



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

## FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Parche transdérmico tipo reservorio cargado de  
Cafeína para el tratamiento de la obesidad: Diseño,  
desarrollo y caracterización.

### T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADO EN FARMACIA**

**PRESENTA:**

JUAREZ LAZCANO FERNANDO

**ASESOR:**

Dr. José Juan Escobar Chávez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN  
SECRETARÍA GENERAL  
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ  
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN  
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA  
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales  
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Parche transdérmico tipo reservorio cargando de Cafeína para el tratamiento de la obesidad: Diseño, desarrollo y caracterización.

Que presenta el pasante: Fernando Juarez Lazcano

Con número de cuenta: 308130872 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Farmacia.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 10 de Agosto de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.F.C. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Dr. Roberto Díaz Torres	
2do. SUPLENTE	Dra. Berenice Gómez Zaleta	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga\*



*Dedicatoria.*

*Dedico este trabajo a mi madre Rosalba Lazcano y en memoria de mi abuelito Telesforo Lazcano quienes siempre me apoyaron.*

*“Moving towards the future”*



## **Agradecimientos**

A **dios** por guiarme durante esta etapa de la vida.

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por brindarme una educación de calidad.

Un especial agradecimiento a mi asesor de tesis el **Dr. José Juan** quien me brindo su confianza y apoyo en la realización de éste proyecto.

A mi gran familia: Mi abuelita **Mamá Becky**, mi padre **Gabriel**, mis hermanos **Daniel** y **Mauricio**.

A **Alan** quien me motivo a seguir adelante cada día.

A mis amigos **Simón**, **Manuel**, **Ulises** y **Moisés** que han estado acompañándome siempre.

A mis compañeros de carrera que me brindaron risas y momentos agradables en los laboratorios de la facultad: **Dianita**, **Mario**, **Fabiola** y **Luis Ricardo**.  
¡¡¡Gracias muchachos!!!

Mi amigo de Filipinas **Cesar S. Martinez** un saludo Panda y mi gran amigo de Ohio **Matthew F. Napierala**.

A los compañeros del laboratorio 12 de la UIM: **Gaby**, **Selene**, **Karla** y **Luis Ángel** por hacer más ameno el tiempo.

A todos mis profesores de la carrera en especial a la **Dra. María Zaida** y el **Dr. David Quintanar**.

A **M. en C. Sofia González Gallardo** por su servicio en microscopía electrónica.

A los proyectos:

**PAPIIT IT 200218** "Desarrollo y caracterización de lentillas poliméricas cargadas de sustancias de interés terapéutico para el tratamiento de afecciones oculares".

**PIAPI 1817** "Diseño, desarrollo y caracterización de sistemas de administración de fármacos por vía oftálmica para uso humano y veterinario".

**PIAPIME 4.31.35.18** "Manual de prácticas para Estancia de Investigación II de la Licenciatura en Tecnología en el área de Tecnología Farmacéutica".



## CONTENIDO

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES .....	8
ÍNDICE DE TABLAS.....	9
1. RESUMEN.....	10
2. INTRODUCCIÓN.....	11
3 MARCO TEÓRICO.....	12
3.1 SOBREPESO Y OBESIDAD .....	12
3.1.1 Incidencia de sobrepeso y obesidad en México .....	12
3.1.2 Cifras de sobrepeso y obesidad en México (2016). .....	12
3.1.3 Tipos de obesidad según el índice de masa corporal (IMC) .....	13
3.1.4 Principales causas.....	13
3.1.5 Tratamiento farmacológico para el sobrepeso y la obesidad .....	13
3.2 LA PIEL.....	14
3.2.1 Funciones principales de la piel.....	14
3.2.2 Epidermis.....	15
3.2.3 Dermis .....	15
3.2.4 Hipodermis.....	16
3.3 ESTRUCTURAS ANEXAS A LA PIEL .....	16
3.3.1 Cabello.....	16
3.3.4 Uñas .....	16
3.3.5 Glándula sudorípara .....	17
3.3.6 Glándula sebácea .....	17
3.4 Absorción percutánea.....	17
3.4.1 VÍAS DE TRANSPORTE DE SUSTANCIAS A TRAVÉS DE LA PIEL .....	17
3.4.2 Transepidérmica .....	17
3.4.3 Transapendicular .....	18
3.5 LEYES DE FICK .....	19
3.5.1 Primera ley de Fick .....	19
3.5.2 Segunda ley de Fick .....	22
3.6 ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA.....	23
3.6.1 Factores implicados en la absorción transdérmica.....	23
3.6.5 Proceso de penetración de un fármaco a través de la piel.....	25
3.7 PARCHES TRANSDÉRMICOS.....	25
3.7.1 Sistemas de reservorio .....	25
3.7.2 Sistema matricial .....	26
3.7.3 Sistema de difusión controlada vía matriz. ....	26
3.7.4 Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios .....	26
3.8 PROMOTORES EN LA PENETRACIÓN TRANSDÉRMICA .....	27
3.8.1 Promotores físicos .....	27
3.8.1.1 Ultrasonido.....	27
3.8.2 Promotores químicos.....	30
3.9 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL.....	32
3.9.1 Métodos in vivo.....	32
3.9.2 Métodos in vitro. ....	33
3.10 CAFEÍNA.....	34
3.10.1 Generalidades .....	34
3.10.2 Farmacología.....	35
3.10.3 Farmacodinamia .....	35
3.10.4 Efecto estimulante .....	35



3.10.9 Formas farmacéuticas para la administración de cafeína .....	38
<b>(FARMACIAS SAN PABLO , 2018).....</b>	<b>38</b>
3.11 MODELOS MATEMÁTICOS CINÉTICOS DE LIBERACIÓN.....	38
3.11.1 Modelo de orden cero.....	38
3.11.2 Modelo de orden uno.....	38
3.11.3 Modelo Higuchi.....	39
3.11.4 Modelo Korsmeyer-Peppas.....	39
<b>4 JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>41</b>
<b>5 OBJETIVOS .....</b>	<b>42</b>
5.1 OBJETIVO GENERAL .....	42
<i>Desarrollar y caracterizar un parche transdérmico tipo reservorio cargado con un gel de cafeína, mediante pruebas físicas, químicas y biofarmacéuticas en piel humana usando celdas verticales tipo Franz para poder obtener una propuesta de un medicamento innovador que permita tratar el sobrepeso y obesidad en la población de México.</i> .....	42
5.2 Objetivos particulares .....	42
<b>6 HIPÓTESIS .....</b>	<b>42</b>
<b>7 METODOLOGÍA .....</b>	<b>43</b>
7.1 MATERIAL.....	43
7.2 MÉTODOS.....	44
7.2.1 DISEÑO DE EXPERIMENTOS CON STATGRAPHICS.....	44
7.2.2 PREPARACIÓN Y CARACTERIZACIÓN FISCOQUÍMICA DEL GEL DE CAFEÍNA POR STATGRAPHICS. ....	44
7.2.3 PREPARACIÓN DE LOS GELES.....	44
7.2.4 pH.....	44
7.2.5 Viscosidad .....	45
7.2.6 Extensibilidad.....	45
7.2.7 PROCESO DE MANUFACTURA DEL GEL ÓPTIMO.....	47
7.2.8 Caracterización del gel óptimo. ....	47
7.2.9 Densidad relativa.....	47
7.2.10 Viscosidad.....	48
7.2.11 Contenido químico.....	48
7.2.12 Formulación de películas poliméricas.....	48
7.2.13 Método de preparación de las películas poliméricas.....	49
7.2.14 Caracterización fisicoquímica de las películas del parche transdérmico tipo reservorio.....	50
7.2.15 Área y grosor.....	50
7.2.16 Resistencia a la fractura .....	50
7.2.17 Pruebas de bioadhesión.....	50
7.2.18 Prueba de bioadhesión post humectación.....	51
7.2.19 Estudio de la liberación del fármaco.....	51
7.2.21 Estudio in vitro de absorción percutánea.....	52
7.2.22 Tratamiento a la piel.....	52
7.2.23 Estudio in vitro mediante el uso de celdas verticales tipo Franz.....	53
7.2.24 Calculo de las constantes biofarmacéuticas.....	53
7.2.25 Micrografías de los pozos formados con el arreglo de microagujas sobre la piel.....	54
<b>8 RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>55</b>
8.1 ANÁLISIS POR STATGRAPHICS CENTURION .....	55



8.1.1	Análisis ANOVA.....	55
8.1.2	Diagramas de Pareto.....	58
8.1.3	pH.....	59
8.1.4	Viscosidad.....	59
8.1.5	Extensibilidad antes y después.....	59
8.1.6	Gráficos superficie respuesta.....	59
8.2	CARACTERIZACIÓN DE GEL DE CAFEÍNA ÓPTIMO.....	62
8.2.1	Densidad relativa.....	62
8.2.2	Viscosidad.....	63
8.2.3	pH.....	64
8.2.4	Contenido químico.....	64
8.2.5	Extensibilidad.....	65
8.3	FORMULACIÓN DE LAS PELÍCULAS QUE CONFORMARÁN EL PARCHE TIPO RESERVORIO.....	67
8.3.1	Área y grosor.....	68
8.3.2	Resistencia a la fractura.....	69
8.3.3	Prueba de bioadhesión.....	70
8.3.4	Dictamen para la evaluación de los parches.....	70
8.4	LIBERACIÓN <i>IN VITRO</i> DE CAFEÍNA EN EL PARCHE TRANSDÉRMICO TIPO RESERVORIO.....	71
8.4.1	Cinética de liberación.....	72
8.5	ESTUDIOS <i>IN VITRO</i> DE ABSORCIÓN PERCUTÁNEA.....	75
8.6	MICROGRAFÍAS TOMADAS PARA LA VISUALIZACIÓN DE LOS POZOS GENERADOS POR EL ARREGLO DE MICROAGUJAS SOBRE LA PIEL.....	77
9	CONCLUSIONES.....	78
10	PERSPECTIVAS.....	79
11	BIBLIOGRAFÍA.....	79
12	ANEXO 1.....	83
12.1	PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA EN EL GEL DE ÁCIDO HIALURÓNICO POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS.....	83
12.2	Procedimientos.....	84
12.2.5	Parámetros de desempeño.....	84
12.3	Criterios de aceptación.....	86
12.4	RESULTADOS Y DICTAMEN.....	86
12.4.1	Barrido espectrofotométrico a la cafeína.....	86
12.4.2	Precisión del sistema.....	86
12.4.3	Linealidad del sistema.....	87
12.4.4	Linealidad del método.....	88
12.4.5	Exactitud y repetibilidad del método.....	89
12.4.6	Precisión del método.....	90
12.5	ANEXO 2.....	90
12.5.1	PREPARACIÓN DE 2 LITROS DE LA SOLUCIÓN AMORTIGUADORA HEPES (PH=7.4).....	90
12.5.2	PREPARACIÓN DE 100 ML DE LA SOLUCIÓN NAOH 1 M.....	91
12.6	ANEXO 3.....	91
12.6.1	USO DEL PROGRAMA ESTADÍSTICO STATGRAPHICS CENTURION.....	91



## Índice de Ilustraciones

ILUSTRACIÓN 1. ESTRUCTURA DE LA PIEL Y EL TEJIDO SUBCUTÁNEO	14
ILUSTRACIÓN 2. ESQUEMA DE LAS PARTES DE LA EPIDERMIS Y DERMIS	16
ILUSTRACIÓN 3. DIAGRAMA DE LA UÑA, (A) TRANSVERSAL, (B) LONGITUDINAL	17
ILUSTRACIÓN 4. VÍAS DE TRANSPORTE TRANSEPIDÉRMICAS	18
ILUSTRACIÓN 5. ESQUEMA DE LA VÍA TRANSPENDICULAR, 1) A TRAVÉS DE LOS CONDUCTOS SUDORÍPAROS, 2) A TRAVÉS DEL ESTRATO CÓRNEO CONTINUO, 3) A TRAVÉS DE LOS FOLÍCULOS PILOSOS	19
ILUSTRACIÓN 6. PERFIL DE CONCENTRACIONES A TRAVÉS DE UNA MEMBRANA IDEAL EN EL ESTADO ESTACIONARIO	20
ILUSTRACIÓN 7. PERFIL REPRESENTATIVO DE LAS CANTIDADES ACUMULADAS EN EL COMPARTIMENTO RECEPTOR EN FUNCIÓN DEL TIEMPO	22
ILUSTRACIÓN 8. ESQUEMA DE UN PARCHÉ TRANSDÉRMICO	25
ILUSTRACIÓN 9. SISTEMA RESERVORIO	26
ILUSTRACIÓN 10. SISTEMA MATRICIAL	26
ILUSTRACIÓN 11. SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADA VÍA MATRIZ	26
ILUSTRACIÓN 12. SISTEMA DE LIBERACIÓN CONTROLADA MEDIANTE MICRO RESERVORIOS	27
ILUSTRACIÓN 13. RUPTURA DEL ESTRATO CORNEO UTILIZANDO SONOFORESIS	27
ILUSTRACIÓN 14. SISTEMA TRANSDÉRMICO IONTOFORÉTICO	28
ILUSTRACIÓN 15. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DEL MECANISMO DE ACCIÓN DE UN DISPOSITIVO DE MATRIZ DE MICROAGUJAS	29
ILUSTRACIÓN 16. (A) MÉTODO DE ADMINISTRACIÓN DE FÁRMACOS EN LA PIEL UTILIZANDO MICROAGUJAS. (B) MECANISMOS DE ACCIÓN UNA VEZ UTILIZADAS LAS MICROAGUJAS	30
ILUSTRACIÓN 17. REPRESENTACIÓN ESQUEMÁTICA DE UNA CELDA DE DIFUSIÓN VERTICAL TIPO FRANZ	34
ILUSTRACIÓN 18. ESTRUCTURA DE LA CAFEÍNA	34
ILUSTRACIÓN 19. MODELOS BIOLÓGICOS ESTUDIADOS QUE VERIFICAN LA EFICACIA DEL PARCHÉ TRANSDÉRMICO CON CAFEÍNA COMO ACTIVADOR EN EL CICLO DE LA LIPÓLISIS	37
ILUSTRACIÓN 20. PH METRO UTILIZADO EN LA LECTURA DE PH	45
ILUSTRACIÓN 21. VISCOSÍMETRO UTILIZADO EN LA MEDICIÓN DE LA VISCOSIDAD	45
ILUSTRACIÓN 22. CALIBRADOR DIGITAL MARCA TRUPER	46
ILUSTRACIÓN 23. EJEMPLO DE LA MEDICIÓN DEL DIÁMETRO ANTES Y DESPUÉS PARA LA PRUEBA DE EXTENSIBILIDAD	47
ILUSTRACIÓN 24. PICNÓMETRO METÁLICO DESARMADO Y ARMADO	48
ILUSTRACIÓN 25. ESPECTROFOTÓMETRO UTILIZADO EN EL DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA EL CONTENIDO QUÍMICO	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
ILUSTRACIÓN 26. TEXTURÓMETRO Y EJEMPLO DE LA COLOCACIÓN DEL PARCHÉ EN LAS PINZAS	50
ILUSTRACIÓN 27. EJEMPLO DE UNA PRUEBA DE BIOADHESIÓN	51
ILUSTRACIÓN 28. DISOLUTOR MAYASA	52
ILUSTRACIÓN 29. RESERVORIO CARGADO Y ADITAMENTO DONDE EL RESERVORIO SE COLOCA DENTRO	52
ILUSTRACIÓN 30. ARREGLO DE MICROAGUJAS Y DIRECCIONES DE PASO DE LAS MICROAGUJAS SOBRE LA PIEL.	53
ILUSTRACIÓN 31. APARATO DE SECADO CRÍTICO SAMDRI-780 <sup>a</sup> .	54
ILUSTRACIÓN 32. MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO (JSM-6010LA IN TOUCHSCOPE)	55
ILUSTRACIÓN 33. GRÁFICO DE CONTORNOS SUPERFICIE RESPUESTA.	62
ILUSTRACIÓN 34. RELACIÓN ENTRE LA VISCOSIDAD (CP) VS LA VELOCIDAD DE CIZALLA (RPM) DEL GEL ÓPTIMO DE CAFEÍNA.	64
ILUSTRACIÓN 35. ÁREA DE EXTENSIBILIDAD (CM <sup>2</sup> ) VS PESO (G)	66
ILUSTRACIÓN 36. PERFIL DE LIBERACIÓN.	72
ILUSTRACIÓN 37 SISTEMAS DE LIBERACIÓN CONTROLADA DE FÁRMACOS A PARTIR DE UNA MATRIZ POLIMÉRICA. A) LIBERACIÓN CONTROLADA CON NÚCLEO INTERNO DE AGENTE BIOACTIVO; B) SISTEMA MONOLÍTICO DE LIBERACIÓN CONTROLADA	73
ILUSTRACIÓN 38. ORDEN CERO.	74
ILUSTRACIÓN 39. ORDEN UNO.	74
ILUSTRACIÓN 40. MODELO HIGUCHI.	75
ILUSTRACIÓN 41. MODELO KORSMEYER-PEPPAS.	75
ILUSTRACIÓN 42. PERFIL DE PERMEACIÓN EN PIEL HUMANA USANDO COMO PROMOTOR FÍSICO MICROAGUJAS SÓLIDAS.	76
ILUSTRACIÓN 43 BARRIDO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LA CAFEÍNA (20 MG/ML)	86



ILUSTRACIÓN 44 CURVA DE CALIBRACIÓN ABSORBANCIA = f[CAFEÍNA MG/ML] ----- 88  
 ILUSTRACIÓN 45 GRÁFICO QUE REPRESENTA LA CANTIDAD RECUPERADA VS LA ADICIONADA DE CAFEÍNA, CON EL  
 FIN DE DETERMINAR LA LINEALIDAD DEL MÉTODO ----- ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.

## Índice de tablas.

TABLA 1 CLASIFICACIÓN DE LA OBESIDAD SEGÚN IMC-----	13
TABLA 2 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LA ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA -----	23
TABLA 3 CLASIFICACIÓN DE LOS PROMOTORES QUÍMICOS POR SUS GRUPOS FUNCIONALES -----	31
TABLA 4 EJEMPLOS DE FORMAS FARMACÉUTICAS QUE INCORPORAN CAFEÍNA -----	38
TABLA 5 FORMULACIONES EXPERIMENTALES PARA LA PELÍCULA IMPERMEABLE -----	49
TABLA 6 FORMULACIONES EXPERIMENTALES PARA LA PELÍCULA ADHESIVA -----	49
TABLA 7 RESULTADOS OBTENIDOS AL CARACTERIZAR LAS FORMULACIONES DADAS POR STATGRAPHICS ----	¡ERROR!
<b>MARCADOR NO DEFINIDO.</b>	
TABLA 8 RESUMEN ANOVA DE LAS VARIABLES RESPUESTA EN LOS FACTORES ESTUDIADOS -----	58
TABLA 9 DIAGRAMAS DE PARETO ESTANDARIZADO-----	60
TABLA 10 DIAGRAMAS DE SUPERFICIE ESTIMADA-----	61
TABLA 11 CANTIDADES ÓPTIMAS PARA LA PREPARACIÓN DEL GEL DE CAFEÍNA -----	62
TABLA 12 FORMULACIÓN ÓPTIMA DE CAFEÍNA-----	62
TABLA 13 RESULTADOS OBTENIDOS PARA LAS TRES MEDICIONES DE LA DENSIDAD RELATIVA-----	63
TABLA 14 RESULTADOS OBTENIDOS AL EVALUAR LA VISCOSIDAD DEL GEL ÓPTIMO A DIFERENTES VELOCIDADES DE CIZALLA -----	64
TABLA 15 CANTIDAD DE CAFEÍNA OBTENIDA PARA CONTENIDO QUÍMICO-----	65
TABLA 16 RESULTADOS OBTENIDOS AL MEDIR EL DIÁMETRO DE LAS MUESTRAS DE GEL PARA LA PRUEBA DE EXTENSIBILIDAD -----	66
TABLA 17 RESULTADOS OBTENIDOS AL CALCULAR EL RADIO Y EL ÁREA DE EXTENSIBILIDAD PARA LAS MUESTRAS DEL GEL CARGADO CON CAFEÍNA PARA LA PRUEBA DE EXTENSIBILIDAD -----	¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.
TABLA 18 FORMULACIONES EXPERIMENTALES PARA LA PELÍCULA IMPERMEABLE -----	67
TABLA 19 FORMULACIONES EXPERIMENTALES PARA LA PELÍCULA ADHESIVA -----	68
TABLA 20 RESULTADOS PARA ÁREA Y GROSOR DE LAS PELÍCULAS IMPERMEABLES -----	68
TABLA 21 RESULTADOS EXPERIMENTALES PARA EL ÁREA Y GROSOR DE LAS PELÍCULAS ADHESIVAS-----	69
TABLA 22 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE RESISTENCIA A LA FRACTURA PARA LAS PELÍCULAS IMPERMEABLES Y ADHESIVAS -----	70
TABLA 23 RESULTADOS DE BIOADHESIÓN Y BIOADHESIÓN POST-HUMECTACIÓN ¡ERROR! MARCADOR NO DEFINIDO.	
TABLA 24 RESULTADOS DE CINÉTICA DE LIBERACIÓN-----	72
TABLA 25 RESULTADOS DE CANTIDAD ACUMULADA Y CANTIDAD ACUMULADA EXPUESTA DEL PARCHE UTILIZANDO MICROAGUJAS COMO PROMOTOR FÍSICO-----	76
TABLA 26 RESULTADOS BIOFARMACÉUTICOS DEL ESTUDIO <i>IN VITRO</i> -----	77
TABLA 27 MICROGRAFÍAS TOMADAS A LA PIEL TRATADA CON MICROAGUJAS (2.5 MM) Y PIEL CONTROL A DIFERENTES OBJETIVOS. -----	78
TABLA 28 RESULTADOS OBTENIDOS AL EVALUAR LA PRECISIÓN DEL SISTEMA-----	87
TABLA 29 RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA LINEALIDAD DEL SISTEMA DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA -----	87
TABLA 30 EVALUACIÓN PARA LAS CURVAS DE LA LINEALIDAD DEL SISTEMA-----	87
TABLA 31 RESULTADOS OBTENIDOS DE LA LINEALIDAD DEL MÉTODO -----	89
TABLA 32 RESULTADOS OBTENIDOS DE LA EXACTITUD Y LA REPETIBILIDAD DEL MÉTODO-----	89
TABLA 33 RESULTADOS OBTENIDOS PARA LA PRECISIÓN DEL MÉTODO EN DOS DÍAS DIFERENTES CON DOS ANALISTAS -----	90



## 1. Resumen

El objetivo de este trabajo fue diseñar, desarrollar y caracterizar una forma farmacéutica innovadora para la función que ejerce el principio activo, se trata de un parche transdérmico tipo reservorio en el cual la cafeína desempeña una actividad lipolítica, la cafeína se encuentra inmersa en un gel de ácido hialurónico. Para así tener una alternativa en el tratamiento farmacológico de pacientes con sobrepeso y obesidad.

**Resultados.** Se obtuvo un gel óptimo de Ácido Hialurónico cargado con cafeína el cual fue incorporado al reservorio del parche con cantidades de 1200 y 714 mg para cafeína y ácido hialurónico respectivamente. El mismo gel presentó las siguientes características: Densidad relativa = 1.008, tipo de fluido: no newtoniano tixotrópico, pH = 7.01, contenido químico = 99.52%, extensibilidad peso aplicado 150 gramos: extensibilidad antes 3.31 cm<sup>2</sup> extensibilidad después 40.8 cm<sup>2</sup>. La selección de las película impermeable y adhesiva fue efectuada al comparar las propiedades de estas entre otras películas con diferente matriz polimérica donde la película impermeable con mejores características fue la que incorpora en su formulación etilcelulosa con un área y grosor de 1.28 cm<sup>2</sup> y 0.404 mm, resistencia a la fractura de 273.85 g. La mejor película adhesiva incorpora en su formulación Kollicoat IR teniendo como propiedades de área y grosor de 4.73 cm<sup>2</sup> y 0.27 mm, resistencia a la ruptura de 450 gf, bioadhesión de 329.2 gf y bioadhesión post-humectación de 195.65 gf. Del parche ya ensamblado y cargado con cafeína el perfil de disolución mostró que se libera el 99% del contenido de cafeína en 120 min. El ajuste de este perfil a diferentes cinéticas de liberación es explicada por dos mecanismos interpretados mediante los modelos Higuchi y Korsmeyer-Peppas al ser de tipo erosión del polímero de la película adhesiva y la difusión del fármaco a través de esta. Los parámetros biofarmacéuticos fueron obtenidos del estudio *in vitro* que son: Tiempo de latencia = TL = 9.08 h, Flujo = J = 41.5 mcg/cm<sup>2</sup>h y Constante de permeabilidad ó Kp = 0.2075x10<sup>-3</sup>cm<sup>2</sup>/h. Micrografías de los pozos generados por las microagujas sobre la piel fueron tomadas poniendo en manifiesto la acción de promotor físico de las microagujas.

**Palabras clave:** Cafeína, ácido hialurónico, parche transdérmico, reservorio, lipólisis, estudios *in vitro*, estudios cinéticos de liberación.



## 2. Introducción

El sobrepeso y obesidad en mujeres y hombres presenta un aumento con respecto a cifras del 2012 en los tres grupos de edad (niños, adolescentes y adultos) el cual es mayor en zonas urbanas. (OMENT, 2016)

La obesidad y el sobrepeso es el principal problema de salud pública en México pues nuestro país tiene los primeros lugares en obesidad infantil y en adultos a nivel mundial. Causas como la mala alimentación, el sedentarismo la falta de ingesta de alimentos nutritivos son factores que determinan el sobrepeso y la obesidad.

Cuando no hay respuesta a una dieta balanceada se procede a un tratamiento farmacológico los fármacos de estos medicamentos actúan disminuyendo el apetito, inhibiendo la absorción calórica o alterando el metabolismo; esta última reduce la lipogénesis y aumenta la lipólisis. (Londoño-Lemos, 2012) Existen distintas presentaciones farmacéuticas para la administración de fármacos entre ellas se encuentran los parches transdérmicos que se definen como preparaciones farmacéuticas flexibles de tamaño variable que contienen uno o varios principios activos. Están destinados a ser aplicados sobre la piel intacta para liberar y difundir el principio activo o los principios activos a la circulación general después de atravesar la barrera cutánea a velocidad constante.

En este estudio se desarrolló una forma farmacéutica por la vía transdérmica utilizando como promotor físico microagujas; donde la cafeína tendrá la función de activar el ciclo de la lipólisis para ser utilizado como medicamento de apoyo en el tratamiento del sobrepeso y obesidad. Los mecanismos que tiene la cafeína sobre el organismo para llevar a cabo la lipólisis es la siguiente:

- Las metilxantinas también inhiben la actividad de la fosfodiesterasa, evitando la descomposición de cAMP y estimulando la lipólisis en las células de grasa. La ingestión de cafeína aumenta el recambio de lípidos y la concentración de ácidos grasos libres en suero. Como tal, las altas ingestas de metilxantinas también pueden contribuir a una mejor pérdida de peso y mantenimiento de peso a través de una mayor oxidación de las grasas y la termogénesis. (E. Duncan, Ahmadian, Jaworski, Sarkadi-Nagy, & Sook Sul, 2017)
- La cafeína también provoca un incremento en la atención, disminuye la fatiga muscular, incrementa la ventilación pulmonar y tener mayor rendimiento en actividades físicas promoviendo el ejercicio llevando la quema de grasa en los adipocitos. (Mañas Almendros, 2012)



### **3 Marco teórico**

#### **3.1 Sobrepeso y obesidad**

El sobrepeso y la obesidad se definen como una acumulación anormal o excesiva de grasa que puede ser perjudicial para la salud. (Organización Mundial de la Salud, 2017)

##### **3.1.1 Incidencia de sobrepeso y obesidad en México**

México es el segundo país, después de los Estados Unidos, con mayor obesidad. Casi un tercio de los adultos (32.4%) mexicanos sufrían de obesidad en el año 2012, un importante aumento partiendo del 24% que había en el año 2000. México ha desarrollado un paquete integral de medidas para combatir la obesidad, el cual incluye nuevos e importantes impuestos en las bebidas azucaradas y la comida rápida. Este compromiso de abordar el problema, es un avance bienvenido; sin embargo, necesita implementarse efectivamente y requiere de inversiones sostenidas. (OECD, 2017)

##### **3.1.2 Cifras de sobrepeso y obesidad en México (2016).**

Niños en edad escolar de 5 a 11 años de edad.

- Tres de cada 10 menores padecen sobrepeso u obesidad (prevalencia combinada de 33.2%). En 2012, la prevalencia en este grupo de edad era de 34.4%. En esta última medición (2016) se observa una disminución significativa del sobrepeso en niños varones.
- Se observa un incremento progresivo en la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en zonas rurales en ambos sexos.

Adolescentes de 12 a 19 años de edad

- Casi 4 de cada 10 adolescentes presenta sobrepeso u obesidad (prevalencia combinada de 36.3%). En 2012, esta cifra era de 34.9%.
- En mujeres adolescentes, se observó un aumento del 2.7 puntos porcentuales en sobrepeso, alcanzando un nivel de 26.4%. La prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en mujeres adolescentes fue de 39.2%
- En hombres adolescentes se presenta una reducción, de 34.1% a 33.5% en prevalencia combinada.

Adultos mayores de 20 años de edad

- Siete de cada 10 adultos (prevalencia combinada de 72.5%) continúa padeciendo exceso de peso (sobrepeso u obesidad) respecto a la cifra de 2012 de 71.2%.
- Se observa un aumento en las cifras de sobrepeso y obesidad en mujeres adultas (prevalencia combinada de 75.6%). Este incremento es mayor en zonas rurales (aumento de 8.4%) que en zonas urbanas (aumento de 1.6%).



- En hombres adultos (prevalencia combinada de 69.4%) se observa un incremento continuo en zonas rurales, en el que la prevalencia de sobrepeso y obesidad (67.5%) aumentó 10.5% respecto a 2012. (OMENT, 2016)

### 3.1.3 Tipos de obesidad según el índice de masa corporal (IMC)

El índice de masa corporal (IMC) es un indicador simple de la relación entre el peso y la talla que se utiliza frecuentemente para identificar el sobrepeso y la obesidad en los adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). (OMS, 2018)

El IMC es el parámetro utilizado para la mayoría de los estudios epidemiológicos para la estadificación de la obesidad. En la tabla 1, se muestra su clasificación (SEEDO, 2007):

**Tabla 1. Clasificación de la obesidad según IMC.**

Clasificación	IMC ( $\text{Kg}/\text{m}^2$ )	Riesgos de trastornos asociados
Peso insuficiente	< 18.5	Moderado
Normopeso	18.5 – 24.9	Medio
Sobrepeso grado I	25 – 26.9	Moderado
Sobrepeso grado II	27 – 29.9	Aumentado
Obesidad grado I	30 – 34.9	Alto
Obesidad grado II	35 – 39.9	Muy alto
Obesidad grado III (mórbida)	40 – 49.9	Muy alto
Obesidad grado IV (extrema)	> 50	Extremadamente alto

(SEEDO, 2007)

### 3.1.4 Principales causas

El problema del sobrepeso y la obesidad tiene diversos orígenes que pueden estudiarse desde varios puntos de vista: clínico, nutricional, familiar, social y económico, entre otros. Las autoridades mexicanas identifican como principales causas de la obesidad y el sobrepeso infantil en México las siguientes:

- Mayor ingesta calórica que consumo calórico.
- Los patrones de consumo de los padres se trasladan a los hijos.
- El desarrollo industrial y tecnológico mundial ha propiciado que la actividad laboral se vuelva más sedentaria. (Comisión Federal de Mejora Regulatoria, 2012)

### 3.1.5 Tratamiento farmacológico para el sobrepeso y la obesidad

El primer paso para el tratamiento de la obesidad en el adulto es mejorar los hábitos alimentarios lo cual debe ir acompañado de un incremento de la



actividad física. El objetivo fundamental es disminuir la masa grasa del paciente obeso. (Secretaría de Salud, 2012)

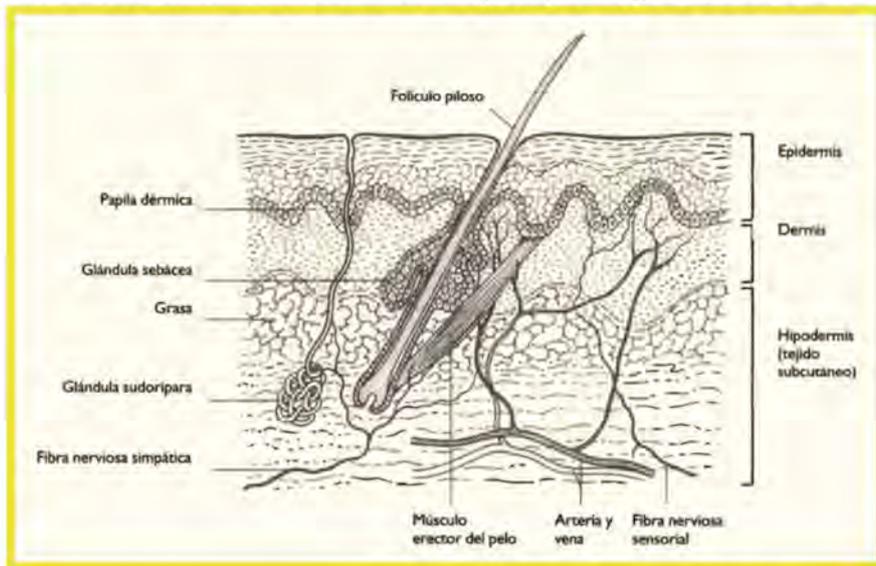
Únicamente el Médico podrá dar el tratamiento farmacológico para estos padecimientos, siempre y cuando exista evidencia de falta de respuesta dietoterapéutica, a la prescripción de actividad física y ejercicio en un periodo de al menos 3 meses en pacientes con un Índice de masa corporal de 30 Kg/m<sup>2</sup> o más. Entre los fármacos prohibidos en el tratamiento farmacológico están los diuréticos, hormonas tiroideas, anorexígenos, vacunas, extractos tiroideos, inyecciones de enzimas, aminoácidos lipolíticos. (Diario Oficial de la Federación, 2010)

Los fármacos utilizados para tratar este padecimiento actúan disminuyendo el apetito, inhibiendo la absorción calórica o alterando el metabolismo; esta última disminuyendo la lipogénesis y aumentando la lipólisis. (Londoño-Lemos, 2012)

### 3.2 La piel

La piel es un órgano que forma la superficie externa del organismo y por tanto constituye la frontera entre el medio ambiente y el medio interno. (Thwes, Mutschler, & Vaupel, 1983) En la ilustración 1 se presenta la estructura anatómica de la piel.

**Ilustración 1. Estructura de la piel y el tejido subcutáneo.**



(S. Sinnatamby, 2003)

#### 3.2.1 Funciones principales de la piel

- Protege a los tejidos contra lesiones mecánicas, químicas o físicas, así como contra la penetración de microorganismos.



- Impide que se produzca el desecamiento demasiado intenso pero, por otra parte, permite una cierta evaporación fisiológica de agua.
- Actúa como regulador térmico, por constricción o dilatación de los vasos cutáneos así como evaporación de sudor.
- Mediante la secreción de sudor, colabora (en modesta medida) a la actividad renal.
- Funciona como órgano sensorial, por sus numerosos receptores de presión, temperatura y dolor. (Thwes, Mutschler, & Vaupel, 1983)

### 3.2.2 Epidermis

Es un epitelio escamoso estratificado y queratinizado constituido por cinco estratos, carece de vasos sanguíneos y se nutre por difusión de los capilares de la dermis.

De la superficie a la profundidad estos estratos son:

- Estrato córneo.- Constituido por células planas que por su precaria nutrición y por estar alejadas de la red capilar dérmica sufren un proceso necrobiótico y mueren.
- Estrato lúcido.- Formado de tres a cuatro capas de células que contienen gránulos de eleidina. Por la brillantez de ésta sustancia toma el aspecto especial que tiene.
- Estrato granuloso.- Formado por varias capas de células poliédricas que acumulan en su citoplasma queratohialina, proteína sulfatada que es precursor de la queratina.
- Estrato espinoso.- Denominado así, porque en los intersticios de las células se observan con el microscopio, bandas citoplasmáticas que le dan el aspecto espinoso característico.
- Estrato basal cilíndrico.- Constituido por células columnares que se adosan a una membrana basal. (Eriksen Persson, De lara galindo, Álvarez Arellano , & Galarza Guzmán, 2002)

### 3.2.3 Dermis

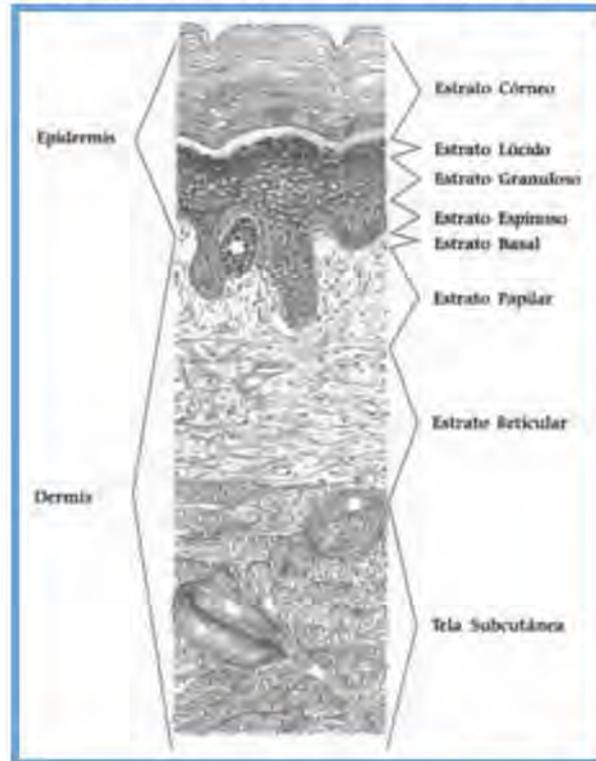
La dermis tiene origen mesodérmico y está formada por haces de fibras de colágeno unidas con algo de tejido elástico, vasos sanguíneos, vasos linfáticos y fibras nerviosas. (S. Sinnatamby, 2003)

Presenta dos estratos mal delimitados que son:

- Estrato papilar de tejido conectivo laxo.- Se forma de proyecciones digitiformes introduciéndose en la epidermis formando así las crestas cutáneas.
- Estrato reticular. Es de tejido conectivo denso, con abundantes fibras elásticas y colágenas que se prolongan a la tela subcutánea y a la dermis. (Eriksen Persson, De lara galindo, Álvarez Arellano , & Galarza Guzmán, 2002)
- Tela subcutánea. Se apoya en la fascia profunda que reviste el hueso o músculo subyacente. En la ilustración 2 se presentan las partes de la epidermis y dermis.



**Ilustración 2. Esquema de las partes de la epidermis y dermis.**



(Eriksen Persson, De Iara Galindo, Álvarez Arellano, & Galarza Guzmán, 2002)

### **3.2.4 Hipodermis**

La hipodermis rellena el cuerpo y une la piel con los tejidos subyacentes. Está compuesta de manera predominante por tejido adiposo. Sirve como depósito de energía y aislamiento térmico, no está distribuida con uniformidad. (S. Saladin, 2012)

## **3.3 Estructuras anexas a la piel**

### **3.3.1 Cabello**

Son formaciones filiformes que sobresalen de la piel, su función principal es la protección. Está formado por columnas de células queratinizadas unidas entre sí, se distinguen dos grandes porciones:

- El tallo.- Es la porción que se proyecta desde la superficie de la piel.
- La raíz.- Que penetra en la dermis y en ocasiones en el tejido subcutáneo. (Eriksen Persson, De Iara Galindo, Álvarez Arellano, & Galarza Guzmán, 2002)

### **3.3.4 Uñas**

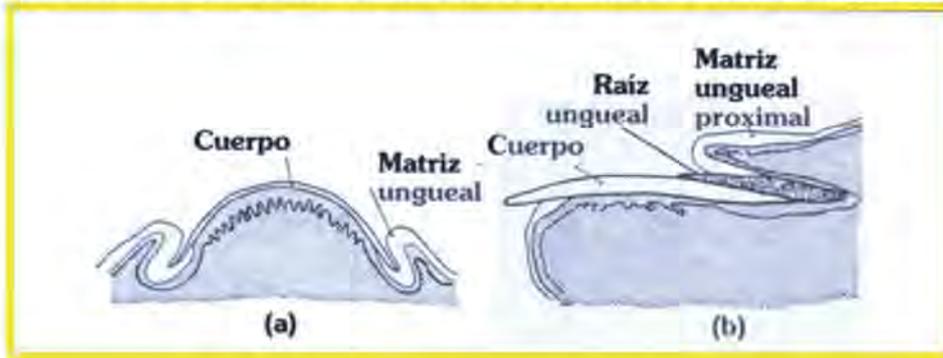
Son laminillas córneas blancas y translúcidas de forma elíptica situadas sobre la cara dorsal de las falanges distales de las manos y los pies. Cada uña está formada por:

- Un cuerpo ungueal que es la porción visible de la uña.
- El borde libre que se extiende más allá del dedo.



- La raíz es la porción oculta bajo un pliegue de la piel. (Eriksen Persson, De Iara Galindo, Álvarez Arellano, & Galarza Guzmán, 2002) En la ilustración 3, se presenta la estructura de la uña en forma transversal y longitudinal.

**Ilustración 3. Diagrama de la uña, (a) transversal, (b) longitudinal.**



(Le Vay, 2004)

### 3.3.5 Glándula sudorípara

Se distribuyen por toda la piel, la mayor concentración se encuentra en la piel gruesa de las palmas de las manos, en las plantas de los pies y en la cara. Son estructuras tubulares en forma de espiral que se adentran en la dermis y el tejido subcutáneo. Están inervadas por fibras colinérgicas de los nervios simpáticos. Sus secreciones inodoras adquieren olor gracias a la acción bacteriana. (S. Sinnatamby, 2003)

### 3.3.6 Glándula sebácea

Son pequeñas estructuras saculares situadas en la dermis, donde se abren en el interior de los folículos pilosos. También se abren en las superficies de piel carentes de pelo. Están ausentes en las palmas de las manos y las plantas de los pies. Este saco sintetiza y almacena sebo para lubricar la piel. (S. Sinnatamby, 2003)

## 3.4 Absorción percutánea

La absorción percutánea implica el paso de un fármaco a través de la piel hasta los capilares que irrigan la dermis, tras su liberación del sistema que lo incluye. Ya en la circulación sistémica, se distribuye por todo el organismo hasta alcanzar su lugar de acción.

### 3.4.1 Vías de transporte de sustancias a través de la piel

El paso de sustancias puede llevarse a cabo mediante varias vías que se resumen a continuación y pueden ser observados en la ilustración 4.

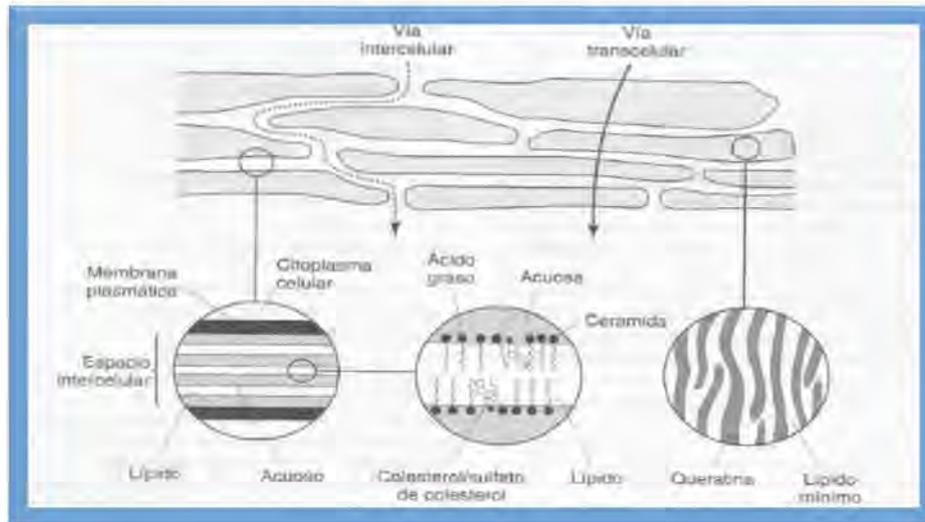
### 3.4.2 Transepidérmica

- Transcelular. La sustancia atraviesa los queratinocitos de las distintas capas del estrato córneo, alternando estructuras hidrófilas y lipófilas.



- Intercelular. De naturaleza fundamentalmente lipídica actualmente se piensa que esta es la vía mayoritaria. La sustancia difunde a través de los espacios intercelulares. (Clarí Pons, 2004)

#### Ilustración 4. Vías de transporte transepidérmicas.



(Benson, 2005)

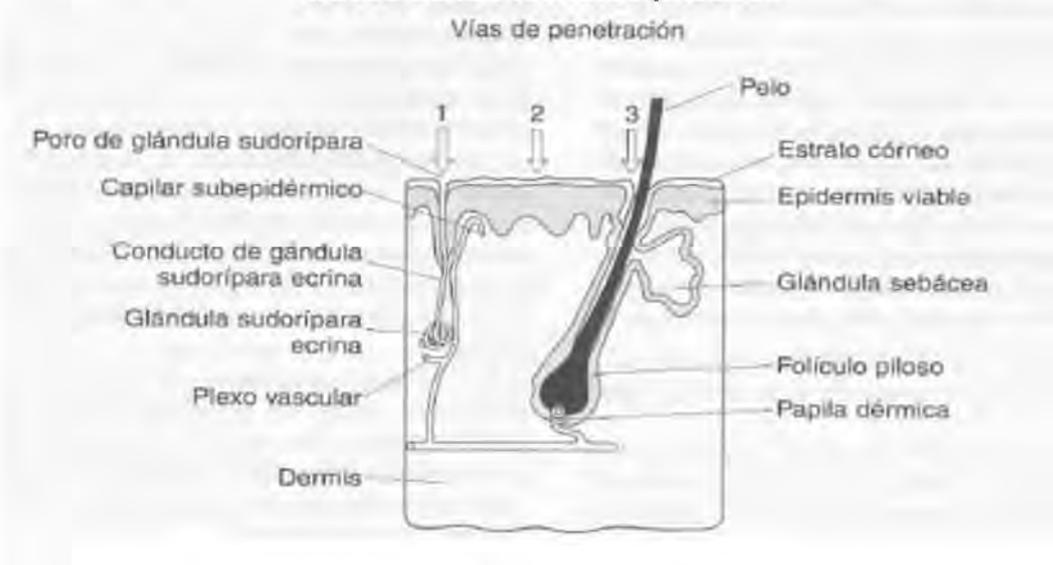
#### 3.4.3 Transapendicular

- Transfolicular. Las moléculas difunden a través de la secreción lipófila de los folículos pilosos y poros sebáceos. La vía transfolicular es utilizada por moléculas cuya difusión a través del estrato córneo es muy baja, debido a la tendencia de formar enlaces con puntos activos de la queratina, reduciendo su velocidad de transporte. Moléculas grandes con un grupo polar como los esteroides son las que más lo utilizan. Esta ruta, no obstante, constituye el 1% de la superficie corporal.
- Transudorípara. Se ha visto que compuestos hidrófilos, con bajo peso molecular y algunos electrolitos difunden en el seno del líquido acuoso que contienen los conductos sudoríparos y alcanzan la base de la glándula que se encuentra en contacto con numerosos vasos sanguíneos (dermis). No obstante esta vía de penetración representa únicamente el 0.1% de la superficie corporal. (Clarí Pons, 2004)

En la ilustración 5 se puede observar la vía transudorípara, transfolicular y a través del estrato córneo continuo.



**Ilustración 5. Esquema de la vía transpendicular, 1) A través de los conductos sudoríparos, 2) A través del estrato córneo continuo, 3) A través de los folículos pilosos.**



(Benson, 2005)

### 3.5 Leyes de Fick

#### 3.5.1 Primera ley de Fick

La difusión de compuestos a través de una membrana o cualquier barrera homogénea se describe mediante la primera y segunda Ley de Fick. (Clarí Pons, 2004) La primera ley, (Ecuación 1.1) indica que el flujo de un compuesto ( $J$ ), por unidad de longitud recorrida ( $\Delta X$ ), es proporcional al gradiente de concentración  $\Delta C$  y al coeficiente de difusión  $D$ :

Ecuación 1.1 
$$J = -D \frac{\Delta C}{\Delta X}$$

En la ecuación, el signo negativo indica que el flujo neto transcurre en dirección de mayor a menor concentración. Esta ecuación se cumple para procesos mediados por la difusión en medios isotrópicos bajo las condiciones del estado estacionario, es decir, un gradiente de concentración constante en el interior de la membrana.

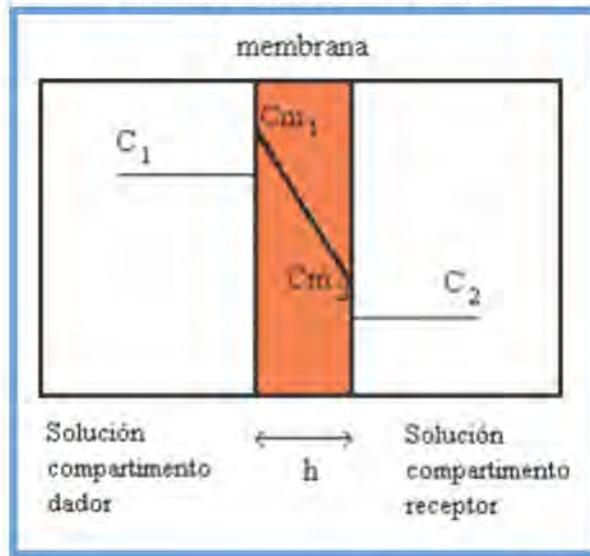
En un proceso difusional (Ilustración 6), en el cual una membrana de espesor  $h$ , separa dos compartimentos que contienen dos soluciones de un soluto de concentraciones  $C_1$  y  $C_2$ , respectivamente, en el estado estacionario de la difusión se establece un gradiente de concentración constante en el interior de la membrana. Las concentraciones del soluto en las zonas límite de la membrana, no son iguales que las concentraciones de las soluciones adyacentes a la misma. Ello es debido a que se produce un reparto preferencial del soluto en la membrana.  $C_{m1}$  y  $C_{m2}$  son las concentraciones de soluto en las interfaces membrana/solución. Este reparto preferencial puede



ser analizado aplicando la primera ley de Fick (Ecuación 1.1) y se puede expresar del siguiente modo:

Ecuación 1.2 
$$J = D \left[ \frac{C_{m1} - C_{m2}}{h} \right]$$

**Ilustración 6. Perfil de concentraciones a través de una membrana ideal en el estado estacionario.**



(Clarí Pons, 2004)

En los ensayos difusionales, los valores que generalmente se determinan son  $C_1$  y  $C_2$ , es decir, las concentraciones de las soluciones existentes en contacto con la membrana en los compartimentos dador y receptor, en lugar de  $C_{m1}$  y  $C_{m2}$ , que corresponden a las concentraciones de soluto existentes en las capas más superficiales de la membrana.

Por otra parte, en la mayoría de los casos, las capas superficiales de la membrana se equilibran rápidamente con las fases adyacentes. Este equilibrio puede expresarse en términos de distribución o de coeficiente de reparto, cuando las fases adyacentes son líquidas, semisólidas o sólidas mediante las siguientes relaciones de concentraciones:

Ecuación 1.3 
$$C_{m1} = C_1 * P_1$$

Ecuación 1.4 
$$C_{m2} = C_2 * P_2$$

En las que  $P_1$  y  $P_2$  son los coeficientes de reparto del soluto entre la membrana y las soluciones que la bañan.

Sustituyendo en la ecuación 1.2, se obtiene:



Ecuación 1.5

$$J = D \left[ \frac{C_1 + P_1 - C_2 + P_2}{h} \right]$$

Si se consideran las soluciones de ambos compartimentos similares y de naturaleza acuosa, y la membrana homogénea:

Ecuación 1.6

$$P_1 \cong P_2 \cong P$$

Siendo P, el coeficiente de reparto del soluto en la membrana. Simplificando la ecuación anterior:

Ecuación 1.7

$$J = D \left[ \frac{(C_1 - C_2)P}{h} \right]$$

Los experimentos difusionales deben plantearse de modo que el fluido receptor permita que se cumplan las condiciones de "gradiente máximo" para el permeante. Con fines prácticos se acepta que cuando la concentración del soluto en el compartimento receptor no alcanza el 10% de su solubilidad en el medio líquido de dicho compartimento, el estado estacionario de la difusión no sufre modificaciones apreciables. Si se cumple esta condición  $C_2$  puede considerarse despreciable, y la ecuación anterior, puede expresarse como:

Ecuación 1.8

$$J = \frac{D \cdot P \cdot C}{h}$$

Donde C es la concentración del soluto en el compartimento dador y h la longitud del camino difusional.

Si se considera que se ha alcanzado el estado de equilibrio estacionario, la cantidad de soluto que atraviesa la membrana por unidad de tiempo es constante, lo que equivale a considerar que el fenómeno de la difusión se desarrolla de acuerdo con un proceso de orden cero. Por analogía con los procesos de cinética química la ecuación 1.8 representa, un proceso de este orden con un coeficiente de permeabilidad  $K_p$ , que es independiente de la concentración en el compartimento dador.

Ecuación 1.9

$$K_p = \frac{J}{C} = \frac{D \cdot P}{h}$$

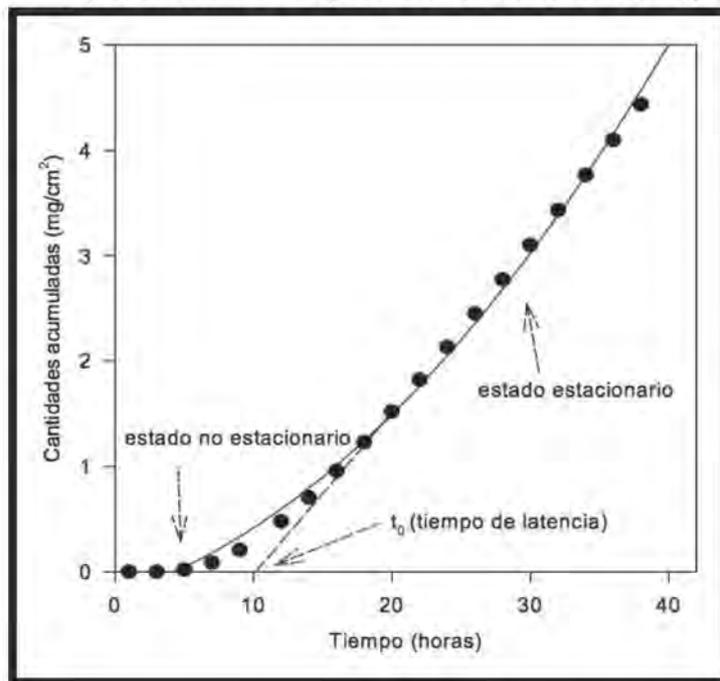
Así, si se representa la cantidad de soluto que atraviesa una sección de membrana, de área igual a la unidad, en función el tiempo (Ilustración 7), en el estado estacionario obtenemos una línea recta, cuya pendiente es el flujo (J), y el coeficiente de permeabilidad  $K_p$ , es un parámetro fácil de determinar a partir de dichos valores de flujo.

El período de tiempo necesario para que se alcance el estado estacionario del proceso de difusión se relaciona con el tiempo de latencia  $t_0$ . El tiempo de latencia se puede determinar gráficamente mediante extrapolación al eje de



abscisas del tramo recto de la curva que representa las cantidades acumuladas en el compartimento receptor en función del tiempo.

**Ilustración 7. Perfil representativo de las cantidades acumuladas en el compartimento receptor en función del tiempo.**



(Clarí Pons, 2004)

### 3.5.2 Segunda ley de Fick

La segunda ley de Fick permite predecir el flujo de compuestos tanto en el estado no estacionario como en el estacionario. La cantidad de fármaco ( $Q_{(t)}$ ) que aparece en el receptor a un tiempo ( $t$ ) viene dada mediante la siguiente expresión:

Ecuación 1.10

$$Q_{(t)} = A * P * h * C * \left[ D * \frac{t}{h^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} * \exp\left(\frac{-D * n^2 * \pi^2 * t}{h^2}\right) \right]$$

Donde **A** es el área de difusión, **P** es el coeficiente de reparto del fármaco entre el vehículo y la piel, **h** el espesor de la membrana, **C** la concentración inicial de principio activo en el vehículo y **D** es el coeficiente de difusión del fármaco en la piel.

El coeficiente de permeabilidad ( $K_p$ ) puede ser determinado mediante la siguiente expresión:



Ecuación 1.11

$$K_p = P_1 \cdot P_2$$

En la ecuación 1.10 cuando  $t \rightarrow \infty$ , se obtiene una expresión que define una línea recta, correspondiente al estado estacionario de la difusión.

Ecuación 1.12

$$Q(t) = A \cdot P \cdot h \cdot C \cdot \left[ D \cdot \frac{t}{h^2} - \frac{1}{6} \right]$$

Por otra parte, a partir de la ecuación anterior (Ecuación 1.12), es posible determinar el periodo de latencia cuando Q es igual a cero.

Ecuación 1.13

$$t_0 = \frac{h^2}{6 \cdot D}$$

### 3.6 Administración transdérmica

Esta vía provee una alternativa de administración muy importante para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administradas por otras vías, para terapias prolongadas y terapias de reemplazo. Existen tres formas de administrar fármacos a través de la piel: 1) Sistema de administración transdermal (parches), fármacos aplicados como spot-on y pour-on y la aplicación epicutánea de fármacos a través de cremas y geles. (Villarino & Landoni, 2006) Las ventajas y desventajas de esta vía de administración pueden apreciarse en la Tabla 2.

**Tabla 2. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica.**

Ventajas	Desventajas
Se evita el efecto del primer paso hepático y gastrointestinal.	Existe un grupo reducido que puede atravesar las capas de la piel.
Fácil aplicación y retiro de la forma farmacéutica.	Se pueden presentar reacciones locales adversas tales como la irritación o alergia.
Absorción lenta y sostenida del fármaco.	Estas formas presentan alto costo de producción en comparación a la vía oral.
Acción prolongada reduce la frecuencia de la dosis y por lo tanto reacciones adversas.	-
La piel es el órgano de más fácil acceso del cuerpo humano.	-

(Serrano-Castañeda, Escobar-Chávez, Morales-Hipólito, Domínguez Delgado, & Abrego-Reyes, 2013)

#### 3.6.1 Factores implicados en la absorción transdérmica

El pasaje de los fármacos administrados en forma tópica a través de todas las estructuras que conforman la piel es imprescindible si se pretende alcanzar



concentraciones efectivas a nivel local o sistémico. Sin embargo, este es un objetivo difícil de lograr, dado que este pasaje (penetración) es altamente variable, lo cual se refleja en las diferencias significativas en la concentración alcanzada en el sitio de acción. Los factores que determinan la penetración de las drogas a través de la piel pueden ser divididos en:

### **3.6.2 Factores dependientes del paciente.**

- Aquí podemos encontrar los vellos que actúan como barrera física limitando el contacto necesario entre el fármaco y el epitelio para la posterior penetración. Las consecuencias entre la alta densidad pilosa sobre la penetración de fármacos son discutidas, algunos consideran que existe una correlación negativa entre la densidad pilosa y la piel mientras otros consideran que la alta densidad de folículos pilosos mejora la penetración de los fármacos debido a que las invaginaciones del epitelio en los folículos pilosos incrementaría el área total de contacto formulación/piel. (Riviere & Papich, 2001)
- La zona anatómica de aplicación es otro factor importante en la penetración transepitelial de los fármacos. En este contexto, existen importantes diferencias en el grosor y contenido lipídico de la piel entre las diversas zonas anatómicas con características de zonas de aplicación.
- Otro factor importante a considerar es el metabolismo epidermal de drogas. La epidermis tiene la capacidad de metabolizar drogas antes de que sean absorbidas a la circulación sistémica (efecto de 1º paso cutáneo), habiendo sido reportada la presencia de enzimas que catalizan reacciones metabólicas tanto de fase 1 como de fase 2. (M. Magnusson, A. Walters, & S. Roberts, 2001)

### **3.6.3 Factores inherentes a los fármacos.**

- En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende del peso molecular, tamaño molecular, grado de ionización y solubilidad. Con respecto a las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, la capacidad intrínseca de penetración de las moléculas está determinada por el adecuado equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad. Siendo el coeficiente de partición lípido/agua uno de los factores determinantes de la magnitud de las concentraciones iniciales de droga en la capa más superficial del estrato córneo.

### **3.6.4 Dependientes de las formulaciones.**

- La primera etapa del proceso de penetración está representado por la liberación de la droga, la cual es controlada por la formulación, siendo éste el primer paso limitante del proceso. Una vez liberado desde la formulación el principio activo difunde hasta alcanzar la interfase formulación-piel, sitio en el que alcanza un equilibrio (estado estacionario). (Kalia & Guy, 2001)



### 3.6.5 Proceso de penetración de un fármaco a través de la piel.

La penetración de un principio activo desde la formulación aplicada epicutáneamente hasta la circulación sistémica o tejidos locales involucra múltiples procesos:

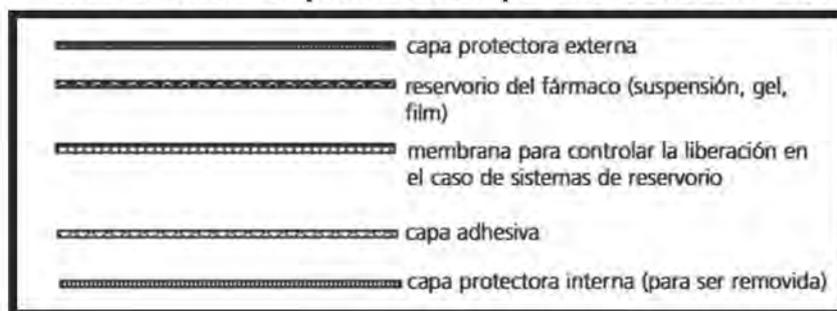
1. Disolución y liberación dentro y desde la formulación.
2. Partición dentro del estrato córneo.
3. Difusión a través del estrato córneo.
4. Partición desde el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis.
5. Difusión a través de la dermis.
6. Acceso a la circulación sistémica y/o tejidos circundantes. (Higaki, Nakayama, Suyama, Amnuait, Ogawara, & Kimura, 2005)

### 3.7 Parches transdérmicos

Los sistemas terapéuticos transdérmicos (STT) son sistemas de liberación sostenida y tienen como objetivo suministrar el medicamento a una velocidad dada, con el fin de mantener una concentración plasmática constante. (Allevato, 2007)

Estructura: Un parche transdérmico es un sistema multicapa consistente en tres partes fundamentales: adhesivo, principio activo, potenciadores (ver Ilustración 8).

**Ilustración 8. Esquema de un parche transdérmico.**



(Allevato, 2007)

Se reconocen varios sistemas de diseño:

#### 3.7.1 Sistemas de reservorio

El fármaco está contenido en un reservorio y se libera a través de una membrana polimérica porosa de permeabilidad selectiva que crea un sistema de liberación controlada (Ilustración 9). La capa de polímero asegura un buen contacto del parche con la piel.



**Ilustración 9. Sistema reservorio.**

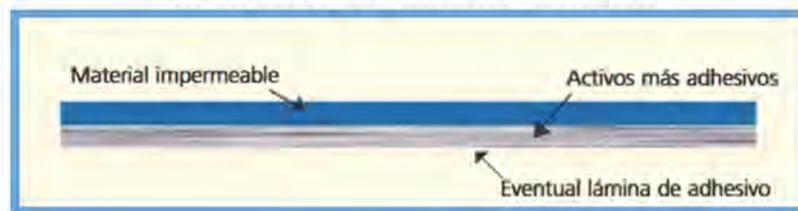


(Allevato, 2007)

### 3.7.2 Sistema matricial

Están constituidos por un disco polimérico hidrofílico o hidrofóbico, de grosor y área definidas, en el cual está uniformemente dispersado el fármaco (Ilustración 10). El entramado del polímero controla la liberación de acuerdo a los excipientes involucrados en la formulación.

**Ilustración 10. Sistema matricial.**

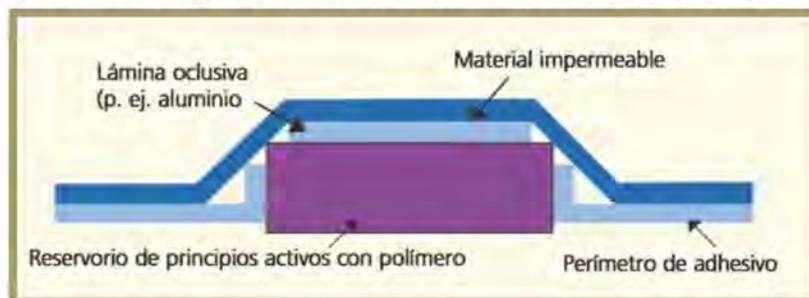


(Allevato, 2007)

### 3.7.3 Sistema de difusión controlada vía matriz.

Los principios activos están dispersos en la matriz de polímero y después situados bajo un disco de material impermeable y oclusivo. La liberación de los principios activos es regulada por la matriz polimérica, ver ilustración 11.

**Ilustración 11. Sistema de liberación controlada vía matriz.**



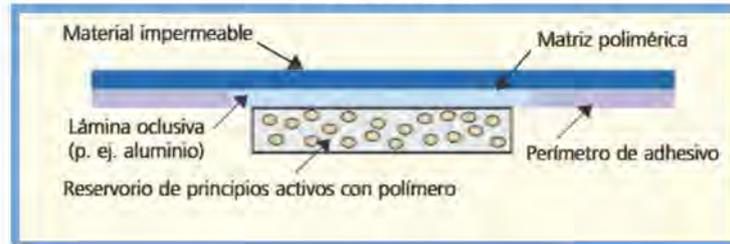
(Allevato, 2007)

### 3.7.4 Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios

La droga está suspendida en una solución soluble en agua, la cual es homogeneizada en un polímero lipofílico que forma micro esferas. El mismo se aplica bajo una lámina oclusiva e impermeable (ver ilustración 12). La liberación de los principios activos está controlada por los compartimentos del fluido y del polímero.



### Ilustración 12. Sistema de liberación controlada mediante microreservorios.



(Allevato, 2007)

### 3.8 Promotores en la penetración transdérmica

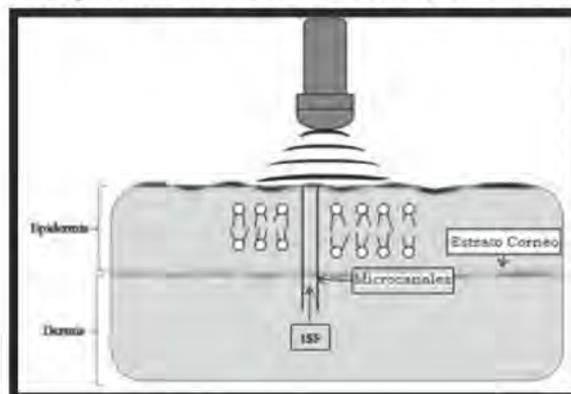
La piel como ya se ha dicho, actúa como una barrera de permeabilidad selectiva a sustancias químicas y dado que varios de los principios activos existentes no poseen los requisitos necesarios para lograr una absorción percutánea eficiente y los niveles terapéuticos requeridos, se ha recurrido al uso de promotores físicos y químicos que buscan promover el paso de los fármacos a través del EC.

#### 3.8.1 Promotores físicos

##### 3.8.1.1 Ultrasonido.

El ultrasonido mejora la penetración transdermal de drogas alterando la estructura del estrato córneo. El principal cambio estructural observado en la piel tras la aplicación de ondas de sonido de baja frecuencia es la aparición de cavidades ver ilustración 13. Ha sido demostrado que la utilización de ondas de baja frecuencia (16- 20 kHz) mejora más de 1000 veces la penetración de ciertos fármacos, entre ellos insulina, eritropoyetina e interferón. (Mitragotri , Blankschtein, & Langer, 1996)

### Ilustración 13. Ruptura del estrato corneo utilizando sonoforesis.



(Escobar-Chavéz, Bonilla-Martínez, Villegas-González , Rodríguez-Cruz, & Domínguez-Delgado, 2009)

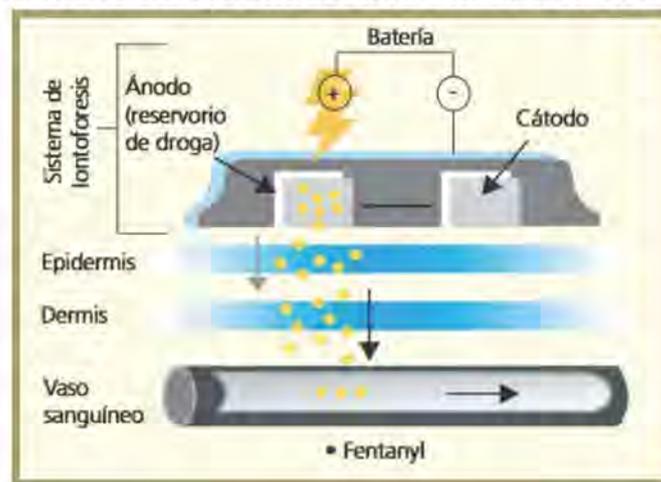


### 3.8.1.2 Iontoforesis.

La iontoforesis consiste en la aplicación de pequeñas corrientes eléctricas ( $\sim 0.5 \text{ mA/cm}^2$ ) a través de electrodos. La corriente eléctrica como se ve en la ilustración 14 actuaría como un transportador de las drogas a través de las estructuras de la piel. (Banga, Bose, & Ghosh, 1999)

Los mecanismos principales que conducen al incremento de la penetración son: 1) repulsión de iones, 2) disminución de la resistencia de la piel aumentando la permeabilidad y 3) electroósmosis. La eficiencia de la iontoforesis depende, básicamente, de las propiedades fisicoquímicas de las moléculas (polaridad, valencia) y de la interacción principio activo/formulación. (Naik, Kailia, & Guy, 2000) La efectividad clínica de la iontoforesis ha sido reportada especialmente para formulados de anestésicos locales y drogas antiinflamatorias. (Shchekoldin, Kozlova, & Budkar, 1992)

**Ilustración 14. Sistema transdérmico iontoforético.**



(Allevato, 2007)

### 3.8.1.3 Electropermeabilización

La electropermeabilización consiste en aplicar pulsos de corriente eléctrica ( $\sim 100\text{-}1000\text{V/cm}$ ) sobre la piel por períodos cortos micro o milisegundos. La corriente aplicada induce la formación reversible de poros acuosos en el estrato córneo los cuales conforman una nueva ruta para la penetración de fármacos. (Prausnitz M. , 1999)

### 3.8.1.4 Microagujas.

Son agujas microscópicas lo suficientemente grandes como para crear orificios en el estrato córneo de la piel y permitir el pasaje de moléculas, pero no para generar dolor. (Prausnitz, Mitragotri, & Langer, 2004)

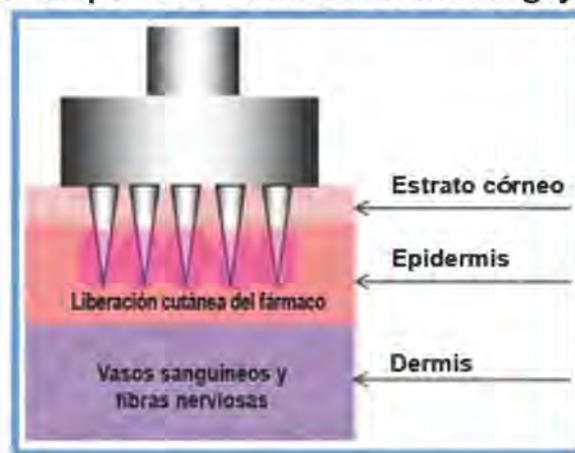
La forma y la geometría de las microagujas es crítica durante el diseño y la fabricación, ya que deben de ser capaces de insertarse en la piel sin romperse, también deben tener una longitud, grosor y forma adecuada para evitar el



contacto con los nervios y crear vías eficientes para el suministro de fármacos. (Alkilani, Mc Crudden, & Donnelly, 2015)

Las microagujas perforan el estrato córneo creando microcanales hidrofílicos transitorios a través de la piel, los microcanales proporcionan el acceso directo a la epidermis viable subyacente, sin llegar a los vasos sanguíneos y las fibras nerviosas localizadas en la dermis. (Escobar-Chávez, 2016) Este mecanismo es claramente representado en la ilustración 15.

**Ilustración 15. Representación esquemática del mecanismo de acción de un dispositivo de matriz de microagujas.**



(Alkilani, Mc Crudden, & Donnelly, 2015)

El mecanismo de administración del fármaco dependerá del diseño de las microagujas. En general el diseño de microagujas se puede clasificar en cuatro categorías:

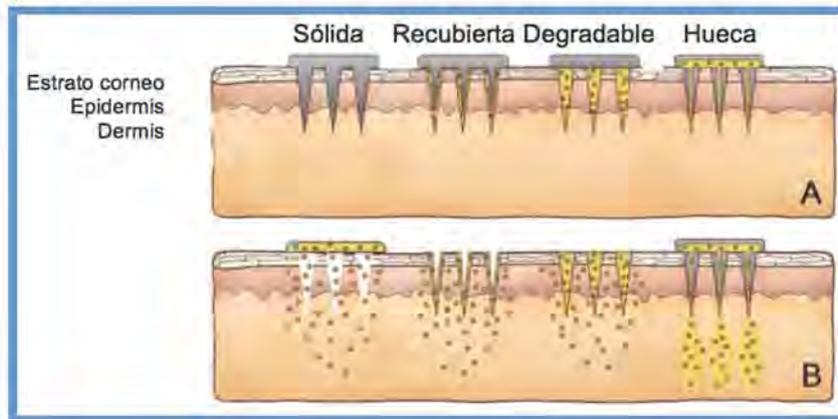
- I. Microagujas sólidas. Perforan la piel para que sea más permeable. Pueden utilizarse como un tratamiento previo a la piel. Después de insertar y extraer las microagujas para formar poros a escala micrométrica en la superficie de la piel, una forma farmacéutica puede ser aplicada a la piel para la lenta difusión del fármaco a través de los poros y dentro del cuerpo.
- II. Microagujas revestidas. Están revestidas con medicamentos en polvo seco o vacunas para la disolución en la piel. Después de la inserción de microagujas en la piel, el recubrimiento del fármaco se disuelve fuera de las microagujas y en la piel, después de lo cual se remueven las microagujas.
- III. Microagujas biodegradables. Son preparadas a partir de un polímero soluble en agua o biodegradable que encapsula al fármaco dentro de la matriz de microagujas. De esta manera, las microagujas se disuelven por completo o se degradan en la piel, liberando de este la carga útil de fármaco encapsulado.



IV. Microagujas huecas. Pueden utilizarse para la inyección de formulaciones líquidas en la piel o alternativamente para la difusión en la piel a través del orificio de la aguja. (Kim, Park, & Prausnitz, 2012)

Estos diseños de microagujas permiten diversas vías de administración por diferentes mecanismos, en la ilustración 16 se muestran los mismos.

**Ilustración 16. (A) Método de administración de fármacos en la piel utilizando microagujas. (B) Mecanismos de acción una vez utilizadas las microagujas.**



(Kim, Park, & Prausnitz, 2012)

### 3.8.2 Promotores químicos

Los promotores de absorción son moléculas de diferente naturaleza química que actúan reversiblemente a nivel del estrato córneo, desestructurando y facilitando que el fármaco permee más rápidamente hacia los tejidos viables y pase a circulación sistémica.

Existe una teoría general (Lipid-Protein-Partitioning) basada en las posibles alteraciones a nivel molecular que sufre el estrato córneo por acción de los promotores. De entrada establece que un activo puede penetrar a través de las células epidérmicas es decir siguiendo la vía intracelular o bien siguiendo los espacios intercelulares de naturaleza lipídica, la vía intercelular.

La teoría general Lipid-Protein-Partitioning, postula que la acción promotora sobre las diferentes estructuras histológicas epidérmicas se va a producir mediante una o más de las siguientes acciones:

- Interacción con las proteínas celulares, promoviendo la permeación a través de los corneocitos (vía intracelular).
- Interacción con la estructura lipídica que rodea los corneocitos, incrementando la difusión intercelular (vía intercelular). Esta acción puede producirse por la interacción de los promotores con los grupos polares de los lípidos, por la inserción de estos entre las estructuras lipídicas o por incrementos de la polaridad en determinadas zonas. (Soler Ranzani, 2006)



### 3.8.2.1 Clasificación de los promotores químicos.

En la tabla 3 se presentan ejemplos de promotores químicos de acuerdo a los grupos funcionales que forman parte de su estructura química y su mecanismo de acción.

**Tabla 3. Clasificación de los promotores químicos por sus grupos funcionales.**

Familia	Subdivisión/Ejemplos	Función
<b>Alcoholes.</b>	Alcoholes de cadena corta. C <sub>2</sub> – C <sub>6</sub>	El efecto está relacionado con su capacidad de mojar y distorsionar la estructura de los lípidos del estrato córneo.
	Alcoholes de cadena larga. C <sub>6</sub> – C <sub>14</sub>	El efecto promotor de estos alcoholes de cadena larga parecería estar relacionado con su capacidad de plastificar la superficie de la piel.
<b>Amidas.</b>	Ejemplos: Dimetilacetamida n-butil-n-Dodecilacetamida.	El efecto promotor de esta familia estaría relacionado con su capacidad de interaccionar en la estructura lipídica de la piel.
<b>Azona.</b>	Ejemplo: Dodecilazacicloheptan-2-ona- (Azona®)	Los promotores de esta familia actuarían fluidificando los lípidos de los canales intercelulares y su actividad está ampliamente estudiada siendo unos de los promotores de absorción más utilizados.
<b>Ácidos grasos y ésteres de ácidos grasos.</b>	Ejemplo: Ác. Laurico. Ác. Oleico.	Actuarían interactuando con los lípidos del estrato córneo pero también con la estructura proteica.
<b>N-alkil pirrolidonas.</b>	Ejemplo: N-metil-2-pirrolidona.	Actuarían humectando la estructura del estrato córneo y facilitando la absorción del activo.
<b>Aceites esenciales.</b>	Ejemplos: Eucaliptol. Carvone.	Los promotores de esta familia actuarían fluidificando y disrumiendo los lípidos del estrato córneo y actuarían aumentando el coeficiente de reparto del fármaco entre el estrato córneo y el vehículo que lo contiene.

(Soler Ranzani, 2006)



### **3.9 Métodos para cuantificar fármacos a través de la piel**

Actualmente existen numerosos métodos *in vivo* e *in vitro*, que nos permiten medir la absorción percutánea con el fin de estimar la concentración del fármaco que penetra la piel. Dentro del grupo de métodos *in vivo* resultan que son invasivos como la toma de sangre o muy lentos (la colecta de orina en un periodo prolongado de tiempo). (Reddy, Stinchcomb, Guy, & Bunge, 2002)

#### **3.9.1 Métodos *in vivo*.**

Como ya se mencionó, las tomas de sangre y orina son una forma de cuantificar el fármaco que haya ingresado al organismo sin embargo existen otras técnicas *in vivo* como lo son:

##### **3.9.1.2 Tape stripping (TS)**

Consiste en la remoción del EC con el uso de cintas adhesivas, es una técnica rápida que permite la medición de la velocidad y grado de absorción dérmica, al mismo tiempo que permite estimar los coeficientes de permeabilidad y partición. En este método una porción de piel es expuesta a un fármaco en un tiempo establecido después se retiran y se colocan entre 10 – 30 piezas de cinta adhesiva las cuales se eliminan de la superficie expuesta y se determina el peso del EC por diferencia de pesos, mientras que la cantidad de fármaco puede ser cuantificada por cualquier método analítico. (Martin, Neelissen-Subnel, De Han, & Boddé, 1996)

##### **3.9.1.3 Microdiálisis.**

Consiste de un intercambio de moléculas a través de una membrana porosa, siguiendo gradientes de concentración, esta técnica ha sido de gran utilidad en el control o vigilancia de compuestos libres, de bajo peso molecular, presentes en el medio extracelular. (Serrano, 2014)

La micro diálisis es utilizada para evaluar la penetración de fármacos tras la aplicación epicutánea. Es una técnica poco invasiva que nos permite evaluar la penetrabilidad de fármacos aplicados localmente. Las muestras de micro diálisis en general son de muy pequeño volumen y analitos con bajas concentraciones, lo que hace disponer de técnicas analíticas muy sensibles. (Páez, Mazzei-Dávila, & Hernández, 2002)

##### **3.9.1.4 Succión de ampolla**

Consiste en la aplicación de vacío durante un tiempo determinado mediante dispositivos disponibles comercialmente dichos dispositivos consisten en una copa de succión con agujeros. El tamaño de agujero puede variar de 3 a 10 mm de esta manera se forma una ampolla como producto de la separación de la epidermis y la dermis. La cavidad de la ampolla se llena de fluido intersticial, y con el muestreo de este líquido se puede estudiar la absorción transepidérmica de fármaco a diversos intervalos de tiempo. (Escobar-Chavéz, López-Cervantes, & Ganem-Rondero, 2011)

##### **3.9.1.5 Biopsia cutánea**

Consiste en la extirpación directa del tejido de la piel, esto puede ser a nivel de la dermis o tejido subcutáneo, es invasiva y se realiza bajo anestesia local. Los tejidos obtenidos son la dermis, epidermis y el tejido subcutáneo lo que nos



permite evaluar la cantidad de fármaco que penetra a través de las distintas estructuras de la piel. Sin embargo este método solo permite evaluar la penetración del fármaco al tiempo de la toma de la muestra. (Villarino & Landoni, 2006)

### **3.9.2 Métodos *in vitro*.**

Este tipo de métodos nos permite tener una mayor control. Existen diversos ejemplos en el que la viabilidad de la administración transdérmica se ha examinado el uso de piel animal. Cabe destacar que la piel animal en particular la del roedor es más permeable que la piel humana y por lo tanto los flujos pueden ser sobreestimados. Se ha sugerido que el mejor modelo de piel animal para utilizar es la piel de la oreja del cerdo, sin embargo lo más aceptable es utilizar tejido humano. (Hadgraft, Beutner, & Wolff, 1993)

#### **3.9.2.1 Modelo de aislamiento y perfusión de la piel**

Se consideran la mayoría de los procesos metabólicos y funciones normales de la piel, simulando condiciones *in vivo*, se toma la piel del abdomen del animal se cose la piel conectando venas y arterias de tal forma que se obtiene un tubo, posteriormente se coloca un sistema de oxigenación de venas y arterias ( $O_2$  al 0.5%) con agitación y anticoagulante. Se aplica la sustancia a estudiar y se procede a la cuantificación en el medio. Se colocan sensores de presión, pH y se alimenta con glucosa y albúmina además de un antibiótico para evitar el crecimiento de microorganismos. (López cervantes & Escobar Chávez, 2010)

#### **3.9.2.2 Celdas de Difusión tipo Franz (CDF)**

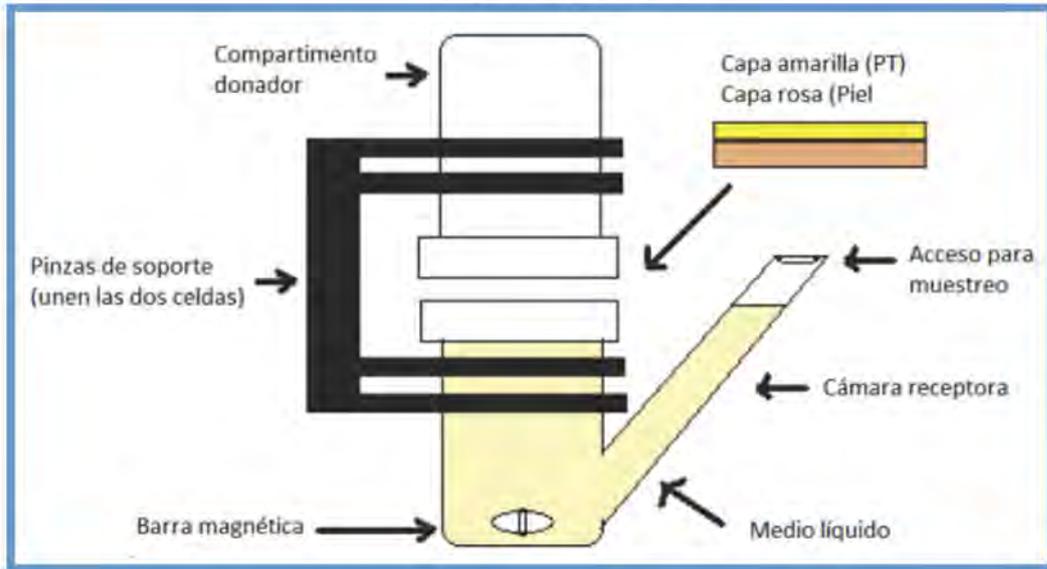
En este método la piel es tratada como una membrana semipermeable que se encuentra en contacto con medio líquido, la sustancia contenida en la forma farmacéutica se pone en contacto directo con el EC la medición del analito se realiza mediante la toma del líquido. La principal desventaja de este método es que no tiene rutas de eliminación, sistema vascular, actividad enzimática y no contempla algunas características fisiológicas de la piel como el pH y el contenido de agua.

La CDF cuenta con dos compartimentos, el compartimento donador y una cámara receptora donde se localiza el solvente solo, estos se encuentran divididos por la piel (ver ilustración 17). Se debe tener en consideración que la cámara receptora se mantiene en agitación constante con ayuda de una barra magnética; la temperatura también se mantiene constante aproximadamente  $37^{\circ}C$  utilizando una parrilla. Existen dos tipos de CDF las horizontales y verticales estas últimas son las más óptimas ya que elimina el factor de movimiento del individuo.

Es importante señalar que la piel una vez montada en CDF permanece con un grado de hidratación durante todo el periodo de ensayo lo que puede afectar la capa lipídica o inducir a la formación de vesículas extracelulares en el EC. (Ferrante, 2011)



**Ilustración 17. Representación esquemática de una celda de difusión vertical tipo Franz**

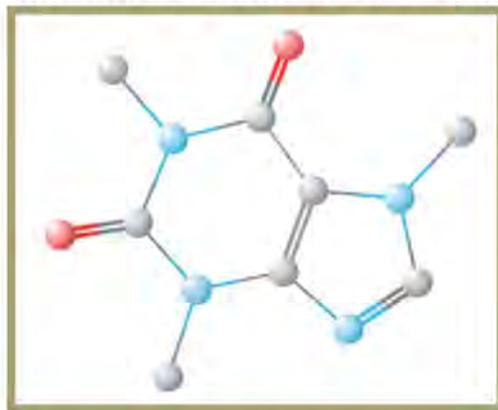


(Ferrante, 2011)

### 3.10 Cafeína

Su estructura molecular (ver ilustración 18) pertenece a un grupo de xantinas trimetiladas con sus compuestos íntimamente relacionados: teobromina (presente en el cacao) y la teofilina (presente en el té). Químicamente, esos alcaloides se parecen a las purinas, xantinas y al ácido úrico, que son compuestos metabólicamente importantes. (Tavares & Kimiko-Sakata, 2012)

**Ilustración 18. Estructura de la Cafeína**



(PubChem, 2018)

#### 3.10.1 Generalidades

Nombre IUPAC. 1,3,7-trimethylpurine-2,6-dione

Formula molecular.  $C_8H_{10}N_4O_2$

Peso molecular. 194.194 g/mol



**Descripción.** Polvo blanco cristalino o agujas brillantes, generalmente aglomeradas. La cafeína es anhidra o puede contener una molécula de agua de hidratación.

**Solubilidad.** Fácilmente soluble en cloroformo, ligeramente soluble en agua poco soluble en alcohol y éter dietílico.

**Temperatura de fusión.** Entre 235 y 237°C. (FEUM, 2017)

**Densidad.** 1.23g/cm<sup>3</sup>

**Log P =** -0.07

**pKa=** 10.4 (40 °C)

**Olor.** Sin olor.

**Sabor.** Amargo. (PubChem, 2018)

### **3.10.2 Farmacología**

- **Absorción.** Por la vía oral la cafeína es absorbida por el tracto intestinal de forma rápida y total.
- **Distribución.** Su vínculo con las proteínas plasmáticas principalmente con la albúmina es de un 10 a un 35% y el volumen de distribución es de 0.6 – 0.7 L/Kg<sup>-1</sup>. La cafeína atraviesa rápidamente las membranas celulares, como también la barrera hematoencefálica y placentaria, alcanzando grandes concentraciones en todo el cuerpo, inclusive en el encéfalo.
- **Biotransformación.** El Citocromo P450 metaboliza por desmetilación la mayor parte de la cafeína (95%) transformándola en paraxantina (85%), teobromina (10%) y teofilina (5%).
- **Eliminación.** La eliminación ocurre después del metabolismo de la cafeína para compuestos más polares, como la paraxantina y la teofilina, que también generan una actividad biológica similar a la cafeína. Solamente entre el 1% y el 2% de la dosis ingerida de cafeína se expulsa sin alteración en la orina. (Tavares & Kimiko-Sakata, 2012)

### **3.10.3 Farmacodinamia**

#### **3.10.4 Efecto estimulante**

La cafeína es un estimulante del sistema nervioso central, aumentando el 3,5-AMP-cíclico por la inhibición de la fosfodiesterasa. Así aumenta la sensibilidad del centro respiratorio bulbar al dióxido de carbono, estimula el impulso respiratorio central y aumenta la contracción de la musculatura esquelética, mejorando la contractilidad diafragmática. (Tavares & Kimiko-Sakata, 2012)

#### **3.10.5 Efecto antiinflamatorio**

Los efectos antiinflamatorios de la cafeína se deben a la inhibición competitiva no selectiva de las fosfodiesterasas (PDEs). La inhibición de las PDE aumenta la concentración intracelular de AMP cíclico (cAMP), activa la proteína quinasa A e inhibe la síntesis de leucotrienos, lo que conduce a una inflamación reducida. (PubChem, 2018)

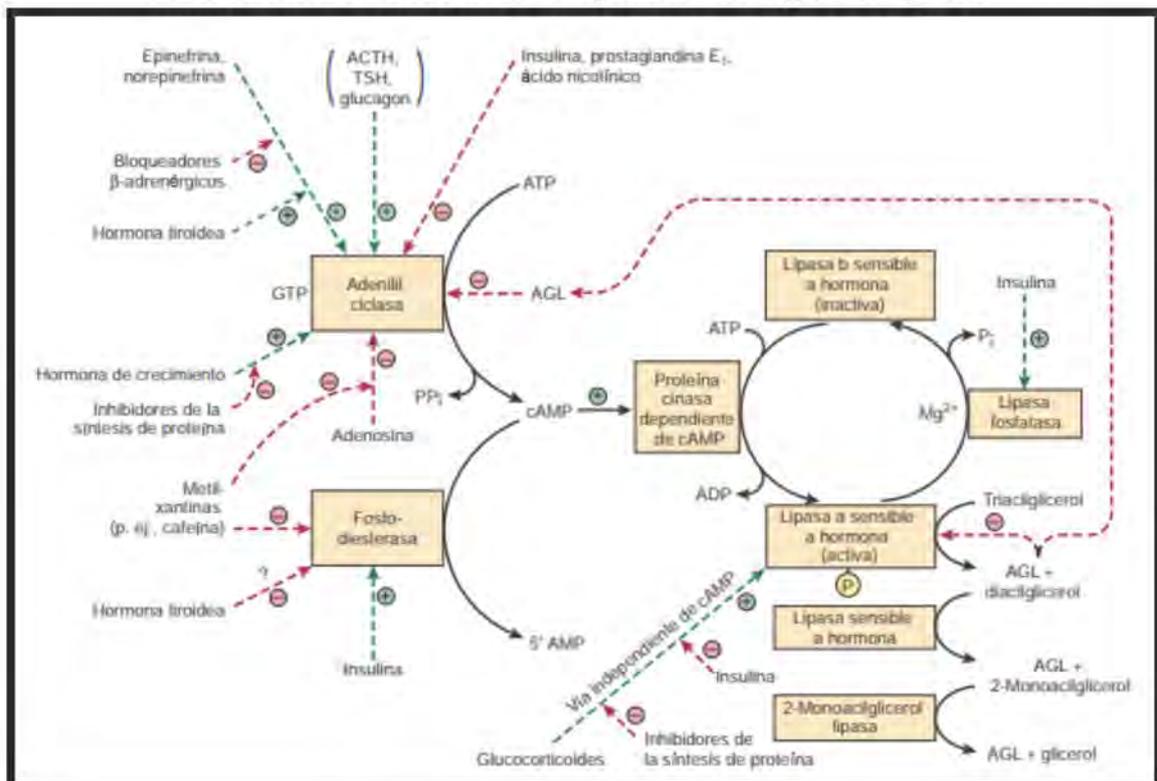


### 3.10.6 Efecto Lipolítico

Los efectos lipolíticos de la cafeína y otras metilxantinas derivadas del té y el café están bien establecidos y bien caracterizados. Estos compuestos estimulan la lipólisis al aumentar los niveles celulares de cAMP a través de estos mecanismos principales:

- Las metilxantinas también inhiben la actividad de la fosfodiesterasa, evitando la descomposición de cAMP y estimulando la lipólisis en las células de grasa (ver ilustración 19). La ingestión de cafeína aumenta el recambio de lípidos y la concentración de ácidos grasos libres en suero. Como tal, las altas ingestas de metilxantinas también pueden contribuir a una mejor pérdida de peso y mantenimiento de peso a través de una mayor oxidación de las grasas y la termogénesis. (E. Duncan, Ahmadian, Jaworski, Sarkadi-Nagy, & Sook Sul, 2017)

**Ilustración 19. Control de la lipólisis del tejido adiposo.**



(Murray, Bender, Botham, Kennelly, Rodwell, & Weil, 2009)

- Se han propuestos diversas cantidades de cafeína en parches transdérmicos que van desde los 145, 740 mg (Nicolí, Amoretti, Colombo, & Santi, 2004) y 15% p/p de Cafeína probando en este último el efecto lipolítico de la cafeína en ratones (ver ilustración 20) (Dangol, et al., 2017).



Sin embargo, cabe destacar que las dosis trabajadas de cafeína en tabletas son de 100 – 200 mg de Cafeína por 4 horas sin permitir los 1000 mg al día. Se tiene registrado que se absorbe en su totalidad y rápidamente por lo que administrar dosis altas llevaría una intoxicación. Administrar una dosis alrededor de los 1000 mg de manera constante podría dar lugar al efecto lipolítico.

- La cafeína también provoca un incremento en la atención, disminuye la fatiga muscular, incrementa la ventilación pulmonar y tener mayor rendimiento en actividades físicas promoviendo el ejercicio llevando la quema de grasa en los adipocitos. (Mañas Almendros, 2012)

### **Ilustración 20. Modelos biológicos estudiados que verifican la eficacia del parche transdérmico con cafeína como activador en el ciclo de la lipólisis**



(Dangol, et al., 2017)

Ratón de la izquierda: Modelo con obesidad inducida en dieta rica en grasas (modelo control). Ratón de la derecha: Modelo con obesidad inducida en dieta rica en grasas y tratado con el parche transdérmico cargado con cafeína.

#### **3.10.7 Reacciones adversas**

Se han registrado reacciones adversas como lo son el insomnio, agitación, excitación; náuseas, vómitos, diarrea, gastralgia, cefalea, tinnitus, desorientación, extrasístoles, palpitaciones, taquicardia, arritmia cardiaca, irritabilidad, sofocos, taquipnea, poliuria. (Vidal Vademecum Spain, 2015)

#### **3.10.8 Interacciones**

- Degradación o metabolización en el hígado ralentizada por: anticonceptivos orales, cimetidina.
- Degradación o metabolización en el hígado es acelerada por: tabaco.
- Uso simultáneo con anti infecciosos de tipo quinolonas (ácido oxolínico, ciprofloxacino): retrasa eliminación de cafeína.
- Uso concomitante con barbitúricos: antagoniza efectos hipnóticos o anticonvulsivantes de los barbitúricos.
- Uso simultáneo de broncodilatadores adrenérgicos: estimulación aditiva del SNC (incremento de la presión arterial, arritmias y hemorragia cerebral). (Vidal Vademecum Spain, 2015)



### 3.10.9 Formas farmacéuticas para la administración de cafeína

En el mercado Mexicano la cafeína es recetada comúnmente en conjunto con fármacos de actividad antiinflamatoria, relajantes musculares y analgésicos fuertes; un efecto secundario marcado en estos grupos de fármacos es la somnolencia en los pacientes. En la tabla 4 se incluyen ejemplos de medicamentos compuestos que incluyen cafeína donde se utiliza su efecto estimulante para evitar la somnolencia. (Tanner, 2003)

**Tabla 4. Ejemplos de formas farmacéuticas que incorporan cafeína**

Nombre/Marca	Dosis	Presentación	Compañía
Ibuprofeno-cafeína	400 mg / 100 mg	Cápsulas	Gel pharma
Paracetamol Ác. Acetil salicílico Cafeína	250 mg/ 250mg/ 65mg	Tabletas	Similar
Paracetamol/Cafeína	500mg/ 50mg	Tabletas	Medimart
Ergotamina/ Cafeína	1/100mg	Comprimidos	Probiomed

(Farmacias San Pablo , 2018)

### 3.11 Modelos matemáticos cinéticos de liberación

El uso de modelos matemáticos nos permite predecir o definir la cinética de liberación de las formulaciones de liberación controlada. Existen una serie de modelos cinéticos, que describen la liberación general del fármaco de su forma farmacéutica algunos de ellos se mencionan a continuación.

#### 3.11.1 Modelo de orden cero.

La liberación del fármaco a partir de formas de dosificación que no se disgregan y liberar lentamente el fármaco puede ser representado por la ecuación:

$$\text{Ecuación 2.0} \quad Q_0 - Q_t = K_0 t$$

Reorganizando la ecuación 2.0 se obtiene:

$$\text{Ecuación 2.0.1} \quad Q_t = Q_0 + K_0 t$$

Donde

$Q_t$  es la cantidad de fármaco disuelto al tiempo  $t$

$Q_0$  es la cantidad inicial del fármaco en la solución (muchas veces  $Q_0 = 0$ )

$K_0$  es la constante de liberación de orden cero expresado en unidades de concentración/tiempo.

Para estudiar la cinética de liberación los datos obtenidos del estudio de liberación debe ser graficado como cantidad acumulada de fármaco liberado contra tiempo.

#### 3.11.2 Modelo de orden uno.

Este modelo también se ha usado para describir absorción y/o eliminación de algunos fármacos, aunque es difícil conceptualizar este mecanismo sobre una



base teórica. La liberación del fármaco que sigue la cinética de primer orden se puede expresar por la ecuación:

$$\text{Ecuación 2.1} \quad \frac{dc}{dt} = -KC$$

Donde K es la constante de primer orden expresada en unidades de tiempo<sup>-1</sup>.

La ecuación 2.1 puede ser expresada como:

$$\text{Ecuación 2.1.2} \quad \log C = \log C_0 - Kt/2.303$$

Donde

$C_0$  es la concentración inicial del fármaco, K es la constante de primer orden y t es el tiempo.

Los datos obtenidos deben ser graficados como logaritmo del porcentaje acumulado del fármaco vs tiempo.

### 3.11.3 Modelo Higuchi.

El primer ejemplo de un modelo matemático destinado a describir la liberación de fármacos desde un sistema de matriz fue propuesto por Higuchi en 1961. Inicialmente concebido para sistemas planos, luego se extendió a diferentes geometrías y sistemas porosos.

Este modelo se basa en:

- La liberación de fármaco ocurre básicamente por difusión. Debido a un gradiente de concentración.
- La velocidad de disolución del fármaco es mayor que la velocidad de difusión.
- La concentración inicial de fármaco en la matriz es mucho mayor que la solubilidad del fármaco.
- La liberación del fármaco es unidireccional.
- Las partículas del fármaco son mucho más pequeñas que el grosor del sistema.
- El hinchamiento y la disolución de la matriz son despreciables.
- La difusividad del fármaco es constante.
- Se mantienen condiciones sink.

El modo de expresión viene dada como:

$$\text{Ecuación 2.2} \quad \frac{M_t}{M_\infty} = Kt^{1/2}$$

Los datos obtenidos del estudio de liberación del fármaco deben ser representados gráficamente como el porcentaje acumulativo de la liberación del fármaco frente a la raíz cuadrada del tiempo.

### 3.11.4 Modelo Korsmeyer-Peppas.

Derivaron una relación simple que describía la liberación de fármaco de un sistema polimérico. Este modelo intenta explicar el mecanismo de liberación de



fármacos donde se presenta erosión y/o disolución de la matriz. Este se expresa como:

Ecuación 2.3

$$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt^n$$

Donde  $M_t/M_\infty$  es la fracción de fármaco disuelto en un tiempo  $t$  y  $K$  es la constante de velocidad de liberación que incorpora características estructurales y geométricas del sistema de liberación y  $n$  es el exponente de liberación que indica el mecanismo mediante el cual ocurre la liberación. Si se obtiene valores de  $0.45 \leq n$  corresponde a un mecanismo de liberación Fickiano,  $0.45 < n = 0.89$  es un transporte no Fickiano o anómalo,  $n = 0.89$  es un transporte caso II (relajación de cadenas poliméricas), y  $n > 0.89$  es un super transporte caso II. Para estudiar la cinética de liberación de este caso se grafican los datos de liberación como logaritmo del porcentaje acumulativo en función del logaritmo del tiempo solo para los datos que correspondan a no más del 60% del fármaco disuelto. (Dash, Narasimha, Nath, & Chowdhury, 2010)



#### 4 Justificación

México pertenece a las naciones con mayor obesidad en adultos en el mundo, esto de acuerdo a la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) la cual está compuesta por 35 países alrededor del mundo. Al año 2015, según el reporte *Obesity Update*, más de la mitad de los adultos y casi 1 de cada 6 niños padecen sobrepeso u obesidad en países asociados a la OCDE.

Entre las medidas aplicadas en diversas políticas públicas para poder revertir la epidemia de sobrepeso y obesidad se mencionan el **aumento del precio por medio de un impuesto a alimentos potencialmente no saludables**, la cual está en vigor en varios países. En México, se grava un 8% a los alimentos no básicos con alta densidad calórica, es decir, los que en 100 gramos de producto contengan más de 275 calorías. Esto incluye botanas, confitería, chocolate, postres y dulces, mantequilla de cacahuete, helados, nieves y paletas. Además, se aplica un impuesto de 1 peso mexicano por cada litro de bebida saborizada con azúcar añadida. Existen **campañas masivas que promueven alimentos saludables**, como el consumo de frutas y verduras, en casi todos los países de la OCDE. En México, se cuenta con la promoción de “5 frutas y verduras al día”, así como su regulación en la NOM-043 que indica promover su consumo, de preferencia en crudo y con cáscara.

Las políticas antes mencionadas están siendo utilizadas por los países de la OCDE para disminuir las tasas de sobrepeso y obesidad y su crecimiento en la población. Sin embargo, no se ha observado que se revierta en ninguno de los países. Es necesaria la cooperación del gobierno, asociaciones, industria y ciudadanía para mejorar el estado de nutrición en México. (OMENT, 2017)

La búsqueda de nuevas alternativas ha impulsado la investigación para reducir este padecimiento que no solo es problema de nuestro país si no a nivel mundial. Una forma farmacéutica fácil de aplicar es la vía transdérmica esta tiene ventajas sobre otras: evita el primer paso hepático, las dosis que se aplican son continuas, son fáciles de aplicar y retirar. El estudio del presente trabajo describe el desarrollo de un parche transdérmico tipo reservorio cargado con cafeína que tendrá como función activar el ciclo de la lipólisis para poder combatir el problema del sobrepeso y obesidad que se presenta en la población de México.



## 5 Objetivos

### 5.1 Objetivo general

Desarrollar y caracterizar un parche transdérmico tipo reservorio cargado con un gel de cafeína, mediante pruebas físicas, químicas y biofarmacéuticas en piel humana usando celdas verticales tipo Franz para poder obtener una propuesta de un medicamento innovador que permita tratar el sobrepeso y obesidad en la población de México.

### 5.2 Objetivos particulares

- Desarrollar un gel de cafeína mediante el uso de un software estadístico “Statgraphics Centurion” para poder determinar el efecto de cada componente en la formulación y así correlacionar las propiedades fisicoquímicas máximas y obtener una formulación óptima.
- Caracterizar el gel óptimo cargado con Cafeína mediante pruebas fisicoquímicas como densidad relativa, pH, viscosidad y contenido químico para especificar las propiedades del gel.
- Caracterizar las películas del parche transdérmico por medio de pruebas fisicoquímicas de medición de área, grosor, bioadhesión, bioadhesión post humectación, resistencia a la ruptura para garantizar un producto de calidad.
- Realizar un estudio de liberación mediante el uso de un disolutor MAYASA para conocer la forma en la cual la cafeína es liberada del parche transdérmico.
- Conocer la cinética de liberación utilizando los modelos de orden cero, uno, Higuchi y Korsmeyer-Peppas para explicar el mecanismo de liberación de la cafeína.
- Elaborar un estudio de permeación *in vitro* a través de piel humana, utilizando celdas verticales tipo Franz para conocer los parámetros biofarmacéuticos.

## 6 Hipótesis

Si las características químicas (contenido químico y velocidad de liberación) y físicas (área, grosor, resistencia a la fractura, bioadhesión, bioadhesión post humectación) que posee el parche transdérmico tipo reservorio cargado con Cafeína son buenas entonces podrá ser propuesto para su valoración biofarmacéutica mediante estudios de permeación a través de piel humana para así garantizar la liberación de la cafeína y su acción terapéutica dando lugar a un medicamento innovador en el tratamiento del sobrepeso y obesidad.



## 7 Metodología

De forma general la metodología está representada en el siguiente diagrama de flujo.



### 7.1 Material

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

En el presente proyecto de investigación se utilizaron los siguientes reactivos grado analítico con especificaciones ACS.

- Cafeína (Bruluart S.C.)
- Ácido hialurónico (Future foods)
- Benzoato de sodio (Cosmopolita)
- HPMC (HERRY)
- Gomar guar (Reasol)
- Etilcelulosa (Sigma)
- Triacetina (Sigma)
- Kollisolv PEG E400 (Sigma)
- Kollicoat IR (Sigma)
- HEPES (Sigma)
- Hidróxido de sodio (Meyer)
- Alcohol etílico (J.T. Baker)
- Agua desionizada

En cuanto a los materiales y equipo utilizados fueron:

- Vasos de precipitado. 10, 50, 150, 250 mL y 4L
- Matraz volumétrico. 25, 50, 100, 250 mL y 4 L
- Pipetas volumétricas. 2, 4, 6, 8 y 10 mL
- Celdas de difusión tipo Franz (7 mL)
- Pinzas de sujeción de celdas Franz
- Barras magnéticas
- Moldes de plástico



- Estuche de disección
- pH metro (Science MED SM-3BW)
- Arreglo de microagujas de 2.5 mm (microneedle skin nurse system)
- Espectrofotómetro uv-vis (Velab)
- Agitador multiplaza (Rehiland)
- Texturómetro Brookfield CTB
- Microscopio electrónico de barrido (JSM-6010LA InTouchScope)
- Aparato de secado crítico (Samdri 780A)
- Disolutor MAYASA (disolutor 5 de la USP)
- Calibrador Vernier Truper (CALDI-GM)

El material biológico que se utilizó fue piel abdominal humana de pacientes sometidos a lipectomías. La piel fue donada por el Hospital Ángeles Inn Chapultepec.

## 7.2 Métodos

### 7.2.1 Diseño de experimentos con Statgraphics.

Se capturaron los datos de acuerdo al Anexo 3: Colocando 4 variables respuesta (pH, extensibilidad antes, extensibilidad después y viscosidad) con sus respectivas unidades, así como los factores de experimentación: (Cafeína y ácido hialurónico).

### 7.2.2 Preparación y Caracterización fisicoquímica del gel de cafeína por Statgraphics.

Se prepararon 27 formulaciones en 3 niveles: 350 mg 875 mg y 1400 mg de los dos factores (cafeína y ácido hialurónico). Para la preparación de cada uno de los geles se siguió la siguiente metodología:

### 7.2.3 Preparación de los geles

1. Se pesaron sobre vasos de precipitado la cantidad de cada uno de los componentes (cafeína y ácido hialurónico) de acuerdo a cada formulación dada por el programa. La cantidad del conservador (ácido benzoico) es constante para todos los geles 70 mg.
2. Se solubilizó la cantidad de ác. hialurónico pesado con la cantidad de agua de acuerdo al programa. Se colocó el sistema sobre un termo agitador, colocando una barra magnética dentro del sistema. Se encendió el agitador seleccionando una velocidad entre 50-75 rpm.
3. Se incorporó la cafeína poco a poco hasta que quedó totalmente solubilizado.
4. Se añadió por último el conservador.
5. Una vez solubilizado cada componente se etiquetó el número de lote del sistema preparado para su posterior caracterización.

### 7.2.4 pH

1. En un vaso de precipitados se colocó una cantidad suficiente de gel de cafeína de tal forma que pudo cubrir el electrodo del pH-metro (ver ilustración 21).



2. Se colocó el electrodo en la muestra y se esperó hasta que la lectura fue estable. El valor de pH se registró.

**Ilustración 21. pH metro utilizado en la lectura de pH.**



#### **7.2.5 Viscosidad**

1. En una probeta de 20 mL se colocó una muestra del gel cargado con cafeína.
2. Se trabajó con el viscosímetro Brookfield y una aguja del número 62 a 6 rpm para las formulaciones que contengan menos de 1400 mg de uno de los dos factores (cafeína o ác. Hialurónico), se usó la aguja número 63 a 6 rpm para las formulaciones que contenían al menos 1400 mg de alguno de los dos factores.
3. Se registró la viscosidad en cP.

**Ilustración 22. Viscosímetro utilizado en la medición de la viscosidad.**



#### **7.2.6 Extensibilidad**

1. Se pesó sobre un acetato 0.5 g del gel de cafeína. Posteriormente se colocó sobre un papel milimétrico.



2. Se registró el “diámetro antes” midiendo el diámetro de la gota con un calibrador digital marca truper (ver ilustración 23).
3. Se colocó un acetato sobre la gota del gel y sobre el acetato una pesa de 10 g. Se esperó un minuto y retiró la pesa. Se midió el “diámetro después” midiendo el diámetro resultante con ayuda de un vernier. (ver ilustración 24)
4. El radio fue calculado dividiendo el “diámetro antes” y el “diámetro después” por medio de la siguiente ecuación:

Ecuación No. 3.0 
$$r = \frac{D}{2}$$

Donde:

r = radio.

D = diámetro.

5. El área de extensibilidad se calculó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación No. 3.1 
$$E = \pi(r)^2$$

Donde:

E= área de extensibilidad.

$\pi = 3.1416$

r= radio promedio de las mediciones en centímetros.

6. Se repitieron los pasos anteriores con la excepción de que se usaron pesas de 50 y 150 gramos.

**Ilustración 23. Calibrador digital marca truper.**





**Ilustración 24. Ejemplo de la medición del diámetro antes y después para la prueba de extensibilidad.**



### **7.2.7 Proceso de manufactura del gel óptimo**

Una vez se obtuvo gráficamente la cantidad de cafeína y ácido hialurónico óptimos para la formulación. Se elaboró de acuerdo al procedimiento “preparación de los geles” que ya se ha descrito en el punto 7.2.3.

### **7.2.8 Caracterización del gel óptimo.**

Una vez se preparó el gel óptimo se siguieron los mismos pasos para la lectura del pH (ver punto 7.2.4) y extensibilidad (ver punto 7.2.6) en esta prueba se realizan con pesas de 10, 50 y 150 g.

Además de los estudios antes mencionados se realizaron las pruebas de densidad relativa, viscosidad y contenido químico que se presentan a continuación:

### **7.2.9 Densidad relativa.**

- 1) Se ensambló cada una de las partes que conforman el picnómetro metálico (ver ilustración 25).
- 2) En una balanza analítica se pesó el picnómetro metálico vacío.
- 3) Se pesó el mismo picnómetro metálico del paso anterior con agua desionizada y gel de cafeína por separado.
- 4) Se calculó la densidad relativa de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$\text{Ecuación 4 } \textit{Densidad relativa} = \frac{\textit{Picnómetro con muestra} - \textit{Picnómetro vacío}}{\textit{Picnómetro con agua} - \textit{Picnómetro vacío}}$$

- 5) Se llevó a cabo por triplicado los pasos anteriores.



**Ilustración 25. Picnómetro metálico desarmado y armado.**



#### **7.2.10 Viscosidad.**

- 1) En una probeta de 20 mL se colocó una muestra del gel cargado con cafeína.
- 2) Se realizó el estudio con la aguja del número 62 a 1 rpm colocándola en el centro de la probeta de tal manera que la superficie del gel cubrió completamente la muesca de la aguja.
- 3) Se tomó la lectura de la viscosidad al cabo de un minuto.
- 4) Se aumentó la velocidad de cizalla hasta 100 esperando un minuto entre cada medición.
- 5) Se registraron los valores de viscosidades disminuyendo la velocidad de cizalla hasta el punto de partida.

#### **7.2.11 Contenido químico.**

Para la obtención del contenido químico para el gel de cafeína se utilizó un método analítico validado de acuerdo al anexo 1. El cual consistió en lo siguiente:

- 1) Se pesaron 10 muestras de 1g aproximadamente del gel sobre un vaso de precipitados de 100 mL y se disolvieron con 40 mL de agua destilada.
- 2) Se trasvasó el contenido del vaso a un matraz volumétrico de 250 mL y se aforó con agua desionizada.
- 3) Se tomó una alícuota de 6 mL utilizando una pipeta volumétrica y se depositaron en un matraz volumétrico de 25 mL.
- 4) Se midió la absorbancia de cada una de las muestras a una longitud de onda de 271 nm
- 5) Se cuantificó de acuerdo a la siguiente ecuación obtenida en el método analítico:

$$\text{Ecuación 5} \quad \text{Absorbancia} = (0.0461)[\text{Concentración cafeína } \mu\text{g/mL}] + 0.0003$$

#### **7.2.12 Formulación de películas poliméricas**

Se seleccionaron distintos agentes filmógenos, matrices poliméricas y agentes plastificantes que pudieran formar parte tanto de la película impermeable como la adhesiva. Se usaron distintas cantidades de cada uno de estos componentes y se prepararon. De acuerdo a sus características finales se seleccionaron dos formulaciones de cada tipo de película para su caracterización más profunda. Las formulaciones iniciales se presentan en la tabla 5 y 6.



**Tabla 5. Formulaciones experimentales para la película impermeable.**

Formulación	Componente	Función	Porcentaje %		
			Variación		
			1	2	3
1	Goma guar	Matriz polimérica	2 p/v	2 p/v	2 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	4 v/v	8 v/v	12 v/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v	4 p/v	6 p/v
	Agua	Disolvente	25 mL		
2	Hipromelosa	Matriz polimérica	4 p/v	4 p/v	4 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	4 v/v	8 v/v	12 v/v
	Agua	Disolvente	25 mL		
3	Etilcelulosa	Matriz polimérica	4 p/v	4 p/v	4 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	4 v/v	8 v/v	12 v/v
	Metanol	Disolvente	25 mL		

**Tabla 6. Formulaciones experimentales para la película adhesiva.**

Formulación	Componente	Función	Porcentaje %		
			Variación		
			1	2	3
1	HPMC	Matriz polimérica	4 p/v	4 p/v	4 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	4 v/v	8 v/v	12 v/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v	4 p/v	6 p/v
	Agua	Disolvente	25 mL		
2	Kollicoat IR	Matriz polimérica	4 p/v	4 p/v	4 p/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v	4 p/v	6 p/v
	Kollisolv	Agente plastificante	1 v/v	2 v/v	3 v/v
	Agua	Disolvente	25 mL		
3	Kolliphor P188	Matriz polimérica	4 p/v	4 p/v	4 p/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v	4 p/v	6 p/v
	Kollisolv	Agente plastificante	1 v/v	2 v/v	3 v/v
	Agua	Disolvente	25 mL		

### 7.2.13 Método de preparación de las películas poliméricas

- 1) Se pesó un vaso de precipitados de 100 mL la cantidad de cada uno de los reactivos a utilizar.
- 2) Se adicionó en pequeñas cantidades la matriz polimérica de la formulación hasta su completa incorporación utilizando una espátula.
- 3) Con una pipeta graduada de 10 mL se añadieron los componentes líquidos y mantener bajo agitación.
- 4) Con ayuda de una probeta de 25 mL se midió 25 mL de la solución preparada y se vertió en moldes de plástico.
- 5) Se dejaron secar un día o dos dependiendo de la formulación.



#### 7.2.14 Caracterización fisicoquímica de las películas del parche transdérmico tipo reservorio

#### 7.2.15 Área y grosor

- 1) Se cortaron 10 muestras en forma cuadrada de 2 cm de lado.
- 2) Con un calibrador digital marca truper se determinó el área y el grosor de las diez muestras.
- 3) Se registraron los datos de grosor y el área se determinó mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 6.0

$$\text{Área} = (\text{lado cm})^2$$

#### 7.2.16 Resistencia a la fractura

- 1) Se colocó una pieza del parche de un área de 7.55 cm<sup>2</sup> en las pinzas del texturómetro (ver ilustración 27).
- 2) Se inició la prueba teniendo como condiciones de ensayo: Objetivo 4.0 mm, carga de activación 6.8 g, velocidad del test 0.5 mm/s.
- 3) Se registró el resultado.

**Ilustración 26. Texturómetro y ejemplo de la colocación del parche en las pinzas.**



#### 7.2.17 Pruebas de bioadhesión

1. Las películas desmoldadas son cortadas de acuerdo a la parte plana del cilindro del texturómetro el cual tiene un área de 1.131 cm<sup>2</sup>.
2. La prueba se realizó en el brazo de voluntarios sanos que no hayan tenido algún tratamiento cosmético o farmacéutico previo al estudio.
3. El parche se colocó en la superficie plana del cilindro y se adhirió con ayuda de un masking tape de doble cara.
4. Se colocó el brazo en la base del texturómetro y se bajó el cilindro con el parche adherido hasta que entró en contacto con el brazo (ver ilustración 28).



5. Se inició la prueba con condiciones de ensayo de: 0.5 mm/s, carga de activación de 6.8 g hasta tener una altura de 10 cm.
6. Se midió la fuerza necesaria para remover el parche de la piel y se registró. Se efectuó este procedimiento para 10 muestras únicamente para las películas adhesivas.

**Ilustración 27. Ejemplo de una prueba de bioadhesión.**



**7.2.18 Prueba de bioadhesión post humectación**

Esta prueba se realizó con los mismos pasos y condiciones que la prueba de bioadhesión la diferencia es que antes de realizar la prueba las películas del parche transdérmico se hidrataron con un atomizador de agua destilada a una distancia aproximada de 30 cm.

**7.2.19 Estudio de la liberación del fármaco**

1. Se armó el reservorio colocando el gel sobre la capa impermeable y encima la capa adhesiva.
2. Con ayuda de una pistola de silicón se cerró herméticamente el reservorio untando el silicón con una espátula limpia.
3. El estudio de liberación se llevó a cabo en el disolutor MAYASA usando 500 mL de Buffer HEPES (pH=7.4) a 37<sup>0</sup>C (ver ilustración 29).
4. Se colocaron 6 reservorios dentro de los 6 compartimentos (ver ilustración 30).
5. Se programó el disolutor a 50 rpm y se tomaron muestras de 4 mL de cada sistema con una jeringa de 5 mL para cada uno de los sistemas a los tiempos 0.5, 1, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90 y 120 min sin reponer el volumen perdido.
6. Se cuantificó la cafeína para cada muestra mediante espectrofotometría UV-Vis a 271 nm ver anexo 1, se graficó el porcentaje de fármaco disuelto en función del tiempo.



**Ilustración 28. Disolutor MAYASA.**



**Ilustración 29. Reservorio cargado y aditamento donde el reservorio se coloca en su interior.**



#### **7.2.20 Cinética de liberación**

Los datos del estudio de liberación del fármaco fueron ajustados a los modelos de orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas. Ver punto 3.11

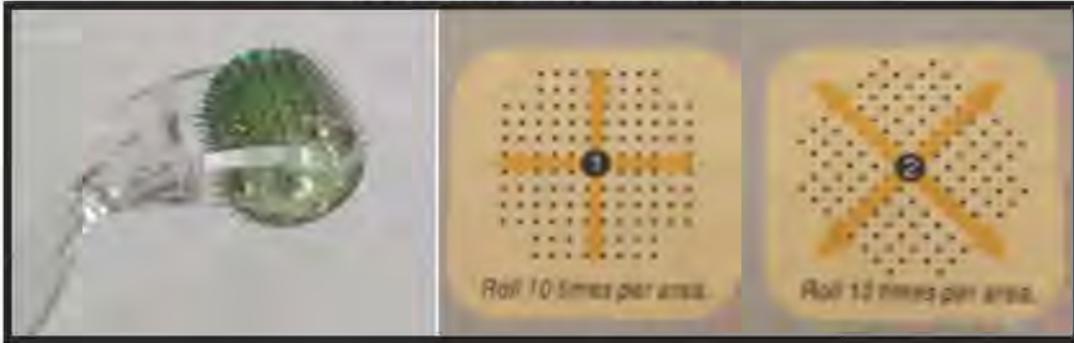
#### **7.2.21 Estudio *in vitro* de absorción percutánea**

##### **7.2.22 Tratamiento a la piel.**

1. Se cortaron trozos cuadrados de 9 cm<sup>2</sup> de lado de piel abdominal humana.
2. Se pasó superficialmente el arreglo de microagujas de 2.5 mm de longitud, de manera horizontal, vertical y transversal 10 veces para cada dirección (ver ilustración 31).
3. Se almacenaron nuevamente a -20<sup>0</sup>C hasta su posterior uso.



**Ilustración 30. Arreglo de microagujas y direcciones de paso de las microagujas sobre la piel.**



#### **7.2.23 Estudio *in vitro* mediante el uso de celdas verticales tipo Franz.**

1. En el interior de la celda se colocó una barra magnética y sobre el contenedor receptor se colocó la piel y el reservorio cargado.
2. Sobre la piel y el parche tipo reservorio se acopló el receptor donador. Se sostuvo firmemente los compartimentos con pinzas que unieron ambas piezas.
3. Se llenó la celda del compartimento receptor utilizando una jeringa con buffer tipo HEPES (pH=7.4, a 37°C.) se procuró no formar una burbuja en la interfase piel-buffer.
4. Se realizó este procedimiento para seis celdas e inició el tiempo de estudio cuando se colocaron los sistemas sobre un termo agitador magnético múltiple.
5. Se tomaron muestras de 3 mL en intervalos de 2 horas durante 32 horas reponiendo el medio con buffer a la misma temperatura.
6. Se cuantificó la cafeína para cada una de las muestras mediante espectrofotometría uv-vis a 271 nm (Anexo 1).
7. Las cantidades acumuladas del fármaco por centímetro cuadrado de los parches se graficaron en función del tiempo para obtener los perfiles y los parámetros correspondientes de los estudios de difusión.

#### **7.2.24 Calculo de las constantes biofarmacéuticas.**

- Tiempo de latencia. Este parámetro fue calculado primeramente obteniendo la ecuación de la línea recta para los últimos seis puntos del estudio de permeación en piel. Se despejó "x" y se sustituye como cero en la propiedad "y" así se obtuvo un valor en horas que es el tiempo de latencia o dicho de otra manera el cruce de la recta con el eje de las abscisas.
- Flujo. Esta constante fue obtenida de igual manera mediante la ecuación de la línea recta donde "m" que es la pendiente representa el flujo (mg/cm<sup>2</sup>.h) para cambiar estas unidades a (µg/cm<sup>2</sup>/h) bastó con multiplicar por mil.
- Constante de permeabilidad. Esta cantidad se obtuvo al dividir el flujo "J" entre la cantidad de fármaco contenido en el parche transdérmico.



### 7.2.25 Micrografías de los pozos formados con el arreglo de microagujas sobre la piel.

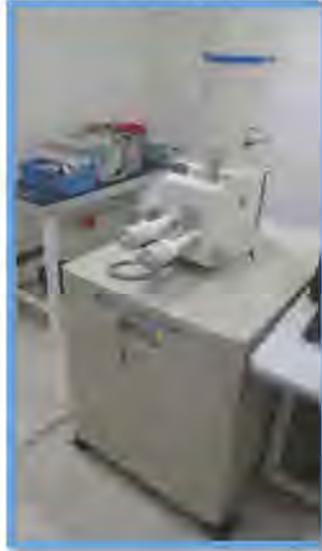
1. Se cortaron trozos de piel de aproximadamente 1 cm<sup>2</sup>.
2. A dos muestras se les aplicaron un arreglo de microagujas con una longitud de 2.5 mm, las muestras restantes se catalogaron como muestras control.
3. Se colocaron las muestras en dos recipientes, se vertió un fijador llamado Carnoy.
4. Las muestras se mantuvieron en el fijador durante 4 días, al llegar al cuarto día se retiró el fijador haciendo un lavado a las muestras con buffer HEPES (pH=7.4).
5. Se deshidrataron las muestras con alcohol para esto se retiró el buffer en el cual estaban inmersos por decantación. Se colocó alcohol al 30% se esperaron 10 minutos y se retiró el alcohol por decantación.
6. Se repitió el paso anterior cambiando el alcohol por otro más concentrado y así sucesivamente que va desde el 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 95 y 100% esperando 10 minutos entre cada cambio. El cambio de alcohol al 100% se realizó por duplicado.
7. La muestra se llevó a punto crítico, colocando las muestras de piel en el aparato de secado a punto crítico "Samdri-780A" que se puede observar en la ilustración 32.
8. Se visualizaron las muestras en el microscopio electrónico de barrido JSM-6010LA *InTouchScope* (ver ilustración 33).
9. Se tomaron diversas micrografías, tanto de la muestra control como a las que se le aplicaron las microagujas.

**Ilustración 31. Aparato de secado crítico Samdri-780<sup>a</sup>.**





**Ilustración 32. Microscopio electrónico de barrido (JSM-6010LA InTouchScope)**



## **8 Resultados y análisis de resultados.**

### **8.1 Análisis por Statgraphics Centurion**

De acuerdo a la metodología, veintisiete formulaciones fueron preparadas y analizadas en pH, viscosidad y extensibilidad, para así reunir las respuestas fisicoquímicas que son las que se tienen a continuación en la Tabla 7.

#### **8.1.1 Análisis ANOVA**

Las ANOVAS mostradas en las Tablas 8, 9, 10 y 11 dividen la variabilidad de cada respuesta en partes separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado de error experimental. Por consiguiente los efectos que presentan un valor de P menor de 0.05 indican que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95%.

El error estándar del estimado muestra la desviación estándar de los residuos. El llamado error medio absoluto MAE es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson DW prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden que se presentan los datos, cuando el valor de P es mayor que el 5% no hay indicación de auto correlación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5%.

El estadístico  $R^2$  explica el porcentaje en que el modelo explica la variabilidad de cada respuesta, el estadístico  $R^2$  ajustada se utiliza cuando se tiene 3 o más factores que expliquen la variable respuesta. Obtener una  $R^2$  a partir del 70% es un modelo que funciona bien pero aún puede mejorar, a partir del 80% es un modelo excelente, llegar al 95% es un gran modelo pero a partir del 95% al 100% se determina que está mintiendo o existe algún error. Aun así una  $R^2$  arriba del 50% también puede tomarse como válida ya que está explicando más de la mitad de la variación.



**Tabla 7. Resultados obtenidos al caracterizar las formulaciones dadas por Statgraphics Centurion.**

Formulación	Cantidad del componente (mg)		pH	Viscosidad (cP)	Extensibilidad antes (cm <sup>2</sup> )	Extensibilidad después (cm <sup>2</sup> )
	Cafeína	Ác. hialurónico				
1	350	875	7.46	375	3.13	67.88
2	875	875	7.39	375	4.31	48.18
3	1400	875	7.3	340	4.54	56.12
4	350	1400	7.31	4644	3.61	28.79
5	875	1400	7.28	4339	2.74	24.47
6	1400	1400	7.3	4219	2.96	24.36
7	350	350	7.63	22433	2.68	16.44
8	875	350	7.73	22466	3.13	19.50
9	1400	350	7.14	23400	2.86	16.78
10	350	875	7.32	176	3.37	62.00
11	875	875	7.28	215	3.29	66.43
12	1400	875	7.28	131	3.25	58.98
13	350	1400	7.29	3857	3.52	31.92
14	875	1400	7.2	4400	3.60	20.32
15	1400	1400	7.27	3984	3.20	24.89
16	350	350	7.72	23956	2.62	17.85
17	875	350	7.73	23760	2.71	11.10
18	1400	350	7.77	25623	2.50	15.52
19	350	875	7.61	185	3.13	55.68
20	875	875	7.51	200	3.78	55.31
21	1400	875	7.33	221	3.40	65.68
22	350	1400	7.34	3899	2.62	28.49
23	875	1400	7.37	38945	2.68	27.80
24	1400	1400	7.34	2864	2.92	26.76
25	350	350	7.23	19700	2.54	22.72
26	875	350	7.2	20400	2.72	16.69
27	1400	350	7.52	21666	2.51	16.99

La  $r^2$  obtenida de pH es baja 29% esto se debe a que no hay datos correlacionados entre sí. La  $r^2$  de "extensibilidad antes" es 64% por lo que puede tomarse válida ya que explica más de la mitad de la variación. La  $r^2$  en cuanto a la viscosidad es de 70% es un buen modelo que explica la variabilidad de la respuesta y esto puede ser visualizado de manera rápida en la tabla 7, donde la cantidad que cambia de ácido hialurónico tiene un efecto en este parámetro y puede ser proporcional. La "extensibilidad después" tiene un valor muy alto de  $r^2$  siendo del 95% esto indica que es un modelo excelente pues se encuentra que nuevamente las cantidades de alguno de los componentes tienen un efecto proporcional a la propiedad estudiada. Para profundizar más sobre estos efectos se explica más adelante con los diagramas de Pareto estandarizado y gráficos de superficie estimada.



**Tabla 8. Resumen ANOVA para pH.**

Fuente	SC	GI	CM	F	P
A: Cafeína	0,0242	1	0,0242	0,74	0,3988
B: Ácido hialurónico	0,0786	1	0,0786	2,42	0,1362
AA	0,0008	1	0,0008	0,03	0,8698
AB	0,0090	1	0,0090	0,28	0,6032
BB	0,1400	1	0,1400	4,31	0,0517
bloques	0,0103	2	0,0051	0,16	0,8543
Error total	0,6171	19	0,0324		
Total (corr.)	0,8804	26			
$R^2 = 29,8962$ por ciento $R^2 =$ (ajustada por g.l.) = 13,2048 por ciento Error estándar del est. = 0,180234 Error absoluto medio = 0,11607 Estadístico Durbin-Watson = 1,1726 (P=0,0036) Autocorrelación residual de Lag 1 = 0,412443					

SC: Suma de cuadrados, GI: Grados de libertad, CM=Cuadrado medio

**Tabla 9. Resumen ANOVA para viscosidad.**

Fuente	SC	GI	CM	F	P
<b>A:</b> <b>Cafeína</b>	577096	1	577096	0,01	0,9144
<b>B:</b> <b>Ácido hialurónico</b>	2,28E9	1	2,2486E9	46,12	0,0000
<b>AA</b>	8,69E7	1	8,696E7	1,78	0,1960
<b>AB</b>	1,79E6	1	1,797E6	0,04	0,8496
<b>BB</b>	7,42E7	1	7,424E7	1,52	0,2308
<b>Error total</b>	1,023E9	21	4,875E7		
<b>Total (corr.)</b>	3,436E9	26			
$R^2 = 70,2044$ por ciento $R^2 =$ (ajustada por g.l.) = 63,1102 por ciento Error estándar del est. = 6982,24 Error absoluto medio = 3418,6 Estadístico Durbin-Watson = 2,3321 (P=0,7519) Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,166766					

SC: Suma de cuadrados, GI: Grados de libertad, CM=Cuadrado medio



**Tabla 10. Resumen ANOVA para extensibilidad antes.**

Fuente	SC	GI	CM	F	P
A: Cafeína	0,0472	1	0,04726	0,35	0,5612
B:Ácido hialurónico	3,4924	1	3,49246	25,85	0,0001
AA	0,0063	1	0,0063	0,05	0,8307
AB	0,1928	1	0,1928	1,43	0,2469
BB	0,1418	1	0,1418	1,05	0,3183
bloques	0,8265	2	0,4132	3,06	0,0705
Error total	2,5671	19	0,1351		
Total (corr.)	7,2746	26			
$R^2 = 64,7105$ por ciento $R^2$ (ajustada por g.l.) = 56,3082 por ciento Error estándar del est. = 0,36758 Error absoluto medio = 0,246416 Estadístico Durbin-Watson = 2,16291 (P=0,4225) Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,130975					

SC: Suma de cuadrados, GI: Grados de libertad, CM=Cuadrado medio

**Tabla 11. Resumen ANOVA para extensibilidad después.**

Fuente	SC	GI	CM	F	P
A: Cafeína	36,692	1	36,6922	1,78	0,1976
B: Ácido hialurónico	8135,82	1	8135,82	395,36	0,00
AA	62,86	1	62,86	3,05	0,0966
AB	0,7106	1	0,7106	0,03	0,8545
BB+	850,0	1	850,0	41,31	0,00
bloques	10,271	2	5,1356	0,25	0,7817
Error total	390,98	19	20,5783		
Total (corr.)	9487,34	26			
$R^2 = 95,8788$ por ciento $R^2$ (ajustada por g.l.) = 94,8976 por ciento Error estándar del est. = 4,53633 Error absoluto medio = 2,83665 Estadístico Durbin-Watson = 2,08131 (P=0,3475) Autocorrelación residual de Lag 1 = -0,0994513					

SC: Suma de cuadrados, GI: Grados de libertad, CM=Cuadrado medio

### 8.1.2 Diagramas de Pareto

Los diagramas de Pareto que se muestran en la Tabla 12, tienen una línea vertical de color azul, lo cual indica un nivel de significancia del 5% por lo tanto



los factores e interacciones que están detrás de la línea no son significativos, mientras que los que si la llegan a sobrepasar si son significativos. El color de las barras indica el sentido en el cual el factor modifica la respuesta, que tenga un color gris la barra, significa que lo modifica en sentido positivo, el color azul es negativo: el factor disminuye la respuesta.

### 8.1.3 pH

Como se puede apreciar en la tabla 12, ningún componente logra hacer un efecto significativo en el parámetro, esto es contrastado con la  $r^2$  que no indica una correlación en los sistemas evaluados.

### 8.1.4 Viscosidad

Aquí se puede apreciar que el ácido hialurónico sobrepasa la línea azul, nos demuestra que afecta la viscosidad de manera **positiva** de acuerdo al color de la barra (gris), esto se explica desde el punto que el ácido hialurónico ejerce la función de agente gelificante donde a mayores cantidades la viscosidad aumenta en mayor medida.

### 8.1.5 Extensibilidad antes y después

En estos dos casos se aprecia que el ácido hialurónico nuevamente sobrepasa la línea azul afectando el parámetro de extensibilidad, las barras son de color azul por lo que las afectan de una manera **negativa**. Esto es lógico ya que a mayor cantidad de ácido hialurónico el gel es más viscoso y al colocar las pesas sobre la muestra se expande menos. En los sistemas donde el ácido hialurónico se encuentra en menor porción se expande mucho al colocar las pesas.

### 8.1.6 Gráficos superficie respuesta

En las gráficas de superficie respuesta de la Tabla 13, se puede observar los efectos principales de cada factor y sus tendencias pero además, se pueden establecer los niveles en que se obtiene una respuesta máxima estimada.

Para el caso de del pH el gráfico mostrado es de un solo color, por lo que independientemente de la cantidad de los componentes se tendrán valores de pH que van de 7,2 a 7,8.

En el caso de viscosidad la respuesta máxima estimada se da en la parte naranja donde se encuentran grandes cantidades de ácido hialurónico la respuesta podría ser de hasta 31000 cP.

Los casos de extensibilidad las máximas respuestas se obtienen al tener poca cantidad de ácido hialurónico en el sistema, donde podrían obtenerse respuesta máximas de 4.5 y 96 g/cm<sup>2</sup> para extensibilidad antes y después respectivamente.



Tabla 12. Diagramas de Pareto estandarizado.

Parámetro	Diagrama de Pareto																		
pH	<p>Diagrama de Pareto para pH. El eje horizontal muestra el efecto estandarizado de 0 a 2.4. Las barras representan los efectos de los factores: BB+bloque (gris, +), ácido hialurónico+bloque (gris, +), A:Cafeína+bloque (azul, -), AB+bloque (gris, +), y AA+bloque (azul, -). Una línea vertical de referencia está ubicada en 0.8.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Factor</th> <th>Efecto estandarizado (aprox.)</th> <th>Signo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>BB+bloque</td> <td>2.1</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>ácido hialurónico+bloque</td> <td>1.5</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>A:Cafeína+bloque</td> <td>0.8</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>AB+bloque</td> <td>0.5</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AA+bloque</td> <td>0.2</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo	BB+bloque	2.1	+	ácido hialurónico+bloque	1.5	+	A:Cafeína+bloque	0.8	-	AB+bloque	0.5	+	AA+bloque	0.2	-
Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo																	
BB+bloque	2.1	+																	
ácido hialurónico+bloque	1.5	+																	
A:Cafeína+bloque	0.8	-																	
AB+bloque	0.5	+																	
AA+bloque	0.2	-																	
Viscosidad	<p>Diagrama de Pareto para Viscosidad. El eje horizontal muestra el efecto estandarizado de 0 a 8. Las barras representan los efectos de los factores: B:Ácido hialurónico (gris, +), AA (azul, -), BB (gris, +), AB (gris, +), y A:Cafeína (gris, +). Una línea vertical de referencia está ubicada en 2.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Factor</th> <th>Efecto estandarizado (aprox.)</th> <th>Signo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>B:Ácido hialurónico</td> <td>6.5</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AA</td> <td>1.5</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>BB</td> <td>1.2</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AB</td> <td>0.3</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>A:Cafeína</td> <td>0.2</td> <td>+</td> </tr> </tbody> </table>	Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo	B:Ácido hialurónico	6.5	+	AA	1.5	-	BB	1.2	+	AB	0.3	+	A:Cafeína	0.2	+
Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo																	
B:Ácido hialurónico	6.5	+																	
AA	1.5	-																	
BB	1.2	+																	
AB	0.3	+																	
A:Cafeína	0.2	+																	
Extensibilidad antes	<p>Diagrama de Pareto para Extensibilidad antes. El eje horizontal muestra el efecto estandarizado de 0 a 6. Las barras representan los efectos de los factores: ácido hialurónico+bloque (azul, -), AB+bloque (azul, -), BB+bloque (gris, +), A:Cafeína+bloque (gris, +), y AA+bloque (azul, -). Una línea vertical de referencia está ubicada en 2.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Factor</th> <th>Efecto estandarizado (aprox.)</th> <th>Signo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ácido hialurónico+bloque</td> <td>5.2</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>AB+bloque</td> <td>1.2</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>BB+bloque</td> <td>1.0</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>A:Cafeína+bloque</td> <td>0.8</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AA+bloque</td> <td>0.3</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo	ácido hialurónico+bloque	5.2	-	AB+bloque	1.2	-	BB+bloque	1.0	+	A:Cafeína+bloque	0.8	+	AA+bloque	0.3	-
Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo																	
ácido hialurónico+bloque	5.2	-																	
AB+bloque	1.2	-																	
BB+bloque	1.0	+																	
A:Cafeína+bloque	0.8	+																	
AA+bloque	0.3	-																	
Extensibilidad después	<p>Diagrama de Pareto para Extensibilidad después. El eje horizontal muestra el efecto estandarizado de 0 a 20. Las barras representan los efectos de los factores: ácido hialurónico+bloque (azul, -), BB+bloque (gris, +), AA+bloque (gris, +), A:Cafeína+bloque (azul, -), y AB+bloque (azul, -). Una línea vertical de referencia está ubicada en 4.</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Factor</th> <th>Efecto estandarizado (aprox.)</th> <th>Signo</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ácido hialurónico+bloque</td> <td>19.5</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>BB+bloque</td> <td>6.5</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>AA+bloque</td> <td>2.0</td> <td>+</td> </tr> <tr> <td>A:Cafeína+bloque</td> <td>1.5</td> <td>-</td> </tr> <tr> <td>AB+bloque</td> <td>0.5</td> <td>-</td> </tr> </tbody> </table>	Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo	ácido hialurónico+bloque	19.5	-	BB+bloque	6.5	+	AA+bloque	2.0	+	A:Cafeína+bloque	1.5	-	AB+bloque	0.5	-
Factor	Efecto estandarizado (aprox.)	Signo																	
ácido hialurónico+bloque	19.5	-																	
BB+bloque	6.5	+																	
AA+bloque	2.0	+																	
A:Cafeína+bloque	1.5	-																	
AB+bloque	0.5	-																	



Tabla 13. Diagramas de superficie estimada.

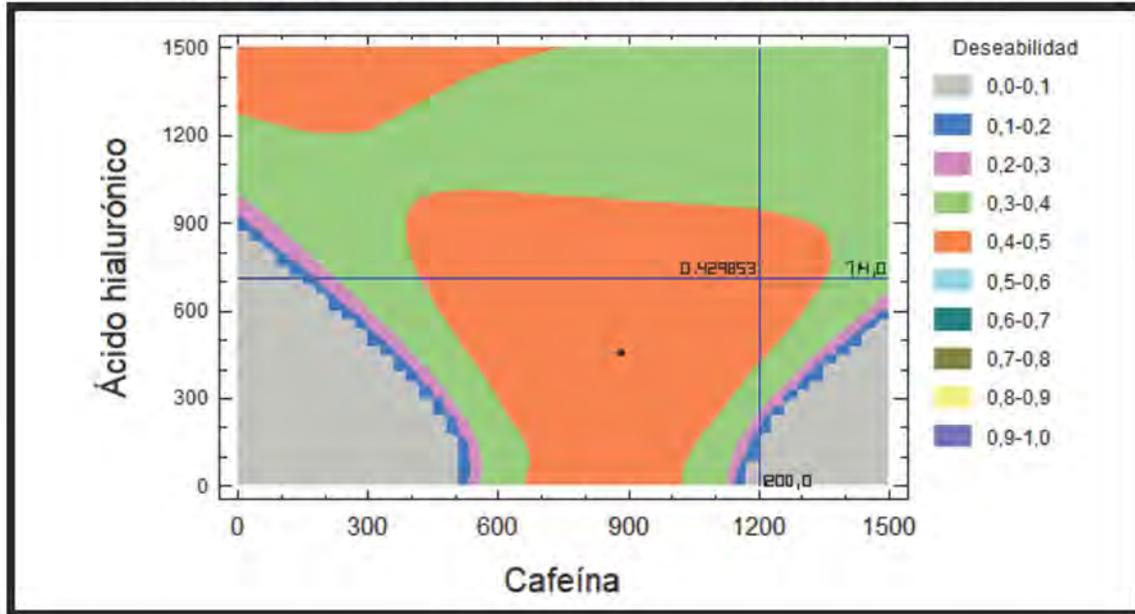
Parámetro	Diagrama Superficie estimada
pH	<p>Superficie de Respuesta Estimada</p> <p>Ácido hialurónico</p> <p>Caffeína</p> <p>pH</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>72,0</li> <li>72,6</li> <li>73,2</li> <li>73,8</li> <li>74,4</li> <li>75,0</li> <li>75,6</li> <li>76,2</li> <li>76,8</li> <li>77,4</li> <li>78,0</li> <li>78,6</li> </ul>
Viscosidad	<p>Superficie de Respuesta Estimada</p> <p>Ácido hialurónico</p> <p>Caffeína</p> <p>Viscosidad (X 1000,0)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-9000,0</li> <li>-5000,0</li> <li>-1000,0</li> <li>3000,0</li> <li>7000,0</li> <li>11000,0</li> <li>15000,0</li> <li>19000,0</li> <li>23000,0</li> <li>27000,0</li> <li>31000,0</li> <li>35000,0</li> </ul>
Extensibilidad antes	<p>Superficie de Respuesta Estimada</p> <p>Ácido hialurónico</p> <p>Caffeína</p> <p>Extensibilidad antes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>2,5</li> <li>2,7</li> <li>2,9</li> <li>3,1</li> <li>3,3</li> <li>3,5</li> <li>3,7</li> <li>3,9</li> <li>4,1</li> <li>4,3</li> <li>4,5</li> <li>4,7</li> </ul>
Extensibilidad después	<p>Superficie de Respuesta Estimada</p> <p>Ácido hialurónico</p> <p>Caffeína</p> <p>Extensibilidad después</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>0,0</li> <li>12,0</li> <li>24,0</li> <li>36,0</li> <li>48,0</li> <li>60,0</li> <li>72,0</li> <li>84,0</li> <li>96,0</li> <li>108,0</li> <li>120,0</li> <li>132,0</li> </ul>

Ya que se han remarcado los efectos de los componentes de las formulaciones se puede correlacionar todas las propiedades fisicoquímicas y seleccionar una formulación óptima, sin embargo no se adapta a la cantidad de cafeína que se requiere. No obstante se puede seleccionar la cantidad deseada sin salirse del contorno óptimo. Esta opción es seleccionada gráficamente en el gráfico de contornos superficie respuesta (ver ilustración 34). Se localizó gráficamente 1.2 g de cafeína sobre el gráfico y muestra la cantidad de ácido hialurónico óptimo



sin salirse de las propiedades fisicoquímicas ideales. Estas cantidades se muestran en la Tabla 14.

**Ilustración 33. Gráfico de contornos superficie respuesta.**



**Tabla 14. Cantidades óptimas para la preparación del gel de cafeína.**

Componente	Formulación óptima (mg)	Formulación óptima seleccionada gráficamente (mg)
Cafeína	884.468	1200
Ác. hialurónico	465.014	714

### 8.2 Caracterización de gel de Cafeína óptimo

De las cantidades óptimas tanto de cafeína y ácido hialurónico seleccionadas gráficamente la formulación se representa en la Tabla 15. Esta formulación se preparó para su caracterización.

**Tabla 15. Formulación óptima de cafeína.**

Componente.	Cantidad (mg)	Función.
Cafeína.	1200	Activo.
Ác. hialurónico.	714	Agente gelificante
Ác. benzoico	70 mg	Conservador
Agua	cbp	Disolvente

#### 8.2.1 Densidad relativa

La densidad relativa es el cociente de la masa de cualquier sustancia entre la masa de un volumen igual de agua en las mismas condiciones. Esta razón equivale a la densidad de una sustancia dividida entre la densidad del agua. La densidad del agua misma por consiguiente es de 1. La densidad relativa carece de unidades debido a que se dividen dos valores con las mismas unidades. (Burns, 2003)



Se llevó a cabo la prueba de densidad relativa por triplicado para el gel de cafeína, observando los resultados obtenidos en la Tabla 16, se tiene que la densidad relativa del gel es de  $1.008 \pm 0.0009$  que es muy similar al del agua.

**Tabla 16. Resultados obtenidos para las tres mediciones de la densidad relativa.**

Parámetro medido	Muestra		
	1	2	3
Picnómetro vacío (g)	50.54	50.54	50.54
Picnómetro con agua desionizada (g)	62.14	62.14	62.14
Picnómetro con muestra (g)	62.23	62.24	62.25
Densidad relativa	1.007	1.008	1.009
Promedio densidad relativa	1.008	-	-
Desviación estándar	0.0009	-	-

### 8.2.2 Viscosidad

La viscosidad es la propiedad de un fluido que ofrece resistencia al movimiento relativo de sus moléculas. El estudio de las características de deformación y de flujo se conoce como reología, que es del campo del cual aprendemos acerca de la viscosidad de los fluidos que se pueden dividir en dos grandes grupos:

- Un fluido newtoniano tiene como característica que la tensión de corte del fluido es directamente proporcional al gradiente de velocidad. (Mott, 1996)
- Un fluido no newtoniano se caracteriza por que el esfuerzo de cizalla no es paralelo a los planos de cizalladura y la relación lineal no se aplica como en los fluidos newtonianos. (Diccionarios Oxxford, 2004)

Esta prueba fue efectuada a temperatura ambiente teniendo como medida un minuto de medición por cada nivel de velocidad. Los resultados se muestran en la tabla 17 y la gráfica en la ilustración 35.

Como se puede observar la tendencia tanto ascendente como descendente no es directamente proporcional a la velocidad de cizalla por lo que se descarta que sea un fluido newtoniano, en cambio la viscosidad disminuye al aumentar la velocidad de cizalla, a este fenómeno se le denomina tixotropía, por ende es un fluido de tipo no newtoniano tixotrópico. Estos fluidos se caracterizan por disminuir su viscosidad con el estrés de cizalla a lo largo del tiempo.

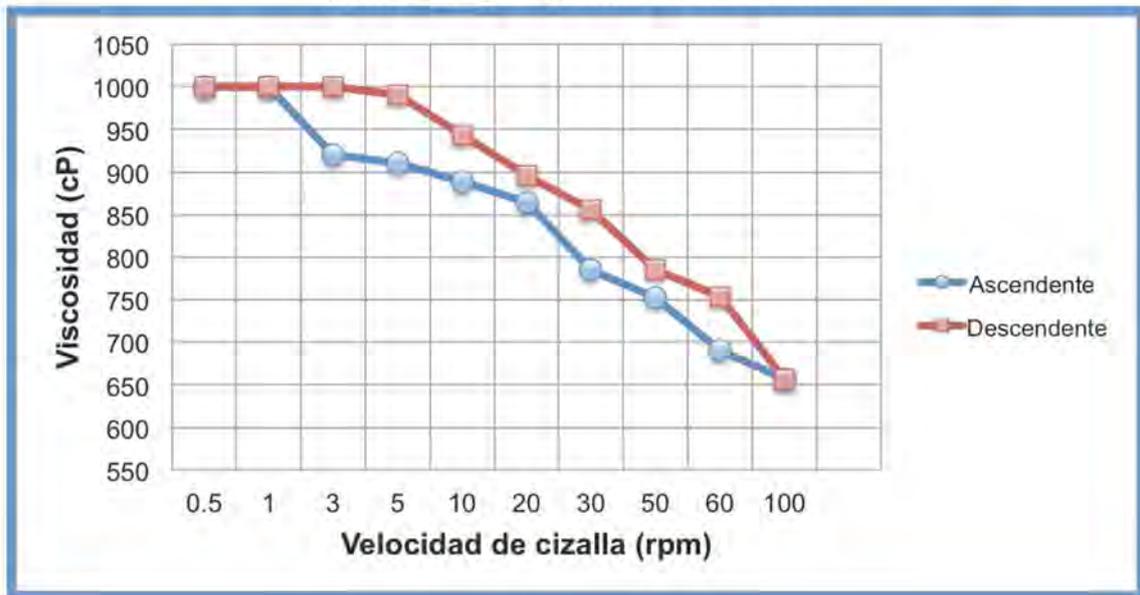
El fluido opuesto a la tixotropía se le asigna el nombre de reopexia, estos aumentan su viscosidad con el estrés de cizalla a lo largo del tiempo. (SCI, 2010)



**Tabla 17. Resultados obtenidos al evaluar la viscosidad del gel óptimo a diferentes velocidades de cizalla.**

Velocidad de cizalla (rpm)	Viscosidad ascendente (cP)	Viscosidad descendente (cP)
0.5	1000	1000
1	1000	1000
3	920	1000
5	910	990
10	888	943
20	864	896
30	785	856
50	752	785
60	690	754
100	657	657

**Ilustración 34. Relación entre la viscosidad (cP) vs la velocidad de cizalla (rpm) del gel óptimo de cafeína.**



### 8.2.3 pH

El pH de la piel está comprendido entre 5.9 y 6.9 (como media 6.8) es decir ligeramente ácido y ello en las partes del cuerpo que están expuestas al aire libre. El pH es alcalino en los pliegues de la piel (axilas, ano, ingles entre otros). (Pommier, 2002) De acuerdo al pH medido del gel de cafeína, este tiene un valor de 7.01 Lo que lo hace ligeramente más alcalino a la piel, aun así no se considera drástico para el órgano ya que entre cada aplicación que se efectuó se puede cambiar la zona de aplicación en la piel.

### 8.2.4 Contenido químico

Esta prueba se realizó por triplicado para conocer el contenido de Cafeína en el parche. Para determinar la cantidad de Cafeína se elaboró una curva de



calibración (ver anexo 1) donde se interpoló la absorbancia de la muestra para primero determinar la concentración y con ello se calcula la cantidad de Cafeína. Esta prueba es importante para determinar si la cafeína está siendo dispersada correctamente en el gel. A continuación se muestran las cantidades obtenidas en la Tabla 15.

**Tabla 18. Cantidad de cafeína obtenida para contenido químico.**

Muestra	Absorbancia	Concentración Cafeína ( $\mu\text{g/mL}$ )	Porcentaje recuperado Cafeína
1	0.5496	11.91	98.10
2	0.559	12.11	99.78
3	0.5585	12.10	99.69
4	0.5598	12.13	99.92
5	0.5539	12.00	98.87
6	0.5547	12.02	99.01
7	0.5543	12.01	98.94
8	0.5755	12.47	102.73
9	0.5512	11.95	98.39
10	0.5588	12.11	99.74
Promedio	-	-	99.52
Desviación estándar	-	-	1.2870
C.V. %	-	-	1.2932

De acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, se reitera que en el caso de los parches transdérmicos se considera que existe una uniformidad de contenido cuando la cantidad de principio activo en las unidades de dosificación se encuentra dentro del intervalo del 85 a 115% del valor teórico y la desviación estándar relativa es menor al 6.0%. Estos resultados demuestran que el contenido de cafeína en el gel cuentan con la cantidad teórica y presentan uniformidad en su contenido. Este factor es necesario ya que se debe garantizar que en cada forma de dosificación cuente con la cantidad de fármaco necesario.

### 8.2.5 Extensibilidad

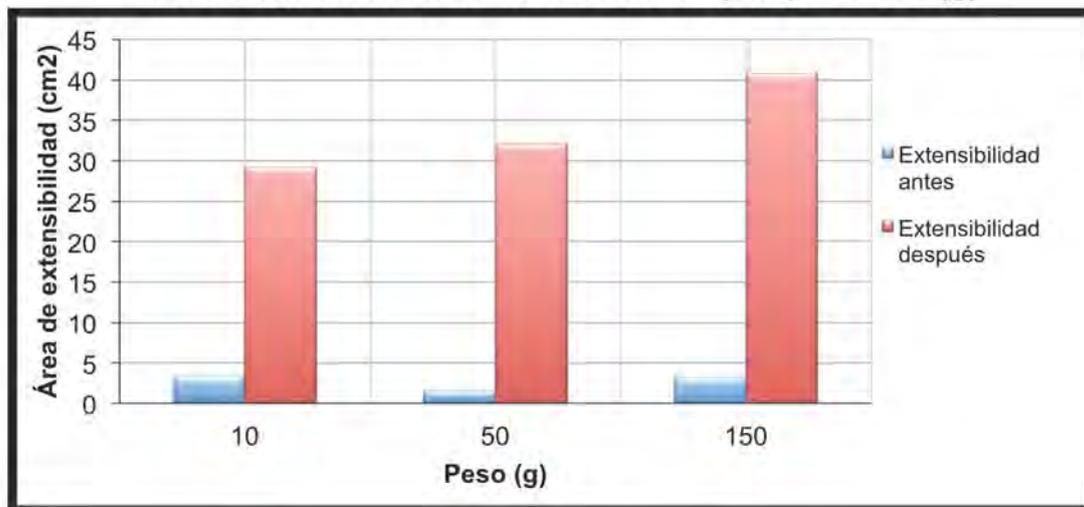
La extensibilidad Se puede definir como el incremento de superficie que experimenta una cierta cantidad de emulsión o gel cuando se la somete a la acción de pesos, en intervalos fijos de tiempo. (Fernández Montez, 2003) Esta prueba se llevó a cabo usando 3 diferentes pesos: 10, 50 y 150 gramos. En las Tablas 19 y 20 se muestran el diámetro obtenido (mm), radio (cm) y área de extensibilidad ( $\text{cm}^2$ ) para cada peso aplicado, mostrando de una manera más gráfica en la ilustración 36 el área inicial alcanza 3 cm aproximadamente y el área después se dispara hasta valores 10 veces más que el inicial. Esto indica que el gel tiene propiedades buenas para la untabilidad pues su área se extiende enormemente, puesto a mayor presión aplicado mayor será el área que se extiende el gel.



Tabla 19. Resultados obtenidos al medir el diámetro de las muestras de gel para la prueba de extensibilidad.

Pesos aplicados (gramos)	Cantidad muestra (gramos)	Diámetro (milímetros)	
		Antes	Después
10	0.5023	20.92	69.84
	0.5018	19.38	54.34
	0.5054	21.68	57.84
Promedio	0.5031	-	-
50	0.5069	21.12	67.81
	0.5501	27.01	62.88
	0.5106	21.66	61.07
Promedio	0.5225	-	-
150	0.5087	20.18	68.92
	0.5672	20.98	75.91
	0.5583	20.45	71.25
Promedio	0.5447	-	-

Ilustración 35. Área de extensibilidad (cm<sup>2</sup>) vs Peso (g)





**Tabla 20. Resultados obtenidos al calcular el radio y el área de extensibilidad para las muestras del gel cargado con cafeína para la prueba de extensibilidad).**

Pesos aplicados	Radio (centímetros)		Área de extensibilidad (cm <sup>2</sup> )		Promedio área de extensibilidad (cm <sup>2</sup> )	
	Antes	Después	Antes	Después	Antes	Después
10	1.046	3.492	3.437	38.314	3.36	29.26
	0.969	2.717	2.951	23.191		
	1.084	2.892	3.693	26.279		
50	1.056	3.390	1.178	36.114	1.63	32.15
	1.350	3.144	2.464	31.058		
	1.083	3.053	1.270	29.296		
150	1.009	3.446	3.198	37.311	3.31	40.81
	1.049	3.795	3.457	45.257		
	1.022	3.562	3.284	39.871		

### 8.3 Formulación de las películas que conformarán el parche tipo reservorio.

Para poder formar cada película se necesita una matriz polimérica, la cual será dispersada en un disolvente compatible tanto con los demás componentes de la formulación de la película como los componentes del gel mismo de cafeína.

De las formulaciones propuestas en las tablas 5 y 6, se inspeccionaron de acuerdo a sus características físicas como son la textura, el color y la flexibilidad de las cuales destacan las siguientes formulaciones finales mostradas en las tablas 21 y 22. Para cada una de las películas mostradas en estas tablas, se les sometió a prueba finales para cerciorarnos de su utilidad como películas que conformaran el parche transdérmico tipo reservorio.

**Tabla 21. Formulaciones experimentales para la película impermeable.**

Formulación	Componente	Función	Porcentaje %
A	Goma guar	Matriz polimérica	2 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	8 v/v
	PVP K30	Formador de película	2 v/v
	Agua	Disolvente	25 mL
B	Etilcelulosa	Matriz polimérica	4 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	8 v/v
	Metanol	Disolvente	25 mL



**Tabla 22. Formulaciones experimentales para la película adhesiva.**

Formulación	Componente	Función	Porcentaje %
C	HPMC	Matriz polimérica	4 p/v
	Triacetina	Agente plastificante	4 v/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v
	Agua	Disolvente	25 mL
D	Kollicoat IR	Matriz polimérica	4 p/v
	PVP K30	Formador de película	2 p/v
	Kollisolv	Agente plastificante	2 v/v
	Agua	Disolvente	25 mL

### 8.3.1 Área y grosor

El área y grosor fue evaluada para caracterizar las películas antes mencionadas, es necesario que tengan dimensiones adecuadas para que ambas películas empalmen correctamente al cerrar el reservorio y el principio activo no se escape del reservorio.

El área y grosor para las películas impermeables y adhesivas son presentadas en la tabla 23 y 24 donde se encuentra que existe variación del área, esto puede deberse que se cortaron las películas utilizando un cutter lo que no hace tan preciso el tener dimensiones tan exactas entre cada película, que obtenerlas por medio de una maquina automatizada al momento de escalar el proceso. En cuanto al grosor, se observan variaciones, sin embargo el grosor obtenido es estéticamente el deseable para la aplicación del parche en la piel.

**Tabla 23. Resultados para área y grosor de las películas impermeables.**

Muestra	Formulación A				Formulación B			
	Lado (mm)	Lado (cm)	Área (cm <sup>2</sup> )	Grosor (mm)	Lado (mm)	Lado (cm)	Área (cm <sup>2</sup> )	Grosor (mm)
1	19.7	1.97	3.8809	0.22	21.07	2.107	4.4394	0.81
2	21.43	2.143	4.5924	0.32	20.84	2.084	4.3430	0.25
3	20.1	2.01	4.0401	0.2	21.17	2.117	4.4816	0.35
4	20.13	2.013	4.0521	0.17	19.84	1.984	3.9362	0.54
5	19.3	1.93	3.7249	0.21	20.87	2.087	4.3555	0.62
6	20.47	2.047	4.1902	0.22	20.58	2.058	4.2353	0.41
7	20.87	2.087	4.3555	0.16	21.51	2.151	4.6268	0.13
8	20.63	2.063	4.2559	0.2	20.24	2.024	4.0965	0.3
9	21.68	2.168	4.7002	0.17	20.02	2.002	4.0080	0.34
10	20.53	2.053	4.2148	0.11	20.63	2.063	4.2559	0.29
Promedio	-	-	4.2007	0.198	-	-	4.2778	0.404
S	-	-	0.2994	0.0545	-	-	0.2171	0.1998
CV%	-	-	7.1277	27.5395	-	-	5.0760	49.4801



**Tabla 24. Resultados experimentales para el área y grosor de las películas adhesivas.**

Muestra	Formulación C				Formulación D			
	Lado (mm)	(Lado (cm)	Área (cm <sup>2</sup> )	Grosor	Lado (mm)	(Lado (cm)	Área (cm <sup>2</sup> )	Grosor
1	21.39	2.13	4.57	0.38	20.01	2.00	4.00	0.34
2	20.52	2.05	4.21	0.41	22.02	2.20	4.84	0.15
3	20.47	2.04	4.19	0.34	22.69	2.26	5.14	0.42
4	20.51	2.05	4.20	0.33	22.21	2.22	4.93	0.44
5	21.31	2.13	4.54	0.25	22.59	2.25	5.10	0.3
6	21.44	2.14	4.59	0.3	20.42	2.04	4.16	0.25
7	21.62	2.16	4.67	0.22	22.66	2.26	5.13	0.2
8	20.7	2.07	4.28	0.78	22.45	2.24	5.04	0.26
9	21.28	2.12	4.52	0.55	20.79	2.07	4.32	0.18
10	20.78	2.07	4.31	0.23	21.59	2.15	4.66	0.25
Promedio	-	-	4.41	0.37	-	-	4.73	0.27
S	-	-	0.18	0.17	-	-	0.42	0.09
CV	-	-	0.04	0.45	-	-	0.09	0.34
CV%	-	-	4.25	45.30	-	-	9.01	34.7

### 8.3.2 Resistencia a la fractura

Esta prueba se llevó a cabo para conocer la fuerza necesaria para fracturar las películas y conocer cuál es más resistente, la prueba se llevó a cabo con el Texturómetro CT3 Brookfield. Dicha prueba se realizó a 10 muestras para cada una de las formulaciones.

En la tabla 25, se muestran los resultados obtenidos para esta prueba donde se encontró que para las formulaciones de la película impermeable la Formulación B es más resistente teniendo un promedio de fractura de 707.85 gramos fuerza. En cuanto a la película adhesiva la formulación D obtuvo un promedio de 450.35 gramos fuerza. Esta prueba es de mucha importancia ya que estas películas protegen al reservorio de posibles golpes o mal manejo, aun así deben asegurar que son capaces de resistir los embates del manejo de los pacientes.



**Tabla 25. Resultados de la prueba de resistencia a la fractura para las películas impermeables y adhesivas.**

Muestra	Pico de carga (g)			
	Película impermeable		Película adhesiva	
	Formulación A	Formulación B	Formulación C	Formulación D
1	460	935	221	553.5
2	138	937	107.5	316
3	49	728.5	158.5	474
4	196.5	636	312	324.5
5	336	767.5	125	705
6	230	1205.5	145	503.5
7	229.5	435.5	254.5	297
8	270	321	162	337.5
9	165	407.5	193	461
10	182.5	705	241	531.5
<b>Promedio</b>	225.65	707.85	191.95	450.35
<b>Desviación estándar</b>	112.73	273.85	64.47	131.53
<b>CV</b>	0.49	0.38	0.33	0.29
<b>CV%</b>	49.9	38.68	33.58	29.20

### 8.3.3 Prueba de bioadhesión

La bioadhesión se refiere a la unión entre un polímero y una membrana biológica. Los estudios de bioadhesión son importantes para la caracterización de un parche transdérmico ya que si tiene mejores propiedades de bioadhesión el parche incrementará la biodisponibilidad del fármaco; esto al incrementar el tiempo de permanencia generando una liberación controlada reduciendo los tiempos de administración del mismo (Woodley, 2001). La bioadhesión post-humectación tiene la misma importancia que la bioadhesión la diferencia radica en que en esta prueba se considera la humectación del parche ya sea por transpiración o por condiciones externas ambientales o el lavado. De acuerdo a los resultados obtenidos en la Tabla 26, se puede observar que la bioadhesión es mayor en la formulación D.

### 8.3.4 Dictamen para la evaluación de los parches

En cuanto a los resultados obtenidos para la película impermeable tienen más peso los resultados de resistencia a la fractura, pues esta capa es la que protege superficialmente a la película del mal manejo que se le pueda dar. De las dos formulaciones la que es más resistente es la formulación B compuesta por etilcelulosa. El grosor también es un factor que destaca así es más difícil que pueda perforarse la película al manipularla. Entre las dos formulaciones la B es el doble de gruesa que la A. Estas características la hacen preferibles para que sea componente del reservorio.

Para el caso de las películas adhesivas su mayor factor a considerar es la prueba de bioadhesión, pues de ellas depende que el fármaco se entregue de manera constante. Para esto se mide el pico de carga en gramos para retirar el parche sobre la piel, la formulación D tiene un pico promedio de 329.2 gf en



cambio para la formulación C se necesitaron en promedio 291.1 gf para retirarlo. Analizando los parámetros de bioadhesión post-humectación en ambos casos la presencia de líquido influye en la adherencia. Se han reportado parches transdérmicos donde el pico de carga va desde los 60 gf ( Rasool, Aziz, & Sarheed, 2011) hasta los 800 gf (Serrano-Castañeda, Escobar-Chavéz, Rodríguez-Cruz, & Melgoza, 2017); por lo tanto los resultados obtenidos (187.95 y 195.65 gf de las formulaciones C y D respectivamente) para la bioadhesión post-humectación son adecuados. Como conclusión a pesar de que la película C es más gruesa que la película D, esta última tiene mejores propiedades de bioadhesión y resistencia a la ruptura por lo que fue seleccionada como parte integral para conformar el parche transdérmico tipo reservorio.

**Tabla 26. Resultados de bioadhesión y bioadhesión post-humectación**

Muestra	Pico de carga (g)			
	Formulación C		Formulación D	
	Bioadhesión	Bioadhesión posthumectación	Bioadhesión	Bioadhesión posthumectación
1	284	157	268	106
2	305.5	203	294	194.5
3	204.5	158	240	234.5
4	365.5	225	499	190.5
5	361	175	451	180.5
6	187.5	140	380	189.5
7	341	231	259.5	227
8	409.5	202	342	243.5
9	271	138.5	259	199.5
10	181.5	250	299.5	191
Promedio	291.1	187.95	329.2	195.65
S	80.1639	39.81	88.20	38.22
CV	0.2753	0.21	0.2679	0.19
CV%	27.5383	21.18	26.79	19.53

#### **8.4 Liberación *in vitro* de cafeína en el parche transdérmico tipo reservorio**

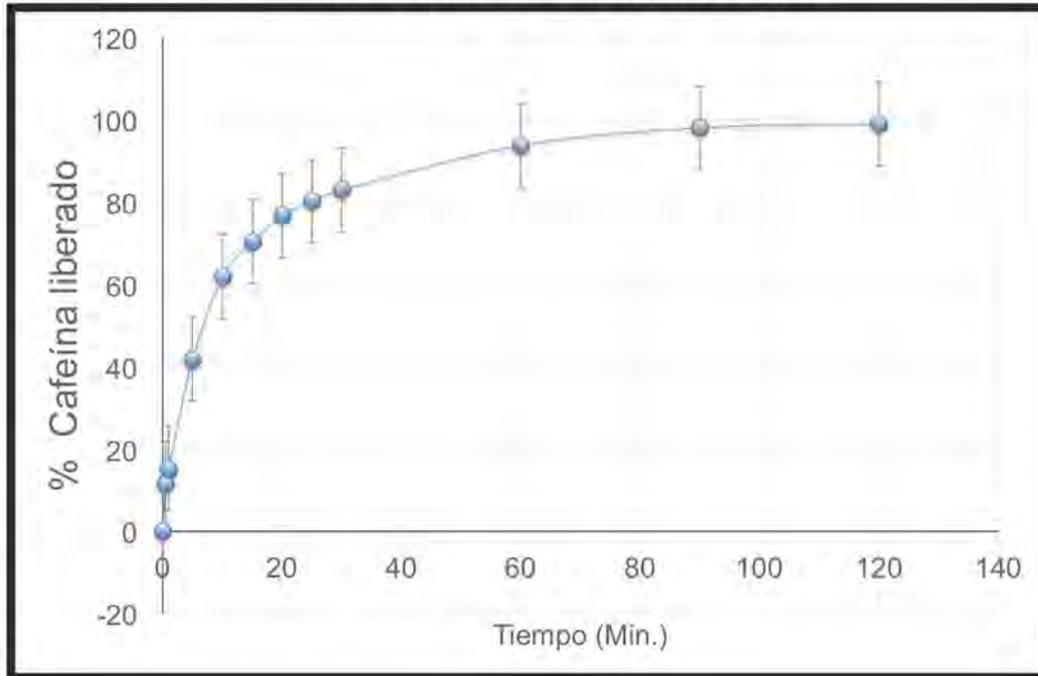
Los estudios de liberación son pruebas que se realizan a los medicamentos con el fin de medir la cantidad de fármaco que pasa al medio de disolución en intervalos de tiempo definidos, ya que la absorción del fármaco y su biodisponibilidad dependen de tener al fármaco en estado disuelto. En este caso que es un parche transdérmico se visualiza en el perfil de liberación cual es la cantidad que se libera del fármaco que se encuentra contenido en el reservorio. En la ilustración 37, se observa que el 99% de la cafeína es liberada en un tiempo de 120 min.

La ventaja que tienen los sistemas transdérmicos tipo reservorio sobre las formas farmacéuticas sólidas (tabletas, cápsulas y grageas) es que el fármaco en el reservorio ya se encuentra disuelto en el gel, mientras que en las formas



sólidas deben humectarse con los jugos gástricos para que se encuentre disponible, de esta manera se explica que la cafeína se libere en un tiempo tan corto.

**Ilustración 36. Perfil de liberación.**



#### 8.4.1 Cinética de liberación

Para describir los mecanismos de liberación del fármaco los datos fueron ajustados a los modelos de orden cero (ilustración 39), orden uno (ilustración 40), Higuchi (ilustración 41) y Korsmeyer-Peppas (ilustración 42) explicados anteriormente. Para saber a qué modelo se ajustan los datos, se considera la  $r^2$ . Como se muestra en la Tabla 27, el modelo Korsmeyer-Peppas tiene una  $r^2= 0.98$ , sin embargo también puede ser explicado por Higuchi al tener una  $r^2= 0.97$ , de tal manera que la cinética de liberación es de dos tipos: difusión (Higuchi) y se puede llevar a cabo a partir de un polímero (Korsmeyer-Peppas).

**Tabla 26. Resultados de cinética de liberación.**

Orden cero	Orden uno	Modelo Higuchi	Modelo Korsmeyer-Peppas	
$r^2$	$r^2$	$r^2$	$r^2$	N
0.88	0.53	0.97	0.98	0.76

El modelo matemático de Higuchi nos explica la liberación de múltiples formas farmacéuticas de liberación modificada como es el caso de sistemas transdérmicos y matriciales.

El modelo Korsmeyer-peppas nos describe el mecanismo de liberación de un fármaco desde un polímero. (Dash, Narasimha, Nath, & Chowdhury, 2010)

Los dos principales sistemas controlados por difusión son:

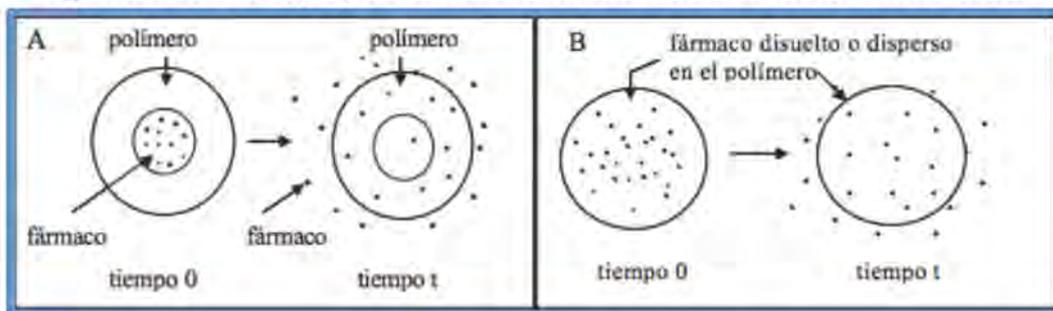
a) Sistemas con depósito o sistemas con un núcleo interno que contiene el fármaco. Consisten en un núcleo de agente activo rodeado por una membrana



delgada, homogénea y no porosa. El principio activo está contenido dentro de una capa de polímero, la cual puede hincharse o no en el medio biológico donde se aplica (Ver ilustración 38).

b) Sistemas matrices o dispositivos monolíticos. En estos sistemas el compuesto bioactivo se encuentra uniformemente distribuido en un soporte de polímero sólido. El fármaco puede encontrarse disuelto en la matriz polimérica o disperso si su contenido es mayor que el límite de solubilidad. (Sáez, Hernáez, & Saenz Angulo, 2004)

**Ilustración 37. Sistemas de liberación controlada de fármacos a partir de una matriz polimérica. A) liberación controlada con núcleo interno de agente bioactivo; B) Sistema monolítico de liberación controlada.**



(Sáez, Hernáez, & Saenz Angulo, 2004)

El primer mecanismo que ocurre para la liberación de la cafeína es la erosión de la película adhesiva, esta tiene en su composición PVP-K30 la cual al entrar en contacto con el medio de disolución crea poros en la película adhesiva lo que permite que el fármaco se libere gradualmente mediante el proceso de difusión que es el segundo mecanismo. Para que se dé la difusión del fármaco el tamaño de los poros que se retraen debe ser mayor del tamaño de la molécula del fármaco.

Existen dos tipos de erosión:

Erosión en masa. El polímero se degrada o se disuelve en todo el volumen del sistema polimérico. Conforme avanza la degradación, el volumen del material polimérico permanece constante mientras que la masa del material polimérico se reduce dando como resultado una disminución de la densidad del polímero degradante.

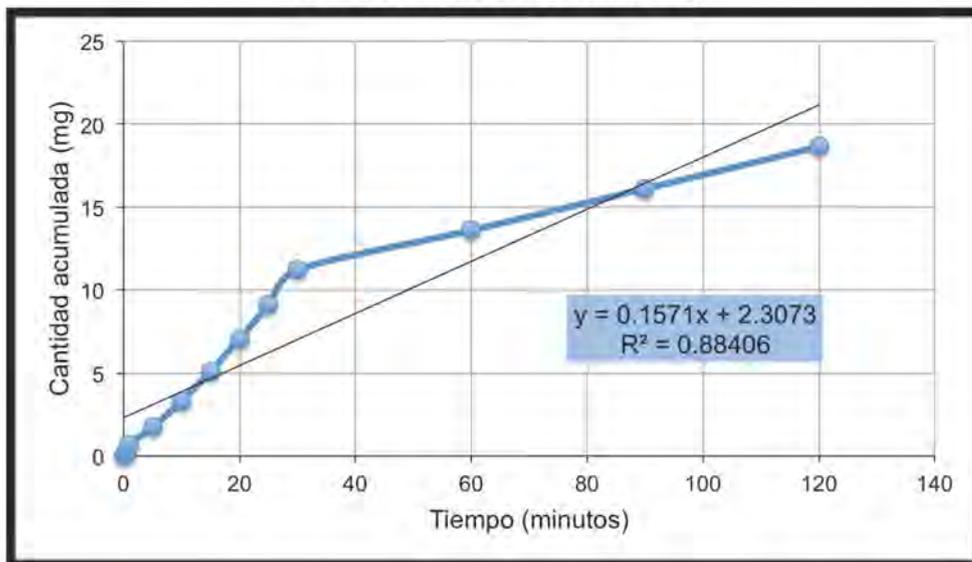
Degradación superficial. El material polimérico se degrada de la superficie exterior uniformemente, solo en la interface entre la mayor parte del material disminuye linealmente con la masa, por lo que hace que la densidad del material permanezca constante. (Busquet, 2007)

Conociendo estos tipos de erosión es fácil catalogar el tipo de erosión en superficial ya que al colocar el parche cargado se fue liberando la cafeína gradualmente conforme los poros se agrandaban, esto se nota en el perfil de liberación donde la cafeína tiene un retardo en liberarse en un 80% además de que la película adhesiva se encuentra en contacto con el medio de disolución,



el cual promovió la apertura de poros que dejaron pasar a la cafeína mediante difusión. El proceso de difusión se lleva a cabo desde un medio concentrado a otro menos concentrado de acuerdo al perfil de liberación del 80% de cafeína liberada que es donde aproximadamente los poros se han abierto por completo, tarda en llegar hasta el 99% liberado debido a que la concentración de cafeína en el medio exterior es mayor que la interior del parche es por esto que le tomó más tiempo en difundir el 19% restante hacia el exterior del reservorio.

**Ilustración 38. Orden cero.**



**Ilustración 39. Orden uno.**

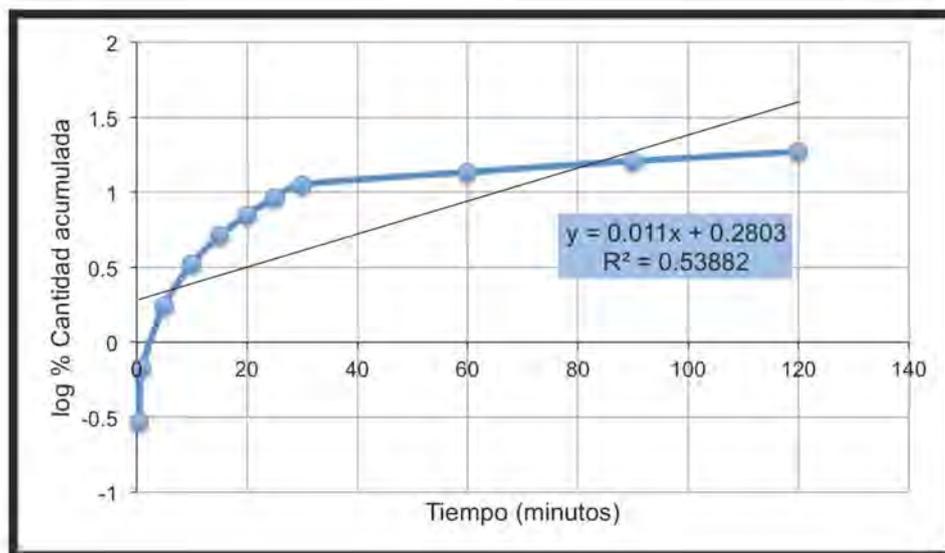




Ilustración 40. Modelo Higuchi.

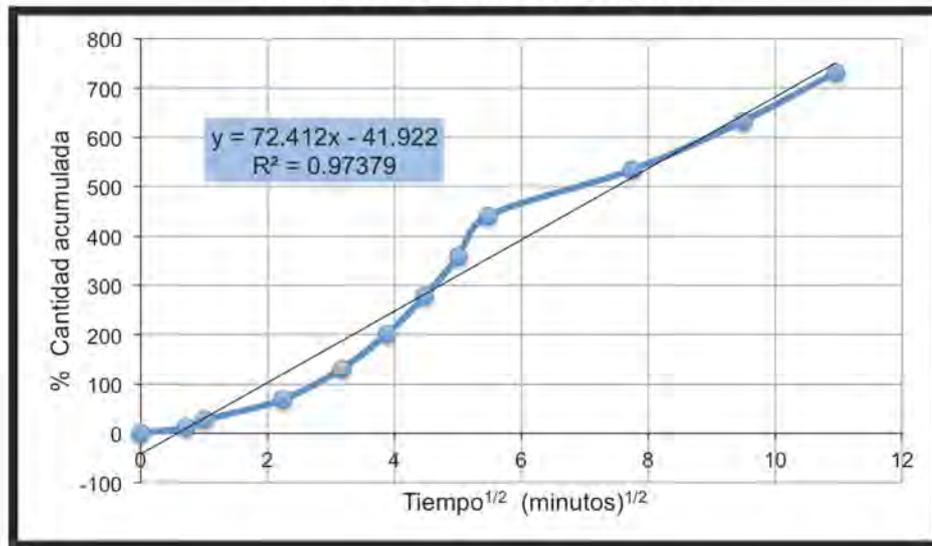
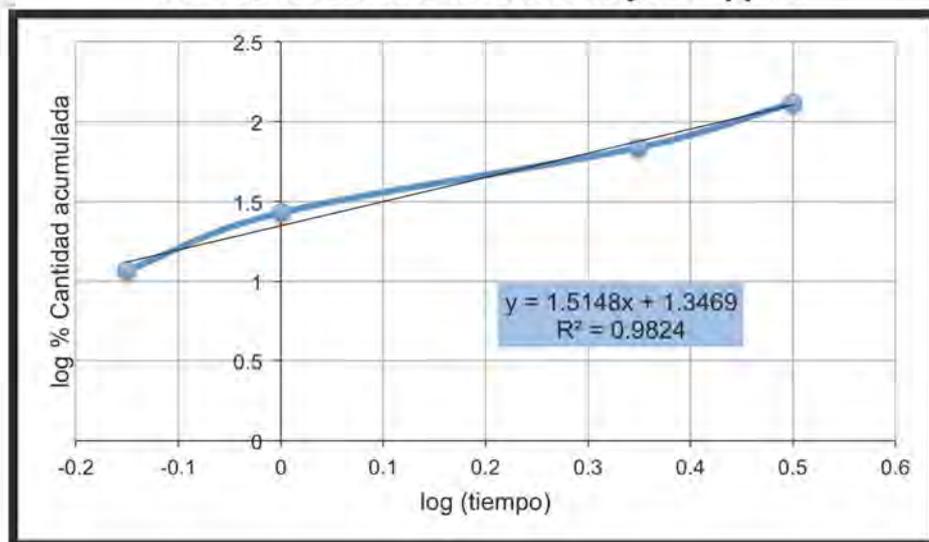


Ilustración 41. Modelo Korsmeyer-Peppas.



### 8.5 Estudios *in vitro* de absorción percutánea.

Uno de los métodos para la realizar estudios de permeación es emplear celdas de difusión tipo Franz con las que podemos determinar las cinéticas de absorción percutánea de los fármacos y así evaluar nuevos sistemas terapéuticos transdérmicos. Estos estudios ofrecen una buena predicción de la absorción *in vivo*.

Se determinó la cantidad acumulada (mg) de cada muestra mediante la determinación de las concentraciones y la cantidad acumulada por área expuesta al parche la cual se obtuvo dividiendo la cantidad acumulada entre el área (cm<sup>2</sup>) del interior de la celda de Franz (2.01 cm<sup>2</sup>) ya que esta es el área de contacto que estuvo el parche con la piel (ver tabla 28).

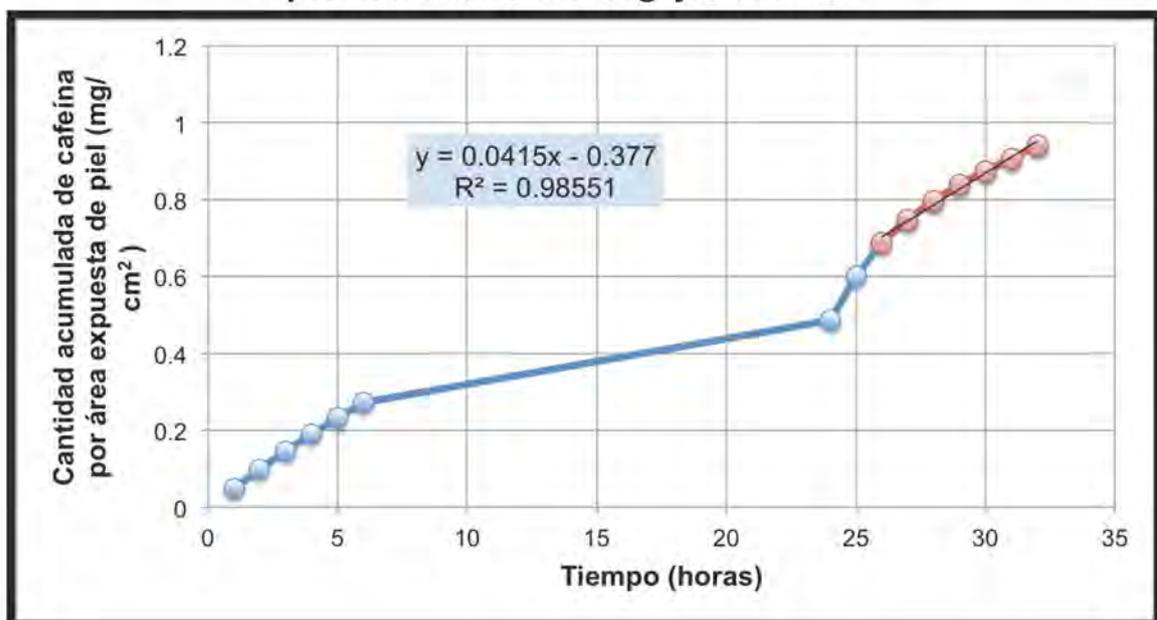


**Tabla 27. Resultados de cantidad acumulada y cantidad acumulada expuesta del parche utilizando microagujas como promotor físico.**

Tiempo	Cantidad acumulada (mg)	Cantidad acumulada por área expuesta (mg/cm <sup>2</sup> )
1	0.09	0.04
2	0.19	0.09
3	0.29	0.14
4	0.38	0.18
5	0.46	0.23
6	0.54	0.27
24	0.97	0.48
25	1.20	0.60
26	1.38	0.68
27	1.50	0.74
28	1.60	0.79
29	1.68	0.83
30	1.75	0.87
31	1.82	0.90
32	1.89	0.94

Se graficaron los valores obtenidos de cantidad acumulada por área expuesta (mg/cm<sup>2</sup>) para obtener el perfil de permeación a través de la piel. Como se puede observar en la ilustración 43, los puntos azules representan el estado estacionario que es descrito por la segunda ley de Fick mientras que los puntos rojos son explicados por la primera ley de Fick.

**Ilustración 42. Perfil de permeación en piel humana usando como promotor físico microagujas sólidas.**





Por lo tanto para saber los parámetros biofarmacéuticos de interés se calcularon a través del punto 7.2.24 de la metodología.

- El tiempo de latencia es el tiempo en el cual el fármaco empieza a liberarse y a fluir de manera constante a través de la piel.
- El flujo o también denominado simplemente por J ( $\text{mg}/\text{cm}^2\cdot\text{h}$ ) es la cantidad de fármaco que pasa a través de un área de piel en un tiempo determinado.
- La tercer constante biofarmacéutica es la constante de permeabilidad o Kp ( $\text{cm}^2/\text{h}$ ). Estos parámetros se pueden apreciar en la Tabla 29.

**Tabla 28. Resultados biofarmacéuticos del estudio *in vitro*.**

Tiempo de latencia TL (h)	Flujo J ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ )	Constante de permeabilidad Kp ( $\text{cm}^2/\text{h}$ )
9.08	41.5	$0.2075 \times 10^{-3}$

### 8.6 Micrografías tomadas para la visualización de los pozos generados por el arreglo de microagujas sobre la piel.

Este estudio se realizó para poder visualizar superficialmente los pozos que se generan al aplicar el arreglo de microagujas. Para poder realizar este proceso la muestra de piel previamente debía ser fijada con un fijador, los fijadores preservan las características tisulares lo más cercano a su estado vivo. Se utilizó el fijador Carnoy ampliamente usado en histología tanto de animales como de plantas.

Es un fijador ácido especialmente indicado para preservar ácidos nucleicos (núcleos, cromatina) y glucógeno. También es útil para la preservación de las proteínas fibrosas.

Una vez que se asegura que no habrá lisis del tejido, el siguiente paso fue reemplazar el agua que se encuentra dentro del tejido por alcohol etílico. Para esto se hicieron baños con etanol a la muestra aumentando del 30% la concentración cada 10 min hasta tenerla inmersa en alcohol al 100%. El último paso para llevar a punto crítico la muestra fue el uso de un aparato de secado a punto crítico (Samdri-780A). La función de este aparato es reemplazar el etanol en el tejido con  $\text{CO}_2$ . Una vez que la muestra se retira del aparato el  $\text{CO}_2$  se evapora del tejido a temperatura ambiente teniendo una muestra seca y dura.

Las muestras fueron puestas directamente en el microscopio electrónico y se tomaron fotografías que presentan la anatomía de la piel.

Como se puede apreciar en las micrografías de la Tabla 30 se observan las marcas generadas con las microagujas.



**Tabla 29. Micrografías tomadas a la piel tratada con microagujas (2.5 mm) y piel control a diferentes objetivos.**

Objetivo	Piel tratada con microagujas	Piel control
x100		
X250		
X500		

## 9 Conclusiones

De acuerdo a lo obtenido experimentalmente y analizado se puede concluir que:

- Se desarrolló y caracterizó mediante pruebas fisicoquímicas un parche transdérmico tipo reservorio cargado con un gel de cafeína con el propósito de crear un medicamento innovador para el tratamiento del sobrepeso y obesidad.
- Se desarrolló un gel de cafeína mediante un diseño de experimentos en Statgraphics, comprendiendo el efecto de cada uno de los componentes que tiene la formulación en las propiedades fisicoquímicas del gel así como la evaluación completa del gel óptimo por pruebas de extensibilidad, contenido químico, pH, densidad relativa y viscosidad.
- Se formularon películas impermeables y adhesivas que constituyen el parche transdérmico seleccionando las más óptimas para su uso por



medio de pruebas como fueron: área, grosor, resistencia a la fractura, bioadhesión y bioadhesión post humectación.

- Se realizó un estudio de liberación donde se liberó el 99% de la cafeína contenida en el gel en 120 min, a partir del perfil de liberación antes mencionado se estudió el mecanismo de liberación analizando los datos a los modelos fisicoquímicos de orden cero, orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas siendo estos dos últimos los que mejor explican el proceso de liberación del fármaco del sistema transdérmico tipo reservorio. La liberación se lleva a cabo por erosión de la película adhesiva y la difusión de la cafeína a través de los poros de dicha película.
- Se llevó a cabo un estudio de liberación *in vitro* utilizando celdas tipo Franz para conocer las constantes biofarmacéuticas  $J = 41.5 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$ .  $K_p = 0.2075 \times 10^{-3} \text{cm}^2/\text{h}$  y  $TL = 9.08 \text{ h}$ .
- Los resultados obtenidos en este proyecto posibilitan mencionar que el parche transdérmico presentado puede ser considerado un sistema innovador y una alternativa interesante para el tratamiento del sobre peso y obesidad.

## 10 Perspectivas

- ❖ Realizar estudios de estabilidad al gel de cafeína para establecer su vida en anaquel para los diferentes climas en México. Estos estudios son necesarios para proveer evidencia documentada de cómo las características fisicoquímicas y microbiológicas del gel de cafeína varían con el tiempo bajo la influencia de factores ambientales tales como: temperatura, humedad y luz.
- ❖ Realizar estudios de permeación empleando diferentes longitudes de microagujas para así determinar si existen mejores flujos que permitan una mayor absorción percutánea. Dichos estudios pueden determinar el impacto en la absorción de la cafeína.
- ❖ Realizar estudios de eficacia en ratas Wistar con sobrepeso utilizando el parche preparado así como calcular las dimensiones del parche en  $\text{cm}^2$  de acuerdo a la cantidad que se requiere de cafeína dados por los estudios de eficacia. Estas pruebas garantizan la eficacia del medicamento propuesto.

## 11 Bibliografía

1. Clarí Pons, Á. (2004). *Estudios "in vitro" e "in vivo" de la absorción percutánea de la Bemiparina*. Recuperado el 2018, de Tesis doctorals en xarxa.
2. Le Vay, D. (2004). *Anatomía y fisiología humana* (2da Edición ed.). Barcelona, España: Paidotribo.
3. Comisión Federal de Mejora Regulatoria. (Agosto de 2012). Recuperado el Julio de 2018, de Cofemer: [http://www.cofemer.gob.mx/Varios/Adjuntos/01.10.2012/COFEMER\\_PR\\_OBLEMA\\_OBESIDAD\\_EN\\_MEXICO\\_2012.pdf](http://www.cofemer.gob.mx/Varios/Adjuntos/01.10.2012/COFEMER_PR_OBLEMA_OBESIDAD_EN_MEXICO_2012.pdf)



4. Londoño-Lemos, M. E. (2012). Tratamiento farmacológico contra la obesidad. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* , 41 (2), 217-261.
5. López cervantes, M., & Escobar Chávez, J. (2010). Métodos convencionales para cuantificar fármacos a través de la piel. *Informacéutico* , 17 (2), 16-23.
6. Allevato, M. A. (2007). *Sistemas terapéuticos transdérmicos* (Vol. 30). Educación continua.
7. Alkilani, A., Mc Crudden, M., & Donnelly, R. (22 de Octubre de 2015). Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Properties of the stratum corneum. *Pharmaceutics* , 438-70.
8. Banga, A., Bose, S., & Ghosh, T. (1999). Iontophoresis and electroporation: comparisons and contrasts. *International Journal of Pharmaceutics* , 179, 1-19.
9. Benson, A. E. (2005). Transdermal Drug Delivery: Penetration Enhancement Techniques. *Current Drug Delivery* , 2 (1), 23-33.
10. Burns, R. A. (2003). *Fundamentos de química* (5ta edición ed.). México: Pearson educación.
11. Busquet, M. R. (2007). *Universidad Politécnica de Cataluña*. Recuperado el Julio de 2018, de <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4014/ANEXO%20POLIMEROS%20Y%20SUTURAS.pdf>
12. Dangol, M., Kim, S., Li, C. G., Lahiji, S. F., Jang, M., Ma, Y., y otros. (2017). Anti-obesity effect of a novel caffeine-loaded dissolving microneedle patch in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice. *Journal of Controlled Release* , 265, 41-47.
13. Dash, S., Narasimha, P., Nath, L., & Chowdhury, P. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Poloniae Pharmaceutica ñ Drug Research* , 67 (3), 217-223.
14. Diccionarios Oxxford. (2004). *Diccionario de ciencias*. España: Complutense.
15. Diario Oficial de la Federación. (04 de Agosto de 2010). *NORMA Oficial Mexicana NOM-008-SSA3-2010*. Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de [http://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5154226&fecha=04/08/2010](http://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5154226&fecha=04/08/2010)
16. E. Duncan, R., Ahmadian, M., Jaworski, K., Sarkadi-Nagy, E., & Sook Sul, H. (2017). Regulation of Lipolysis in Adipocytes. *Annual Review of Nutrition* , 27 (79-101).
17. Eriksen Persson, M. d., De lara galindo, S., Álvarez Arellano , A. M., & Galarza Guzmán, G. (2002). *Anatomía Humana*. CDMX, México: UNAM.
18. Escobar-Chávez, J. (2016). *Current technologies to increase the transdermal delivery of drugs* (Vol. 2). México: Bentham eBooks.
19. Escobar-Chavéz, J., López-Cervantes, M., & Ganem-Rondero, A. (2011). *Dermatokinetics of therapeutic agents*. (S. N. Muthy, Ed.) EUA: CRC Press.
20. Escobar-Chavéz, J., Bonilla-Martínez, D., Villegas-González , M., Rodríguez-Cruz, I., & Dominguez-Delgado, C. (2009). The use of



- sonophoresis in the administration of drugs throughout the skin. *J Pharm Pharm Sci* , 12 (1), 88-115.
21. Farmacias San Pablo . (Julio de 2018). Recuperado el Agosto de 2018
  22. Fernández Montez, E. A. (2003). Control de calidad de formulas dermatológicas. *ELSEVIER* , 17 (2), 71.
  23. Ferrante, M. (2011). *Desarrollo de una formulación tópica de diclofenaco para uso en equinos*. Universidad Nacional de Plata.
  24. FEUM. (2017). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/416.pdf>
  25. Hadgraft, J., Beutner, D., & Wolff, H. M. (1993). In vivo-in vitro comparisons in the transdermal delivery of nitroglycerin. *International Journal of Pharmaceutics* , 1.
  26. Higaki, K., Nakayama, K., Suyama, T., Amnuait, C., Ogawara, K., & Kimura, T. (2005). Enhancement of topical delivery of drugs via direct penetration by reducing blood flow rate in skin. *International Journal of Pharmaceutics* , 288 (2), 227-233.
  27. Kalia, Y., & Guy, R. (11 de Junio de 2001). Modeling transdermal drug release. *Advanced Drug Delivery Reviews* , 159-172.
  28. Kim, Y.-C., Park, J.-H., & Prausnitz, M. R. (2012). Microneedles for drug and vaccine delivery . *Advanced Drug Delivery Reviews* , 64 (14), 1547-1568.
  29. M. Magnusson, B., A. Walters, K., & S. Roberts, M. (2001). Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement. *Advanced Drug Delivery Reviews* , 50, 205-227.
  30. Mañas Almendros, M. (2012). *Nutrición para la salud y la Actividad física*. Madrid, España: Diaz de santos.
  31. Marttin, E., Neelissen-Subnel, M., De Han, F., & Boddé, H. (1996). A critical comparison of methods to quantify stratum corneum removed by tape stripping. *Skin Pharmacol* , 9 (1), 69-77.
  32. Mate Jimenez, C. (1995). *Curso general sobre estadística II*. Madrid, España: Universidad pontificia comillas.
  33. Mitragotri , S., Blankschtein, D., & Langer, R. (1996). Transdermal drug delivery using low-frequency sonophoresis. *Pharmaceutical Research* , 13 (3), 411-20.
  34. Mott, R. L. (1996). *Mecánica de fluidos aplicada* (4a edición ed.). México: Pearson.
  35. Murray, R. K., Bender, D. A., Botham, K. M., Kennelly, P. J., Rodwell, V. W., & Weil, P. A. (2009). *HARPER. Bioquímica ilustrada*. China: Mc Graw Hill.
  36. Naik, A., Kailia, Y., & Guy, R. (2000). Transdermal drug delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharmaceutical Science & Technology Today* , 1 (9), 318-326.
  37. Nicoli, S., Amoretti, V., Colombo, P., & Santi, P. (2004). Bioadhesive Transdermal Film Containing Caffeine . *Skin Pharmacol Physiol* , 17, 119-123.
  38. OECD. (10 de Noviembre de 2017). Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de Health at a Glance: <http://www.oecd.org/health/health-systems/health-at-a-glance-19991312.htm>



39. OMENT. (20 de Diciembre de 2016). *Observatorio Mexicano de Enfermedades No Transmisibles*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://oment.uanl.mx/cifras-de-sobrepeso-y-obesidad-en-mexico-ensanut-mc-2016/>
40. OMENT. (12 de Julio de 2017). *Observatorio Mexicano de Enfermedades No Transmisibles*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://oment.uanl.mx/mexico-ocupa-el-2o-lugar-en-obesidad-en-adultos-segun-la-ocde/>
41. OMS. (16 de Febrero de 2018). *Organización mundial de la salud*. Recuperado el Julio de 2018, de <http://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>
42. Organización Mundial de la Salud. (Octubre de 2017). OMS. Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de Centro de prensa: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/>
43. Páez, X., Mazzei-Dávila, C., & Hernández, L. (2002). Microdiálisis subcutánea: Una técnica simple para monitorizar el ambiente bioquímica extracelular. *Investigación clínica*, 44 (3), 227-239.
44. Pommier, L. (2002). *Diccionario homeopático de urgencia* (2a edición ed.). Barcelona, España: Paidotribo.
45. Prausnitz, M. (1999). A practical assessment of transdermal drug delivery by skin electroporation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 35, 61-76.
46. Prausnitz, M., Mitragotri, S., & Langer, R. (2004). Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov*, 3 (2), 115-24.
47. PubChem. (7 de Julio de 2018). *National Center for Biotechnology Information*. Recuperado el Julio de 2018, de <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2519>
48. Rasool, A., Aziz, S., & Sarheed, O. (2011). Design and evaluation of a bioadhesive film for transdermal delivery of propranolol hydrochloride. *Acta Pharm*, 61, 271-282.
49. Reddy, M. B., Stinchcomb, A. L., Guy, R. H., & Bunge, A. L. (2002). Determining dermal absorption parameters in vivo from tape strip data. *Pharmaceutical Research*, 19 (3), 292-298.
50. Riviere, J., & Papich, M. (Septiembre de 2001). Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 175-203.
51. SCI. (12 de Abril de 2010). *Science Learning Hub*. Recuperado el Julio de 2018, de <https://www.sciencelearn.org.nz/resources/1502-non-newtonian-fluids>
52. S. Saladin, K. (2012). *Anatomía y Fisiología La unidad entre forma y función* (6a edición ed.). México: Mc Graw Hill Education.
53. S. Sinnatamby, C. (2003). *Anatomía de last, regional y aplicada*. Barcelona, España: Paidotribo.
54. Sáez, V., Hernández, E., & Saenz Angulo, L. (2004). Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales poliméricos. *Revista iberoamericana de polímeros*, 5 (1), 1-70.
55. Secretaria de Salud. (2012). Prevención, diagnóstico y tratamiento del sobrepeso y la obesidad exógena. *Guía práctica de clínica*, 47.



56. SEEDO. (Marzo de 2007). Consenso SEEDO 2007 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y establecimiento de criterios de intervención terapéutica. (S.P.A., Ed.) *Revista española de obesidad* , 7-48.
57. Serrano-Castañeda, P., Escobar-Chávez, J., Morales-Hipólito, E., Domínguez Delgado, C., & Abrego-Reyes, V. (2013). Microagujas y Transcutol® como promotores de la penetración transdérmica de sibutramina formulada en parche transdérmico. *Revista cubana de farmacia* , 47 (3).
58. Serrano-Castañeda, P., Escobar-Chavéz, J. J., Rodríguez-Cruz, M. I., & Melgoza, L. M. (2017). Design and evaluation of a transdermal patch with Atorvastatin. *Researchgate* , 65 (6).
59. Serrano, P. (2014). *Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de pravastatina acoplado a microagujas como promotor físico de la penetración transdérmica*. UNAM, México.
60. Shchekoldin, P., Kozlova, L., & Budkar, L. (1992). A new method for treating rheumatoid arthritis patients by electrophoresis using mefenamic acid. *Vopr Kurortol Fizioter Lech Fiz Kult* , 4, 17-21.
61. Soler Ranzani, L. (2006). *Desarrollo y evaluación biofarmacéutica de un sistema de administración transdérmica de Alprazolam*. Barcelona: Facultad de Farmacia.
62. Tanner, J. (2003). *Mejore su espalda*. Madrid, España: H. Blume.
63. Tavares, C., & Kimiko-Sakata, R. (2012). Cafeína para el Tratamiento del Dolor. *Rev Bras Anesthesiol* , 62 (3), 387-401.
64. Thwes, G., Mutschler, E., & Vaupel, P. (1983). *Anatomía, fisiología y patofisiología del hombre*. Valencia, España: Reverté.
65. Villarino, N., & Landoni, M. (2006). ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA DE FÁRMACOS: UNA ALTERNATIVA TERAPÉUTICA. *Analecta Veterinari* , 26 (1), 28-37.
66. Villarino, N., & Landoni, M. (2006). Administración transdérmica de fármacos: una alternativa terapéutica. *Analecta veterinaria* , 26 (1), 28-37.
67. Vidal Vademecum Spain. (01 de 01 de 2015). Recuperado el Julio de 2018, de <https://www.vademecum.es/principios-activos-cafeina-n06bc01>
68. Woodley, J. (2001). New Possibilities for Drug Administration. *Clinical Pharmacokinetics* , 40 (2), 77-84.

## 12 Anexo 1

### 12.1 Protocolo de validación del método analítico para la cuantificación de cafeína en el gel de ácido hialurónico por espectrofotometría UV-VIS.

Este protocolo fue realizado de acuerdo a la Guía de Validación de Métodos analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.



## 12.2 Procedimientos

### 12.2.1 Condiciones de análisis

Analizar las muestras por espectrofotometría UV en un equipo Velab, a una longitud de onda de 271 nm, utilizando como blanco agua desionizada en celdas de cuarzo de 1 cm<sup>2</sup>, el análisis debe llevarse a cabo a temperatura ambiente.

### 12.2.2 Barrido espectrofotométrico a la cafeína

Para determinar la longitud de absorción máxima de cafeína se procedió a realizar un barrido espectrofotométrico con ayuda del espectrofotómetro Velab. Se preparó una solución de 20 µg/mL con agua desionizada y se realizó el barrido de 190 – 900 nm.

Para preparar la solución a 20 µg/mL se siguieron los siguientes pasos:

- 1) Se pesó aproximadamente bien conocidos en un vaso de precipitados de 10 mL 25 mg de cafeína.
- 2) Se disolvió la cafeína con la mínima cantidad de alcohol etílico (4 mL)
- 3) Se trasvaso la cafeína a un matraz de 100 mL, se realizaron 3 lavados con agua destilada al vaso que contenía a la cafeína para recuperar la mayor cantidad posible. Se aforo el matraz con agua desionizada.
- 4) Se tomó una alícuota con una pipeta volumétrica de 5 mL de la solución preparada y se depositó dentro de un matraz de 50 mL. Se aforo con agua desionizada.
- 5) Se realizó el barrido con esta solución de 190-900 nm

### 12.2.3 Preparación de solución Stock de Cafeína a una concentración de 250 µg/mL

Pesar aproximadamente bien conocidos 25 mg de Cafeína en un vaso de precipitados de 20 mL, agregar 5 mL de etanol y colocar una barra magnética pequeña. Agitar la solución sobre un agitador magnético hasta que la cafeína esté completamente solubilizada. Una vez disuelto transferir la solución a un matraz volumétrico de 100 mL realizando 3 lavados al vaso con agua desionizada. Llevar a la marca de aforo con agua desionizada y homogeneizar la solución. Etiquetar como solución stock de Cafeína.

### 12.2.4 Preparación de la curva de calibración de Cafeína

Preparar una solución stock de 250 µg/ mL de Cafeína (ver punto 12.2.3) y tomar alícuotas de esta con pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4 y 5 mL a matraces de 50 mL, en seguida llevar a la marca de aforo con agua desionizada y agitar para homogeneizar la solución, estas cinco soluciones forman parte de la curva de calibración de Cafeína con intervalo de concentración de 5 a 25 µg/ mL.

### 12.2.5 Parámetros de desempeño

### 12.2.6 Precisión del sistema

Tomar una alícuota de 4 mL de una solución stock de cafeína a 250 µg/mL (ver punto 12.2.3) trasvasar a un matraz volumétrico de 50 mL aforando con agua desionizada. Homogeneizar la solución y leer la muestra (que tendrá una concentración de 20 µg/mL) en el espectrofotómetro a 271 nm. Repetir el



proceso por sextuplicado. Medir la respuesta analítica de la muestra con las condiciones iniciales. (ver punto 12.2.1) y calcular S y C.V.% de la respuesta.

#### **12.2.7 Linealidad del sistema**

Preparar por triplicado la curva de calibración de Cafeína (ver punto 12.2.4) y leer la respuesta analítica bajo las mismas condiciones (ver punto 12.2.1). Reportar la relación entre la concentración y la respuesta analítica obteniendo  $r^2$ , C.V.% y IC ( $\beta_1$ ).

#### **12.2.8 Linealidad del método**

Preparar un gel placebo de ácido hialurónico, colocar en un vaso de precipitados de 100 mL 10 g del gel placebo, disolver con 30 mL de agua y adicionar 80 mg de Cafeína. Trasvasar a un matraz aforado de 250 mL realizando tres lavados al vaso de precipitados para recuperar la máxima cantidad de la muestra. Aforar el matraz de 250 mL y homogeneizar la solución. Tomar una alícuota de 5 mL de esta preparación y aforar en un matraz aforado de 100 mL. Leer en el espectrofotómetro a 271 nm. Repetir este proceso 3 veces para obtener la respuesta analítica (absorbancia para el porcentaje del 80%). Para las muestras de gel cargado al 100% y 120% pesar 100 mg y 120 mg respectivamente y seguir la metodología antes mencionada. Calcular el porcentaje de recobro para cada placebo al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto a la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Calcular  $y$ , S, C.V.%,  $r^2$ , IC ( $\beta_1$ ) e IC ( $\mu$ ).

#### **12.2.9 Exactitud y repetibilidad del método**

Preparar un lote de 15 g de gel cargado con cafeína. En un vaso de precipitados de 50 mL colocar 11.3062 g del gel cargado con cafeína. Disolver con agua desionizada y trasvasar a un matraz aforado de 250 mL realizando tres lavados al vaso de precipitados para recuperar la máxima cantidad de la muestra. Aforar el matraz de 250 mL y homogeneizar la solución. Tomar una alícuota de 5 mL de esta preparación y aforar en un matraz aforado de 100 mL. Leer en el espectrofotómetro a 271 nm. Repetir este proceso por sextuplicado medir la respuesta analítica según las condiciones iniciales. (ver punto 12.2.1). Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto a la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Calcular  $y$ , S, C.V.% e IC ( $\mu$ ) del porcentaje de recobro.

#### **12.2.10 Precisión del método.**

Preparar un lote de 15 g de gel cargado con cafeína. En un vaso de precipitados de 50 mL colocar 11.3062 g del gel cargado con cafeína. Disolver con agua desionizada y trasvasar a un matraz aforado de 250 mL realizando tres lavados al vaso de precipitados para recuperar la máxima cantidad de la muestra. Aforar el matraz de 250 mL y homogeneizar la solución. Tomar una alícuota de 5 mL de esta preparación y aforar en un matraz aforado de 100 mL. Leer en el espectrofotómetro a 271 nm. Realizar este proceso por triplicado con dos analistas en dos días diferentes, medir la respuesta analítica según las condiciones iniciales. (ver punto 12.2.1). Calcular  $y$ , S, C.V.% del contenido químico.



### 12.3 Criterios de aceptación

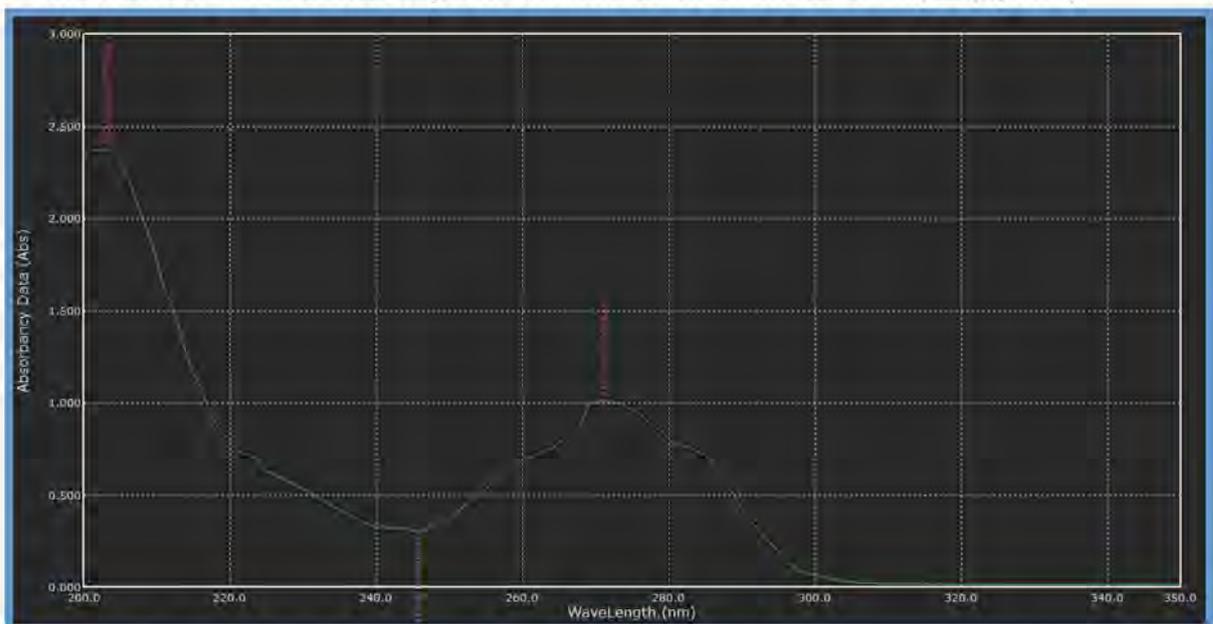
- Precisión del sistema. %CV de la respuesta analítica debe ser  $\leq 1.5\%$
- Linealidad del sistema. El valor de la  $r$  de la relación entre la concentración y la respuesta analítica debe ser  $\geq 0.98$  y el IC ( $\beta$ ) no debe incluir el cero.
- Linealidad del método. El valor de la  $r$  de la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada debe ser  $r > 0.98$ , el IC ( $\beta$ ) debe incluir la unidad y el %C.V. no debe ser mayor al 3%. Según el porcentaje de recobro el IC ( $\mu$ ) debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro debe incluirse en el intervalo de 97-103% con un %C.V. no mayor del 3%.
- Exactitud y repetibilidad del método. El IC ( $\mu$ ) debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo del 97-103%. El %C.V. del porcentaje de recobro no debe ser mayor del 3%.
- Precisión del método. El %C.V. del contenido químico no debe ser mayor del 3%.

### 12.4 Resultados y dictamen

#### 12.4.1 Barrido espectrofotométrico a la cafeína.

Se realizó el barrido para conocer cual es la longitud de onda en la cual la cafeína tiene más absorción. Como se puede verificar en la ilustración 43 la cafeína tiene una absorción máxima a 271 nm. De acuerdo a datos en la literatura la cafeína absorbe a 272 nm.

**Ilustración 43. Barrido espectrofotométrico de la cafeína (20  $\mu\text{g/mL}$ ).**



#### 12.4.2 Precisión del sistema.

Se analizaron 6 muestras preparadas a partir de una solución stock de Cafeína, la Tabla 31 muestra los resultados obtenidos.



**Tabla 30. Resultados obtenidos al evaluar la precisión del sistema.**

Muestra	Absorbancia
1	1.0632
2	1.0669
3	1.0669
4	1.0690
5	1.0676
6	1.0692
Promedio	1.06713
S	0.0021704
%C.V.	0.20338%

#### 12.4.3 Linealidad del sistema

Se preparó una curva de calibración con 5 puntos de concentración por triplicado. Los resultados se observan en la Tabla 32 y 33.

**Tabla 31. Resultados obtenidos para la linealidad del sistema del método analítico para la cuantificación de Cafeína.**

Concentración de solución stock 250 µg/mL			Absorbancia		
Muestra	Vol.(mL)	µg/ mL	Curva 1	Curva 2	Curva 3
1	1	5	0.2377	0.2325	0.2293
2	2	10	0.4734	0.4662	0.4656
3	3	15	0.6970	0.6934	0.6910
4	4	20	0.9214	0.9206	0.9205
5	5	25	1.1428	1.1475	1.1553

**Tabla 32. Evaluación para las curvas de la linealidad del sistema.**

Curva	Criterio de aceptación			
	$r^2$	IC ( $\beta_1$ )		C.V.%
1	0.99987	0.0459	0.0473	1.70
2	0.99997	0.0459	0.0465	0.6581
3	0.99995	0.0459	0.0463	0.5717

La tres curvas preparadas tienen valores de  $r^2$  aceptables, sin embargo la curva 3 tiene el C.V.% más bajo (ver ilustración 44), esto quiere decir que tanto la dispersión de los datos y el error del analista son menores a la de los demás curvas, por lo tanto se puede emplear para la cuantificación de los procedimientos en este proyecto. La ecuación de la recta bajo este modelo es:

$$\text{Absorbancia} = (0.0461)[\text{Concentración cafeína } \mu\text{g/ mL}] + 0.0003$$

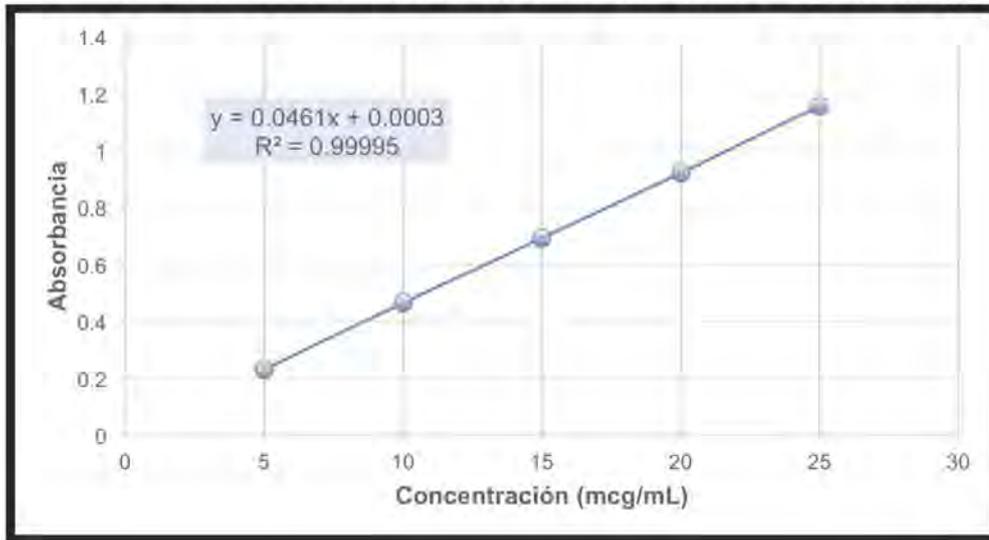
Donde:

0.0461 → valor de la pendiente.

0.0003 → valor de la ordenada al origen.



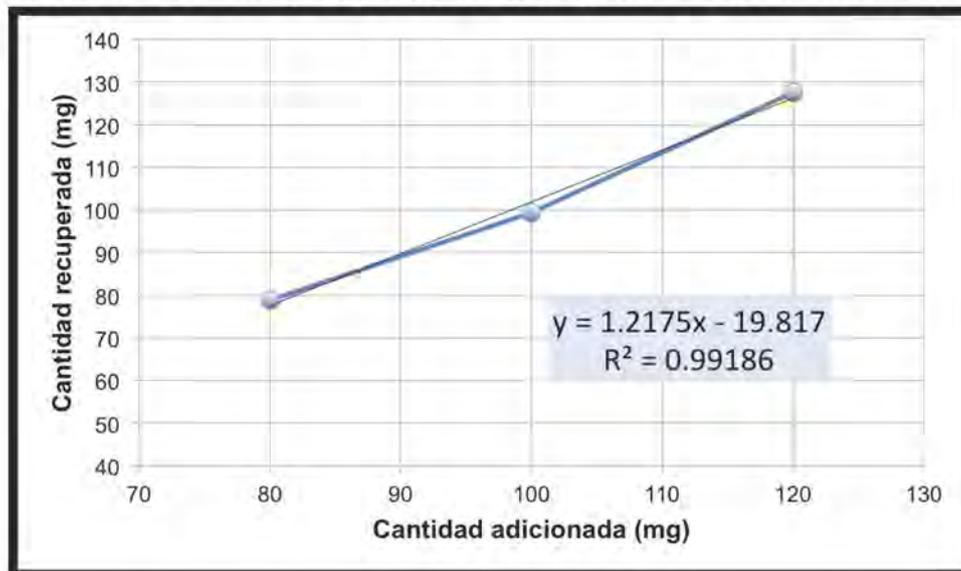
**Ilustración 44. Curva de calibración ABSORBANCIA = f[Cafeína µg/mL]**



#### 12.4.4 Linealidad del método

Se realizó una curva de concentraciones con gel de ácido hialurónico placebo adicionado al 80, 100 y 120% de Cafeína, los resultados se encuentran en la Tabla 34 y en la ilustración 45 se observa la relación entre la cantidad recuperada vs la adicionada.

**Ilustración 45. Gráfico que representa la cantidad recuperada vs la adicionada de cafeína, con el fin de determinar la linealidad del método.**





**Tabla 33. Resultados obtenidos de la linealidad del método.**

Nivel de con. %	Muestra	Abs.	Con. adicionada $\mu\text{g}/\text{mL}$	Con. recuperada $\mu\text{g}/\text{mL}$	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	% Recobro
80	1	0.7093	16	15.3796	80	76.898	96.122
	2	0.7377	16	15.9956	80	79.978	99.972
	3	0.735	16	15.9370	80	79.685	99.606
100	4	0.9235	20	20.0260	100	100.13	100.13
	5	0.903	20	19.5813	100	97.906	97.906
	6	0.9233	20	20.0216	100	100.10	100.10
120	7	1.1098	24	24.0672	120	120.33	100.28
	8	1.2107	24	26.2559	120	131.27	109.39
	9	1.2085	24	26.2082	120	131.04	109.20
-	-	-	-	-	-	Promedio	101.41
-	-	-	-	-	-	S	4.6729
-	-	-	-	-	-	C.V.%	4.607
-	-	-	-	-	-	R <sup>2</sup>	0.9918
-	-	-	-	-	IC ( $\beta$ )	1.1873	4.2705
-	-	-	-	-	IC ( $\mu$ )	98.361	104.46

#### 12.4.5 Exactitud y repetibilidad del método.

Se evaluaron los porcentajes de recobro de 6 placebos de ácido hialurónico cargado al 100% de Cafeína, en la tabla 35 se muestran los resultados obtenidos en el dictamen de la prueba.

**Tabla 34. Resultados obtenidos de la exactitud y la repetibilidad del método.**

Muestra	Absorbancia	Concentración adicionada $\mu\text{g}/\text{mL}$	Concentración recuperada $\mu\text{g}/\text{mL}$	Cantidad recuperada (mg)	% Recobro
1	0.9235	20	20.0260	100.1301	100.1301
2	0.9236	20	20.0281	100.1409	100.1409
3	0.9230	20	20.0151	100.0759	100.0759
4	0.9233	20	20.0216	100.1084	100.1084
5	0.9235	20	20.0260	100.1301	100.1301
6	0.9232	20	20.2364	101.1822	101.1822
-	-	-	Promedio	Cumple	100.2946
-	-	-	S		0.4354
-	-	-	C.V.%	Cumple	0.4341
-	-	-	IC ( $\mu$ )	99.946	100.643



#### 12.4.6 Precisión del método

Se determinó el contenido químico a 3 muestras de gel de ácido hialurónico cargado con Cafeína 100 mg en dos días diferentes con dos analistas, los resultados se observan en la tabla 36.

**Tabla 35. Resultados obtenidos para la precisión del método en dos días diferentes con dos analistas.**

Día	Analista	Muestra	Absorbancia	Concentración recuperada ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )	Cantidad de cafeína recuperada (mg)
1	1	1	0.9203	19.9566	99.7830
		2	0.9271	20.1041	100.5206
		3	0.9236	20.0282	100.141
	2	1	0.9231	20.0173	100.0868
		2	0.9213	19.9783	99.8915
		3	0.931	20.1887	100.9436
2	1	1	0.9211	19.9739	99.8698
		2	0.9194	19.9370	99.6854
		3	0.9372	20.3232	101.6161
	2	1	0.9251	20.0607	100.3037
		2	0.9396	20.3752	101.8764
		3	0.9285	20.1344	100.6725
-	-	-	Promedio	Cumple	100.4492
-	-	-	S	Cumple	0.7147
-	-	-	C.V.%	Cumple	0.7115

## 12.5 Anexo 2

### 12.5.1 Preparación de 2 Litros de la solución amortiguadora HEPES (pH=7.4)

- Pesar sobre un vaso de precipitados de 100 mL 11.916 g de HEPES (Ácido-2-[4-(2-hidroxietil)piperacín-1-il]etanosulfónico).
- Colocar los gramos pesados en un vaso de precipitados de 4 litros.
- Enjuagar el vaso que contenía la sal de HEPES con agua desionizada, y verterla en el vaso de precipitados de 4 Litros, realizar este proceso 3 veces.
- Añadir 1800 mL al vaso de precipitados, una barra magnética y colocar el sistema sobre un agitador magnético, disolver.
- Con ayuda de una pipeta Pasteur añadir gota a gota solución de NaOH (1 M) hasta alcanzar un pH de 7.4.



- f) Llevar a un volumen de aforo de 2 Litros con agua desionizada, en un matraz volumétrico ayudándose de un embudo.

Concentración de la solución amortiguadora HEPES:

$$\frac{11.916 \text{ g}}{2 \text{ L}} \times \frac{1 \text{ mol}}{238.3 \text{ g}} = 0.02500 \text{ M}$$

### 12.5.2 Preparación de 100 mL de la solución NaOH 1 M

- Sobre un vaso de precipitados de 150 mL pesar 3.98997 g de NaOH.
- En otro vaso de precipitados verter 50 mL de agua desionizada.
- Al vaso con el agua desionizada incorporar poco a poco la sal de NaOH agitando con una varilla de vidrio. Tener cuidado que no se caliente la solución.
- Trasvasar la solución a un matraz volumétrico de 100 mL y aforar con agua desionizada.

Calculo para obtener los gramos necesarios de NaOH para preparar la solución a 1 M:

$$\frac{1 \text{ mol}}{1 \text{ L}} \times \frac{39.997 \text{ g}}{1 \text{ mol}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 3.9997 \text{ g NaOH}$$

## 12.6 Anexo 3

### 12.6.1 Uso del programa estadístico Statgraphics Centurion

- Abrir el programa Statgraphics.
- Seleccionar la opción "Diseñar un experimento". Aceptar.
- En opciones de creación de diseño elegir factorial multinivel, colocar el número de variables respuesta y factores experimentales. Aceptar.
- En opciones de definición de factores colocar el nombre de cada factor (ácido hialurónico y cafeína) y en niveles de concentración bajo 350 y alto 1400 para ambos. Número de niveles 3. Aceptar.
- En la siguiente ventana "opción de definición de respuesta" colocar el nombre de cada prueba a medir con sus respectivas unidades: pH (sin unidades), Viscosidad (cP), Extensibilidad antes (cm<sup>2</sup>) y Extensibilidad después (cm<sup>2</sup>). Aceptar.
- En la última ventana llamada "Opción de diseño factorial multinivel" colocar el número 2, Indicará el número de corridas (27) y los grados de libertad G.I. (21). Aceptar.
- Se abre el libro de datos el cual deberá ser llenado con las propiedades de cada uno de los 27 lotes que se deben de preparar.
- Una vez preparados los lotes vaciar los resultados en el libro de datos.
- Seleccionar la opción DDE, posteriormente analizar diseño. Colocar cada uno de los datos respuesta (pH, Viscosidad, Extensibilidad antes y después). Aceptar.
- Seleccionar optimización de múltiples respuestas.
- Seleccionar en la barra de herramientas la opción "tablas" para obtener la formulación óptima.



12. Seleccionar en la barra de herramientas la opción "gráficas" para obtener los diagramas de Pareto y contornos superficie respuesta.
13. Para la selección de una formulación a los requerimientos de la dosis de cafeína a trabajar sin salirse de los contornos óptimos o ideales en el diagrama de contornos superficie respuesta localizar en el grafico 1.2 g de cafeína para obtener gráficamente la cantidad de ácido hialurónico.