptura. ....	75
5.2.6. Calorimetría diferencial de barrido. ....	75
5.2.7. Determinación del contenido de principio activo en el arreglo de microagujas. 75	
5.2.8. Estudios de Liberación sin reemplazo.....	75
6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	76
6.1. Cinética de mezclado. ....	76
6.2. Determinación de pH.....	77
6.3. Microscopia óptica.....	78
6.4. Resistencia a la fractura y fuerza de inserción en piel. ....	80
6.5. Calorimetría diferencial de barrido.....	81
6.6. Determinación del contenido químico en el arreglo de microagujas. ....	84

6.7. Estudios de liberación .....	85
7. CONCLUSIONES.....	88
8. PERSPECTIVAS.....	89
9. BIBLIOGRAFÍA.....	90
10. ANEXOS.....	95
1. Barrido espectrofotométrico de los componentes de la formulación .....	95

## INDICE DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
ADN	Ácido desoxirribonucleico.
APO	Apolipoproteínas.
APP	Agentes promotores de la penetración.
Cs	Concentración a través de la piel.
CYP	Citocromo P450.
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido.
EC	Estrato Córneo.
g.f	Gramos. Fuerza.
g.s	Gramos. Segundo.
HDL	Lipoproteínas de alta densidad.
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A.
IDL	Lipoproteínas de intermedia densidad.
LDL	Lipoproteínas de baja densidad.
MB	Membrana basal.
MSH	Hormona estimulante del melanocito.
OMS	Organización Mundial de la Salud.
PA	Principio Activo.
PF	Promotor físico.
PPAR	Proliferador de peroxisomas.
PPRE	Elemento de respuesta para PPAR $\alpha$ .
PQ	Promotor químico.
PQP	Promotor químico de la penetración.
Ps	Coefficiente de permeación.
PVP	Polivinilpirrolidona K30.
Qt	Cantidad acumulada de fármaco.
RMN	Resonancia Magnética Nuclear.
SNC	Sistema Nervioso Central.
TI	Tiempo de latencia.
USP	Farmacopea de los Estados Unidos.
VLDL	Lipoproteínas de muy baja densidad.

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura de la piel .....	11
Figura 2. Microfotografía de una porción de piel humana. ....	12
Figura 3. Estructura anatómica de la piel humana. ....	14
Figura 4. Estratos de la epidermis.....	16
Figura 5. Estructura de la unión dermoepidérmica.....	17
Figura 6. Estructura del pelo y sección transversal de un pelo.....	18
Figura 7. Glándulas sudoríparas.....	19
Figura 8. Rutas de acceso a fármacos.....	29
Figura 9. Dispositivo de microagujas con bomba de HP-Crospan.....	38
Figura 10. Aplicaciones de las microagujas sobre la piel A) Inserción de las microagujas, posteriormente la aplicación de un parche transdérmico, B) Inserción de microagujas recubiertas con fármaco, C) Inserción de microagujas fabricadas con polímeros biodegradables, las cuales contienen fármaco que es liberado al biodegradarse las microagujas, D) Inserción de microagujas huecas sobre la piel seguida de la infusión de líquidos (similar a una inyección). ....	39
Figura 11. Equipo de microdiálisis .....	48
Figura 12. Esquema de la técnica de muestreo de la piel (A) Succión por blíster (B) Biopsia por raspado (C) Biopsia de piel .....	49
Figura 13. Celda tipo Franz.....	50
Figura 14. Modelo de aislamiento y perfusión de la piel utilizando un cultivo celular.....	51
Figura 15. Estatinas.....	66
Figura 16. Desacetilación de la quitina y su producto quitosán .....	66
Figura 17. Estructura del quitano y quitosán .....	66

Figura 18. Esquema general para el aprovechamiento de crustáceos en el desarrollo de aplicaciones a partir de sus subproductos quitina y quitosán .....	68
Figura 19. Cinética de mezclado. Donde “arriba” representa la parte superior del reactor, “medio” corresponde a la parte media del reactor y “abajo” es la parte inferior del reactor. ....	77
Figura 20. A) Muestra de piel humana observada a 10 X antes de la penetración B) Muestra de piel humana con microagujas insertadas C ) Microabrasión creada por microaguja a 10X.....	81
Figura 21. Termogramas de los microarreglos evaluados para los excipientes y principio activo por calorimetría diferencial de barrido.....	81
Figura 22. A) Quitosan entrecruzado consigo mismo. B) Red híbrida de polímeros. C) Semi red interpenetradas de polímeros o completa. ....	83
Figura 23. Perfil de liberación de Pravastatina al utilizar las microagujas.....	85
Figura 24. La figura A muestra el fenómeno de enrejado o bloque el cual impide la liberación del activo, en la figura B se muestra el fenómeno de formación de micelas. Figura modificada de Escobar-Chávez et al., (2006).....	86
Figura 25. Perfil de liberación de acuerdo a Korsmeyer - Peppas.....	88
Figura 26. Barrido espectrofotométrico de los componentes de las microagujas (PVP/ Quitosan/ Pravastatina) donde se observa que a 238 nm la pravastatina sódica es el único componente que absorbe y no se genera ninguna interferencia con los demás componentes. ....	95

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Función protectora, queratinica, melánica, termorreguladora y de comunicación de la piel.....	21
Tabla 2. Vías de penetración de los fármacos y su coeficiente de difusión .....	26
Tabla 3. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica.....	33
Tabla 4. Clasificación de los promotores por su estructura química.....	34
Tabla 5. Promotores físicos de penetración transdérmica .....	36
Tabla 6. Ventajas y desventajas de las microagujas.....	39
Tabla 7. Sustancias administradas por medio de microagujas.....	42
Tabla 8. Técnica de Tape Stripping .....	46
Tabla 9. Clasificación de Fredrickson de las dislipidemias .....	53
Tabla 10. Mecanismo de acción de los fármacos antihiperlipidémicos.....	57
Tabla 11. Propiedades de la pravastatina. ....	68
Tabla 12. Principales aplicaciones de la quitosan.....	68
Tabla 13. Reactivos, equipo y material utilizado para el desarrollo del proyecto.....	72
Tabla 14. Formulación de microagujas.....	74
Tabla 15. Cinética de mezclado.....	74
Tabla 16. pH de las 4 formulaciones.....	77
Tabla 17. Microscopia de las 4 formulaciones evaluadas al día 1, 30, 60 y 90 de fabricación. ....	79
Tabla 18. Resultados promedio de la fuerza necesaria para romper un microarreglo.....	80
Tabla 19. Contenido químico de pravastatina por cada microarreglo evaluado .....	84

Tabla 20. Perfil de liberación de pravastatina.....	86
Tabla 21. Interpretación de los mecanismos de liberación de difusión de películas poliméricas.....	87
Tabla 22. Valores obtenidos para el perfil de liberación de acuerdo a Korsmeyer- Peppas.....	96

## 1. RESUMEN

Uno de los problemas que se presenta en la población actualmente es el incremento de las personas con algún grado de sobrepeso u obesidad, lo que aumenta la posibilidad de padecer diabetes mellitus, hipertensión, dislipidemias, etc. La industria farmacéutica ha tratado de diseñar nuevas alternativas terapéuticas que garanticen y mejoren la calidad de la terapia farmacológica de los pacientes, sin embargo no todas las formas farmacéuticas han podido cumplir este cometido. Como bien se sabe, la vía de administración de primera elección es la vía oral pero esto no significa que sea la más adecuada o eficaz ya que presenta las siguientes desventajas: no pueden administrarse formas sólidas a todo tipo de pacientes ya que algunos no pueden deglutir, es difícil llegar a conseguir una dosis exacta ya que a nivel plasmático las concentraciones de fármaco tienen fluctuaciones a comparación de los sistemas de liberación constante a un periodo determinado. La vía transdérmica es una moderna alternativa para la liberación de moléculas con efecto terapéutico, sin embargo debido a las propiedades que presenta el estrato córneo (EC) como barrera de permeabilidad; el número de moléculas capaces de permear se limitan aquellas que reúnan las propiedades fisicoquímicas para atravesar tal barrera. Se eligieron las microagujas como promotores físico-mecánicos debido a los resultados prometedores que se han reportado para estos dispositivos y las múltiples ventajas que ofrecen. Por otro lado el fármaco modelo a estudiar, la pravastatina sódica, se utilizó como parte de la mezcla junto con los biopolímeros para fabricar las microagujas cargadas con este fármaco. En este estudio se evaluaron 4 diferentes formulaciones que fueron sometidas a diversas pruebas para determinar que formulación presentaba las mejores características fisicoquímicas para poder penetrar el estrato córneo y poder así liberar al fármaco. Se determinó que las mejores formulaciones fueron la 3 y 4, pero debido a que la formulación 3 contenía una solución de ácido acético se optó por elegir a la formulación 4 como la más viable para elaborar las microagujas, se llegó a esa conclusión en base con los resultados obtenidos en la prueba de resistencia a la fractura que demostró hacer pequeñas microabrasiones en la muestra de piel y con base en las demás pruebas de caracterización fisicoquímica realizadas a la microagujas. El desarrollo de este trabajo se realizó con el fin de poder elaborar una novedosa forma farmacéutica que favorezca la penetración de un fármaco hipolipemiente formulado en microagujas que son biodegradables y mejorar así la comodidad de ser administrada por los propios pacientes.

## 2. INTRODUCCIÓN

Estimaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS) indican que el número de personas con diabetes en el mundo se ha incrementado de 30 millones en 1995 a 347 millones en la actualidad y se estima que para el 2030 habrá 366 millones. Por lo anterior, la diabetes y por lo tanto la hipercolesterolemia se consideran un problema de salud pública cuyo impacto en términos económicos, sociales y en la calidad de vida de los mexicanos se convierten en prioridad nacional.

La pravastatina sódica es utilizada para la reducción de la mortalidad y morbilidad cardiovascular en pacientes con hipercolesterolemia moderada o grave y con riesgo elevado de un primer episodio cardiovascular, es un agente que también beneficia a pacientes con antecedentes de infarto al miocardio o angina de pecho inestable y con niveles normales o elevados de colesterol. Reduce la hiperlipidemia postraslante en pacientes que reciben tratamiento inmunosupresor después del trasplante de órganos sólidos. La piel es el órgano más grande del cuerpo humano, y constituye una barrera física entre el cuerpo y el medio ambiente, presenta una estructura en capas, las cuales se dividen principalmente en epidermis, dermis y un tejido graso subcutáneo (Figura 1). Sin embargo, la principal barrera se encuentra en la zona más externa de la piel que corresponde al estrato córneo (EC) y que es parte de la epidermis, este estrato, consiste en una capa rígida de 15 a 20µm de espesor, constituida por células epiteliales conocidas como corneocitos los cuales contienen principalmente queratina, embebidos en una estructura lamelar altamente organizada formada por lípidos intercelulares, ceramidas, colesterol, ácidos grasos y sus ésteres, dando lugar a una capa prácticamente impermeable (Figura 2).

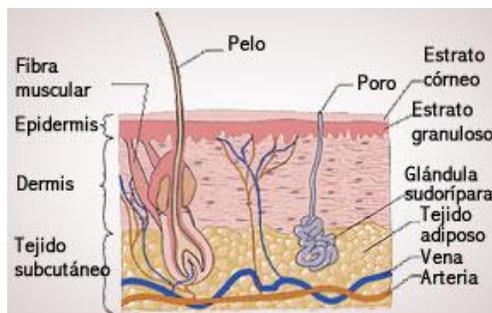


Figura 1. Estructura de la piel

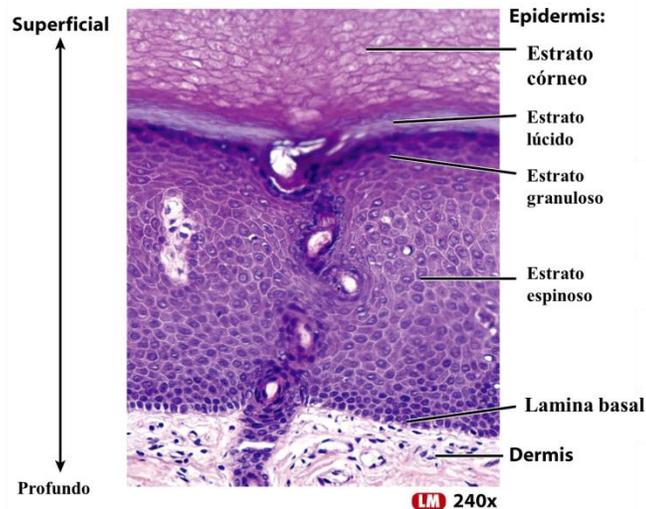


Figura 2. Microfotografía de una porción de piel humana.

Cuando un fármaco es transportado a través de la piel, dicha molécula se ve sometida a dos procesos: la penetración del EC y la difusión de la molécula hacia tejidos más profundos. La velocidad y el grado de transporte del fármaco a través del EC dependen del tamaño, coeficiente de partición, fuerza iónica, además de las características fisicoquímicas del vehículo.

La permeación de fármacos por vía transdérmica se da mediante la difusión a través de la epidermis y apéndices de la piel como folículos pilosos y glándulas sebáceas, sin embargo la contribución de estos últimos se considera prácticamente despreciable ya que solo representan el 0.1% de la superficie total de la piel.

Por otro lado, en el paso a través del EC se han identificado dos rutas: la intercelular, que define el paso en la matriz lipídica que existe entre los corneocitos, y la transcelular que considera que el fármaco atraviesa los corneocitos.

## 2.1 La piel

La piel es una membrana, dura, flexible e impermeable que recubre el cuerpo y se integra con membranas protectoras más delicadas en las cavidades bucal, nasal, palpebral, urogenital y anal. Es el órgano más grande del cuerpo y no solo proporciona una cobertura superficial, sino que también es un órgano sensorial dotado de múltiples

terminaciones nerviosas que le confieren sensibilidad al tacto y a la presión, a los cambios de temperatura y a los estímulos dolorosos. Por lo que a las sensaciones generales se refiere, la piel es la principal fuente de información. La función impermeable de la piel es imprescindible para la prevención de la pérdida de líquidos corporales. Para este fin, las secreciones grasas de las glándulas sebáceas ayudan a mantener esta impermeabilidad y a producir vitamina D, a pesar de lo cual, este eficaz mecanismo impermeable no evita la función absorbente de la piel cuando ciertas sustancias, vitaminas y hormonas se aplican sobre ella en la forma adecuada. Tampoco impide que se excreten ciertos cristaloides mediante la sudoración.

La piel se encuentra compuesta por agua y el contenido de esta depende del estado de salud del sujeto, considerándose que representa entre el 60% y 70% del total de sus componentes en un adulto promedio. Este órgano tiene una acidez de la superficie cutánea de entre 4.2 y 5.6, que se logra por la presencia de los ácidos grasos libres, los aminoácidos de la queratina y el contenido sudoral.

## **2.2 Anatomía y estructura de la piel**

Las funciones metabólicas de la piel requieren una superficie grande para que su funcionamiento sea eficaz. En los adultos, esta área es de aproximadamente de 1.8 m<sup>2</sup>, es decir, una superficie 7 veces mayor que al nacer. El espesor de la piel también varía, no solo con la edad sino también de un área a otra. Es más fina en los párpados (0.5mm) y más gruesa en la nuca y parte superior del tronco, así como en las palmas de las manos y las plantas de los pies. Tiende por lo general a ser más gruesa en las superficies anteriores y flexoras, suele tener entre 1 y 2 mm de espesor en la mayor parte del cuerpo. El grosor total de la piel depende del espesor de la epidermis y la dermis.<sup>1</sup> La acidez de la superficie cutánea (pH de 4.5 a 5.6) se logra por la presencia de los ácidos grasos libres, los aminoácidos de la queratina y el contenido sudoral, teniendo una capacidad de neutralización (solución amortiguadora) que le permite tolerar el contacto con sustancias de pH entre 5 y 10 debida principalmente a los constituyentes hidrosolubles del sudor.<sup>2</sup> La absorción transcutánea se realiza a través de la epidermis y del aparato pilosebáceo pero a su vez la integridad de la capa cornea, el manto sebáceo y una cierta barrera electrostática impiden esta absorción, actuando la piel como verdadero filtro selectivo y

relativo<sup>3</sup>, no permitiendo el paso de cualquier tipo de sustancias a través de la piel además de contar con un complejo enzimático que sirve de protección.

Siempre que se aplica alguna sustancia sobre la piel (la cual cubre una superficie de 1.8 a 2 m<sup>2</sup> en promedio en un hombre adulto y que además es irrigada por un tercio de la circulación sanguínea), ya sea con fines cosméticos o farmacológicos, la primera barrera de permeación que se encuentra es el EC, que forma parte de la epidermis y que a pesar de ser la capa más delgada de la piel, ofrece la mayor resistencia al transporte de sustancias.<sup>3</sup>

En la figura 3 se esquematiza las tres capas principales de la piel, de superficie a profundidad son: epidermis, la capa más externa de la piel, formada por estratos celulares; la dermis formada por tejido conectivo y vascularizada y finalmente la hipodermis formada por grasa subcutánea.

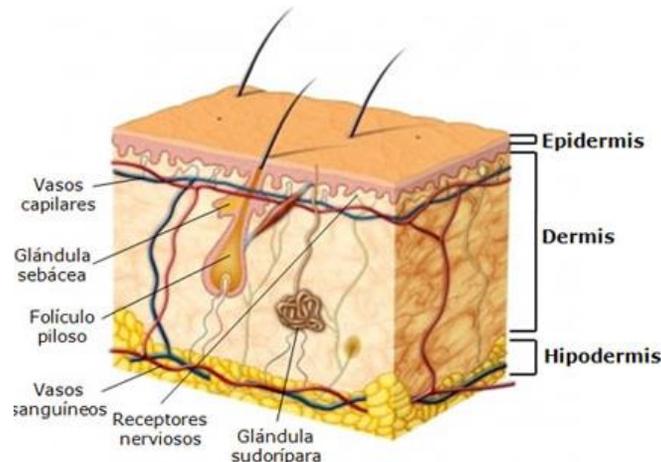


Figura 3. Estructura anatómica de la piel humana.

### 2.3 Epidermis

La epidermis está constituida por dos capas: EC o también llamada epidermis no viable con un espesor de 10 a 100µm, y la epidermis viable que tiene un espesor de 50 a 100µm formada por el estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinoso y estrato germinativo.

Dentro de toda la gama de biomembranas de mamíferos, la composición y estructura del EC se considera única. Esta delgada membrana (10-100µm de espesor) está compuesta

de células completamente queratinizadas, embebidas en una matriz lipídica ordenada y continua (Figura 4):

La epidermis además contiene cuatro tipos de células:<sup>4</sup>

1. Queratinocitos: son el componente de la epidermis. Su función es producir queratina, una proteína filamentosa compleja que forma el EC. Se encuentran presentes desde el estrato basal al granular, y al llegar al estrato córneo, se transforman en corneocitos. Los queratinocitos desempeñan un papel importante en la función inmunológica de la piel.

2. Melanocitos: el melanocito es una célula de tipo dendrítico, que se extiende por largas distancias dentro de la epidermis y está en contacto estrecho con los queratinocitos. Son las células responsables de la pigmentación de la piel; se encuentran en la capa basal y producen gránulos llamados melanosomas que contienen melanina. Esos gránulos se transfieren desde los melanocitos hasta los queratinocitos, y proporcionan protección al núcleo celular frente a radiaciones ultravioleta. Las diferencias en el color de la piel según la raza son explicadas por el número de melanosomas.

3. Células de Langerhans: representan 3-5% de las células del estrato espinoso en donde se encuentran situadas entre los queratinocitos. Son células inmunes con forma dendrítica que participan en la respuesta de barrera frente a alergias de contacto. Su producción es estimulada por la langerina, una proteína de membrana con actividad de receptor. Dichas células participan en la respuesta inmune cutánea y migra desde la piel hasta los ganglios linfáticos. Poseen receptores de membrana para la inmunoglobulina Fc y el complemento C3

4. Células de Merkel: representan un tipo de células intraepiteliales de la piel, se encuentran sobre todo, en las proximidades del estrato basal, concentradas cerca de los folículos. Son células mecanorreceptoras, ya que poseen unas microvellosidades que responden a la distorsión mecánica, produciendo la liberación de neurotransmisores por parte de la célula.<sup>4</sup>

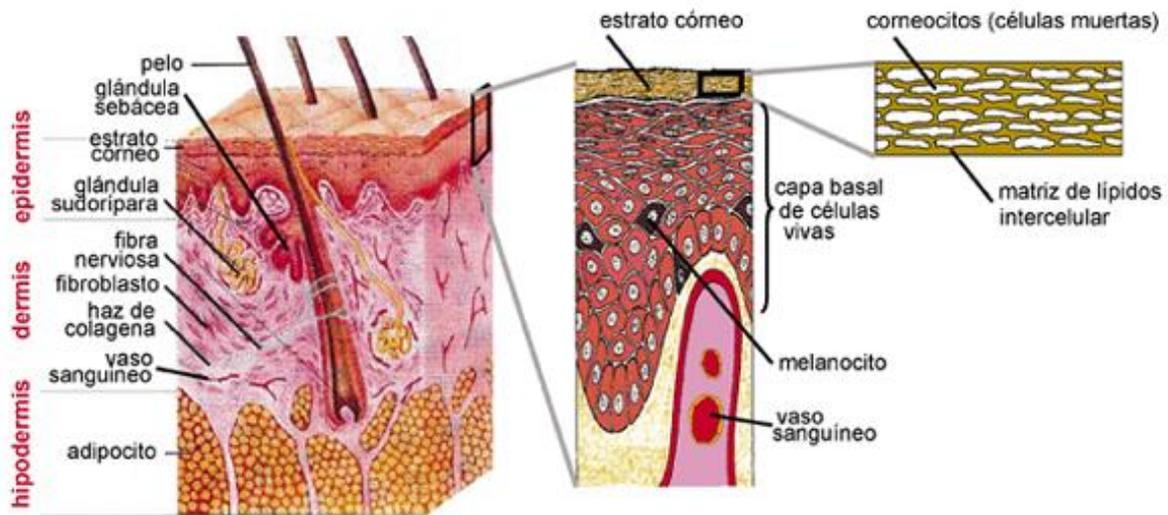


Figura 4. Estratos de la epidermis.

## 2.4 Epidermopoyesis

En la epidermis normal las células basales mitóticamente activas tienen un ciclo que dura de 200 a 400 horas. La diferenciación hasta llegar a la capa granulosa abarca 2 semanas y las células córneas tardan otras 2 semanas en desprenderse.<sup>5</sup> El control de ésta cinética depende de las distintas moléculas: citocinas, factores de crecimiento y hormonas que interactúan de manera compleja para asegurar la homeostasis.<sup>4</sup>

## 2.5 Unión dermoepidérmica

El límite dermo-epidérmico es una región perfectamente demarcada. Presenta ondulaciones formadas por prolongaciones epidérmicas llamadas crestas que se alternan con saliencias dérmicas denominadas papilas, estas interdigitaciones son las que forman los dermatoglifos, es decir las huellas digitales. En este límite encontramos la membrana basal (MB) ubicada por debajo de la epidermis, separándola del estroma conectivo subyacente.<sup>4</sup> Las funciones de la MB son:

1. Andamiaje estructural.
2. Conexión y unión entre la epidermis y dermis superficial o papilar.
3. Regulación de la permeabilidad y función de barrera selectiva.
4. Desarrollo y diferenciación de la epidermis.

## 5. Reparación tisular (reparación de heridas).

La unión dermo-epidérmica solo puede ser observada a través de microscopía electrónica en donde se distinguen 3 zonas: (ver figura 5)

1. Lámina lúcida: es la zona más débil de la unión dermo-epidérmica. Se encuentra atravesada por delgados filamentos de anclajes, que se concentran especialmente en la región de los hemidesmosomas de las células basales, sirviendo para asegurar las células epiteliales a la lámina densa, donde se inserta.

2. Lámina densa: está constituida por colágeno tipo IV.

3. Sublámina densa: continúa con la porción superior de la dermis papilar. Su principal estructura son las fibrillas de anclajes, constituidas por colágeno tipo VII, que se unen a la dermis papilar.

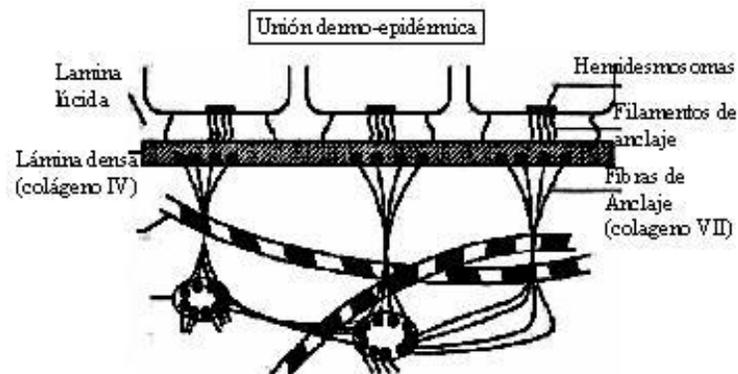


Figura 5. Estructura de la unión dermoepidérmica

## 2.6 Anexos de la piel

Las estructuras que surgen a partir del ectodermo embrionario (pelo, glándulas y uñas) efectúan funciones necesarias y en ocasiones vitales. El pelo y las uñas protegen al cuerpo, y las glándulas sudoríparas regulan la temperatura corporal.

### 2.6.1. Pelo

La función más importante del pelo es la de protección. Aunque ésta es limitada, el pelo resguarda al cuero cabelludo contra lesiones y rayos solares, y cejas y pestañas protegen a los ojos contra partículas extrañas.

Los pelos de las cavidades o fosas nasales (vibrisas) y el meato auditivo externo protegen a dichas estructuras contra insectos y polvo.

Cada pelo consiste en tallo y raíz (Figura 6). El cilindro o tallo es la porción superficial, y en su mayor parte se prolonga más allá de la piel. El tallo consiste en tres partes principales: médula, corteza y cutícula. La raíz se sitúa debajo de la superficie de la piel, la rodea el folículo piloso y una zona de epitelio.<sup>4</sup>

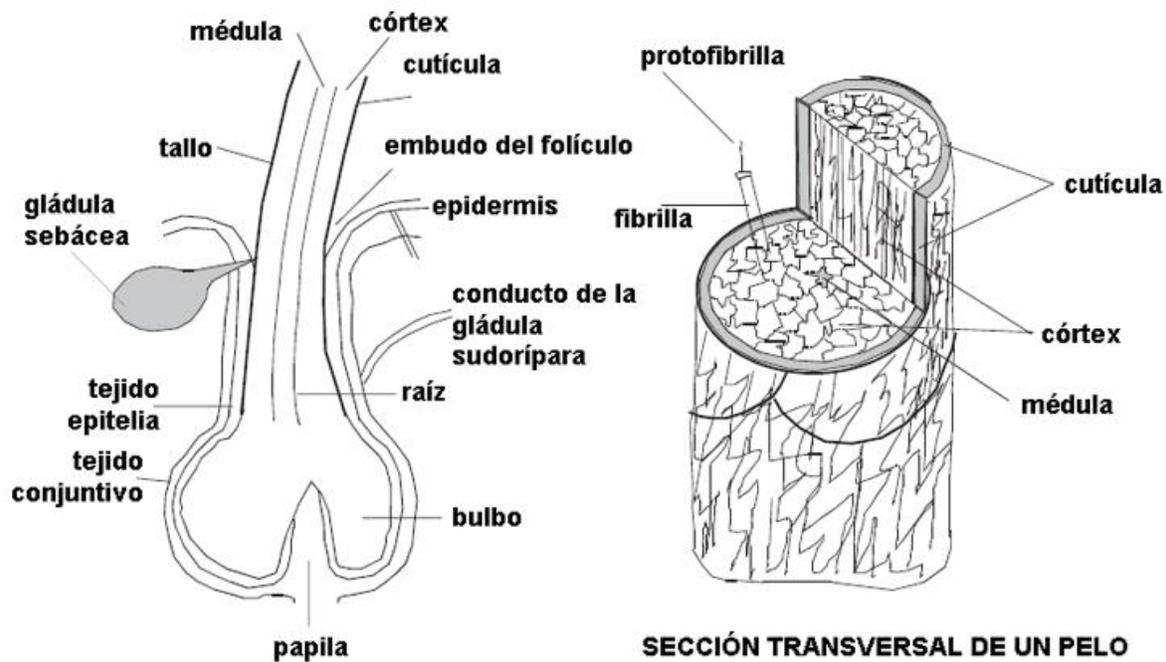


Figura 6. Estructura del pelo y sección transversal de un pelo.

### 2.6.2. Folículos pilosos

Distribuidos por toda la superficie de la piel, excepto las palmas de las manos, plantas de los pies, glande, labios mayores, menores y ombligo. Varía en cuanto a longitud y coloración en las diferentes regiones de la piel y dependerán de factores genéticos, raciales y endócrinos.<sup>4</sup>

Nace en la dermis, estando la raíz asentada allí. Histológicamente las células son más parecidas a la epidermis. Cada pelo tiene una raíz incluida en la piel, y un tallo libre que

termina en el ápex. La raíz presenta una expansión ovoidea, el bulbo del pelo, que tiene una parte estrecha el cérvix del bulbo y una cavidad que se amolda sobre la papila del tejido conectivo. La raíz está rodeada por una invaginación llamada folículo del pelo y por una vaina de tejido conectivo llamada bolsa del pelo. Consta de tres capas celulares concéntricas, la medula, que forma un eje central laxo; el córtex, formado por células cornificadas alongadas que contienen melanina en cantidades variables y la cutícula, que consta de una sola capa de células claras aplanadas y cornificadas que se superponen como las tejas de un techo y se llaman escamas.<sup>4</sup>

### 2.6.3. Glándulas

Las glándulas sudoríparas y sebáceas son las dos tipos de glándulas que se encuentran en la piel (Figura 7)

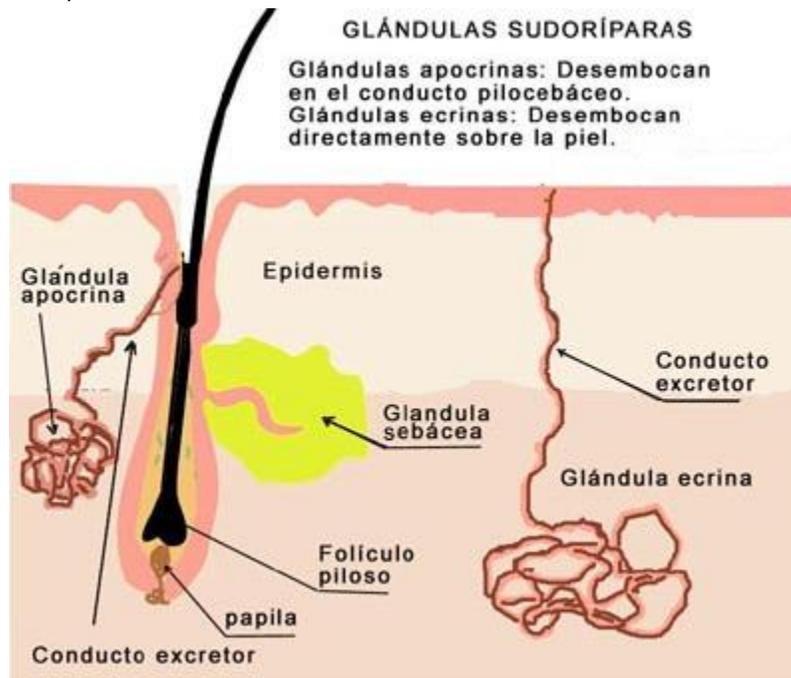


Figura 7. Glándulas sudoríparas.

### **2.6.3.1. Glándulas sudoríparas ecrinas**

Las glándulas sudoríparas ecrinas son apéndices de la epidermis, que tienen como función el mantenimiento de la temperatura normal del cuerpo, segregando agua sobre la superficie de la piel, y así disipar el calor por evaporación.<sup>4</sup>

Estas glándulas tienen tres componentes principales:

- Los acrosiringios que se abren directamente sobre la superficie cutánea
- La porción dérmica recta del conducto formado por células epiteliales cuboidales
- La zona secretora localizada en el pánículo superficial. En la región de la espalda, esta zona se sitúa en la dermis profunda.

### **2.6.3.2. Glándulas sudoríparas apocrinas**

Poseen un conducto secretor que desemboca en un folículo piloso.<sup>4</sup> Embriológicamente derivan del germen epitelial primario. Ocupan toda la superficie de la piel, luego la gran mayoría desaparece y quedan confinadas a la localización característica del adulto (axilas, región ano-genital, región periumbilical, areolas, conducto auditivo externo, párpados, borde bermellón de los labios). En la pubertad aumentan de tamaño por estímulo hormonal.

### **2.6.3.3. Glándula sebácea**

Las glándulas sebáceas se encuentran en toda la superficie cutánea, excepto en palmas y plantas de los pies y son escasas en dorso de manos y pies. La mayor concentración glandular se encuentra en zonas como cara, frente, cuero cabelludo, línea media del dorso, cara interior del tórax, donde pueden alcanzar 900 por cm<sup>2</sup>.

Estas glándulas producen una sustancia llamada sebo, que está formada por grasa, células y ácidos, y cuya misión es engrasar la piel y el cabello como mecanismo de protección.

Formada por adipocitos, estas células son semejantes a las de los estratos de la epidermis pero posteriormente se llenan de lípidos y pierden el núcleo.<sup>4</sup>

#### 2.6.3.4. Uñas

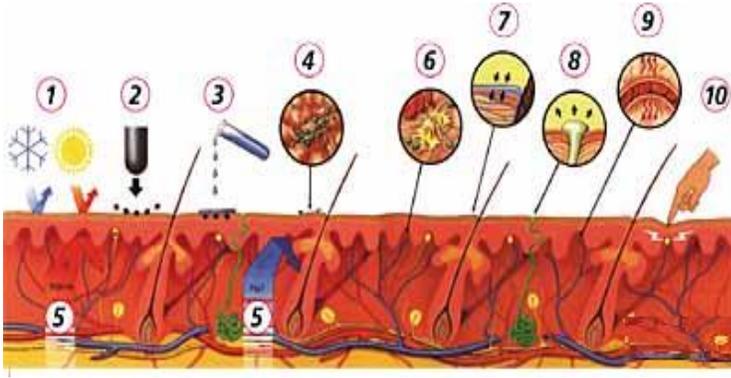
Son placas de queratina que recubren la parte distal de los dedos. La uña empieza por la raíz, implantada en un surco de la epidermis, continua con el cuerpo y termina por el borde libre; el borde oculto corresponde al borde proximal de la raíz, cubierto por un pliegue cutáneo, el valle posterior. La lúnula es la porción proximal y blanquecina del cuerpo, es bien visible en el pulgar y va desapareciendo, cubierta por la dermis en los últimos dedos mediales.

La matriz de la uña es una porción de la dermis sobre la que se asienta la raíz y la lúnula. El lecho o lectulus de la uña es una zona epidérmica, desprovista del EC, sobre ella se asienta el cuerpo de la uña y presenta crestas o surcos; el lecho le da adherencia y permite su deslizamiento. Crece 0.5mm por semana, esta ricamente vascularizado, por lo cual presenta un color.<sup>4</sup>

#### 2.7. Funciones de la piel

Entre las funciones más importantes de la piel destacan las que se presentan a continuación en la Tabla 1:<sup>3</sup>

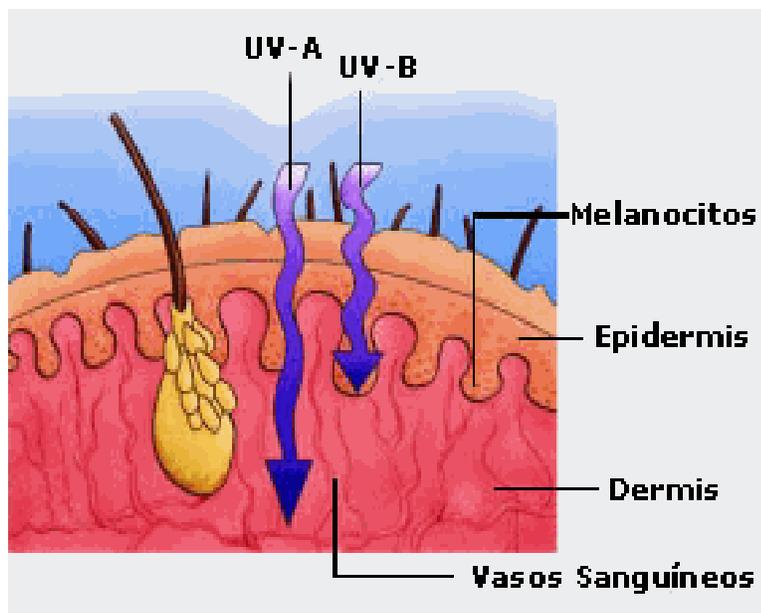
Tabla 1. Función protectora, queratinica, melánica, termorreguladora y de comunicación de la piel

Función protectora	
 <ol style="list-style-type: none"><li>1. Protección frente al frío, calor y las radiaciones</li><li>2. Protección frente a la presión, los golpes y la tracción</li><li>3. Protección frente a la acción de agentes químicos</li></ol>	<p>La piel actúa como barrera que protege los tejidos profundos principalmente por su elasticidad y resistencia, envuelve y protege, separa y mantiene el contacto con el exterior.</p> <p>Otra propiedad protectora de la piel es la electro-osmosis que regula el paso de electrolitos y agua, función en la que actúa como una membrana con carga electronegativa pero que se hace electropositiva en los procesos inflamatorios. La piel tiene la capacidad de formar una emulsión superficial homogénea compuesta por</p>

- 4 .Protección frente a la penetración de gérmenes (formación del manto ácido protector)
5. Protección frente a la pérdida de calor y agua
- 6 .Defensa frente a la penetración de microorganismos
- 7 .Absorción de determinados principios activos
- 8 .Secreción de sudor (función de enfriamiento)
- 9 .Termorregulación y regulación de la circulación mediante perfusión sanguínea
10. Órgano sensorial de la presión, vibración, tacto, dolor y temperatura

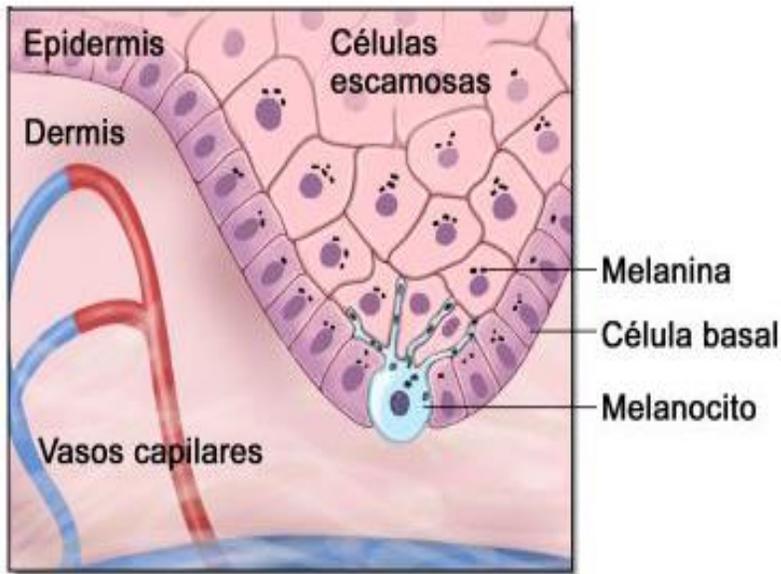
substancias hidrosolubles aportadas por el sudor y por los cuerpos grasos eliminados por las glándulas apocrinas y sebáceas. Esta emulsión protege contra los excesos de humedad o desecación contra los cambios bruscos de temperatura y contra las agresiones microbianas y micóticas.<sup>3</sup>

#### Función queratínica



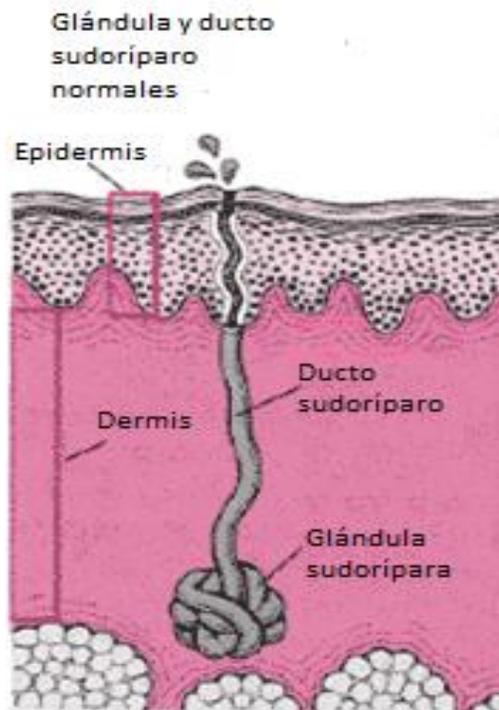
Se origina en los queratinocitos, que forman la membrana basal y que al emigrar a la superficie en tres a cuatro semanas, se compactan para producir el estrato córneo de queratina, de donde se desprenden de manera continua. La conformación del queratinocito es aproximadamente del 72 al 80% de agua, el resto son aminoácidos, principalmente cisteína; pierde su contenido hídrico de manera progresiva; en la capa granulosa contiene 10% de cisteína y en la córnea solo el 2% con lo cual la cisteína se transforma en cistina, principal componente de la queratina, fibroproteína con alto contenido de azufre con cierta afinidad por las grasas, resistente a ácidos y álcalis débiles, así como enzimas y mala conductora de radiaciones.<sup>3</sup>

### Función melánica



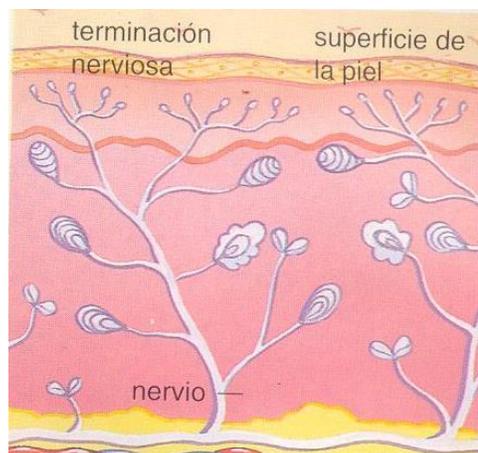
Es efectuada por los melanocitos que se encuentran en la membrana basal y en cuyos melanosomas se elabora el pigmento melanina, formado por: eumelanina (de color café-negro), feomelanina (de color amarillo-rojo), un grupo de melaninas de tipo mixto, así como por un grupo de pigmentos endógenos diferentes, como hemoglobina, oxihemoglobina y carotenos. La cantidad de melanocitos es igual en todas las razas, pero los melanosomas son de mayor tamaño y más abundantes en la raza negra; se rige por la hormona estimulante del melanocito (MSH) producida por la hipófisis, la cual puede ser estimulada por las gónadas. La síntesis de melanina, el pigmento que da color a la piel y pelo, está regulada genéticamente; no se conoce con certeza su función; se piensa que protege contra las radiaciones.<sup>3</sup>

### Función termorreguladora



La función sudoral, que puede ser transpiración sensible o respiración insensible está regulada por el sistema nervioso central (SNC), en el hipotálamo, la efectúan las glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas. El sudor es un líquido que contiene 99 % de agua y 1% de sólidos, en la forma de cloruros de sodio y potasio, y productos orgánicos como la urea; tiene importancia como regulador del metabolismo, el equilibrio de líquidos y electrolitos, y de la temperatura, así mismo sirve como protección o barrera.<sup>3</sup>

### Función de comunicación



Muy importante son las terminaciones nerviosas que se sitúan en la dermis y que son nociceptivas, una función sensorial indispensable para la vida. <sup>3</sup>

## 2.8. Absorción transdérmica

La absorción transdérmica involucra la transferencia de un fármaco desde la superficie de la piel hacia el interior del EC, bajo un gradiente de concentración, y su posterior difusión por ese estrato y la epidermis subyacente, a través de la dermis y hacia la microcirculación.

Así, la piel se comporta como una barrera pasiva ante la difusión de moléculas.

La absorción transdérmica resulta un proceso complejo debido a la variedad de barreras que se deben superar.<sup>6</sup>

### 2.8.1. Factores que intervienen en la absorción transdérmica.

La absorción percutánea está relacionada con la transferencia de principio activo (PA) desde la superficie de la piel a través del EC, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación.<sup>4</sup>

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

Tres variables principales explican la velocidad de absorción en los medicamentos por vía tópica/transdérmica del mismo fármaco en diferentes vehículos:<sup>4</sup>

a) Concentración del fármaco en el vehículo: la velocidad de difusión es proporcional a dicha concentración. La relación es lineal a concentraciones bajas del fármaco y solo cuando este es soluble en el vehículo.

b) Coeficiente de partición del fármaco entre el EC y el vehículo: es una medida de la capacidad del fármaco para escapar del vehículo y se define como la relación entre la solubilidad del medicamento en el EC y en el vehículo. Teniendo presente que el EC es lipofílico, los fármacos liposolubles tendrán facilidad para atravesarlo.

c) Coeficiente de difusión del fármaco en el EC es la magnitud con que la piel se opone al paso del fármaco. Depende de dos factores:

- Tamaño molecular: las moléculas de tamaño grande tienen coeficiente de difusión pequeño.

- Capacidad de difusión de la capa de la piel: como puede observarse en la Tabla 2, el menor coeficiente de difusión corresponde al EC, que como ya se ha comentado es el que se opone con mayor intensidad al paso de los fármacos, y, sin embargo, casi la totalidad del fármaco que atraviesa la piel lo hace a través del EC (99% del volumen de difusión total).

Tabla 2. Vías de penetración de los fármacos y su coeficiente de difusión.<sup>4</sup>

Vías de penetración	Porcentaje del volumen de difusión total	Coefficiente de difusión
Glándulas sudoríparas	0.04-0.1	$8 \times 10^{-6}$
Folículos pilosos	0.15-1.2	$4 \times 10^{-7}$
Estrato córneo	99-99.9	$5 \times 10^{-11}$

## 2.9 Ley de Fick

Es una ley cuantitativa en forma de ecuación diferencial que describe diversos casos de difusión de materia o energía en un medio en el que inicialmente no existe equilibrio químico o térmico, recibe su nombre de *Adolf Fick*, que las derivó en 1855.

En situaciones en las que existen gradientes de concentración de una sustancia, o de temperatura, se produce un flujo de partículas o de calor que tiende a homogeneizar la disolución y uniformar la concentración o la temperatura.<sup>6</sup>

Para la determinación del flujo del soluto en el estado de equilibrio y del coeficiente de permeabilidad, se utiliza la fórmula integrada de la primera ley de Fick:

$$J = -D \frac{dC}{dx}$$

Donde J es el flujo, D es el coeficiente de difusión y  $dC/dx$  es el gradiente de concentración durante una distancia x. La primera ley de Fick de difusión se puede utilizar para describir la penetración cutánea de fármacos, sin embargo, el gradiente de concentración a través del tejido de la piel no puede medirse fácilmente, pero se puede aproximar por el producto del coeficiente de permeabilidad ( $P_s$ ) y la diferencia de concentración a través de la piel ( $C_s$ ).<sup>4</sup>

El estado de equilibrio de flujo transdérmico,  $J_s$ , a través de barrera de la piel viene dado como:

$$J_s = P_s C_s$$

Donde  $P_s$ , el coeficiente de permeabilidad, se define por:

$$P_s = K \cdot D / h$$

Donde  $K$  es el coeficiente de partición y  $h$  es el espesor de la piel. La cantidad acumulada de fármaco a través de la piel ( $Q_t$ ) queda dado por:

$$Q_t = K \cdot D \cdot C_s / h \cdot (t - h^2 / 6D)$$

Donde  $C_s$  es la concentración del reservorio saturado cuando las condiciones "sink" se mantienen en la solución receptora. La diferenciación de la ecuación anterior con respecto al tiempo nos lleva a la ecuación obtenida anteriormente que describe el flujo estacionario transdérmico ( $J_s = P_s C_s$ ). Cuando se extrapola la línea del estado estacionario al eje del tiempo, el valor de tiempo de latencia,  $t_L$  se obtiene por el intercepto a  $Q = 0$ .<sup>4</sup>

$$t_L = h^2 / 6D$$

El intercepto  $t_L$ , es una medida del tiempo que le toma al fármaco alcanzar un gradiente de concentración constante a través de la piel. El tiempo de latencia comúnmente se utiliza para el análisis de datos de permeación de experimentos *in vitro* con la técnica de dosis infinita, donde la piel separa un reservorio de dosis infinita del fármaco en el lado donador y las condiciones sink en el receptor.<sup>4</sup>

## 2.10. Rutas de accesos a fármacos

Los mecanismos de transporte o vías de permeación por las que los fármacos pasan a través de la piel intacta son diversos debido a la gran cantidad de procesos que intervienen como disolución, reparto y posibles metabolizaciones en la superficie cutánea. La acción de barrera del EC es consecuencia como ya se ha mencionado de su propia estructura, en la que la queratina totaliza la mitad de su peso conjuntamente con proporciones variables de lípidos intrínsecos y procedentes de la secreción cutánea superficial.

Sin embargo, si se elimina el EC, el resto de la epidermis se comporta como cualquier otra mucosa (sublingual, intestinal, etc.) de modo que el paso de sustancias a través de esta estructura, se realiza igual que en el caso de otras mucosas por difusión pasiva. No obstante, debe considerarse un hecho diferencial de la epidermis respecto a otras mucosas. En el caso de la epidermis, se trata de una estructura constituida por estratos pluricelulares, mientras que las mucosas son, en general, estratos unicelulares. Esta diferenciación se traduce en el hecho de que el paso de sustancias a través de la

epidermis es más lento que en otras mucosas, al ser mayor el espesor que tendrá que atravesar una sustancia con fines farmacológicos o cosméticos.<sup>6</sup>

No obstante las consideraciones expuestas, algunas sustancias no pueden penetrar a través del EC por difusión, alcanzar el estrato germinativo “viviente”, llegar a la dermis y acceder a la circulación sistémica a partir de los capilares que irrigan esta zona. En función de sus características fisicoquímicas y de otros factores que dependen de la tecnología farmacéutica con que han sido formuladas, diversas sustancias quedan retenidas en la superficie de la piel sin prácticamente penetrar en el interior de la misma; en estos casos el activo de uso cosmético o farmacéutico queda adsorbido en la piel. En otros casos, tras su aplicación sobre la piel mediante formulación adecuada, las sustancias permean hasta un cierto nivel, quedando retenido antes de atravesar la dermis. Cabe considerar también como vías de paso de sustancias a través de la piel los anexos, es decir, las zonas anatómicas en las que la epidermis pierde su continuidad.

Las rutas de acceso de fármacos a través de la piel se enlistan a continuación y se representan en la Figura 8:<sup>6</sup>

a) Transepidérmica, es decir a través del EC, con sus dos vertientes:

Intercelular y transcelular.

La primera refiriéndose al camino que siguen las sustancias exógenas entre las células y la segunda camino que siguen las sustancias exógenas a través de las células.

b) Transpendicular, que a su vez puede desglosarse en:

- Transfolicular, a través de los folículos pilosos y las glándulas sebáceas.
- Transudorípara, a través de los conductos y glándulas sudoríparas

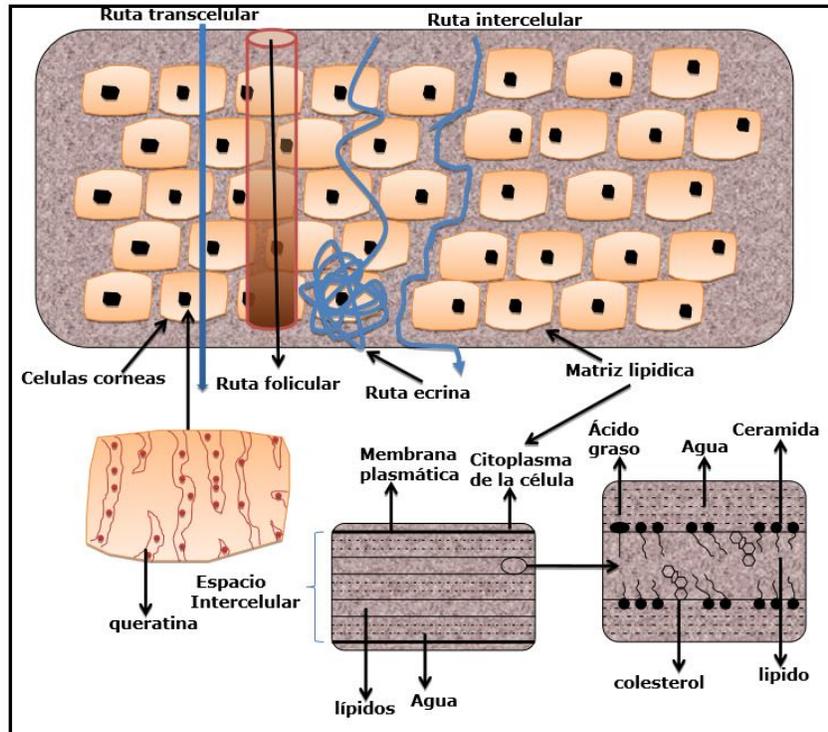


Figura 8. Rutas de acceso a fármacos.<sup>4</sup>

El paso a través de los anexos cutáneos puede ser importante para moléculas polares<sup>7,8</sup> de elevado peso molecular, que penetran lentamente a través del EC. Se considera que durante un corto periodo de tiempo inmediatamente después de la administración, es la principal vía de difusión para estos fármacos.<sup>6</sup>

Por lo tanto la penetración de los fármacos a través de los dominios lipídicos del EC es un proceso lento, seguido de una rápida difusión a través de la epidermis viable y la dermis papilar. Las moléculas polares utilizan principalmente la ruta intracelular, mientras que las moléculas más lipofílicas atraviesan el EC por la ruta intercelular.

Aunque los mecanismos de transporte de los fármacos a través de la piel no están completamente elucidados si está bien establecido que ambos procesos son mediados por difusión pasiva. Por lo tanto la velocidad y magnitud de este transporte están gobernadas por la 1ª. Ley de Fick.

### **2.11. Factores biológicos que intervienen en la absorción percutánea de fármacos**

Están relacionados con la propia naturaleza de la piel, por lo que existe una enorme variabilidad interindividual.

La edad, es un factor importante a tener en cuenta, ya que se ha podido comprobar que la permeabilidad de la piel en individuos jóvenes es mayor que en edades avanzadas.<sup>4</sup>

Otro factor que interviene en el paso del fármaco a través de la piel es la región anatómica que sea tratada ya que el grosor de EC es variable en función de la región anatómica, siendo este mayor en las zonas del cuerpo expuestas a mayor roce, como las palmas de las manos y las plantas de los pies; estos factores explican las diferencias regionales en cuanto la absorción de los fármacos.<sup>3,4</sup>

La absorción varía según la zona de aplicación (1% en el antebrazo, 7% en la frente, 37% en el escroto, etc.). Zonas de alta absorción son las ingles, axilas y cara; zonas de baja absorción son los codos, rodillas, palmas de las manos y plantas de los pies.

### **2.12. Actividad enzimática de la piel**

La piel desempeña el papel de barrera de protección frente al medio externo. Por ello, está expuesta de forma directa y continua a una gran variedad de estímulos y agentes externos tanto físicos como químicos (radiaciones, agentes químicos, sustancias medioambientales, fármacos, etc). Las células cutáneas poseen una gran capacidad para metabolizar los xenobióticos, lo que confiere a la piel su función protectora, pero a su vez la convierte en diana de los intermediarios reactivos que localmente se puede producir.<sup>9</sup> Se ha descrito recientemente la expresión de un gran número de isoenzimas del citocromo P-450 (CYP) en los distintos tipos de células cutáneas: células de Langerhans, queratinocitos, fibroblastos y melanocitos. Entre las enzimas identificadas en el EC se incluyen: lipasas, proteasas, fosfatasas y glicosidasas. La actividad catabólica de las enzimas en los folículos pilosos es particularmente grande. Mientras la actividad epidermal de la CYP en la piel es de alrededor del 1-5% comparada con la del hígado, la actividad de transferasas puede ser 10 veces más alta que la de valores hepáticos. Hay ciertas isoenzimas como CYP1A1, 1B1 y 2E1 que se expresan en los cuatro tipos de células, siendo el CYP1B1 uno de los mayoritarios, mientras que la expresión de otros isoenzimas CYP2A6, 2B6, 2C8, 2C18, 2C19, 3A4, 2D6, 3A5, 3A7, y 4B1 presenta una gran variabilidad, que depende tanto del tipo celular, como del genotipo y la edad de cada individuo.<sup>3</sup> Tal es el caso del CYP2B6, cuya expresión disminuye con la edad. Los

queratinocitos expresan de forma constitutiva el CYP3A5, mientras que no lo hace la isoenzima CYP4A11, pero puede ser inducido por la radiación ultravioleta, además los CYPs inducibles muestran una potente respuesta a inductores modelo. El CYP2B19 es la primer isoenzima extra hepática identificada como específico de la piel, cuya expresión constitutiva es muy elevada en una población de queratinocitos diferenciados de las glándulas sebáceas, llamados sebocitos. La identificación del ácido araquidónico como sustrato del CYP2B19 sugiere una función endógena de los queratinocitos en la generación de lípidos bioactivos y en la señalización intracelular.<sup>3</sup>

Es un hecho conocido que los productos cosméticos y los fármacos producen reacciones alérgicas a nivel cutáneo, en las que la activación metabólica desempeña un papel muy importante, ya que la formación de aductos fármaco/metabolitos-proteína cutánea parece ser la causa de la patogénesis de estas reacciones alérgicas. En la piel se puede producir la bioactivación de los fármacos tanto si son administradas por vía transdérmica, cada vez más utilizada para fármacos que ejercen su acción terapéutica a nivel sistémico, como si son administrados por vía sistémica sufriendo en la piel un metabolito secundario. Por tanto, los efectos adversos (alergia, toxicidad, mutagénesis, etc.) de los fármacos a nivel cutáneo, puede ser la consecuencia del metabolismo no solo a nivel cutáneo sino también en otros órganos.<sup>3</sup>

### **2.13. Vía de administración transdérmica**

La vía transdérmica es una ruta atractiva para la administración sistémica debido a la accesibilidad de la piel y a la aceptación por parte del paciente. Para que un principio activo en contacto con la piel alcance la circulación sistémica, debe atravesar las diferentes estructuras que la componen, hasta alcanzar el territorio de la microcirculación dérmica, situado en la frontera entre la epidermis y la dermis, de tal manera que a partir de ahí, el fármaco sea rápidamente arrastrado hacia la circulación general.

La primera barrera que el fármaco encuentra al tratar de atravesar la piel sería el EC, como conjunto de células queratinizadas, organizado en varias capas, de naturaleza principalmente lipofílica. Superada ésta, se encuentra la segunda barrera, integrada por la agrupación epidermis/dermis, en la que la absorción es mucho más fácil, dado su carácter hidrofílico.<sup>6</sup>

El principal mecanismo por el que se produce la penetración del EC es el de la simple difusión molecular, vía intracelular, a favor de un gradiente de concentración. La absorción

global queda también limitada a una pequeña cantidad de producto (generalmente menor a los 10 mg/día), por la reducida superficie de aplicación de los dispositivos transdérmicos.<sup>6</sup>

#### **2.14. Mecanismos para incrementar la absorción percutánea**

Existen activos no apropiados para la aplicación percutánea. Esto puede ser consecuencia de:

- (i) Sus características fisicoquímicas (excesivo tamaño, excesiva carga eléctrica, insuficiente solubilidad, tendencia a causar irritación directa, etc.)
- (ii) Sus características cinético / dinámicas

Debido a que nuestra piel por sus características propias opone resistencia natural al paso de sustancias exógenas se hace necesario incluir en el vehículo de formulaciones transdérmicas sustancias que incrementen la partición y difusión de sustancias lipofílicas o hidrofílicas hacia y a través de la barrera de permeabilidad de la piel conocidas como agentes promotores de penetración o moduladores de la penetración.<sup>6</sup>

Actualmente se han desarrollado formulaciones transdérmicas que tratan de garantizar la calidad de la terapia farmacológica a los pacientes, estas formulaciones tópicas tienen la ventaja de evitar el incumplimiento terapéutico por parte del paciente, se administra menos cantidad total de activo minimizando así efectos colaterales locales y sistémicos.

Además de que se logra menor potenciación o reducción de la actividad del principio activo pues se reducen efectos secundarios ya que se permite el uso adecuado de sustancias de vida media corta; también se evita la inactivación por enzimas digestivas y el efecto del primer pasó hepático.<sup>6</sup>

Mejora la eficiencia del tratamiento, puesto que proporciona niveles plasmáticos estables y por consiguiente cura o controla la enfermedad más rápidamente así mismo mejora la biodisponibilidad de algunos activos, estas y otras ventajas e inconvenientes de esta vía se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica.<sup>6</sup>

Ventajas	Desventajas
Mayor control de liberación de fármaco, por lo que se alcanzan concentraciones en sangre más duraderas y se evitan situaciones de toxicidad o ineficacia terapéutica, en caso de activos con un estrecho margen terapéutico.	No son susceptibles de administrarse por esta vía activos con baja actividad intrínseca, es decir, que precisen dosis elevadas.
Disminuyen al máximo algunos efectos secundarios derivados de la administración oral, ya sea por la obtención de niveles plasmáticos más sostenidos o al evitar pasar por zonas de gran actividad metabólica como el sistema gastrointestinal.	Posible existencia de irritación, eritema o sensibilización cutánea en la zona de aplicación, causado por el propio activo, por adhesivos o excipientes utilizados en la formulación.
Evitan efecto de primer paso hepático.	A nivel tecnológico los costos son elevados.
Incremento en los intervalos de dosificación, facilitando así el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente.	
Se puede interrumpir con facilidad la entrada de fármaco al organismo si aparecen efectos adversos o tóxicos.	

Entre las propiedades que tienen importancia para la elaboración de sistemas de liberación controlada se encuentran:

Propiedades Físicoquímicas del fármaco

- Solubilidad acuosa y pKa
- Coeficiente de partición
- Estabilidad del activo

Propiedades biológicas

- Absorción
- Distribución

- Vida media y eliminación biológica
- Efectos adversos
- Magnitud de la dosis
- Tamaño molecular y difusividad

## 2.15. Promotores físicos y químicos de la penetración transdérmica

Debido a las características del EC se han buscado maneras de promover el paso de fármacos a través de este, para solucionar este problema se han tratado de incorporar sustancias que incrementen la penetración, aceleradores o promotores dentro de los dispositivos para uso transdérmico o dermatológico.

Existen diferentes mecanismos para promover el paso de fármacos a través de la piel, clasificándose a los APP en dos grupos: los promotores químicos (PQ) y los promotores físicos (PF).<sup>2</sup>

PQ: Los promotores químicos de penetración (PQP) son sustancias que poseen idealmente la única propiedad de reducir reversiblemente la barrera del estrato córneo, permitiendo que el fármaco alcance las capas más internas y en un tiempo tal, que se obtenga el efecto terapéutico deseado.<sup>2</sup>

Los promotores pueden actuar de la siguiente manera: incrementando la fluidez de las bicapas lipídicas de la piel, extracción de lípidos intercelulares, interacción con componentes proteicos, alteración de la barrera enzimática, incremento de la actividad termodinámica, co-difusión del promotor y del soluto e incremento de la hidratación del estrato corneo.<sup>2</sup>

Existen diferentes clasificaciones de los promotores químicos siendo la más utilizada la clasificación por estructura química representable en la tabla 4.

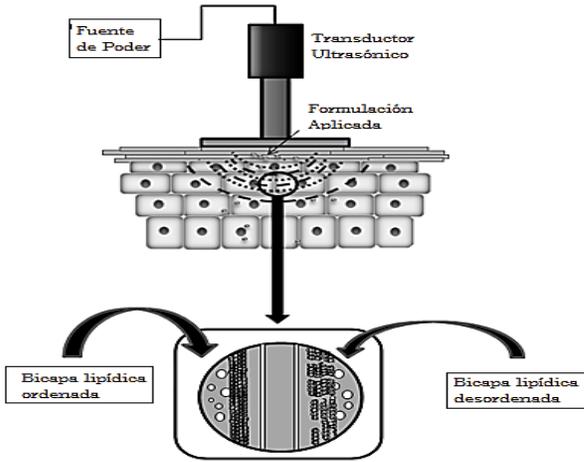
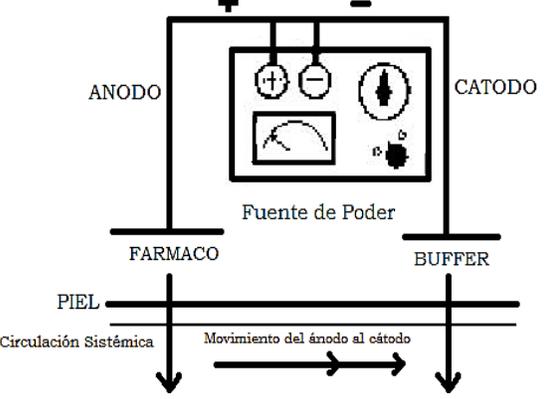
Tabla 4. Clasificación de los promotores por su estructura química.<sup>2,3</sup>

Familia	Función
Alcoholes de cadena corta	Capacidad de mojar y distorsionar la estructura de los lípidos del estrato córneo.

Alcoholes de cadena larga	Capacidad de plastificar la superficie de la piel.
Amidas	Interaccionan en la estructura lipídica de la piel.
Aminoácidos	Interaccionan a nivel de la estructura proteica de la piel.
Azona ®	Es un derivado del caprolactam que fluidifica los lípidos de los canales intercelulares y presenta actividad intrínseca antiinflamatoria.
Aceites esenciales	Fluidifican y disrumen los lípidos del estrato córneo aumentando el coeficiente de reparto del fármaco entre el estrato córneo y el vehículo que lo contiene. Algunos de los más usados son el eucalipto y carvone.
Ácidos grasos y esteres de ácidos	Actúan interaccionando con los lípidos del estrato córneo pero también con la estructura proteica. Entre los más representativos se encuentran el ácido láurico y el ácido oleico.
N-alkilpirrolidonas	Humectan la estructura del estrato córneo y facilitan la absorción del activo.
Macrólidos	Aumentan la solubilidad del fármaco en la superficie de la piel y facilitando su absorción.
Sulfóxidos	Fluidifican los lípidos del estrato córneo, el más conocido es el dimetilsulfóxido.
Otros	Moléculas que no pertenecen a ninguna de las familias anteriores y pueden utilizarse como promotores. Se encuentran la oxazolinas, imidazol y derivados.

PF: Este tipo de promotores son mínimamente invasivos, actuando ya sea mediante remoción del estrato córneo alterando la permeabilidad de la piel induciendo cambios en la estructura de lípidos, proteínas y moléculas como se muestra en la tabla 5. Estos métodos se llevan a cabo usando una fuerza mecánica, utilizando corriente eléctrica o ultrasonido.<sup>2</sup>

Tabla 5. Promotores físicos de penetración transdérmica.<sup>2</sup>

<p style="text-align: center;"><b>Sonoforesis (ultrasonido)</b></p> 	<p>Facilita la permeación básicamente por dos vías: folículos pilosos y glándulas sudoríparas.</p> <p>Varios fenómenos pueden producirse en la piel tras la exposición de ultrasonido: cavitación, efectos térmicos, inducción de transporte convectivo y efectos mecánicos.</p>
<p style="text-align: center;"><b>Iontoforesis y Electroporación</b></p> <p>El tipo de moléculas que atraviesan la piel por efecto electroosmótico son moléculas con carga positiva ya que la piel tiene carga negativa debido a su composición, en segundo lugar moléculas con carga neutra y por ultimo moléculas con carga negativa.</p> 	<p>Iontoforesis se aplica voltaje (&lt;100V por periodos largos). Debido al gradiente del potencial eléctrico utilizado, altera la permeabilidad de la piel induciendo cambios en la estructura de lípidos, proteínas y moléculas. El transporte se hace por medio de los poros de la piel, constituidos por folículos pilosos, conductos de las glándulas sudoríparas y sebáceas que actúan como puentes de difusión. La principal vía de transporte es por los poros incluyendo los ductos de las glándulas sudoríparas y los folículos pilosos.</p> <p>Electroporación se aplica voltaje (100–1000V durante milisegundos). La principal vía de transporte es por vía transcelular</p>

	debido al alto voltaje aplicado.
<p style="text-align: center;">Microagujas</p> 	Son agujas de tamaño pequeño (del orden de micras). Las ventajas al romper el EC: Incrementan la permeabilidad, favorecen el transporte transdérmico y esto permite que no existan limitaciones a nivel de polaridad de las moléculas o pesos moleculares de las mismas.

### 2.15.1. Microagujas como promotores físicos.

Con el fin de incrementar la permeabilidad de fármacos a través de la piel se han realizado muchos estudios de liberación, que han hecho énfasis en las microagujas, las cuales han demostrado incremento en la permeabilidad de la piel a un gran número de moléculas y nanopartículas en estudios *in vitro*. Estudios *in vivo* han demostrado la liberación de oligonucleótidos y reducción de los niveles de glucosa en sangre por efecto de la insulina. Para estos estudios, los arreglos de microagujas se han utilizado para realizar agujeros en la piel e incrementar el transporte por difusión, también se han desarrollado micro inyecciones de insulina en ratas diabéticas demostrando su eficacia en la reducción de niveles de glucosa en sangre.<sup>2</sup>

La figura 9 muestra un parche transdérmico HP-Crospon con microagujas basado en la tecnología de inyección de tinta, este dispositivo tiene un chip inteligente que controla la dosificación de los fármacos.<sup>2</sup>

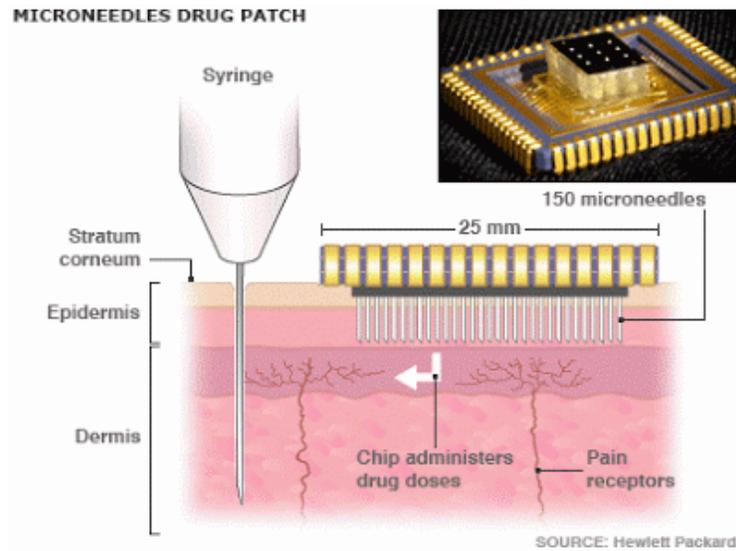


Figura 9. Dispositivo de microagujas con bomba de HP-Crospon.<sup>2</sup>

### 2.15.2. Clasificación de las microagujas

Existen microagujas biodegradables y no biodegradables, sólidas y huecas a estas últimas se les introduce fármaco para ser liberado. El motivo principal del uso de las microagujas, es que pueden proporcionar un medio de invasión mínima para el transporte de moléculas en la piel. En la figura 10 se observan los diferentes métodos de cómo utilizarlas y la manera en que se liberan una vez atravesado el estrato córneo, como es el “poke with patch” que se enfoca en el uso de microagujas para hacer agujeros y luego aplicar un parche transdérmico a la superficie de la piel.

Otro enfoque es el denominado “coated and poke”, donde las agujas son primero recubiertas con el fármaco y luego son insertadas en la piel. No hay depósito del fármaco en la superficie de la piel, todo el fármaco que se libera está en las propias agujas. Una variante de este segundo método es “dip and scrape” donde las microagujas primero se sumergen en una solución con el fármaco y luego se raspa toda la superficie de la piel para dejar el fármaco dentro de las micro abrasiones creadas por las agujas.<sup>3,4</sup>

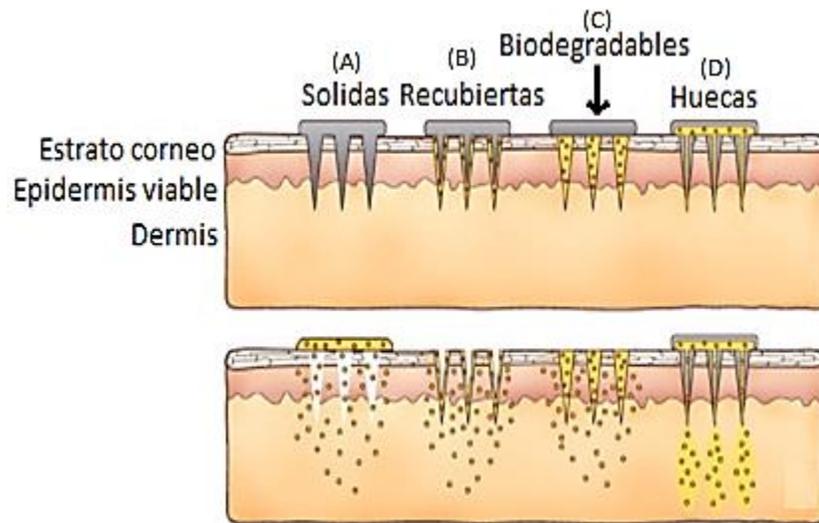


Figura 10. Aplicaciones de las microagujas sobre la piel A) Inserción de las microagujas, posteriormente la aplicación de un parche transdérmico, B) Inserción de microagujas recubiertas con fármaco, C) Inserción de microagujas fabricadas con polímeros biodegradables, las cuales contienen fármaco que es liberado al biodegradarse las microagujas, D) Inserción de microagujas huecas sobre la piel seguida de la infusión de líquidos (similar a una inyección).

### 2.15.3. Ventajas y desventajas del uso de microagujas

Este tipo de promotor de penetración físico presenta varias ventajas así como algunos inconvenientes que se mencionan a continuación en la tabla 6.

Tabla 6. Ventajas y desventajas de las microagujas <sup>2,3</sup>

Ventajas	Desventajas
Las microagujas entregan el fármaco sin dolor alguno a comparación de las agujas convencionales. Debido a que la anatomía del estrato córneo proporciona la oportunidad a las microagujas de perforar la capa sin estimular los nervios.	Solo microagujas con la geometría correcta y propiedades físicas son capaces de adquirir la rigidez necesaria para insertarse en la piel.

Pueden ser producidas teniendo una gran precisión, exactitud y un bajo costo.	Algunos diseños requieren únicamente de la inserción con la mano, mientras que otras se benefician de la inserción de alta velocidad.
Permiten la dosis exacta de medicamentos, esto basado en la tecnología de HP de inyección de tintas.	Cuando la fuerza necesaria para la inserción es demasiado grande, las agujas pueden romperse o doblarse antes de producirse la inserción.
Son de uso fácil y seguro, las lesiones que provocan son mínimas al compararlas con las agujas convencionales que provocan sangrados.	Las microagujas necesitan herramientas de la microindustria y la microelectrónica para producirse de forma masiva
Se evita el efecto metabólico de primer paso.	Pueden causar irritación en la piel y en algunos casos desarrollar alergias.
Duración de acción prolongada.	
Aumento del intervalo de tiempo de actividad del fármaco, reducción de dosis y por tanto de reacciones adversas.	
Comodidad de administración.	
De gran interés en aquellos fármacos con una corta semivida de eliminación.	
Posibilidad de eliminar el sistema de administración de forma instantánea.	
Eliminación de la variabilidad asociada a la vía oral.	

## 2.16. Usos y aplicaciones en el área transdérmica

En los últimos años las microagujas han demostrado tener un alto impacto en la permeación de diferentes moléculas de la piel, de una manera mínimamente invasiva, se ha investigado ampliamente en estudios *in vivo* e *in vitro* probando diferentes tipos y longitud de microagujas dando así una opción terapéutica para pacientes con diabetes mellitus o para ser utilizadas en la fabricación de vacunas.

En la tabla 7 se describe con mayor claridad algunos fármacos y otras sustancias administradas mediante el uso de microagujas.

Tabla 7. Sustancias administradas por medio de microagujas.<sup>2,10-12</sup>

Año	Autor	Tipo y longitud de aguja(μm)	Formulación	Fármaco modelo	Membrana usada	Estudio	Resultados
1998	Henry S. et al.	Sólidas de silicón 150	Solución(PBS)	Calceína	Piel humana	<i>In vitro</i>	Incrementa hasta en 4 órdenes la magnitud de la permeación. Potencial para estudio de macromoléculas
2005	Xie Y. et al.	Silicón 130	Película de quitosan	Calceína, Seroalbumina Bovina (BSA)	Piel de rata (abdominal)	<i>In vitro</i>	La permeación de ambos fármacos fue mejorada. Las películas de quitosan tienen una liberación controlada.
2005	Park J.et al.	Poliméricas biodegradables (PGA) 600	Solución (PBS)	Calceína, Seroalbumina bovina( BSA)	Piel humana	<i>In vitro</i>	Dependencia de la composición del arreglo. Incrementa 2 órdenes con arreglos de 20 microagujas, 3 órdenes con arreglo de 100 microagujas
2006	Widera G. et al.	Titanio 225,400 y 600	Parche adhesivo	Ovalbumina (OVA)	Piel de cuyo	<i>In vitro</i>	La longitud no afecta significativamente la respuesta inmunológica a ninguna dosis. Eficiencia de liberación: 48-58%
2006	Wu X. et al.	Solidas de acero inoxidable 160.	Solución	Isocianato de Fluoresceína (FITC) Dextran(FD), FD-4,FD-10 o FD-40	Piel de rata (abdominal)	<i>In vitro</i>	Incrementa la permeabilidad en más de 10 órdenes.

2006	Ito Y. et al.	Polisacáridos hidrosolubles 324.	Goma de dextrina	Insulina	Piel de rata (abdominal)	<i>In vitro</i> <i>o in vivo</i>	Efecto hipoglucémico, rápida liberación de la insulina.
2007	Verbaan F. et al	Sólidas de acero inoxidable 30G, 500,700 y 900	Solución (PBS)	Cascade blue (CB), dextranecascade blue, FITC acoplado con dextran.	Piel humana (abdominal)	<i>In vitro</i>	Incremento dramático en la permeación, no se encontró diferencia significativa en la longitud de la aguja ni el peso molecular.
2008	Verbaan. et al	Policarbonato biocompatible 200 y 500	Gel (carbopol 940, 1%)	Calceína	Piel de rata	<i>In vitro</i>	Incrementan la permeación de calceína 5.46 ordenes
2008	Donnelly R.	Sólidas de silicón 270	Parche bioadhesivo	Ácido 5-aminolevulínico (ALA)	Piel de cerdo	<i>In vitro</i> <i>e in vivo</i>	Incremento en el flujo de ALA 2.39 órdenes aproximadamente
2009	Guohua L. et al.	Sólidas de maltosa 500 y 200	solución	IgG humana, anticuerpos monoclonales	Piel de rata calva	<i>In vitro</i>	Existe una respuesta inmune. La longitud de la microaguja al igual que el tamaño del arreglo afecta la respuesta inmune.
2009	Ham M et al.	Sólidas biodegradables recubiertas de ácido pili-l-láctico (PLLA)880	Solución	Ovalbumina (OVA)	Piel de rata (dorsal)	<i>In vitro</i>	Mientras más microagujas haya en el arreglo y más largas sean inducirán una mayor respuesta de anticuerpos

2009	Chen X et al.	Sólidas de silicón 30,60 y 90	Solución de metil celulosa y poloxámero 188	Proteína de huevo de pollo OVA, BSA	Piel de ratón (oreja)	<i>In vitro</i> <i>e In vivo</i>	Incrementa significativamente la respuesta inmune, in vivo el proceso de secado por gas-yet asegura un recubrimiento uniforme
2010	Cui Ping Z et al.	Sólidas 250, 500 y 1000	-	insulina	Piel de rata	<i>In vivo</i>	Rápida reducción de los niveles de glucosa en menos de 1 h. Microagujas de 500 o de menor longitud son seguras y muy útiles para la aplicación de insulina <i>in vivo</i>
2011	Guptaa J et al.	Sólidas 500, 750	Solución salina	-	Piel humana	<i>In vivo</i>	El uso de microagujas reduce el dolor
2012	Liua S. et al	Sólidas 800	Ácido hialurónico	Insulina	Piel de rata	<i>In vivo</i> <i>e In vitro</i>	Es un método efectivo y seguro para administrar insulina así como son estables con insulina de -40 a 40 C°
2013	Chen M et al.	Sólidas	Quitosan y L-lactide-co-D,L-lactide PLA	Ovalbumina	Piel de cerdo y piel de rata (dorsal)	<i>In vivo</i> <i>e In vitro</i>	Útiles para depositar o encapsular antígenos, proporcionan una inmunidad sostenida.
2013	Serrano Castañeda P. et al	Sólidas metálicas de 1 y 2 mm	Película de quitosan.	Pravastatina	Piel humana (abdominal)	<i>In vitro</i>	Incremento significativo en la permeación.
2014	Marie G. McGrath . et al	Sólidas biodegradables 280 µm	Diferentes azucares (trehalosa,fructo	Ketoprofeno	Piel de cerdo y oreja de ratón	<i>In vivo</i> <i>e In vitro</i>	Los excipientes modulan la liberación

			sa, rafinosa) diferentes polímeros (polivinil alcohol, PVP, CMC, HPMC y alginato de sodio)				
2014	Youssef W et al.	Sólidas 500 µm		5-fluorouracil (5-FU)	Piel de ratón	<i>In vivo</i> <i>e In</i> <i>vitro</i>	Incremento de la penetración del 5-FU en 4.5 veces

## 2.17. Métodos para cuantificar fármacos a través de la piel

La absorción percutánea ha sido estudiada usando métodos *in vivo* e *in vitro* ya sea en piel humana o de animales. Estos métodos nos permiten estimar la concentración de fármaco o fármacos penetrantes a través del estrato córneo.

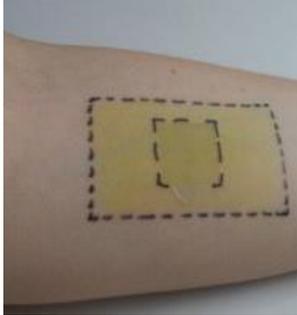
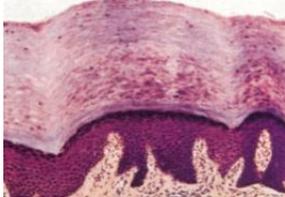
Teóricamente los experimentos *in vitro* presentan un fácil control ya que el investigador puede concentrarse en un número pequeño de componentes que le permite simplificar el sistema de estudio. El objetivo de la experimentación *in vitro* es entender la cinética del paso de las moléculas a través del cuerpo y dentro del cuerpo.<sup>13</sup> En el caso de los estudios de difusión *in vivo* intervienen diferentes parámetros como el sexo y la edad. Los cuales están mediados por el individuo.<sup>2</sup>

### 2.17.1. Métodos *in vivo*

Tape Stripping: La técnica de remoción del EC mediante el uso de cintas (tape stripping) es ampliamente aceptado y utilizado para examinar la localización y distribución de sustancias dentro del estrato córneo, estudio de la cinética y la profundidad de penetración de las mismas (Tabla 8). Varios factores pueden influir en la cantidad de estrato corneo que se extrae en un trozo de cinta, como el tamaño de cinta de extracción, la hidratación de la piel, la cohesión entre las células, la parte del cuerpo en la que se aplica la formulación y las diferencias interindividuales. Sin embargo, hay pocos datos disponibles sobre la influencia de surcos en la epidermis humana en la técnica de extracción por arrastre de cinta.<sup>14</sup>

Tabla 8. Técnica de Tape Stripping.<sup>2</sup>



<p>Se selecciona y se limpia la superficie de piel.</p>	
<p>Se colocan las cintas adhesivas.</p>	
<p>Después del tiempo de aplicación se remueven las cintas.</p>	
<p>Se procede a pesar cada una de las cintas con estrato córneo.</p>	
<p>Por diferencia de peso, se determina la cantidad de estrato corneo removido por la cinta.</p>	

Se procede a cuantificar la cantidad de fármaco contenido en las cintas.



Este método también facilita la información de la cinética de liberación transdérmica de fármacos, ya que ofrece una fácil metodología no invasiva para el muestreo de tejido de la piel y es la base de la dermatofarmacocinética. Sin embargo, la validación y la optimización del procedimiento no son de forma rápida.<sup>15</sup>

Microdiálisis: Es una técnica de recolección de muestras en sitios específicos utilizando una membrana semipermeable que se utiliza para evaluar especies químicas de los espacios extracelulares en diferentes tejidos, en la figura 11 se ilustra el equipo utilizado para la realización de la microdiálisis <sup>16</sup>. En la microdiálisis el fármaco es evaluado en un proceso continuo el cual refleja una relación entre la concentración obtenida y la del sitio de implantación de la membrana de microdiálisis. En contraste con las farmacocinéticas tradicionales en sangre o en tejido, la evaluación es por tiempo establecido.<sup>17</sup> Las principales limitaciones de esta técnica son el reflejo de la interacción entre el fármaco en estudio (basado en sus propiedades fisicoquímicas, hidrosolubilidad/ liposolubilidad, pka, etc.), las características del líquido de diálisis así como la relación entre el tamaño molecular del fármaco y el tamaño del poro de la membrana de diálisis<sup>2</sup>. La mayoría de las membranas de microdiálisis solo son permeables a componentes hidrofílicos de bajo peso molecular.<sup>18</sup>



Figura 11. Equipo de microdiálisis

Biopsia cutánea: La biopsia cutánea representa un método que permite evaluar la cantidad de fármaco que penetra a través de las diferentes estructuras de la piel en función del tiempo. Sin embargo, este método, solo permitiría evaluar la penetración al tiempo de la toma de muestra.

Se puede realizar colocando una película adhesiva de cianoacrilato en la piel que polimeriza, al retirarlo se desprende el estrato corneo y se calcula la cantidad de principio activo que penetro en el estrato corneo. Otra forma de hacerlo es marcar cierta área de la piel y succionar mediante vacío por lo que se separa la dermis de la epidermis acumulándose entre ellas liquido linfático, dando la apariencia de formación de “blísteres” o ampollas, la cantidad de activo se cuantifica tanto en el líquido linfático, la epidermis y la dermis. El uso de biopsias de piel para cuantificar fármacos, al ser un proceso invasivo no ha sido desarrollada ampliamente esto debido al malestar e incomodidad que genera en el paciente.<sup>2</sup> En la figura 12 se representan las técnicas de muestreo en piel.

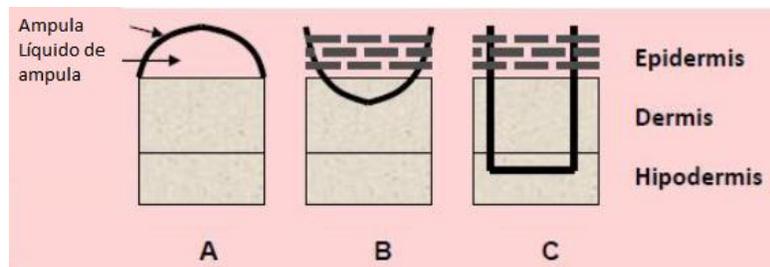


Figura 12. Esquema de la técnica de muestreo de la piel (A) Succión por blíster (B) Biopsia por raspado (C) Biopsia de piel

### 2.17.2. Métodos *in vitro*

Celdas de difusión: Este tipo de técnica es ampliamente utilizada ya que permite la cuantificación de fármacos y la permeación de ellos a través de diferentes membranas. Este sistema se compone por dos cámaras, una donadora y una receptora, separadas por una membrana de origen animal, humano o sintética que permite evaluar la difusión de moléculas biológicamente activas de una cámara a otra. En el compartimiento superior se coloca la membrana que contiene el compuesto activo y en el inferior se toman las muestras correspondientes, que posteriormente se cuantifican con métodos analíticos como UV o HPLC. Entre los parámetros que influyen en la difusión de dicho compuesto,

están la temperatura, la velocidad de agitación, el tipo y la naturaleza de la membrana y el medio del compartimiento receptor. <sup>3,6</sup>

Las celdas tipo Franz permiten evaluar la cinética de liberación a partir de diferentes sistemas farmacéuticos, especialmente aquellos que siguen una liberación controlada de moléculas biológicamente activas; entre estos se encuentran los complejos obtenidos a partir de interacciones ácido-base entre un polielectrolito y una molécula con capacidad de ionizar, dando lugar a materiales con propiedades fisicoquímicas diferentes a las de los compuestos precursores y, por ende, haciendo necesaria su caracterización en diferentes aspectos, incluyendo el comportamiento de su liberación.<sup>19</sup> Estos sistemas son de gran utilidad en el área farmacéutica debido a que su aplicabilidad permite la determinación de la cinética de liberación, la solubilidad y la estabilidad.<sup>2</sup>

En la figura 13 se observan los componentes de la celda. Esta celda mide la difusión de los principios activos a través de la piel humana que se obtiene previamente. El pedazo de piel (A) está sostenido por piezas de teflón (B). La solución receptora está contenida en el compartimiento inferior (C) y es sacada de manera regular por un brazo lateral (D). La homogenización de la fase receptora está asegurada por una agitación magnética (E).

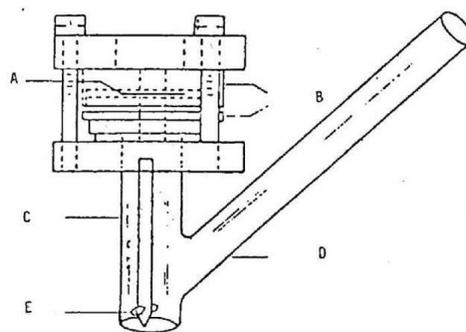


Figura 13. Celda tipo Franz

Modelo de aislamiento y perfusión de la piel: En este sistema se consideran la mayoría de los procesos metabólicos y funciones normales de la piel, tal y como si fuera *in vivo*, se realiza tomando piel abdominal del animal de experimentación (cerdo), se cose la piel conectando venas y arterias de tal forma que se tiene un tubo, posteriormente se coloca un sistema de oxigenación de venas y arterias (O<sub>2</sub> al 0.5%) con agitación y anticoagulante, se aplica la sustancia a estudiar y se procede a la cuantificación en el

medio (en este caso, la sangre)(Ver Figura 14). Además, se colocan sensores de presión, pH y se alimenta con glucosa y albumina. Se debe agregar un antibiótico para evitar el crecimiento de microorganismos. <sup>6</sup>

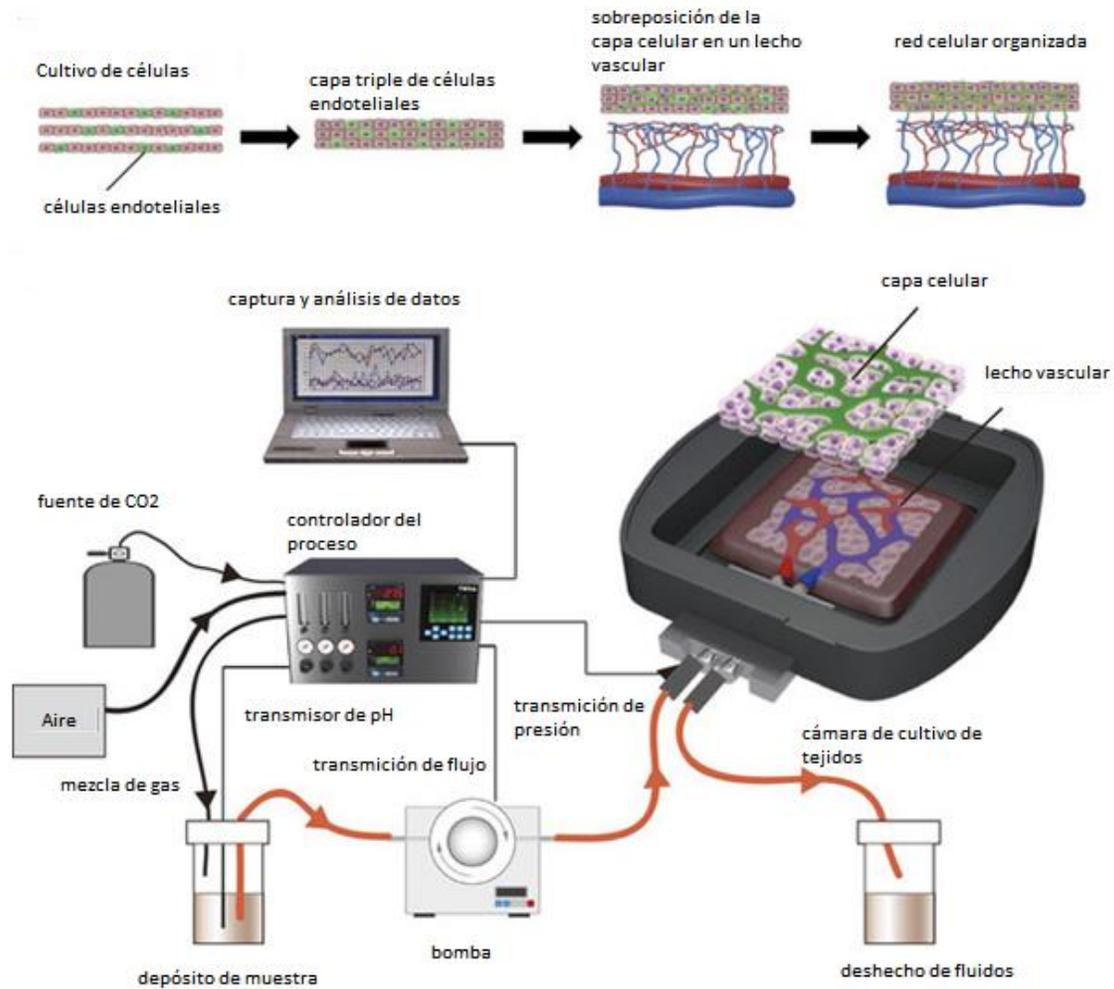


Figura 14. Modelo de aislamiento y perfusión de la piel utilizando un cultivo celular.<sup>20</sup>

## 2.18. Dislipidemias

El colesterol es una molécula de gran importancia que está presente en todos los seres vivos, cumple con funcionamientos esenciales como la formación de membranas celulares, precursor de las hormonas esteroidales y la formación de los ácidos biliares.<sup>21</sup> Los niveles de colesterol en la sangre y su metabolismo están determinados, en parte, por características genéticas del individuo y en parte por factores adquiridos, tales como la dieta, el balance calórico y la actividad física. El colesterol, por ser hidrofóbico, debe ser transportado en la sangre en partículas especiales que contienen tanto lípidos como proteínas, a estos componentes se les conoce como lipoproteínas. Las lipoproteínas están clasificadas como:

Lipoproteínas de baja densidad (LDL): son lipoproteínas de baja densidad que tienen aproximadamente un diámetro de entre 20 a 25 nm y una densidad entre 1.019 y 1.063. Las LDL contienen entre el 60 y 70% del colesterol total del suero y están directamente correlacionados con el riesgo de enfermedad coronaria.

Lipoproteínas de alta densidad (HDL): son lipoproteínas de alta densidad tienen un diámetro aproximado de 20 a 25 nm y una densidad de 1.063 y 1.210.

Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL): se les conoce como poliproteínas de muy baja densidad que tienen un diámetro aproximado de 30-100 nm y una densidad de 0.940 y 1.019. Su componente lipídico principal son los triglicéridos que representan el 52%, son de origen endógeno y contienen un 22% de colesterol libre y esterificado.<sup>22</sup>

En México la prevalencia de la hipertensión es muy alta debido a que está estrechamente relacionada con la presencia de la obesidad y diabetes mellitus, según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición en el 2012 (tomando en cuenta los criterios establecidos para la población de 20 años y más) se reportó que por cada 100 personas, 33.3 hombres presentan hipertensión y 30.8 mujeres presentan el mismo padecimiento provocando un conjunto de patologías que caracterizan a las dislipidemias, como lo son las alteraciones en las concentraciones de los lípidos sanguíneos que son componentes de las lipoproteínas circulantes y que significa un riesgo para la salud.<sup>23</sup>

### 2.18.1. Clasificación de las dislipidemias.

La clásica clasificación de Fredrickson divide a las hiperlipidemias en seis grupos según los patrones de aumento de lípidos y de lipoproteínas: I, IIa, IIb, III, IV y V (tabla 9). Una clasificación más práctica distribuye las dislipidemias en dos grupos, primarias o secundarias. Las dislipidemias primarias responden a mutaciones genéticas [cambios en la secuencia de bases nitrogenadas del ácido desoxirribonucleico (ADN)] y se sospechan cuando se producen signos de dislipidemia en niños, en enfermedades ateroscleróticas prematuras (en menores de 60 años) y con niveles de colesterol en sangre por encima de 6,2 mmol/L.<sup>24</sup> Las dislipidemias secundarias son aquellas vinculadas a enfermedades como la diabetes mellitus, hipotiroidismo, alcoholismo, obesidad y pancreatitis.<sup>24</sup>

Tabla 9. Clasificación de Fredrickson de las dislipidemias.<sup>24</sup>

Tipo	Lipoproteína aumentada	Lípidos aumentados
I	Quilomicrones	Triglicéridos
II a	LDL	Colesterol
II b	LDL y VLDL	Colesterol y triglicéridos
III	VLDL y IDL	Colesterol y triglicéridos
IV	VLDL	Triglicéridos
V	Quilomicrones y VLDL	Colesterol y triglicéridos

Se utiliza también una clasificación clínica de estas patologías de la siguiente manera:

- 1) Hipercolesterolemia aislada
- 2) Hipertrigliceridemia aislada
- 3) Hiperlipidemia mixta
- 4) Déficit de HDL aislado

Para cada categoría debe agregarse la calificación de primaria, genética o secundaria.

1) Hipercolesterolemia aislada: Está asociada a patologías como el hipertiroidismo, síndrome nefrótico en etapa avanzada y colestasis. Los principales factores ambientales que contribuyen a su aparición son el consumo excesivo de colesterol, grasas saturadas, ácidos grasos trans y el uso de andrógenos, progestágenos y anabólicos de origen

endogénico. Las principales causas genéticas son la hipercolesterolemia familiar, la dislipidemia familiar combinada y la hipercolesterolemia poligénica.

2) Hipertrigliceridemia aislada: En general, corresponden a defectos leves a moderados del metabolismo de VLDL, ya que los defectos severos se expresan como hiperlipidemia mixta, debido al contenido significativo del colesterol de las VLDL. Las causas genéticas son la presencia de dislipidemias familiares combinadas, el déficit de apolipoproteína (APO) C2y lipasa proteica periférica y la sobre expresión de la APO C3. Como causas patológicas secundarias se puede mencionar a la obesidad, diabetes mellitus, insuficiencia renal y el síndrome nefrótico en sus etapas tempranas. Las causas ambientales que influyen en su aparición son el consumo excesivo de carbohidratos especialmente refinados y alcohol, el uso de betabloqueadores, estrógenos y diuréticos tiazídicos.

3) Hiperlipidemia mixta: Estas pueden tener un origen genético como las hiperlipidemias anteriores y está relacionada con la dislipidemia familiar combinada y defectos severos relacionados con déficit de APO C2 y lipasa lipoproteica periférica.

4) Déficit de HDL aislado.

Si bien los defectos genéticos son infrecuentes, se presentan asociados a una cardiopatía coronaria precoz, con niveles de colesterol de HDL bajo 25 mg/dl. La interrelación entre triglicéridos altos y colesterol HDL bajos, se expresa a niveles de triglicéridos inferiores a los niveles considerados aceptables para cada categoría de riesgo cardiovascular global y no es infrecuente encontrar un nivel del colesterol HDL igual o bajo 35 mg/dl y triglicéridos en rangos aceptables.

En aquellos casos en que se sospecha una reducción de los niveles de colesterol HDL dependiente de una alteración del metabolismo de las VLDL, todos los factores ya discutidos, como obesidad, diabetes, consumo excesivo de glúcidos, beta bloqueadores, diuréticos tiazídicos pueden están involucrados en su expresión.<sup>25</sup>

### **2.18.2. Tratamiento de las dislipidemias**

Con un apropiado diagnóstico del tipo de dislipidemia, de las enfermedades asociadas y factores condicionantes, debe indicarse un tratamiento que requiere evaluaciones periódicas generalmente de por vida. Las medidas terapéuticas comprenden:

- Tratamiento de las enfermedades o factores causales de dislipidemias secundarias si ellas están presentes (diabetes mellitus, hipotiroidismo, obesidad).
- Tratamiento no farmacológico: relacionado principalmente a dieta y actividad física. El tratamiento no farmacológico debe ser indicado y mantenido en todo paciente dislipidémico en prevención primaria o secundaria cardiovascular.
- Tratamiento farmacológico: Si las metas terapéuticas no son alcanzadas en plazos variables y razonables, debe plantearse un tratamiento farmacológico.

Antes de indicar un fármaco hipolipemiante se debe asegurar el diagnóstico con al menos 2 determinaciones del perfil lipídico.<sup>25</sup>

### **2.18.3. Tratamiento no farmacológico**

El tratamiento no farmacológico de las dislipidemias tiene por objetivo el disminuir los niveles elevados de colesterol total, niveles de LDL y triglicéridos y por consiguiente la elevación de HDL. Esto incluye la promoción de la actividad física que contribuye al logro del objetivo planteado.

Las medidas nutricionales son de gran importancia en el tratamiento del paciente dislipidémico ya que estas buscan hacer un cambio del estilo de vida del individuo. Debe considerarse la implementación de estas medidas en forma progresiva a fin de obtener una mayor adherencia al programa.

La actividad física juega un papel importante en la mejora del tratamiento ya que si se hace constantemente se obtiene una calidad de vida más sana considerando que:

- Las personas de todas las edades deben realizar actividad física de intensidad moderada (ej. caminata rápida), como mínimo durante 30 minutos, la mayoría de los días de la semana e idealmente todos los días. En general, los beneficios para la salud se incrementan con una actividad física de mayor duración e intensidad.
- Las personas sedentarias que inician un programa de actividad física deben comenzar con actividades de corta duración y de moderada intensidad, incrementando gradualmente estos dos parámetros hasta lograr la meta deseada.

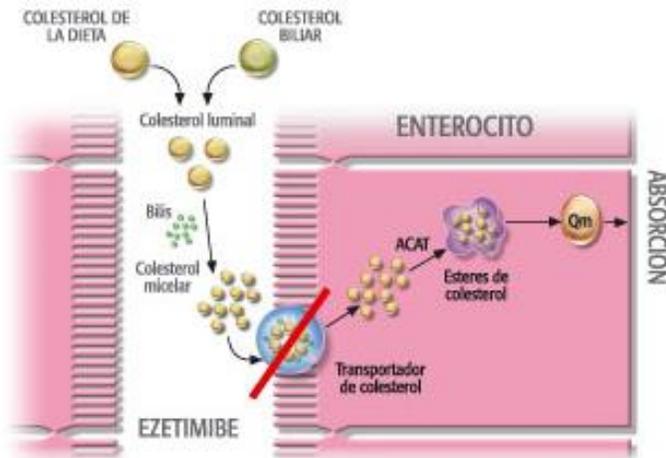
- Las personas afectadas por patologías crónicas, tales como enfermedades cardiovasculares, diabetes mellitus u otras personas de alto riesgo de tener estas patologías, deberán consultar con su médico antes de iniciar un programa de actividad física, quien realizará una evaluación y recomendará el tipo de programa más adecuado.

#### **2.18.4. Tratamiento farmacológico**

El principal objetivo de los fármacos antihiperlipidémicos es mejorar los niveles de los lípidos en sangre, algunos de estos fármacos actúan disminuyendo la producción de lipoproteínas acarreadoras de colesterol y triacilglicéridos, otras sin embargo incrementan la degradación de lipoproteínas. Algunos fármacos pueden disminuir la absorción del colesterol o agilizar la eliminación del éste en el cuerpo. En la tabla 10 se describen los 4 grupos de antihiperlipidémicos más utilizados.

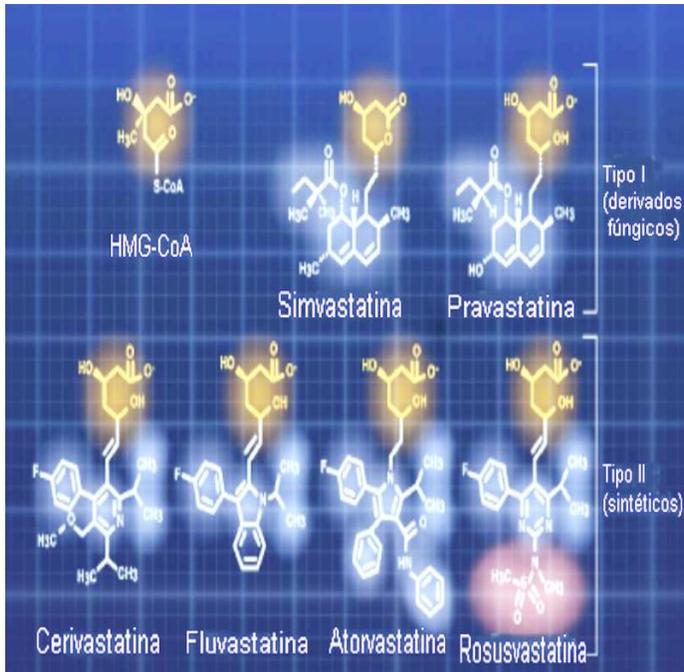
Tabla 10. Mecanismo de acción de los fármacos antihiperlipidémicos<sup>26,27</sup>

### Resinas de intercambio iónico



Su mecanismo de acción consiste en aumentar considerablemente la eliminación de sales biliares, formadas a partir del colesterol. Esto altera el metabolismo del colesterol ya que debe compensar la pérdida diaria de sales biliares. En consecuencia, descienden los niveles plasmáticos de colesterol a pesar de que aumenta su síntesis en el hígado e intestino, descienden las LDL del plasma, y aumenta su catabolismo en los tejidos, quizá porque, al disponer las células de menos colesterol, aumente el número de receptores LDL. El descenso de LDL se acompaña a veces de un aumento de VLDL y triglicéridos, sobre todo en pacientes con hipertrigliceridemia. Ejemplos: colestiramina, colestipol, filicol y detaxtrano.

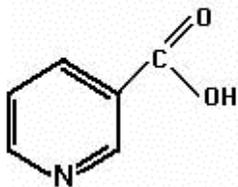
## Inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG CoA)



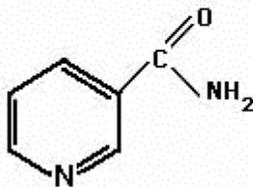
La síntesis del colesterol se basa en la unión enzima-sustrato que se lleva a cabo entre la HMG-CoA (sustrato) y la HMG-CoA reductasa (enzima) dando como resultado la aparición del ácido mevalónico y por lo tanto la síntesis de colesterol. El farmacóforo presente en la estructura de las estatinas es semejante a la estructura de la HMG-CoA haciendo parecer a las estatinas como un falso sustrato de manera que no solo hay una competencia sino que también se propicia a una inhibición que evita la formación de mevalonato y por lo tanto de colesterol. La cantidad de colesterol intracelular guarda una relación inversa con la velocidad de síntesis de los receptores celulares para las LDL, la reducción de la concentración intracelular de colesterol provocada por estos inhibidores ocasiona la estimulación de la síntesis de receptores de LDL y su expresión en la superficie de las células hepáticas. Estos receptores cumplen la función de captar en las células hepáticas no sólo a las LDL sino también a sus precursores, las VLDL y sus remanentes VLDL cuya hidrólisis producen las LDL.

## Ácido nicotínico

Vitamina PP o B<sub>3</sub> o niacina



ácido nicotínico



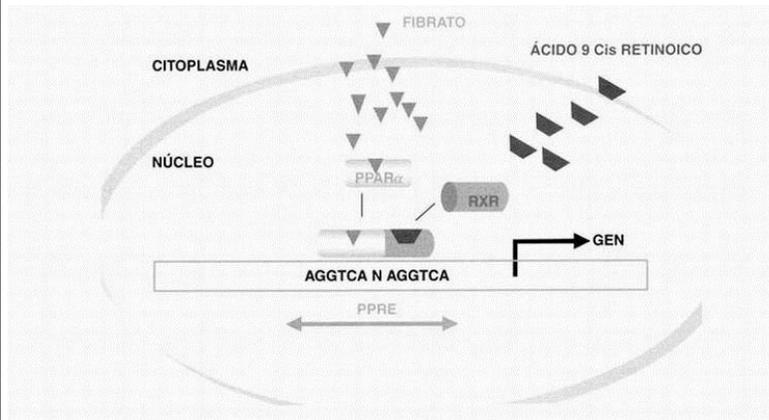
nicotinamida

A dosis elevadas, el ácido nicotínico disminuye en un 40% las VLDL, reduciendo así los triglicéridos del plasma y el colesterol. Reduce en un 20% el colesterol de las LDL pero incrementa en un 20% el colesterol de las HDL. En conjunto se disminuye tanto los triglicéridos como el colesterol.

El ácido nicotínico reduce la producción y la secreción hepáticas de VLDL y, por consiguiente, la producción de LDL. Esto al parecer se debe a los siguientes mecanismos:

*a)* inhibición del sistema lipasa intracelular en el tejido adiposo, lo que reduce el flujo de ácidos grasos hacia el hígado; *b)* disminución de la incorporación de aminoácidos en las apolipoproteínas de las VLDL; *c)* aumento del aclaramiento de las VLDL por acción de la lipoproteín-lipasa; *d)* al movilizarse el colesterol de los tejidos, aumenta su eliminación por la bilis, pero, además, parece que existe una inhibición directa de la síntesis hepática de colesterol, lo que estimula la captación hepática de LDL.

## Derivados del ácido fenoxiisobutírico



Los fibratos se caracterizan por estimular el llamado receptor activado por proliferador de peroxisomas (PPAR), un receptor nuclear de tipo II que pertenece a la familia de los receptores tiroideo, del ácido retinoico y de la vitamina D. La estimulación del PPAR consigue la regulación de genes de varias enzimas implicadas en el metabolismo de lipoproteínas ricas en triglicéridos, como son las VLDL, incrementando la hidrólisis de triglicéridos y el catabolismo de las VLDL.<sup>1</sup>

La acción de los fibratos sobre el PPAR tiene una última consecuencia: aumentar en grado variable los niveles plasmáticos de HDL y sus principales constituyentes, las apo-AI y apo-AII. Además de actuar sobre las lipoproteínas del plasma, el clofibrato reduce el fibrinógeno y la viscosidad del plasma, mejora la fibrinólisis y reduce la adhesividad plaquetaria; además, el bezafibrato mejora la tolerancia a la glucosa y el fenofibrato reduce el ácido úrico. Todos ellos favorecen la eliminación de colesterol en la bilis e incrementan el índice litogénico, con aumento potencial en la incidencia de litiasis biliar.

## 2.19. Pravastatina

La pravastatina es un fármaco hipolipemiante derivado de la lovastatina, presenta un anillo hexahidronaftaleno, al que se unen un estermetilbutirico y un hidroxiaácido, que pueden formar una lactona de 6 miembros como se observa en la figura 15.

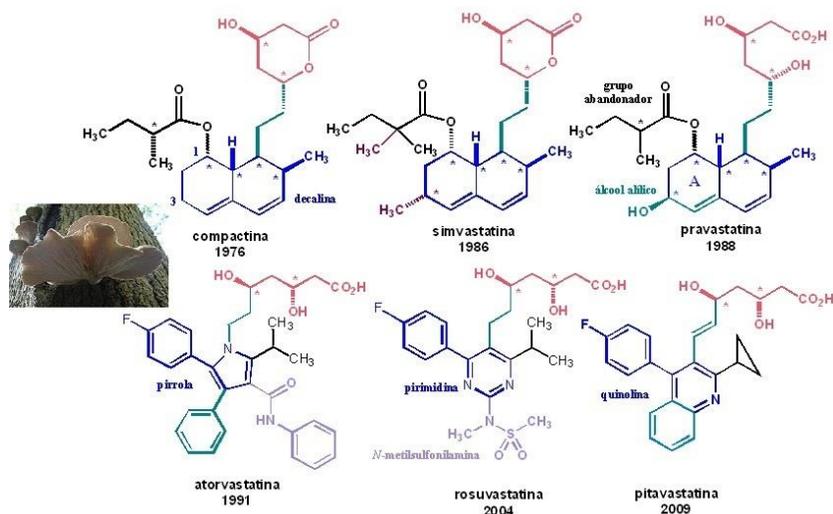


Figura 15. Estatinas

La pravastatina es un fármaco de clasificación biofarmacéutica clase I que está indicado para disminuir los niveles de colesterol total y de LDL acompañado de medidas no farmacológicas que incluyen una dieta balanceada y ejercicio continuo.<sup>2</sup> Se utiliza en pacientes con enfermedad coronaria e hipercolesterolemia grave o moderada para retardar la progresión de la enfermedad arterioesclerótica y para prevenir el infarto agudo de miocardio. En pacientes con infarto de miocardio previo y niveles normales de colesterol para prevenir el riesgo del infarto; disminuir la necesidad de revascularización del miocardio y reducir el riesgo de accidentes cerebrovasculares, de isquemia transitoria o para prevención del infarto agudo de miocardio en pacientes con niveles de colesterol altos o moderados, sin evidencia de cardiopatía coronaria, mayores de 45 años y con al menos otro factor de riesgo cardiovascular asociado como el tabaquismo, diabetes mellitus, hipertensión, etc.<sup>28,29</sup> Esta estatina es caracterizada por sus diferentes propiedades químicas, físicas, farmacológicas etc, como se muestra a continuación en la tabla 11.

Tabla 11. Propiedades de la pravastatina.<sup>4,30-32</sup>

<b>Físicas</b>	Polvo cristalino, color blanco, inodoro
<b>Químicas</b>	Soluble en agua, metanol, relativamente soluble en cloroformo, éter, acetona y acetonitrilo. Peso molecular de 446.5 g/mol. Fórmula condensada : C <sub>23</sub> H <sub>36</sub> O <sub>7</sub>
<b>Farmacológicas</b>	Indicado para disminuir los niveles de colesterol total y LDL colesterol, acompañado de medidas no farmacológicas que incluyen dieta, ejercicio y reducción de peso. Cardiopatía coronaria: Se utiliza en pacientes con enfermedad coronaria e hipercolesterolemia grave o moderada para retardar la progresión de la enfermedad arterioesclerótica y para prevenir el infarto agudo de miocardio. En pacientes con infarto de miocardio previo y niveles normales de colesterol para prevenir el riesgo del infarto; disminuir la necesidad de revascularización del miocardio y reducir el riesgo de accidentes cerebrovasculares y de isquemia transitoria. Prevención de cardiopatía coronaria: Para prevención del infarto agudo de miocardio en pacientes con niveles de colesterol altos o moderados, sin evidencia de cardiopatía coronaria, mayores de 45 años y con al menos otro factor de riesgo cardiovascular asociado como el tabaquismo, diabetes mellitus, hipertensión, etc.
<b>Farmacocinética</b>	<p>Se absorbe rápidamente, con niveles plasmáticos máximos alcanzados tras 1 a 1.5 horas después de su administración vía oral. Aunque la presencia de alimentos en el tracto gastrointestinal reduce la biodisponibilidad sistémica, el efecto hipolipemiante del fármaco es similar tanto si se administra con la ingesta o sin ella.</p> <p>La pravastatina tiene un importante efecto de primer paso hepático, que es su principal lugar de acción y órgano fundamental en la biosíntesis de colesterol y aclaramiento de c-LDL. Los estudios <i>in vitro</i> han demostrado que la pravastatina es transportada al interior de los hepatocitos, con una captación por otras células sustancialmente inferior. Las concentraciones</p>

	<p>plasmáticas de pravastatina son directamente proporcionales a la dosis administrada, no habiéndose demostrado acumulación del fármaco.</p> <p>Aproximadamente 50% del fármaco circulante, está unido a proteínas plasmáticas. La vida media de eliminación plasmática (vía oral), es de 1.5 a 2 horas. Aproximadamente, el 20% de la dosis oral marcada se excreta en orina y 70% en heces.</p>
<b>Farmacodinamia</b>	<p>Tiene un extenso metabolismo de primer paso a nivel hepático siendo éste el sitio primario de acción. La concentración plasmática máxima se alcanza alrededor de 1 a 1,5 horas. La presencia de alimentos no afecta la respuesta terapéutica de la pravastatina aunque sí disminuye la biodisponibilidad sistémica. La unión a proteínas plasmáticas de la pravastatina es de aproximadamente el 50% y tiene una vida media de eliminación plasmática de 1,5 a 2,0 horas en sujetos sanos y de 2,0 a 3,0 horas en pacientes hipercolesterolémicos. La pravastatina se excreta principalmente por las heces hasta un 70% y en menor proporción por la orina en un 20% aproximadamente. El principal metabolito es el 3 hidroxí-isómero, el cual posee actividad inhibitoria sobre la HMG-CoA reductasa en un 10% hasta un 40% que el compuesto original. El fármaco y / o sus metabolitos pueden acumularse en los pacientes con insuficiencia renal o hepática. Una cantidad insignificante del fármaco se distribuye a la leche materna</p>
<b>Reacciones Adversas</b>	<p>Algunas reacciones adversas de las estatinas son:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Problemas gastrointestinales</li> <li>Cefaleas</li> <li>Neuropatías</li> <li>Hepatotoxicidad</li> <li>Miopatías</li> </ul>
<b>Interacciones</b>	<p>La colestiramina y/o el colestipol pueden disminuir la biodisponibilidad de la pravastatina cuando se usan</p>

<b>Farmacológicas</b>	concomitantemente. La combinación de estatinas con fibratos, ácido nicotínico, inmunosupresores y posiblemente con eritromicina, puede incrementar los efectos adversos sobre el sistema musculo esquelético (miositis, rabdiomiólisis, elevación de CPK). No existe información disponible acerca de las interacciones entre eritromicina y pravastatina. Algunos antiácidos del tipo aluminio y magnesio pueden reducir la biodisponibilidad de la pravastatina mientras que la cimetidina la incrementa. El uso de algunas estatinas junto con anticoagulantes orales como la cumarina pueden incrementar el riesgo de sangrado y el tiempo de protrombina.
-----------------------	--

### 2.19.1. Posología de la pravastatina.<sup>32</sup>

Usualmente la pravastatina se administra por vía oral una vez al día, preferiblemente por la noche, sin tener en cuenta la ingesta de alimentos.

Hipercolesterolemia: el intervalo de dosis recomendado es de 10 mg a 40 mg una vez al día. La respuesta terapéutica se evidencia en una semana y la respuesta máxima a una dosis determinada se alcanza transcurridas cuatro semanas, por lo que deben realizarse determinaciones periódicas de los lípidos y se debe ajustar la dosis en consecuencia. La dosis máxima es de 40 mg al día.<sup>32</sup>

Prevención cardiovascular: en todos los estudios de morbi-mortalidad, la única dosis de inicio y mantenimiento estudiada fue de 40 mg al día.

Posología después de trasplantes: después de un trasplante de órgano, se recomienda una dosis inicial de 20 mg al día en los pacientes que reciben tratamiento inmunosupresor. Dependiendo de la respuesta de los parámetros lipídicos, la dosis puede ajustarse hasta 40 mg bajo estrecha supervisión médica.<sup>32</sup>

Niños: la información sobre eficacia y seguridad en pacientes menores de 18 años es limitada; por lo tanto la administración de la pravastatina no se recomienda en estos pacientes.

Pacientes ancianos: no es necesario ajustar la dosis en estos pacientes a menos que haya factores de riesgo predisponentes.

Insuficiencia renal o hepática: en pacientes con alteración moderada o grave de la función renal o con alteración hepática significativa se recomienda administrar una dosis inicial de 10 mg al día. La dosis debe ajustarse según la respuesta de los parámetros lipídicos y bajo supervisión médica.<sup>32</sup>

Tratamiento concomitante: el efecto hipolipemiante de la pravastatina sobre el colesterol total y el colesterol-LDL aumenta cuando se asocia con una resina secuestradora de ácidos biliares (p. ej., colestiramina, colestipol). La pravastatina debe administrarse una hora antes o, al menos, cuatro horas después de la resina. Los pacientes en tratamiento con ciclosporina con o sin otros medicamentos inmunosupresores, deben iniciar la terapia con 20 mg de pravastatina una vez al día y el ajuste de la dosis a 40 mg debe hacerse con precaución.<sup>32</sup>

## **2.20. Quitina y Quitosan**

El quitosan o quitosano (del griego  $\chi\lambda\tau\omega\nu$  que significa “coraza”), es un polisacárido lineal compuesto de cadenas distribuidas aleatoriamente de  $\beta$ -(1-4) D-glucosamina (unidades desacetiladas) y N-acetil-D-glucosamina (unidad acetilada).<sup>33</sup>

El quitosano fue descubierto por Rouget en 1859, quien encontró que al tratar quitina con una solución caliente de hidróxido de potasio se obtiene un producto soluble en ácidos orgánicos. Esta “quitina modificada”, como él la llamó, se tornaba de color violeta en soluciones diluidas de yoduro y ácido, mientras la quitina era verde. Más tarde, en 1894, fue estudiada por Hoppe-Seyler quién la denominó “quitosano”, pero no fue sino hasta 1950 que se identificó oficialmente como un polímero conformado de Glucosamina.<sup>33</sup>

El quitosán se produce comercialmente mediante la desacetilación de la quitina (Figura 16), que es un elemento estructural del exoesqueleto de los crustáceos (cangrejos, gambas, langostas, etc.). Su principal fuente de producción es la hidrólisis de la quitina en medio alcalino, usualmente hidróxido de sodio o de potasio, a altas temperaturas. Esta sustancia tiene una gran cantidad de aplicaciones comerciales y biomédicas.

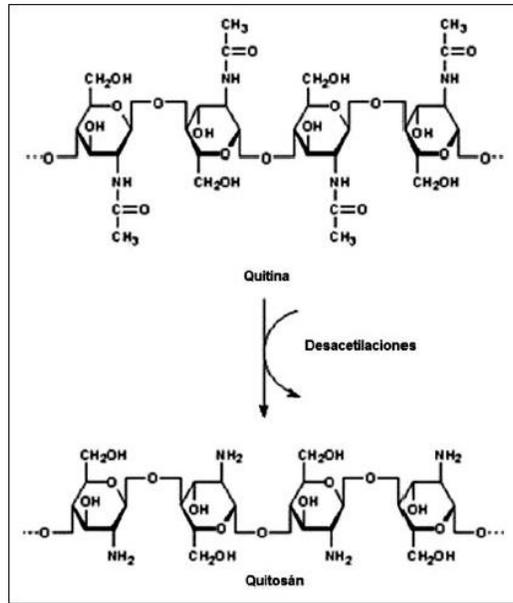


Figura 16. Desacetilación de la quitina y su producto quitosán

La desacetilación completa de la quitina produce un material totalmente soluble en medio ácido conocido como quitano, como se observa en la Fig.17; sin embargo, cuando la desacetilación del material de partida es incompleta se crea una mezcla de cadenas que tienen distintas proporciones de unidades  $\beta(1-4)$ - 2-acetamido-2-desoxi-D-glucosa y  $\beta(1-4)$ - 2-amino-2-desoxi- $\beta$ -D-glucosa, cuya relación depende de las condiciones de reacción y que, obviamente, genera materiales con distintas propiedades denominados quitosanos como lo son el quitano y el quitosán. La diferencia en las propiedades de estos materiales puede llegar a ser notable, como por ejemplo la distinta solubilidad en medio acuoso que pueden llegar a tener.<sup>34,35</sup>

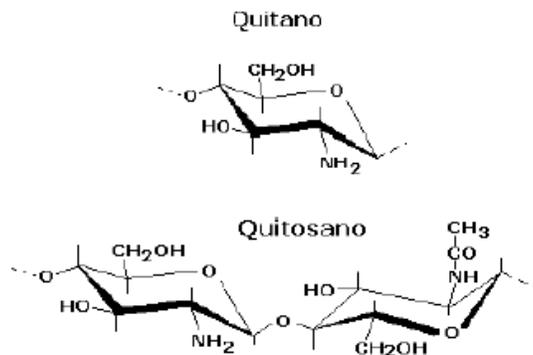


Figura 17. Estructura del quitano y quitosán

### 2.20.1. Propiedades del quitosan

- Es un polielectrolito a pH ácidos, es insoluble en agua a pH's neutros, altamente soluble en soluciones de ácido nítrico e insoluble en ácido sulfúrico a cualquier concentración y temperatura. Los mejores solventes para el quitosán son soluciones de 0.2- 100% de ácido fórmico y acético.<sup>35</sup>
- Su grado de desacetilación puede ser determinado por espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN) o por titulación potenciométrica; en el quitosán se halla en el intervalo de 60-100%.<sup>36</sup>
- Al poseer grupos amino libres (-NH<sub>2</sub>) hace que el quitosán tenga propiedades policatiónicas. Por su carga positiva, interactúa con muchos compuestos que tienen cargas negativas como por ejemplo: polisacáridos aniónicos, proteínas, ácidos nucleicos dando una neutralidad eléctrica.<sup>37,38</sup>
- Tiene un valor de pKa aproximado de 6,5.<sup>37,38</sup>
- El quitosan es bioadhesivo y puede ligarse positivamente a las superficies cargadas negativamente tales como las membranas mucosas. Debido a esta propiedad física, permite el transporte de fármacos polares a través de las superficies epiteliales.<sup>39</sup>
- Es biocompatible, biodegradable, buen adsorbente, no tóxico y presenta diversas propiedades biológicas como: actividad antimicrobiana, inmunogénica, antitumoral, anticoagulante, cicatrizante, efecto de disminución del colesterol, entre otras lo cual lo hace que presente múltiples aplicaciones médicas.<sup>36</sup> Sus propiedades dependen del peso molecular y del grado de desacetilación.<sup>35</sup>
- El quitosán se emplea principalmente como una ayuda en el crecimiento de las plantas, debido a sus propiedades como sustancia que permite promover la defensa de las plantas contra infecciones provocadas por hongos. Su uso ha sido aprobado por muchos cultivadores de plantas de interior y exterior.<sup>35</sup>
- Dado su bajo índice de toxicidad y su abundancia en el medioambiente, el quitosán no es dañino ni para el ser humano ni para los animales de compañía, siempre que se emplee de acuerdo con las indicaciones establecidas.

Como puede observarse el quitosan tiene una gran variedad de propiedades que pueden ser aprovechadas para el desarrollo de diversos productos, como se observa en la figura 18.

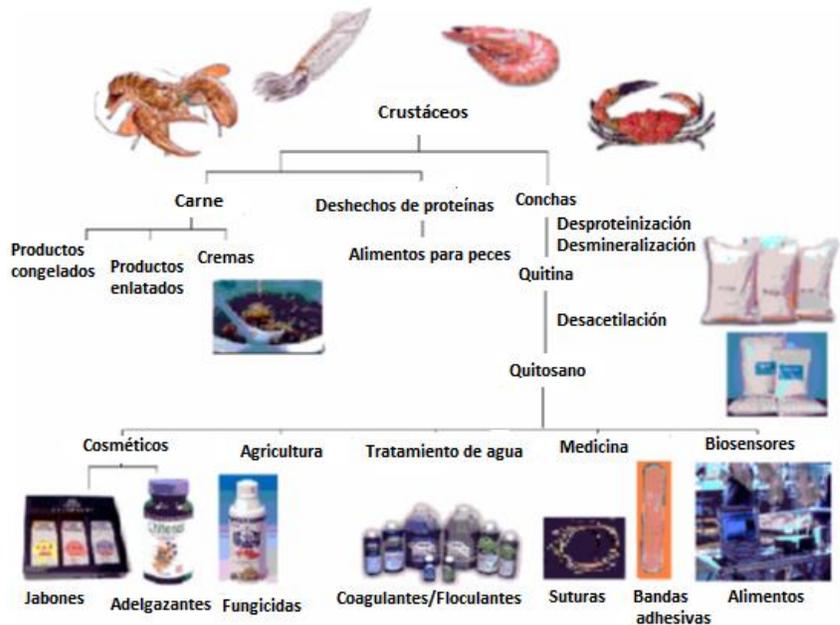


Figura 18. Esquema general para el aprovechamiento de crustáceos en el desarrollo de aplicaciones a partir de sus subproductos quitina y quitosán.

### 2.20.2. Aplicaciones del quitosán

El quitosán es un biopolímero muy estudiado debido a sus potenciales aplicaciones en diferentes campos de la ciencia y la tecnología.

Ese interés proviene de sus propiedades anteriormente mencionadas, las aplicaciones del quitosán son muy diversas como se puede observar en la tabla 11.

Tabla 12. Principales aplicaciones del quitosán. <sup>35-40</sup>

Químicas	<p>Por la formación de complejos formados con quitosán y muchos iones es usado para la quelación de hierro, cobre, magnesio.</p> <p>Por sus grupos <math>-NH_3^+</math> el quitosán puede ser usado como floculante para remover iones de metales pesados tóxicos como la plata, plomo, mercurio y cromo.</p>
Agricultura.	<p>En el recubrimiento de semillas con películas de quitosano para su conservación durante el almacenamiento.</p>

Medicina.	<p>Para la cicatrización de las heridas.</p> <p>Al no ser tóxico y biodegradable, se usa en aplicaciones biomédicas para reducir los niveles de colesterol.</p> <p>Con la sulfatación del quitosán se puede usar como polisacáridos anticoagulantes.</p> <p>Como agente antimicrobiano y como material para la encapsulación de fármacos.</p> <p>Las proteínas recuperadas de la obtención del quitosán se usan para la dieta de animales y el cloruro de calcio recuperado se usa para la obtención de hidroxiapatita (compuesto usado para la elaboración de placas dentales y ortopedia).</p> <p>En la producción de gasas y vendajes tratados con quitosano.</p> <p>Cremas bactericidas para el tratamiento de quemaduras.</p>
Tratamiento de aguas	<p>Por su propiedad policatiónica como coagulante primario para aguas residuales de alta turbidez y alta alcalinidad, también se usa como floculante y captura de materiales pesados y pesticidas.</p>
Cosméticos.	<p>Fabricación de cápsulas para adelgazar, también como aditivo bactericida en jabones, shampoos, cremas de afeitar, cremas para la piel, pasta dental y como agente hidratante para la piel.</p>
Biosensores.	<p>Sensor para glucosa en sangre humana, basado en la inmovilización de la enzima glucosa-oxidasa sobre quitosano.</p>
Alimentos.	<p>Se usa para modificar o controlar las propiedades funcionales (como espesante, texturizante, quelante, emulsificante).</p> <p>Para inhibir el crecimiento de una amplia gama de hongos.</p>

### 3. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

#### 3.1. JUSTIFICACIÓN

Actualmente, la región de las Américas como el resto del mundo, experimenta una grave epidemia de enfermedades crónicas con alta mortalidad cardiovascular. Entre las principales causas de esta epidemia de acuerdo con reportes recientes, se encuentran factores de riesgo asociados a estilos de vida, como un bajo consumo de frutas y verduras, inactividad física y tabaquismo. Las dislipidemias se encuentran entre los 8 principales factores de riesgo de mortalidad por enfermedad cardiovascular en México.<sup>41</sup> Si bien es cierto que para revertir este problema se requiere de políticas y programas multisectoriales y con enfoque preventivo, el papel del médico de primer contacto debe ser decisivo en la identificación de un problema de salud que por lo general se comporta como un padecimiento silencioso, que no produce síntomas y que podría controlarse con medidas relativamente sencillas cuando es correctamente diagnosticado.<sup>41</sup>

Dada la rápida transición epidemiológica que experimentó México en las últimas décadas, gran parte de los médicos de primer contacto formados en este período, cuentan con bases adecuadas para el manejo de infecciones, parasitosis, y problemas similares, pero en ocasiones resulta insuficiente para un adecuado manejo de enfermedades crónicas como obesidad, hipertensión, dislipidemias y diabetes mellitus.<sup>41</sup>

Por lo tanto, se necesita el desarrollo de sistemas que eviten este tipo de problemas tomándose como opción la vía de administración transdérmica, donde se emplean fármacos con determinadas características fisicoquímicas y biofarmacéuticas que presentan la capacidad de difundir a través de las membranas biológicas, dando la oportunidad de desarrollar sistemas de administración transdérmica, este es el caso de la pravastatina sódica la cual es considerada como una estatina que pertenece al grupo de fármacos antihiperlipemiantes de primera elección para el tratamiento farmacológico de dislipidemias, son relativamente accesibles para la población en general, las formas farmacéuticas comerciales son por vía oral lo que facilita su administración, pero la concentración plasmática del fármaco sufre fluctuaciones ya que este tipo de vía no evita el primer paso hepático y por lo tanto se observan problemas en su biodisponibilidad.

Surge así la necesidad de desarrollar una alternativa farmacéutica que evite este tipo de inconvenientes y que garantice la terapia de los pacientes. La vía transdérmica ha sido ampliamente utilizada debido a su fácil manipulación y a la utilización de promotores físicos y químicos que favorecen la penetración de algunos fármacos para penetrar el estrato córneo.

El uso de microagujas poliméricas biodegradables cargadas con pravastatina sódica favorecerá la penetración del fármaco a través del estrato córneo alcanzando una liberación sistémica que generaran una respuesta terapéutica. Proponiendo así, una nueva alternativa que ofrece numerosas ventajas con respecto a la administración por vía oral, ya que se puede interrumpir con facilidad la entrada de fármaco al organismo si aparecen efectos adversos o tóxicos y tienen una aplicación cómoda para el paciente.

### **3.2. HIPÓTESIS**

Al desarrollar un arreglo de microagujas elaboradas a base de polímeros biodegradables conteniendo pravastatina sódica se favorecerá el transporte del fármaco a través de la piel humana al incrementar la permeabilidad de la piel por las microperforaciones generadas en su estructura.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. OBJETIVO GENERAL**

Formular fisicoquímicamente mediante estudios de liberación, microagujas poliméricas biodegradables (quitosán/PVP) cargadas con pravastatina sódica como una nueva y posible alternativa a la vía oral existente para el tratamiento de dislipidemias para su caracterización.

### **4.2. OBJETIVOS PARTICULARES**

- Diseñar un micromolde base con un arreglo de 25 microagujas mediante la técnica de micro moldeo para la elaboración de microagujas biodegradables.
- Elaborar microagujas biodegradables utilizando 4 formulaciones, de las cuales se varían las proporciones de sus componentes (pvp, quitosán, pravastatina, ácido láctico, ácido acético y kollicoat), utilizando la técnica de micromoldeo, para su posterior caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica.

- Evidenciar la disrupción histológica que causan las microagujas sobre el estrato córneo por medio de microscopia óptica para asegurar que estas cumplen su función de promotor físico y así facilitar la penetración del fármaco hipolipemiente.
- Caracterización fisicoquímica de las microagujas elaboradas, mediante uniformidad de contenido, microscopia óptica, estudios de disolución, calorimetrías diferenciales de barrido, cinética de mezclado, pruebas de resistencia a la fractura y determinación de pH de la muestra para determinar que formulación presenta las propiedades necesarias para atravesar el estrato córneo y liberar el fármaco.
- Evaluar la liberación de pravastatina utilizando el aparato número 5 de la USP, para determinar qué tipo de liberación presentan las microagujas poliméricas biodegradables.

## 5. METODOLOGÍA.

### 5.1. Materiales.

El trabajo experimental se llevó a cabo en la Unidad de Investigación Multidisciplinaria en el laboratorio 12: "Sistemas Transdérmicos y materiales nanoestructurados" de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán-Universidad Nacional Autónoma de México.

En este proyecto de investigación se utilizaron los siguientes reactivos grado analítico que cumplen con especificaciones ACS y se muestran a continuación en la Tabla 13:

Tabla 13. Reactivos, equipo y material biológico utilizado para el desarrollo del proyecto.

Reactivos	Equipo	Material biológico
Pravastatina sódica (Donado por moléculas finas de México).	Espectrofotómetro UV-Vis (Velab) Modelo: VE-5100UV.	Piel abdominal humana de pacientes sometidos a lipectomía donada por el Hospital San Ángel Inn Chapultepec.
Polivinilpirrolidona K30 (Droguería cosmopolita).	Ultraturrax (DragonLab D-160).	
Agua destilada calidad Mili-Q (Millipore Inc).	Texturómetro (TA.XT2).	

Hidróxido de sodio (Meyer).	Calibrador Vernier (Truper CALDI-GMP).	
Fosfato dibásico de sodio (Fermont).	DSC (Mettler Toledo 822e).	
Quitosan (Sigma-Aldrich)	Disolutor (Mayasa Modelo DIS 0250) Aparato 5 de la USP.	
Ácido acético glacial (Meyer)	pHmetro (Science MED SM-3BW).	
Ácido Láctico (Meyer)	Sonicador (Velaquin 8892).	
	Balanza analítica (VELAB).	
	Microscopio óptico compuesto( Velaquin VE-B6)	
	Cámara de microscopio (Electronic Eyepice VE-MC2)	
	Balanza analítica (VELAB)	

## 5.2. Métodos.

### 5.2.1. Cinética de mezclado.

Se pesó cada uno de los componentes sólidos y se midió el volumen de solución utilizada para cada formulación, paulatinamente se mezclaron todos los excipientes sólidos y por último se añadió la solución ácida para agitar mecánicamente a 15000 rpm durante 4.5 minutos, se muestreo 1 mL transcurrido cada minuto en el fondo, en medio y en la superficie de la mezcla hasta haber transcurrido 6 minutos. Obteniendo así, 3 muestras de cada tiempo muestreado. A las muestras obtenidas se les realizaron dos diluciones de 0.5:10 y se leyeron las muestras en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 238 nm.

### 5.2.2. pH de las formulaciones.

Se determinó el pH de las formulaciones utilizando un pHmetro previamente calibrado con soluciones amortiguadoras de pH 7 y 4.

### 5.2.3. Preparación de microagujas biodegradables.

Se elaboraron micromoldes que constan de un arreglo de 25 microagujas de 0.5 mm de longitud, a estos micromoldes se les adicionó cada una de las formulaciones mostradas en la Tabla 14:

Tabla 14. Formulación de microagujas.

Formulación 1		Formulación 2		Formulación 3		Formulación 4	
PVP	11.4%	PVP	10.4%	PVP	8.9%	PVP	70%
Quitosan	1.43%	Kollicoat	10.4%	Quitosan	1.1%	Quitosan	10%
Pravastatina	0.86%	Pravastatina	0.7%	Pravastatina	0.6%	Pravastatina	10%
Solución ácido acético	86.2%	Agua	78.3%	Solución ácido acético	89.2%	Solución ácido láctico	10%

1. Se pesó los componentes sólidos y se midió la solución utilizada para cada formulación, posteriormente se dejó en agitación mecánica a 15000 rpm durante 4.5 minutos.
2. Se sónico la formulación 15 minutos para eliminar el oxígeno incorporado en la matriz y evitar defectos en la formación de las microagujas que puedan interferir con su penetración y absorción del activo por la piel.
3. Verter 1 mL de la formulación en cada micromolde
4. Se dejó secar los micromoldes a temperatura ambiente durante 48 horas.
5. Desmontar el arreglo del micromolde
6. Se almacenó en el desecador para la posterior realización de la pruebas de caracterización fisicoquímica del arreglo de microagujas poliméricas biodegradables.

### 5.2.4. Microscopía óptica.

Se examinaron muestras de cada microarreglo con un área de 5.6 cm<sup>2</sup> mediante microscopía óptica usando el microscopio óptico compuesto (Velaquin VE-B6) para verificar la presencia de cristales de fármaco que pudieran modificar considerablemente la absorción de los activos a través de la piel y de esta forma evaluar su estabilidad física.

#### **5.2.5. Resistencia a la ruptura.**

Se utilizaron 10 microarreglos con un área de 5.6 cm<sup>2</sup> por cada uno fijados en la base del texturómetro (TA.XT2) y sujetados por pinzas de la parte superior, el ensayo fue a una velocidad de pre ensayo de 2 mm/s, una velocidad de ensayo de 1 mm/s y se usó una fuerza de tensión de 1 mm a una distancia máxima de separación de 1.5 a 2 mm con una fuerza de tensión de 1 a 5 g durante 5 segundos, determinándose la fuerza a la cual se rompen las microagujas.

#### **5.2.6. Calorimetría diferencial de barrido.**

Los estudios de calorimetría se realizaron con el DSC (Mettler Toledo 822e) de -25 a 250 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min con atmósfera inerte de nitrógeno para cada uno de los componentes de la formulación de los microarreglos así como a los arreglos de microagujas evaluados.

#### **5.2.7. Determinación del contenido de principio activo en el arreglo de microagujas.**

Se utilizó un microarreglo de 25 agujas biodegradables y se disolvió en una solución de ácido láctico en tubos de extracción, sometiéndolo a ultrasonido media hora, posteriormente se dejó en agitación constante durante 24 horas para asegurar la completa extracción del fármaco en las microagujas biodegradables. Tras este período, se filtraron las muestras y se analizaron mediante espectrofotometría UV-Visible (espectrofotómetro Velab Modelo: VE-5100UV) a una longitud de onda de 238 nm.

#### **5.2.8. Estudios de Liberación sin reemplazo.**

Se utilizaron microarreglos de un área de 1 cm<sup>2</sup>, se colocaron dentro del vaso del disolutor (Aparato 5 de la USP) que contenía 900 ml de solución amortiguadora de fosfatos a pH=7.4 como medio de disolución. La temperatura se mantuvo a 37.5°C y a una agitación constante de 50 rpm durante todo el experimento. Posteriormente, se tomaron muestras de 3 mL a los 10, 15, 20 y 30 minutos y a la 1, 2, 3, 4 y 5 horas. La cuantificación de la cantidad de fármaco liberada en función del tiempo se realizó mediante espectrofotometría (Cary 100 Varian) a 238 nm con la finalidad de obtener los perfiles de liberación del activo en la matriz de polimérica.

## 6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

### 6.1. Cinética de mezclado.

Lograr un mezclado homogéneo de sólidos de diferente tamaño de partícula y densidad es de suma importancia para la industria farmacéutica ya que de esta manera se garantiza una adecuada distribución del principio activo, esto se ve reflejado en la prueba de contenido químico que se puede ver afectada si no existe una adecuada homogenización.<sup>42</sup> Debido a esto se realizó la cinética de mezclado que se muestra en la tabla 15, donde se puede observar que en el intervalo del tiempo 3 al tiempo 4 existe una disminución en desviación estándar, siendo este parámetro un indicador de la homogeneidad de la mezcla; obviamente cuanto menor sea este valor más homogénea será la mezcla. Lo mismo ocurre para el caso del tiempo 4 y 5 donde la desviación estándar se ve disminuida, sin embargo cuando el tiempo es mayor de 5 minutos, la desviación estándar y el coeficiente de variación se incrementan, viéndose reflejado en una disminución de la homogeneidad de la mezcla.

En la figura 19 se observan los resultados obtenidos de la cinética de mezclado para los microarreglos, estos indican que en 5.3 minutos podría haber una mayor homogenización de la mezcla (excipientes y activo), pero como se mencionó anteriormente a este tiempo comienza haber una menor homogeneidad. En la experimentación se utilizó un tiempo de mezclado de 4.5 minutos ya que a este tiempo se encuentra homogénea la solución.

Tabla 15. Cinética de mezclado.

Tiempo (min)	Abs arriba (nm)	Abs medio (nm)	Abs abajo (nm)	Promedio	Desviación estándar	C.V
3	0.112	0.099	0.138	0.116	0.020	17.070
4	0.083	0.095	0.084	0.087	0.007	7.624
5	0.088	0.088	0.081	0.086	0.004	4.718
6	0.075	0.08	0.107	0.087	0.017	19.711

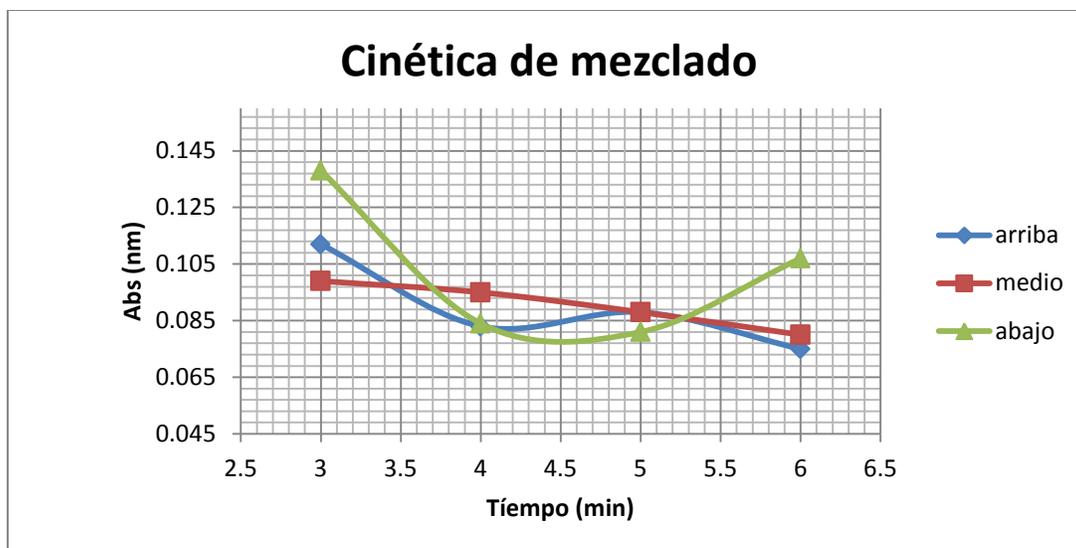


Figura 19. Cinética de mezclado. Donde “arriba” representa la parte superior del reactor, “medio” corresponde a la parte media del reactor y “abajo” es la parte inferior del reactor. <sup>2</sup>

## 6.2. Determinación de pH.

Una vez que se pesaron los componentes de cada formulación se les adiciono la solución respectiva como lo muestra la tabla 15, posteriormente se mezcló utilizando el ultraturrax. En la tabla 16 se muestran los valores de pH de cada una de las formulaciones, el cual oscila entre 4.38 y 4.67 a excepción de la formulación 2 que tiene un pH de 6.53. Los valores de pH de las formulaciones 1,3 y 4 se consideran como adecuadas ya que el pka de la pravastatina es de 4.21 y a este pH se podría asegurar que no ocurrirá una precipitación del principio activo.

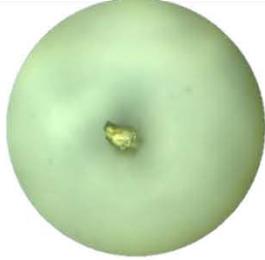
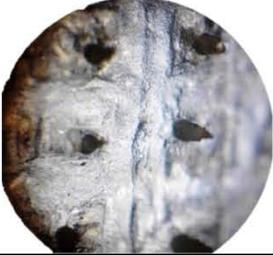
Tabla 16. pH de las 4 formulaciones.

Formulación	pH
1	4.67
2	6.53
3	4.43
4	4.38

### 6.3. Microscopia óptica.

De acuerdo a la norma oficial mexicana Nom-073-SSA1-2005.<sup>43</sup> Estabilidad de fármacos y medicamentos, la estabilidad se considera como “la capacidad de un fármaco o un medicamento de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas, en el envase que lo contiene durante su periodo de vida útil”.<sup>43</sup> La estabilidad se clasifica como química, física, fisicoquímica, microbiológica, biofarmacéutica y farmacológica. El uso de microscopia óptica es de gran utilidad para verificar la estabilidad física,<sup>43</sup> ya que con el paso del tiempo pudiera existir un cambio de coloración debido a una incompatibilidad entre los componentes de la formulación. En este caso la microscopia fue utilizada para comprobar que realmente existieran las 25 microagujas que serían utilizadas para la resistencia a la fractura y asegurar que no existiera algún tipo de grietas microscópicas que pudieran afectar su resistencia, en la tabla 17 se muestran las microscopias de las 4 formulaciones transcurridos 1,30,60 y 90 días después de su fabricación pudiendo decir que el aspecto físico se mantiene en buen estado en función del tiempo, se observó también que no existe la presencia de cristales de pravastatina sódica ni de los demás componentes esto es debido a la cinética de mezclado que se realizó al comienzo de la experimentación, una particularidad similar en todas las micrografías es la presencia de diminutos puntos amarillos característicos del quitosano pero que no comprometen la estabilidad de cada microarreglo.

Tabla 17. Microscopía de las 4 formulaciones evaluadas al día 1, 30, 60 y 90 de fabricación.

	Microscopía al día 1 de fabricación	Microscopía a los 30 días de fabricación	Microscopía a los 60 días de fabricación	Microscopía a los 90 días de fabricación	Observaciones
Formulación 1					Todas las micrografías fueron observadas a 10 X.
Formulación 2					
Formulación 3					
Formulación 4					

#### 6.4. Resistencia a la fractura y fuerza de inserción en piel.

La prueba de inserción de las microagujas es de gran importancia, esto debido a que cada microarreglo debe de tener una resistencia adecuada para poder penetrar el estrato córneo y liberar al fármaco, esta determinación se llevó a cabo en una muestra de piel humana con el fin de poder simular la penetración y posteriormente verificar con el uso de microscopia óptica las microabrasiones realizadas. Los resultados obtenidos para la resistencia a la fractura de cada microarreglo se observan en la tabla 18 en la cual se obtuvo que las microagujas más resistentes fueron de las formulaciones 3 y 4 que requieren un promedio de 502.5 g.f (gramos.fuerza) para poder fracturar un arreglo de 25 microagujas lo que se considera como una fuerza mayor a la reportada que es de 8 g.f a 304 g.f de acuerdo a Shaw P. Davis (2004) para que las microagujas penetren el estrato córneo.<sup>44</sup> Como puede observarse las dos formulaciones aparentemente presentaron una resistencia similar, la diferencia de las dos formulaciones radica en que en la formulación 3 contenía una solución de ácido acético y en la formulación 4 se usó una solución de ácido láctico como se mencionó en la tabla 14. Los resultados anteriores se pueden corroborar con la figura 20. La resistencia a la fractura de un material sólido, en este caso de las microagujas, es una función de las fuerzas cohesivas que existen entre los átomos, por ello es importante que haya una homogenización adecuada en el mezclado de las formulaciones. Esta prueba se realizó con la finalidad de verificar si es viable que un paciente pueda administrarse esta forma farmacéutica por sí misma.

Tabla 18. Resultados promedio de la fuerza necesaria para romper un microarreglo.

Formulación	Fuerza (g.f)	Área g.s	Distancia mm
1	150.3	3.977	0.36
2	392.4	64.71	1
3	502.5	88.85	1.02
4	502.5	88.85	1.02

Se realizó una inserción en la muestra de piel que se observa a continuación:

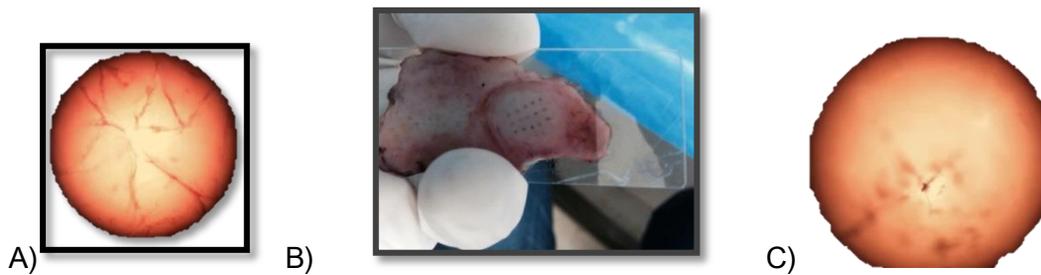


Figura 20. A) Muestra de piel humana observada a 10 X antes de la penetración B) Muestra de piel humana con microagujas insertadas C) Microabrasión creada por microaguja a 10X

### 6.5. Calorimetría diferencial de barrido

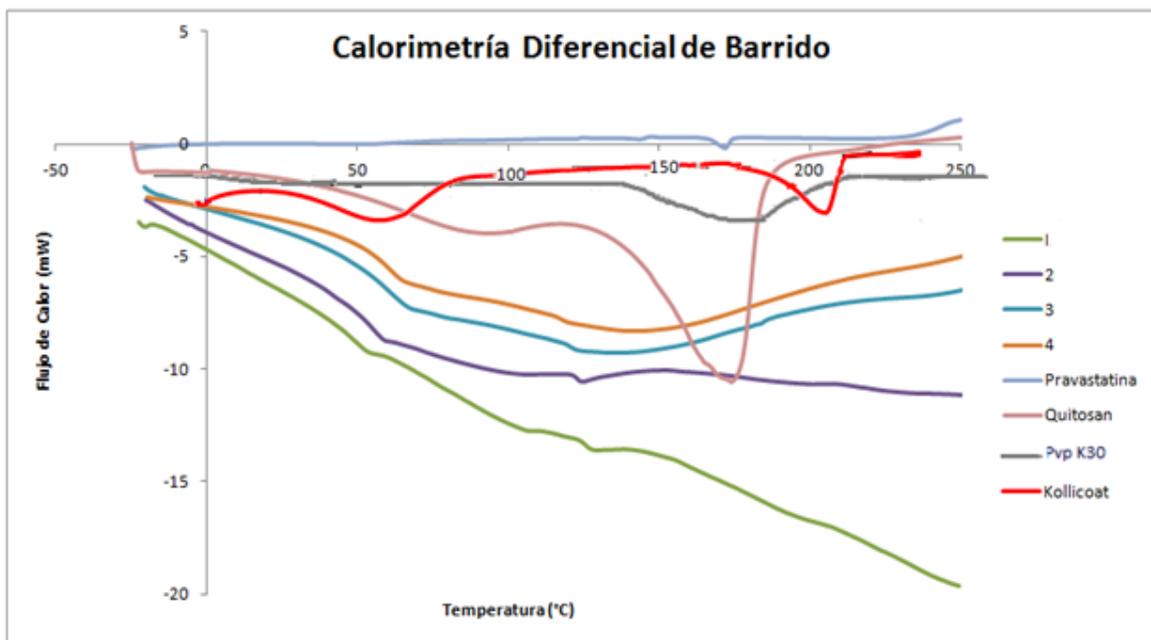


Figura 21. Termogramas de los microarreglos evaluados para los excipientes y principio activo por calorimetría diferencial de barrido.<sup>2</sup>

La calorimetría diferencial de barrido o DSC por sus siglas en inglés (Differential Scanning Calorimetry) es la técnica más común para determinar transiciones de fase en compuestos inorgánicos, polímeros y fármacos. El método consiste en proporcionar un flujo de calor, a velocidad constante, a la muestra y a un material de referencia de

composición conocida que se sabe que no tiene cambios en el intervalo de temperaturas en que se van a hacerse las determinaciones. La transmisión de calor es instantánea, por eso se trabaja con muestras muy pequeñas. Lo que se registra es la diferencia en el flujo de calor que hay que suministrar a la muestra y a la referencia para mantener la misma temperatura en ambas. Si la muestra tiene una capacidad calorífica mayor que la referencia, habrá que suministrarle más calor para permanecer constante ya que hay una diferencia en el flujo de calor suministrado que es proporcional a la diferencia de capacidades caloríficas de la muestra y de la referencia.<sup>45</sup> En los termogramas realizados (Figura 21), se observa el pico endotérmico característico del quitosán a 175 °C esto es debido al proceso de disociación del enlace de hidrógeno entre cadenas de quitosán formado entre el -NH<sub>2</sub> y el -OH.<sup>2</sup> En cuanto a la pravastatina, se observó un pico endotérmico a los 171° C correspondiente al punto de fusión que es similar al reportado por Yoges Garg et. al.<sup>46</sup> Con respecto al PVP K30, este muestra un pico a los 177°C el cual fue obtenido experimentalmente y que es similar al que se reporta en la bibliografía de 178.14° C.<sup>47</sup> En el caso del Kollicoat se observaron dos picos endotérmicos el primero corresponde a 55 °C que posiblemente corresponde al punto de fusión del polímero, esto es lógico ya que la ficha técnica de este material indica que debe almacenarse a temperaturas inferiores de 30 °C, cuando la temperatura comienza a aumentar se observa otro pico endotérmico a los 210°C que indica que el compuesto comienza a desintegrarse. En la calorimetría realizada para la formulación 1 se observó que el flujo de calor requerido para esta muestra es mayor a comparación de las demás formulaciones, esto se debe a la deshidratación de moléculas de agua atrapadas dentro de las cadenas de la matriz polimérica, ya sea que el agua este libre o ligada a grupos hidrófilos a lo largo de la cadena de la matriz del polímero esto debido a que existen redes interpenetradas de polímeros que están constituidas por dos o más redes de polímeros entrecruzados distintos, estas redes están unidas permanentes con solamente enlaces covalentes accidentales entre los polímeros o solamente por entrecruzamiento físico. El quitosán tiene la capacidad de formar tres diferentes tipos de entrecruzamiento de tipo covalente estos se muestran en la figura 22.<sup>48</sup>

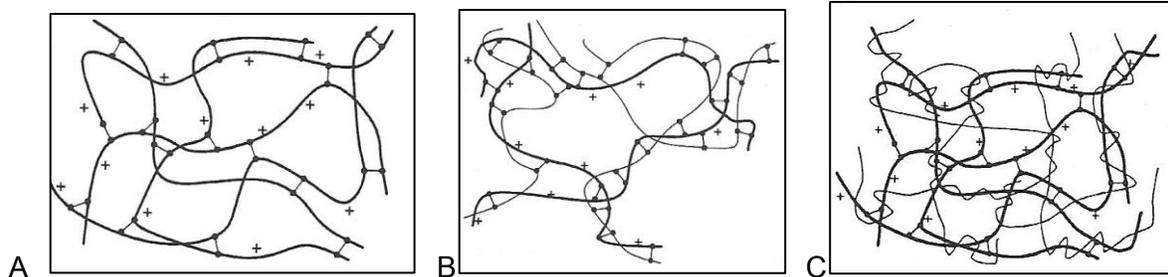


Figura 22. A) Quitosan entrecruzado consigo mismo. B) Red híbrida de polímeros. C) Semi red interpenetradas de polímeros o completa. <sup>49</sup>

En cuanto a las formulaciones 2,3 y 4 se observó un comportamiento similar, el pico endotérmico de la formulación 2 se observó a los 59 °C lo que probablemente corresponde al kollicoat,<sup>49</sup> conforme aumenta la temperatura se observa otro pico endotérmico a los 124.6 C° lo que probablemente indique que a partir de esta temperatura la formulación comienza a degradarse. En la formulación 3 se observó un pico endotérmico a los 67°C lo cual se debe al uso de ácido láctico y a los 121°C la formulación se empieza a degradar. En la formulación 4 se observó un pico endotérmico a 65.5°C y comienza a degradarse a los 119.1°C. En estas tres formulaciones se puede corroborar que la pravastatina sódica queda atrapada en la matriz polimérica de quitosan y pvp por lo que se determinó que las tres formulaciones posiblemente presentan una estabilidad en función del tiempo para poder conferir la resistencia necesaria de llegar al estrato córneo.

## 6.6. Determinación del contenido químico en el arreglo de microagujas.

Los resultados del análisis del contenido químico de pravastatina sódica en cada microarreglo se muestran en la tabla 19.

Tabla 19. Contenido químico de pravastatina por cada microarreglo evaluado.

Contenido químico				%
muestra	absorbancia(nm)	concentración mg/ml	diluciones mg	concentración
1	0.315	0.069240899	13.84817977	106.5244598
2	0.326	0.071577248	14.31544964	110.1188434
3	0.297	0.065417782	13.08355635	100.6427411
4	0.338	0.074125993	14.82519859	114.0399892
5	0.301	0.066267363	13.25347266	101.9497897
6	0.289	0.063718619	12.74372372	98.02864397
7	0.29	0.063931014	12.7862028	98.35540612
8	0.312	0.068603713	13.72074253	105.5441733
9	0.307	0.067541736	13.50834714	103.9103626
10	0.289	0.063718619	12.74372372	98.02864397
X	0.3064	0.067414298	13.48285969	103.7143053
DE	0.016601205	0.003526019	0.70520389	5.424645308
CV	0.054181478	0.052303733	0.052303733	0.052303733

Esta prueba es de gran importancia para el desarrollo de una forma farmacéutica ya que con ello se está garantizando la calidad y la correcta distribución del principio activo en toda la matriz polimérica del arreglo de microagujas. Fueron determinadas las absorbancias y las concentraciones considerando las diluciones realizadas y posteriormente el porcentaje del contenido en cada micromolde, a estos resultados se les determino el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación, observando así que la desviación estándar de 5.42% está dentro de los parámetros señalados por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos que declara que para los sistemas transdérmicos es necesario demostrar que el porcentaje de concentración se encuentra dentro del intervalo de 85,0 a 115,0 % del valor declarado y ninguna unidad debe estar fuera del intervalo de 75,0 a 125,0 % del valor declarado, la desviación estándar relativa es menor o igual a 6,0 %.<sup>50</sup> Estos resultados de uniformidad de contenido se obtuvieron posteriormente de haber realizado una cinética de mezclado con la finalidad de encontrar el tiempo óptimo de mezclado en el cual se tenía una menor variación del contenido químico de pravastatina sódica en la formulación que generó el microarreglo, sin embargo se observó que se obtuvo un 114.03% en la muestra 4 esto debido a que el tiempo de

mezclado fue de 4.5 minutos y no de 5 minutos como se explicó en cinética de mezclado. Se realizó un barrido espectrofotométrico que se puede observar en los anexos en el cual se aprecia que solo la pravastatina sódica es capaz de dar una absorbancia a los 238 nm a diferencia de los demás componentes de la formulación.

#### 6.7. Estudios de liberación sin reemplazo.

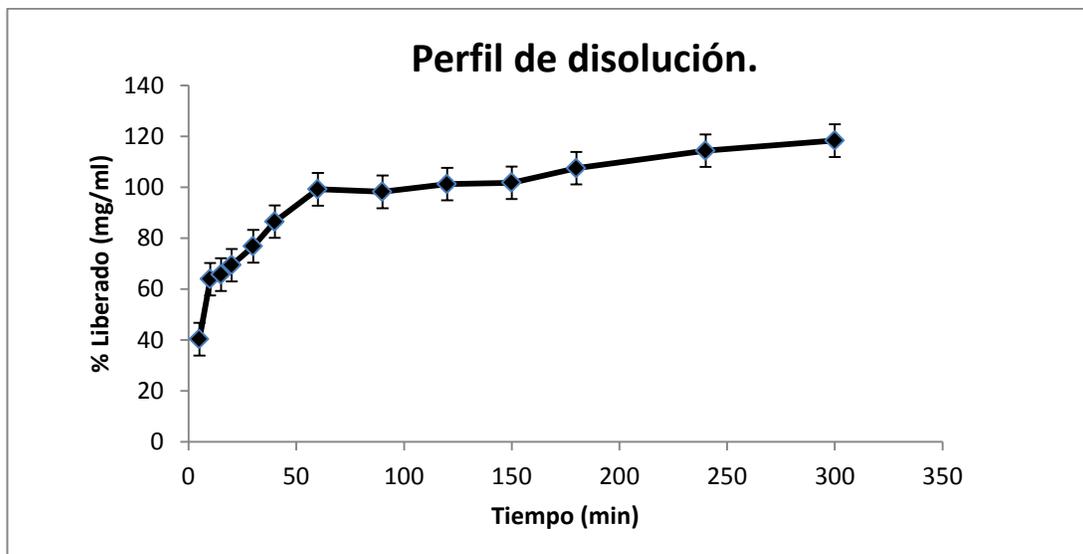


Figura 23. Perfil de liberación de un arreglo de microagujas cargado con pravastatina sódica.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la calorimetría diferencial de barrido se observó que las formulaciones 2, 3 y 4 posiblemente tienen la misma estabilidad, esto se podría corroborar con un análisis termogravimétrico, pero con base en las pruebas de resistencia a la ruptura, la formulación número 4 mostró mejores características para penetrar el estrato córneo. Por ello, se realizó el perfil de liberación de las microagujas de la formulación mencionada (Figura 23), en el que se observa al comienzo una rápida liberación de la pravastatina debido a que está se encuentra uniformemente distribuida en la matriz polimérica tanto en la parte interna como en la parte externa de la matriz, por esta razón la pravastatina que se encuentra en la parte externa está directamente en contacto con el medio de disolución permitiendo una liberación rápida promovida aún más por el PVP ya que este es altamente soluble en medio acuoso.<sup>2</sup> Posteriormente entre los 150 y 200 minutos se observa un ligero incremento que se debe a una segunda liberación

ya que la matriz formada por el quitosano tiende a formar redes que atrapan a las moléculas de pravastatina (Figura 24) retardando así la liberación del fármaco.

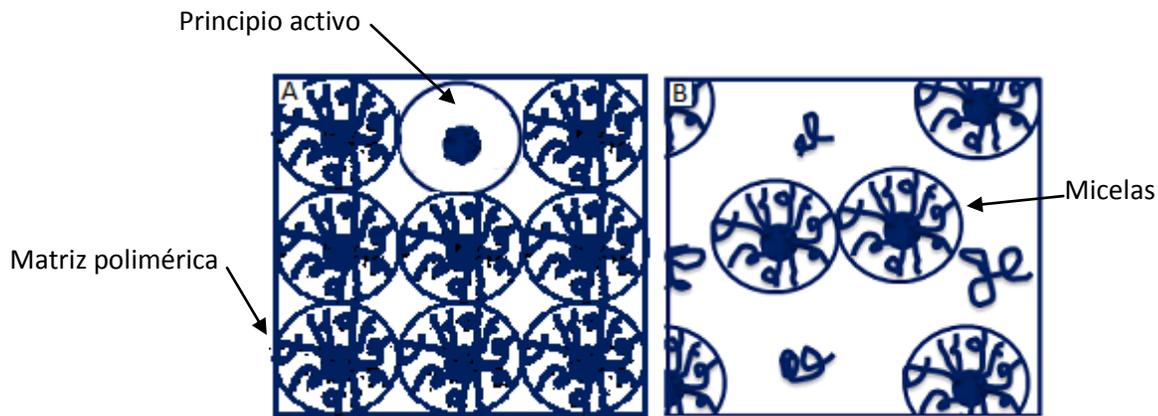


Figura 24. La figura A muestra el fenómeno de enrejado o bloque el cual impide la liberación del activo, en la figura B se muestra el fenómeno de formación de micelas. Figura modificada de Escobar-Chávez et al., (2006).<sup>2</sup>

La velocidad de liberación es considerada un parámetro importante que expresa la mayor o menor rapidez con que un soluto se disuelve en un disolvente en determinadas condiciones.<sup>2</sup> En la tabla 20 se muestra el perfil cinético de liberación de la pravastatina.

Tabla 20. Perfil de liberación de pravastatina.

Formulación	Orden 0		Higuchi		Peppas	
	Vel lib (mg/h)	r <sup>2</sup>	Vel lib (mg/h)	r <sup>2</sup>	Vel lib (mg/h)	r <sup>2</sup>
4	0.5944	0.9392	12.311	0.9897	0.9237	0.9903
*Vel lib = velocidad de liberación						

Con base en los resultados obtenidos en la tabla 20 se puede observar que el modelo cinético al que se ajusta el perfil de liberación es el descrito por Korsmeyer - Peppas en el que se describe la liberación del fármaco a partir del uso de la siguiente ecuación:

$$M_t / M_\infty = Kt^0$$

Donde  $M_t / M_\infty$  es una fracción del fármaco liberado en el tiempo  $t$ ,  $k$  es la constante de velocidad de liberación y  $n$  es el exponente de la liberación, los valores obtenidos para esta ecuación se pueden observar en los anexos, en la tabla 22. El valor de  $n$  se utiliza para caracterizar la liberación para los diferentes tipos de matrices. En este modelo el valor de  $n$ , se caracteriza por el mecanismo de liberación del fármaco como se describe en la tabla 21.

Tabla 21. Interpretación de los mecanismos de liberación de difusión de películas poliméricas.

Exponente $n$	Mecanismo de transporte de fármacos	Velocidad en función del tiempo
0.5	Difusión Fickiana	$t^{-0.5}$
$0.5 < n < 1.0$	Difusión No-Fickiana	$t^{n-1}$
1	Caso II	Orden cero

Para nuestro caso en particular se obtiene un valor de "n" de 0.77 como se observa en la figura 25 al ser graficados  $\ln$  tiempo Vs  $\ln M_t/M_\infty$ , donde el exponente de difusión "n", que viene dado por la pendiente, indica el probable mecanismo de transporte y el tipo de liberación en función de la geometría del sistema ya que este modelo permite determinar si tiene lugar o no un proceso de difusión acorde a la ley de Fick.

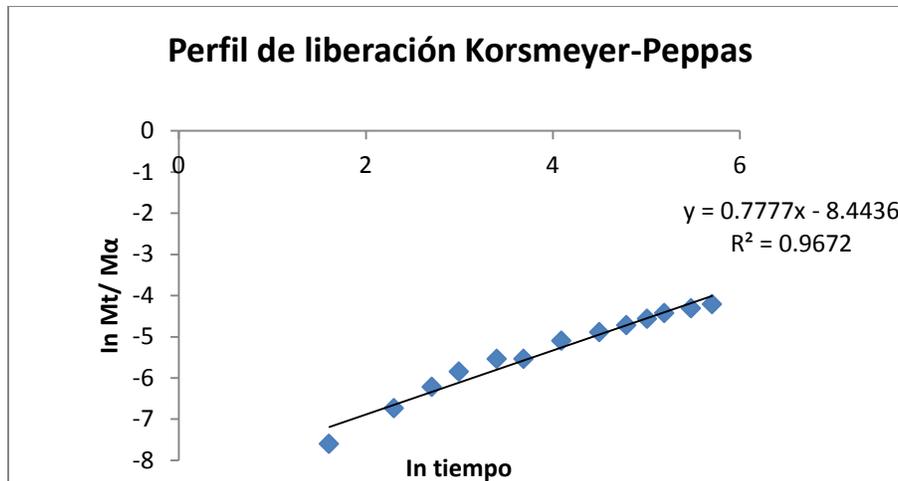


Figura 25. Perfil de liberación de acuerdo a Korsmeyer - Peppas

Debido a que el resultado obtenido es mayor a 0.5 se le considera como un mecanismo de transporte no fickiano el cual refiere que el proceso de difusión está altamente ligado a la actividad y naturaleza del polímero el cual es penetrado debido a la presión osmótica. Durante este proceso surge un hinchamiento en la superficie, donde partículas de solvente son introducidas en el interior de un medio poroso en el cual debido a la topología de las estructuras irregulares y laberínticas se genera una acumulación de partículas en ciertas regiones del material, bajo estas condiciones puede decirse que la modificación de las dimensiones del material son debido a fuerzas internas y es cuando se produce el hinchamiento. Posteriormente ocurre una plastificación porque es una liberación que se le considera como anómala que ocurre cuando el número de partículas de solvente penetrante en el polímero es capaz de efectuar fuerzas internas lo suficientemente fuertes para abrir o deformar la estructura de los poros. La plastificación puede ocasionar un cambio en la capacidad de las moléculas para difundirse modificando su tasa de movimiento al encontrar más espacios y modificando a la vez los tamaños y distribución de los poros del material.<sup>51</sup>

## 7. CONCLUSIONES

1. Se logró diseñar un micromolde base con un arreglo de 25 microagujas mediante la técnica de micromoldeo lo que permitió la elaboración de las microagujas biodegradables generando así una posible alternativa a la vía oral existente para el tratamiento de dislipidemias.

2. Se consiguió elaborar microagujas con 4 formulaciones de las cuales se variaron las proporciones de sus diferentes componentes para su posterior caracterización fisicoquímica y biofarmacéutica, determinando así que la mejor formulación fue la número 4 que demostró tener la fuerza suficiente para atravesar el estrato córneo.

3. Se evidenció por medio de microscopia óptica la disrupción histológica que causan las microagujas sobre el estrato córneo demostrando que las microagujas logran evitar barreras naturales que impiden la absorción percutánea y por lo tanto favorece la penetración del principio activo ofreciendo así una novedosa alternativa farmacéutica en la terapia farmacológica.

4. Se consiguió caracterizar fisicoquímicamente a las microagujas elaboradas, mediante las pruebas de contenido químico, microscopia óptica, estudios de disolución, calorimetrías diferenciales de barrido, cinética de mezclado, pruebas resistencia a la fractura y determinación de pH determinando así que la formulación 4 presentó las propiedades necesarias para atravesar el estrato córneo.

5. Se logró evaluar la liberación de pravastatina sódica en la formulación 4 utilizando el aparato 5 de la USP con lo que se determinó el tipo de modelo al que se ajusta esta cinética de liberación.

## **8. PERSPECTIVAS**

Se sugiere llevar a la experimentación las siguientes actividades:

- Utilizar las microagujas para la realización de estudios de permeación mediante el uso de celdas de Franz utilizando como membrana piel abdominal humana y así obtener los parámetros de Kp, flujo y tl.
- Elaborar microagujas de tipo huecas para poder pre cargarlas con algún otro fármaco líquido o sólido inclusive con biológicos con la finalidad de mejorar la terapia.
- Acoplar las microagujas a un parche transdérmico para tener una liberación más prolongada y segura.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

1. Palaslanga N. Anatomía y movimiento humano. Estructura y funcionamiento. Barcelona: Paidotribo; 2000.
2. Serrano Castañeda P. Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de pravastatina acoplado a microagujas como promotor físico de la penetración transdérmica. [Tesis de Maestría]. D.F: UAM Xochimilco; 2014.
3. Serrano Castañeda P. Uso de microagujas para hacer más eficiente el paso de clorhidrato de sibutramina a través de piel humana formulado en parches transdérmicos de una matriz polimérica de quitosán con Transcutol. [Tesis de Licenciatura]. Estado de México: FESC UNAM; 2011.
4. Guadarrama Escobar O. Parche transdérmico de pravastatina sódica: caracterización y perfiles de disolución. [Tesis de Licenciatura]. Estado de México: FESC UNAM; 2013.
5. Biología de la piel. Disponible en URL: <http://www.med.unne.edu.ar/catedras/dermato/clases/00109.pdf>. Acceso 30 marzo 2014.
6. Padilla Rodríguez B. Estudio de la penetración in vitro/ in vivo mediante celdas de difusión y la técnica de tape stripping de clorhidrato de sibutramina formulada en parches transdérmicos de quitosán. [Tesis de Licenciatura]. Estado de México: FESC UNAM; 2011.
7. Escalona Pérez E. Dermatología. México: Impresiones modernas; 1975. pp:9-15
8. Arenas Roberto. Atlas de Dermatología. México: McGrawhill; 2005. pp:1-7
9. Flórez J. Farmacología Humana. España. México: Masson; 2003.
10. Serrano Castañeda P, Escobar Chávez J.J, Morales Hipólito A, Domínguez Delgado C, Abrego Reyes V. Microagujas y Transcutol® como promotores de la penetración transdérmica de sibutramina formulada en parche transdérmico. Rev Cubana Farm. 2013; 47(3): 289-299.
11. McGrath M, Vucen S, Vrdoljak A, Kelly A, O'Mahony, C Crean A, Moore A. Production of dissolvable microneedles using an atomised spray process: Effect of microneedle composition on skin penetration. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2014; 86(2): 200-211.

12. Naguib Y, Kumar A, Cui Z. The effect of microneedles on the skin permeability and antitumor activity of topical 5-fluorouracil. *Acta. Pharmacol. SIN.* 2014; 4(1): 94-99.
13. Márquez Mejía E. La azona como promotor de absorción transdérmica: propiedades y mecanismos de acción. [Tesis de Licenciatura]. Estado de México: FESC UNAM; 2001.
14. Van der Molen R, Spies F, Van 't Noordende J, Boelsma E, Mommaas A, Koerten H. Tape stripping of human stratum corneum yields cell layers that originate from various depths because of furrows in the skin. *Arch Dermatol Res.* 1997; 289(9): 514-518.
15. Escobar Chávez J, Merino Sanjuán V, López Cervantes M, Urban Morlan Z, Piñón Segundo E, Quintanar Guerrero D, Ganem Quintanar A. Tape- Stripping Techniques as a Method for Drug Quantification in Skin. *J Pharm Sci.* 2008; 11(1): 104-130.
16. Rocha L, Díaz J, Gómez R, Maiz A . Microdialisis. México: Sociedad Mexicana de Ciencias Fisiológicas; 1997.
17. William F, Ronald J. Application of Microdialysis in Pharmacokinetic Studies. *Pharmacol Res.* 1997; 14(3): 267-288.
18. Khramov A, Stenken J. Enhanced microdialysis recovery of some tricyclic antidepressants and structurally related drugs by cyclodextrin-mediated. *Analyst.* 1999; 124(7): 1027-1033.
19. Baena Y, Dallos L, Manzos R, Ponce D'L. Estandarización de celdas de Franz para realización de ensayos de liberación de fármacos a partir de complejos con polielectrolitos. *Rev. Colomb. cienc. quim. farm.* 2011; 40(2): 174-188.
20. Sekine H, Shimizu T, Sakaguchi K, Dobashi I, Wada M, Yamato M, Kobayashi E, Umezumi M, Okano T. In vitro fabrication of functional three-dimensional tissues with perfusable blood vessels. *Nat. Commun.* 2013; 4: 162-8666.
21. Metabolismo de Lipoproteínas. Disponible en URL: <http://escuela.med.puc.cl/paginas/cursos/tercero/integradotercero/apfisiopsist/nutricion/NutricionPDF/Metabolismo.pdf>. Acceso 10 de abril 2014.
22. Pía de la Masa M. Normas técnicas. Dislipidemias. Gobierno de Chile: Ministerio de Salud; 2000. pp: 9-16.

23. Estadísticas a propósito del día mundial de la salud. Disponible en URL: <http://www.inegi.org.mx/inegi/contenidos/espanol/prensa/Contenidos/estadisticas/2013/salud0.pdf>. Acceso 10 abril 2014
24. Miguel Soca P.E (2009). Dislipidemias. Disponible URL: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/aci/vol20\\_6\\_09/aci121209.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/aci/vol20_6_09/aci121209.htm). Acceso 11 abril 2014.
25. Arteaga A, Maíz A, Olmos P, Velasco N. Manual de Diabetes y Enfermedades Metabólicas. Depto. Nutrición, Diabetes y Metabolismo. Escuela de Medicina. P. Universidad Católica de Chile. 1997.
26. Marhuenda E. Estatinas en el tratamiento de dislipidemias. Departamento de farmacología. Academia Iberoamericana de Farmacia. 2002; 43(2): 83-85.
27. Arab G, Avilé J, Rivera M, Sánchez N, Pérez M, Contreras F, Collazo M. Función de los inhibidores de la hidroximetilglutaril coenzima A reductasa en la enfermedad cardiovascular. Disponible URL: [www.revistaavft.com/avft\\_22\\_1\\_2003/3.pdf](http://www.revistaavft.com/avft_22_1_2003/3.pdf). Acceso 15 abril 2014
28. Pravastatina AMSA. Disponible en URL: <http://mx.privademecum.com/producto.php?producto=12678>. Acceso 13 de Abril del 2014
29. FACMED UNAM 2012. Disponible en URL: [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi\\_2k8/prods/PRODS/Pravastatina%20s%C3%B3dica.htm](http://www.facmed.unam.mx/bmnd/gi_2k8/prods/PRODS/Pravastatina%20s%C3%B3dica.htm). Acceso 14 de Abril del 2014.
30. Rondón Lugo A. Dermatología. Caracas Venezuela: Industria Editorial Venezolana; 1995: pp: 9-17.
31. PDR.net Drug Information 2012. Disponible en URL: <http://www.pdr.net/drugpages/concisemonograph.aspx?concise=289>. Acceso 10 de Abril del 2014.
32. Ficha técnica de la pravastatina. Disponible en URL: [http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/68490/FT\\_68490.pdf](http://www.aemps.gob.es/cima/pdfs/es/ft/68490/FT_68490.pdf). Acceso 13 de Abril del 2014.
33. Lárez V. Quitina y quitosano: materiales del pasado y el futuro. Avances de Química. 2006; 1(2): 15-21.

34. Pastor de Abram A, Agullo E. Quitina y quitosano: Obtención, caracterización y aplicaciones. Pontifica Universidad Católica del Perú: Fondo Editorial; 2004. pp.125-300.
35. Morales Z, Salazar R. Estimación del efecto anti fúngico de una película de quitosán sobre los parámetros de calidad y grado de madurez de la fresa fragaria vesca variedad solana durante su vida útil'. [Tesis de Licenciatura]. Estado de México: FESC UNAM; 2001: pp. 45-51.
36. Berger J, Reist M, Mayer J, Felt O, Gurny R. (2004) Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for bio medical applications. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2004; 57: 35-52.
37. Berger J, Reist M, Mayer J, Felt O, Peppas N, Gurny R. Structure and interactions in covalently and ionically cross linked chitosan hydrogels for bio medical applications. Eur. J. Pharm. Biopharm. 2003; 57: 19-34.
38. Chenite M, Buschmann D, Wang C, Chaput N, Kandani. Rheological characterization of thermogelling chitosan/glycerol phosphate solutions. Carbohydr. Polym. 2001; 46: 39-47.
39. Pulido Barrios, A L. Diseño de una película de quitosán como sistema terapéutico farmacéutico alternativo para el tratamiento de úlceras cutáneas. [Tesis de Maestría]. Bogotá Colombia: Departamento de Farmacia; 2012: pp. 13-14.
40. Martínez A, Chornet E, Rodríguez D. Viscoelastic properties of dispersed chitosan/xanthan hydrogels. Carbohydr. Polym. 2007; 67: 586-595.
41. Barquera S, Campos I. Dislipidemias: epidemiología, evaluación, adherencia y tratamiento. 1era edición. México. Instituto Nacional de Salud Pública. Disponible en URL: [http://www.insp.mx/images/stories/Produccion/pdf/110311\\_cp1.pdf](http://www.insp.mx/images/stories/Produccion/pdf/110311_cp1.pdf). Acceso 29 de Mayo del 2014.
42. Q.F.B María de Guadalupe Díaz Nanclares. Tecnología farmacéutica. Mezclado de sólidos. Disponible en URL: [depa.fquim.unam.mx/manualTFI/mezcladosol%20.doc](http://depa.fquim.unam.mx/manualTFI/mezcladosol%20.doc). Acceso 15 de Junio del 2014
43. NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-073-SSA1-2005. Estabilidad de fármacos y medicamentos (modifica a la nom-073-ssa1-1993, estabilidad de medicamentos,

- publicada el 3 de agosto de 1996). Disponible en URL: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/073ssa105.html>. Acceso 15 de Junio del 2014.
44. Shawn D. Insertion of microneedles into skin: measurement and prediction of insertion force and needle fracture force. *J. Biomech.* 2004; 37: 1155-1163.
  45. Martínez N. Termodinámica y cinética de sistemas alimento entorno. Servicio de publicaciones. Universidad Politécnica de Valencia. España. Disponible en URL: [http://books.google.com.mx/books?id=bLQ\\_Lj6C4p8C&pg=PA229&dq=calorimetria+diferencial+de+barrido&hl=es&sa=X&ei=IzGrU8CqM8SMqAbe2oBY&ved=0CBkQ6AEwAA#v=onepage&q=calorimetria%20diferencial%20de%20barrido&f=false](http://books.google.com.mx/books?id=bLQ_Lj6C4p8C&pg=PA229&dq=calorimetria+diferencial+de+barrido&hl=es&sa=X&ei=IzGrU8CqM8SMqAbe2oBY&ved=0CBkQ6AEwAA#v=onepage&q=calorimetria%20diferencial%20de%20barrido&f=false)
  46. Yogesh G, Kamla P. Design and In vitro Performance Evaluation of Purified Microparticles of Pravastatin Sodium for Intestinal Delivery. *Pharm Sci Tech.* 2011; 12(2): 673-682.
  47. Iordanskii A. Impact of structure and morphology upon water transport in polymers with moderate hydrophilicity. From traditional to novel environmentally friendly polymers. <http://books.google.com.mx/books?id=JXHmVCiXPPAC&pg=PA76&dq=peak+endotermic+pvp&hl=es&sa=X&ei=Bz6rU9mhMMYqAabvYDwBw&ved=0CCMQ6AEwAQ#v=onepage&q=peak%20endotermic%20pvp&f=false>. Acceso 14 de julio del 2014.
  48. García C, Mendoza M. Estudios de las propiedades morfológicas y reológicas de una red híbrida de polímeros sintetizada a partir de tres biopolímeros: gelatina, quitosano y dextran. *Rev. Iberoam. Polim.* 2010; 11(2): 88-109.
  49. Gómez Gallo A. Estudio de Kollidon® SR y su aplicación al diseño de suspensiones orales de opiáceos. [Tesis de Doctorado]. España: Facultad de Farmacia Universidad de Granada; 2007: pp. 114.
  50. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 9a edición. México. Secretaría de Salud. Comisión permanente de la Farmacopea de los estados unidos mexicanos.2008 Vol1.
  51. Ibañez García G. (2001). Difusión anómala en polímeros vítreos semicristalinos. acoplamiento de esfuerzos viscosos en el fenómeno de plastificación. [Tesis de Licenciatura]. México D.F: Facultad de Ciencias UNAM; 2001: pp. 20-24.

## 10. ANEXOS

Se utilizó un método previamente validado por Serrano Castañeda (2010) para la determinación de pravastatina sódica, esto de acuerdo a la Guía de Validación del Colegio de Químico Farmacéutico Biólogo.<sup>2</sup>

### 1. Barrido espectrofotométrico de los componentes de la formulación

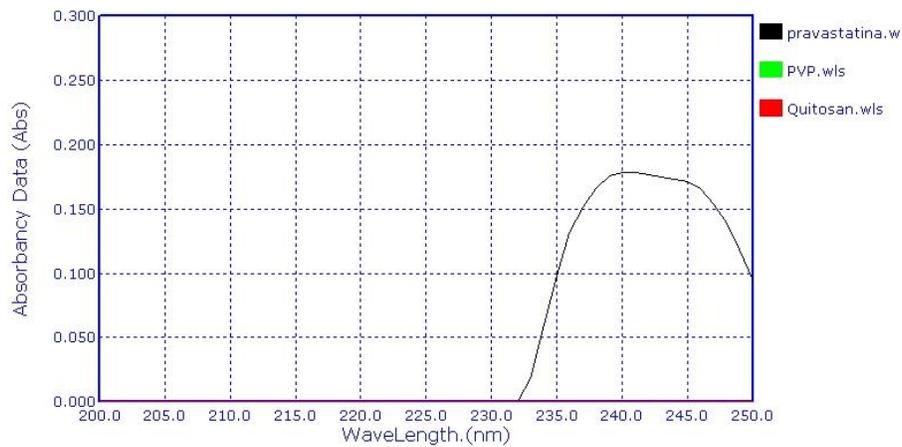


Figura 26. Barrido espectrofotométrico de los componentes de las microagujas (PVP/ Quitosan/ Pravastatina) donde se observa que a 238 nm la pravastatina sódica es el único componente que absorbe y no se genera ninguna interferencia con los demás componentes.

Tabla 22. Valores obtenidos para el perfil de liberación de acuerdo a Korsmeyer-Peppas.

Tiempo (min)	Mt (mg)	Mt/M $\alpha$	ln Mt/M $\alpha$	Tiempo <sup>1/2</sup>	ln tiempo
5	6.725427546	0.000498813	-7.60327901	2.23606798	1.60943791
10	16.00391749	0.001186982	-6.73634097	3.16227766	2.30258509
15	26.73568439	0.001982939	-6.22317534	3.87298335	2.7080502
20	38.85399928	0.002881733	-5.84936349	4.47213595	2.99573227
30	52.74546961	0.003912039	-5.54369662	5.47722558	3.40119738
40	67.55179622	0.003912039	-5.54369662	6.32455532	3.68887945
60	82.19843216	0.006096513	-5.10003828	7.74596669	4.09434456
90	101.0072869	0.007491533	-4.89398184	9.48683298	4.49980967
120	120.0340464	0.008902714	-4.72139908	10.9544512	4.78749174
150	140.1113892	0.010391815	-4.56673676	12.2474487	5.01063529
180	161.4164942	0.011971978	-4.42518656	13.4164079	5.19295685
240	180.348737	0.013376149	-4.31428210	15.4919334	5.48063892
300	199.860891	0.014823331	-4.21155293	17.3205081	5.70378247
M $\alpha$	13482.85969				