



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

Diseño, desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de glibenclamida usando microagujas y un promotor químico como posible alternativa para el incremento de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo II

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

LICENCIADO EN FARMACIA

PRESENTA:

RIOS ARROYO ARTURO IVAN

ASESOR:

Dr. José Juan Escobar Chávez

CUAUTITLÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES
SUPERIORES CUAUTITLÁN

ASUNTO: VOTO APROBATORIO



DEPARTAMENTO DE
EXÁMENES PROFESIONALES

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

Diseño, desarrollo y caracterización de un parche transdérmico de glibenclamida usando microagujas y un promotor químico como posible alternativa para el incremento de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo II.

Que presenta el pasante: Arturo Iván Ríos Arroyo

Con número de cuenta: 415013558 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 20 de Septiembre de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q.M. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.C. Martha Angélica Villegas González	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	M.C. Beatriz de Jesús Maya Monroy	
2do. SUPLENTE	Dr. Roberto Díaz Torres	

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

LMCF/cga*





AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Nacional Autónoma de México** por mi formación profesional pues es un orgullo pertenecer a la máxima casa de estudios.

A mi asesor el **Dr. José Juan Escobar Chávez** por su apoyo, dedicación, confianza y por brindarme la oportunidad de formar parte de su equipo.

A mis amigos **Roxana, Fernanda, Felipe, David, Esmeralda, Iris, Jazmín, Valentina, Jesús, Yosabeth**, quienes estuvieron conmigo siempre y me brindaron su apoyo durante toda esta etapa, siempre los llevaré conmigo.

A mis compañeras del laboratorio 12 de la UIM: **Jessica** y **Karla** por acompañarme y hacer más amenas las jornadas de trabajo, un placer trabajar con ustedes.

A mis compañeros de carrera que me brindaron momentos agradables durante la misma.

A mis profesores de la carrera en especial a la **M. en F.C. María Eugenia Posada Galarza**, la **M. en F.C. Beatriz de Jesús Maya Monroy** y el **L.F. Miguel Ángel Trejo Rodríguez** por sus consejos y apoyo durante toda esta etapa.

Y finalmente a los siguientes 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 2.12.27.19: “Manual de prácticas para la Asignatura de Estancia de Investigación III de la Licenciatura en Tecnología en el área Tecnología Farmacéutica (Vías de Administración de Fármacos No Convencionales)”.



DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a mis padres Marcela Arroyo y Sandro Ríos y a mis abuelitos Susana Trejo y Pablo Arroyo por su apoyo incondicional y porque sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

CONTENIDO

Índice de figuras.....	7
Índice de tablas	7
Resumen.....	10
1. Introducción.....	12
2. Marco teórico	13
2.1. La Piel.....	13
2.1.1. Estructura de la piel	14
2.1.2. Estructuras anexas de la piel.....	18
2.1.3. Funciones de la piel.....	22
2.2. Sistemas terapéuticos transdérmicos	27
2.2.1. Absorción percutánea	27
2.2.2. Clasificación de los sistemas terapéuticos transdérmicos	35
2.2.3. Agentes promotores de la permeación cutánea	36
2.2.4. Métodos experimentales para el estudio de la absorción transdérmica ..	44
2.2.5. Modelos matemáticos para la evaluación de la liberación de fármacos ..	49
2.3. Diabetes mellitus.....	52
2.3.1. Liberación y acción de la insulina	52
2.3.2. Clasificación de las hiperglucemias	56
2.3.3. Epidemiología de la diabetes mellitus.....	60
2.3.4. Diagnóstico de la diabetes mellitus.....	63
2.3.5. Tratamiento de la diabetes mellitus	63
2.4. Glibenclamida	65
2.4.1. Generalidades	65
2.4.2. Propiedades fisicoquímicas	65
2.4.3. Propiedades farmacológicas.....	66
3. Justificación.....	68
4. Hipótesis	70
5. Objetivos	70
5.1. Objetivo general.....	70
5.2. Objetivos específicos	70
6. Metodología	71
6.1. Diagrama general	71
6.2. Reactivos	72

6.3. Material y equipos.....	72
6.4. Métodos.....	73
6.4.1. Preformulación.....	73
6.4.2. Formulación.....	77
6.4.3. Optimización, caracterización física y química de la formulación.....	79
7. Resultados y discusión.....	88
7.1. Preformulación.....	88
7.1.1. Selección de componentes de la formulación.....	88
7.2. Formulación.....	95
7.2.1. Resistencia a la ruptura.....	98
7.2.2. Bioadhesión.....	100
7.2.3. Bioadhesión posthumectación.....	102
7.3. Optimización y caracterización física y química de la formulación.....	104
7.3.1. Caracterización física de la formulación.....	104
7.3.2. Caracterización química de la formulación.....	113
8. Conclusiones.....	125
9. Perspectivas.....	126
10. Referencias.....	127
11. Anexos.....	132
11.1. Protocolo de validación del método analítico para la determinación de contenido químico de Glibenclamida en el parche transdérmico.....	132
11.1.1. Objetivo.....	132
11.1.2. Justificación.....	132
11.1.3. Alcance.....	132
11.1.4. Materiales, reactivos y equipos.....	132
11.1.5. Métodos.....	133
11.1.6. Resultados y dictamen.....	139
11.2. Utilización del software “Statgraphics Centurión XV.II”.....	147
11.3. Preparación de 1,000 mL de solución buffer de HEPES pH = 7.4.....	148
11.3.1. Materiales, reactivos y equipos.....	148
11.3.2. Procedimiento.....	148
11.4. Preparación de 100 mL de solución de hidróxido de sodio 1M.....	148
11.4.1. Materiales, reactivos y equipos.....	148
11.4.2. Procedimiento.....	149

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de la estructura de la piel.....	14
Figura 2. Microfotografía de la piel.....	14
Figura 3. Estratos y tipos de células de la epidermis.....	16
Figura 4. La dermis.....	17
Figura 5. Estructura del pelo y folículos pilosos.....	19
Figura 6. Estructura de las uñas.....	20
Figura 7. Glándulas cutáneas.....	20
Figura 8. La piel como órgano termorregulador.....	25
Figura 9. Papel de la piel en la homeostasia de la temperatura corporal.....	26
Figura 10. Estructura de un parche transdérmico.....	27
Figura 11. Vías de absorción percutánea.....	29
Figura 12. Perfil de concentraciones a través de una membrana ideal en el estado estacionario.....	30
Figura 13. Perfil representativo de las cantidades acumuladas en el comportamiento receptor en función del tiempo.....	32
Figura 14. Sistemas de diseño de parches transdérmicos.....	36
Figura 15. Penetración de moléculas grandes mediante ultrasonido.....	39
Figura 16. Sistema transdérmico iontoforético.....	40
Figura 17. Mecanismo de la electroporación en un sistema transdérmico.....	40
Figura 18. Mecanismo de la radiofrecuencia en un sistema transdérmico.....	41
Figura 19. Representación esquemática del mecanismo de acción de un dispositivo de matriz de microagujas.....	42
Figura 20. Distintos tipos de microagujas y métodos utilizados para facilitar la administración de fármacos por vía transdérmica.....	43
Figura 21. Microdiálisis cutánea.....	45
Figura 22. Técnica del tape stripping.....	47
Figura 23. Configuración básica de una celda de difusión tipo Franz vertical.....	48
Figura 24. Mecanismo de liberación de la insulina en la célula β -pancreática.....	53
Figura 25. Visión general de las vías de traducción intracelular de la insulina.....	54
Figura 26. Temporalidad en la aparición de DM2.....	57
Figura 27. Predisposición genética para desarrollar DM2.....	59
Figura 28. Número de personas con diabetes por región de la FID en el 2013.....	61
Figura 29. Comparación regional de prevalencias de diabetes según ENEC 1993 y ENSA 2000.....	62
Figura 30. Estructura química de la Glibenclamida.....	65
Figura 31. Moldes utilizados para la formación de las películas poliméricas.....	77
Figura 32. Texturómetro Brookfield CTB Texture Analyzer.....	80
Figura 33. Condiciones del ensayo para la determinación de resistencia a la ruptura.....	80
Figura 34. Ejecución del ensayo “Resistencia a la ruptura”.....	81
Figura 35. Ejecución del ensayo “Bioadhesión”.....	82
Figura 36. Microscopio óptico Motic.....	83
Figura 37. Estudio de liberación de Glibenclamida en el parche transdérmico.....	85
Figura 38. Piel de cerdo utilizada para el estudio de permeación percutánea.....	85

Figura 39. Arreglo de microagujas y direcciones de paso de las microagujas sobre la piel.....	86
Figura 40. Estudios in vitro de absorción percutánea.	87
Figura 41. Apariencia de las formulaciones realizadas utilizando distintos polímeros.	89
Figura 42. Diagrama de pareto estandarizado para resistencia a la ruptura.....	99
Figura 43. Diagrama de superficie – respuesta para la resistencia a la ruptura.....	100
Figura 44. Diagrama de pareto estandarizado para bioadhesión.....	101
Figura 45. Diagrama de superficie – respuesta para bioadhesión.	102
Figura 46. Diagrama de pareto estandarizado para bioadhesión posthumectación.	102
Figura 47. Diagrama de superficie – respuesta para bioadhesión posthumectación.	103
Figura 48. Gráficos de control para la determinación de peso, diámetro y área para el parche transdérmico de Glibenclamida.	106
Figura 49. Gráfico de control para la determinación de resistencia a la ruptura para el parche transdérmico de Glibenclamida.	108
Figura 50. Gráfico de control para la determinación de bioadhesión para el parche transdérmico de Glibenclamida.	109
Figura 51. Gráfico de control para la determinación de la bioadhesión posthumectación para el parche transdérmico de Glibenclamida.	111
Figura 52. Observaciones del parche transdérmico de Glibenclamida bajo microscopía óptica.	112
Figura 53. Aspecto final del parche transdérmico de Glibenclamida.....	112
Figura 54. Gráfico de control para la determinación de contenido químico para el parche transdérmico de Glibenclamida.	114
Figura 55. Perfil de liberación del parche transdérmico de Glibenclamida.....	115
Figura 56. Modelos matemáticos de ajuste para determinación de la cinética de liberación en el parche transdérmico de Glibenclamida.	117
Figura 57. Representación esquemática de los mecanismos de erosión superficial y erosión en masa.....	118
Figura 58. Mecanismo de liberación de fármacos mediante sistemas matriciales.	119
Figura 59. Perfil de permeación de Glibenclamida formulado en un parche transdérmico a través de piel de cerdo usando microagujas como promotor físico y Dimetilsulfóxido como promotor químico.....	121
Figura 60. Modelo de absorción percutánea con dosis finita.	122
Figura 61. Modelo de absorción percutánea con dosis abundante de medicamento.	123
Figura 62. Barrido espectrofotométrico de Glibenclamida en Etanol Absoluto.....	139
Figura 63. Barridos espectrofotométricos de Glibenclamida con: a) Eudragit RS 100, b) Eudragit RL 100 y c) Dimetilsulfóxido en Etanol Absoluto.	140
Figura 64. Barrido espectrofotométrico de un Placebo de parche transdérmico en Etanol Absoluto.	141
Figura 65. Curva de calibración de Glibenclamida.....	145
Figura 66. Gráfico de cantidad adicionada vs cantidad recuperada de Glibenclamida.	146

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Capacidad de penetración transdérmica.....	28
Tabla 2. Clasificación de los promotores químicos de absorción cutánea.	38
Tabla 3. Clasificación de los diferentes tipos de hiperglucemias causadas por diversas mutaciones genéticas y secundarias a un proceso patológico.....	56
Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de la Glibenclamida.	66
Tabla 5. Reactivos utilizados en la experimentación.....	72
Tabla 6. Material y equipos utilizados en la experimentación.	72
Tabla 7. Formulaciones propuestas para el desarrollo del parche transdérmico de Glibenclamida.	73
Tabla 8. Descripción del diseño de experimentos para la elección de la formulación óptima.	78
Tabla 9. Matriz experimental del diseño para la elección de la formulación óptima.	78
Tabla 10. Evaluación física de las formulaciones realizadas	88
Tabla 11. Resultados de las variables respuesta obtenidos a partir de los factores estudiados.....	96
Tabla 12. Resumen ANOVA de las variables respuesta obtenido a partir de los factores estudiados.	97
Tabla 13. Cantidades óptimas de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 para la elaboración del parche transdérmico de Glibenclamida.....	104
Tabla 14. Formulación óptima para la elaboración del parche transdérmico de Glibenclamida.	104
Tabla 15. Resultados obtenidos para la caracterización física del parche transdérmico de Glibenclamida.	104
Tabla 16. Resultados para la cuantificación de Glibenclamida en los parches transdérmicos.....	113
Tabla 17. Parámetros obtenidos para la determinación de la cinética de liberación del parche transdérmico de Glibenclamida.....	115
Tabla 18. Resultados experimentales de las cantidades de fármaco acumuladas y las cantidades acumuladas por área expuesta del parche transdérmico de Glibenclamida.	120
Tabla 19. Parámetros de permeación obtenidos mediante el estudio in vitro de absorción percutánea.....	121
Tabla 20. Resultados experimentales para la determinación de exactitud y repetibilidad del método analítico.....	141
Tabla 21. Resultados experimentales para la determinación de reproducibilidad del método analítico.....	142
Tabla 22. Resultados experimentales para la determinación de precisión del sistema del método analítico.....	142
Tabla 23. Resultados experimentales para la determinación de precisión del método del método analítico.....	143
Tabla 24. Resultados experimentales para la determinación de linealidad del sistema del método analítico.....	143
Tabla 25. Resultados experimentales para la determinación de linealidad del método del método analítico.....	146

RESUMEN

La diabetes mellitus es una de las enfermedades que representa un problema importante de salud pública en todo el mundo, ya que la prevalencia va en aumento, además de sus costos para los sistemas de salud, sus complicaciones y su relación con otras enfermedades crónico degenerativas. En Latinoamérica hay 26 millones de diabéticos lo que equivale al 7% de la población total mundial de pacientes con esta patología y para el año 2030 se pronostica un aumento de esta enfermedad con hasta 39.9 millones de casos. La diabetes, es una de las principales causas de invalidez y muerte prematura y una de las enfermedades crónicas con alta tasa de fracaso y mala adherencia al tratamiento. En EEUU menos del 2% de los pacientes diabéticos cumplen con todas las pautas de tratamiento recomendadas por la Asociación Americana de Diabetes, destacándose que en esa población la adherencia al tratamiento hipoglucemiante es de 75%, la adherencia al plan alimentario es de 52% y al ejercicio físico es de 26%. Esta mala adherencia al tratamiento en la Diabetes Mellitus tipo 2 es la responsable de las complicaciones a largo plazo que esta patología genera.

Es por ello que el objetivo del presente trabajo fue el diseño, evaluación y caracterización de un parche transdérmico de Glibenclamida con el uso de un promotor químico y uno físico, realizando su evaluación *in vitro* en piel de cerdo como una propuesta alternativa para incrementar el índice de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo 2. El diseño se llevó a cabo mediante ensayos de preformulación en los cuales se determinó que la combinación de polímeros hidrófilos e hidrófobos (Eudragit RL 100 y Eudragit RS 100), dieron como resultado películas homogéneas tras su preparación por la técnica de evaporación del disolvente. Se realizó un diseño de experimentos de tipo factorial 3^2 en el cual se evaluaron las proporciones de Eudragit RL 100 y Eudragit RS 100 (desde 300 hasta 700 mg para ambos polímeros) para la evaluación de las propiedades: Resistencia a la Ruptura, Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación como variables respuesta, encontrándose que la proporción 407:700 mg de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 fue la óptima. Una vez establecida la relación de las proporciones óptimas se llevó a cabo la caracterización física de dicha formulación, encontrando un peso promedio de las películas elaboradas de 1.7454 g (n = 10), un diámetro promedio de 8.60 cm (n = 10) y un promedio de área de 58.1039 cm² (n = 10), se encontró además que se necesita en promedio un total de 198.50 g/F para causar fracturas en el parche transdérmico (n = 10), un total de 209.75 g/F para desprender el parche transdérmico de la piel (n = 10) y un total de 266.75 g/F para desprender el parche de la piel tras un tratamiento previo de humectación (n = 10). En cuanto a la caracterización química de la formulación se llevaron a cabo las pruebas de Valoración (% de contenido químico), Perfil de Liberación y Estudios de Permeación Percutánea, encontrando que los parches transdérmicos poseen en promedio un 100.9899% de contenido de fármaco (n = 10), al cabo de 8 horas se libera más de 50% del fármaco y obteniendo un porcentaje mayor al 90% de liberación al transcurso de 26 horas (n = 6). Por otra parte, se determinó que la cinética de liberación se ajusta a los modelos de Higuchi y Korsmeyer-Peppas mediante mecanismos de erosión y difusión. Finalmente, se determinó que la forma farmacéutica presenta un flujo del fármaco a través de piel



animal de $5.0721 \mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$, con un tiempo de latencia de 5.4143 h y con una constante de permeabilidad de $1.4518 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{h}$ ($n = 6$). Se utilizaron dimetilsulfóxido (DMSO) como promotor químico a una concentración del 15% y microagujas de 0.25 mm como promotor físico de la permeación.

Palabras clave: Parche transdérmico, Diabetes mellitus tipo 2, Glibenclamida, Diseño de experimentos multifactorial, Promotores de la permeación percutánea.

1. INTRODUCCIÓN

La diabetes mellitus (DM) es un grupo de trastornos metabólicos caracterizados por la hiperglucemia debida a defectos en la secreción o acción de la insulina. Existen múltiples procesos fisiopatogénicos involucrados en su aparición que varían desde la destrucción autoinmunitaria de las células β del páncreas hasta alteraciones que conducen a la resistencia a la acción de la insulina (Alonso et. al., 2015). La DM se puede clasificar en cuatro categorías clínicas: DM tipo 1, DM tipo 2, DM gestacional y otros tipos específicos de DM. La DM2 (previamente conocida como diabetes no insulino dependiente o diabetes del adulto) representa del 90 al 95% de todos los casos de diabetes; esta forma engloba a los individuos que tienen una deficiencia de insulina relativa y que presentan resistencia periférica a la insulina y generalmente los afectados no necesitan tratamiento de insulina para poder sobrevivir (Instituto Mexicano del Seguro Social, 2018).

Debido a su elevada incidencia en la población y por ser motivo frecuente de consulta en las diversas unidades asistenciales de salud así como por la variedad de sus manifestaciones clínicas y complicaciones, se hace imprescindible unificar criterios sobre su atención. Básicamente el manejo de esta patología se divide en dos grandes rubros: tratamiento no farmacológico (que involucra aspectos como modificación del estilo de vida, tratamiento médico nutricional, implementación de actividad física, etc.) y tratamiento farmacológico. Las sulfonilureas (SU) son un grupo de medicamentos utilizados para el tratamiento de la DM2; son fármacos insulinosecretores que actúan en receptores específicos de la célula β -pancreática (Pallardo, 2008). Dentro de este grupo, la principal exponente es la Glibenclamida (o gliburida como también se conoce) que actualmente es comercializada en tabletas para su consumo de forma oral sola o combinada con metformina en diversas dosis.

Uno de los mayores inconvenientes en el tratamiento farmacológico de los pacientes con DM2 es el inadecuado consumo de los medicamentos para la regulación de los niveles de glucosa en sangre, derivado de un inadecuado índice de apego al tratamiento. Los estudios sobre este tema muestran que existe cerca de un 50% de cumplimiento del tratamiento en enfermedades crónicas (tales como DM, hipertensión arterial, insuficiencia renal, etc.) con los siguientes factores de riesgo asociados: desconocimiento de la enfermedad, desconfianza de la capacidad del médico, duración de la consulta menor a cinco minutos, falta de comprensión de las indicaciones médicas, escolaridad baja, estado civil e intolerancia a los medicamentos siendo este último uno de los más importantes porque engloba características como las propiedades de cada medicamento tales como forma farmacéutica, la vía de administración, manipulación del medicamento, etc.; por lo cual, es importante la creación de alternativas que mejoren estos índices, otorgando al paciente facilidades para disponer de tratamientos efectivos, fáciles de administrar y sobre todo de bajo costo que permita acceder a ellos fácilmente; tal es el caso de los parches transdérmicos.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. LA PIEL

La piel (o membrana cutánea), que cubre la superficie externa del cuerpo, es el órgano más importante tanto en superficie como en peso. En los adultos, la piel abarca una superficie de alrededor de 2 m² y pesa entre 4.5 a 5 kg, aproximadamente el 16% del peso corporal total. Su espesor varía entre 0.5 mm en los párpados hasta 4 mm en el talón. Sin embargo, en gran parte del cuerpo mide 1-2 mm. Desde el punto de vista estructural, la piel consta de dos partes principales: la superficial, porción más fina compuesta por tejido epitelial, es la epidermis. La parte profunda y más gruesa de tejido conectivo es la dermis (Tortora y Derrickson, 2006). La diferencia se debe sobre todo a la variación en el grosor de la dermis, aunque la piel se clasifica como gruesa o delgada con base en el espesor relativo de la sola epidermis (figura 1). La piel gruesa cubre palmas, plantas y las superficies correspondientes de los dedos de manos y pies. Su sola epidermis mide casi 0.5 mm de grueso, a causa de una capa superficial muy gruesa de células muertas: el estrato córneo. La piel gruesa tiene glándulas sudoríparas, pero carece de folículos pilosos o glándulas sebáceas. El resto del cuerpo está cubierto por piel delgada, que tiene una epidermis de casi 0.1 mm de grueso, y un estrato córneo delgado. Posee folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas (Saladin, 2013).

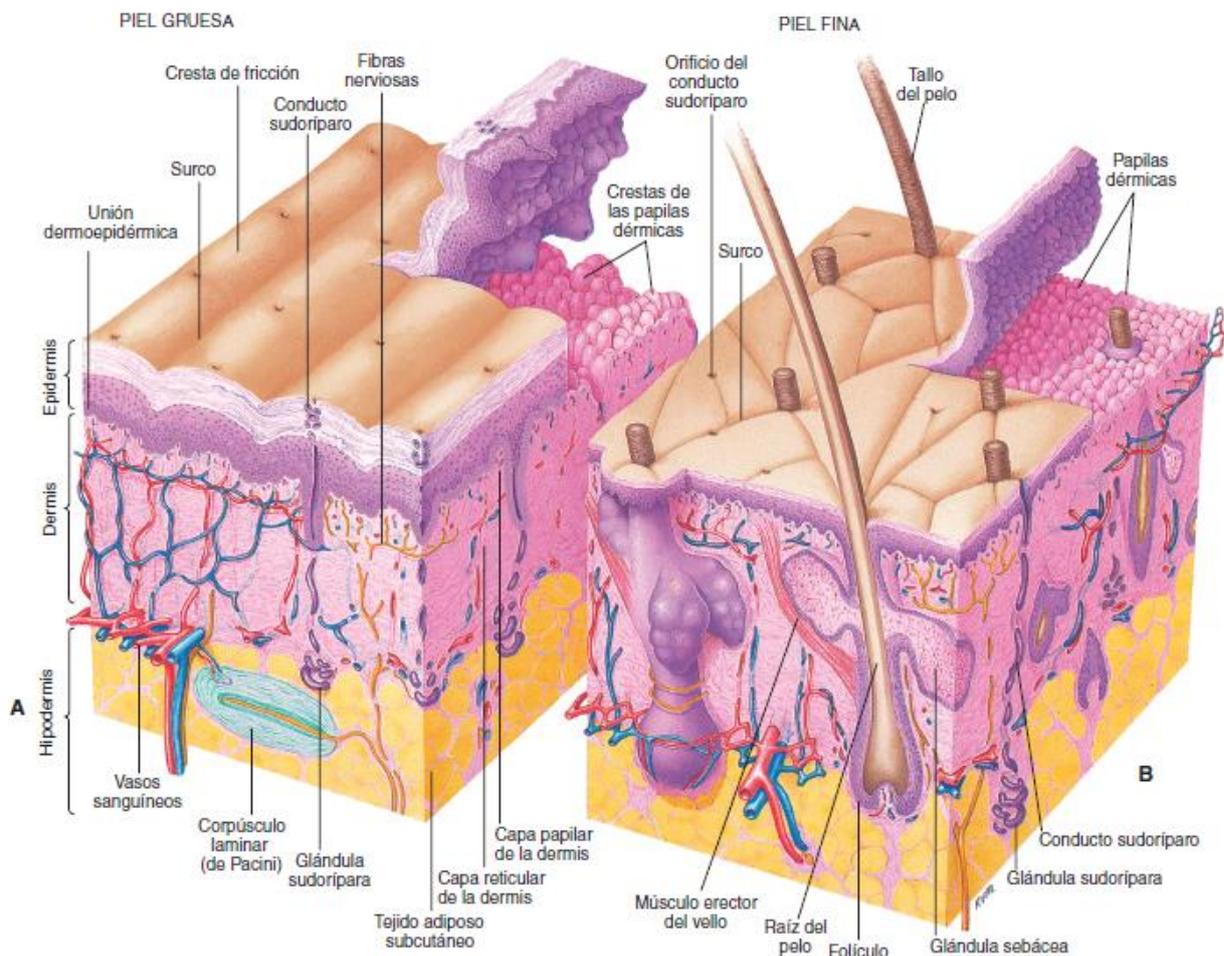


Figura 1. Diagrama de la estructura de la piel.

A: piel gruesa que se encuentra en la superficie de las palmas y plantas. **B:** piel fina, presente en la mayor parte de las restantes superficies corporales. En cada diagrama la epidermis está levantada por una esquina para mostrar las pailas dérmicas. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.1. Estructura de la piel

Como se mencionó anteriormente, la piel está constituida por dos capas principales (figura 2):

- La epidermis: capa exterior, más fina.
- Dermis: capa interior, más gruesa.

La epidermis celular es una capa epitelial, derivada de la capa germinal epidérmica del embrión. Hacia la decimoséptima semana de gestación, la epidermis del niño en desarrollo tiene todas las características esenciales de la del adulto. La dermis más profunda deriva del mesodermo y es una capa de tejido conjuntivo relativamente denso que puede tener más de 4 mm de espesor en algunas zonas del cuerpo. La zona especializada donde las células de la epidermis se unen con las células del tejido conjuntivo de la dermis se denomina unión dermoepidérmica. Debajo de la dermis se encuentra una hipodermis, laxa, rica en grasa y en tejido areolar (Thibodeau y Patton, 2007).

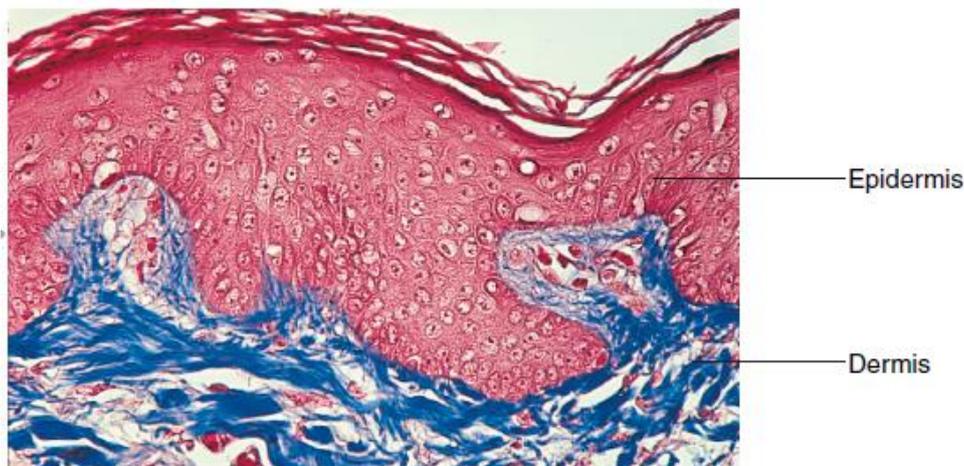


Figura 2. Microfotografía de la piel.

La tinción de este corte transversal de la piel muestra con claridad la epidermis superficial teñida en rojo y la dermis azulada por debajo de ella. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.1.1. Epidermis

La epidermis es un epitelio escamoso estratificado queratinizado, su superficie consta de células muertas empaquetadas con una proteína dura, la queratina. Al igual que otros epitelios, la epidermis carece de vasos sanguíneos y depende de la difusión de nutrientes a partir del tejido conjuntivo subyacente. Tiene pocas terminaciones nerviosas para el tacto y el dolor, pero la mayoría de las sensaciones de la piel se perciben en las terminaciones de la dermis (Saladin, 2013).

La epidermis está integrada por cinco tipos de células (figura 3):

1. Los **citoblastos**: son células indiferenciadas que se dividen y dan lugar a los queratinocitos. Sólo se encuentran en la capa más profunda de la epidermis, a la que se denomina estrato basal.
2. Los **queratinocitos**: representan la mayoría de las células epidérmicas y reciben este nombre por su función en la síntesis de queratina.
3. Los **melanocitos**: sólo se presentan en el estrato basal. Sintetizan la melanina, un pigmento que va de color marrón a negro y tienen extensiones ramificadas que se prologan entre los queratinocitos y dispersan de manera continua fragmentos de sus puntas que contienen melanina. Los queratinocitos fagocitan dichos fragmentos y acumulan gránulos de melanina en la parte del núcleo expuesta a la luz. Como un parasol, el pigmento protege el DNA de la radiación ultravioleta.
4. Las **células táctiles (de Merkel)**: presentes en cantidades bajas, son receptores para el tacto. También se encuentran en la capa basal de la epidermis y están relacionadas con la fibra nerviosa dérmica subyacente. A la célula táctil y su fibra nerviosa se les llama, de manera colectiva, disco táctil (de Merkel).
5. Las **células dendríticas (de Langerhans)**: se encuentran en dos capas de la epidermis: el estrato espinoso y el estrato granuloso. Se trata de células inmunitarias que se originan en la médula ósea pero que migran a la epidermis y el epitelio de la cavidad oral, el esófago y la vagina. La epidermis tiene tantos como 800 células dendríticas por mm^2 , que permanecen en guardia contra las toxinas, los microbios y otros patógenos que penetran en la piel. Cuando detectan a estos invasores, dichas células alertan al sistema inmunitario para el cuerpo pueda defenderse.

Las células de la epidermis están dispuestas en cuatro a cinco zonas o estratos, los cuales son (figura 3):

1. El **estrato basal**: consta, sobre todo, de una sola capa de citoblastos cúbicos a cilíndricos cortos y de queratinocitos que descansan sobre la membrana basal. Dispersas entre éstos se encuentran los melanocitos, células táctiles y citoblastos. A medida que éstos se dividen, dan lugar a queratinocitos que migran hacia la superficie de la piel y reemplazan a las células epidérmicas perdidas.
2. El **estrato espinoso**: consta de varias capas de queratinocitos. En casi toda la piel es el estrato de mayor espesor, pero en la piel gruesa suele ser más abundante el estrato córneo. Recibe su nombre por el aspecto artificial (artefacto) creado por la fijación histológica de las muestras de tejido. Los queratinocitos están unidos con firmeza entre sí por cuantiosos desmosomas, que son responsables, en parte, de la dureza de la epidermis. Los fijadores histológicos reducen los queratinocitos, de modo que éstos se distancian entre sí, pero permanecen unidos por los desmosomas; por tanto, se crean puentes entre las células, lo que da a cada una de ellas un aspecto espinoso, de donde deriva tal denominación.

3. El **estrato granuloso**: consta de tres a cinco capas de queratinocitos planos, los cuales contienen gránulos de queratohialina burda, teñida de oscuro, que le dan su nombre a la capa.
4. El **estrato lúcido**: es una zona delgada en la superficie del estrato granuloso, que sólo se ve en la piel gruesa. Aquí, los queratinocitos están empaquetados de manera densa con una proteína clara llamada eleidina. Las células no tienen núcleos ni otros organelos. Esta zona tiene aspecto pálido, sin características definidas y con límites celulares imprecisos.
5. El **estrato córneo**: consta de hasta 30 capas de células queratinizadas muertas, escamosas, que forman una estructura superficial que resulta muy resistente a la abrasión, la penetración y la pérdida de agua.

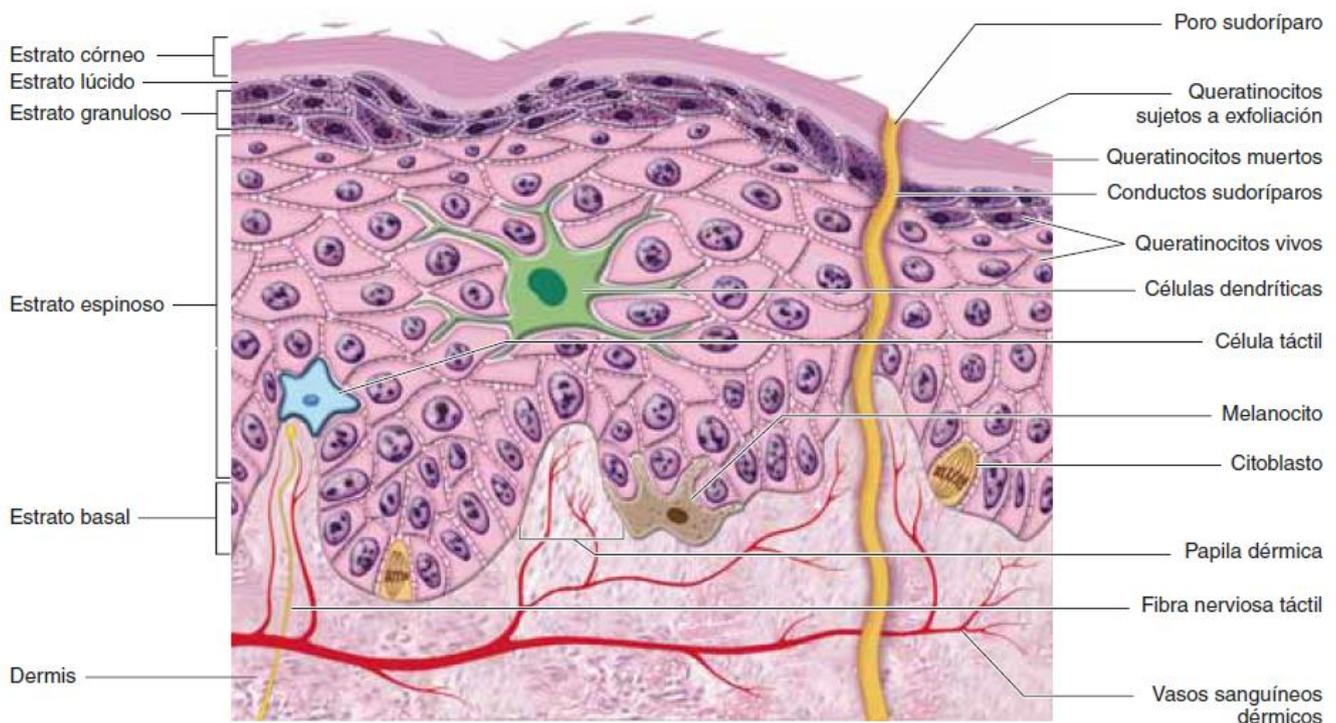


Figura 3. Estratos y tipos de células de la epidermis.
Tomada de Saladin, K. *Anatomía y Fisiología*, 2013.

2.1.1.2. Dermis

La dermis es una capa de tejido conjuntivo que se encuentra debajo de la epidermis. Su grosor va de 0.2 mm en los párpados a casi 4 mm en las palmas y las plantas. Está compuesta sobre todo por colágeno, pero también contiene fibras elásticas y reticulares, fibroblastos y otras células típicas del tejido conjuntivo fibroso. Tiene un suministro amplio de vasos sanguíneos, glándulas cutáneas y terminaciones nerviosas (Saladin, 2013). La resistencia mecánica de la piel está en la dermis. Además de desempeñar una función protectora frente a la lesión mecánica y la compresión, esta capa de la piel constituye una zona de almacenamiento de agua e importantes electrolitos. Una red especializada de nervios y terminaciones nerviosas, denominada receptores sensitivos somáticos, actúa también procesando informaciones sensitivas, como el dolor, la presión, el tacto y la temperatura (Thibodeau y Patton, 2007).

La dermis tiene dos zonas, que son (figura 4):

1. La **capa papilar**: es una zona delgada de tejido areolar que se encuentra en las papilas dérmicas y cerca de ellas. La organización laxa de este tejido permite la movilidad de los leucocitos y otras defensas contra los microorganismos patógenos que entran por roturas de la epidermis. Esta capa contiene abundancia de pequeños vasos sanguíneos.
2. La **capa reticular**: es más profunda y mucho más gruesa. Consta de tejido conjuntivo denso irregular. El límite entre las capas papilar y reticular suele ser impreciso. En la capa reticular, el colágeno forma haces más gruesos con menos espacio para la sustancia fundamental y suele haber pequeños grupos de adipocitos. El estiramiento de la piel en la obesidad y el embarazo puede romper las fibras de colágeno y producir estrías, o marcas longitudinales de color más claro. Esto suele ocurrir sobre todo en las áreas más extendidas por la ganancia de peso: los muslos, las nalgas, el abdomen y las mamas.

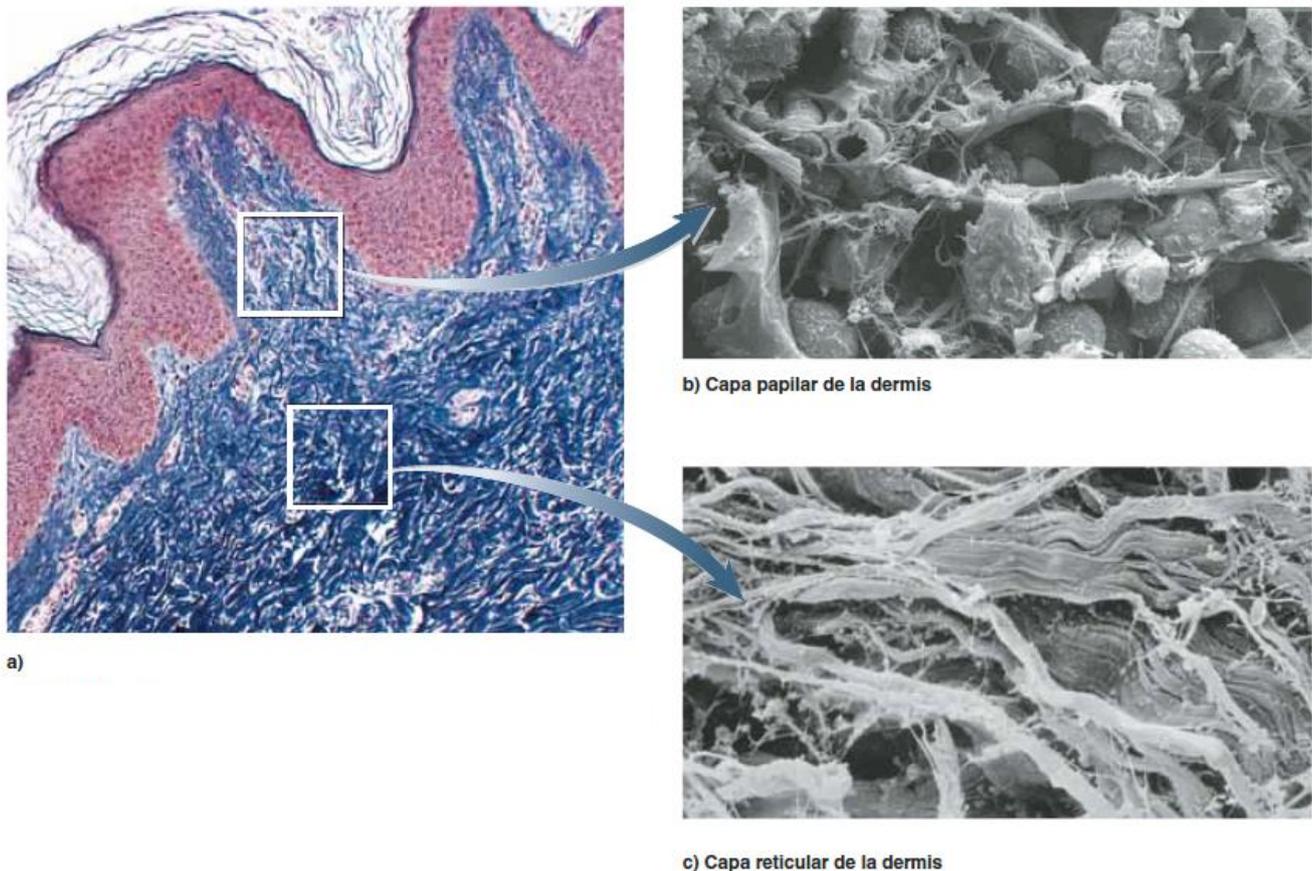


Figura 4. La dermis.

a) Vista bajo el microscopio de la luz de piel axilar; el colágeno aparece teñido de azul. **b)** La capa papilar, hecho de tejido laxo (areolar), forma las papilas dérmicas. **c)** La capa reticular, formada por tejido conjuntivo denso irregular, forma las cuatro quintas partes más profundas de la dermis. *Tomada de Saladin, K. Anatomía y Fisiología, 2013.*

2.1.1.3. Hipodermis

Debajo de la piel se encuentra una capa llamada hipodermis o tejido subcutáneo. El límite entre la dermis y la hipodermis es indistinguible, pero la hipodermis suele tener más tejido areolar y adiposo. La hipodermis rellena el cuerpo y une la piel con los

tejidos subyacentes. Los fármacos se introducen en esta capa mediante inyección, por el tejido subcutáneo es muy vascular y los absorbe con rapidez.

La grasa subcutánea es hipodermis compuesta de manera predominante por tejido adiposo. Sirve como depósito de energía y aislamiento térmico. No está distribuida con uniformidad; por ejemplo, se encuentra casi ausente en el cuero cabelludo, pero es abundante en mamas, abdomen, cadera y muslos. El grosor de la grasa subcutánea es, en promedio, 8% mayor en mujeres que en hombres, y varía con la edad. Los lactantes y personas de edad avanzada tienen menos grasa subcutánea que el resto y, por tanto, son más sensibles al frío (Saladin, 2013).

2.1.2. Estructuras anexas de la piel

Las estructuras anexas de la piel son el pelo, las uñas y las glándulas cutáneas

2.1.2.1. Pelo

El pelo (figura 5) está presente en la mayor parte de la superficie corporal, excepto las palmas, la superficie palmar de los dedos, los talones y las plantas. En los adultos, se distribuye con mayor densidad en el cuero cabelludo, cejas, axilas (hueco axilar) y alrededor de los genitales externos. El grosor y el patrón de distribución están determinados en su mayor parte por influencias genéticas y hormonales. A pesar de que la protección que ofrece es limitada, el cabello resguarda al cuero cabelludo de sufrir heridas y de los rayos solares y disminuye la pérdida de calor. Las pestañas y las cejas protegen a los ojos del ingreso de partículas extrañas, al igual que el pelo de las fosas nasales y el conducto auditivo externo. Los receptores del tacto (plexos de las raíces pilosas) asociados a los folículos pilosos se activan cada vez que un pelo se mueve, por más leve que sea este movimiento; por lo tanto, el pelo también actúa captando el tacto suave (Tortora y Derrickson, 2006).

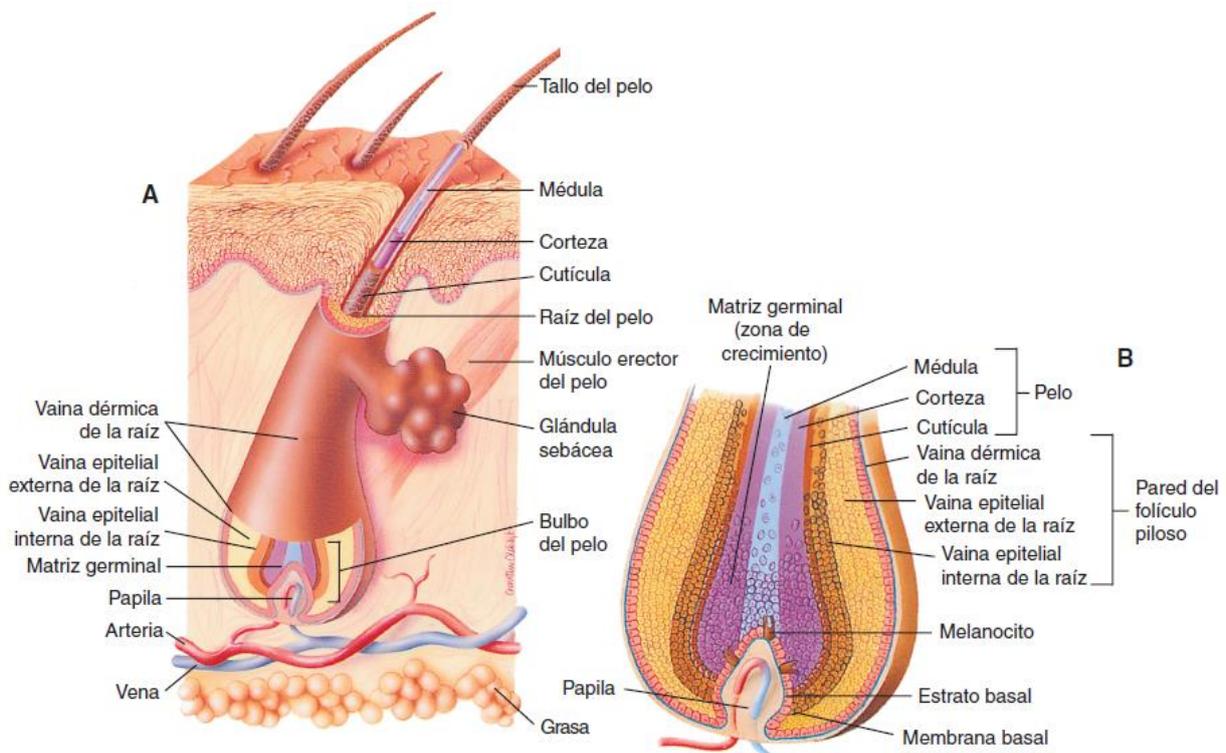


Figura 5. Estructura del pelo y folículos pilosos.

a) Relación entre el folículo piloso y las estructuras afines con las capas epidérmica y dérmica de la piel. **b)** Detalle de la pared del bulbo piloso de un folículo piloso. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.2.2. Uñas

Las uñas (figura 6) son placas de células epidérmicas queratinizadas muertas, densamente agrupadas, que forman una cubierta sólida y transparente sobre la superficie dorsal de las porciones distales de los dedos. Cada uña consiste en un cuerpo, un extremo libre y una raíz. El cuerpo de la uña es la porción visible de ésta; el extremo libre es la parte que puede extenderse más allá de los dedos, y la raíz de la uña es la porción que está oculta en el pliegue de la piel. Por debajo del cuerpo de la uña hay un epitelio y, más profundamente, una capa dérmica. La mayor parte del cuerpo de la uña aparece rosado por el flujo sanguíneo que atraviesa los capilares de la dermis subyacente. El extremo libre es blanco puesto que no hay capilares subyacentes. La parte blanca en forma de media luna en el extremo proximal del cuerpo de la uña se llama lúnula; aparece de color blanco porque el tejido vascular subyacente no es visible a través de una región epitelial espesada en ese sitio. Debajo del extremo libre hay un engrosamiento del estrato córneo llamado hiponiquio, el cual une la uña al extremo de los dedos. El eponiquio o cutícula es una banda angosta de epidermis que se extiende desde los márgenes (bordes laterales) de la uña y se une a éstos. Ocupa el borde proximal de la uña y está formado por estrato córneo. La porción proximal de epitelio profundo de la raíz de la uña es la matriz ungueal donde las células se dividen por mitosis para producir su crecimiento. El crecimiento de la uña tiene lugar por transformación de las células superficiales de la matriz en células ungueales. La velocidad de crecimiento de las uñas está determinada por el índice de mitosis en las células de la matriz, la cual es influenciada por factores como la edad, el estado de salud y el estado nutricional. El crecimiento de la uña también varía de acuerdo con la estación, el momento del día y la temperatura ambiental. El promedio de crecimiento en longitud de las uñas de los dedos de las manos oscila alrededor de 1 mm por semana. El de las uñas de los dedos de los pies un tanto menor. Funcionalmente, las uñas ayudan a asir y manipular objetos pequeños de diferentes maneras, protege al extremo de los dedos de traumatismos y permite rascarnos distintas partes del cuerpo (Tortora y Derrickson, 2006).

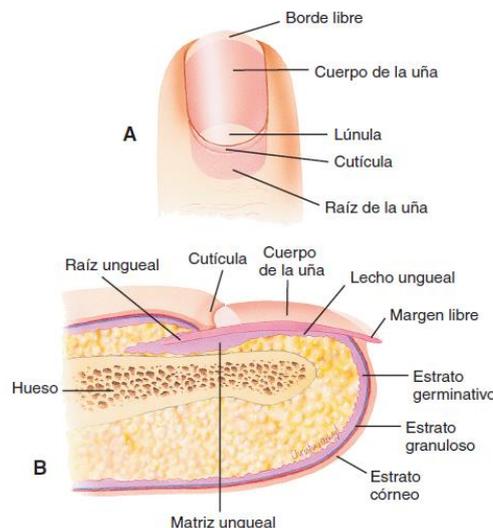


Figura 6. Estructura de las uñas.

a) Uña vista desde arriba. b) Corte sagital de la uña y estructuras relacionadas. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.2.3. Glándulas cutáneas

Las glándulas cutáneas son tres tipos de glándulas microscópicas: sudoríparas, sebáceas y ceruminosas (figura 7).

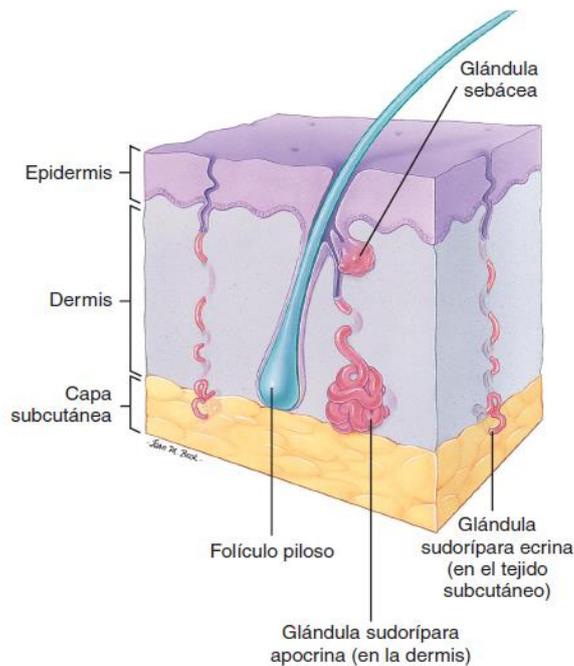


Figura 7. Glándulas cutáneas.

En la piel se observan varios tipos de glándulas exocrinas. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.2.3.1. Glándulas sudoríparas

Las glándulas sudoríparas u odoríferas son las más numerosas de las glándulas cutáneas. Pueden dividirse en dos grupos, ecrinas y apocrinas, según el tipo de secreción, localización y conexiones con el sistema nervioso.

Las glándulas sudoríparas ecrinas son con mucho la más numerosas, importantes y diseminadas en el cuerpo. Son muy pequeñas, con una porción secretora de menos de 0.4 mm de diámetro y están distribuidas por toda la superficie corporal, con excepción de los labios, el conducto auditivo, el glande del pene y los lecho ungueales. Pertenecen al tipo de glándulas simples, tubulares, arrolladas. Funcionan durante toda la vida, produciendo un líquido acuoso, transparente (transpiración o sudor) y rico en sales, amoníaco, ácido úrico, urea y otros desechos. Además de eliminar los desechos, el sudor desempeña un papel al ayudar al cuerpo a mantener una temperatura central constante. Los histólogos calculan que una simple pulgada cuadrada de piel (6.45 cm²) de la palma de las manos contiene aproximadamente 3,000 glándulas sudoríparas. Estas glándulas también son muy numerosas en las plantas de los pies, frente y parte superior del torso. Con una buena lupa, es posible localizar la abertura de los conductos de las glándulas sudoríparas en los pliegues

cutáneos de las palmas y en la piel de la superficie palmar de los dedos. Si bien los conductos de las glándulas ecrinas atraviesan la dermis y la epidermis hasta abrirse en la superficie cutánea, la verdadera porción secretora se localiza en el tejido subcutáneo.

Las glándulas sudoríparas apocrinas están profundamente situadas en la capa subcutánea de la piel del sobaco (axila), la areola de las mamas y la piel pigmentada que rodea el ano. Son mucho más grandes que las glándulas ecrinas y suelen tener unidades secretoras que alcanzan los 5 mm de diámetro o más. Están conectadas con los folículos pilosos y se clasifican como glándulas tubulares, ramificadas, simples. Las glándulas apocrinas crecen y empiezan a funcionar en la pubertad, produciendo una secreción más viscosa y coloreada que las ecrinas. En la mujer, las secreciones de las glándulas apocrinas presentan cambios típicos relacionados con el ciclo menstrual. El olor que suele acompañar a la secreción de las glándulas apocrinas no se debe a la propia secreción, sino a la contaminación y descomposición de la secreción por bacterias cutáneas (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.2.3.2. Glándulas sebáceas

Las glándulas sebáceas segregan grasa para el pelo y la piel. Hay glándulas sebáceas allí donde crece el pelo en la piel, al menos dos para cada pelo. La grasa o sebo mantiene el pelo flexible y la piel suave y dúctil. Actúa como una crema protectora cutánea facilitada por la naturaleza, evitando la excesiva pérdida de agua de la epidermis. Dado que el sebo es rico en sustancias químicas, como triglicéridos, ceras, ácidos grasos y colesterol, que tienen efecto antifúngico, también contribuye a disminuir la actividad fúngica en la superficie cutánea. Esta propiedad del sebo ayuda a proteger a la piel frente a numerosos tipos de infecciones por hongos. Las glándulas sebáceas son glándulas ramificadas simples de tamaños variable y se encuentran en la dermis, excepto en la piel de las palmas de las manos y plantas de los pies. Aunque casi siempre se asocian a los folículos pilosos, algunas glándulas sebáceas especializadas se abren directamente en la superficie cutánea en zonas como el glande del pene, los labios y los párpados. La secreción sebácea aumenta durante la adolescencia, estimulada por las mayores concentraciones de hormonas sexuales en la sangre. Es habitual que el sebo se acumule y agrande algunos de los conductos de las glándulas sebáceas, formando granillos blancos. Con la oxidación, este sebo acumulado se oscurece y forma un comedón (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.2.3.3. Glándulas ceruminosas

Las glándulas ceruminosas son una variedad o modificación especial de las glándulas sudoríparas apocrinas histológicamente, aparecen como glándulas tubulares, arrolladas, simples, con conductos excretores que se abren en la superficie libre de la piel en el conducto auditivo externo o con glándulas sebáceas en el cuello de los folículos pilosos de esta zona. Las secreciones mezcladas de las glándulas sebáceas y ceruminosas forman una sustancia cérea, oscura, denominada cerumen. Aunque cumple una útil finalidad al proteger la piel del conducto auditivo frente a la deshidratación, el exceso de cerumen puede endurecerse y obstruir el oído, provocando pérdida de audición (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3. Funciones de la piel

Las funciones de la piel son fundamentales para mantener la homeostasia y, en consecuencia, para la propia supervivencia. También son variadas. Comprenden procesos tan distintos como la protección, la sensibilidad, el crecimiento, la síntesis de importantes sustancias químicas y hormonas (como la vitamina D), la excreción, la regulación de la temperatura y la inmunidad. Debido a su flexibilidad estructural, la piel permite que el crecimiento y el movimiento corporal tengan lugares sin lesiones.

2.1.3.1. Protección

Las células epiteliales escamosas estratificadas y queratinizadas, que recubren la epidermis, convierten a la piel en una barrera formidable. Protege a los tejidos subyacentes de la invasión por innumerables tipos de microorganismos, impide la entrada de la mayoría de las sustancias químicas nocivas y disminuye la lesión mecánica de las estructuras subyacentes que, por otro lado, podrían dañarse por los traumatismos relativamente menores que se sufren de forma regular. Además de la protección frente a la entrada microbiológica, las amenazas químicas y los traumatismos mecánicos, la piel también nos protege de la deshidratación producida por la pérdida de los líquidos corporales internos y de la entrada no deseada de líquidos procedentes del medio externo. La capacidad del pigmento melanina para defendernos de los efectos nocivos de la exposición excesiva de la luz ultravioleta es otra función protectora de la piel (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.1.1. Película superficial

La capacidad de la piel para actuar como barrera protectora frente a una amplia serie de posibles ataques medioambientales comienza con el correcto funcionamiento de una fina película de material emulsionado que se extiende sobre su superficie. Esa película superficial está producida por la mezcla de restos y secreciones de las glándulas sudoríparas y sebáceas con las células epiteliales que constantemente se desprenden de la epidermis. El desprendimiento de elementos epiteliales de la superficie cutánea se denomina descamación. Las funciones de la película superficial son:

1. Acción antibacteriana y antifúngica.
2. Lubricar.
3. Hidratar la superficie cutánea.
4. Neutralizar los irritantes cáusticos.
5. Neutralizar numerosos tóxicos.

La composición química de la película superficial comprende: 1) aminoácidos, esteroides y fosfolípidos complejos procedentes de la descomposición de las células epiteliales descamadas; 2) ácidos grasos, triglicéridos y ceras del sebo, y 3) agua, amoníaco, ácido láctico, urea y ácido úrico, procedentes del sudor. La composición química específica de la película superficial es muy variable y las muestras tomadas de la piel que cubre una parte del cuerpo tendrán por lo general una “mezcla” de componentes químicos distinta de la de otra zona cutánea. Esta diferencia permite explicar los tipos únicos y localizados de distribución de ciertas afecciones cutáneas y por qué la piel que cubre una zona determinada del cuerpo es a veces más susceptible al ataque de ciertas bacterias u hongos (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.2. Sensibilidad

La colocación difusa de los millones de diferentes receptores sensitivos somáticos que se hallan en la piel permite que ésta actúe como un sofisticado órgano sensorial que recubre por completo la superficie corporal. Los receptores sirven como antenas que detectan estímulos que, finalmente, originan las sensaciones generales o somáticas, incluidas, entre otras, la presión, el tacto, la temperatura, el dolor y la vibración. Cuando estos receptores son activados por sus estímulos respectivos, posibilitan que el organismo responda a los cambios que ocurren tanto en el ambiente externo como en el interno (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.3. Flexibilidad

La contracción de los músculos provoca movimientos determinados que constituyen una de las “características de la vida”. Para que el movimiento corporal se realice sin lesión, la piel debe ser flexible y elástica. Crece a medida que lo hacemos nosotros y muestra elasticidad y capacidad de retroceso, lo cual permite que los cambios en los contornos corporales se lleven a cabo sin laceraciones (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.4. Excreción

El organismo, a través de la función de la piel, y mediante la regulación del volumen y el contenido químico del sudor, puede modificar su volumen líquido total y la cantidad de determinados productos de desecho que se excretan, como ácido úrico, amoníaco y urea. En la mayoría de las situaciones, la piel sólo desempeña un papel menor en la excreción global de los desechos corporales. No obstante, puede convertirse en una función más importante en ciertos estados patológicos o enfermedades (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.5. Producción hormonal (de vitamina D)

El primer paso de la síntesis de vitamina D tiene lugar cuando la piel se expone a la luz ultravioleta (UV). Cuando esto ocurre, las moléculas de una sustancia química denominada 7-dehidrocolesterol, que se halla normalmente en las células de la piel, se convierten en una sustancia precursora llamada colecalciferol. Este producto se transporta a continuación por la sangre hasta el hígado y los riñones, donde se transforma en vitamina D, un compuesto que actúa en diversas reacciones químicas importantes del organismo. En este aspecto, la vitamina D cumple los requisitos que necesita una sustancia para ser considerada una hormona. La melanina de la piel debe ser lo bastante oscura como para proteger a la piel de las lesiones por la radiación UV. Sin embargo, cuando existe demasiada melanina, el cuerpo no podrá sintetizar suficiente vitamina D para una función normal. En este caso se deberá administrar vitamina D exógena para compensar la incapacidad de la piel de fabricar una cantidad suficiente de este compuesto (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.6. Inmunidad

En la piel se hallan células especializadas que se fijan y destruyen microorganismos patógenos y desempeñan un papel destacado en la inmunidad. Además, las células de Langerhans actúan junto con las células T colaboradoras para desencadenar reacciones inmunitarias útiles en determinadas enfermedades (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.7. Homeostasia de la temperatura corporal

Las personas mantienen una temperatura notablemente constante, a pesar de las considerables variaciones de la temperatura ambiental. Este mantenimiento de la temperatura corporal con participación de la piel resulta esencial para la supervivencia y se analiza con cierto detalle. Lo habitual es que la temperatura corporal aumente y descienda muy poco durante el día. Oscila alrededor de un punto, situándose alrededor de los 37°C, aumentando tal vez a 37.6°C al finalizar la tarde y disminuyendo a 36.2°C por la mañana temprano. Esta homeostasia de la temperatura corporal tiene gran importancia porque la supervivencia en estado de salud depende de las reacciones bioquímicas que tienen lugar con ciertos ritmos, y estos ritmos dependen a su vez de un normal funcionamiento enzimático, que está en función de que la temperatura cutánea se mantenga en los estrechos límites de la normalidad. Como es lógico, para mantener una temperatura constante, el cuerpo tiene que equilibrar la cantidad de calor que produce con la que pierde. Ello significa que, si se produce calor extra en el cuerpo, debe perder esta misma cantidad. Evidentemente, si la mayor producción de calor no va seguida muy de cerca por una mayor pérdida, la temperatura corporal aumentará constantemente. Si, por cualquier razón, supera el límite de la normalidad, la piel desarrolla un papel fundamental en la pérdida de calor, gracias a fenómenos físicos de la evaporación, la radiación, la conducción y la convección (Thibodeau y Patton, 2007).

2.1.3.7.1. Producción y pérdida de calor

El calor se produce por un mecanismo, el metabolismo de los alimentos. Dado que los músculos y las glándulas (sobre todo el hígado) son los tejidos más activos, metabolizan más y en consecuencia producen más calor que cualquier otro tejido. Por tanto, el principal determinante de la cantidad de calor que produce el cuerpo es la cantidad de trabajo muscular que realiza. Por ejemplo, durante el ejercicio y el temblor, el metabolismo y la producción de calor aumentan considerablemente; sin embargo, durante el sueño, cuando se desarrolla muy poco trabajo muscular, el metabolismo y la producción de calor disminuyen. Por otro lado, un mecanismo que utiliza el cuerpo para mantener la temperatura interna relativamente constante es regular la cantidad de calor perdido. Aproximadamente el 80% o más de esta transferencia de calor se produce a través de la piel; el resto tiene lugar en las mucosas. Como se muestra en la figura 8, la pérdida de calor se puede regular modificando la perfusión de la piel. Si hay que conservar calor para mantener una temperatura corporal constante, los vasos dérmicos se contraen (vasoconstricción), conservando la mayor parte de la sangre caliente circulante más en el interior del cuerpo. Si hay que aumentar la pérdida de calor para mantener una temperatura constante, los vasos dérmicos se ensanchan (vasodilatación), aumentando el aporte de sangre caliente de los tejidos profundos a la piel. El calor transmitido desde la sangre caliente a la epidermis puede eliminarse a través de los procesos físicos de evaporación, radiación, conducción y convección (Thibodeau y Patton, 2007).

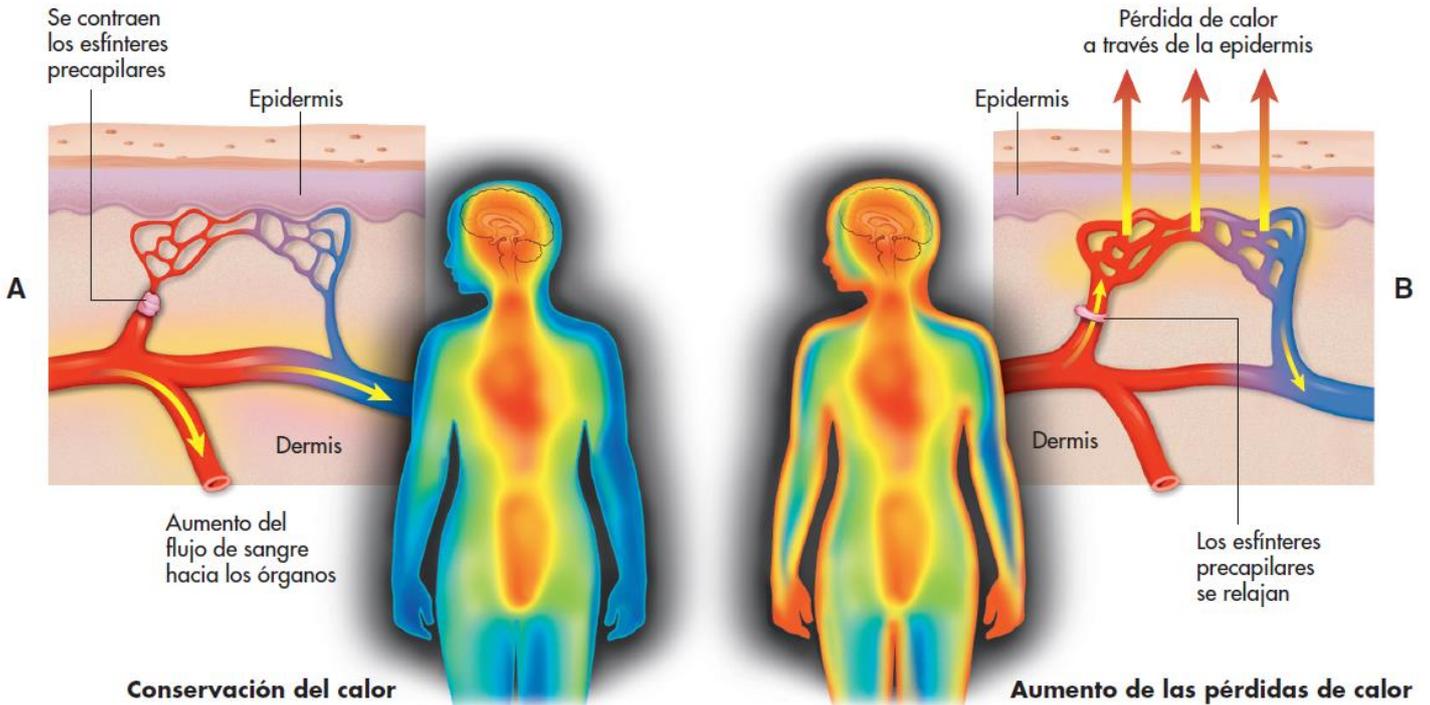


Figura 8. La piel como órgano termorregulador.

Cuando la homeostasia exige que el cuerpo conserve el calor, el flujo sanguíneo de los órganos calientes del interior del cuerpo aumenta. **a)** cuando hay que perder calor para mantener la estabilidad del medio interno, el flujo de sangre a la piel aumenta. **b)** el calor puede perderse por la sangre y la piel por radiación, conducción, convección y evaporación. La cabeza, las manos y los pies son áreas importantes de pérdida de calor. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.1.3.7.2. Regulación homeostática de la pérdida de calor

La función de los vasos cutáneos y de las glándulas sudoríparas tiene que estar cuidadosamente coordinada y debe tener en cuenta, momento a momento, las fluctuaciones de la temperatura corporal. Como muchos mecanismos homeostáticos, la pérdida de calor por la piel está controlada por un asa de retroalimentación negativa (como se muestra en la figura 9). Los receptores de temperatura de una parte del cerebro, denominada hipotálamo, detectan variaciones de la temperatura interna del cuerpo. Si alguna alteración, por ejemplo, el ejercicio aumenta la temperatura corporal por encima del valor establecido de 37°C, el hipotálamo actúa de integrador y envía una señal nerviosa a las glándulas sudoríparas y a los vasos sanguíneos. Éstos (los efectores) responden a la señal y actúan estimulando la pérdida de calor. Es decir, que las glándulas sudoríparas aumentan la excreción de sudor (aumentando la pérdida de calor por evaporación) y los vasos incrementan su diámetro (aumentando la pérdida de calor por radiación y otros medios). Esta situación continúa hasta que se alcanza el punto establecido (Thibodeau y Patton, 2007).

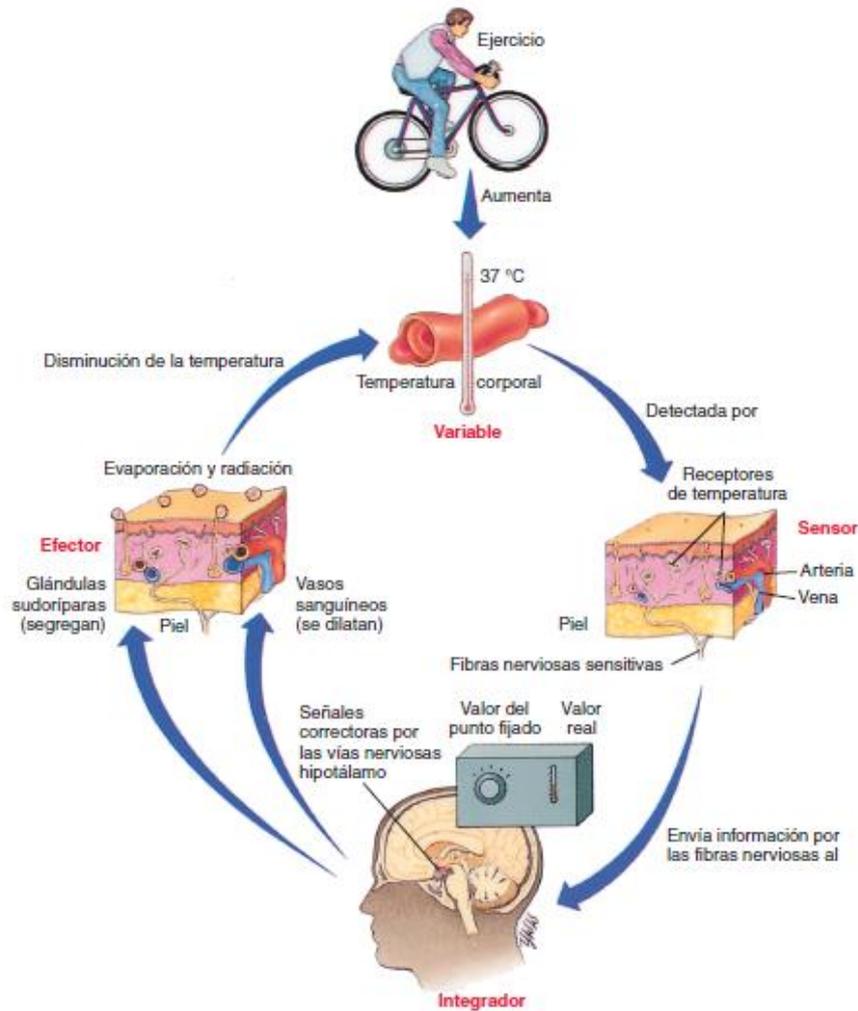


Figura 9. Papel de la piel en la homeostasia de la temperatura corporal.

La temperatura está controlada continuamente por los receptores nerviosos de la piel y otras partes del organismo. Estos receptores envían información al hipotálamo del cerebro, que compara la temperatura real con la temperatura fijada y envía la adecuada señal correctora a los efectores. Si la temperatura real del cuerpo está por encima de la establecida, las glándulas sudoríparas de la piel reciben la señal de aumentar su secreción, estimulando así la evaporación y el enfriamiento. Al mismo tiempo, se indica a los vasos de la dermis que se dilaten, aumentando la radiación de calor por la superficie cutánea. Tomada de Thibodeau, G. y Patton, K., *Anatomía y Fisiología*, 2007.

2.2. SISTEMAS TERAPÉUTICOS TRANSDÉRMICOS

Los sistemas terapéuticos transdérmicos (TTS) o parches transdérmicos son formas farmacéuticas cuya aplicación tópica permite la dosificación de los fármacos que contienen con una cesión continua, a una velocidad programada y durante un periodo de tiempo definido, de forma que se obtenga una acción sistémica o específica sobre un órgano o sistema determinado. Estos sistemas de dosificación son especialmente útiles en tratamientos de larga duración, ya que permiten un minucioso control posológico, con una liberación constante, sostenida y controlada de los principios activos que incorporan. Para ello debe garantizarse que estos sistemas, que actúan como vehículo o soporte del medicamento, favorezcan la liberación del fármaco y su absorción a través de la piel hasta llegar a torrente sanguíneo (Bonet y Garrote, 2015).

Desde el punto de vista galénico, los parches transdérmicos son formas farmacéuticas complejas, integradas básicamente por una capa externa de recubrimiento impermeable que protege la formulación; un reservorio o matriz de principio activo y sustancias promotoras facilitadoras de la absorción del fármaco, incluidas en un entorno que facilite y controle su liberación; una lámina adhesiva que permita su fijación a la piel y otra capa protectora desprendible que deba retirarse antes de su aplicación (figura 10). En su totalidad, estos sistemas complejos deben presentar una excelente adaptabilidad a las condiciones de la piel, del momento y situación de empleo y del tiempo de aplicación. Sus características estéticas (tamaño, forma, color, textura, etc.) ayudan a la aceptación por parte del paciente de estas formas farmacéuticas (Bonet y Garrote, 2015).

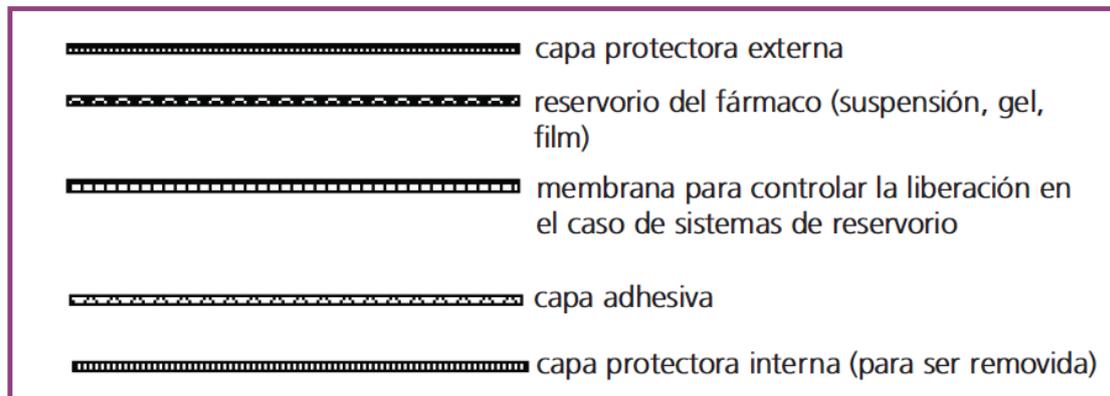


Figura 10. Estructura de un parche transdérmico.

Tomada de Allevato, M.A., *Sistemas terapéuticos transdérmicos*, 2007.

2.2.1. Absorción percutánea

La penetración de un principio activo hasta la circulación sistémica o los tejidos circundantes involucra múltiples procesos: disolución y liberación dentro y desde la formulación, partición dentro y desde la formulación, partición dentro del estrato córneo, difusión a través del estrato córneo, partición desde el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis, difusión a través de la dermis y acceso a la circulación sistémica y/o tejidos circundantes (Allevato, 2007). La absorción percutánea está relacionada con la transferencia de principio activo desde la superficie de la piel a través del estrato córneo, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de piel hasta llegar a la microcirculación. La

penetración molecular a través de las diferentes regiones de la piel está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas (Rodríguez, 1998).

La difusión de la sustancia activa está limitada, además, por la oposición que ofrece la microvasculatura a la liberación sistémica del principio activo. Existen otros factores que controlan la penetración o velocidad de permeación, entre ellos está la densidad del medio de difusión, que es inversamente proporcional al coeficiente de distribución. La estructura molecular y el orden en que se encuentra dispuesto el medio de difusión también influyen de manera significativa. El paso limitante en la absorción percutánea tiende a ser la difusión a través del estrato córneo (Rodríguez, 1998).

En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende de su peso molecular, del tamaño molecular, del grado de ionización y solubilidad, el equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad y su grado de ionización (tabla 1).

Tabla 1. Capacidad de penetración transdérmica.

Grado de penetración	Características
Pobre	Polímeros de alto peso molecular y macromoléculas (proteínas o polisacáridos).
Pobre	Electrolitos solubles en agua (sodio, cloro).
Pobre	Sustancias solubles en agua (glucosa, urea).
Buena	Sustancias lipo e hidrosolubles.
Excelente	Sustancias liposolubles, no polares, bajo peso molecular.

Modificada de Allevato, M.A., Sistemas terapéuticos transdérmicos, 2007.

2.2.1.1. Vías de absorción percutánea

El paso de sustancias a través de la piel puede llevarse a cabo mediante varias vías, las cuales se mencionan a continuación (Clarí Pons, 2004):

1. **Transepidérmica:** a través de la epidermis, este recorrido es lento, largo, difícil y se presenta en dos formas (figura 11):
 - a. **Transcelular:** la sustancia atraviesa los queratinocitos de las distintas capas del estrato córneo, alterando estructuras hidrófilas y lipófilas.
 - b. **Intercelular:** de naturaleza fundamentalmente lipídica, actualmente se piensa que esta es la vía mayoritaria. La sustancia difunde a través de los espacios intercelulares.
2. **Transapendicular:** a través de los folículos pilosos y glándulas sudoríparas (figura 11):
 - a. **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 su tendencia a formar enlaces con puntos activos de la queratina, reduciendo su velocidad de transporte. Moléculas grandes con algún grupo polar como los esteroides son las que más la utilizan; no obstante, esta ruta constituye menos del 1% de la superficie corporal.
 - b. **Transudorípara:** se ha visto que compuestos hidrófilos, con bajo peso molecular y algunos electrolitos, difunden en el seno del líquido acuoso que contiene los conductos sudoríparas 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.

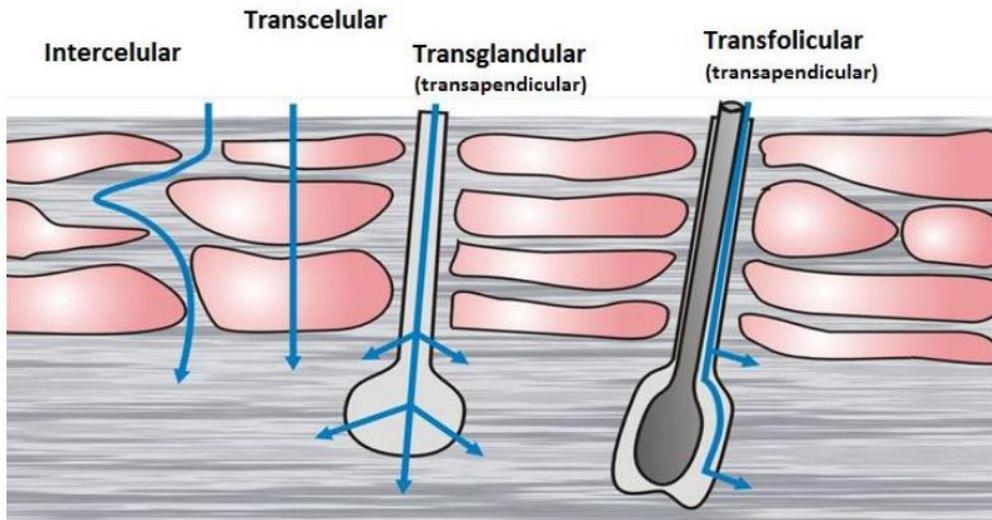


Figura 11. Vías de absorción percutánea.

En la figura se observan las distintas rutas por las cuales tiene lugar el paso de sustancias a través de la piel; las rutas intercelular y transcelular corresponden a la vía transepidérmica y las rutas transglandular (o transudorípara) y transfolicular corresponden a la vía transapendicular. Tomada de González, L., *Desarrollo de formulaciones transdérmicas*, 2017.

2.2.1.2. Modelos matemáticos de aplicación a la absorción transdérmica

Dado que el transporte de moléculas a través de la piel, bien a través del estrato córneo o de los órganos anexos, ocurre por difusión pasiva es posible aplicar las leyes de Fick para estudiar el proceso (Clarí Pons, 2004).

La difusión de compuestos a través de una membrana o cualquier barrera homogénea se describe mediante la primera y segunda Ley de Fick. La primera ley, (ecuación 1.1) indica que el flujo de un compuesto, J , por unidad de longitud recorrida, x , es proporcional al gradiente de concentración, ΔC , 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 (figura 12), 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
$$J = D \cdot \frac{C_{m1} - C_{m2}}{h}$$

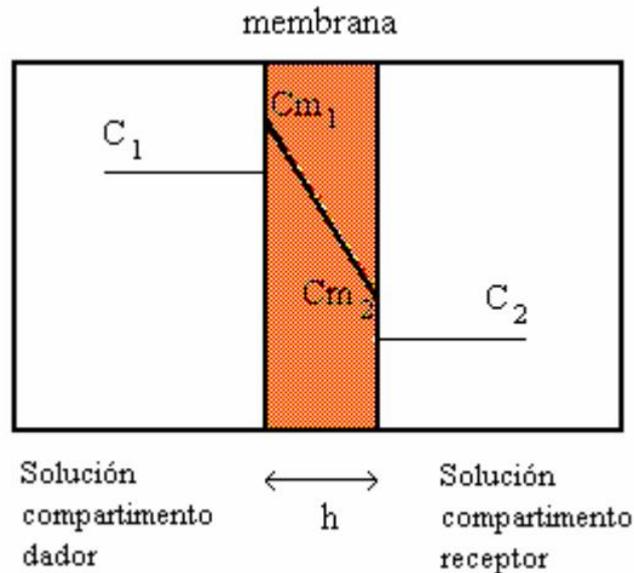


Figura 12. Perfil de concentraciones a través de una membrana ideal en el estado estacionario. Tomada de Clarí, M.A., Estudio “in vitro” e “in vivo” de la absorción percutánea de la bemiparina: métodos de valoración, 2004.

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 compartimientos 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
$$C_{m1} = C_1 \cdot P_1$$

Ecuación 1.4
$$C_{m2} = C_2 \cdot P_2$$

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
$$J = D \cdot \frac{C_1 \cdot P_1 - C_2 \cdot P_2}{h}$$

Si se consideran las soluciones de ambos compartimientos 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
$$J = D \cdot \frac{(C_1 - C_2) \cdot P}{h}$$

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 compartimiento receptor no alcanza el 10% de su solubilidad en el medio líquido de dicho compartimiento, 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 compartimiento 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 a 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 compartimiento 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 del tiempo (figura 13), 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 , (figura 13). 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 compartimiento receptor en función del tiempo.

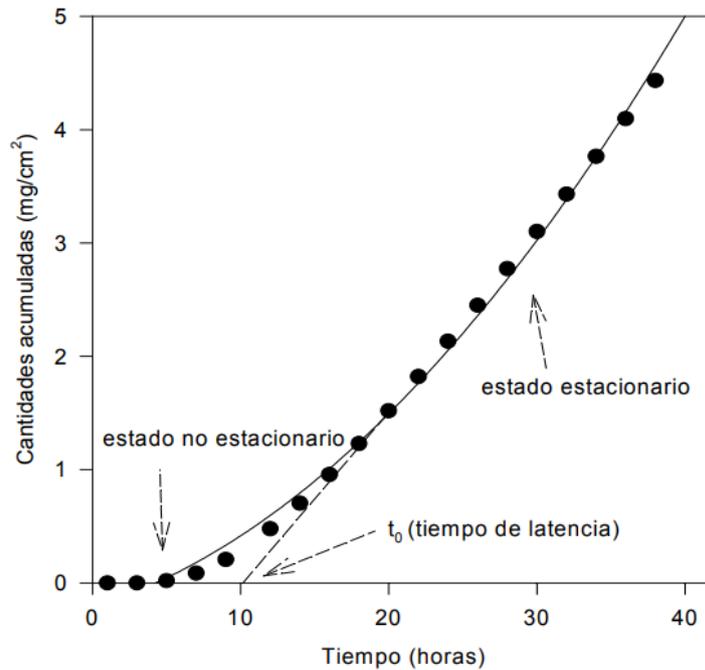


Figura 13. Perfil representativo de las cantidades acumuladas en el comportamiento receptor en función del tiempo.

Tomada de Clarí, M.A., *Estudio "in vitro" e "in vivo" de la absorción percutánea de la bemiparina: métodos de valoración*, 2004.

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

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

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.

Los términos $P \cdot h$ y D/h^2 son sustituidos en la ecuación 1.10 por P_1 y P_2 , respectivamente y calculados utilizando un programa no lineal por mínimos cuadrados. El uso de la ecuación 1.10 mediante la regresión no lineal de las cantidades de soluto que difunden en función del tiempo, proporciona una visión global del proceso, desde el tiempo cero hasta el último punto experimental.

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

2.2.1.3. Factores implicados en la absorción transdérmica

En la absorción percutánea son muchos los factores implicados, de tal forma que pueden clasificarse en dos grandes grupos.

2.2.1.3.1. Factores biológicos

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

1. La **edad**: es un factor importante a tener en cuenta, ya que se ha podido comprobar que la permeabilidad de la piel en individuos jóvenes es mayor que en edades más avanzadas. En estudios de absorción transdérmica de fenobarbital realizados en fetos, recién nacidos y adultos, se observa que el flujo del fármaco disminuye a media que se incrementan las semanas de gestación y, a su vez, es mayor en recién nacidos que en adultos (Bonima et. al., 1993).
2. El **sexo**: aunque el contenido lipídico de la piel en determinadas zonas del cuerpo es distinto en hombres y mujeres, no parece ser un factor determinante en la penetración cutánea de fármacos (Mc Cormick y Rahman, 1991).
3. La **raza**: también puede ser causa de diferencias en la absorción percutánea de medicamentos. De este modo, la piel de individuos de raza negra presenta una menor permeabilidad debido a la mayor densidad de la misma (Weingand et. al., 1991).
4. La **zona de aplicación**: resulta fundamental ya que dependiendo de la zona el espesor del estrato córneo varía, siendo éste mayor en las zonas del cuerpo expuestas a mayor roce, como las palmas de las manos y las plantas de los pies (Treffel et. al., 1994).
5. El **flujo sanguíneo**: también tiene trascendencia importante, pues al aumentar el mismo se reduce el tiempo de permanencia de las sustancias en la dermis y aumenta el gradiente de concentración de las mismas, favoreciendo su difusión desde la superficie cutánea hacia la dermis. Cuando por alguna causa el flujo disminuye y no puede drenar la sustancia a medida que penetra, este factor se convierte en el factor limitante de la absorción del fármaco. De esta forma, la utilización de vasoconstrictores puede reducir la absorción de otras sustancias administradas concomitantemente (Barry, 1983).
6. La **hidratación del estrato córneo**: es otro factor importante sujeto a posibles variaciones que tiene como consecuencia un incremento en la permeabilidad, particularmente importante cuando se trata de moléculas polares, como el glicerol (Williams y Barry, 2004).
7. La **temperatura**: un incremento en la temperatura de la piel tiene como consecuencia una mayor penetración de las moléculas del fármaco, debido al aumento del coeficiente de difusión de las mismas (Chang y Riviere, 1991).

8. Las **patologías**: diversas anormalidades (como ocurre en algunas dermatitis, eczemas, psoriasis, etc.) cursan con modificaciones de las propiedades de la piel y, por tanto, también ocasionan alteraciones en el grado de permeabilidad de la misma. En algunas enfermedades metabólicas, como la diabetes, que originan alteraciones en las membranas basales epidérmicas y en los capilares cutáneos, la difusión de sustancias se encuentra favorecida (Braverman y Keh-Yen, 1984).

2.2.1.3.2. Factores fisicoquímicos

De los aspectos relacionados con el permeante, cabe resaltar como más relevantes en el proceso de absorción: el coeficiente de difusión, el coeficiente de reparto y, en el caso de fármacos ionizables, también debe considerarse la influencia del pH.

1. El **coeficiente de difusión**: la difusión de una molécula a través de una membrana viene determinada por la resistencia que oponga el medio a su migración. Esta resistencia depende fundamentalmente de las características del penetrante, de las posibles interacciones con moléculas del vehículo o de la membrana, y de la viscosidad y de la temperatura del medio. Si se asume que las moléculas del penetrante son similares entre sí en cuanto a tamaño, y que adoptan una conformación más o menos esférica, el coeficiente de difusión, **D**, se puede calcular aplicando la ley de Stokes-Einstein (Flynn y Yalkowsky, 1972):

$$\text{Ecuación 1.14} \quad D = \frac{K \cdot T}{6 \cdot \pi \cdot r \cdot \eta}$$

donde **K** es la constante de Boltzmann (constante que relaciona temperatura absoluta y energía, $1.3806 \times 10^{-23} \text{ JK}^{-1}$), **T** la temperatura absoluta, **r** el radio de la molécula y **η** la viscosidad del medio. A partir de esta ecuación se puede deducir, como demuestran los estudios realizados por Marzulli, que a medida que aumenta el tamaño o peso molecular de la sustancia, la difusión tendrá lugar con una mayor dificultad (Marzulli et. al., 1965). Sin embargo, esto no es cierto en todos los casos, ya que generalmente un incremento del peso molecular se traduce en un aumento del carácter lipófilo de la molécula, y es este factor el de mayor influencia en la capacidad de la difusión de las sustancias a través de la membrana; como demuestran los resultados obtenidos por Scheuplein para la serie homóloga de los alcoholes alifáticos (Scheuplein y Blank, 1973). Por otro lado, moléculas que presentan grupos polares, como es el caso de los esteroides antiinflamatorios, pueden formar enlaces con los componentes de la membrana, que conduce a la obtención de constantes de difusión pequeñas.

2. El **coeficiente de reparto**: la lipofilia de un compuesto es un factor relevante en la absorción transdérmica del mismo. Se trata de un parámetro de gran importancia, ya que a la hora de establecer correlaciones absorción-lipofilia, la afinidad relativa que presenta un soluto por el medio acuoso que lo rodea y la membrana cutánea marca su paso a través de la piel (Beetge et. al., 2000). Para la determinación del coeficiente de reparto (**P**) se recurre a un sistema bifásico, de modo que:

$$\text{Ecuación 1.15} \quad P = C_d / C_a$$

en donde C_d y C_a es la concentración de la sustancia en el disolvente orgánico y en el agua, respectivamente. Existen estudios que demuestran que cuanto mayor lipofilia presenta el compuesto mayor será su permeabilidad a través de la piel. Sin embargo, un coeficiente de reparto elevado no siempre es indicativo de una mayor permeabilidad, ya que sustancias altamente lipófilas pueden acumularse en el estrato córneo, con lo que se ve dificultada su posterior absorción (Cross et. al., 2003).

3. El **pH**: puesto que muchos medicamentos son ácidos y bases débiles, es importante tener en cuenta la influencia del pH, ya que la proporción en la que se encuentran ionizados depende tanto del pK_a del compuesto como del pH del líquido biológico en el que se encuentra el fármaco (Grouthamel et. al., 1971). Se ha podido observar que la forma no ionizada de un fármaco presenta un mayor coeficiente de reparto lípido-agua que la correspondiente forma ionizada, por lo que cabría esperar una mayor permeabilidad en el estrato córneo para la fracción no ionizada. Sin embargo, la penetración de las especies ionizadas a través de la piel es posible y, por tanto, no se puede considerar despreciable.

2.2.2. Clasificación de los sistemas terapéuticos transdérmicos

Los parches medicamentosos que actúan facilitando el transporte pasivo de fármacos a través de la piel, lo hacen mediante su difusión por los espacios intercelulares y a favor de un gradiente de concentración. Las características fisicoquímicas del medicamento, de los excipientes y del propio estrato córneo serán los elementos limitadores tanto de la difusión como de la penetración del activo farmacéutico (Allevato, 2007). Según el tipo de reservorio y el control de la liberación del principio activo, encontramos distintos tipos de parches transdérmicos (figura 14):

- **Parches transdérmicos tipo reservorio:** el fármaco se dispone en un reservorio o depósito, liberándose a través de una membrana polimérica porosa de permeabilidad selectiva, controlando de este modo la liberación del principio activo. Los distintos modelos difieren en el tipo de membrana que permite la difusión del principio activo.
- **Parches transdérmicos tipo matricial:** el principio activo está incluido uniformemente en una matriz polimérica hidrofílica o hidrofóbica, a partir de la cual se libera por un proceso de difusión, siendo la diferencia principal con el modelo anterior la no existencia de una membrana semipermeable de control. En este caso el control de la liberación depende básicamente de los excipientes utilizados en la formulación de la matriz polimérica.
- **Parches transdérmicos 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.
- **Parches transdérmicos de difusión controlada mediante micro reservorios:** el fármaco está suspendido en una solución soluble en agua, la cual es homogeneizada en un polímero lipofílico que forma microesferas. El mismo se aplica bajo una lámina oclusiva e impermeable. La liberación de los

principios activos está controlada por los compartimientos del fluido y del polímero.

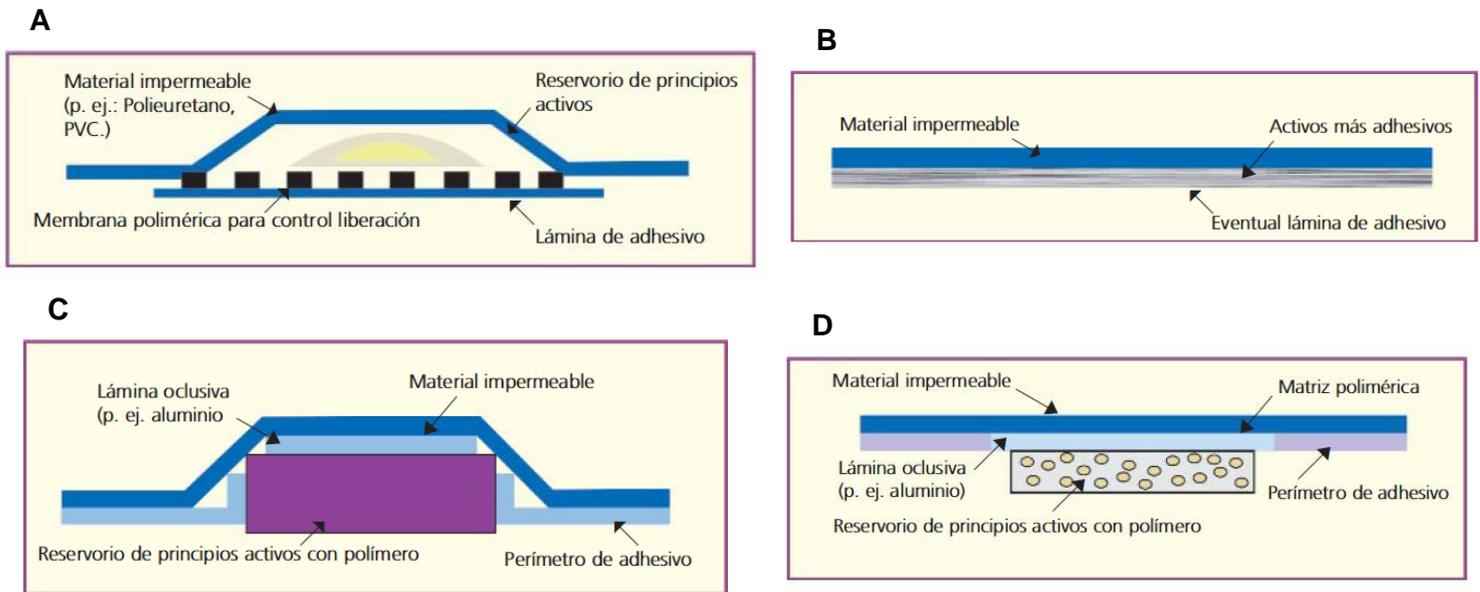


Figura 14. Sistemas de diseño de parches transdérmicos.

En la figura se observan los distintos tipos de diseño para la elaboración de parches transdérmicos: **a)** sistemas tipo reservorio, **b)** sistemas tipo matriz, **c)** sistemas de difusión controlada vía matriz y **d)** sistemas de difusión controlada mediante micro reservorios. *Tomada de Allevato, M.A., Sistemas terapéuticos transdérmicos, 2007.*

Los parches transdérmicos también se pueden clasificar de acuerdo al tipo de transporte de fármaco a través de la piel en (Allevato, 2007):

- **Sistemas de transporte transdérmicos pasivos:** el transporte pasivo de fármacos a través de la piel se efectúa mediante la difusión en función de un gradiente de concentración como fuerza motora. Penetran por difusión pasiva dependiendo de la interacción de los fármacos, la piel y los excipientes. Las sustancias penetradoras pueden concentrarse en el estrato córneo o bien penetrar a la epidermis de donde difunden a la dermis y desde allí más profundamente hacia los tejidos locales o introducirse a la microcirculación, incorporándose al flujo sanguíneo para un efecto sistémico. Los sistemas transdérmicos pasivos pueden potenciarse mediante la oclusión con el mismo o con sustancias oclusivas.
- **Sistemas de transporte transdérmicos activos:** los parches activos acoplan a su sistema una serie de métodos, ya sean físicos o químicos, para incrementar la permeación de los fármacos a través de la piel, a la vez que permiten una liberación controlada.

2.2.3. Agentes promotores de la permeación cutánea

La piel constituye una barrera de permeabilidad importante presentando dificultades para la administración transdérmica de agentes terapéuticos, ya que pocos fármacos poseen las características requeridas para permear a través del estrato córneo en cantidades suficientes para alcanzar una concentración terapéutica de manera sistémica. Con el fin de aumentar la capacidad de penetración de los fármacos a través de la piel se han investigado, desarrollado y patentado numerosas

metodologías, las cuales pueden ser subdivididas en promotores químicos y físicos (Escobar Chávez et. al., 2012).

2.2.3.1. Promotores químicos de absorción transdérmica

Los promotores químicos de absorción transdérmica son sustancias químicas de diversa naturaleza 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. Por tanto, pueden actuar como promotores de la absorción transdérmica (Moral, 2017). Las ventajas principales de los promotores o mejoradores químicos son que pueden incorporarse a un parche convencional o una formulación tópica, son típicamente de bajo costo y no requieren la complejidad de un dispositivo alimentado por baterías.

Un promotor de la penetración cutánea debe presentar las siguientes características:

- Ser inerte y estable desde el punto de vista farmacológico, físico y químico.
- Ser potente, con actividad específica y producir efectos reversibles en la piel (cuando se elimina de la piel, las propiedades de barrera deberían regresar rápidamente y por completo a la normalidad).
- Ser compatible con el fármaco y el resto de excipientes de la formulación.
- No debe ser irritante, alergénico ni fototóxico.
- Poseer buenas características organolépticas.
- Producir su efecto rápidamente y con una duración predecible y reproducible.
- Ser unidireccional: permitir que el fármaco se introduzca en el cuerpo, evitando la pérdida de materiales endógenos del cuerpo.

Los promotores químicos de absorción transdérmica se pueden clasificar de acuerdo a la teoría general Lipid-Protein-Partitioning en (Moral, 2017):

- a) Acción sobre los lípidos:** el promotor interacciona con la estructura lipídica que rodea los corneocitos, aumentando la difusión del principio activo vía intercelular. Esta acción puede producirse por la interacción del promotor 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.
- b) Acción sobre las proteínas:** los promotores interaccionan con la queratina en los corneocitos abriendo la densa estructura proteica, haciéndola más permeable y aumentando el coeficiente de difusión de los principios activos. Aunque la ruta intracelular no es normalmente muy importante en la penetración de las sustancias en piel, reducciones drásticas a la resistencia de esta ruta podrían abrir un camino alternativo.
- c) Acción sobre el coeficiente de reparto:** muchos solventes penetran en el estrato córneo cambiando sus propiedades de solución, por lo cual aumenta el reparto de una segunda molécula dentro de la capa córnea (un principio activo, un copromotor o un cosolvente).

La clasificación de los promotores químicos se basa frecuentemente en la clase química a la que pertenecen los compuestos. La tabla 2 muestra las principales clases de promotores químicos en función de su estructura química:

Tabla 2. Clasificación de los promotores químicos de absorción cutánea.

Clase química	Compuestos
Agua	Agua
Sulfóxidos y similares	Dimetilsulfóxido (DMSO), dodecilmetilsulfóxido
Ureas	Urea
Pirrolidonas y derivados	N-metil-2-pirrolidona, 2-pirrolidona
Azone® y derivados	Azone® (1-dodecilazacicloheptan-2-ona)
Derivados del dioxolano	SEPA® (“Soft Enhancement of Percutaneous Absorption”)
Tensioactivos	
• Aniónicos	Lauril sulfato sódico
• Catiónicos	Bromuro de cetiltrimetil amonio
• No iónicos	Monolaurato de sorbitano, polisorbato 80
• Zwitteriónicos	Sulfato de dodecildimetilamoniopropano
Terpenos	Mentol, limoneno
Alcoholes	
• Alcanoles	Etanol
• Alcoholes grasos	Alcohol caprílico
• Glicoles	Propilenglicol
Ácidos grasos	Ácido oleico, ácido undecanoico, ácido decenoico

Modificada de Moral, F.E., *Desarrollo de formulaciones transdérmicas*, 2017.

2.2.3.2. Promotores físicos de absorción transdérmica

Las innovaciones en el área de sistemas transdérmicos incluyen la incorporación de métodos físicos (corriente eléctrica, voltaje, calor, radiofrecuencia, campos magnéticos, ultrasonido) para incrementar el flujo de fármacos a través de la piel a la vez que permiten liberación a demanda o controlada. La mayoría de estos métodos se basa en la aplicación de corrientes y/o campos eléctricos para facilitar el pasaje, a través de la piel, de macromoléculas biológicamente activas (ADN, proteínas y péptidos). Con estas nuevas tecnologías se amplía la lista de principios activos adaptables a la administración transdérmica y se reducen las limitaciones relacionadas con peso y tamaño molecular, dosis, pH, etc. además, estos métodos pueden combinarse para obtener mejores resultados. Algunos ejemplos de estos métodos físicos se mencionan a continuación (Allevato, 2007)

2.2.3.2.1. Sonoforesis (ultrasonido)

La sonoforesis puede definirse como el transporte de fármacos a través de la piel mediante la aplicación de ondas sonoras a frecuencias de 20 kHz – 16 MHz. Las ondas sonoras se producen en respuesta a un impulso eléctrico permitiendo la conversión de energía eléctrica en energía mecánica o vibracional. Los ultrasonidos requieren de un medio conector que permita una eficiente transferencia de energía de los ultrasonidos a la superficie de la piel (Escobar Chávez et. al., 2012).

Los mecanismos propuestos por los cuales el ultrasonido afecta tejidos y células incluyen efectos térmicos y efectos de cavitación (figura 15) (Alkilani et.al., 2015).

- **Efectos térmicos:** la absorción de la energía ultrasónica lleva al calentamiento del tejido, lo cual provoca que se incremente la fluidez de los lípidos del estrato córneo y por consiguiente la difusividad molecular.
- **Efectos cavitatorios:** los pulsos de las ondas ultrasónicas producen burbujas cavitarias en las capas lipídicas permeabilizando temporalmente la piel, abriendo canales a través de las células cutáneas. Cuando cesa la acción de

los pulsos de ultrasonido, los lípidos se reordenan rápidamente y la piel recobra su semipermeabilidad. El desordenamiento de la bicapa lipídica inducido por cavitación es la causa más importante para el incremento de transporte transdérmico.

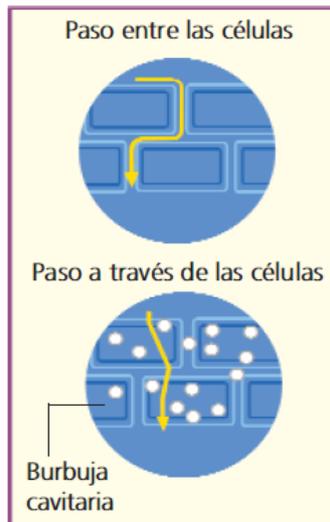


Figura 15. Penetración de moléculas grandes mediante ultrasonido.
 Tomada de Allevato, M.A., *Sistemas terapéuticos transdérmicos*, 2007.

2.2.3.2.2. Iontoforesis

La iontoforesis consiste en la aplicación de una corriente de baja densidad y baja tensión (típicamente 0.5 A/cm^2) a través de un circuito eléctrico constituido por dos depósitos de fármacos (ánodo y cátodo) depositados sobre la superficie de la piel. Durante la aplicación de la corriente, el fármaco es repelido por el electrodo correspondiente y empujado a través del estrato córneo (figura 16). Una sustancia puede pasar a través de la piel por dos mecanismos diferentes (Escobar Chávez et. al., 2012):

- **Electromigración:** en este mecanismo, los iones son repelidos por el electrodo de la misma carga y atraídos por el electrodo de la carga opuesta.
- **Electroósmosis:** las sustancias neutras se transportan con el flujo del disolvente (flujo electro osmótico).

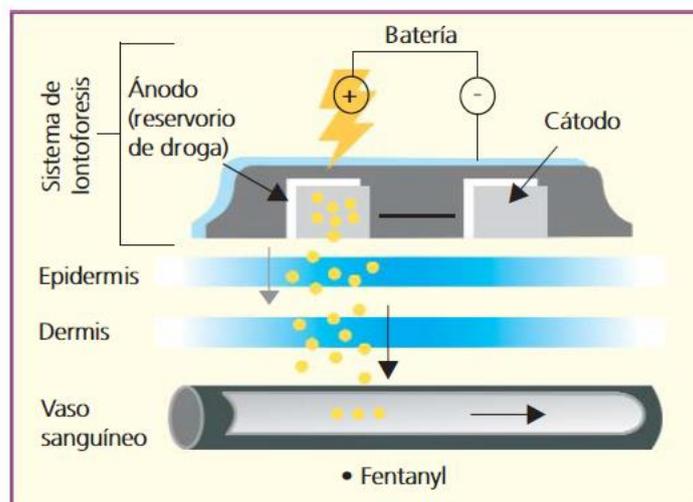


Figura 16. Sistema transdérmico iontoforético.

Tomada de Allevato, M.A., *Sistemas terapéuticos transdérmicos*, 2007.

2.2.3.2.3. Electroporación

Consiste en la aplicación de microimpulsos electromagnéticos de corriente eléctrica de alto voltaje (50 – 500 V durante intervalos de tiempo pequeños, 10 μ s – 100 ms), implica la creación transitoria de poros acuosos en las bicapas lipídicas del estrato córneo (figura 17). Actúa alterando el potencial de membrana de la célula dilatando vías ya existentes, formando “poros” en las membranas y “poros acuosos”, a través de las membranas lipídicas celulares (Sur Milner, 2008). Existen dos tipos de electroporación:

- **Electroporación irreversible:** la permeabilización de la membrana conduce a la muerte celular debido a una magnitud que puede causar una alteración severa de la homeostasis que finalmente puede resultar en muerte celular, ya sea necrótica o apoptótica.
- **Electroporación reversible:** el impulso eléctrico sólo provoca un aumento temporal de la permeabilidad y la célula sobrevive.

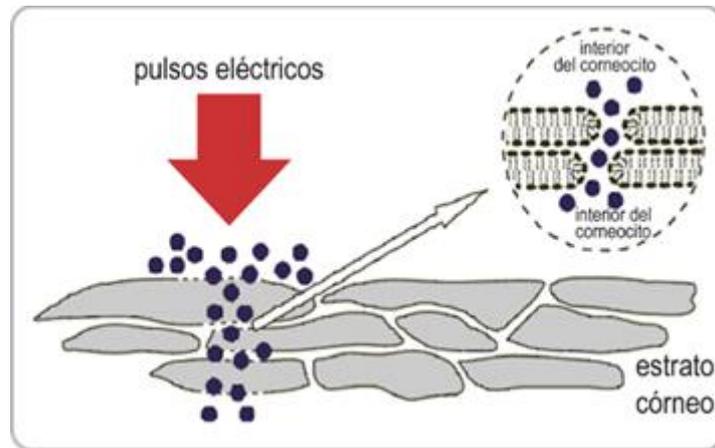


Figura 17. Mecanismo de la electroporación en un sistema transdérmico.

La electroporación utiliza los impulsos electromagnéticos para mejorar la penetración de los principios activos a través de la piel por medio de la apertura transitoria de los microcanales de la membrana celular. Tomada de Ayala, M.R., *Electroestimulación muscular*, 2017.

2.2.3.2.4. Radiofrecuencia

La radiofrecuencia implica la colocación de un electrodo fino similar a una aguja directamente en la piel y la aplicación de una corriente alterna de alta frecuencia de entre 10 kHz hasta 900 MHz. En este mecanismo, se generan altas temperaturas para la ablación del estrato córneo, lo que provoca la evaporación del agua y la formación de microcanales en la piel (figura 18) (Rodríguez et. al., 2016).

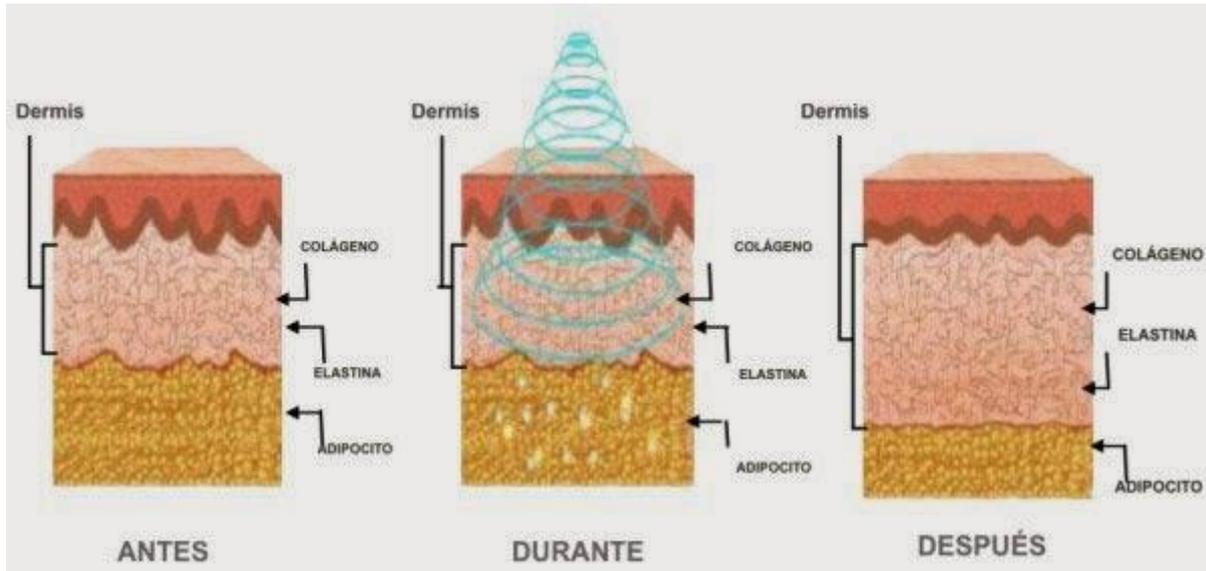


Figura 18. Mecanismo de la radiofrecuencia en un sistema transdérmico.

La aplicación de corrientes de alta frecuencia sobre la piel permite la administración transdérmica de una amplia variedad de fármacos hidrofílicos y macromoléculas, utilizando un dispositivo de bajo costo y sin procedimientos invasivos. Tomada de Quiroga, P., *Tratamientos de radiofrecuencia*, 2018.

2.2.3.2.5. Microagujas

Las microagujas son un dispositivo con una multiplicidad de agujas de tamaño micrométrico que están unidas a un soporte base, cuya longitud está comprendida entre 100 y 1000 μm y son elaboradas con una variedad de materiales, tales como silicio, metal, cerámica y polímeros biodegradables. Son sistemas de administración mínimamente invasivos pues sus puntas afiladas son lo suficientemente cortas como para limitar el contacto con los nervios (lo que impide la sensación de dolor) y son lo suficientemente estrechas como para inducir un trauma mínimo (reduciendo el riesgo de desarrollar infecciones después de la inserción); por lo tanto, resulta una alternativa eficaz, rentable y amigable para el paciente. Este método combina la eficacia de las agujas de inyección convencionales con la conveniencia de parches transdérmicos, al tiempo que minimiza las desventajas de estos métodos de administración (Earle y Subramanyam, 2014).

La forma y la geometría de las microagujas es crítica durante el diseño y la fabricación, ya que deben 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. 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 (figura 19). Se ha reportado que los microcanales residuales después de la remoción de las microagujas es del tamaño de micras y se cierran completamente después de la aplicación de las microagujas cuando los microcanales no están bajo oclusión o después de la eliminación del parche transdérmico (Alkilani et.al., 2015).

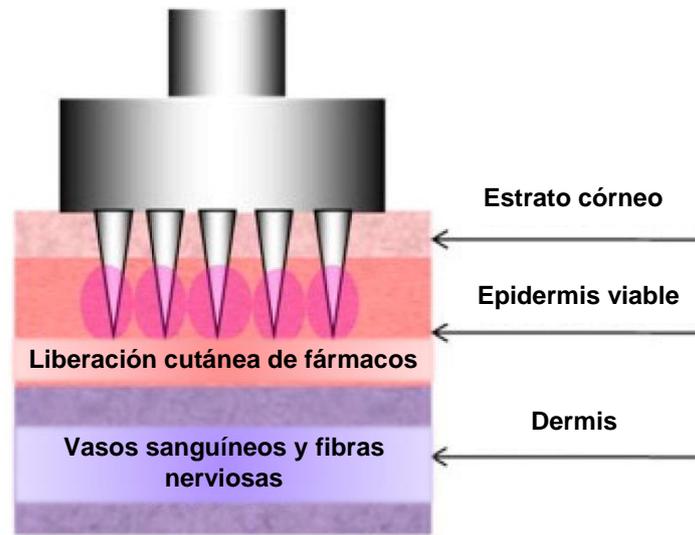


Figura 19. Representación esquemática del mecanismo de acción de un dispositivo de matriz de microagujas.

El dispositivo perfora el estrato córneo, proporcionando acceso directo de los medicamentos hacia la epidermis viable subyacente, sin llegar a los vasos sanguíneos y fibras nerviosas ubicadas en la dermis. Tomada de Alkilani, A.Z., McCrudden, M. y Donnelly, R.F., *Transdermal drug delivery: innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum*, 2015.

El mecanismo de administración del fármaco depende del diseño de las microagujas, distinguiéndose los siguientes tipos (figura 20):

- **Microagujas sólidas:** elaboradas de metal, silicón, titanio, vidrio o polímeros biodegradables. Son utilizadas como pretratamiento, es decir, se aplican y retiran para la posterior aplicación de un parche transdérmico que contiene el fármaco. Actúan mediante difusión percutánea del fármaco a través de los microcanales creados en la piel. El suministro depende de la difusión del fármaco (en forma vertical o lateral) (Earle y Subramanyam, 2014).
- **Microagujas recubiertas:** este tipo de microagujas se insertan en la piel en un tiempo corto (aproximadamente 1 minuto), tiempo durante el cual el fármaco se disuelve en las capas de la piel y después se retira y actúan mediante la administración intradérmica por recubrimiento directo con fármaco sobre las microagujas sólidas, de manera que la liberación es independiente de la difusión (Earle y Subramanyam, 2014).
- **Microagujas biodegradables:** este tipo de microagujas están elaboradas con polímeros biodegradables y son cargadas con fármaco durante el proceso de fabricación. Después de la inserción en la piel, las puntas de las microagujas se biodegradan en las capas de la piel liberando el fármaco, el cual posteriormente difunde fácilmente a través de la misma (Earle y Subramanyam, 2014).
- **Microagujas hinchables:** los materiales de las matrices de microagujas son polímeros reticulados. Las microagujas hinchables no contienen ningún fármaco, pero rápidamente absorben el líquido intersticial de la piel durante su inserción y así formar vías continuas de hidrogel. Tales microagujas resisten el cierre de los microcanales hasta que se eliminan totalmente, y la liberación controlada de fármaco se da a partir de la densidad de reticulación del sistema de hidrogel en lugar del estrato córneo (Earle y Subramanyam, 2014).
- **Microagujas huecas:** son utilizadas para la inyección de fármacos en solución y actúan mediante micro inyección intradérmica suministrando el fármaco en

solución a través de los huecos en las microagujas (Earle y Subramanyam, 2014).

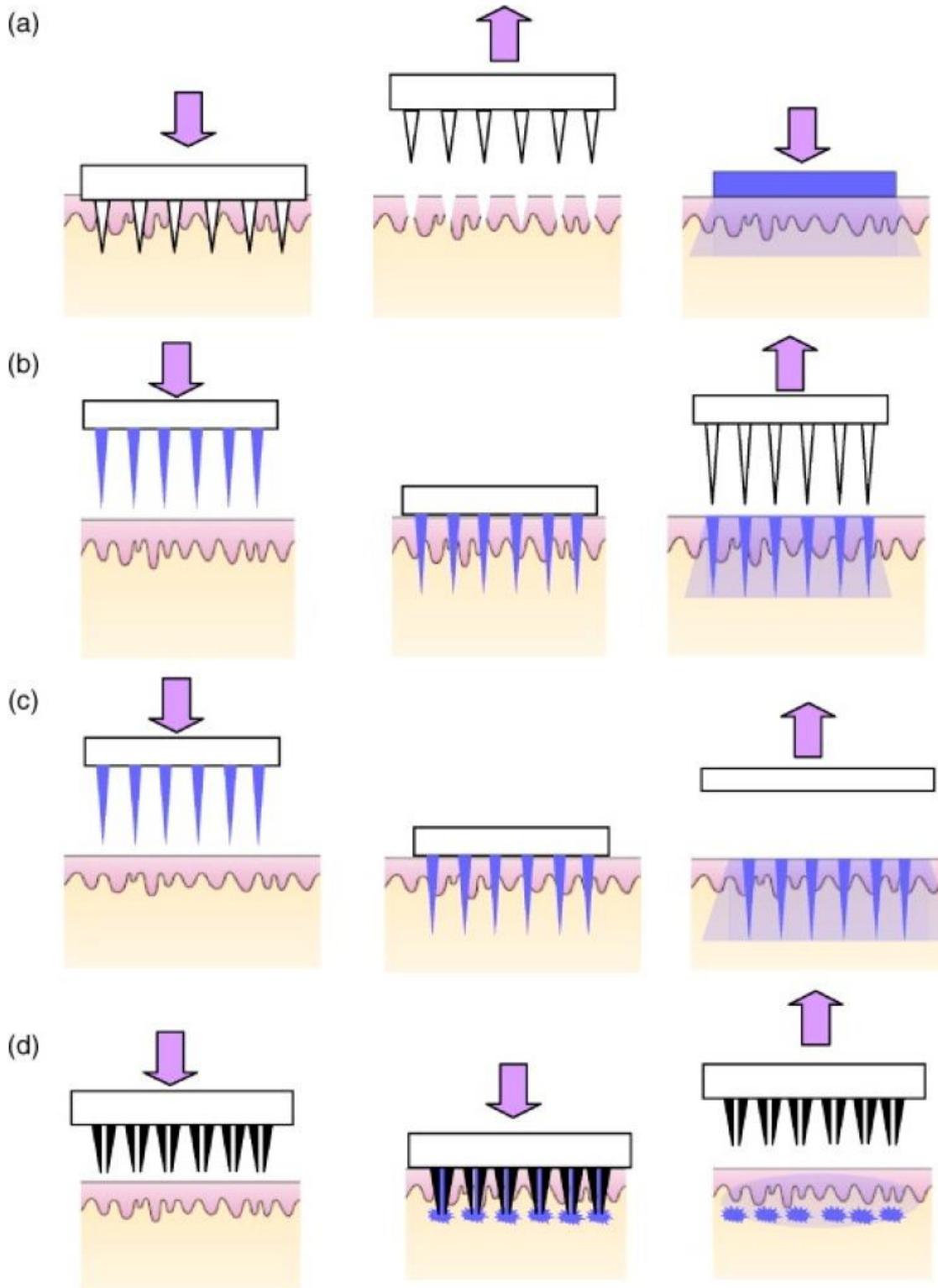


Figura 20. Distintos tipos de microagujas y métodos utilizados para facilitar la administración de fármacos por vía transdérmica.

a) Microagujas sólidas para aumentar la permeabilidad de una formulación de fármaco mediante la creación de micro agujeros en la piel; **b)** microagujas recubiertas para la rápida disolución del fármaco recubierto en la piel; **c)** microagujas biodegradables e hinchables para la liberación rápida o controlada

del fármaco incorporado dentro de las mismas y **d)** microagujas huecas utilizadas para perforar la piel y permitir la liberación del fármaco líquido después de una infusión activa o difusión de la formulación a través de los orificios en las agujas. *Tomada de Alkilani, A.Z., McCrudden, M. y Donnelly, R.F., Transdermal drug delivery: innovative pharmaceutical developments based on disruption of the barrier properties of the stratum corneum, 2015.*

2.2.4. Métodos experimentales para el estudio de la absorción transdérmica

Los sistemas de administración de fármacos tópicos y transdérmicos han mostrado ventajas significativas en la práctica clínica para la orientación del fármaco al sitio de acción en el cuerpo, lo cual ha reducido los efectos secundarios sistémicos. La administración de fármaco a través de la piel también se realiza para lograr un suministro de fármacos controlado y prolongado, de modo que esta ruta se puede explorar como una alternativa a la vía oral dado que, en los últimos años, la vía oral ha presentado algunas limitaciones para los fármacos con absorción irregular en el tracto gastrointestinal y baja biodisponibilidad así como para los fármacos con metabolismo de primer paso aumentando y tiempos cortos de vida media en plasma. Por lo anterior, se han propuesto diferentes métodos para evaluar la absorción cutánea de fármacos para optimizar el desarrollo de nuevas formulaciones para administrar a través de la piel. Estos métodos son herramientas para evaluar la eficacia y la calidad de las formulaciones tópicas y transdérmicas (Morais et. al., 2016).

2.2.4.1. Métodos *in vivo*

La evaluación de la absorción cutánea *in vivo* se realiza mediante estudios farmacocinéticos o, alternativamente, mediante el uso de microdiálisis cutánea (entre otras técnicas). En ambos casos, estas evaluaciones se han realizado con voluntarios humanos o modelos y protocolos animales previamente aprobados (Morais et. al., 2016).

2.2.4.1.1. Evaluaciones farmacocinéticas preclínicas

El objetivo de estas investigaciones es determinar si las concentraciones plasmáticas objetivo del fármaco se alcanzan o se mantienen durante períodos prolongados después de la administración de la formulación transdérmica. En general, las evaluaciones farmacocinéticas utilizan concentraciones plasmáticas del fármaco. Para esto, se recogen muestras de sangre en diferentes momentos después de la administración del sistema de administración transdérmica. El plasma se separa inmediatamente mediante centrifugación y el fármaco se extrae y se analiza mediante un método analítico selectivo, como HPLC o cromatografía de gases. En muchos casos, es necesario el uso de técnicas cromatográficas junto con la espectrometría de masas. Los parámetros farmacocinéticos se determinan a partir de un gráfico de concentraciones plasmáticas de fármaco en función del tiempo. Los parámetros recomendados que se deben calcular son el área bajo la curva, la concentración plasmática máxima del medicamento y el tiempo necesario para alcanzar el máximo. También se puede determinar la concentración del fármaco en el estado estacionario y el tiempo de demora. Los modelos de rata se utilizan generalmente en estos estudios (sin pelo, Wistar o Sprague-Dawley). La formulación transdérmica se administra en las regiones dorsal o abdominal de los animales. Los perros Beagle y los conejillos de indias se seleccionan en algunos estudios. Aunque estas evaluaciones preclínicas son importantes, los resultados no se pueden extrapolar a

los humanos si los modelos animales seleccionados muestran diferencias significativas en la permeabilidad de la piel, el metabolismo del fármaco y la eliminación (Morais et. al., 2016).

2.2.4.1.2. Microdiálisis cutánea

Las evaluaciones *in vivo* utilizando microdiálisis cutánea se han utilizado para la cuantificación de neurotransmisores cerebrales, monitores de glucosa en la diabetes mellitus, medición de los niveles de antibióticos y medición de los niveles de fármaco antineoplásico en el tejido objetivo. La microdiálisis cutánea se clasifica como una técnica semi-invasiva en la que se inserta una sonda de microdiálisis semipermeable en capas cutáneas definidas (epidermis o dermis), directamente debajo de la formulación (figura 21). La solución fisiológica (solución salina o Ringer) se perfunde lentamente mediante el uso de una bomba (1-10 $\mu\text{L}/\text{min}$). Los compuestos en el líquido intersticial del tejido se difunden en el dializado de la sonda. Las muestras están libres de proteínas y otras macromoléculas debido al corte de peso molecular de las membranas semipermeables (20-100 kDa). El dializado se recoge en diferentes momentos y el fármaco se analiza directamente, por ejemplo, mediante HPLC. Sin embargo, en algunos casos, debido a las pequeñas cantidades de muestra (unos pocos microlitros) y la dilución del fármaco, se requieren técnicas analíticas de alta sensibilidad, como HPLC junto con espectrometría de masas (Morais et. al., 2016).

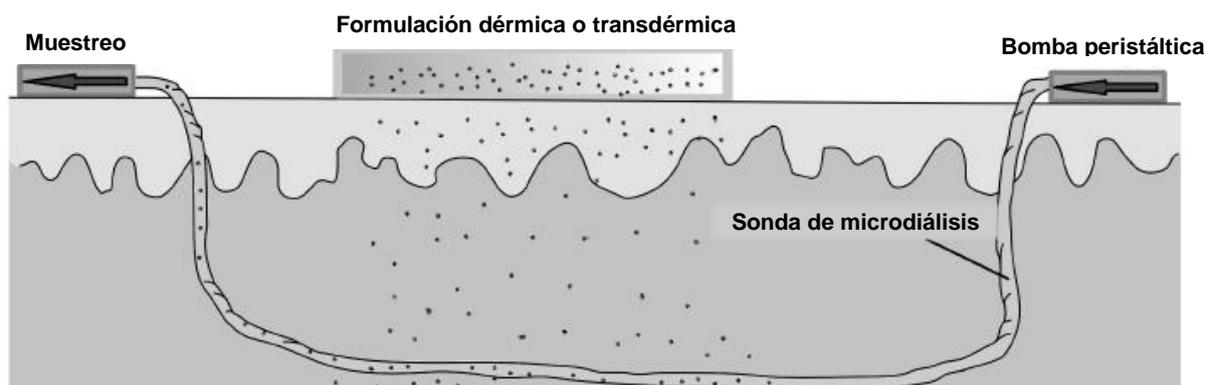


Figura 21. Microdiálisis cutánea.

Tomada de Morais Ruela, A.L. et. al., *Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations*, 2016.

La recuperación del fármaco del dializado es un parámetro importante a determinar. La recuperación relativa del fármaco se evalúa mediante la técnica de retrodiálisis. Para estas evaluaciones, una solución de fármaco con concentración conocida se perfunde durante un tiempo definido. A continuación, se determina la concentración de fármaco dializado. Las concentraciones inicial (C_i) y final (C_f) se utilizan en la determinación de la recuperación relativa de acuerdo con la ecuación 2.1:

$$\text{Ecuación 2.1} \quad \% \text{Recobro} = 100 - \frac{100 - C_f}{C_i}$$

2.2.4.1.3. Radiactividad en excreciones

La absorción percutánea *in vivo* es usualmente determinada mediante el método indirecto de medición de la radiactividad en excreciones después de la aplicación tópica del compuesto marcado. En estudios en humanos los niveles plasmáticos del compuesto son extremadamente bajos después de la aplicación tópica, normalmente

muy por debajo de los niveles de detección para el ensayo, por lo que es necesario utilizar una metodología de marcado. El compuesto, normalmente es marcado con ^{14}C o tritio, es aplicado y la cantidad total de radiactividad excretada en orina y heces fecales es determinada. La cantidad de radiactividad retenida en el cuerpo o excretada por otra vía no analizada (CO_2 , sudor) es corregida determinando la cantidad de radiactividad excretada después de la administración parenteral (Escobar Chávez, 2006). La cantidad final de radiactividad es entonces expresada como el porcentaje de la dosis aplicada que fue absorbida:

Ecuación 2.2

$$\% = \frac{\text{Radiactividad total después de la administración tópica}}{\text{Radiactividad total después de la administración parenteral}} \times 100$$

La limitación en determinar la absorción percutánea de la radiactividad urinaria y fecal, o de ambos, es que la metodología no considera el metabolismo que ocurre en la piel. La radiactividad en la orina es una mezcla del compuesto de interés y sus metabolitos. Este tipo de información es útil en definir la disposición total de la dosis aplicada tópicamente.

2.2.4.1.4. Recobro de la superficie

En este método se determina la pérdida total de material de la superficie, así como de la que penetra a través de la piel. El recobro de un activo en un aceite o solución aplicado es difícil debido a que la cantidad total del activo aplicado en dicho vehículo nunca puede determinarse con seguridad. Por ello con la aplicación tópica o transdérmica a través de un dispositivo, permite que este pueda ser removido de la piel y por tanto la cantidad residual de activo en dicho dispositivo pueda ser determinada. Se asume que la diferencia entre la dosis aplicada y la dosis residual es la cantidad de fármaco absorbido (Escobar Chávez, 2006).

2.2.4.1.5. Desaparición de la superficie

Similar al método de recobro en la superficie, en éste es posible monitorear la desaparición de C_{14} de la superficie de la piel usando la instrumentación adecuada. La limitación de este método radica en el hecho de que la desaparición es debida al movimiento del C_{14} marcado químicamente que va al interior de la piel y al efecto de rebote de los rayos β al incidir en la piel y regresar al instrumento (Escobar Chávez, 2006).

2.2.4.1.6. Método del *Tape stripping*

Mediante este método se determina la concentración del activo en el estrato córneo, después de períodos cortos de aplicación y por extrapolación lineal se puede predecir la absorción percutánea de un activo para períodos largos de aplicación. La formulación es aplicada sobre la piel de animales o humanos, y después del tiempo de aplicación, el estrato córneo es removido mediante la aplicación sucesiva de cintas adhesivas y remoción de las mismas (figura 22). El activo es extraído de las cintas adhesivas, mediante el uso de solventes para su posterior cuantificación mediante algún método analítico. Rougier, Lotte y colaboradores (1983; 1986) han establecido la existencia de una relación lineal entre el contenido de activo en el estrato córneo y

la absorción percutánea usando el método de excreción urinaria (Escobar Chávez, 2006). Las ventajas de este método son:

- La eliminación de la excreción urinaria (y fecal) para determinar la absorción.
- El hecho de no utilizar marcadores radiactivos para determinar la absorción de un activo a través de la piel, debido a que las cintas adhesivas removidas contienen concentraciones adecuadas que permiten ser cuantificadas sin necesidad de marcadores radiactivos.

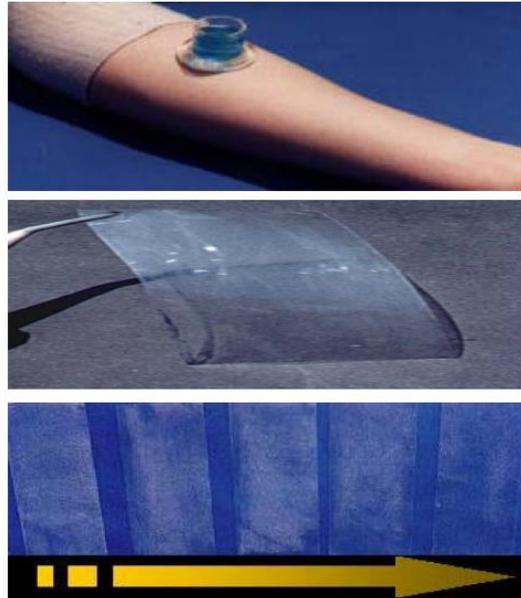


Figura 22. Técnica del tape stripping.

Una vez aplicada la formulación y pasado el tiempo de contacto, se procede a la remoción de cintas adhesivas para posterior tratamiento y cuantificación del principio activo. *Tomada de Escobar-Chávez, J.J., Estudio de la penetración a través de la piel de Naproxeno Sódico utilizando agentes promotores de penetración (Azona® y Transcutol®), y de Digluconato de Clorhexidina mediante iontoforesis, 2006.*

2.2.4.2. Métodos *in vitro*

Los métodos *in vitro* permiten el control preciso de variables experimentales utilizando los protocolos más simples. Sin embargo, los ensayos *in vitro* no pueden reproducir completamente la complejidad de los sistemas biológicos, y se recomiendan evaluaciones *in vivo* para validar los resultados y, si es posible, establecer una correlación *in vivo-in vitro*. Sin embargo, las evaluaciones *in vitro* son herramientas esenciales para el desarrollo y selección de formulaciones, que predicen la absorción cutánea *in vivo* (Morais et. al., 2016).

2.2.4.2.1. Celdas de difusión

La celda de difusión es el aparato experimental más ampliamente utilizado para evaluar la liberación y la permeación de la piel de los fármacos incorporados en sistemas de administración de fármacos tópicos y transdérmicos. El principal objetivo de estas evaluaciones es identificar las principales variables durante el diseño de la formulación que pueden alterar la biodisponibilidad *in vivo* del fármaco (Morais et. al., 2016). El primer trabajo en este campo fue desarrollado por Thomas J. Franz en 1970. La configuración básica del aparato experimental se compone de (figura 23):

- a) El compartimiento **donante**, en el que la formulación se aplica a una membrana semipermeable en la que debe impregnarse el fármaco liberado.
- b) Una cámara **receptora**, en la que se pueden extraer muestras para el análisis de fármacos.

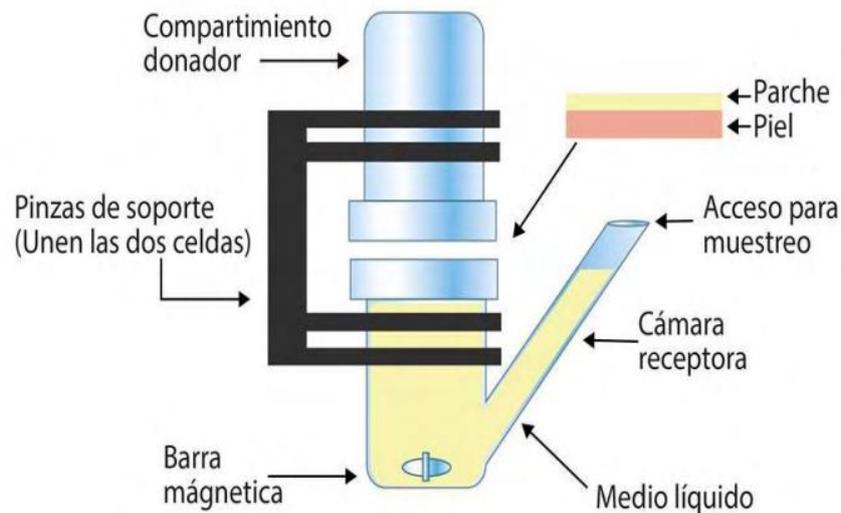


Figura 23. Configuración básica de una celda de difusión tipo Franz vertical.

Tomada de Anguiano, E., *Desarrollo, caracterización fisicoquímica y estudios de penetración in vitro a través de piel humana de losartán potásico formulado en parche transdérmicos usando microagujas como promotor físico*, 2017.

Las condiciones experimentales para la evaluación de la permeación incluyen un medio receptor mantenido bajo constante agitación magnética y temperatura. Las consideraciones importantes deben ser resaltadas; por ejemplo, la composición del medio debe asegurar condiciones de hundimiento porque la concentración del fármaco no debe alcanzar valores mayores al 10% de su saturación. Para ello, el fármaco debe ser libremente soluble en el medio receptor. Las condiciones de hundimiento son una presuposición esencial para que la concentración del fármaco en el medio receptor no limite la tasa de permeación. Los medios receptores recomendados son tampones acuosos relacionados con el ambiente fisiológico. El uso de aditivos en el medio receptor es necesario en algunos casos para incrementar la solubilidad del fármaco, pero estos aditivos no deben comprometer la integridad de la membrana ni alterar la permeabilidad del fármaco. Algunos aditivos incorporados en el medio son surfactantes no iónicos (por ejemplo, Tween 80), albúmina de suero bovino, polietilenglicol y etanol. Para prevenir el crecimiento microbiológico en el medio, se pueden agregar conservantes, como gentamicina, azida de sodio (0.02%-0.05%) y formaldehído (0.1%). Las técnicas analíticas selectivas se utilizan para la separación apropiada de contaminantes de la piel, la formulación o el medio receptor. La cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) se recomienda para la cuantificación de fármacos (Morais et. al., 2016).

2.2.4.2.2. Modelo de aislamiento y perfusión de la piel

En este tipo de ensayo se consideran la mayoría de los procesos metabólicos y funciones normales de la piel, simulando condiciones *in vivo*; para ello se toma la piel del abdomen del animal y se cose conectando venas y arterias de tal forma que se obtiene un tubo. Posteriormente se coloca un sistema de oxigenación de venas y arterias (con oxígeno al 0.5%) con agitación y anticoagulantes. Se aplica la sustancia

a estudiar y se procede a la cuantificación en el medio. De forma adicional se colocan sensores de presión, pH y se alimenta con glucosa y albúmina además de un antibiótico para evitar el crecimiento de microorganismos (Anguiano, 2017).

2.2.5. Modelos matemáticos para la evaluación de la liberación de fármacos

El transporte de sustancias a través de la piel es un proceso complejo ya que comprende interacciones de tipo físico, químico y biológico y muchas de ellas no son de tipo lineal (Rodríguez y Trujillo, 2007). Los patrones de liberación en formulaciones destinadas a la liberación controlada de medicamentos se pueden dividir en aquellos que liberan el fármaco a una velocidad lenta de cero o de primer orden y en aquellos que proporcionan una dosis inicial rápida, seguidos de una liberación lenta de cero o de primer orden del componente sostenido. El propósito de los sistemas de liberación controlada es mantener la concentración del fármaco en la sangre o en los tejidos objetivo, a un valor deseado el mayor tiempo posible. En otras palabras, pueden ejercer un control sobre la tasa de liberación y la duración del fármaco. Para este propósito, generalmente, el sistema de liberación controlada libera inicialmente parte de la dosis contenida para alcanzar rápidamente la concentración terapéutica efectiva del fármaco. Luego, la cinética de liberación del fármaco sigue un comportamiento bien definido para suministrar la dosis de mantenimiento que permite alcanzar la concentración deseada del fármaco (Anguiano, 2017).

Para este propósito, el uso del modelado matemático resulta ser muy útil ya que este enfoque permite, en el mejor de los casos, la predicción de la cinética de liberación antes de que se realicen los sistemas de liberación. Más a menudo, permite la medición de algunos parámetros físicos importantes, como el coeficiente de difusión del fármaco y el recurso a la adaptación del modelo a los datos de liberación experimental. Por lo tanto, el modelado matemático, cuyo desarrollo requiere la comprensión de todos los fenómenos que afectan la cinética de liberación del fármaco, tiene un valor muy importante en la optimización del proceso de dicha formulación (Suvakanta et. al., 2010). Algunos de los modelos matemáticos que se han empleado para describir la cesión de un fármaco desde parches transdérmicos se mencionan a continuación.

2.2.5.1. Modelo de orden cero

La disolución del fármaco a partir de formas de dosificación que no se disgregan y liberan lentamente puede representarse mediante la ecuación (Suvakanta et. al., 2010):

$$\text{Ecuación 3.1} \quad Q_0 - Q_t = K_0 t$$

reorganizando la ecuación 3.1 se obtiene:

$$\text{Ecuación 3.1.1} \quad Q_t = Q_0 + K_0 t$$

donde Q_t es la cantidad de fármaco disuelto en el tiempo t , Q_0 es la cantidad inicial de fármaco en la solución (en donde la mayoría de las veces $Q_0 = 0$) y K_0 es la constante de liberación de orden cero expresada en unidades de concentración/tiempo.

Para estudiar la cinética de liberación, los datos obtenidos de los estudios *in vitro* se grafican como cantidad acumulada de fármaco liberada en función del tiempo. Esta

relación se puede utilizar para describir la disolución del fármaco de varios tipos de formas farmacéuticas de liberación modificada, como en el caso de algunos sistemas transdérmicos, así como tabletas de tipo matriz que contienen fármacos poco solubles en formas recubiertas, sistemas de tipo osmótico, etc. (Suvakanta et. al., 2010).

2.2.5.2. Modelo de primer orden

Este modelo también se ha utilizado para describir la absorción y/o eliminación de algunos fármacos, aunque es difícil conceptualizar este mecanismo sobre una base teórica (Suvakanta et. al., 2010). La liberación del fármaco que siguió la cinética de primer orden se puede expresar mediante la ecuación 3.2:

Ecuación 3.2
$$\frac{dC}{dt} = -K_c$$

donde K_c es la constante de velocidad de primer orden expresada en unidades de tiempo⁻¹. La ecuación 3.2 se puede expresar como:

Ecuación 3.2.1
$$\log C = \log C_0 - Kt / 2.303$$

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

Los datos obtenidos se representan gráficamente como el logaritmo del porcentaje acumulativo del fármaco liberado en función del tiempo, lo que produciría una línea recta con una pendiente de $-K/2.303$. Esta relación se puede usar para describir la disolución del fármaco en formas de dosificación que contienen fármacos solubles en agua en matrices porosas (Suvakanta et. al., 2010).

2.2.5.3. Modelo de Higuchi

El primer ejemplo de un modelo matemático destinado a describir la liberación del fármaco desde un sistema de matriz fue propuesto por Higuchi en 1961. Inicialmente concebido para sistemas planos, se extendió a diferentes sistemas geométricos y porosos (Suvakanta et. al., 2010). Este modelo se basa en las hipótesis de que:

- a) La liberación del fármaco ocurre básicamente por difusión (debido a un gradiente de concentración).
- b) La velocidad de disolución del fármaco es mayor que la velocidad de difusión.
- c) La concentración inicial del fármaco en la matriz es mucho mayor que la solubilidad del fármaco.
- d) La difusión del fármaco se realiza sólo en una dimensión (el efecto del borde debe ser despreciable).
- e) Las partículas de fármaco son mucho más pequeñas que el espesor del sistema.
- f) La hinchazón y la disolución de la matriz son despreciables.
- g) La difusividad del fármaco es constante.
- h) Siempre se alcanzan condiciones de hundimiento perfectas en el entorno de liberación.

En consecuencia, la expresión del modelo viene dada por la ecuación:

Ecuación 3.3

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K_H t^{1/2}$$

donde M_t/M_∞ es la fracción de fármaco liberado en un tiempo t y K_H es la constante de disolución de Higuchi.

Los datos obtenidos se representan gráficamente como el porcentaje acumulativo de fármaco liberado en función de la raíz cuadrada del tiempo. Esta relación se puede utilizar para describir la disolución del fármaco de varios tipos de formas farmacéuticas de liberación modificada, como es el caso de algunos sistemas transdérmicos y tabletas tipo matriz con fármacos solubles en agua (Suvakanta et. al., 2010).

2.2.5.4. Modelo de Korsmeyer-Peppas

Korsmeyer et. al. (1983) derivaron una relación simple que describía la liberación del fármaco a partir de una ecuación de sistema polimérico, en donde se intenta explicar los mecanismos de liberación de fármacos donde se presentan los fenómenos de erosión y/o disolución de la matriz. Es importante resaltar que este modelo es generalmente lineal para los valores de fármaco liberado menores al 60% del total contenido, expresándose de la siguiente manera (Suvakanta et. al., 2010):

Ecuación 3.4

$$\frac{M_t}{M_\infty} = K t^n$$

donde M_t/M_∞ es la fracción de fármaco liberado en el tiempo t , K es la constante de liberación y n es el exponente de liberación. En este modelo, el valor de n se utiliza para caracterizar el mecanismo de liberación del fármaco en diferentes tipos de matrices; de modo que:

- a) $0.45 \leq n$, corresponde a un mecanismo de difusión de tipo Fickiano.
- b) $0.45 \leq n \leq 0.89$, corresponde a un mecanismo de difusión de tipo no Fickiano o anómalo.
- c) $n = 0.89$, corresponde a un mecanismo de difusión de tipo caso II (es decir, de relajación de las cadenas poliméricas).
- d) $n > 0.89$, corresponde a un mecanismo de difusión de súper caso II.

La ecuación puede expresarse en forma lineal como:

Ecuación 3.4.1

$$\log M_t/M_\infty = \log K + n \log t$$

Para estudiar la cinética de liberación, los datos obtenidos de los estudios *in vitro* de liberación de fármaco se deben graficar como el logaritmo del porcentaje acumulativo de liberación del fármaco en función del logaritmo del tiempo, solamente para los datos que correspondan a no más del 60% de fármaco disuelto (Suvakanta et. al., 2010).

2.3. DIABETES MELLITUS

La diabetes mellitus (DM) pertenece a un grupo de enfermedades metabólicas y es consecuencia de la deficiencia en el efecto de la insulina, causada por una alteración en la función endócrina del páncreas o por la alteración en los tejidos efectores, que pierden su sensibilidad a la insulina. Los islotes pancreáticos están constituidos por cuatro tipos celulares: células β , α , δ y PP o F las cuales sintetizan y liberan hormonas como insulina, glucagón, somatostatina y el polipéptido pancreático, respectivamente. Durante la DM, la glucemia se eleva a valores anormales hasta alcanzar concentraciones nocivas para los sistemas fisiológicos, provocando daño en el tejido nervioso (neuropatías), alteraciones en la retina (retinopatía), el riñón (nefropatía) y en prácticamente el organismo completo con un pronóstico letal si no se controla (Cervantes y Presno, 2013).

2.3.1. Liberación y acción de la insulina

La liberación de insulina es un proceso indispensable en la homeostasis del cuerpo como respuesta al aporte energético del consumo de alimentos. Su liberación es inducida principalmente en respuesta al incremento de glucemia, pero al mismo tiempo es regulada por diversas sustancias (nutrimentos, hormonas gastrointestinales, hormonas pancreáticas, neurotransmisores del sistema nervioso autónomo, entre otras). La glucosa, los aminoácidos, los ácidos grasos y los cuerpos cetónicos favorecen la secreción de insulina, al igual que la activación del receptor β_2 -adrenérgico y la estimulación del nervio vago, mientras que los receptores α_2 -adrenérgicos inhiben la liberación de insulina.

La despolarización de la célula β provoca la liberación de insulina (figura 24); el proceso inicia con el aumento de la concentración plasmática de carbohidratos: la fructosa y la glucosa ingresan en la célula β a través del transporte facilitado mediado por el transportador de glucosa 2 (GLUT2). El GLUT2 es un transportador de glucosa con baja afinidad, se expresa en el hígado, riñón, células β del páncreas y en la membrana basolateral de las células epiteliales del intestino delgado. El GLUT2 participa en la regulación de la secreción de insulina: sólo permite el transporte de glucosa cuando la concentración plasmática alcanza el umbral de afinidad como sustrato de GLUT2 (>70 mg/dL), y en respuesta conduce a la liberación de la cantidad requerida de insulina para mantener la concentración de glucosa. Después de la ingesta de alimento, el hígado, por su parte, es capaz de incorporar la glucosa a través del GLUT2 para convertirla rápidamente en glucógeno (polímero de carbohidratos como almacén de los mismos). De forma inversa, durante el período postprandial tardío (período comprendido entre 6 y 8 horas de ayuno), el glucógeno sufre degradación para generar moléculas de glucosa, que salen de la célula hepática a la circulación sistémica, preservando de esta manera la glucemia en valores fisiológicos; por lo anterior, el GLUT2 es un transportador bidireccional que puede transportar glucosa desde la sangre al tejido o desde el tejido hacia la sangre, según se requiera. Tras el ingreso de la glucosa al interior de la célula β mediante el GLUT2, el carbohidrato es fosforilado (glucosa-6-fosfato, G-6-P) por la glucocinasa; este proceso determina la velocidad de glucólisis y de los subsecuentes procesos oxidativos que culminan con el incremento en la relación ATP/ADP del citosol. Finalmente, la despolarización de la célula ocurre a causa del cierre de los canales

de K^+ sensibles a ATP (K_{ATP}), incrementando el potencial de membrana hasta alcanzar la apertura de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje tipo L. La entrada de Ca^{2+} citosólico induce la fusión de la vesícula exocítica que contiene insulina con la membrana plasmática (Cervantes y Presno, 2013).

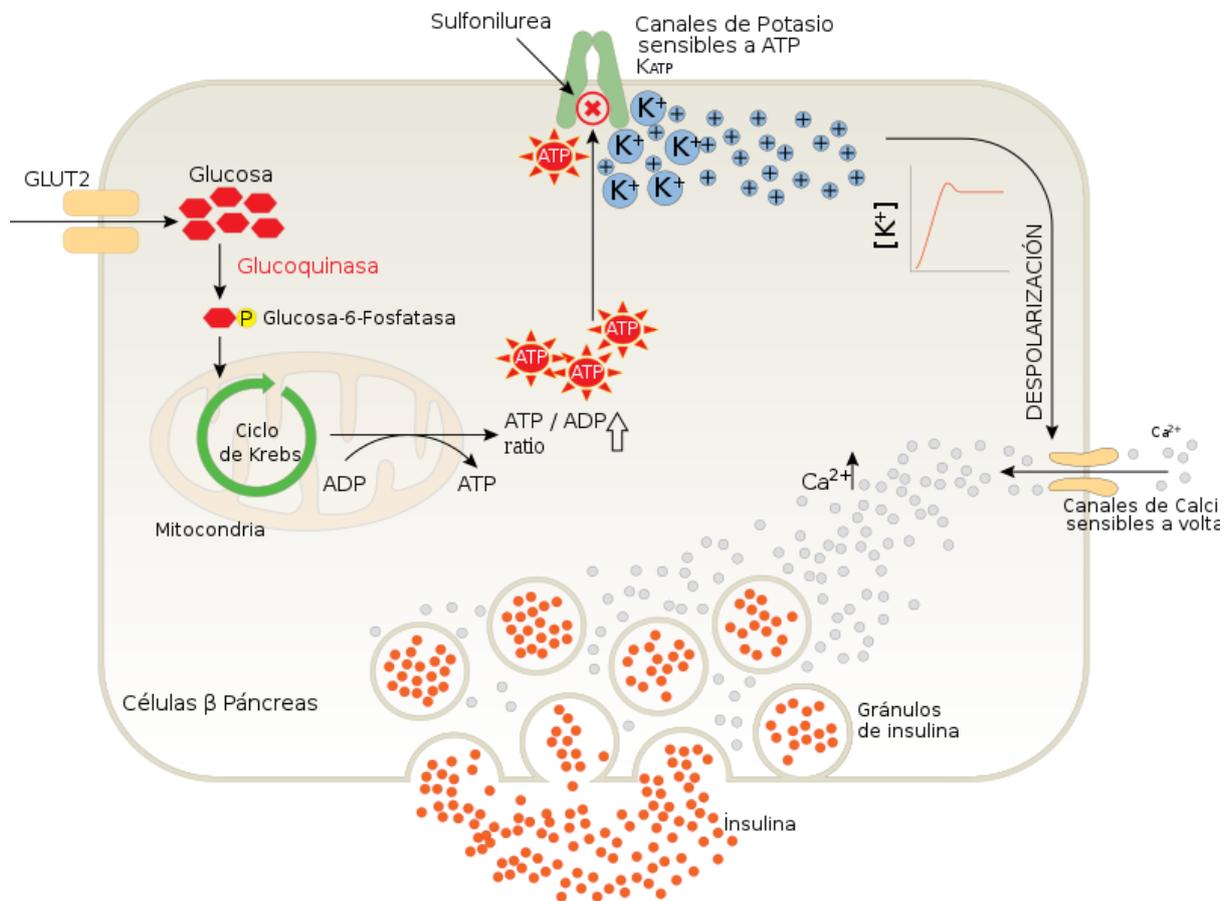


Figura 24. Mecanismo de liberación de la insulina en la célula β -pancreática.
Tomada de Fórtich, A.J., Fisiología de la secreción de insulina y glucagón, S.F.

La insulina actúa a nivel celular, uniéndose a su receptor de membrana, una multisubunidad transmembrana de tipo glicoproteína que contiene actividad de tirosina cinasa estimulada por la insulina (figura 25). El receptor de la insulina está presente en todas las células de los mamíferos, tiene actividad tirosinacinaza intrínseca y está conformado por dos subunidades α y dos β . Las subunidades α son extracelulares y tienen el sitio de unión a ligando, mientras que las subunidades β son hidrofóbicas y atraviesan la membrana, tienen un dominio con varios residuos de tirosina, un dominio tirosinacinaza y un sitio de unión a ATP. Cuando se une la insulina al receptor, la subunidad α influye en la β para accionar la tirosinacinaza, se autofosforila en residuos de tirosina, y esto inicia la actividad de cinasa contra otras proteínas como los sustratos del receptor de insulina (IRS-1 a 4), que junto con la proteína Shc participan como proteínas de andamiaje para otras (Cervantes y Presno, 2013).

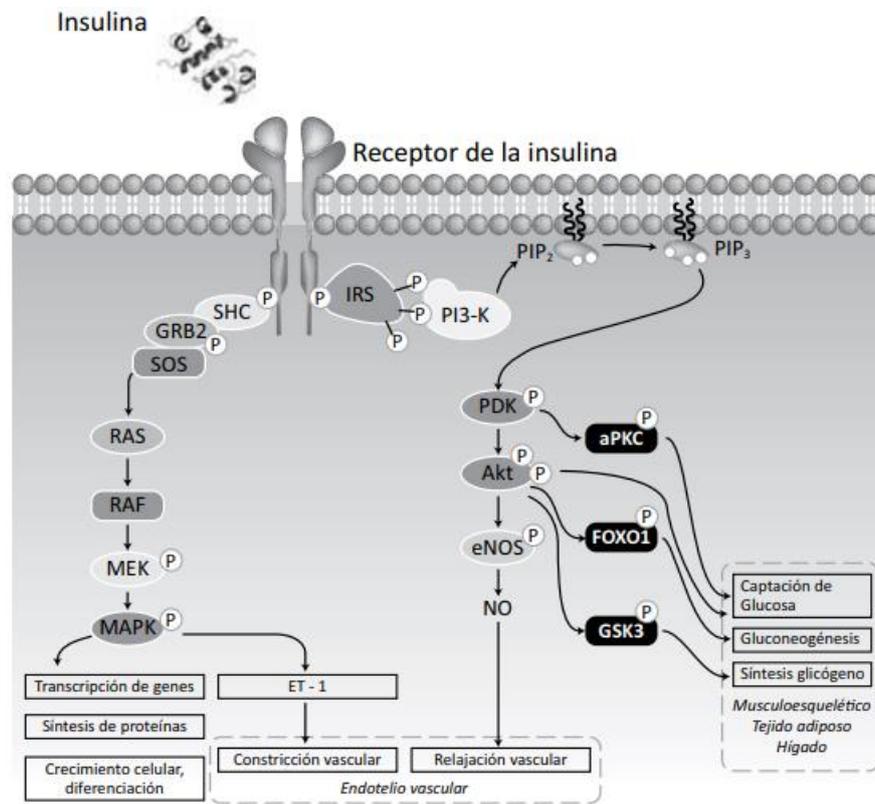


Figura 25. Visión general de las vías de traducción intracelular de la insulina.
Tomada de Fórtich, A.J., *Fisiología de la secreción de insulina y glucagón*, S.F.

El receptor de insulina se internaliza inmediatamente después de la unión con insulina, lo que puede llevar a su degradación o reciclaje. La actividad de la tirosinacinas disminuye por el AMPc o la fosforilación de residuos de serina/treonina en la subunidad β ; con frecuencia, la PKC y la PKA fosforilan los residuos serina/treonina del receptor para finalizar la señalización, pero esta modificación postraduccional puede producir insulinoresistencia inducida por la secreción excesiva de catecolaminas en situaciones adversas; además, las diversas cinasas serina/treonina también fosforilan los IRSs como mecanismo de retroalimentación negativa del receptor a insulina. La mutación en el sitio del ATP o el reemplazo de los residuos de tirosina en el receptor de insulina produce su desensibilización a pesar de la unión de la insulina (Cervantes y Presno, 2013).

Existen dos isoformas del receptor para insulina producto el procesamiento alternativo del RNAm, el IR-A y B. En el músculo y páncreas se expresa principalmente el receptor IR-A y es colocalizado con el IRS-1, mientras que, en el hígado, el tejido adiposo blanco y pardo, y en los riñones se expresa el IR-B junto con el IRS-3. La vía transduccional de cada receptor lleva a dos señales distintas, el IR-A señala fundamentalmente vías antiapoptóticas, mientras que el IR-B señala la diferenciación celular. El efecto de la insulina sobre las células β promueve la supervivencia para mantener la función e integridad de las mismas. Los IRS son moléculas que participan en la señalización de insulina para el crecimiento, supervivencia y metabolismo. El IRS-1 y -2 inducen la translocación de GLUT1 y GLUT4 a la membrana celular; el IRS-3 y -4 actúan de manera negativa en la señalización del receptor IGF-1 por supresión del IRS-1 y -2. Estudios sugieren que el IRS-1 incrementa la secreción de insulina inducida por glucosa y sulfonilureas en las células β . Los IRS pueden activar a la fosfatidilinositol-3-cinasa (PI3K), enzima que fosforila fosfatidilinositol-4,5-bifosfato (PIP₂) para producir fosfatidilinositol-3,4,5-

trifosfato (PIP₃) como segundo mensajero para activar diferentes proteínas como la proteína cinasa B (PKB/Akt), la cual, dentro de sus funciones, activa factores de transcripción, activa la sintasa de glucógeno y participa en la antilipólisis; la PKB participa en la translocación de GLUT4 en adipocitos. Un polimorfismo en el IRS-1 de humano se asocia con la resistencia a la insulina y el riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 a través de la inhibición del sitio tirosinacinasasa (Cervantes y Presno, 2013).

En resumen, las acciones de la insulina en el organismo son las siguientes (Fórtich, S.F.):

En el hígado:

- Incrementa la actividad y estimula la síntesis de la glucocinasa, favoreciendo la utilización de la glucosa.
- Aumenta la vía de las pentosas que aporta NADPH al estimular a la Glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.
- Aumenta la glucólisis por estimulación de la glucocinasa, fosfofructocinasa I y de la piruvatocinasa.
- Favorece la síntesis de glucógeno, estimulando la actividad de la glucógeno sintetasa (GS).
- Reduce la gluconeogénesis, al disminuir principalmente la síntesis de la fosfoenol-piruvato-carboxi-cinasa (PEPCK).
- Estimula la síntesis de proteínas.
- Aumenta la síntesis de lípidos, al estimular la actividad de la ATP citrato liasa, acetil-CoA-carboxilasa, “enzima málica” y de la hidroximetil-glutaril-CoA reductasa.
- Inhibe la formación de cuerpos cetónicos.

En el tejido muscular:

- Estimula la entrada de glucosa (por translocación de los GLUT4 hacia la membrana).
- Aumenta la glucólisis por estimulación de la fosfofructocinasa I y de la piruvatocinasa.
- Estimula la síntesis de glucógeno al estimular la actividad de la GS.
- Favorece la entrada de aminoácidos a la célula y su incorporación a las proteínas, estimula la síntesis e inhibe el catabolismo de proteínas.
- Estimula la captación y utilización de los cuerpos cetónicos.
- La insulina estimula la bomba Na⁺/K⁺, lo que favorece la entrada de K⁺ a las células.

En el tejido adiposo:

- Estimula la captación (GLUT4) y utilización de glucosa por el adipocito.
- Aumenta la vía de las pentosas que aporta NADPH al estimular a la glucosa-6-fosfato deshidrogenasa.
- Favorece la captación de ácidos grasos al estimular a la enzima lipoproteína lipasa 1, que degrada los triglicéridos contenidos en las lipoproteínas.

- Estimula la síntesis de triglicéridos (al promover la glucólisis y la vía de las pentosas) e inhibe los procesos de lipólisis, por lo que se favorece la acumulación de éstos en los adipocitos.

2.3.2. Clasificación de las hiperglucemias

Las hiperglucemias se clasifican principalmente en diabetes tipo 1, tipo 2, hiperglucemias asociadas a mutaciones y algunas hiperglucemias producto de circunstancias traumáticas o secundarias a otras enfermedades (tabla 3).

Tabla 3. Clasificación de los diferentes tipos de hiperglucemias causadas por diversas mutaciones genéticas y secundarias a un proceso patológico.

Tipo	Característica
Diabetes tipo 1 (insulinodependiente)	
• DM de tipo 1A	Destrucción autoinmune de las células β .
• DM de tipo 1B	Carecen de inmunomarcadores indicadores de un proceso autoinmune destructivo de las células β pancreáticas. La categoría 1B idiopática.
Diabetes tipo 2 (no insulinodependiente)	
• DM tipo 2 común	Varía entre resistencia a la insulina predominante con déficit relativo de insulina y defecto secretor de insulina predominante con resistencia a la insulina.
Diabetes del adulto de inicio juvenil	
• MODY 1	Mutación en gen del factor nuclear de hepatocitos 4 α (HNF-4 α).
• MODY 2	Mutación en el gen de glucocinasa.
• MODY 3	Mutación en gen del factor nuclear de hepatocitos 1 α (TCF-1).
• MODY 4	Mutación en el gen del factor promotor insulínico 1 (1PF1).
• MODY 5	Mutación en el gen del factor nuclear de hepatocitos 1 β (HNF-1 β).
• MODY 6	Mutación en el gen de diferenciación neurógena (NEUROD1).
• MODY X	Mutación en el gen de RNAt de leucina mitocondrial. Mutaciones en el gen de la insulina. Mutaciones en el gen del receptor.
Tipos de diabetes secundarias a circunstancias o patologías primarias	
Diabetes por pancreopatía	Pancreatitis crónica. Operaciones quirúrgicas. Diabetes tropical.
Diabetes como consecuencia de endocrinopatías	Enfermedad de Cushing. Glucocorticoides. Acromegalia.
Otras	Diabetes gestacional. Diabetes secundaria a supresión inmunitaria. Diabetes que acompaña síndromes genéticos como el Prader-Willi. Diabetes por farmacoterapia.

Modificada de Cervantes, R.D. y Presno, J.M., Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas, 2013.

2.3.2.1. Fisiopatología y aspectos moleculares de la diabetes tipo I

La diabetes tipo 1, también conocida como diabetes insulinodependiente, inicia comúnmente desde la infancia y se considera una enfermedad inflamatoria crónica causada por la destrucción específica de las células β en los islotes de Langerhans del páncreas. Existen distintas causas por las cuales puede ocurrir la destrucción de los islotes: virus, agentes químicos, autoinmunidad cruzada o, incluso, una predisposición genética. Durante la etapa previa al inicio de la diabetes tipo 1, en el 80% de los individuos se detectan anticuerpos contra antígenos citoplasmáticos o membranales de las células β pancreáticas como la descarboxilasa del ácido

glutámico 65 y 67 (GAD65 y 67), la proteína de choque térmico 65 (Hsp-65), y contra insulina. Sin embargo, la mayor susceptibilidad para desarrollar diabetes tipo 1 se encuentra en los genes del antígeno leucocitario humano (HLA clase II) del cromosoma 6, que contribuyen con el 50% del riesgo, y son asociados algunos polimorfismos genéticos en los sitios de unión del péptido. Mediante la identificación de estos anticuerpos en personas sanas, se establece el riesgo de desarrollar la enfermedad; por ejemplo, la presencia de anticuerpos contra insulina confiere un riesgo pequeño, mientras que la combinación de anticuerpos contra células de los islotes y contra GAD o contra insulina representa un riesgo alto para desarrollar diabetes tipo 1 (Cervantes y Presno, 2013).

2.3.2.2. Fisiopatología y aspectos moleculares de la diabetes tipo II

Existe pleno consenso en relación a reconocer que las alteraciones del metabolismo de la glucosa, se relacionan a dos eventos perfectamente identificables: la deficiente acción de la insulina, la deficiente secreción de la hormona o un efecto combinado de estas dos características. Desde el punto de vista del mecanismo fisiopatológico, en la diabetes mellitus tipo 2 (DM2) es posible observar tres fases bien definidas (figura 26) (Pérez, 2009):

- a) Aparición de un estado de resistencia periférica a la insulina (IR), generalmente asociada a valores de normoglicemia.
- b) Una segunda fase asociada a una IR más marcada a nivel de tejidos periféricos (músculo, tejido adiposo) donde existe una sobreproducción de insulina que no alcanza a controlar la homeostasis de glucosa (hiperglicemia postprandial).
- c) Una fase final, asociada a una declinación en el funcionamiento de las células beta pancreáticas, donde disminuye la síntesis de la hormona apareciendo la hiperglicemia en ayuno, fenómeno que se traduce como la totalidad del fenotipo DM2.

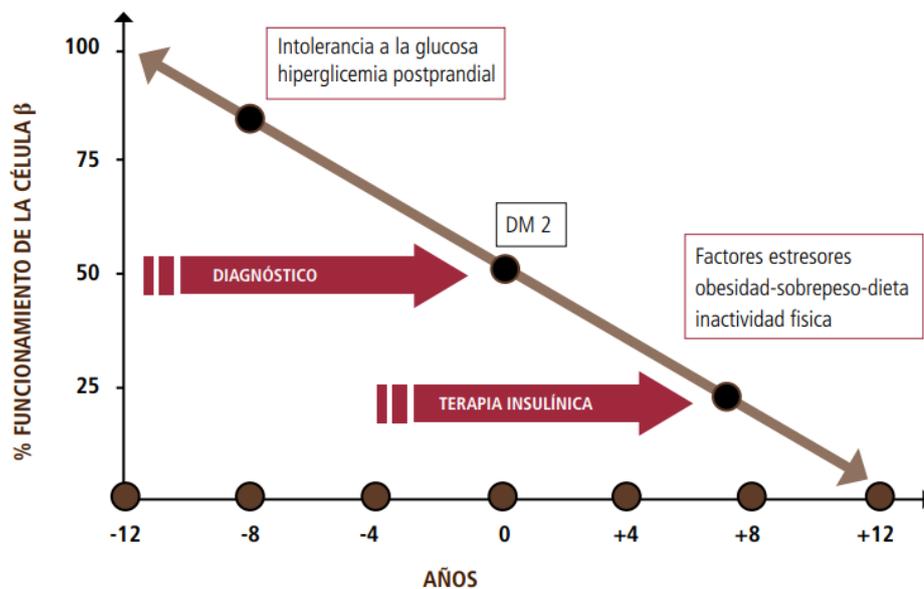


Figura 26. Temporalidad en la aparición de DM2.

El fenotipo diabético progresa a medida que las funciones de las células β declinan. Tomada de Pérez, F., *Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2*, 2009.

2.3.2.2.1. Mecanismos asociados a la IR

Los mecanismos asociados a la IR donde se describe una baja capacidad de la hormona para inducir sus efectos biológicos esperados, se puede ver exacerbada por otras condiciones fisiológicas tales como la obesidad, el envejecimiento y ciertas alteraciones metabólicas como el síndrome de ovario poliquístico (SOP). A pesar del extenso desarrollo científico como técnicas de alta precisión como los scanning ampliados del genoma y los ensayos de expresión (microarrays), hasta el día de hoy todos los mecanismos propuestos sólo logran explicar una parte del fenómeno, o son aplicables a un determinado fenotipo del diabético. Entre estos mecanismos se han descrito alteraciones a distintos niveles (Pérez, 2009):

- a) Eventos pre-receptor: anticuerpos anti-receptor, anticuerpos anti-insulina.
- b) Fenómenos a nivel del receptor de insulina: presencia de mutaciones aberrantes y alteraciones que condicionan la funcionalidad del receptor (fosforilación anómala de uno de sus brazos).
- c) Alteraciones a nivel de post-receptor: presencia de variantes genéticas asociadas a señalización intracelular alterada (moléculas sustrato del receptor de insulina: IRS1; IRS2), alteraciones a nivel de complejos enzimáticos (fosfoinositol 3 quinasa, PI3K; proteína quinasa B, PKB o proteína quinasa C; PKC) y anomalías tanto en la síntesis de glucotransportadores, como en su expresión a nivel de membrana celular.

Si bien las alteraciones genéticas permiten explicar con claridad algunos fenómenos asociados a la IR en casos extremos como aquellas que afectan al receptor de insulina o ciertas mutaciones en genes que codifican para las proteínas transportadoras de glucosa (en especial GLUT-4), se debe señalar que dichas mutaciones son extremadamente raras y esporádicas, por lo que su utilidad para la mayoría de los estudios de tipo poblacional es casi nula (Pérez, 2009).

La IR se manifiesta sobre todo en los tejidos periféricos como el músculo y el tejido adiposo, por una baja tasa de captación y oxidación de las moléculas de glucosa. El mecanismo compensador asociado a la hiperinsulinemia se traduce en el evento por el cual el individuo es capaz de mantener una tolerancia normal a la glucosa durante períodos finitos de tiempo, cuando dicho mecanismo de control homeostático es insuficiente (probablemente por causas asociadas a defectos de la secreción hormonal por parte de las células beta), sobreviene la intolerancia a los hidratos de carbono y, en consecuencia, la aparición de la DM2 (Pérez, 2009).

2.3.2.2.2. Mecanismos asociados a la disfunción de la célula β

La disminución en el número de células β pancreáticas funcionales es uno de los principales factores contribuyentes en la fisiopatología de la DM2 (Figura 27). Al respecto, hay opciones divididas en relación a la contribución relativa de una disminución en la masa de células β contra un defecto intrínseco en la maquinaria secretoria. Entre los factores causales, claramente existe una multiplicidad de eventos y mecanismos que regulan procesos muchas veces inseparables tales como la proliferación celular y la apoptosis de la célula β . Durante muchos años, la contribución de la reducción en la masa de células β en el desarrollo de la DM2 fue muy controversial. Recientemente, varias publicaciones han confirmado de forma

convinciente esta hipótesis como factor etiológico y resaltando que este sería un mecanismo frecuente en la declinación y fracaso de la célula β para producir suficiente insulina. Sin embargo, a pesar de que esta destrucción de la célula β es un factor etiológico importante en el desarrollo y la progresión de la enfermedad, no es menos cierto que también hay evidencia concreta que indica que existe un defecto secretorio intrínseco (Pérez, 2009).

Las vías que regulan la cantidad de células β son comunes con aquellos mecanismos de regulación funcional y adaptación metabólica, por lo tanto, se podría hablar de vías reguladoras comunes para dos procesos que se creían disociados (proliferación-apoptosis). Dependiendo de la concentración predominante y las vías intracelulares activadas, algunos factores pueden ser deletéreos de la masa de células β o podrían comportarse como protectores o inhibidores de la función β celular. Lo anterior nos indica que el fracaso de la célula β en la DM2 es semejante a una ecuación multifactorial, con un resultado en conjunto negativo. De este modo, sólo en una minoría de pacientes diabéticos existiría un solo factor etiológico subyacente al fracaso de la célula β (Pérez, 2009).

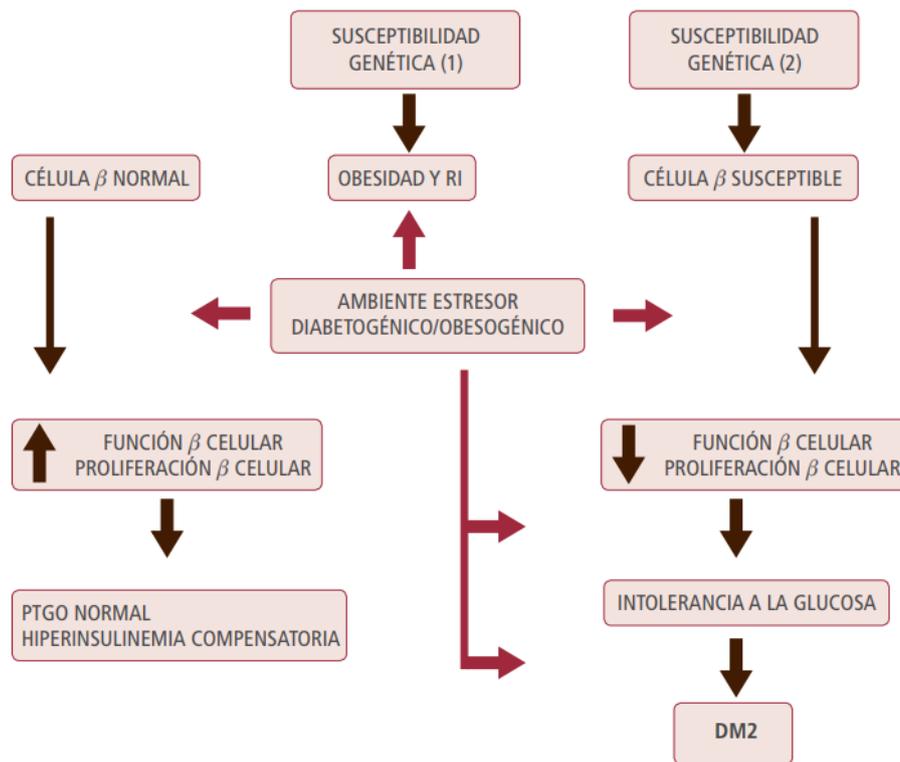


Figura 27. Predisposición genética para desarrollar DM2.

1) Genes asociados a IR y obesidad; 2) genes asociados a disfunción β pancreática. Tomada de Pérez, F., *Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2*, 2009.

2.3.2.2.3. Glucotoxicidad vs lipotoxicidad en la DM2

Ambos términos reflejan dos de las principales hipótesis que se han asociado a la etiopatogenia de la DM2. El modelo más clásico y probablemente más citado en la literatura corresponde al efecto glucotóxico el cual considera a la hiperglicemia como el factor primario generado por una causal común de IR asociada a la obesidad y la pérdida progresiva de la funcionalidad de la célula beta pancreática. Desde esta perspectiva, la DM2 correspondería a una enfermedad del metabolismo de la glucosa

que es controlada desde el ángulo de la hiperglicemia. Esta hipótesis ha sido revisitada en los dos últimos años bajo el concepto de “memoria metabólica” donde se le entrega a la hiperglicemia y a metabolismo mitocondrial un papel central en las complicaciones asociadas a la enfermedad (Pérez, 2009).

Una segunda hipótesis que ha visto un importante crecimiento en los últimos años corresponde a la perspectiva de la lipotoxicidad, la cual considera a la hiperglicemia, a la IR y a la disfunción beta pancreática como secundaria frente a efecto agresor que tendrían los lípidos, la lipotoxicidad y el depósito ectópico de grasa. Uno de los principales apoyos que encuentra esta hipótesis deriva de los estudios asociados a las nuevas cirugías como el “banding” gástrico, donde la corrección del peso y la sobrecarga lipídica ha llegado a generar una remisión de hasta el 70% de la diabetes en pacientes sometidos a este tratamiento. Estudios recientes han demostrado que la acumulación ectópica de lípidos en los islotes del páncreas puede provocar destrucción por lipotoxicidad de las células beta y precipitar la hiperglicemia, lo que daría la prueba final de la consistencia de la teoría lipocéntrica (Pérez, 2009).

A pesar de que ambas hipótesis son plausibles, hay evidencia que sigue apoyando la presencia de ambos mecanismos, la mayor dificultad de ambas visiones ha sido aislar el efecto, dado que en la gran mayoría de los pacientes con DM2 suele presentarse el efecto gluco y lipotóxico casi en forma simultánea. La evidencia más actual sigue indicando que ambos procesos son muy relevantes, que la lipotoxicidad tendría un papel más preponderante en la IR y que la glucotoxicidad sería un factor absolutamente importante en la disfunción de la célula beta (Pérez, 2009).

2.3.3. Epidemiología de la diabetes mellitus

La DM fue reconocida como un problema médico desde hace cientos de años. Los datos más antiguos se encontraron en el papiro de Ebers (1535 a.C.), en donde se describe un padecimiento con producción de grandes cantidades de orina. Areteo de Capadocia en el siglo II d.C. acuñó el término “diabetes” para describir una patología que producía exceso de orina y agregó el término “mellitus” (miel) para referirse a su característica de ser una orina dulce, que era pegajosa y atraía a las hormigas. En la actualidad la DM ocupa, a nivel mundial, los primeros lugares en morbilidad y mortalidad. Su importancia radica en su carácter crónico-degenerativo a nivel orgánico. A ello se suma un alto costo económico para los servicios de salud y para el paciente, quien adicionalmente ve afectada su calidad de vida y la de sus familiares. El diagnóstico de esta patología suele realizarse tardíamente, cuando la enfermedad está avanzada, debido a que en las primeras etapas puede ser asintomática y pasa desapercibida. Una de las principales barreras que muestra el manejo de esta patología es que requiere educación de quien la padece para lograr cambios en su estilo de vida, además de acompañarse de manejo farmacológico, lo que generalmente causa falta de apego al tratamiento (Velasco y Brena, 2014).

La mayoría de los 382 millones de personas con diabetes tiene entre 40 y 59 años, y el 80% de ellas vive en países de ingresos medios y bajos. Todos los tipos de diabetes aumentan, en particular la diabetes tipo 2: el número de personas con diabetes casi se multiplicará en el año 2035. Se estima que otros 21 millones de casos de altos niveles de glucosa en el embarazo contribuirán a la carga mundial de la diabetes. Las

madres de 17% de nacidos vivos en 2013 tenían algún tipo de alto nivel de glucemia durante el embarazo. Tanto en términos humanos como financieros, la carga de la diabetes es enorme. Provoca 5.1 millones de muertes y ha representado unos 548,000 millones de dólares en gastos de salud (11% del gasto total en todo el mundo) en 2013 (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

Las diferentes regiones están siendo afectadas en muy diferentes grados (figura 28). Con más de 138 millones de personas afectadas, el Pacífico Occidental tiene más personas con diabetes que cualquier otra región. En el otro extremo del ranking regional de la diabetes, la población con diabetes de África es actualmente la más pequeña entre todas las regiones. Sin embargo, en el año 2035 será el doble, y lo que resulta desfavorable para la capacidad de desarrollo de África es que más de tres cuartas partes de las muertes por diabetes en 2013 ocurrieron en personas menores de 60 años, es decir, en edad laboral. El panorama es igualmente preocupante en América Central y del Sur, donde se prevé que la población con diabetes aumente en un 60% en el año 2035. El rápido desarrollo ha conducido a una epidemia de la diabetes de rápido crecimiento en el Sudeste Asiático, lo que representa cerca de una quinta parte del total de casos en todo el mundo. Del mismo modo, la riqueza y el desarrollo en Oriente Medio y Norte de África han conducido a una gran proporción de diabetes, y uno de cada diez adultos de la región tiene la enfermedad (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

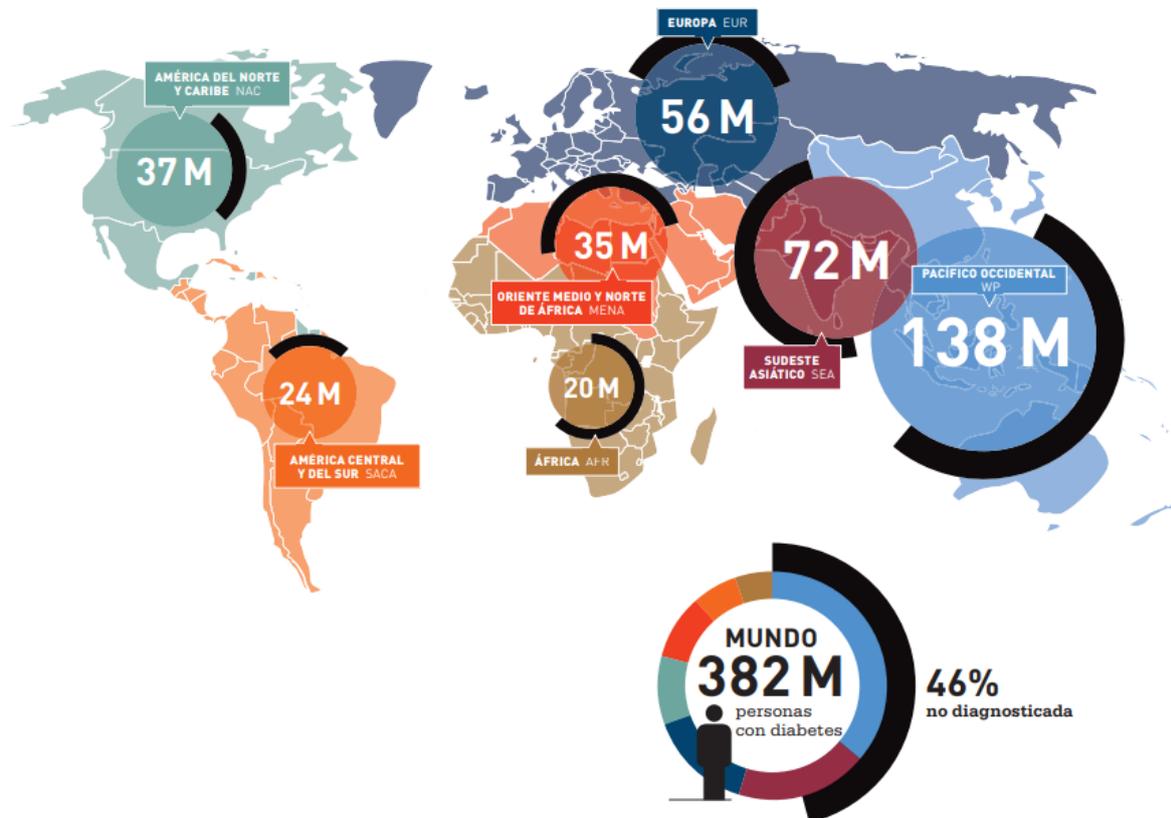


Figura 28. Número de personas con diabetes por región de la FID en el 2013.
Tomada de FID, Atlas de la diabetes de la FID, 2013.

Una mirada a los gastos de salud en diabetes por región revela enormes diferencias en las respuestas a la epidemia. Dos regiones gastaron más en diabetes que el resto

de las regiones juntas: América del Norte y Caribe, con unos 263,000 millones de USD estimados, el equivalente a casi la mitad de los gastos de salud en diabetes del mundo, y Europa con 147,000 millones de USD. A pesar de sus crecientes poblaciones con diabetes, el Sudeste Asiático y África dedican menos del 1% de su gasto total sanitario a la enfermedad (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

A nivel nacional, para el año 2014 la Federación Mexicana de Diabetes determinó que existen 4 millones de personas con este padecimiento en nuestro país. Los estados de mayor prevalencia son: la Ciudad de México, Nuevo León, Veracruz, Tamaulipas, Durango y San Luis Potosí (figura 29). Esto representó un gasto importante de 3,430 millones de dólares (68,600,000 millones de pesos) al año en su atención y en el manejo de las complicaciones. Se estima que, en nuestro país, 1 de cada 11 adultos vive con diabetes, de esta cifra, las personas con DM2 tienen una edad entre 40 y 59 años. De estos, 5% no tienen un diagnóstico y el 77% vive en estados con ingresos medios y bajos, originando, a su vez, 548 millones de dólares del gasto sanitario en el 2012. El padecer esta enfermedad aumenta el riesgo de presentar complicaciones como: cardiopatía y accidente vascular cerebral en un 50%, la neuropatía que, combinada con la reducción de los flujos sanguíneos, incrementa el riesgo de úlceras en los pies y amputación en sus últimas instancias, afectando a un 50% de los pacientes; la retinopatía diabética afecta en un período de 15 años al 2% de los pacientes, ocasionando ceguera, y un 10% sufre solo deterioro visual, mientras que la insuficiencia renal afecta de un 10 al 20% de los pacientes (Federación Mexicana de Diabetes, A.C., 2014).

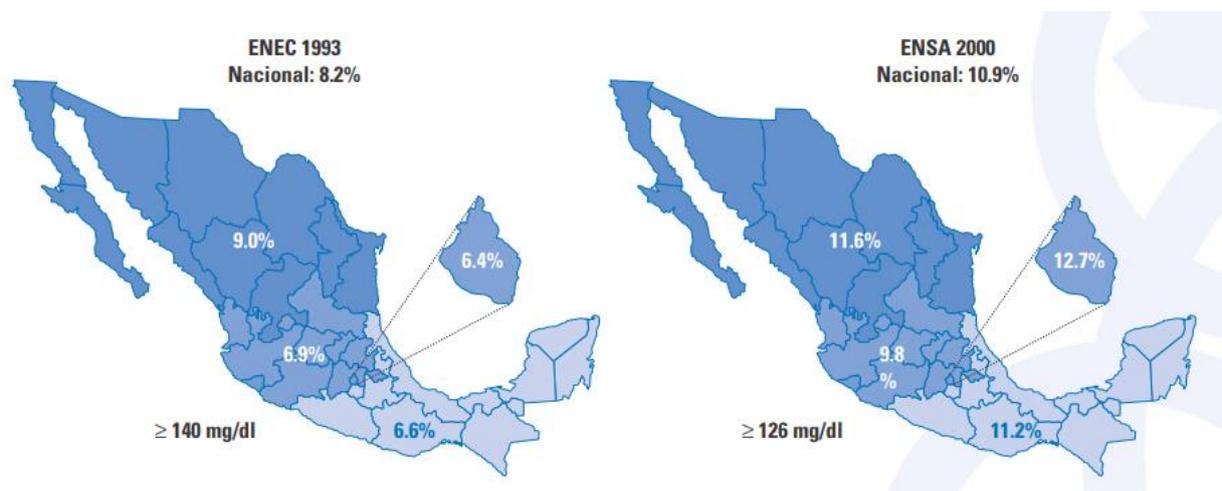


Figura 29. Comparación regional de prevalencias de diabetes según ENEC 1993 y ENSA 2000. Según información de la Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas (ENEC 1993), se estimó una prevalencia de diabetes de 8.2% en la población mexicana de 20 a 69 años y para el año 2000 la Encuesta Nacional de Salud 2000 (ENSA 2000) estimó la prevalencia en 10.9%. Tomada de SSA, Programa de acción: diabetes mellitus, 2001.

2.3.4. Diagnóstico de la diabetes mellitus

Los criterios bioquímicos de laboratorio convencionales para la confirmación del diagnóstico de diabetes son los siguientes (Gil et. al., 2013):

- Hemoglobina glucosilada fracción A1c (HbA1c) $\geq 6.5\%$ (prueba estandarizada y realizada en el laboratorio).
- Glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL (con ayuno de por lo menos ocho horas).
- Glucosa en plasma a las dos horas ≥ 200 mg/dL luego de que se le haya aplicado una prueba de tolerancia oral a la glucosa al paciente (según la técnica descrita por la OMS), por medio de la administración previa de una carga de glucosa anhidra de 75 g disuelta en agua.
- Hiperglucemia o glucemia ≥ 200 mg/dL.

2.3.5. Tratamiento de la diabetes mellitus

El tratamiento para la DM2 implica diversos aspectos a tratar, sin embargo, los objetivos clave que toda alternativa debe englobar son los siguientes (Reyes et. al., 2016):

- Mantener al paciente libre de síntomas y signos relacionados con la hiperglucemia e impedir las complicaciones agudas.
- Disminuir o evitar las complicaciones crónicas.
- Que el paciente puede realizar normalmente sus actividades física, mental, laboral y social, con la mejor calidad de vida posible.

Los factores a tener en cuenta en el tratamiento de la diabetes tipo 2 son (Reyes et. al., 2016):

- **Tratamiento preventivo:** múltiples ensayos clínicos aleatorizados recientes demuestran que personas con alto riesgo de desarrollar DM2 (pacientes con antecedentes de diabetes mellitus en familiares primer grado, obesidad, hipertensión arterial, personas mayores de 45 años de edad, mujeres con hijos macrosómicos, con síndrome de ovario poliquístico, alteración de la glucosa en ayunas, así como, tolerancia a la glucosa alterada), pueden retrasar su aparición, a través de programas bien estructurados para modificar estilos de vida. En el 58% de estos pacientes, se logra reducir el debut de esta enfermedad durante 3 años, con el uso de los siguientes fármacos: metformina, acarbosa, repaglinida y rosiglitazona que son también efectivos.
- **Tratamiento no farmacológico:** el tratamiento no farmacológico (modificación del estilo de vida y en especial la reducción del peso corporal en el paciente con sobrepeso) es el único tratamiento integral capaz de controlar simultáneamente la mayoría de los problemas metabólicos de las personas con diabetes, incluyendo la hiperglucemia, la resistencia a la insulina, la dislipoproteinemia y la hipertensión arterial. Además, comprende el plan de educación terapéutica, alimentación, ejercicios físicos y hábitos saludables.
- **Tratamiento farmacológico:** la elección del tratamiento debe ser una actuación centrada en el paciente, teniendo en cuenta los aspectos fisiopatológicos y los efectos secundarios de los fármacos, así como las comorbilidades y preferencias del paciente.

2.3.5.1. Opciones a tratamiento farmacológico para DM2

En la actualidad todas las guías de práctica clínica manifiestan la necesidad de iniciar tratamiento farmacológico en los pacientes en los que las modificaciones de los estilos de vida por sí solos son insuficientes para conseguir el control glucémico. Prácticamente todas ellas inician el tratamiento con metformina, excepto que haya contraindicaciones o intolerancia para su uso. Si al diagnóstico de la diabetes se suman síntomas de hiperglucemia o descompensación metabólica, lo que hace pensar en un déficit insulínico, se debe iniciar el tratamiento con insulina y metformina asociados (Alonso et. al., 2015).

Si el objetivo de control glucémico no se consigue en 3-6 meses, debe asociarse un segundo fármaco oral (sulfonilureas, tiazolidinedionas, inhibidores de la dipeptidil peptidasa 4 [DPP-4] o inhibidores del cotransportador de sodio-glucosa tipo 2), un fármaco agonista de los receptores del péptido similar al glucagón tipo 1 (GLP-1) o insulina basal. El beneficio sobre el control glucémico de las diferentes asociaciones con los fármacos orales es similar: reducciones del 0.64% al 0.9-1.1% en la hemoglobina glucosilada (HbA1c). Cuando la doble terapia no es suficiente para alcanzar el objetivo de HbA1c, la opción sería la triple terapia. Si posteriormente con el tratamiento combinado que incluya insulina basal el paciente no está en el objetivo fijado, se deben utilizar pautas de insulinización más complejas, manteniendo uno o dos de los fármacos distintos de insulina (Alonso et. al., 2015).

2.3.5.1.1. Las sulfonilureas (SU) en el tratamiento del paciente con DM2

Las SU son fármacos insulinosecretores que actúan en receptores específicos de la célula β pancreática. Fueron introducidas por Loubatières (1944) a partir de la comprobación de que determinadas sulfonamidas, además de presentar acción antiinfecciosa en la fiebre tifoidea, tenían potencialidad hipoglucemiante (Pallardo, 2008).

Son fármacos derivados de un núcleo sulfonilureico, con 2 radicales terminales en ambos extremos (R_1 , R_2), de cuya sustitución se derivan los diferentes compuestos. Según su estructura y en relación con la potencia de acción, se distinguen SU de primera (tolbutamida, clorpropamida, acetohexamida y tolazamida) y de segunda generación (glibenclamida, glipizida, glibornurida, gliquidona, gliclazida y glimepirida). Para su actuación, las SU precisan la existencia de una cierta integridad funcional pancreática, y no son activas en animales pancreatectomizados o con diabetes aloxánica, así como en pacientes diabéticos tipo 1 o con diabetes mellitus secundaria (pancreopatía). Aumentan la liberación de la insulina preformada (primera fase de secreción insulínica), no estimulan su biosíntesis y el cociente plasmático proinsulina/insulina es normal (Pallardo, 2008).

Las SU actúan mediante su unión a un receptor específico, situado en la membrana de la célula β (SUR-1), que junto con una unidad interna “rectificadora” (Kir 6.2), forman parte de los denominados canales de K^{+}_{ATP} dependientes. Esta unión provocará un cierre de los citados canales, con despolarización de la membrana celular y la ulterior apertura de canales de Ca^{2+} dependientes de voltaje, lo que favorece el tránsito intracelular de este ion hacia el citoplasma y la posterior exocitosis insulínica. En relación con la estructura de los referidos canales de K^{+}_{ATP}

dependientes (formados por 4 subunidades SUR y 4 subunidades Kir 6.x), en el organismo se ha descrito la existencia de diversas isoformas de receptores sulfonilureicos, localizados en el páncreas y las neuronas (SUR-1), el miocardio (SUR-2A) y las células musculares lisas vasculares (SUR-2B). La efectividad del tratamiento con SU se traduce en una disminución de la glucemia basal (50-70 mg/dL) y postprandial, que se acompaña de un descenso de la hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) (1.5-2%). La respuesta clínica está condicionada por diversos factores: biodisponibilidad tras su administración oral, tiempo en alcanzar el pico máximo de actividad, vida media, afinidad y cinética de interacción con el receptor pancreático SUR-1, actividad de sus metabolitos, vía de excreción, efectos secundarios y valores de HbA_{1c} previos al comienzo del tratamiento (Pallardo, 2008).

2.4. GLIBENCLAMIDA

2.4.1. Generalidades

La glibenclamida (gliburida, figura 30) es un agente antihiper glucémico oral utilizado para el tratamiento de la diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM). Pertenece a la clase de sulfonilureas de secretagogos de insulina, que actúan estimulando las células β del páncreas para liberar insulina. Se ha demostrado que la gliburida disminuye la glucemia en ayunas, la glucemia postprandial y los niveles de hemoglobina glucosilada (HbA_{1c}) (que reflejan las últimas 8-10 semanas de control de la glucosa). La gliburida parece estar completamente metabolizada, probablemente en el hígado. Aunque sus metabolitos ejercen un pequeño efecto hipoglucémico, se cree que su contribución al efecto hipoglucémico de gliburida es clínicamente poco importante. Los metabolitos de gliburida se excretan en la orina y las heces en proporciones aproximadamente iguales.

2.4.2. Propiedades fisicoquímicas

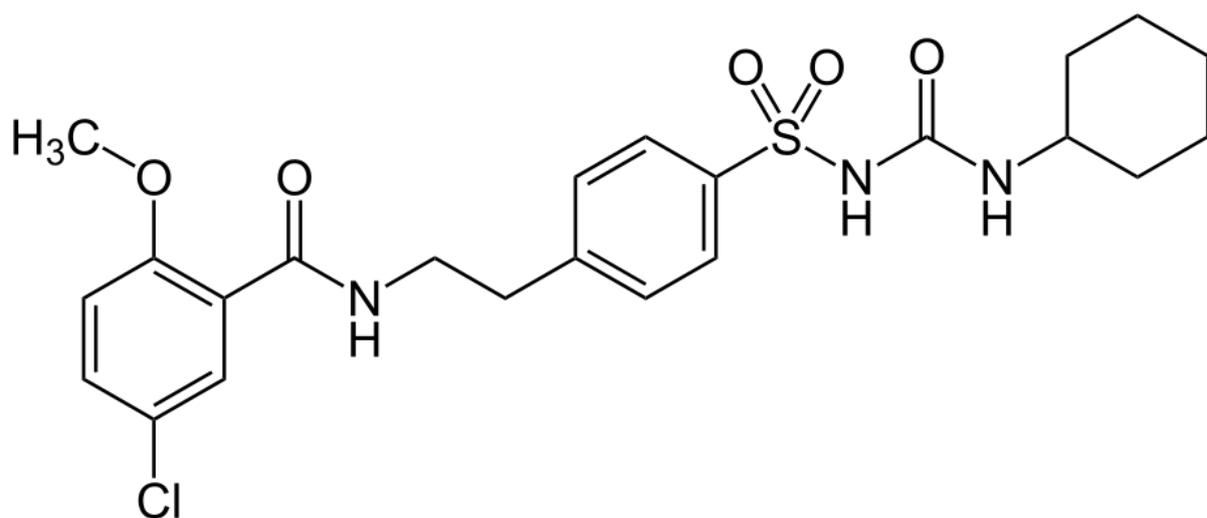


Figura 30. Estructura química de la Glibenclamida.
Tomada de Aguilar, C., *Hipoglucemiantes orales*, 2015.

A continuación, en la tabla 4 se muestran las propiedades fisicoquímicas de la Glibenclamida:

Tabla 4. Propiedades fisicoquímicas de la Glibenclamida.

Propiedad	Valor
Fórmula química	C ₂₃ H ₂₈ N ₃ ClO ₅ S
Nombre sistémico	5-cloro-N-[2-[4-(ciclohexilcarbamoilsulfamoil) fenil]etil]-2-metoxibenzamida
Peso molecular	494.004 g/mol (Da)
Punto de fusión	169°C
Densidad	1.4±0.1 g/cm ³
Solubilidad en agua	4 µg/mL a pH 3, 600 µg/mL a pH 9
Solubilidad en otras sustancias	3 mg/mL en etanol, fácilmente soluble en dimetilformamida, ligeramente soluble en cloroformo y cloruro de metileno, poco soluble en metanol y en etanol.
Coefficiente de partición (logP)	3.78
logS	-5.4
pKa (medio fuertemente ácido)	4.32
pKa (medio fuertemente básico)	-1.2
Pureza	98.0 – 102.0%
Pérdida por secado	No más de 1.0%
Residuos de incineración	No más de 0.5%
Metales pesados	0.002%
Clasificación biofarmacéutica	Tipo II: alta permeabilidad, baja solubilidad.
Absorción uv-vis	280 – 320 nm; 300 nm.

2.4.3. Propiedades farmacológicas

2.4.3.1. Farmacocinética

La glibenclamida se administra oralmente y es rápida y completamente absorbida por el tracto digestivo. El comienzo del efecto hipoglucemiante se manifiesta en las dos primeras horas, alcanzándose un máximo a las 3-4 horas. Después de dosis repetidas en pacientes diabéticos, no existe una correlación entre la dosis y las concentraciones plasmáticas. La gliburida se metaboliza completamente en el hígado originando dos metabolitos, que son sólo débilmente activos. Los metabolitos y el fármaco sin metabolizar son eliminados por igual en la orina y en las heces. La semivida de eliminación es de 10 horas y la duración del efecto hipoglucemiante es de 24hrs en pacientes con la función renal normal.

2.4.3.2. Farmacodinamia

La acción hipoglucemiante de la gliburida se debe a la estimulación de las células de los islotes pancreáticos lo que ocasiona un aumento de la secreción de insulina. Las sulfonilureas se unen a los receptores de los canales potásicos ATP-dependientes, reduciendo el paso del potasio y produciendo la despolarización de la membrana. Esta despolarización estimula la entrada de calcio a través de los canales de calcio voltaje-dependientes aumentando las concentraciones de calcio intracelulares, lo que induce, a su vez la secreción y/o exocitosis de la insulina.

2.4.3.3. Posología

Las dosis orales de glibenclamida recomendadas son:

- **Adultos:** inicialmente, 2.5-5 mg una vez al día, con el desayuno o comida. Las dosis de mantenimiento oscilan entre 1.25 y 20 mg/día, administrados en una sola dosis dividida.
- **Tercera edad:** se recomienda iniciar el tratamiento con 1.25 mg/día (glibenclamida convencional) ó 0.75 mg/día (glibenclamida micronizada).
- **Niños y adolescentes:** no se ha establecido la eficacia y la seguridad de la gliburida en estos pacientes.

2.4.3.4. Contraindicaciones, interacciones farmacológicas y reacciones adversas

La glibenclamida está contraindicada en pacientes con una hipersensibilidad conocida a las sulfonilureas. Se han descrito reacciones alérgicas como angioedema, artralgia, mialgia y vasculitis. La glibenclamida no debe ser administrada en monoterapia a pacientes con diabetes de tipo 1, ni en la cetoacidosis diabética, coma diabético, cirugía mayor, infecciones graves o trauma importante.

Las sulfonilureas son fármacos bien tolerados por regla general. Las reacciones adversas a la gliburida son usualmente pasajeras y relacionadas con la dosis. Las más frecuentes son las gastrointestinales como la náusea, vómito y pirosis que se observa en el 1.8% de los pacientes. Estos síntomas suelen ceder al reducir las dosis.

Las combinaciones de algunos fármacos antidiabéticos pueden incrementar el riesgo de hipoglucemia de tal forma que, al añadir un nuevo fármaco a un tratamiento pre-existente, el paciente debe ser monitorizado cuidadosamente. La cimetidina y la ranitidina han mostrado afectar la farmacocinética de algunas sulfonilureas, en particular la glipizida, la gliburida y la tolbutamida. El mecanismo de esta interacción puede implicar un aumento de la absorción o una reducción de la depuración de la sulfonilurea. Como resultado de esta interacción se ha observado hipoglucemias asintomáticas. Los pacientes bajo tratamiento antidiabético pueden tener hipoglucemias si se administran concomitantemente captopril o enalapril. No se conoce el mecanismo de esta interacción, aunque se cree que se debe a un aumento de la sensibilidad a la insulina. Por lo tanto, la administración de inhibidores de la ECA puede requerir una reducción de las dosis de antidiabéticos.

3. JUSTIFICACIÓN

La Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) se encuentra entre las primeras 10 causas de muerte a nivel mundial; es una causa frecuente de discapacidad en la población joven económicamente activa, empobreciendo a las familias o reduciendo la esperanza de vida. La mayoría de los 382 millones de personas con diabetes tiene entre 40 y 59 años, y el 80% de ellas vive en países de ingresos medios y bajos; tanto en términos humanos como económicos, la carga de la diabetes es enorme pues provoca 5.1 millones de muertes y ha representado unos 548,000 millones de dólares en gastos de salud, es decir, cerca del 11% del gasto total en todo el mundo en el 2013 (Federación Internacional de Diabetes, 2013).

En México específicamente en el año 2012 se reportaron 418,797 pacientes diagnosticados con diabetes (lo cual representa el 0.4% de la población mexicana), el 59% de los casos fueron del sexo femenino, siendo el grupo etario de 50-59 años de edad el más afectado, y se estima un incremento del 38.7% de número de casos para el 2030. Respecto al comportamiento de esta enfermedad en México, de 1998 al 2012 se ha observado una tendencia hacia el incremento en un 4.7%, pasando de una tasa de morbilidad de 342.1 a 358.2 casos por cada 100 mil habitantes, destacando que el comportamiento que presenta esta patología es hacia el incremento (Pascacio et. al., 2016).

El incumplimiento del tratamiento a largo plazo de las enfermedades crónicas, como las enfermedades cardiovasculares, diabetes o la depresión, es un problema mundial de gran magnitud y tiende a aumentar. Los problemas relacionados con el incumplimiento del tratamiento se observan en todas las situaciones en las que éste tiene que ser administrado por el propio paciente, independientemente del tipo de enfermedad. Se han realizado distintas investigaciones con el fin de crear, probar y validar instrumentos de medición de la adherencia al tratamiento, produciendo así un amplio abanico de posibilidades que varían en sus características como sensibilidad, especificidad y facilidad para la comprensión por parte de los sujetos de estudio. Todo ello ha facilitado que este tipo de mediciones indirectas, llamadas así debido a que no se observan directamente, provean una buena alternativa para valorar la adherencia terapéutica, y de esa manera el personal de salud pueda fortalecer dicho componente del tratamiento (Pascacio et. al., 2016).

El concepto de adherencia o cumplimiento terapéutico se define como el grado de coincidencia del comportamiento de un paciente en relación con los medicamentos que ha de tomar, el seguimiento de una dieta o los cambios que ha de hacer en su estilo de vida con las recomendaciones del profesional de la salud que lo atiende, esto de acuerdo a la OMS. Actualmente la falta de apego al tratamiento farmacológico se perfila como una de las principales causas del fallo terapéutico en los pacientes diabéticos. Aunado a esto, aumenta los costos para el paciente y el sistema de salud y seguridad social, además de resultados negativos y presencia de complicaciones (Pascacio et. al., 2016).

Incrementar el índice de apego al tratamiento en pacientes diabéticos no es una tarea fácil puesto que, en su mayoría, se trata de personas que oscilan entre los 40 a los

59 años de edad (como se mencionó anteriormente) y por ello resulta más difícil el modificar sus conductas de vida cotidianas a unas más saludables; la falta de adherencia se sitúa entre el 30 y el 51% en los pacientes con DM2 que toman hipoglucemiantes orales, y cerca del 25% en pacientes bajo tratamiento con insulina (Orozco Beltrán et. al., 2016). En la mayoría de los casos los altos índices de desapego al tratamiento se deben por desconocimiento de la enfermedad, desconfianza de la capacidad del médico, duración de la consulta menor a cinco minutos, falta de comprensión de las indicaciones médicas, escolaridad baja, estado civil e intolerancia a las formas de administración actuales de los medicamentos; lo cual se ve reflejado en los altos porcentajes de falta de adherencia terapéutica para pacientes con DM2 en tratamiento con hipoglucemiantes orales.

En línea con los estudios publicados, destaca con altos porcentajes de acuerdo que el cumplimiento terapéutico puede incrementarse con el establecimiento de una adecuada relación profesional sanitario-paciente, la importancia del papel conjunto entre el médico/enfermera y el cuidador principal del enfermo, la necesidad de contar con fármacos que se toleren mejor, y que el paciente disponga de suficiente información sobre la enfermedad, entre otros.

Ante esto, es necesario que los profesionales del sector salud busquen, desarrollen e implementen acciones para disminuir estos altos índices de falta de apego al tratamiento; de modo que el objetivo del presente trabajo es proponer el diseño, evaluación y caracterización de un parche transdérmico de Glibenclamida como una alternativa para incrementar el índice de apego al tratamiento en pacientes con DM2, a fin de ofrecer las siguientes ventajas frente a los hipoglucemiantes orales convencionales:

- Comodidad de la administración y mejora del cumplimiento posológico (pues se elimina el consumo diario de tabletas orales y con ello el olvido del mismo).
- Liberación controlada del principio activo, con la consiguiente obtención de niveles plasmáticos constantes y sostenidos, así como un efecto terapéutico constante en el paciente (disminuyendo el riesgo de hipoglucemia por sobredosis).
- Reducción de la frecuencia y magnitud de la dosis y de los efectos secundarios.
- Reducción de costos en la terapia farmacológica puesto que no implica toma diaria y su administración propicia efectos duraderos y prolongados.

4. HIPÓTESIS

El diseño y caracterización de un parche transdérmico de Glibenclamida con adecuadas propiedades químicas (contenido químico, velocidad de liberación y permeación) y físicas (peso, diámetro y área, resistencia a la ruptura, bioadhesión y bioadhesión posthumectación) podrá valorarse como alternativa para el incremento de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 dadas sus ventajas frente a los hipoglucemiantes orales convencionales.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Diseñar, evaluar y caracterizar un parche transdérmico de Glibenclamida con el uso de un promotor químico (dimetilsulfóxido) y uno físico (microagujas), realizando su evaluación *in vitro* en piel de cerdo como una propuesta alternativa para incrementar el índice de apego al tratamiento en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

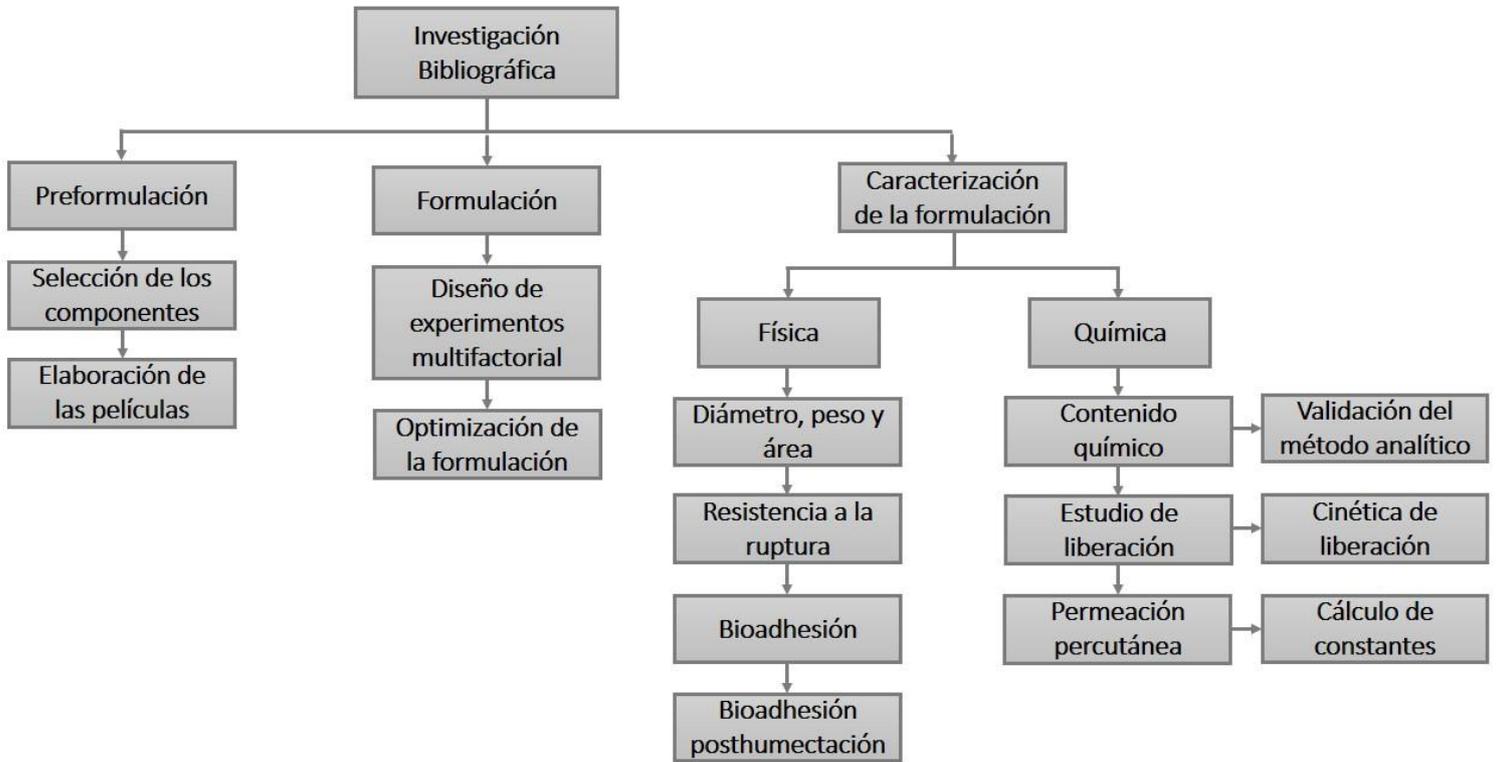
5.2. Objetivos específicos

- Elaborar una investigación documental referente al diseño, evaluación y caracterización de parches transdérmicos haciendo uso de promotores físicos y químicos, así como de las propiedades físicas, químicas y farmacológicas de la Glibenclamida.
- Proponer y desarrollar una formulación de un parche transdérmico de Glibenclamida que implique el uso de promotores físicos (microagujas) y químicos (dimetilsulfóxido).
- Caracterizar el parche transdérmico de Glibenclamida mediante la evaluación de sus características tecnológicas (diámetro, peso y área, resistencia a la ruptura, bioadhesión y bioadhesión posthumectación) y químicas (contenido químico, perfil de liberación y estudios de permeación).
- Desarrollar y validar un método analítico para la cuantificación del contenido químico de Glibenclamida en el parche transdérmico desarrollado mediante espectrofotometría UV/Vis.

6. METODOLOGÍA

6.1. Diagrama general

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



6.2. Reactivos

A continuación, en las tablas 5 y 6 se enlistan los reactivos utilizados para la elaboración de los parches transdérmicos y el material y equipos utilizados para su caracterización:

Tabla 5. Reactivos utilizados en la experimentación.

Reactivo	Procedencia	No. De lote
GLIBENCLAMIDA P.A.	CPQ	16GLB035
EUDRAGIT RL 100	HELM de México	G15086553
EUDRAGIT RS 100	EVONIK Industries	B130908519
HPMC SHEFFCEL 60HD5	KERRY	20150619
ETIL CELULOSA	SIGMA	BCBM7674V
POLIVINIL ALCOHOL	ALDRICH	MKCF2731
KOLLIcoat IR	SIGMA	BCBQ2792V
ALGINATO DE SODIO	COSMOPOLITA	40234
PVP K30	-	1408000025
TRIAcetina	ALDRICH	MKBR5987V
KOLLISOLV PG	BASF	77127468E0
PROPILENGLICOL	COSMOPOLITA	D3571ACW82
UREA	PRO ANALYSI	3656403
DIMETIL SULFÓXIDO	MEYER	G0514295
BUFFER HEPES	SIGMA	SLBH9885V
HIDRÓXIDO DE SODIO	MEYER	L0918586
ALCOHOL ETÍLICO ABSOLUTO	MEYER	B0319169
CLOROFORMO	MEYER	U0611578
DIMETIL FORMAMIDA	FERMONT	444464
ACETONA	J.T.BAKER	V08C55
AGUA DESIONIZADA	MILIPore INC	-

6.3. Material y equipos

Tabla 6. Material y equipos utilizados en la experimentación.

Material/Equipo	Procedencia	Modelo	No. de serie
ESPECTROFOTÓMETRO UV/VIS	Científica Vela Quin, S.A. de C.V.	VE 5100UV	AE1303032
POTENCIÓMETRO	HANNA Instruments	HI 2210	02505500
BALANZA ANALÍTICA	RADWAG	AS 220.R2	413789
TEXTURÓMETRO	BROOKFIELD	CT3 4500	8683434
PARRILLA C/TERMOAGITACIÓN	Science MED	MS-H-S10	MF10000064
MICROPIPETA	Steinberg Systems	SBS-PIP 100	4250928641694
ARREGLO DE MICROAGUJAS	Clinical Resolution	MT Microneedle (0.25 mm)	-
CELDA DE DIFUSIÓN	-	FRANZ (7 mL)	-
PINZAS PARA SUJECCIÓN DE CELDAS	-	-	-
MATRAZ VOLUMÉTRICO	KIMAX	25, 50, 100, 1000 mL	-
PIPETA VOLUMÉTRICA	KIMAX	2, 3, 4, 6, 8, 10 mL	-
VASO DE PRECIPITADOS	KIMAX	25, 50, 100, 250, 500, 1000 mL	-
PROBETA	KIMAX	50, 1000 mL	-
ESPÁTULA	-	-	-
VARILLA DE VIDRIO	-	-	-
CELDA PARA ESPECTROFOTÓMETRO	-	Cuarzo, 1 cm ²	-
BARRA MAGNÉTICA	-	-	-
SARTÉN CON TEFLÓN	T-fal	-	-
CAJA PETRI CIRCULAR	KIMAX	-	-
CENICERO DE VIDRIO	-	-	-

6.4. Métodos

6.4.1. Preformulación

6.4.1.1. Selección de los componentes de la formulación

La selección de los excipientes que caracterizarían la formulación se llevó a cabo mediante la elaboración de distintas películas utilizando diferentes tipos de polímeros, agentes plastificantes, promotores químicos y solventes, los cuales se presentan en la tabla 7. Se probaron además distintas superficies de moldeo: teflón, cajas Petri de vidrio circulares y ceniceros de cristal. La elección de los componentes se llevó a cabo mediante su evaluación física tomando en cuenta su apariencia y consistencia posterior al periodo de secado.

Tabla 7. Formulaciones propuestas para el desarrollo del parche transdérmico de Glibenclamida.

Formulación	Componente	Función	Cantidad recomendada (%p/v)	Cantidad utilizada
1	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	HPMC	Agente gelificante en matrices hidrófilas de liberación modificada. Es un agente de recubrimiento, de suspensión, aglutinante de tabletas, de espesamiento y formador de películas.	15 – 30%	200 mg
	Alginato de sodio	Agente de suspensión. Es un agente estabilizador, disgregante de tabletas y cápsulas, aglutinante e incrementa la viscosidad.	1 – 5%	100 mg
	Kollisolv PG	Plastificante, humectante. Es base en pomadas, supositorios, solvente, lubricante en tabletas y cápsulas.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	$\geq 50\%$	15%
	Etanol	Cosolvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración.	10 mL
	Agua	Solvente.	c.b.p.	10 mL
2	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	HPMC	Agente gelificante en matrices hidrófilas de liberación modificada. Es un agente de recubrimiento, de suspensión, aglutinante de tabletas, de espesamiento y formador de películas.	15 – 30%	200 mg

	Alginato de sodio	Agente de suspensión. Es un agente estabilizador, disgregante de tabletas y cápsulas, aglutinante e incrementa la viscosidad.	1 – 5%	100 mg
	Propilenglicol	Plastificante, humectante. Es base en pomadas, supositorios, solvente, lubricante en tabletas y cápsulas.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	≥ 50%	15%
	Etanol	Cosolvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración. c.b.p.	10 mL
	Agua	Solvente.		10 mL
3	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	
	HPMC	Agente gelificante en matrices hidrófilas de liberación modificada. Es un agente de recubrimiento, de suspensión, aglutinante de tabletas, de espesamiento y formador de películas.	15 – 30%	400 mg
	PVP K30	Agente desintegrante que ayuda a la disolución. Es un agente de suspensión y aglutinante de comprimidos.	10 – 25%	200 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	≥ 50%	15%
	Etanol	Cosolvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración. c.b.p.	10 mL
	Agua	Solvente.		10 mL
4	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	
	Kollicoat	Agente formador de película soluble en agua aplicado en la fabricación de recubrimientos de liberación instantánea para formas de dosificación sólidas, y para aplicaciones como la unión, la formación de poros y la estratificación de fármacos.	15 – 30%	500 mg
	PVP K30	Agente desintegrante que ayuda a la disolución. Es un agente de suspensión y aglutinante de comprimidos.	10 – 25%	100 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	≥ 50%	15%
	Etanol	Solvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración.	20 mL

5	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	Etil celulosa	Agente de recubrimiento. Es un agente fijador de sabor, aglutinante de tabletas, relleno de tabletas y además es un agente que aumenta la viscosidad.	10 – 20 %	500 mg
	PVP K30	Agente desintegrante que ayuda a la disolución. Es un agente de suspensión y aglutinante de comprimidos.	10 – 25%	100 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	$\geq 50\%$	15%
	Etanol	Solvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración.	20 mL
6	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	Etil celulosa	Agente de recubrimiento. Es un agente fijador de sabor, aglutinante de tabletas, relleno de tabletas y además es un agente que aumenta la viscosidad.	10 – 20 %	500 mg
	HPMC	Agente gelificante en matrices hidrófilas de liberación modificada. Es un agente de recubrimiento, de suspensión, aglutinante de tabletas, de espesamiento y formador de películas.	15 – 30%	500 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	$\geq 50\%$	15%
	Acetona	Solvente.	Clasificación 2 ICH para solventes.	20 mL
7	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	Polivinil alcohol	Agente de recubrimiento. Es un agente lubricante, estabilizante y que aumenta la viscosidad.	10 – 20%	400 mg
	PVP K30	Agente desintegrante que ayuda a la disolución. Es un agente de suspensión y aglutinante de comprimidos.	10 – 25%	200 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%

	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	≥ 50%	15%
	Etanol	Cosolvente.	Clasificación 3 ICH para solventes. No existe un límite de concentración.	10 mL
	Agua	Solvente.	c.b.p.	10 mL
8	Glibenclamida	Principio activo. Hipoglucemiante de segunda generación perteneciente al grupo de las sulfonilureas que actúa por estimulación de las células β del páncreas para la liberación insulina.	Dosis inicial, 2.5 a 5 mg de forma oral una vez al día; valorar en incrementos de no más de 2.5 mg semanales en función de la respuesta glucémica; máximo 5 mg/día.	100 mg
	Eudragit RS 100	Polímero acrílico de baja permeabilidad usado para recubrimiento de formas farmacéuticas sólidas principalmente para sistemas de liberación prolongada aunque bajo ciertas condiciones puede usarse también para obtener películas de liberación inmediata.	15 – 30%	700 mg
	Eudragit RL 100	Polímero acrílico de alta permeabilidad usado para recubrimiento de formas farmacéuticas sólidas principalmente para sistemas de liberación prolongada aunque bajo ciertas condiciones puede usarse también para obtener películas de liberación inmediata.	15 – 30%	300 mg
	Triacetina	Plastificante, humectante y solvente.	15 – 30%	30%
	Dimetilsulfóxido	Promotor químico de la permeación percutánea.	≥ 50%	15%
	Cloroformo	Solvente.	Clasificación 2 ICH para solventes.	20 mL

6.4.1.2. Elaboración de las películas poliméricas

La elaboración de las películas poliméricas en base a las distintas formulaciones propuestas se llevó a cabo mediante la metodología descrita por Escobar Chávez et. al., 2012, describiéndose a continuación:

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia y que el material se encuentre completamente limpio y seco.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos los mg requeridos de principio activo (según la tabla 7), en un vaso de precipitados de 50 mL con una balanza analítica adecuada.
3. Medir el volumen requerido del solvente (y cosolvente según se requiera de acuerdo a la tabla 7) con una probeta graduada de 50 mL.
4. Adicionar el solvente (y cosolvente según se requiera) y solubilizar con ayuda de un agitador magnético a 500 rpm por 10 minutos y a temperatura ambiente, tapando el vaso con papel aluminio para evitar la evaporación del mismo.
5. Pesar aproximadamente bien conocidos los mg necesarios de los agentes formadores de películas (según la tabla 7) en un vaso de precipitados de 25 mL, por separado, con una balanza analítica adecuada.

6. Adicionar los agentes formadores de películas uno a uno (de forma individual), lentamente a la mezcla que contiene el principio activo y solubilizar con ayuda de un agitador magnético a 500 rpm por 15 minutos y a temperatura ambiente, manteniendo el vaso de precipitados tapado con papel aluminio para evitar la evaporación de los solventes.
7. Adicionar los μL necesarios de agente plastificante y promotor químico de la permeación percutánea con una micropipeta adecuada.
8. Mantener la agitación a velocidad y temperatura constante por 5 minutos más para asegurar la completa homogenización de los componentes en la mezcla.
9. Verter la solución anterior en un molde adecuado (figura 31) y colocar un embudo de forma invertida para evitar la evaporación rápida de los solventes.
10. Dejar secar las películas por un lapso de 24 a 48 horas aproximadamente, según se requiera.
11. Una vez transcurrido el tiempo de secado de las películas, almacenarlas en un desecador adecuado para su uso posterior.

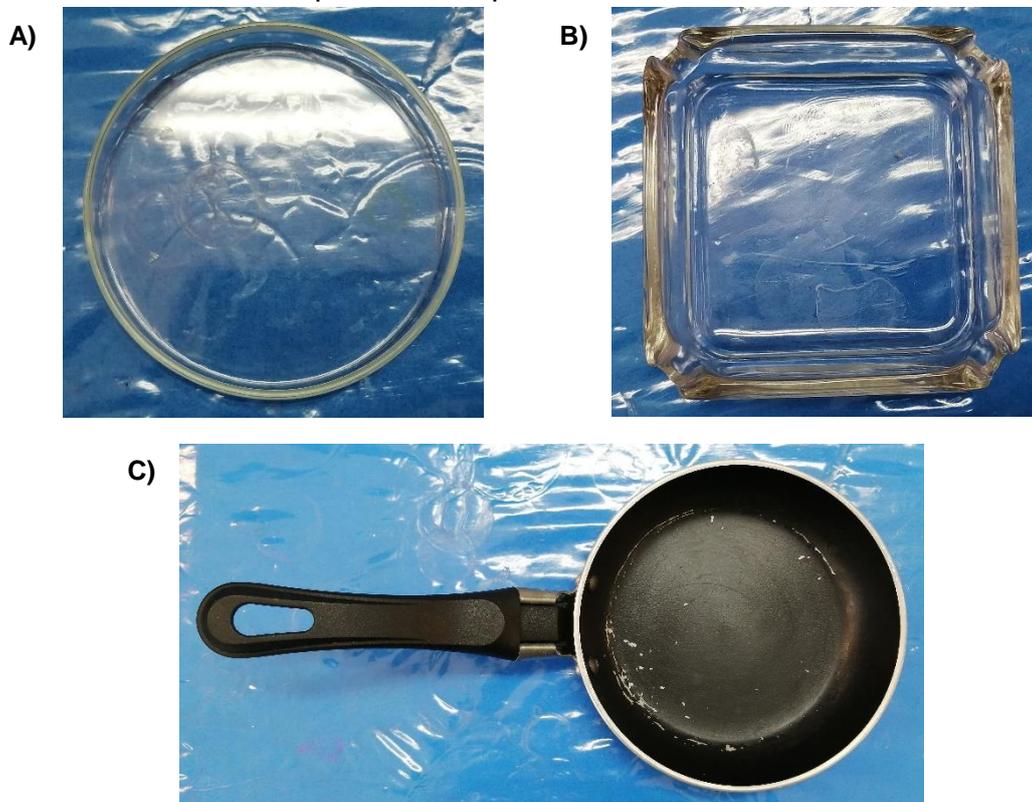


Figura 31. Moldes utilizados para la formación de las películas poliméricas.

En la figura anterior se observan los moldes utilizados para la formación de las películas poliméricas: **a)** cajas Petri circulares de vidrio, **b)** ceniceros cuadrados de vidrio y **c)** sartenes circulares con teflón.

6.4.2. Formulación

De acuerdo a la evaluación física de las películas realizadas (según la tabla 7), se seleccionó aquella que tuviera mejor aspecto y consistencia al tacto (formulación 8; para mayor información consultar el apartado correspondiente en la sección de resultados). Posteriormente, se llevó a cabo un diseño de experimentos de tipo factorial 3^2 utilizando el software Statgraphics Centurión XV.II, en el cual los factores a estudiar fueron la proporción de los agentes formadores de películas estableciendo dos niveles: bajo y alto y las respuestas a analizar fueron: resistencia a la ruptura,

bioadhesión y bioadhesión posthumectación (para mayor información consultar el anexo 11.2: Utilización del software Statgraphics Centurión XV.II). Los factores, niveles, respuestas, condiciones fijas e hipótesis se pueden observar en la tabla 8.

Tabla 8. Descripción del diseño de experimentos para la elección de la formulación óptima.

Factores	Niveles	Respuestas	Condiciones fijas
Eudragit RL 100	Bajo: 300 mg	Resistencia a la ruptura	Cantidad de fármaco
	Alto: 700 mg	Bioadhesión	Cantidad de plastificante
Eudragit RS 100	Bajo: 300 mg	Bioadhesión	Medio de disolución
	Alto: 700 mg	Posthumectación	Proceso de elaboración de las películas poliméricas
Hipótesis			
Hipótesis nula: Las respuestas (resistencia a la ruptura, bioadhesión y bioadhesión posthumectación) no dependen de la relación Eudragit RL 100: Eudragit RS 100.			
Hipótesis alterna: Las respuestas (resistencia a la ruptura, bioadhesión y bioadhesión posthumectación) si dependen de la relación Eudragit RL100: Eudragit RS 100.			

La matriz experimental consistió en 27 formulaciones (tabla 9), realizando 3 réplicas y estableciendo el orden de los experimentos de forma completamente aleatorizada con 19 grados de libertad para el error total.

Tabla 9. Matriz experimental del diseño para la elección de la formulación óptima.

Formulación	Bloque	Eudragit RS 100 (mg)	Eudragit RL 100 (mg)
1	1	700	300
2	1	300	700
3	1	500	500
4	1	500	700
5	1	300	500
6	1	700	700
7	1	500	300
8	1	300	300
9	1	700	500
10	2	700	700
11	2	500	500
12	2	300	300
13	2	700	300
14	2	500	700
15	2	300	700
16	2	500	300
17	2	700	500
18	2	300	500
19	3	700	300
20	3	500	300
21	3	500	500
22	3	700	500
23	3	300	300
24	3	700	700
25	3	300	700
26	3	500	700
27	3	300	500

6.4.3. Optimización, caracterización física y química de la formulación

6.4.3.1. Optimización de la formulación

Una vez obtenidas las cantidades óptimas de los agentes formadores de películas con base en los resultados del diseño de experimentos elaborado, se procedió a la preparación de las películas con un total de 10 réplicas, acorde al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2.

6.4.3.2. Caracterización física y química de la formulación

Tras la elaboración de las 10 réplicas de las películas poliméricas con base en los resultados obtenidos de la optimización de la formulación, se procedió a la evaluación física de las mismas llevando a cabo la determinación de: peso, diámetro y área, resistencia a la ruptura, bioadhesión, bioadhesión posthumectación y examinación bajo microscopía óptica; y química mediante las evaluaciones de: contenido químico, perfil de liberación y estudios de permeación a través de piel animal.

6.4.3.2.1. Determinación de peso, diámetro y área

Para la determinación de peso y diámetro de las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Con ayuda de unas tijeras, cortar un rectángulo de papel encerado de aproximadamente 15 cm de alto y 40 cm de largo.
2. Sacar cada una de las películas almacenadas en el desecador y colocarlas en la capa de papel encerado preparado anteriormente.
3. Verificar que la balanza analítica sea adecuada para las determinaciones de peso de las películas y se encuentre, además, completamente limpia.
4. Llevar a cabo la determinación del peso de cada una de las películas elaboradas registrando los datos obtenidos y obtener el peso promedio.
5. Una vez obtenido el peso de las películas, llevar a cabo la determinación del diámetro de cada una de ellas utilizando una regla graduada de 30 cm.
6. Registrar los datos obtenidos y determinar el diámetro promedio de las películas.
7. Una vez obtenido el diámetro de cada una de las películas, llevar a cabo la determinación del área de cada una de ellas mediante la siguiente ecuación:

Ecuación 4.1:
$$\text{Área} = \pi \cdot r^2$$

6.4.3.2.2. Determinación de resistencia a la ruptura

Para la determinación de resistencia a la ruptura de las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Con ayuda de unas tijeras y una regla graduada de 30 cm, cortar 10 tiras de películas poliméricas de 2x6 cm.
2. Ensamblar el par de pinzas (superiores e inferiores) para la determinación de resistencia a la ruptura en el texturómetro Brookfield CTB Texture Analyzer (figura 32).



Figura 32. Texturómetro Brookfield CTB Texture Analyzer.

3. Sujetar la película con cada una de las pinzas y ajustar hasta que la película quede completamente recta (figura 34).
4. Ejecutar el software del equipo “TexturePro CT V1.4 Build 17” desde la computadora asignada y ajustar las condiciones experimentales de la siguiente manera; tipo de test: tensión, velocidad del ensayo: 0.5 mm/s, carga de activación (o fuerza de tensión): 6.8 g y distancia máxima de separación: 100 mm (figura 33).

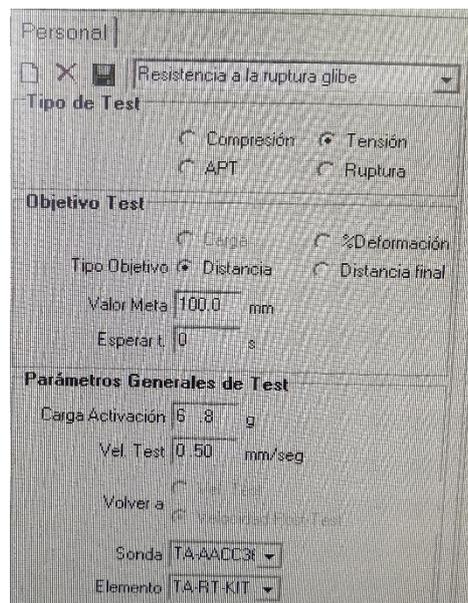


Figura 33. Condiciones del ensayo para la determinación de resistencia a la ruptura.

5. Ejecutar el ensayo dando clic en el apartado “iniciar test” (figura 34).

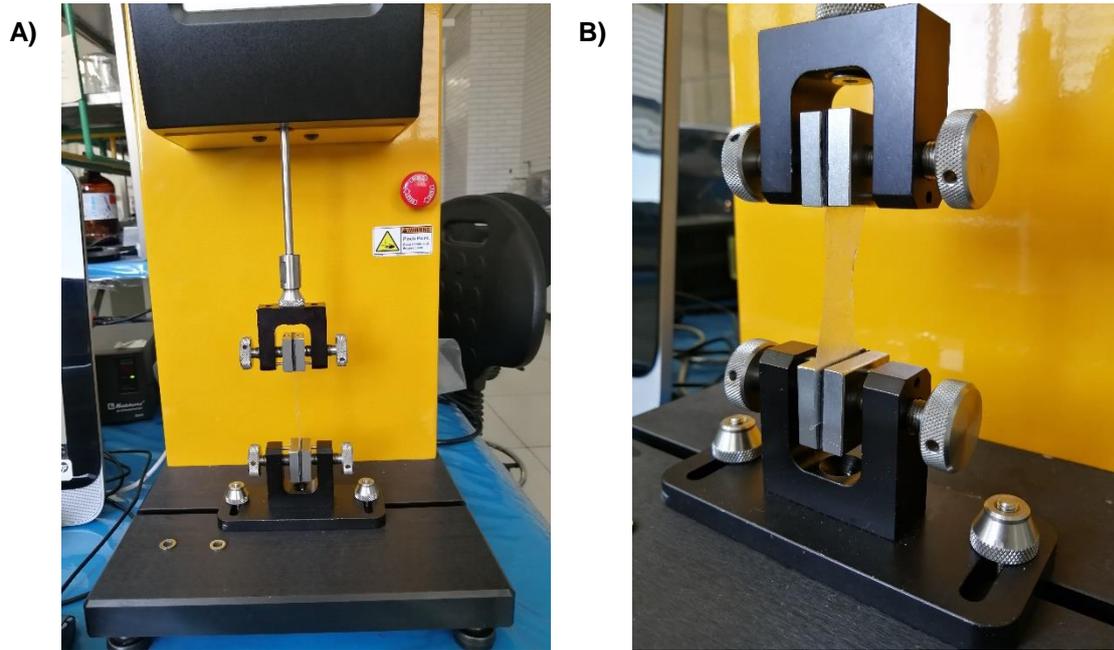


Figura 34. Ejecución del ensayo “Resistencia a la ruptura”.

a) Colocación de las pinzas de sujeción y ajuste de la película; **b)** realización del ensayo una vez establecidas las condiciones del mismo, el cual permite determinar la fuerza necesaria para fracturar el parche.

6.4.3.2.3. Determinación de bioadhesión

Para la determinación de bioadhesión de las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Con ayuda de unas tijeras y una regla graduada de 30 cm, cortar 10 círculos de películas poliméricas de aproximadamente 1 cm² de área.
2. Ensamblar la sonda cilíndrica (cilindro perplex) en la parte superior del texturómetro Brookfield CTB Texture Analyzer cuidadosamente.
3. Ensamblar la base de soporte en la parte inferior del texturómetro.
4. Ejecutar el software del equipo “TexturePro CT V1.4 Build 17” desde la computadora asignada y ajustar las condiciones experimentales de la siguiente manera; tipo de test: compresión, velocidad del ensayo: 0.5 mm/s, carga de activación (o fuerza de tensión): 6.8 g y altura: 10 mm.

5. Llevar a cabo la prueba colocando el antebrazo de voluntarios sanos (sin tratamiento farmacológico o cosmético previo por lo menos 12 horas antes del ensayo) en la base de soporte y seleccionando la opción “iniciar test” en el apartado correspondiente (figura 35).

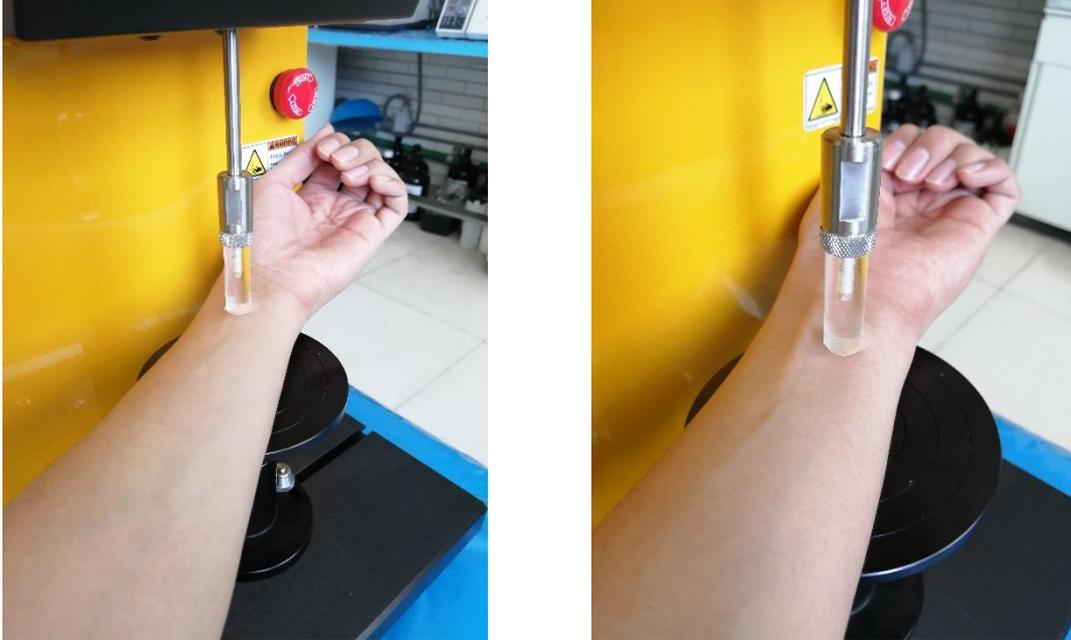


Figura 35. Ejecución del ensayo “Bioadhesión”.

Realización del ensayo una vez establecidas las condiciones del mismo, el cual permite determinar la fuerza necesaria para desprender el parche de la piel.

6.4.3.2.4. Determinación de bioadhesión posthumectación

Para la determinación de bioadhesión de las películas poliméricas se llevó a cabo un procedimiento similar a los estudios de bioadhesión, con la diferencia de que las muestras se hidrataron con agua desionizada 10 minutos antes de realizar el test y a una distancia aproximada de 30 cm.

6.4.3.2.5. Examinación bajo microscopía óptica

Para la examinación bajo microscopía óptica de las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Con ayuda de unas tijeras y una regla graduada de 30 cm cortar una muestra circular de película polimérica de aproximadamente 1 cm² de área.

2. Examinar las muestras en el microscopio óptico bajo el objetivo de 40x a los 10, 30 y 90 días de haber sido elaboradas (figura 36).



Figura 36. Microscopio óptico Motic.

6.4.3.2.6. Determinación de contenido químico (cuantificación de Glibenclamida)

Para la determinación del porcentaje de contenido químico de Glibenclamida en las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesarse por separado 10 parches transdérmicos para la determinación del peso promedio en una balanza analítica adecuada.
3. Cortar 10 parches transdérmicos en forma cuadrada de 3x3 cm y pesarlos de forma individual para determinar el peso promedio en una balanza analítica adecuada.
4. Calcular la cantidad teórica de Glibenclamida en cada parche de 3x3 cm en base a los pesos promedios determinados anteriormente.
5. Colocar cada parche transdérmico en un vaso de precipitados de 50 mL y adicionar 20 mL de etanol con una probeta de 50 mL.
6. Disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
7. Filtrar la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL con ayuda de un embudo de vidrio y papel filtro, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol para asegurar el trasvase de todo el contenido.
8. Llevar hasta la marca de aforo con acetona y homogenizar completamente.
9. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol y homogenizar completamente (solución B).

10. Ajustar el espectrofotómetro a 0% de absorbancia y 100% de transmitancia utilizando como blanco etanol.
11. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico utilizando la ecuación de la recta obtenida en la curva de calibración preparada previamente (de acuerdo a lo establecido en el anexo 2: Validación del método analítico para la determinación de Glibenclamida en el parche transdérmico).

6.4.3.2.7. Estudio de la liberación de Glibenclamida en el parche transdérmico

Para llevar a cabo el estudio de liberación (figura 37) de Glibenclamida en las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Colocar en la parrilla de agitación magnética un vaso de precipitados de 1000 mL que contiene 700 mL de Buffer HEPES (pH = 7.4) hasta alcanzar una temperatura de 37°C +/- 1°C.
3. Cortar 7 parches transdérmicos en forma circular de aproximadamente 2 cm² de área (6 muestras y 1 placebo elaborado a partir de todos los componentes de la formulación exceptuando el fármaco) y pesarlos de forma individual para determinar el peso promedio en una balanza analítica adecuada.
4. En 7 vasos de precipitados de 250 mL, colocar una base de plástico (figura 37) y posteriormente adicionar 100 mL de Buffer HEPES (pH = 7.4) a 37°C +/- 1°C con una probeta graduada de 200 mL y adicionar una barra magnética.
5. Con ayuda de unas pinzas metálicas, colocar cada una de las muestras de parche transdérmico dentro del aditamento para llevar a cabo la prueba (figura 37).
6. Colocar cada uno de los aditamentos sobre la base que se encuentra dentro de cada vaso de precipitados, permitiendo la exposición de una cara del parche transdérmico al medio de disolución.
7. Comenzar la agitación magnética a una velocidad de 50 rpm y a una temperatura de 37°C +/- 1°C.
8. Llevar a cabo la toma de muestra de 2 mL a las 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 26 horas, sin reposición del medio de disolución con una pipeta graduada de 5 mL.
9. Colocar las muestras en viales tipo Eppendorf de 2 mL.
10. Ajustar el espectrofotómetro al 0% de absorbancia y 100% de transmitancia utilizando como blanco Buffer HEPES (pH = 7.4).
11. Llevar a cabo la lectura de las muestras a una longitud de onda de 300 nm y graficar la cantidad de principio activo liberada (en mg) vs tiempo (en horas).



Figura 37. Estudio de liberación de Glibenclamida en el parche transdérmico.

6.4.3.2.7.1. Determinación de la cinética de liberación de Glibenclamida en el parche transdérmico

Para la determinación de la cinética de liberación del fármaco en el parche transdérmico los datos fueron ajustados a los modelos de orden cero, primer orden, Higuchi y Korsmeyer-Peppas a través de las ecuaciones que se muestran en el apartado 2.2.5, de la sección “Marco teórico”.

6.4.3.2.8. Estudio *in vitro* de permeación a través de piel animal de Glibenclamida en el parche transdérmico

6.4.3.2.8.1. Tratamiento de la piel animal

Para llevar a cabo el estudio *in vitro* de permeación se utilizó piel de cerdo (ya que es la más parecida a la piel humana en cuanto a características) de la parte del lomo, removiendo previamente el exceso de grasa (figura 38). Posteriormente se cortaron trozos pequeños que permitieran cubrir el área total de las celdas de difusión (aproximadamente 4 cm²) y se pasó superficialmente el arreglo de microagujas de 0.25 mm de longitud de manera horizontal, vertical y transversal 10 veces para cada dirección (figura 39). Finalmente, la piel se almacenó a -20°C hasta su uso posterior.



Figura 38. Piel de cerdo utilizada para el estudio de permeación percutánea.

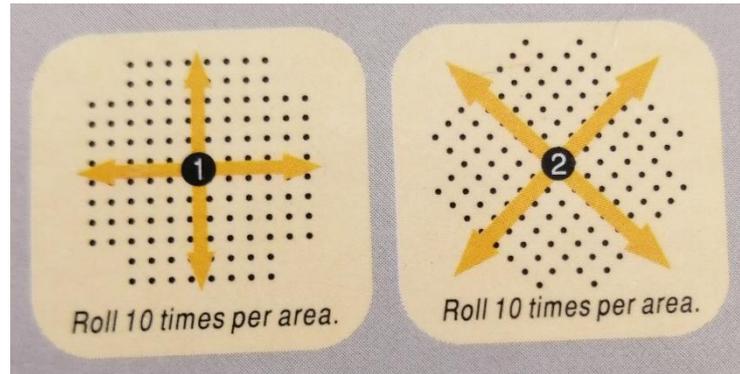


Figura 39. Arreglo de microagujas y direcciones de paso de las microagujas sobre la piel.

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

Para llevar a cabo el estudio *in vitro* de permeación percutánea (figura 40) de Glibenclamida en las películas poliméricas se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Colocar en la parrilla de agitación magnética un vaso de precipitados de 1000 mL que contiene 900 mL de Buffer HEPES (pH = 7.4) hasta alcanzar una temperatura de 37°C +/- 1°C.
3. Cortar 7 parches transdérmicos en forma circular de aproximadamente 3 cm² de área (6 muestras y 1 placebo elaborado a partir de todos los componentes de la formulación exceptuando el fármaco) y pesarlos de forma individual para determinar el peso promedio en una balanza analítica adecuada.
4. Colocar una barra magnética en el interior de cada una de las celdas.
5. Con ayuda de unas pinzas metálicas colocar el trozo de piel (previamente tratado y descongelado) sobre el contenedor receptor y encima de éste colocar la muestra de parche transdérmico.
6. Colocar el compartimiento donador encima de la piel y el parche y sujetar firmemente con ayuda de las pinzas de sujeción. Sellar la parte superior con parafilm a fin de simular un compartimiento cerrado.
7. Adicionar aproximadamente 7 mL de Buffer HEPES (pH = 7.4) a 37°C +/- 1°C (o hasta ver que la celda está completamente llena sin formar burbujas en la interfaz piel-medio receptor) con ayuda de una jeringa de 10 mL.
8. Comenzar la agitación magnética a una velocidad de 50 rpm y a una temperatura de 37°C +/- 1°C.
9. Llevar a cabo la toma de muestra de 2 mL a cada 2 horas por un lapso de 32 horas con reposición del medio de disolución.
10. Colocar las muestras en viales tipo Eppendorf de 2 mL.
11. Ajustar el espectrofotómetro al 0% de absorbancia y 100% de transmitancia utilizando como blanco Buffer HEPES (pH = 7.4).

12. Llevar a cabo la lectura de las muestras a una longitud de onda de 300 nm y graficar la cantidad de principio activo acumulada (en mg) por centímetro cuadrado de parche vs tiempo (en horas).

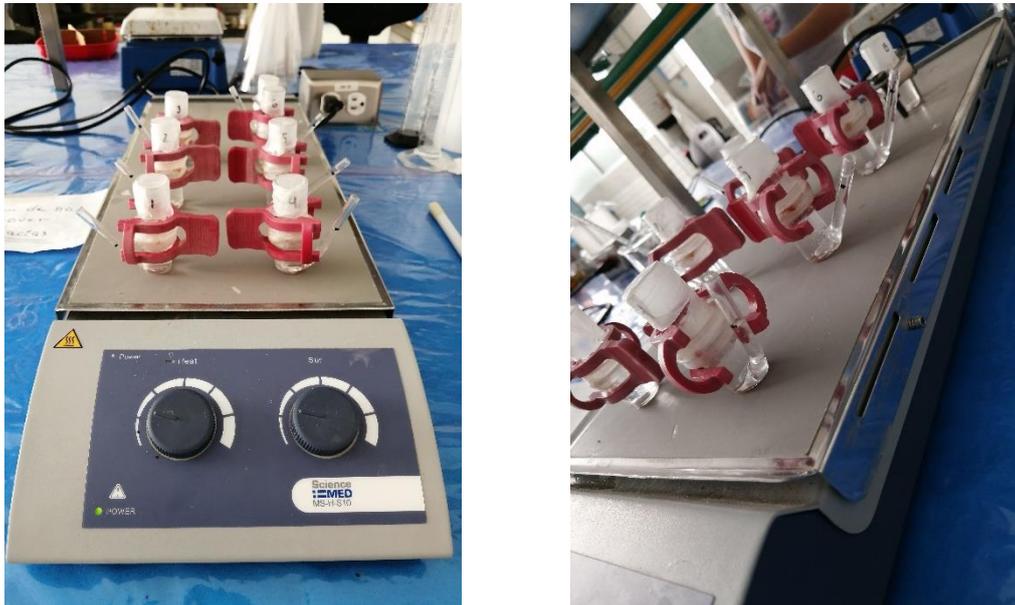


Figura 40. Estudios *in vitro* de absorción percutánea.

6.4.3.2.8.3. Cálculo de los parámetros obtenidos

La determinación de los parámetros correspondientes a los estudios de difusión consistió en el cálculo de los siguientes parámetros:

- Tiempo de latencia (T_L).** Obtenido a partir de la ecuación de la línea recta para los últimos cinco puntos del estudio de permeación percutánea. Resulta del despeje de "x" sustituyendo como cero la propiedad "y", obteniendo como resultado el cruce de la recta con el eje de las abscisas en horas y considerándose así el tiempo cero o de latencia.
- Flujo (J).** Obtenido a partir de la pendiente de la ecuación de la línea recta de los últimos cinco puntos del estudio de permeación percutánea, en unidades de $\text{mg}/\text{cm}^2 \cdot \text{h}$.
- Constante de permeabilidad (K_p).** Obtenido a partir de la división del flujo sobre la cantidad de fármaco contenido en el parche transdérmico.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

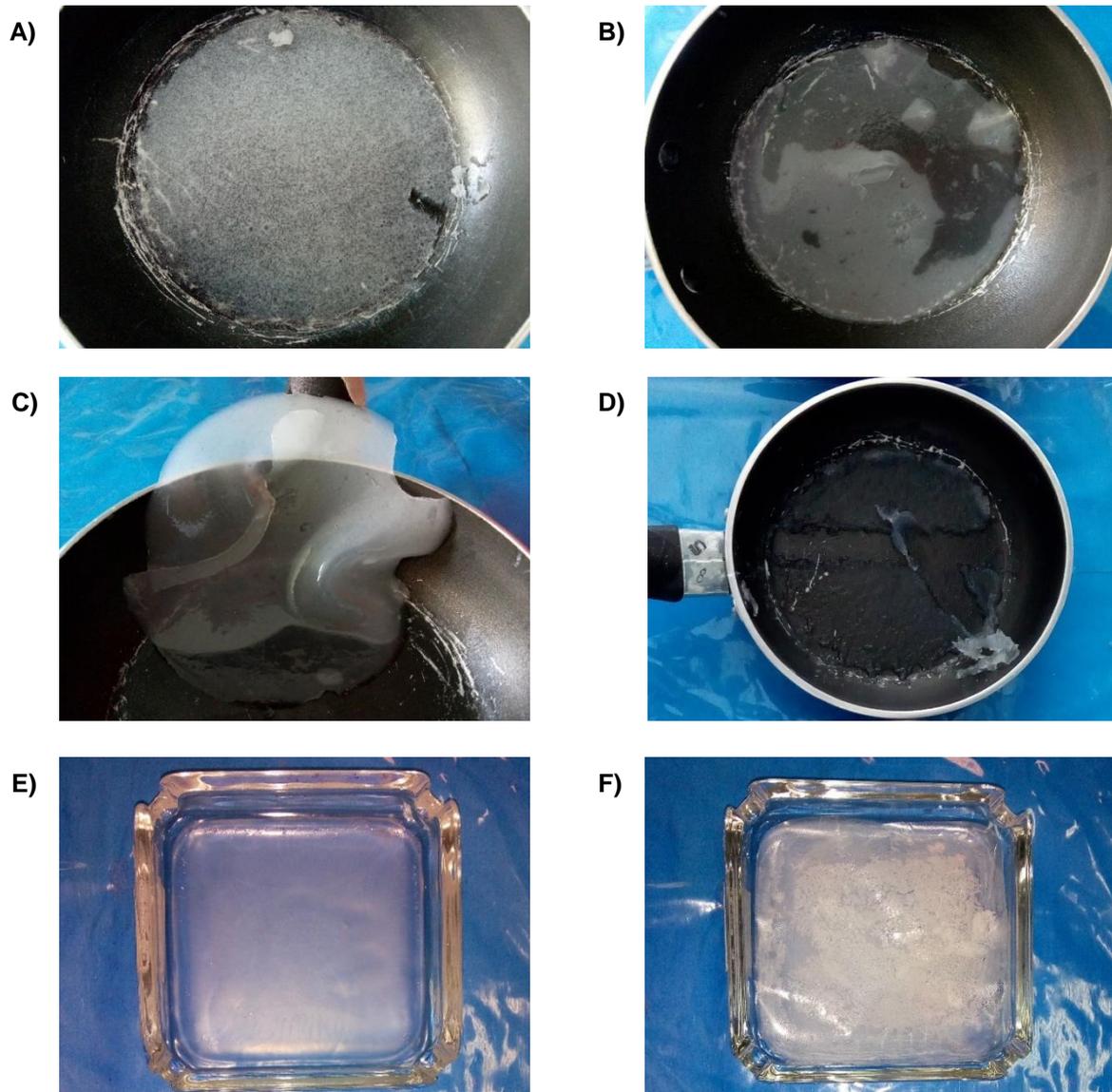
7.1. Preformulación

7.1.1. Selección de componentes de la formulación

A continuación, en la tabla 10 se muestran los resultados de la evaluación física de las formulaciones realizadas.

Tabla 10. Evaluación física de las formulaciones realizadas

Formulación	Apariencia
1	Presencia de precipitados, consistencia pastosa sin formación de la película.
2	Aspecto turbio, poca presencia de precipitados, consistencia grasosa.
3	Aspecto turbio, frágil al tacto, poca presencia de precipitados.
4	Presencia de precipitados, aspecto turbio, consistencia pastosa.
5	Aspecto traslúcido, poca presencia de precipitados, rígida al tacto.
6	Aspecto turbio, presencia de precipitados, rígida al tacto.
7	Presencia de precipitados, aspecto turbio, sin formación de la película.
8	Aspecto traslúcido, sin presencia de precipitados, rígida al tacto.



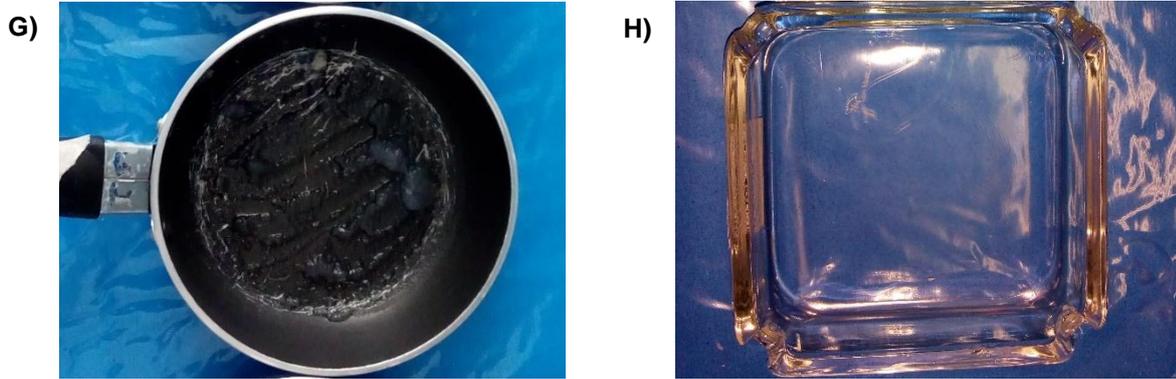


Figura 41. Apariencia de las formulaciones realizadas utilizando distintos polímeros.

En la figura anterior se puede observar el aspecto y consistencia de las formulaciones realizadas utilizando diferentes polímeros, siendo: **a)** formulación 1, **b)** formulación 2, **c)** formulación 3, **d)** formulación 4, **e)** formulación 5, **f)** formulación 6, **g)** formulación 7 y **h)** formulación 8.

La hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC) es un éter de la celulosa con grupos metilo e hidroxipropilo. Se emplea como agente aglutinante de granulados y como agente de recubrimiento, asimismo se usa como agente estabilizador (viscosante) de suspensiones y emulsiones y también se utiliza para evitar la coalescencia y la formación de sedimentos, ya que actúa como un agente protector de coloides. Otras aplicaciones incluyen su empleo en la fabricación de cápsulas, adhesivo en vendas de plástico, agente humectante en gotas oftálmicas y lágrimas artificiales, así como su uso en cosmética y productos alimenticios; y además se utiliza en la elaboración de parches transdérmicos por sus propiedades adhesivas (Sánchez et. al., 2010).

La utilización de HPMC en la elaboración de parches transdérmicos se debe concretamente a que proporciona liberación controlada de fármacos en sistemas de tipo matriz hidrófila (hinchables). La combinación de una mezcla de fármaco relativamente soluble con el polímero da lugar a matrices que, en contacto con el agua, se hidratan e hinchan, dando lugar a un gel a través de la cual difunde el fármaco. Esta liberación del principio activo a partir de estos sistemas se debe a la contribución de dos mecanismos simultáneos: erosión de las capas más externas (y de menor consistencia del gel) y disolución del principio activo en el medio y difusión a través del gel que actúa como barrera. La velocidad de liberación dependerá de la consistencia del gel polimérico y la solubilidad acuosa del fármaco, de tal manera que cuando el gel es muy débil o la solubilidad del fármaco muy baja, la influencia de la difusión será escasa y la liberación depende de la velocidad de erosión de la matriz. Sin embargo, cuando la solubilidad del fármaco es moderada o elevada, pueden distinguirse tres etapas en el proceso de liberación (Rabasco, 1997): **1)** una fase inicial en la que se disuelve el fármaco presente en la superficie matricial y comienza la gelificación del polímero, **2)** una fase estacionaria durante la cual la entrada de agua en la matriz produce una expansión del gel en la que la liberación del fármaco viene controlada por la difusión a través de la capa de gel y **3)** una fase de agotamiento que comienza al finalizar la gelificación de la matriz polimérica y en la que la concentración de fármaco es menor a su coeficiente de solubilidad.

Las formulaciones que emplearon HPMC presentaron características no satisfactorias (figura 41, incisos a, b, c y f), pues se observaba la presencia de precipitados lo cual puede deberse a que la Glibenclamida es considerado un fármaco perteneciente al grupo II de la clasificación biofarmacéutica, es decir, de baja solubilidad y alta

permeabilidad siendo evidentemente incapaz de solubilizarse por completo en las formulaciones a pesar de haberse empleado dos solventes diferentes para mejorar esta característica (etanol y agua en proporción 1:1) y por ende, siendo incapaz de incorporarse completamente al sistema matricial por lo cual transcurrido el tiempo de secado, la presencia de fármaco no solubilizado se hacía presente en la película polimérica. Para mejorar esta problemática se utilizaron otros polímeros en conjunto con la HPMC como fueron el alginato de sodio y el PVP K30.

Los alginatos son una familia de polisacáridos lineales, conteniendo cantidades variables de ácido β -D-manurónico (M: 1,4-enlace ácido β -D-manopiranosilurónico 4C_1) y de ácido α -L-gulurónico (G: 1,4-enlace ácido α -L-gulopiranosilurónico 1C_4). Su composición (dada por la relación característica manurónico/gulurónico M/G) y secuencias varían dependiendo de la fuente de la cual proviene el polisacárido. Este polímero debe su carácter polianiónico a los grupos carboxilo que aparecen a lo largo de la cadena. La composición y extensión de las secuencias y el peso molecular determinan las propiedades físicas de los alginatos (Lupo et. al., 2012). Éstos se agrupan o se distribuyen en secciones constituyendo homopolímeros tipo bloques G (-GGG-), bloques M (-MMM-) o heteropolímeros en los que los bloques M y G se alternan (-MGMG-). Tanto la distribución de los monómeros en la cadena polimérica como la carga y el volumen de los grupos carboxílicos, confieren al gel formado características de flexibilidad o rigidez dependiendo del contenido de gulurónico. Si en la estructura polimérica hay mayor cantidad de bloques G, generalmente el gel es duro y frágil, mientras que con la presencia de mayor proporción de bloques M, el gel formado se presenta suave y elástico (Lupo et. al., 2012). La aplicación de los alginatos se basa en cuatro propiedades principales. La primera concierne su habilidad como espesantes al ser disueltos en agua, generando un aumento en la viscosidad de la solución en la que se disuelven. La segunda a su capacidad de retener agua. La tercera se debe a su habilidad de formar un gel a partir de una serie de reacciones químicas de intercambio iónico que dan lugar a la formación de enlaces entre las cadenas adyacentes del polímero del alginato; particularmente se realiza un intercambio de iones sodio por cationes divalentes o trivalentes. La cuarta se basa en la propiedad de formar películas (Fumani et. al., 2009). Las películas de alginato pueden ser de dos tipos con diferentes propiedades: películas solubles en agua utilizando alginato de sodio y películas solubles en aceite utilizando alginato de calcio. Las películas solubles en agua se pueden formar por evaporación de una solución de alginato o por extrusión de una solución de alginato en un no-disolvente que se mezcla con agua, tal como acetona o etanol. Estas películas son impermeables a la grasa y ceras, pero permiten que el vapor de agua pase a través de ellas; son quebradizas cuando están secas, pero pueden ser plastificadas con glicerol, sorbitol o urea. Cuando se necesita una película con alto contenido en sólidos, se debe utilizar un alginato de muy baja viscosidad y cuando se necesita una película con mayor resistencia se requiere el uso de alginatos de viscosidad más alta con un mayor grado de polimerización (McHugh, 1987). A pesar de las vastas propiedades que presentan los alginatos, no se logró obtener una película adecuada al utilizar HPMC y alginato de sodio (figura 41, incisos a y b), lo cual pudo deberse a que el alginato presenta una cierta incompatibilidad con el etanol a concentraciones mayores del 5%, provocando la precipitación del mismo por modificaciones en su estructura polimérica. Al disminuir

dicha concentración, no se obtenía una disolución completa del principio activo (ya que, como se mencionó anteriormente, el fármaco es insoluble en agua) por lo cual se descartó esta combinación para la formulación final de la película polimérica.

La polivinilpirrolidona (PVP) es un polímero soluble en agua que se obtiene a partir del monómero N-vinilpirrolidona que actúa como un surfactante no iónico. Es un polímero higroscópico, amorfo, suministrado como polvo blanco de flujo libre con olor característico débil o en solución acuosa. Es un componente frecuente de las lágrimas artificiales y en soluciones humectantes de lentes de contacto. Aunque el PVP se usa en una variedad de formulaciones farmacéuticas, se utiliza principalmente en formas de dosificación sólidas. En las tabletas, las soluciones de PVP se usan como aglutinantes en los procesos de granulación húmeda y también se agrega a las mezclas de polvo en forma seca y se granula *in situ* mediante la adición de agua, alcohol o soluciones hidroalcohólicas. También se usa como solubilizante en formulaciones orales y parenterales y se ha demostrado que mejora la disolución de fármacos poco solubles a partir de formas de dosificación sólidas. Las soluciones de PVP también se pueden usar como agentes de recubrimiento y se utiliza además como agente de suspensión, estabilización o aumento de la viscosidad en varias suspensiones y soluciones tópicas y orales. Los polímeros de PVP están disponibles en varios grados de viscosidad, que varían desde un peso molecular bajo a uno alto. Esta gama, junto con la solubilidad en sistemas de disolventes acuosos y orgánicos combinados con su carácter no tóxico, son algunas de las propiedades que les dan a los polímeros de PVP una gran flexibilidad en múltiples aplicaciones.

Como se mencionó anteriormente, la solubilidad de varios fármacos activos poco solubles puede aumentarse mediante la mezcla con PVP en concentraciones que van desde el 10 hasta el 25%, sin embargo las formulaciones que emplearon PVP no mostraron mejoras en la solubilidad del principio activo (figura 41, incisos c, d, e y g). Según estudios de calorimetría diferencial de barrido, diversos fármacos presentan una estructura cristalina mientras que el PVP presenta una estructura amorfa, esto resultaría en una disminución de la velocidad de disolución del fármaco en estudio ya que las sustancias amorfas son más solubles que las cristalinas, por lo cual el PVP cumpliría entonces la función de inhibir la cristalización debido a su efecto antiplastificante, en el cual la temperatura de transición vítrea del sistema se ve aumentada y facilitaría la reducción de la movilidad de las moléculas de fármaco. Sin embargo, esto no significa que la combinación de PVP y cualquier otro fármaco tenga los mismos resultados lo cual puede atribuirse a la posible formación de complejos insolubles en presencia de polímeros (como ocurre con el sistema carbamazepina:PVP) (Veloso, 2011). Dado que la combinación de HPMC con otros polímeros no resultó en películas adecuadas las formulaciones posteriores involucraron otros polímeros: etilcelulosa, kollicoat y polivinilalcohol.

El polivinilalcohol (PVA) es un compuesto orgánico sintético soluble en agua e incoloro que se utiliza principalmente en las industrias textil y papelera. Tiene excelentes propiedades para formar películas, como emulsificante y como agente adhesivo. También es resistente al aceite, grasas y disolventes. Su unidad respectiva es $-\text{CH}_2-\text{CHOH}-$. El grupo $\text{OH}-$ se encuentra alternado entre los átomos de carbono. Debido al grupo hidroxilo, el PVA se caracteriza por un fuerte carácter hidrofílico y por

ser una fuente de puentes de hidrógeno (H-bonding). Debido a los grupos hidroxilo colgantes, las cadenas de PVA pueden ser entrecruzadas por métodos físicos (proceso de congelación-descongelación, calentamiento) o químicos con agentes de entrecruzamiento multifuncionales. Esta característica además de su bajo precio, la fácil disponibilidad y una excelente resistencia mecánica, biocompatibilidad y no toxicidad, le dan importancia al PVA y sus mezclas, las cuales pueden ser de utilidad práctica significativa en aplicaciones como: papel, textiles, adhesivos, envoltorios de comida, membranas de desalación, membranas per-vaporación, cosmética, farmacia y en el campo de la electrónica (Martínez, 2013).

Las características químicas del PVA posibilitan la adaptación de sus propiedades, variando el grado de hidrólisis o mediante la mezcla de éste con otros aditivos. Al tener carácter hidrofílico, los hidrogeles que forma el PVA muestran biocompatibilidad y un módulo de elasticidad alto aún en concentraciones de agua relativamente grandes, por lo que estos son ampliamente utilizados en la medicina como matrices para el suministro de fármacos, además de otras aplicaciones biomédicas como cartilago, implantes, lentes de contacto blandos y órganos artificiales. La capacidad del PVA para formar matrices se debe al entrecruzamiento de sus cadenas por variaciones en la temperatura mediante métodos físicos, como se mencionó anteriormente. Al aplicar estas variaciones, el agua inicialmente cristaliza mientras el soluto queda en la fase líquida; de esta forma, se fortalecen las interacciones puente de hidrógeno intra e inter moleculares de las cadenas poliméricas, obteniéndose una estructura porosa estable en el rango de temperaturas ambiente – corporal humana (de aproximadamente 25 a 37°C). En este proceso existe además un efecto de crioconcentración, el cual es responsable del desplazamiento de los componentes solubles en el agua residual durante las variaciones de temperatura de una solución. Los macroporos presentes en estas estructuras poseen un diámetro mayor de 1 μm , los cuales permiten el transporte de no sólo moléculas de bajo peso molecular sino además de macromoléculas como células, sustratos enzimáticos y proteínas. Son altamente biocompatibles, poseen buenas propiedades mecánicas y la disponibilidad del agua en el interior de estos sistemas altamente hidratados es similar al de una solución acuosa. Debido al gran tamaño de los microporos es posible especular sobre una rápida velocidad de difusión de moléculas pequeñas (fármacos, colorantes) atrapados en la matriz. Las redes poliméricas interconectadas (RPI) comúnmente llamadas redes poliméricas entrecruzadas, son sistemas en los cuales dos o más polímeros existen como componentes de una única matriz (Martínez, 2013). La formulación 7 (figura 41, inciso G) implicó la utilización de PVA en combinación con PVP K30, sin embargo se observa que la formación de la película no se logró obteniendo en su lugar un gel de alta viscosidad debido probablemente a que la cantidad de agente plastificante no fue la adecuada para la obtención de una película, puesto que al incluir etanol en combinación con agua, se incrementan los factores que disminuyen la hidratación de las moléculas por evaporación del solvente, provocando una reducción en el canal de hidratación que separan las cadenas poliméricas de tal forma que tienden a atraerse mutuamente por fuerzas de Van der Waals, acortándose, volviéndose filamentosas y entrecruzándose aumentando la viscosidad del sistema; un caso similar se presentó con la formulación 4 (figura 41, inciso D) que implicó la utilización de un nuevo polímero: Kollicoat IR.

Kollocoat IR es un copolímero de injerto de PVA y polietilenglicol (PEG) compuesto por 75% de PVA y 25% de PEG. La utilización de este injerto tiene ventajas considerables en comparación con el PVA solo entre las cuales destacan su solubilidad libremente en agua sin necesidad de altas temperaturas, alta flexibilidad debido al plastificante integrado y alta elongación a la ruptura (Salehi y Boddohi, 2018). La molécula es hidrofílica (lo que explica su alta solubilidad en agua sin necesidad de altas temperaturas) y dado que su estructura no es iónica, su solubilidad no cambia cuando el pH aumenta o disminuye (Janssens et. al., 2007). Este polímero además reduce la tensión superficial del agua lo que permite una formación de películas más efectiva. A pesar de estas ventajas, se observa que la formulación 4 (figura 41, inciso D) no logró obtener la formación de una película adecuada debido probablemente a la escasa solubilidad del principio activo en el solvente utilizado y a una inadecuada relación entre la concentración del polímero y el agente plastificante utilizado, obteniendo un gel de apariencia similar a la de la formulación 7 que implicó la utilización de PVA independiente, como se mencionó anteriormente.

La etilcelulosa es un polímero perteneciente al grupo de los denominados ésteres de celulosa obtenidos a partir de la misma. La celulosa es un polímero lineal de unidades de β -anhidro glucosa, cada una de las cuales contiene tres grupos hidroxilo. Los ésteres de celulosa son derivados obtenidos a partir de la esterificación de los grupos hidroxilo disponibles y entre los más conocidos se encuentran: hidroxipropilmetilcelulosa (HPMC), hidroxipropilcelulosa (HPC), carboximetilcelulosa sódica (CMC Na), metilcelulosa (MC), etilcelulosa (EC) y celulosa acetato ftalato. Los ésteres de celulosa son polímeros hidrofílicos ampliamente utilizados en el desarrollo de sistemas de liberación controlada, siendo biológicamente compatibles y no tóxicos. Además de estas ventajas, también son: altamente compresibles, se hidratan rápidamente a la temperatura del cuerpo humano y pueden estar presentes en bajas cantidades como agentes conformadores de matriz. La etilcelulosa se emplea como agente de recubrimiento pues se trata de un excipiente de tipo aglutinante, además de ser un agente que incrementa la viscosidad y que tiene propiedades adhesivas. Al pertenecer al grupo de los ésteres de celulosa, sigue el mismo mecanismo de liberación que la HPMC en sistemas matriciales.

La combinación de polímeros hidrofóbicos e hidrofílicos se ha utilizado ampliamente para la formulación de sistemas matriciales; como se mencionó anteriormente la EC es un polímero hidrofóbico comúnmente utilizado en la preparación transdérmica ya que no sólo es un polímero que tiene baja solubilidad en agua, sino que además no es tóxico ni tampoco irritante por lo cual no causa alergias y puede formar películas altamente resistentes. La combinación de 1.5% de EC y ftalato de dibutilo como plastificante puede liberar 99.12% de amlodipino hidrofóbico durante 24 hrs., pero el porcentaje de fármaco liberado disminuirá si la EC utilizada está en alta concentración. Por otro lado, el PVP es un polímero hidrofílico de baja toxicidad que puede aumentar la solubilidad de la sustancia poco soluble y no causa irritación en la piel. El estudio de Patel et. al., 2015, mostró que el aumento de la concentración e PVP puede liberar un fármaco combinado de hidroclorotiazida y lisinopril (fármacos hidrofóbicos e hidrofílicos) más del 80% durante menos de 8 hrs. La solubilidad del PVP en el agua

puede aumentar la penetración de agua en la matriz para que se produzca la liberación del fármaco rápidamente (Soraya et. al., 2018).

Santosh y Jyoti, 2013, estudiaron el efecto de la combinación de polímeros EC y PVP en el parche de ketoprofeno. EC:PVP se formuló en una proporción 4:1 y resultó en un parche de superficie transparente y blanda sin burbujas de aire además de que se demostró que puede liberar el fármaco aproximadamente 97.87% durante 24 h *in vitro*. Por otra parte, un estudio realizado por Prabhu et. al., 2012, demostró que el uso de EC:PVP en proporción 1:3 liberó el fármaco hidrófobo (dexibuprofeno) en la cantidad máxima de 24 h. En contraste, la combinación de EC:PVP en una proporción 3:1 mostró la menor liberación de fármaco después de 24 h. La formulación que utilizó la combinación de EC y PVP (figura 41, inciso e) presentó mejor consistencia, un aspecto casi completamente transparente con buena flexibilidad y resistencia sin embargo, no fue elegida como la formulación final debido a que presentaba un aspecto ligeramente opaco lo que podría ser indicativo de que el fármaco no logró incorporarse por completo en todo el sistema matricial a diferencia de la formulación que empleó una combinación de otros polímeros hidrofóbicos e hidrofílicos: Eudragit RS y RL.

Los polímeros de Eudragit están fabricados a partir de poliacrilato y tienen un grado variable de solubilidad que los hace adecuados para la formulación de sistemas de liberación sostenida. Son copolímeros de acrilato de etilo, metacrilato de metilo y bajo contenido de éster de ácido metacrílico con grupos de amonio cuaternario. Los grupos de amonio están presentes como sales y hacen que los polímeros sean permeables, insolubles, independientes del pH, de tipo catiónicos y no biodegradables. Los polímeros de Eudragit se pueden clasificar según el uso o el tipo de formulación producida. Estos incluyen polímeros para: **1)** liberación de fármacos controlada por tiempo mediante formulaciones de liberación sostenida, **2)** gastro-resistencia y focalización gastrointestinal por formulaciones entéricas y **3)** protección contra la humedad y enmascaramiento del olor/sabor mediante formulaciones protectoras (Sukhbir et. al., 2015).

Los polímeros Eudragit se pueden usar para producir formulaciones que permiten perfiles de liberación personalizados y liberaciones durante un período específico de tiempo. Las diferentes combinaciones de polímeros de los grados Eudragit RL y RS permiten perfiles de liberación personalizados para lograr el rendimiento deseado de administración de fármacos. En base a ello, se han propuesto varios tipos de polímeros de Eudragit RL (RL 100, RL PO, RL 30 D y RL 12.5) y Eudragit RS (RS 100, RS PO, RS 30 D, RS 12.5). La liberación del fármaco a través de sistemas que implican la combinación de polímeros de Eudragit RS y RL involucra un mecanismo de difusión. La difusión es el movimiento de una sustancia hacia el gradiente de concentración, es decir, las moléculas del fármaco se difunden de alta concentración a menor concentración. Varios factores afectan la velocidad de difusión y entre ellos destacan la temperatura, densidad de la sustancia difusora, medio de difusión y gradiente de concentración (Sukhbir et. al., 2015). En un estudio realizado por Apurba et. al., 2009, la liberación de propranolol de la matriz monolítica de Eudragit NE 30 D fue por una combinación de difusión de polímero y poro. En otro estudio realizado por Wagner y McGinity, 2002, se logró un perfil de liberación deseable de difenhidramina

incorporando Eudragit L en una matriz de cera de carnauba. La liberación del fármaco de las matrices de polímero-cera se describe mediante un mecanismo de difusión/erosión. La formulación 8 (figura 41, inciso h) que incluyó la combinación de polímeros Eudragit RL 100 y Eudragit RS 100 presentó características ideales de acuerdo a los criterios de aceptación para la formulación: apariencia totalmente transparente, resistente, flexible, consistencia uniforme y no quebradiza al tacto con una buena formación de la película debido a la adecuada relación compatibilidad entre los polímeros y el fármaco. Aunque los polímeros de Eudragit se consideran químicamente estables, existen incompatibilidades con algunos principios activos. Se ha descrito la incompatibilidad de Eudragit RS y RL con diflunisal, flurbiprofeno y piroxicam. Se ha demostrado que estos fármacos poseen grupos ácidos que interactúan electrostáticamente con los grupos amonio del Eudragit RL, lo cual impide la dispersión uniforme del fármaco en la red polimérica y por tanto afectando al perfil de liberación *in vitro* e *in vivo* (Sánchez, 2017). Sin embargo, la Glibenclamida al no contener ácidos carboxílicos en su molécula, no presentó esta incompatibilidad por lo cual pudo dispersarse completamente en la red polimérica formada por ambos polímeros.

7.2. Formulación

El diseño estadístico de experimentos consiste en determinar cuáles pruebas se deben realizar y de qué manera, para obtener datos que, al ser analizados estadísticamente, proporcionen evidencias objetivas que permitan responder las interrogantes planteadas, y de esa manera clarificar los aspectos inciertos de un proceso, resolver un problema o lograr mejoras. Así pues, el diseño de experimentos (DDE) es un conjunto de técnicas activas, en el sentido de que no esperan que el proceso mande las señales útiles, sino que éste se “manipula” para que proporcione la información que se requiere para su mejoría (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

En la experimentación se realizó un diseño de experimentos de tipo factorial, cuyo objetivo es estudiar el efecto de varios factores sobre una o varias respuestas, cuando se tiene el mismo interés sobre todos los factores; éstos pueden ser del tipo cualitativo (máquinas, tipos de material, operador, la presencia o ausencia de una operación previa, etc.) o de tipo cuantitativo (temperatura, humedad, velocidad, presión, etc.). Así, la matriz de diseño o arreglo factorial es el conjunto de puntos experimentales o tratamientos que pueden formarse considerando todas las posibles combinaciones de los niveles de los factores (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

Particularmente se optó por llevar a cabo un diseño de experimentos factorial de tipo 3^2 , en el cual se estudian dos factores en tres niveles cada uno. Consta de $3^2 = 3 \times 3 = 9$ tratamientos diferentes, que corresponden a todas las posibles maneras en que se pueden combinar dos factores en tres niveles cada uno, siendo A y B los factores, cada uno con tres niveles, a los cuales se les suele llamar bajo, medio y alto. Este diseño requiere al menos dos repeticiones para que hay grados de libertad para el error. Las sumas de cuadrados de los efectos A y B tienen 2 grados de libertad (número de niveles menor 1) y los grados de libertad para la interacción AB se obtienen con el producto $2 \times 2 = 4$. Si el valor-*p* para un efecto es menor que 0.05, entonces se rechaza la correspondiente hipótesis nula, y se concluye que tal fuente

de variación afecta de manera significativa a la variable respuesta. (Gutiérrez y De la Vara, 2008).

En el diseño de experimentos planteado se estudió el efecto que tiene la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100 en la bioadhesión, bioadhesión posthumectación y resistencia a la ruptura puesto que, como se mencionó anteriormente en el apartado 7.1.1., con el uso de polímeros hidrófobos e hidrófilos se obtienen parches transdérmicos con una tasa de liberación alta y con buenas propiedades físicas. En la tabla 11 se muestran los resultados de las variables respuesta obtenidos respecto a los factores estudiados.

Tabla 11. Resultados de las variables respuesta obtenidos a partir de los factores estudiados.

Formulación	Bloque	Eudragit RS 100 (mg)	Eudragit RL 100 (mg)	Resistencia a la ruptura (gF)	Bioadhesión (gF)	Bioadhesión posthumectación (gF)
1	1	700	300	158.0	127.5	179.0
2	1	300	700	210.0	182.0	226.5
3	1	500	500	190.5	120.5	163.0
4	1	500	700	185.0	263.5	351.5
5	1	300	500	212.0	157.5	198.0
6	1	700	700	219.5	133.5	145.5
7	1	500	300	188.5	148.0	201.5
8	1	300	300	159.0	152.5	163.0
9	1	700	500	193.0	114.5	119.5
10	2	700	700	227.5	155.0	198.5
11	2	500	500	208.0	150.0	176.0
12	2	300	300	156.0	173.5	200.5
13	2	700	300	161.0	133.5	150.0
14	2	500	700	173.0	280.5	362.0
15	2	300	700	228.5	149.5	210.5
16	2	500	300	153.5	108.0	137.5
17	2	700	500	225.0	113.5	124.0
18	2	300	500	198.0	148.5	183.5
19	3	700	300	161.5	170.0	195.5
20	3	500	300	174.5	116.5	145.0
21	3	500	500	197.0	130.0	169.0
22	3	700	500	213.5	96.5	121.5
23	3	300	300	153.0	128.0	134.0
24	3	700	700	206.5	150.0	188.5
25	3	300	700	232.5	163.0	197.0
26	3	500	700	179.5	256.5	300.5
27	3	300	500	193.0	139.5	206.5

En la tabla 12 se muestra el resumen ANOVA de las variables respuesta obtenido a partir de los factores estudiados.

Tabla 12. Resumen ANOVA de las variables respuesta obtenido a partir de los factores estudiados.

A) Resistencia a la Ruptura						B) Bioadhesión					
Fuente	SC	GL	CM	F	P	Fuente	SC	GL	CM	F	P
A	32.000	1	32.000	0.11	0.7391	A	2,222.220	1	2,222.220	1.65	0.2140
B	8,734.010	1	8,734.01	31.17	0.0000	B	12,587.600	1	12,587.600	9.36	0.0064
AA	801.185	1	801.185	2.86	0.1072	AA	5,786.690	1	5,786.690	4.30	0.0518
AB	72.520	1	72.520	0.26	0.6168	AB	90.750	1	90.750	0.07	0.7978
BB	2,059.670	1	2,059.670	7.35	0.0139	BB	7,824.070	1	7,824.070	5.82	0.0261
Bloques	24.074	2	12.037	0.04	0.9580	Bloques	238.907	2	119.454	0.09	0.9153
Error total	5,324.280	19	280.225			Error total	25,539.600	19	1,344.190		
Total (corr.)	17,047.700	26				Total (corr.)	24,289.800	26			
R² = 68.7684						R² = 52.9569					
R² ajustada = 61.3324						R² ajustada = 41.7562					
Error estándar del est. = 16.7399						Error estándar del est. = 36.6632					
Error absoluto medio = 11.7476						Error absoluto medio = 24.7908					
Estadístico Durbin-Watson = 2.0791 (P = 0.4392)						Estadístico Durbin-Watson = 2.0646 (P = 0.4238)					

C) Bioadhesión Posthumectación					
Fuente	SC	GL	CM	F	P
A	4,917.010	1	4,917.010	2.27	0.1482
B	25,275.000	1	25,275.000	11.68	0.0029
AA	14,032.800	1	14,032.800	6.48	0.0197
AB	1,376.020	1	1,376.020	0.64	0.4351
BB	10,823.300	1	10,823.300	5.00	0.0375
Bloques	568.519	2	284.259	0.13	0.8777
Error total	41,131.700	19	2,164.830		
Total (corr.)	98,124.4	26			
R² = 58.0821					
R² ajustada = 48.1016					
Error estándar del est. = 46.5277					
Error absoluto medio = 31.2219					
Estadístico Durbin-Watson = 2.0792 (P = 0.4392)					

A = Eudragit RS 100, **B** = Eudragit RL 100, **AA** = Eudragit RS 100: Eudragit RS 100, **AB** = Eudragit RS 100: Eudragit RL 100, **BB** = Eudragit RL 100: Eudragit RL 100, **SC** = Suma de cuadrados, **GL** = Grados de libertad, **CM** = Cuadrado medio.

Cada uno de los ANOVA divide la variabilidad de cada una de las respuestas en piezas separadas para cada uno de los efectos, de tal forma que prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. Por lo tanto, aquellos efectos cuyos valores-p son menores que 0.05 se consideran activos con un nivel de confianza del 95%, de modo que son los efectos a interpretar para conocer cómo está operando el proceso y para determinar el mejor tratamiento. El estadístico R² expresa el porcentaje en el cual el modelo explica la variabilidad de cada una de las respuestas evaluadas; así pues, valores de R² ≥ 70% expresan modelos que funcionan bien pero pueden mejorar con las medidas necesarias, a partir de un 80% se trata de un modelo excelente y, si se llegase a un 95% se trata de un gran modelo. Es importante resaltar que valores de

95 – 100% son indicativos de algún tipo de error o bien de manipulaciones por parte de los analistas. Valores iguales o mayores al 50% son aceptados ya que son indicativos de que el modelo explica más de la mitad de la variación en el diseño elaborado. El estadístico R^2 ajustada se utiliza para aquellos modelos que poseen 3 o más factores que expliquen la variable respuesta. El error estándar del estimado muestra la desviación estándar de los residuos y el error medio absoluto (MAE) expresa el valor promedio de los residuos. Finalmente, el estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si existe alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos de manera que, cuando el valor- p es mayor que 5.0% no existe indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Los diagramas de Pareto estandarizados son un tipo de gráficos en los cuales se han ordenado cada una de las “clases” o elementos que conforman el estudio por orden de mayor a menor frecuencia de aparición y permiten observar la importancia relativa de los factores de un problema. El gráfico presenta una línea vertical de color azul la cual indica un nivel de significancia del 5.0%, de modo que los factores e interacciones que estén por debajo de dicha línea no poseen un efecto significativo sobre el fenómeno en estudio y, por el contrario, aquellos que se localicen por encima de dicha línea si presentan efectos significativos en el fenómeno en cuestión. Las barras que conforman al gráfico se distinguen por color el cual indica el sentido en el que el factor modifica o influye en la respuesta a evaluar teniendo así un color gris para aquellos factores que influyen positivamente en la respuesta (es decir, que dicho factor incrementa la respuesta a analizar) y un color azul para aquellos factores que influyen negativamente en la respuesta (es decir, que dicho factor disminuye la respuesta a analizar). Este tipo de gráficos se pueden utilizar para estudiar causas o efectos, costos, resultados o simplemente para ver cómo se acomodan los elementos que componen un fenómeno pues se trata de una herramienta que permite medir el grado de influencia que tiene una causa sobre diferentes efectos o cuál es la causa que mayor influencia ejerce sobre un efecto particular.

El gráfico de superficie-respuesta es una representación que permite modelar y analizar problemas en los que una variable de interés es influenciada por otras y cuyo objetivo es optimizarla determinando las condiciones óptimas de operación del sistema. La gráfica obtenida facilita la visualización de la forma de una superficie de respuesta en tres dimensiones; en ésta las curvas de los valores iguales de respuesta se grafican en un plano donde los ejes coordenados representan los niveles de los factores y cada curva representa un valor específico de la altura de la superficie de manera que permite enfocar la atención en aquellos niveles de los factores a los cuales ocurre un cambio en la altura de la superficie, determinando así las condiciones para la optimización de operación en el sistema en estudio.

7.2.1. Resistencia a la ruptura

De acuerdo al diagrama de Pareto (figura 42) se observa que la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100 no tiene efectos significativos en la determinación de resistencia a la ruptura en las películas poliméricas. Por el contrario, se observa que el Eudragit RL 100 si tiene un efecto significativo en la respuesta en estudio, afectando

positivamente a la misma lo cual significa que, al incrementar la cantidad de Eudragit RL 100 en la formulación la resistencia a la ruptura incrementará. Se observa además que la interacción Eudragit RL 100: Eudragit RL 100 afecta negativamente a la respuesta en estudio, de modo que al disminuir las cantidades de Eudragit RL 100 la resistencia a la ruptura disminuirá. Esto puede deberse al hecho de la combinación del polímero Eudragit RL 100 con Triacetina como plastificante, puesto que diversos estudios han señalado que las propiedades adhesivas y de resistencia del Eudragit mejoran cuando se combinan con plastificantes del tipo de los ésteres orgánicos como lo es la triacetina (Lin et. al., 1991; Shang et. al., 1995). Lo anterior se debe probablemente por la disminución de la fuerza agregada causada por la atracción intermolecular del polímero, lo que resulta en un aumento de la fuerza adhesiva de la película. Esta disminución de la fuerza agregada puede explicarse por el efecto del agente plastificante, dado que la mayoría de estos compuestos contienen grupos hidroxilos los cuales forman puentes de hidrógeno con los biopolímeros y además aumentan el volumen libre y la flexibilidad de la película. Así pues, el proceso de plastificación interno modifica químicamente la cadena polimérica a través de la adición de un grupo sustituyente unido mediante enlace covalente, copolimerizando con el polímero y generando una desorganización de su estructura generando así que las cadenas poliméricas queden más separadas, estructurando una matriz menos rígida y otorgando mayor flexibilidad.

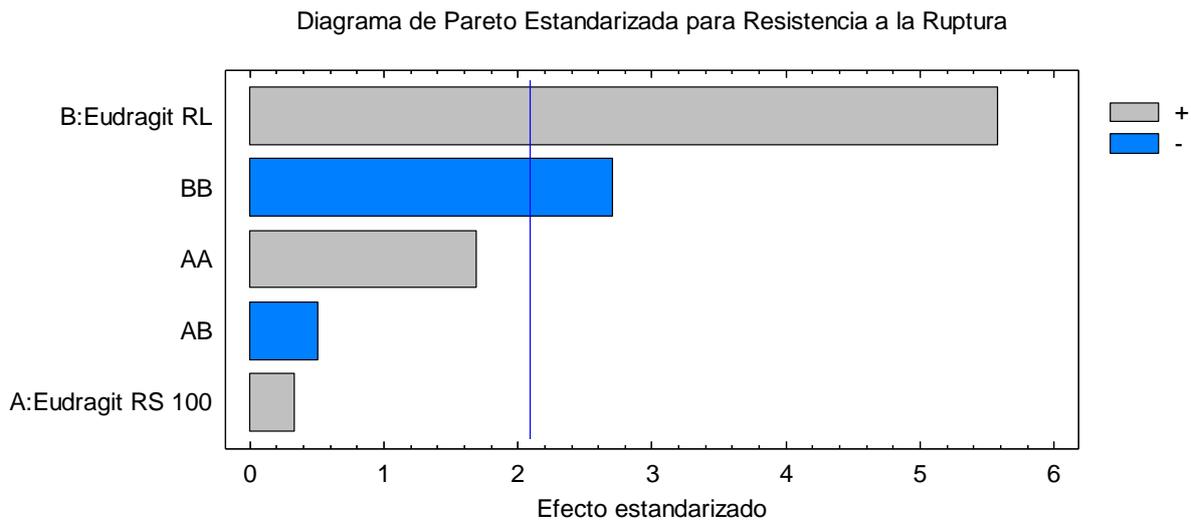


Figura 42. Diagrama de Pareto estandarizado para resistencia a la ruptura.

En el diagrama se observa que la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100 no tiene efectos significativos en la resistencia a la ruptura; sin embargo, al incrementar la cantidad de Eudragit RL 100 se obtendrá un efecto positivo en la respuesta, incrementando así la resistencia a la ruptura de los parches transdérmicos.

Por su parte, el diagrama de superficie respuesta (figura 43) indica que a mayores cantidades de Eudragit RL 100 la resistencia se verá incrementada, estableciendo cantidades superiores a los 600 mg como la medida óptima para la respuesta evaluada. Se observa además que a mayores cantidades de Eudragit RS 100 la resistencia a la ruptura se verá disminuida de modo que cantidades por debajo de los 350 mg resultan óptimos para no influenciar de manera negativa a la respuesta evaluada.

Superficie de Respuesta Estimada

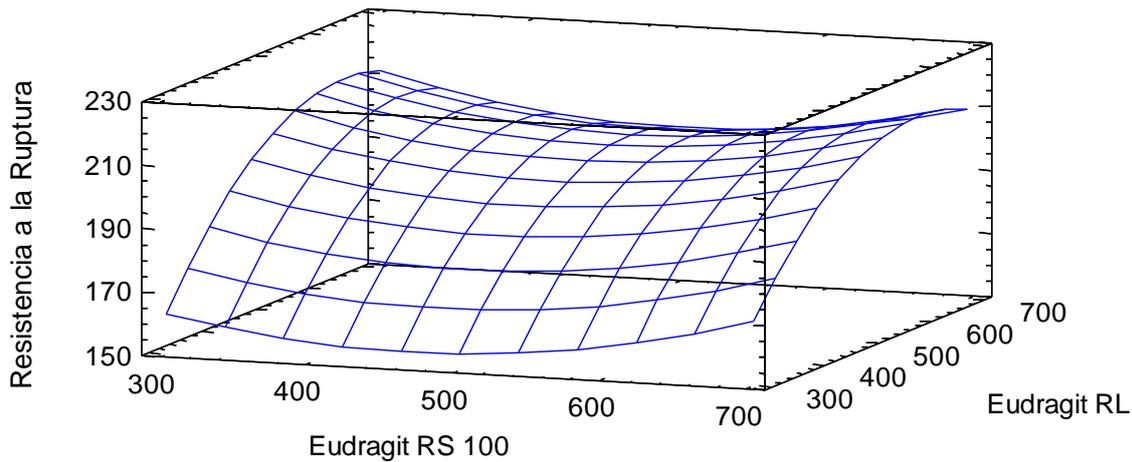


Figura 43. Diagrama de superficie – respuesta para la resistencia a la ruptura.

En el diagrama se observa que la malla de respuesta se inclina por valores altos de Eudragit RL 100 para el incremento de resistencia a la ruptura y además, los valores bajos de Eudragit RS 100 favorecen de igual forma el incremento de dicha propiedad.

En la tabla de ANOVA (tabla 12, inciso a) puede observarse que el coeficiente de correlación obtenido para la evaluación de resistencia a la ruptura es del 68.7684%, un valor bajo a comparación del 70% que expresa un modelo que funciona bien sin embargo es aceptable debido a que es superior al 50%, por lo cual es capaz de explicar más de la mitad de la variación en el diseño elaborado. El bajo porcentaje del coeficiente puede deberse al hecho de que existen variables que no son controlables durante el proceso, tales como la temperatura y proceso de secado de los parches, la humedad del ambiente, etc.

7.2.2. Bioadhesión

Al igual que en el caso de resistencia a la ruptura y de acuerdo al diagrama de Pareto correspondiente (figura 44) se observa que la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100 no tiene efectos significativos en la determinación de bioadhesión de los parches transdérmicos. El factor determinante para el incremento de dicha propiedad es la cantidad adicionada de Eudragit RL 100, el cual tiene un efecto positivo para la propiedad en cuestión; dicho de otra manera, al adicionar una mayor cantidad de dicho excipiente la bioadhesión incrementará y, por el contrario, cuanto mayor sea la cantidad adicionada de Eudragit RS 100 la bioadhesión disminuirá dado que este último factor tiene un efecto negativo respecto a la propiedad evaluada.

Lo anterior puede comprobarse observando que la interacción Eudragit RL 100: Eudragit RL 100 igualmente tiene efectos significativos en la bioadhesión de los parches con un efecto positivo, mientras que la interacción Eudragit RS 100: Eudragit RS 100 tiene un efecto negativo de manera que al adicionar mayor cantidad de Eudragit RS 100 a la formulación la bioadhesión de los parches se verá disminuida. Esto puede deberse al hecho de la interacción entre Eudragit RL 100 (de carácter hidrofílico) con el plastificante utilizado: Triacetina, el cual tiene una alta afinidad por el agua. Por lo general, el plastificante utilizado se comporta como un solvente cuando se mezcla con un polímero y produce alteraciones de las propiedades físico-químicas de las películas poliméricas. La absorción de agua o el comportamiento de absorción de la película polimérica juega un papel importante en las propiedades de la misma como lo es la liberación del fármaco y la adhesividad. La combinación de Eudragit RL

con Triacetina induce una mayor absorción de agua debido a las propiedades hidrofílicas del polímero (caso contrario al Eudragit RS 100 cuyo carácter es hidrófobo). Lo anterior es responsable de la reducción de la fuerza agregada causada por la atracción intermolecular del polímero y da como resultado un aumento en la resistencia adhesiva de la película (Shang et. al., 2000). Cuando la compatibilidad entre polímero y plastificante es buena se produce una reducción de la temperatura de transición vítrea (T_g) de los polímeros a una temperatura inferior a la temperatura ambiente y cambian de un material rígido vítreo a un material viscoso y gomoso que los hace más suaves y flexibles; de manera que a más bajas T_g se produce un aumento en la movilidad de la cadena en conjunto con una disminución de la resistencia al estrés, menos tortuosidad del polímero y un incremento en la difusividad del fármaco, de manera que el plastificante más efectivo será aquel que produzca la mayor disminución de T_g por unidad de cantidad incorporada lo cual se produce cuando la compatibilidad entre polímero y plastificante es alta, como es el caso de la combinación de Eudragit RL 100 y Triacetina.

Diagrama de Pareto Estandarizada para Bioadhesión

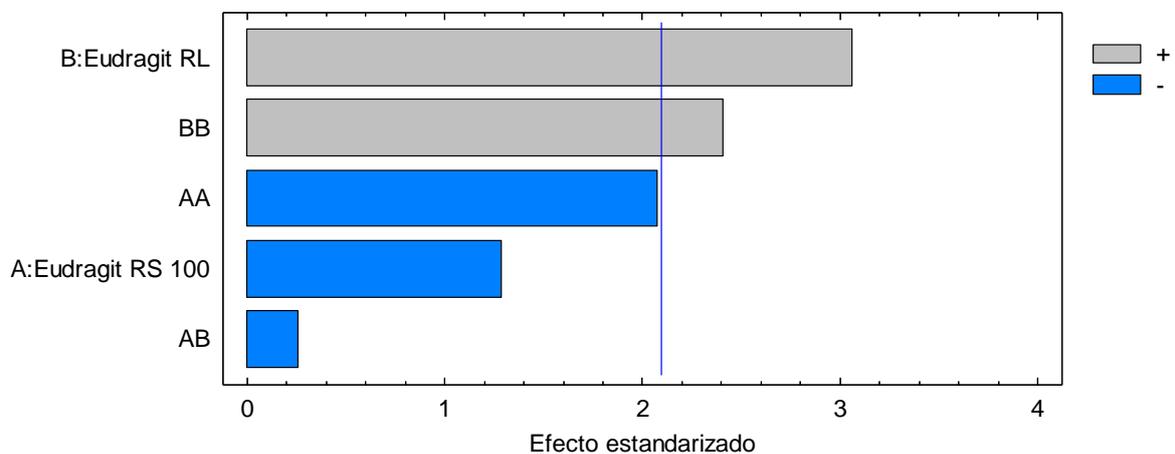


Figura 44. Diagrama de Pareto estandarizado para bioadhesión.

Nótese que la cantidad de Eudragit RL 100 adicionada a la formulación tiene un efecto positivo en la respuesta evaluada, de manera que al incrementar las cantidades del excipiente en cuestión en la formulación se conseguirá un incremento en la adhesividad del parche transdérmico y, por el contrario, al adicionar mayores cantidades de Eudragit RS 100 la respuesta evaluada se verá disminuida pues dicho excipiente tiene un efecto negativo para la propiedad en cuestión.

Lo anterior puede verse igualmente contrastado con el diagrama de superficie respuesta (figura 45) para la evaluación de la bioadhesión en los parches transdérmicos; se observa que la malla de respuesta se inclina hacia arriba cuando las cantidades de Eudragit RL 100 son mayores en proporción a las adicionadas de Eudragit RS 100 obteniendo una respuesta óptima cuando los niveles de Eudragit RL 100 son superiores a los 600 mg y los niveles de Eudragit RS 100 son menores a los 500 mg.

En la tabla ANOVA (tabla 12, inciso b) se observa un coeficiente de correlación del 52.9569% el cual es aceptable ya que explica más de la mitad de la variación en el diseño elaborado, sin embargo, se trata de un valor un tanto bajo debido a los factores que no son controlables durante el proceso, tales como la piel (la cual al tratarse de una muestra biológica presenta una gran variación por las características de cada individuo), la humedad ambiental, etc.

Superficie de Respuesta Estimada

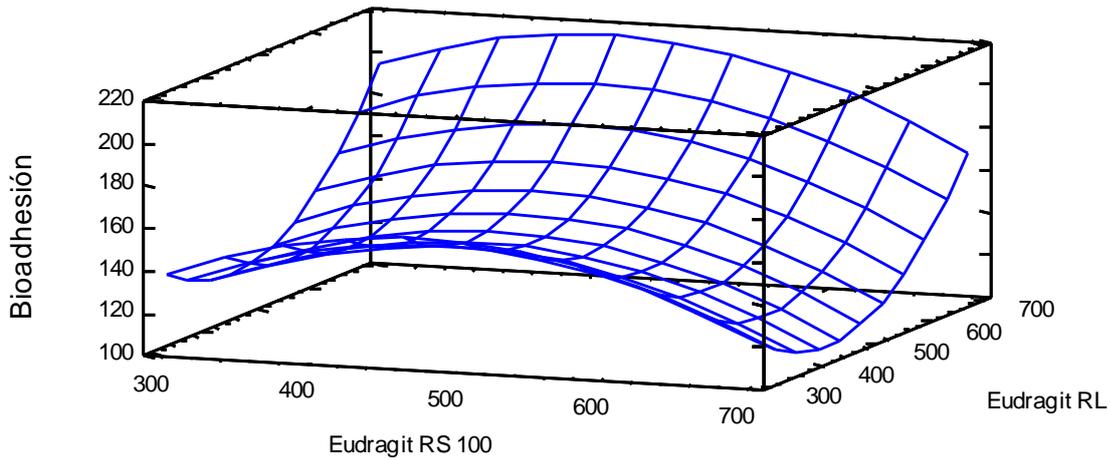


Figura 45. Diagrama de superficie – respuesta para bioadhesión.

En la figura anterior se observa que mayores cantidades de Eudragit RL 100 la adhesividad de los parches transdérmicos se verá incrementada, en conjunto con menores cantidades de Eudragit RS 100; lo anterior debido a la interacción de los polímeros con el plastificante utilizado: Triacetina.

7.2.3. Bioadhesión posthumectación

Finalmente, en la evaluación de la prueba de bioadhesión posthumectación se observa que la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100 no tiene efectos significativos en la respuesta evaluada (figura 46). Sin embargo, al igual que en el caso de la evaluación de bioadhesión, se observa que las cantidades individuales de Eudragit RL 100 y Eudragit RS 100 son las responsables del incremento y disminución de la propiedad en cuestión respectivamente. La adición de mayores cantidades de Eudragit RL 100 tendrá un efecto positivo en la bioadhesión posthumectación incrementando dicha propiedad, mientras que la adición de mayores cantidades de Eudragit RS 100 tendrá el efecto contrario afectando a la propiedad de manera negativa y por lo tanto disminuyéndola.

Diagrama de Pareto Estandarizada para Bioadhesión en Húmedo

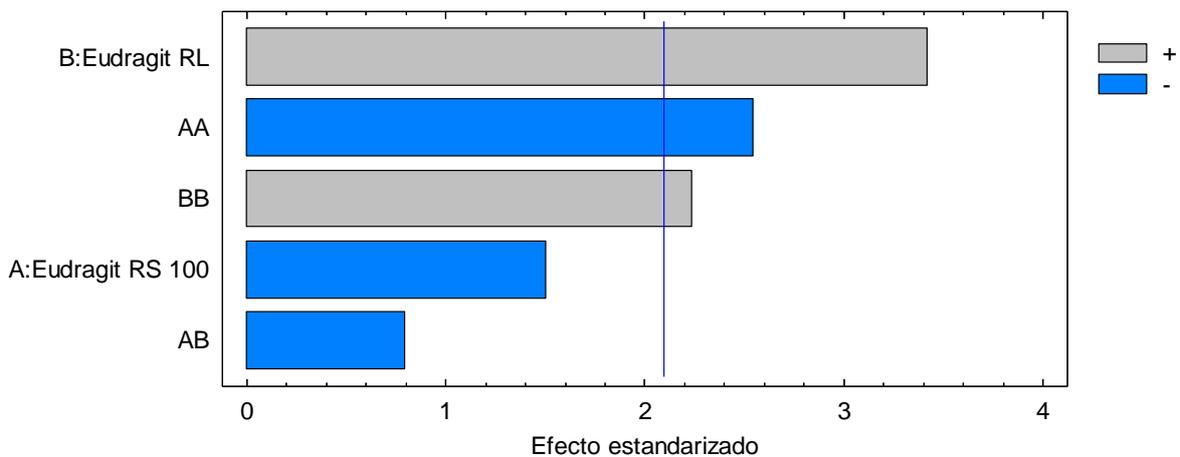


Figura 46. Diagrama de Pareto estandarizado para bioadhesión posthumectación.

Nótese que al incrementar la cantidad de Eudragit RS 100 la propiedad se verá disminuida debido al efecto negativo que posee sobre la misma, mientras que a mayores cantidades de Eudragit RL 100 añadidas al sistema, la propiedad incrementará debido a su efecto positivo.

Lo anterior puede deberse a lo mencionado en el apartado anterior (7.2.2.), siendo la propiedad influenciada por la interacción propia del polímero de carácter hidrófilo (Eudragit RL 100) y el plastificante utilizado (Triacetina que posee alta afinidad al agua). La diferencia radica en el hecho de la humectación de la piel previamente a la ejecución de la prueba, ofreciendo una mayor hidratación de la misma y a la vez, incrementando la humedad relativa de la superficie en contacto con el parche transdérmico, favoreciendo la absorción de agua por parte del polímero hidrófilo Eudragit RL 100 y con ello incrementando la atracción intermolecular entre polímero y plastificante, induciendo una mayor resistencia adhesiva a comparación con la prueba de bioadhesión, en donde la humedad es relativamente menor en la superficie de contacto con el parche transdérmico.

Es por ello que de acuerdo a la tabla ANOVA (tabla 12, inciso c), el coeficiente correlación es relativamente mayor que el obtenido en la prueba de bioadhesión, siendo del 58.0821% el cual, a pesar de representar un valor bajo, es aceptado debido a que es capaz de explicar más de la mitad de la variación en el modelo en cuestión. De acuerdo al gráfico de superficie respuesta (figura 47) se observa que a cantidades superiores a los 700 mg de Eudragit RL 100 la bioadhesión posthumectación se verá incrementada en conjunto con cantidades menores a los 450 mg de Eudragit RS 100.

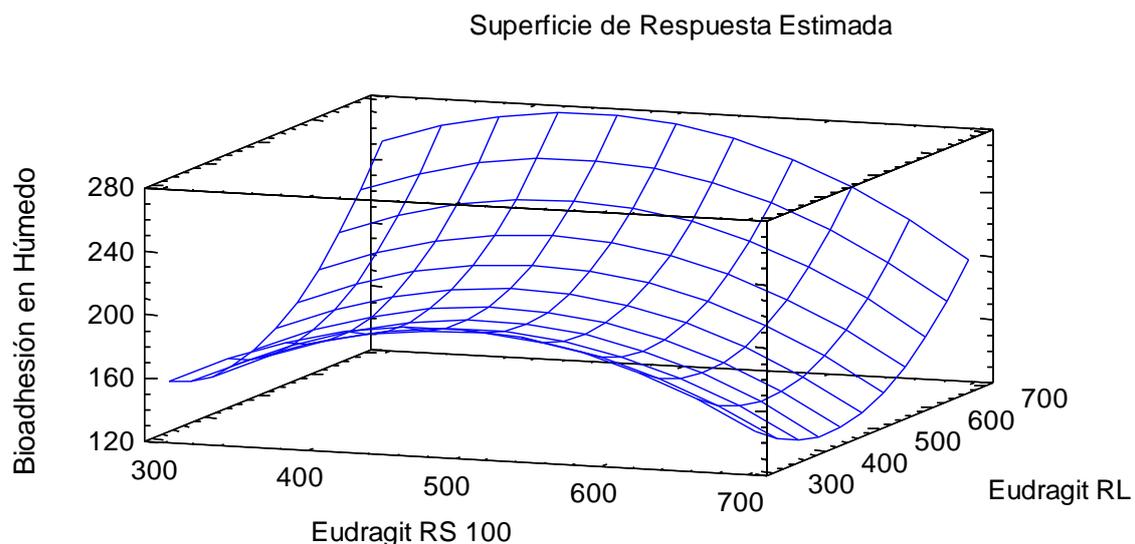


Figura 47. Diagrama de superficie – respuesta para bioadhesión posthumectación.

Nótese que la malla de respuesta se ve incrementada cuando las cantidades de Eudragit RL 100 superan los 600 mg y los niveles de Eudragit RS 100 se encuentran por debajo de los 500 mg adicionados.

Finalmente, de acuerdo a los resultados obtenidos de las determinaciones de Resistencia a la Ruptura, Bioadhesión y Bioadhesión posthumectación no se rechaza la hipótesis nula y se comprueba que dichas propiedades no dependen de la relación Eudragit RS 100: Eudragit RL 100; sino más bien dependen directamente de la cantidad utilizada de Eudragit RL 100 en la formulación.

7.3. Optimización y caracterización física y química de la formulación

Tras la determinación de las cantidades óptimas de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 (tabla 13) y en base al diseño de experimentos elaborado por el software Statgraphics Centurión XV.II, se procedió a la optimización de la formulación.

Tabla 13. Cantidades óptimas de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 para la elaboración del parche transdérmico de Glibenclamida.

Factor	Nivel bajo (mg)	Nivel alto (mg)	Nivel óptimo (mg)
Eudragit RS 100	300	700	407
Eudragit RL 100	300	700	700

En base a las cantidades anteriores, se procedió a la caracterización física y química de la formulación utilizando las proporciones reportadas en la tabla 14.

Tabla 14. Formulación óptima para la elaboración del parche transdérmico de Glibenclamida.

Componente	Cantidad	Función
Glibenclamida	100 mg	Principio activo.
Eudragit RS 100	407 mg	Polímero hidrófobo.
Eudragit RL 100	700 mg	Polímero hidrófilo.
Dimetilsulfóxido	151 μ L	Promotor de la permeación.
Triacetina	286 μ L	Plastificante.
Cloroformo	20 mL	Disolvente.

7.3.1. Caracterización física de la formulación

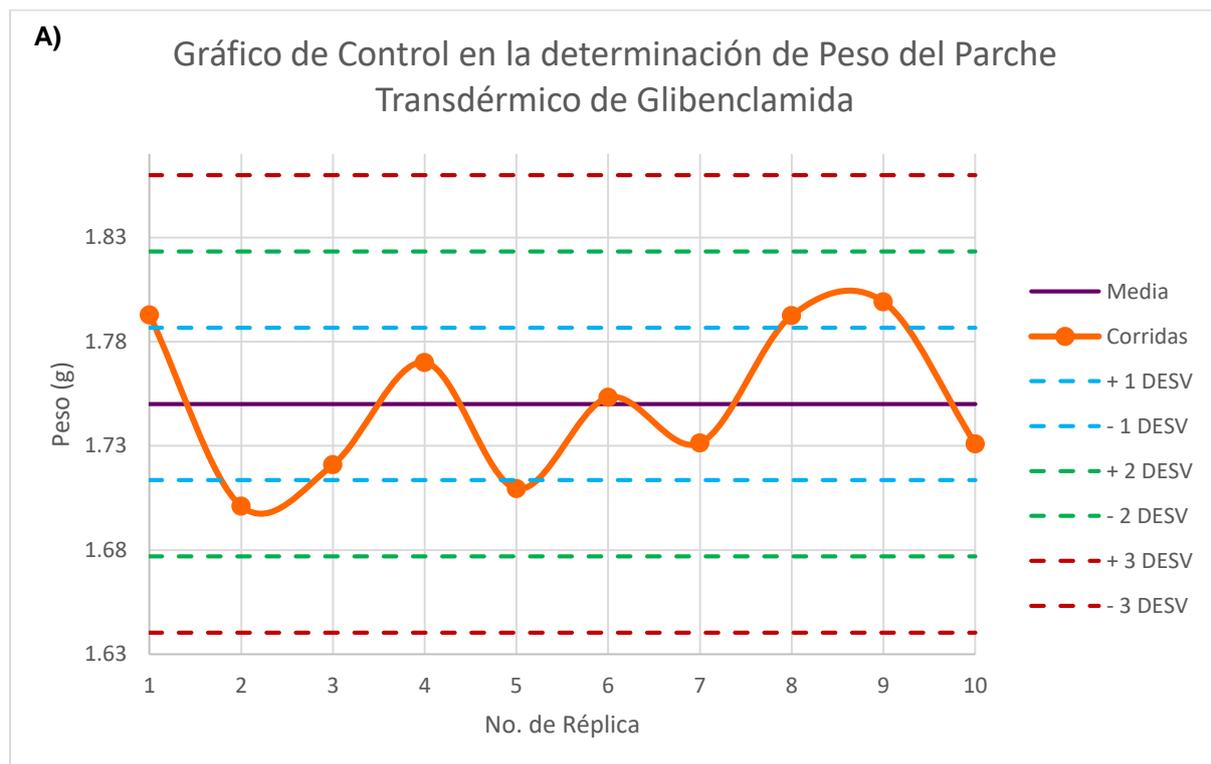
Como se mencionó en el apartado 6.4.3.2 de la sección “Métodos” se llevaron a cabo las pruebas de peso, diámetro, área, resistencia a la ruptura, bioadhesión, bioadhesión posthumectación y examinación bajo microscopía óptica mediante 10 réplicas para la caracterización física de la formulación del parche transdérmico de Glibenclamida obteniendo los resultados reportados en la tabla 15.

Tabla 15. Resultados obtenidos para la caracterización física del parche transdérmico de Glibenclamida.

Réplica	Peso (g)	Diámetro (cm)	Área (cm ²)	Resistencia a la Ruptura (gF)	Bioadhesión (gF)	Bioadhesión posthumectación (gF)
1	1.7928	8.60	58.0882	183.50	263.50	372.00
2	1.7010	8.80	60.8214	223.50	198.00	256.50
3	1.7209	8.70	59.4469	197.00	215.50	298.00
4	1.7700	8.50	56.7452	179.50	258.50	366.00
5	1.7094	8.70	59.4469	212.50	167.00	202.00
6	1.7532	8.40	55.4178	272.50	138.50	147.50
7	1.7313	8.50	56.7452	173.00	236.50	291.50
8	1.7925	8.40	55.4178	169.00	282.00	316.50
9	1.7990	8.60	58.0882	147.00	193.00	243.50
10	1.7309	8.80	60.8214	227.50	145.00	174.00
Promedio	1.7454	8.60	58.1039	198.50	209.75	266.75
Desv. Est.	0.0354	0.15	2.0138	36.36	50.28	76.49
%C.V.	2.0291	1.73	3.4659	18.32	23.97	28.67

7.3.1.1. Peso, diámetro y área

Las dimensiones de un parche transdérmico son propiedades que deben tener suma consideración e importancia en el diseño y elaboración del mismo puesto que son características que van íntimamente ligadas a la aceptación del producto por parte del paciente. La gran ventaja que presentan estos sistemas con respecto a las formas convencionales orales y parenterales es su fácil manipulación y administración por lo cual características tales como la comodidad, discreción, tamaños y grosores pequeños son importantes en la producción de los mismos; por consiguiente, aquellos sistemas transdérmicos que presenten pesos y tamaños elevados dificultarían su manipulación y por ende su utilización provocando desagrado por parte del paciente en cuanto a su administración. De acuerdo a los resultados de la tabla 15, se observa que las determinaciones de peso, diámetro y área arrojaron variaciones mínimas con desviaciones estándar menores a 3.0 y coeficientes de variación menores al 4% por lo cual no existe una dispersión amplia de los datos. Lo anterior puede visualizarse mejor con ayuda de los gráficos control (figura 48) para cada una de las determinaciones, en donde se observa que ninguna de las corridas sobrepasa las dos desviaciones estándar por lo cual es posible decir que las réplicas se encontraron dentro de un 95% de nivel de confianza.



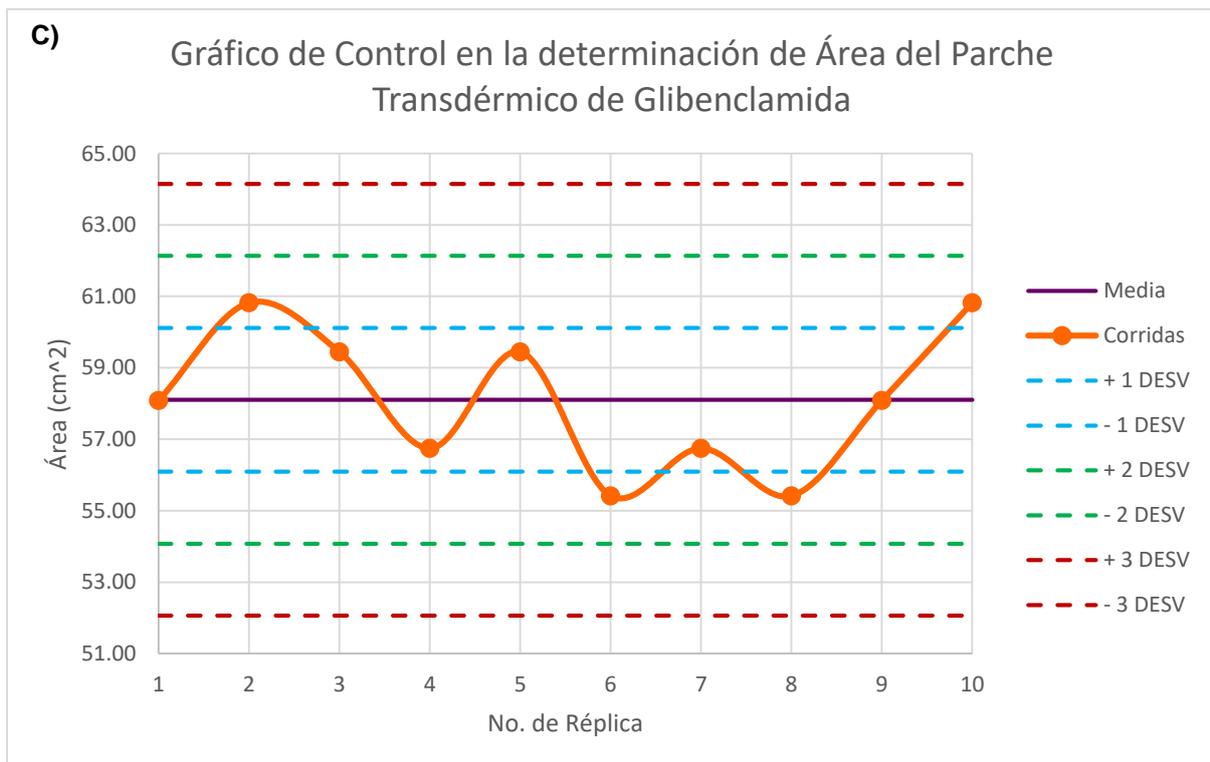
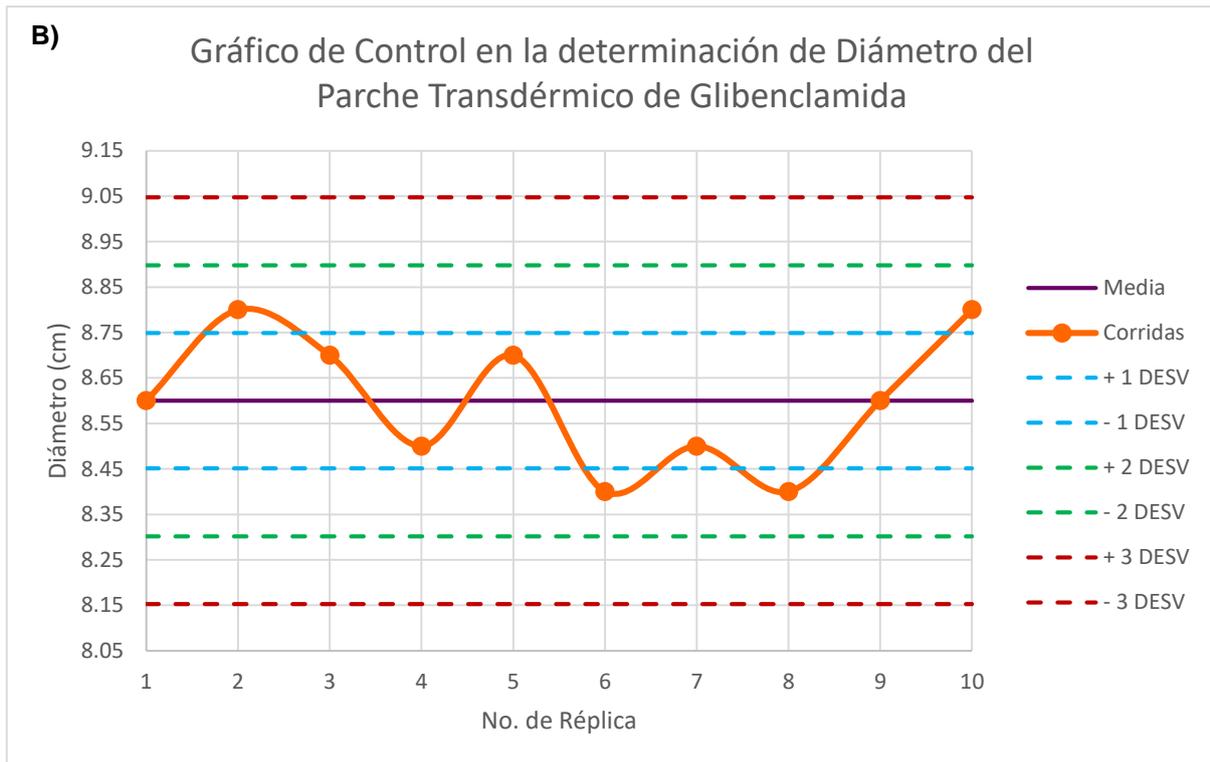


Figura 48. Gráficos de control para la determinación de peso, diámetro y área para el parche transdérmico de Glibenclamida.

Se observa que la dispersión de las corridas se encuentra dentro de las dos desviaciones estándar, por lo cual es posible decir que las determinaciones se llevaron a cabo con un 95% de nivel de confianza para **a)** peso, **b)** diámetro y **c)** área del parche transdérmico.

7.3.1.2. Resistencia a la Ruptura

Se puede definir a la ruptura como la culminación del proceso de deformación plástica. En general, se manifiesta como la separación o fragmentación de un cuerpo sólido en dos o más partes bajo la acción de un estado de cargas o fuerzas. La prueba de resistencia a la ruptura mide precisamente la cantidad de fuerza necesaria para llevar a cabo la separación o fragmentación del cuerpo sólido en cuestión y, en los parches transdérmicos, es una propiedad de suma importancia puesto que viene relacionada directamente con la resistencia y durabilidad del mismo ante la manipulación por parte del usuario en cuestión; así pues resultados altos son indicativos de una mayor dureza y flexibilidad y por ende de una menor fragilidad ante situaciones que puedan alterar su forma física. Películas muy frágiles podrían resultar contraproducentes dado que ante la manipulación por el usuario presentarían modificaciones indeseables en su superficie que pueden resultar en una ineffectividad terapéutica.

De acuerdo a los resultados de la tabla 15, se observa que en promedio se requiere de un valor de 198.50 g.F. para provocar una fractura del parche transdérmico, destacando que durante su ejecución se logró retirar el parche de la placa sin ningún inconveniente descartando así fracturas o modificaciones en la estructura del mismo que pudiesen alterar los resultados del ensayo. Como se mencionó en el apartado 7.2.1 de la sección “Resultados y Discusión” la resistencia y flexibilidad del parche puede deberse a la disminución de la fuerza agregada causada por la atracción intermolecular del polímero debido al efecto del agente plastificante, dado que la mayoría de estos compuestos contienen grupos hidroxilos los cuales forman puentes de hidrógeno con los biopolímeros, aumentan el volumen libre y la flexibilidad de la película. Se obtuvo un coeficiente de variación del 18.32% lo cual indica un cierto grado de dispersión en los datos obtenidos, sin embargo, acorde al gráfico de control (figura 49) se observa que las corridas se mantuvieron dentro de las dos desviaciones estándar con un 95% de nivel de confianza.

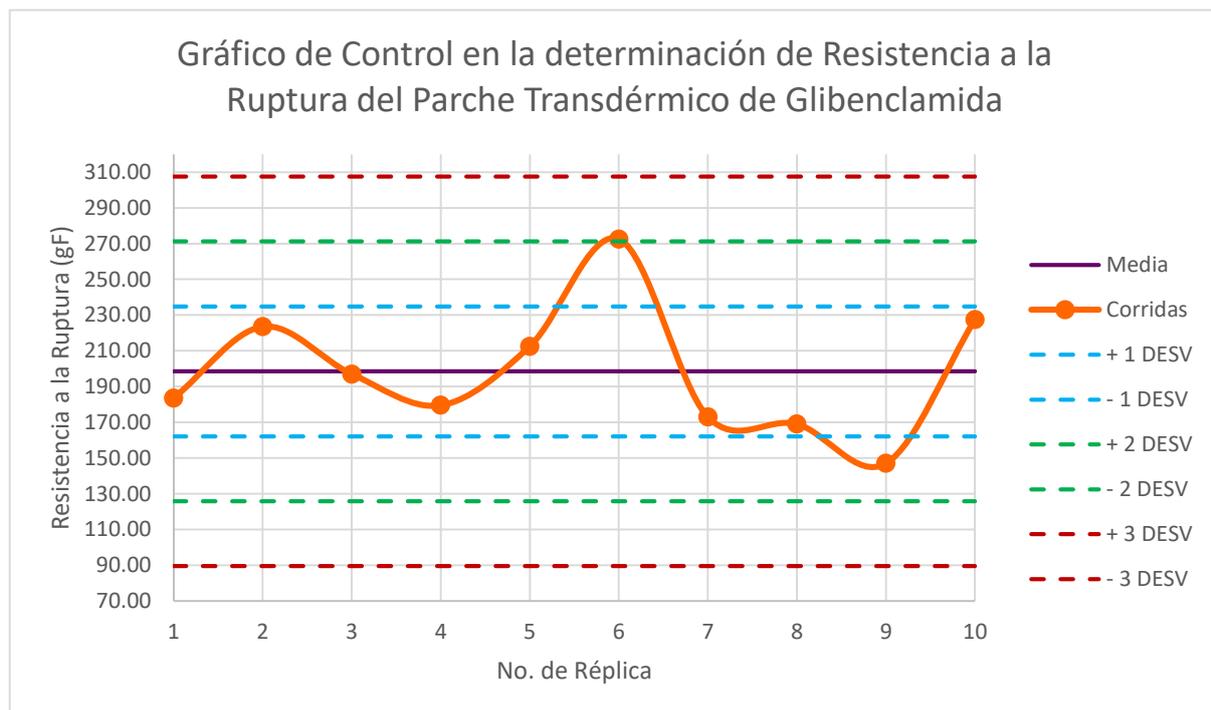


Figura 49. Gráfico de control para la determinación de resistencia a la ruptura para el parche transdérmico de Glibenclamida.

Se observa que la dispersión de los datos se localizó dentro de las dos desviaciones estándar a excepción de uno: la réplica número 6 con una variación total del 18.32%.

7.3.1.3. Bioadhesión

El término bioadhesión se ha utilizado para describir el fenómeno relacionado con la capacidad que tienen algunas macromoléculas de origen natural y de síntesis para adherirse a tejidos biológicos y se fundamenta en los mecanismos conocidos de la adhesión convencional con la particularidad que representan las propiedades y características de los tejidos naturales. Se denomina adhesiva a la sustancia que al estar en contacto entre dos superficies permite una unión resistente a la separación. Los sustratos o adherentes corresponden a los materiales que se unen por medio del adhesivo, y al conjunto de interacciones físicas y químicas que se presentan en la interfase adhesivo-adherente se le conoce como “adhesión”; la “cohesión” corresponde a la fuerza de atracción que mantiene unidas las moléculas de un material. La adhesión en materiales poliméricos está determinada por uniones físicas, uniones químicas secundarias y uniones químicas primarias como enlaces iónicos o covalentes. Las uniones químicas primarias se obtienen a partir de la reacción química de grupos funcionales del material adhesivo con el sustrato (Vallejo y Perilla, 2008).

En el caso de las uniones químicas secundarias (que corresponden a enlaces químicos de menor energía), se presentan características más apropiadas para la bioadhesión por su transitoriedad. La interacción entre dos de estas moléculas es el resultado de fuerzas de atracción y repulsión; la cuantía de estos dos fenómenos determina si interaccionan o no. Para que ocurra la bioadhesión, la interacción atractiva debe ser mayor que la repulsión no específica. Este tipo de fuerzas contribuye principalmente sobre las propiedades bioadhesivas de los polímeros, específicamente las fuerzas de Van der Waals y la formación de puentes de hidrógeno, y se relacionan con la estructura química del material adhesivo; los polímeros que presentan grupos carboxilos e hidroxilos en su composición presentan los mejores comportamientos bioadhesivos (Vallejo y Perilla, 2008).

Como se mencionó en el apartado 7.2.2 de la sección “Resultados y discusión” la bioadhesión en los parches transdérmicos elaborados se debe a la interacción entre el Eudragit RL 100 y la Triacetina, puesto que el agente plastificante es responsable de la reducción de la fuerza agregada causada por la atracción intermolecular del polímero por efecto de la presencia de puentes de hidrógeno (lo cual es posible debido al carácter hidrofílico del Eudragit RL 100 y a la afinidad de la Triacetina por este tipo de compuestos a causa de la presencia de grupos hidroxilo en su molécula), dando como resultado un aumento en la resistencia adhesiva de la película. Estos puentes de hidrógeno provocan el establecimiento de un contacto íntimo entre el polímero bioadhesivo y la superficie irregular del tejido ocurriendo lo siguiente: en la interfase de contacto se origina una interpenetración de las moléculas del polímero en el tejido de aplicación y viceversa, lo cual da lugar a uniones semipermanentes que promueven la posterior interacción química propiamente bioadhesiva (Vallejo y Perilla, 2008). Entre los factores que contribuyen al fenómeno de configuración de este

entramado se encuentran la fluidez y flexibilidad molecular del polímero, la viscosidad del bioadhesivo y la rugosidad del sustrato; es importante destacar que el fenómeno también depende del tiempo pues se requiere la difusión de las moléculas del polímero y la formación de entramados entre las cadenas.

De acuerdo a los resultados de la tabla 15, se obtuvo un promedio de 209.75 g.F. de bioadhesión para el parche transdérmico elaborado. Valores altos son necesarios para asegurar una adecuada adhesión del parche a la piel y con ello garantizar el efecto terapéutico de la forma farmacéutica en cuestión. Los polímeros de Eudragit son bien tolerados por la piel y tienen una alta capacidad de carga de fármacos y sus propiedades adhesivas se ve incrementadas en conjunto con un plastificante adecuado como lo es la Triacetina, de modo que el valor promedio obtenido se traduce como la cantidad de gramos fuerza necesarios para poder retirar el parche de la piel. En la tabla 15, se observa además la obtención de un coeficiente de variación del 23.97%, un valor alto puesto que al tratarse de una muestra biológica la variabilidad en cuanto a características es sumamente amplia, sin embargo de acuerdo al gráfico de control (figura 50) se observa que la distribución de las corridas se encontró dentro de las 2 desviaciones estándar con un 95% de nivel de confianza.

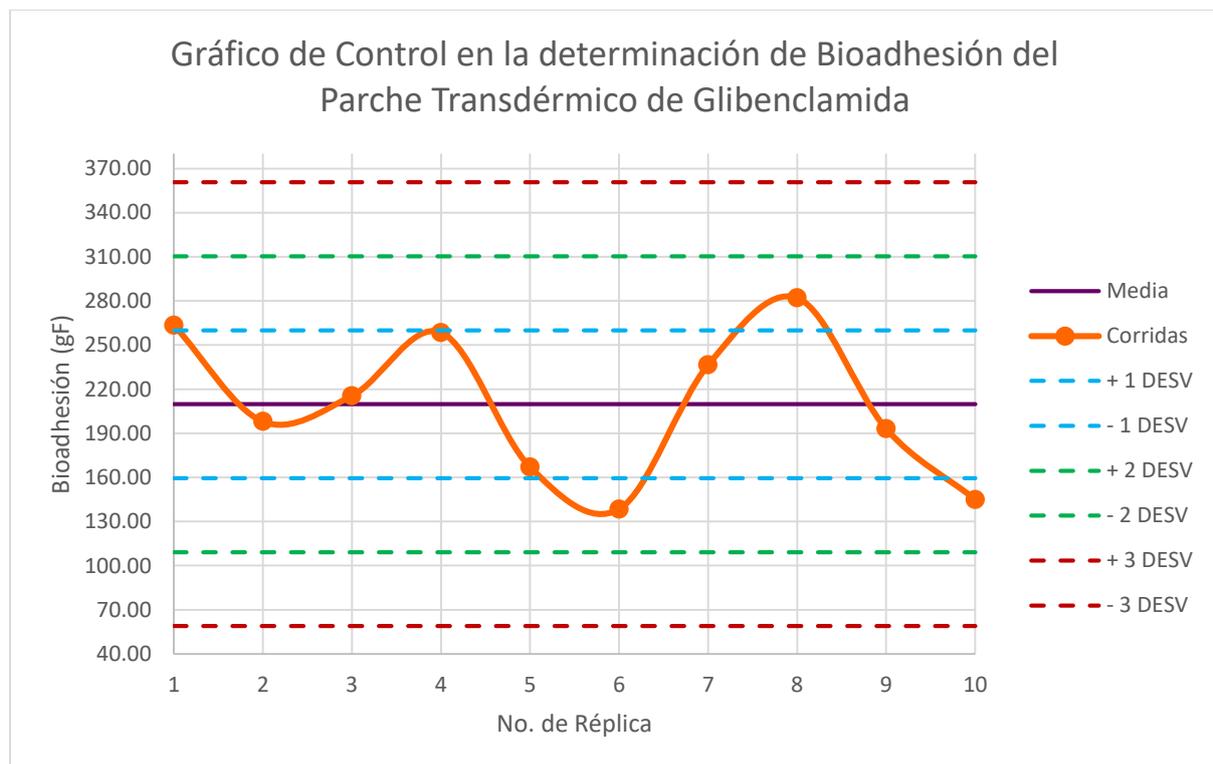


Figura 50. Gráfico de control para la determinación de bioadhesión para el parche transdérmico de Glibenclamida.

A pesar de obtener un coeficiente de variación del 23.97%, se observa que todas las corridas se localizaron dentro de las dos desviaciones estándar con un 95% de nivel de confianza. Dicha variación puede deberse a la gran variabilidad que presenta la piel humana como objeto de estudio por sus diversas características: elasticidad, nivel de humedad, contenido de lípidos, sudoración, consistencia, etc.

7.3.1.4. Bioadhesión posthumectación

La humedad es un factor que influye directamente en el grado de bioadhesión puesto que las cargas de la red molecular del polímero facilitan la entrada de agua en cantidad suficiente para provocar la hidratación, el hinchamiento y expansión del mismo lo cual hace posible la movilización de sus cadenas internas bioadhesivas que exponen todos los lugares de unión y con ello se facilita la interdifusión o interpenetración con un incremento del contacto entre la película y la superficie de contacto (Vallejo y Perilla, 2008).

Ante una mayor presencia de agua se incrementa el grado de humectación y con ello la capacidad de formación de puentes de hidrógeno. La mucoadhesión de un polímero se encuentra precisamente en función de la capacidad para formar este tipo de uniones, pues se trata de moléculas lineales o poco ramificadas para evitar impedimentos estéricos, las cuales deben tener alto peso molecular y presentar grupos funcionales hidrófilos capaces de formar puentes de hidrógeno, tener flexibilidad suficiente para penetrar las hendiduras del tejido y con características adecuadas de tensión superficial para mojar la superficie del mismo (Vallejo y Perilla, 2008).

De igual manera que en el caso de Bioadhesión, la Bioadhesión posthumectación tiene la misma importancia para asegurar el cumplimiento del efecto terapéutico de la forma farmacéutica en cuestión, sin embargo, la diferencia radica en que esta prueba considera la humectación del parche transdérmico ya sea por transpiración o por condiciones externas como lo son la humedad ambiental y la humedad propia de la piel en cuestión. En la tabla 15, se observa que se obtuvo un valor promedio de Bioadhesión posthumectación de 266.75 g.F., evidentemente mayor al obtenido en la prueba de Bioadhesión por lo expuesto anteriormente. Los datos presentaron una dispersión bastante amplia, pues se obtuvo una desviación estándar de 76.4879 y un coeficiente de variación del 28.6740% pues como se mencionó en el apartado anterior al tratarse de una muestra biológica la variabilidad en cuanto a características es sumamente amplia. Al observar el gráfico de control (figura 51) se observa que todas las réplicas se localizaron dentro de las dos desviaciones estándar con un 95% de nivel de confianza.

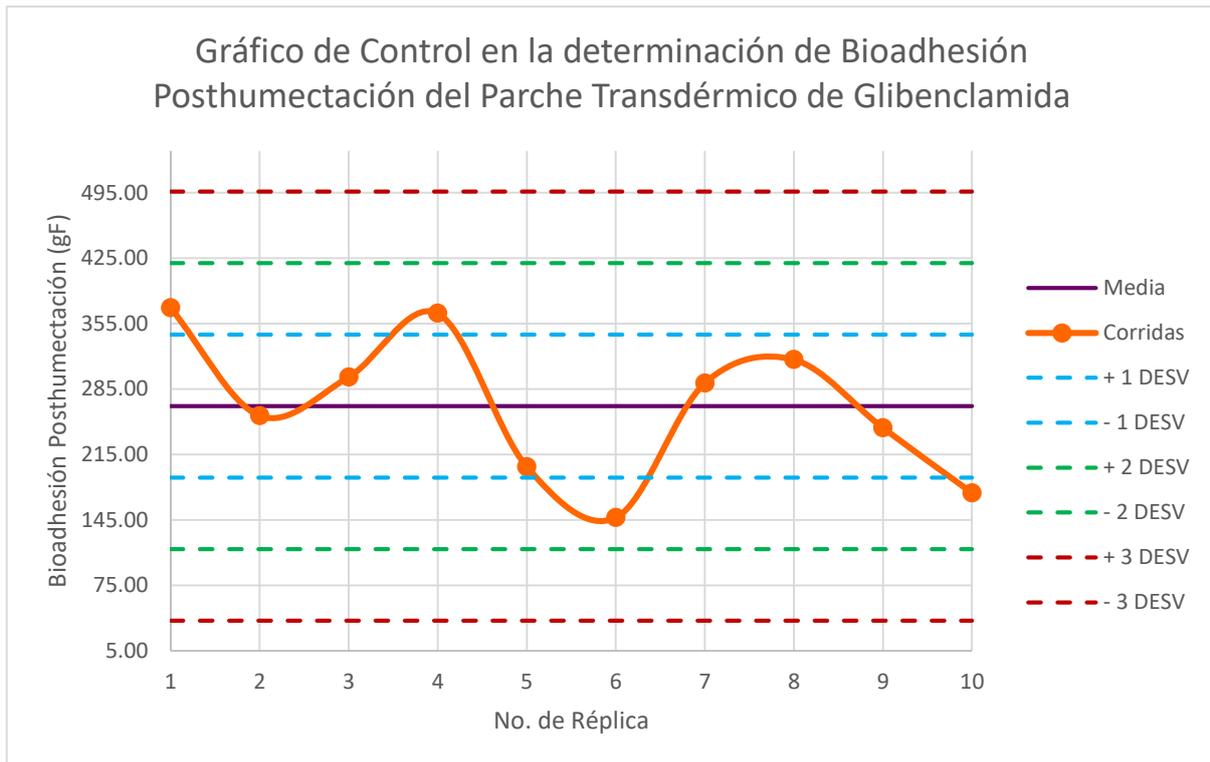


Figura 51. Gráfico de control para la determinación de la bioadhesión posthumectación para el parche transdérmico de Glibenclamida.

En comparación con la prueba de Bioadhesión, se observa que la propiedad incrementa cuando se humecta el parche puesto que con ello se favorece la formación de los enlaces tipo puente de hidrógeno, lo que resulta en una mayor interacción del parche con la superficie de contacto. A pesar de la variación registrada se observa que las corridas se desplazan dentro de las dos desviaciones estándar con un nivel de confianza del 95%.

7.3.1.5. Examinación bajo microscopía óptica

Adicionalmente se observaron bajo microscopía óptica algunas muestras del parche transdérmico a los 10, 30 y 90 días de su elaboración con el propósito de evaluar visualmente la estabilidad física de la forma farmacéutica. Las fotografías tomadas se aprecian a continuación en la figura 52.





Figura 52. Observaciones del parche transdérmico de Glibenclamida bajo microscopía óptica. En la figura se observa una muestra del parche transdérmico de glibenclamida bajo el objetivo de 40x a los: **a)** 10 días de elaboración, **b)** 30 días de elaboración y **c)** 90 días de elaboración.

De acuerdo a las fotografías presentadas no se observan cambios de color o presencia de cristales que puedan ser indicativos de incompatibilidad entre los excipientes o bien entre el fármaco y los excipientes; dichas características también pueden ser indicios de envejecimiento del sistema, por lo cual es posible apreciar que la forma farmacéutica se encuentra estable aún después de 90 días de su fabricación. Finalmente, en la figura 53 se puede apreciarse el aspecto final del parche transdérmico de Glibenclamida.



Figura 53. Aspecto final del parche transdérmico de Glibenclamida.

7.3.2. Caracterización química de la formulación

Como se mencionó en el apartado 6.4.3.2 de la sección “Métodos” se llevaron a cabo las pruebas de contenido químico, perfil de liberación y estudio *in vitro* de permeación a través de piel de cerdo mediante 10 réplicas para la prueba de contenido químico y por sextuplicado para las pruebas de perfil de liberación y el estudio *in vitro* de permeación de la formulación del parche transdérmico de Glibenclamida, obteniendo los resultados reportados a continuación.

7.3.2.1. Contenido químico

Los resultados obtenidos para la cuantificación de Glibenclamida en los parches transdérmicos se observan en la tabla 16.

Tabla 16. Resultados para la cuantificación de Glibenclamida en los parches transdérmicos.

Réplica	Peso parche completo (g)	Peso muestra (g)	Absorbancia	Cantidad recuperada en la muestra (g)	Cantidad total recuperada (g)	% Recobro
1	1.7928	0.1325	0.0521	0.0076	0.1002	99.6529
2	1.7010	0.1847	0.0714	0.0104	0.0986	98.0734
3	1.7209	0.2159	0.0873	0.0127	0.1032	102.6370
4	1.7700	0.2094	0.0831	0.0121	0.1013	100.7201
5	1.7094	0.1842	0.0748	0.0109	0.1036	103.0356
6	1.7532	0.1768	0.0719	0.0105	0.1038	103.1752
7	1.7313	0.2769	0.1122	0.0164	0.1035	102.9043
8	1.7925	0.1919	0.0739	0.0108	0.0983	97.7082
9	1.7990	0.3054	0.1195	0.0174	0.0999	99.3825
10	1.7309	0.1686	0.0682	0.0099	0.1032	102.6100
					Promedio	100.9899
					Desv. Est.	2.1521
					%C.V.	2.1310

De acuerdo a lo estipulado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos los requerimientos para la prueba de Valoración (% de contenido químico) en parches transdérmicos establecen un contenido no menor del 85.0% y no mayor del 115.0%, ninguna unidad debe localizarse fuera del intervalo de 75.0 al 125.0% y la desviación estándar relativa debe ser menor o igual al 6.0%. Acorde a los resultados mostrados en la tabla 16 se observa que las 10 réplicas evaluadas se encontraron dentro de los parámetros establecidos obteniendo un promedio de 100.9899% de contenido de principio activo y la desviación estándar de la muestra se encuentra por debajo del máximo permitido con un total de 2.1521% por lo cual la prueba cumple con los criterios de aceptación establecidos. Esta prueba indica la efectividad de la forma de dosificación ya que es esencial que ésta contenga la cantidad de principio activo indicada en el marbete para asegurar que cumpla con la dosis terapéutica y con ello garantizar la efectividad en el tratamiento farmacológico, por lo cual la evaluación de este parámetro es de suma importancia. Se observa además un coeficiente de variación del 2.1310% y acorde a la gráfica control (figura 54) se observa que todas las corridas se localizaron dentro de las dos desviaciones estándar con un nivel de confianza del 95%.

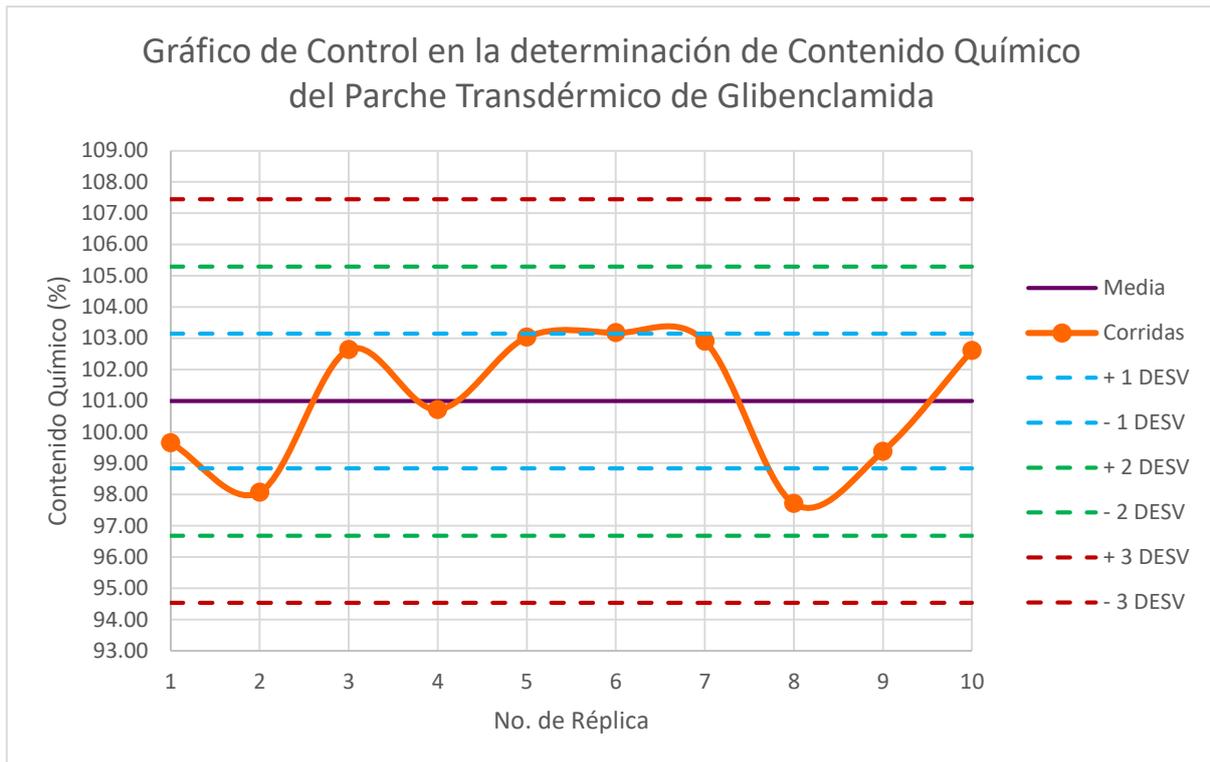


Figura 54. Gráfico de control para la determinación de contenido químico para el parche transdérmico de Glibenclamida.

Se observa que todas las corridas se localizaron dentro de las especificaciones establecidas por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, obtenido un promedio en el porcentaje de contenido químico del 100.9899% con una desviación estándar relativa del 2.1310%.

7.3.2.2. Perfil y cinética de liberación

La liberación es el proceso por el cual el fármaco, entregado en un vehículo farmacéutico, accede a la condición de fármaco libre imprescindible para su absorción (Talevi et. al., 2016). A fin de llevar a cabo la medición de este proceso se proponen los estudios de liberación, los cuales son pruebas que se realizan a las formas de dosificación farmacéutica con el fin de determinar la cantidad de fármaco que pasa al medio de disolución en intervalos de tiempo definidos con la finalidad de obtener la condición de fármaco libre y poder ser absorbido para ejercer su función terapéutica.

Teniendo en cuenta que la absorción de un fármaco depende de la liberación de la sustancia activa, su disolución o solubilidad, bajo condiciones fisiológicas y la permeabilidad de la forma farmacéutica el tipo de liberación se hace relevante, teniendo los siguientes tipos: liberación inmediata, liberación modificada, liberación retardada, liberación controlada, liberación sostenida y liberación prolongada.

Los sistemas terapéuticos transdérmicos (STT) propiamente dichos, son sistemas de liberación sostenida; y, por tanto, su objetivo es el de suministrar el fármaco a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante. Debido a la importancia que tiene este proceso, se llevó a cabo la realización del perfil de liberación del parche transdérmico de Glibenclamide (n = 6), a fin de conocer la cantidad de fármaco liberada por unidad de tiempo el cual puede visualizarse en la figura 55.

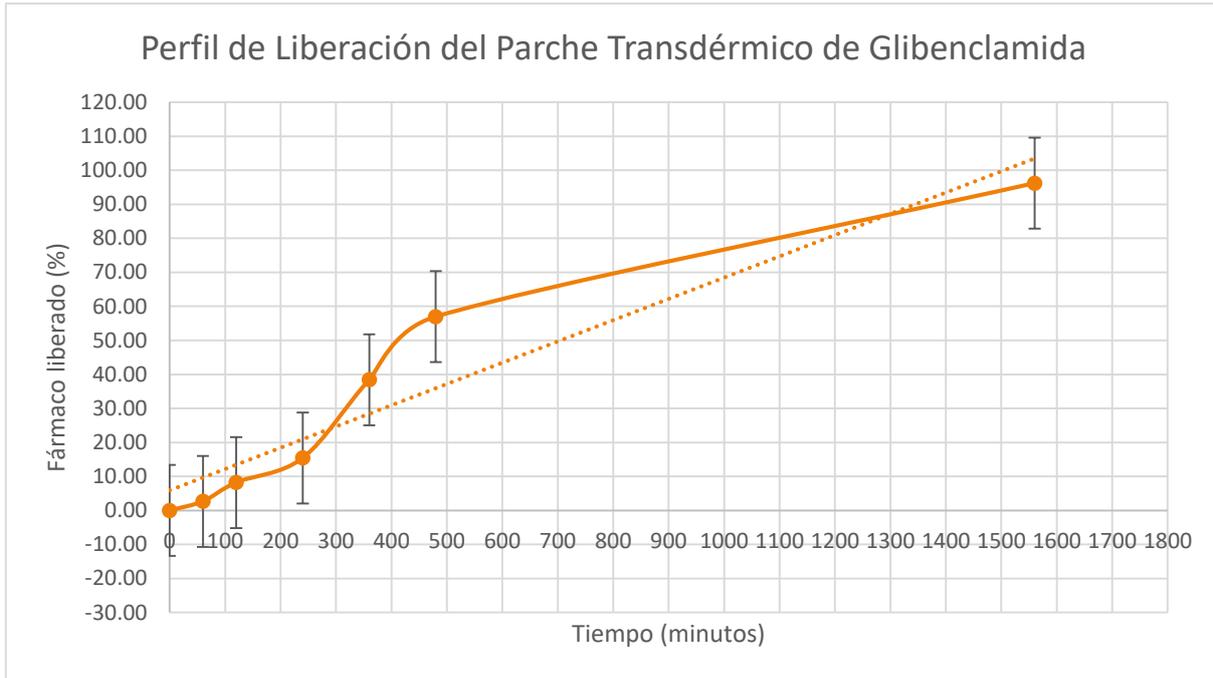


Figura 55. Perfil de liberación del parche transdérmico de Glibenclamida.

Acorde al gráfico es posible observar la liberación paulatina del fármaco conforme transcurre el tiempo, obteniendo un total del 96.19% liberado al cabo de 1,560 minutos (26 horas).

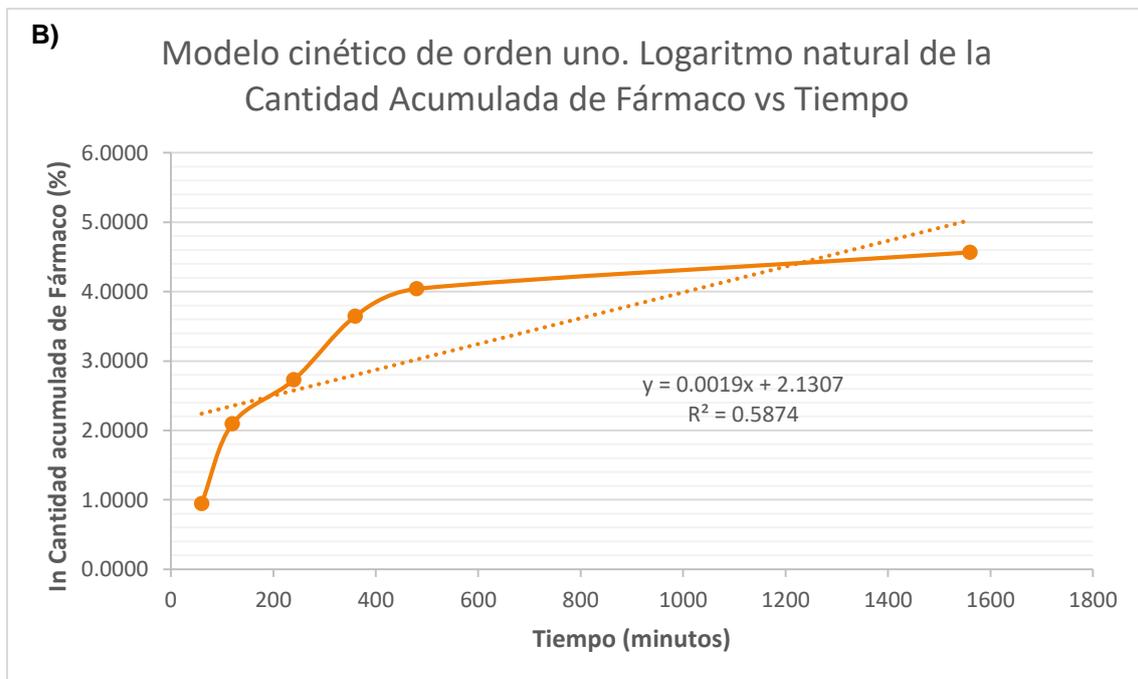
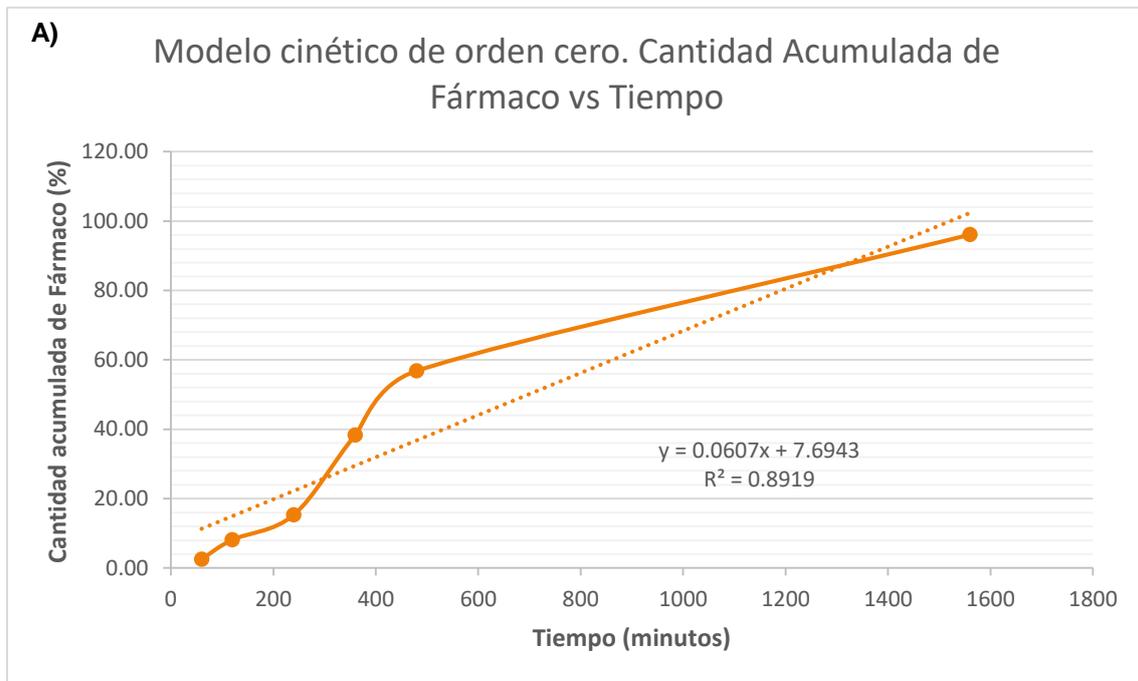
Al visualizar el gráfico anterior se observa que al cabo de 480 minutos (8 horas) se liberó más del 50% del fármaco contenido en el parche y para los 1,560 minutos (26 horas) se liberó más del 90% del fármaco, indicativo de que el principio activo estará disponible para su posterior absorción a través de la piel.

La velocidad de liberación de la sustancia deseada está prácticamente controlada por las propiedades del polímero, aunque, por otra parte, existen otros factores de menor influencia, tales como el pH del medio en el que se va a realizar la liberación. Para que la sustancia que se va a liberar alcance el lugar de liberación deseado, en primer lugar, se tiene que producir la difusión de la misma desde la superficie de su transportador hasta el medio que lo rodea y a partir de ahí, mediante un marcador alcanzará el lugar sobre el que deberá ejercer su efecto (Sáez et. al., 2004). La vasta mayoría de los modelos teóricos que describen la liberación del principio activo son modelos basados en ecuaciones de difusión; por lo cual a fin de conocer la cinética de liberación en el parche transdérmico de Glibenclamida los datos fueron ajustados a los modelos matemáticos de orden cero, orden uno, Higuchi y Korsmeyer-Peppas descritos en la sección 2.2.5 de la sección “Marco teórico”, cuyos resultados pueden observarse en la tabla 17.

Tabla 17. Parámetros obtenidos para la determinación de la cinética de liberación del parche transdérmico de Glibenclamida.

Orden Cero		Orden Uno		Higuchi		Korsmeyer-Peppas		
r^2	K_0 (%*min ⁻¹)	r^2	K_1 (min ⁻¹)	r^2	K_H (%*min ^{1/2})	r^2	n	K_{KP}
0.8919	0.0607	0.5874	0.0019	0.9585	3.108	0.9858	-5.0014	4.2875

Acorde a los resultados obtenidos, se observa que los datos se ajustan a los modelos cinéticos de Higuchi y de Korsmeyer-Peppas puesto que los coeficientes de correlación (r^2) son los más cercanos a uno por lo cual es probable que la liberación siga un mecanismo de erosión y posterior difusión a través del parche transdérmico. Lo anterior puede visualizarse mejor a través de los gráficos de cinética de liberación (figura 56).



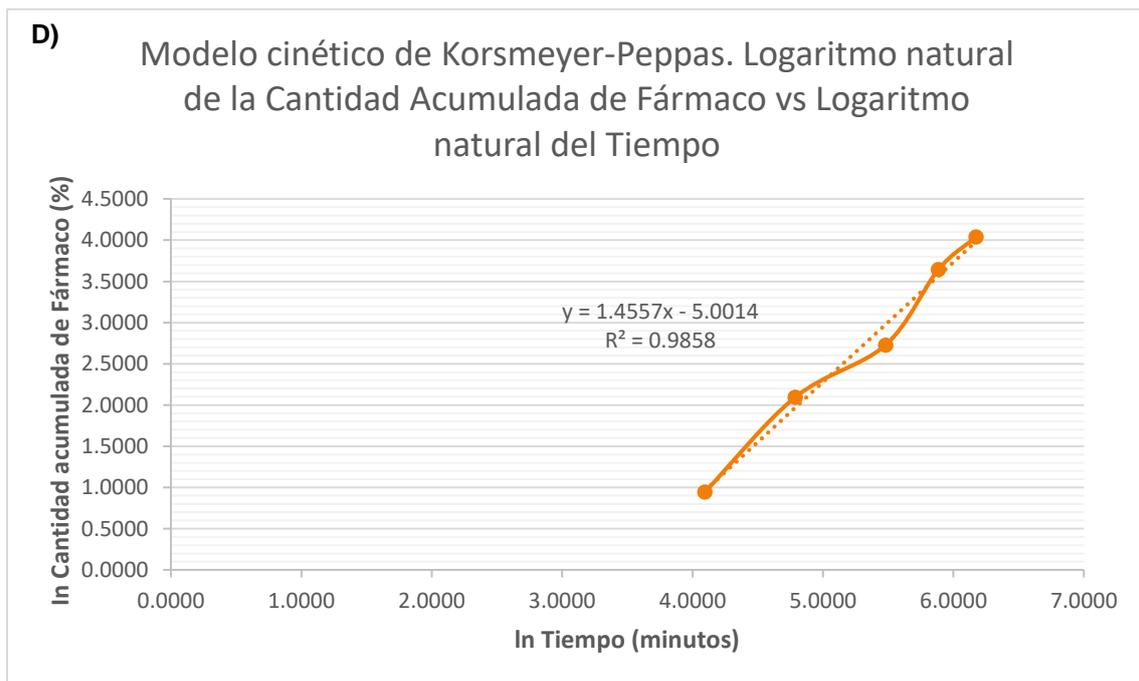
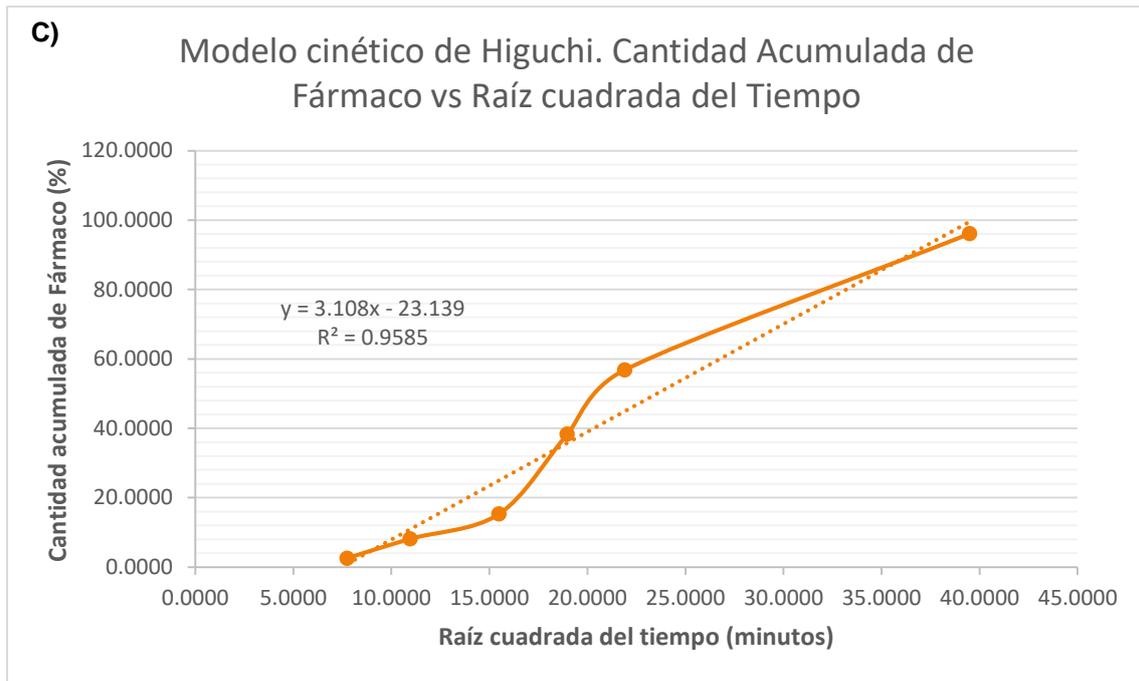


Figura 56. Modelos matemáticos de ajuste para determinación de la cinética de liberación en el parche transdérmico de Glibenclamida.

Se observan los modelos matemáticos de: **a)** orden cero, **b)** orden uno, **c)** Higuchi y **d)** Korsmeyer-Peppas, siendo los dos últimos los modelos que pueden explicar los probables mecanismos de liberación del fármaco a través del parche transdérmico.

La erosión de un material polimérico está asociada con cambios macroscópicos en su apariencia, cambios en sus propiedades físicas y mecánicas y cambios en los procesos físicos (deformación, desintegración estructural, pérdida de peso, etc.). De todos ellos, el cambio más importante es la pérdida de material debida a los monómeros y oligómeros que abandonan el polímero. Todos los polímeros comparten la propiedad de erosión tras la degradación. Se puede definir un polímero bioerosionable como un polímero insoluble en agua que, bajo ciertas condiciones fisiológicas, se convierte en soluble sin importar el mecanismo específico involucrado en el proceso de erosión. El prefijo “bio” significa que la erosión ocurre bajo condiciones fisiológicas, al contrario de otros procesos de erosión causados por elevada temperatura, ácidos y bases fuertes, luz ultravioleta o condiciones climatológicas extremas.

Se pueden distinguir dos tipos de bioerosión, la erosión superficial o heterogénea y la erosión en masa u homogénea, las cuales se ilustran a continuación en la figura 57:

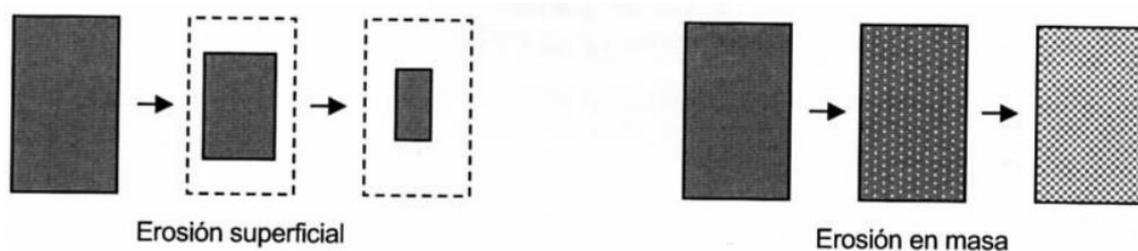


Figura 57. Representación esquemática de los mecanismos de erosión superficial y erosión en masa.

Tomada de Busquet, M. *Polímeros y suturas*. 2007.

La erosión superficial ocurre cuando la velocidad a la que el agua penetra en el material es menor que la velocidad de conversión del polímero en fragmentos solubles. Este ataque superficial tiene como consecuencia la reducción del espesor del material. El polímero debe tener carácter hidrofóbico, para impedir la penetración del agua. Por su parte, en la erosión masa, la cantidad de agua que penetra en el sólido es superior a la que el polímero necesita para transformarse en un material soluble; el exceso de agua provoca una erosión que afecta a toda la masa del sólido. Este tipo de erosión ocurre en dos fases. En la primera, el agua penetra en el material atacando a los enlaces químicos de la fase amorfa y convirtiendo las cadenas poliméricas largas en fragmentos más cortos solubles en agua. Debido a que este fenómeno ocurre inicialmente en la fase amorfa, hay una reducción en el peso molecular, pero sin producirse pérdidas en las propiedades físicas, ya que la matriz del material está soportada aún por las regiones cristalinas. En la segunda fase tiene lugar el ataque enzimático y la metabolización de los fragmentos, resultando en una rápida pérdida de la masa del polímero (Busquet, 2007).

Dado que la matriz polimérica del parche transdérmico de Glibenclamida está constituida por dos tipos de polímeros: Eudragit RS 100 (hidrofóbico) y Eudragit RL 100 (hidrofílico) es probable que se produzcan los dos tipos de erosión mencionados anteriormente. La adición de un polímero hidrofóbico provoca que la red polimérica restrinja la liberación del fármaco por su baja capacidad de absorción de humedad, sin embargo, la combinación con un plastificante (Triacetina) provoca la relajación de la red polimérica por unión con las cadenas de la misma; además la adición de un

polímero hidrofílico incrementa dicha interacción por la creación de poros cuando entra en contacto con el medio de disolución siendo estos poros los responsables de la liberación del fármaco mediante mecanismos de difusión; de modo que la migración del fármaco al medio acuoso desde un sistema de esta naturaleza implica un proceso de absorción de agua o fluido biológico, y otro simultáneo de desorción del fármaco mediante un mecanismo de difusión controlado por el hinchamiento que sufre el material polimérico.

El proceso de difusión es impulsado por el cambio de entropía del sistema y no involucra un cambio de entalpía (no requiere calor ni trabajo). Si bien el movimiento individual de cada partícula sometida a difusión es aleatorio, el movimiento general de una población de moléculas relativamente grandes es predecible (a favor del gradiente de concentración). En el caso de los sistemas matriciales (o dispositivos monolíticos) el compuesto bioactivo se encuentra uniformemente distribuido en un soporte de polímero sólido y la difusión del fármaco a la zona determinada de aplicación puede llevarse a cabo directamente a través de la estructura molecular del polímero o a través de macro o microporos (figura 58) sin embargo, el caso más frecuente es una combinación de ambos mecanismos (Sáez et. al., 2004), fenómenos que explican los probables mecanismos de liberación del fármaco a través del parche transdérmico.

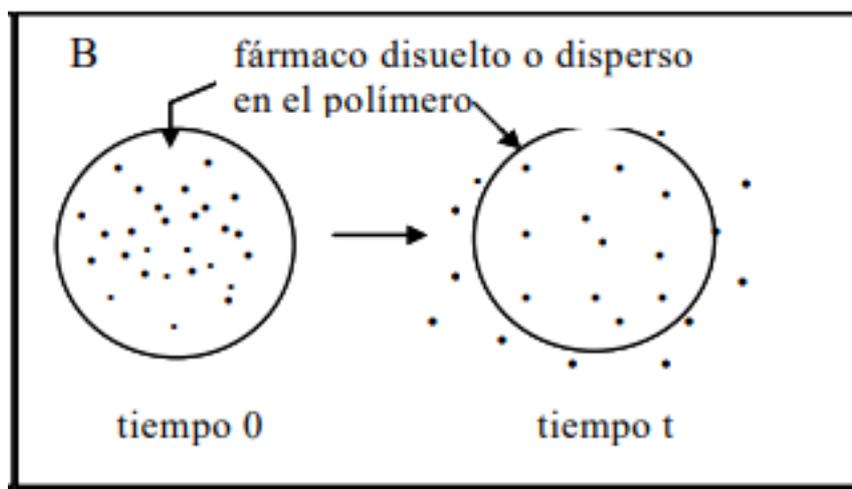


Figura 58. Mecanismo de liberación de fármacos mediante sistemas matriciales.
 Tomada de Sáez, M., Hernández, E. y Sanz, L. *Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros*. 2004.

7.3.2.3. Estudio *in vitro* de absorción percutánea a través de piel animal

La absorción percutánea es un proceso mediante el cual un fármaco se moviliza secuencialmente a través de la capa córnea, capas viables de la epidermis y dermis papilar, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su coeficiente de difusión por todas las capas de la piel hasta alcanzar el torrente circulatorio. Uno de los métodos más utilizados para el estudio de este proceso *in vitro* son las celdas de difusión tipo Franz, pues su principal objetivo es identificar las principales variables durante el diseño de la formulación que pueden alterar la biodisponibilidad del fármaco, por lo cual las evaluaciones *in vitro* se han convertido en herramientas esenciales para el desarrollo y selección de formulaciones puesto que predicen la absorción cutánea *in vivo*. Ante esto, el uso de piel es esencial pues proporciona condiciones reales a la experimentación ya sea humana o piel con características similares, como lo es la piel animal de cerdo.

Mediante la determinación de las concentraciones se calculó la cantidad acumulada (mg) de Glibenclamida ($n = 6$) y la cantidad acumulada por área expuesta del parche, la cual se obtuvo mediante la división de la cantidad acumulada de fármaco entre el área (cm^2) del interior de la celda de Franz (2.01 cm^2) ya que esta es el área de contacto efectiva de piel con el parche transdérmico. Los resultados pueden observarse en la tabla 18.

Tabla 18. Resultados experimentales de las cantidades de fármaco acumuladas y las cantidades acumuladas por área expuesta del parche transdérmico de Glibenclamida.

Tiempo (horas)	Cantidad de fármaco acumulada (μg)	Cantidad de fármaco acumulada por área expuesta de parche ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
2	37.42	18.62
4	66.43	33.05
6	99.00	49.25
8	128.00	63.68
24	187.02	93.04
26	215.77	107.35
28	226.70	112.79
30	249.87	124.31
32	271.92	135.28

Adicionalmente se graficó la cantidad acumulada de Glibenclamida por área de contacto efectiva de parche ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) en función del tiempo (h) con la finalidad de obtener el perfil de permeación a través de la piel. Como se puede observar en la figura 59 existen dos porciones en el gráfico; la porción inicial de la curva representa la difusión no estacionaria y la porción lineal corresponde a la difusión en estado estacionario de manera que la porción inicial es descrita matemáticamente por la segunda ley de Fick, mientras que la porción lineal puede ser descrita mediante la primera ley de Fick.

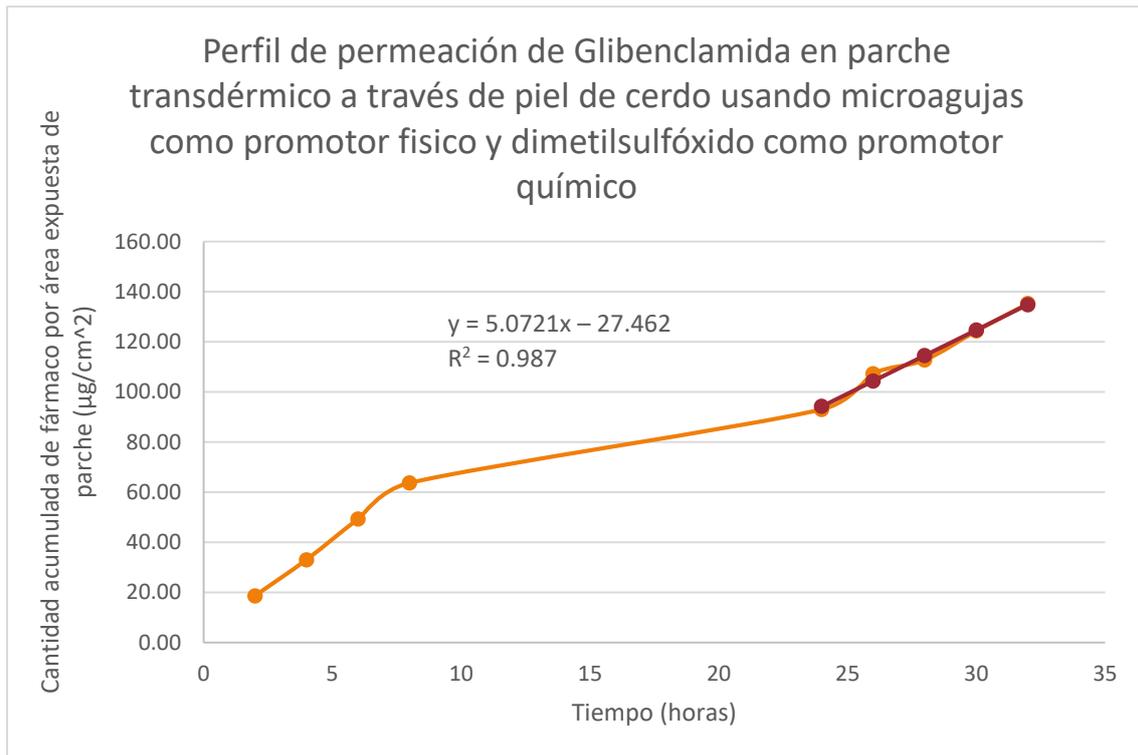


Figura 59. Perfil de permeación de Glibenclamida formulado en un parche transdérmico a través de piel de cerdo usando microagujas como promotor físico y Dimetilsulfóxido como promotor químico.

Empleando la ecuación de la recta de la porción lineal obtenida mediante regresión simple se pueden obtener los parámetros de permeación (descritos en el apartado 6.4.3.2.8.3 de la sección “Métodos”); los cuales pueden observarse en la tabla 19.

Tabla 19. Parámetros de permeación obtenidos mediante el estudio *in vitro* de absorción percutánea.

Tiempo de Latencia	Flujo	Constante de Permeabilidad
T_L (h)	L ($\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$)	K_p ($\text{cm}^2/\text{h})\times 10^{-3}$
5.4143	5.0721	1.4518

La piel constituye una barrera muy selectiva al paso de sustancias químicas, y el estrato córneo es el principal responsable de su control. Además, el flujo de moléculas a través de la piel depende de la naturaleza de la sustancia química, del coeficiente de reparto vehículo-piel y del coeficiente de difusión de la sustancia difusora a través de la piel. El flujo de una determinada sustancia se define como la cantidad de masa o el número de moléculas que se mueven a través de una determinada área transversal en un intervalo de tiempo definido; de manera que, acorde a los resultados obtenidos se observa que 5.0721 μg de Glibenclamida son capaces de atravesar 1 cm^2 de piel por cada hora. Como se mencionó anteriormente el proceso de absorción percutánea está condicionado por la lipofilia del fármaco la cual puede expresarse a través de su coeficiente de partición ($\log P$); de manera que fármacos con bajo $\log P$ presentarán baja permeabilidad debido a su pobre capacidad de partición dentro del dominio lipídico del estrato córneo y por el contrario, fármacos con un alto $\log P$ presentarán alta permeabilidad. El flujo lento de la Glibenclamida puede relacionarse

probablemente con su bajo coeficiente de permeabilidad (siendo de 3.78) y por ende a su bajo carácter lipofílico. La cinética de la absorción percutánea, explicada con la teoría física de la difusión es la dosis finita, es decir, una dosis que se aplica sobre la piel en forma de capa delgada y que se absorbe gradualmente hasta terminarse, momento en el cual su acción es nula. La tasa de absorción o flujo desde la capa del medicamento aplicado sobre la piel hacia la circulación sanguínea tiene tres fases: **1)** fase de latencia, en la cual al comenzar el flujo a través de la capa córnea, el fármaco aún no atraviesa totalmente la epidermis para dirigirse hacia los capilares por lo cual el flujo es en ese momento cero puesto que no hay medicación medible en los capilares sanguíneos; **2)** fase de aumento, en la cual al pasar el tiempo algunas moléculas atraviesan la capa córnea y entran en los capilares sanguíneos por lo que la medicación se hace medible y el proceso de absorción se vuelve cuantificable, más tarde una mayor concentración de fármaco atraviesa la barrera cutánea y ocasiona la elevación de la curva de absorción y **3)** fase de caída, cuando la cantidad de fármaco aplicada comienza a disminuir a través del tiempo, la cantidad que se registra en los capilares también disminuye y se origina la fase de caída (figura 60).

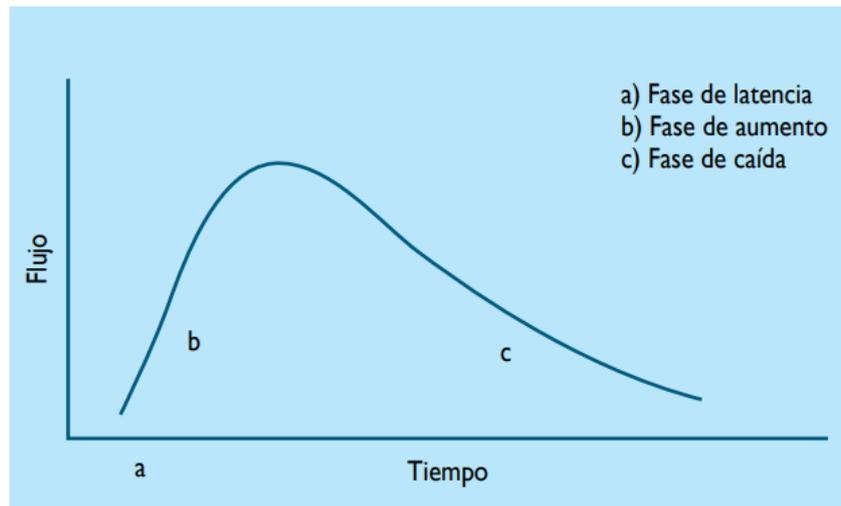


Figura 60. Modelo de absorción percutánea con dosis finita.
Tomada de Sánchez, L. *Absorción percutánea*. 2018.

Puede darse el caso en el cual la dosis del fármaco se considera infinita (por la enorme cantidad de fármaco disponible) presentando un modelo de absorción continuo con una curva plana de absorción máxima (figura 61); sin embargo, es importante resaltar que entre en el primero y último caso pueden existir múltiples modelos intermedios en los cuales la concentración del fármaco produce curvas diferentes de absorción relacionadas con la cantidad de medicamento disponible.

En los casos descritos anteriormente se presenta un momento determinado en el cual el fármaco empieza a liberarse y a fluir de manera constante a través de la piel, siendo este momento el denominado tiempo de latencia. Acorde a los resultados obtenidos se observa que, transcurrido un lapso de 5 horas, el flujo de fármaco comenzará a llevarse a cabo de manera gradual y constante a través de la piel.

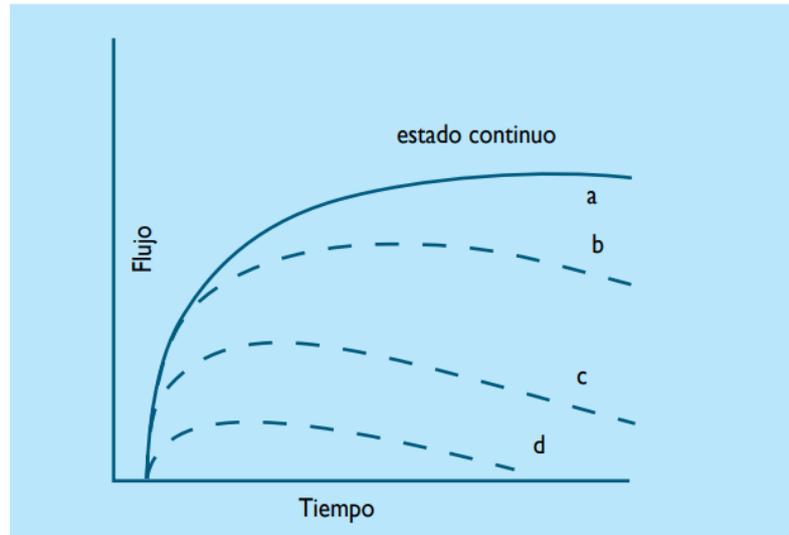


Figura 61. Modelo de absorción percutánea con dosis abundante de medicamento.

a) Modelo de estado continuo con dosis abundante; **b, c y d)** Modelos intermedios de absorción con dosis cada vez menores de medicamento que conducen a la fase de caída similar al modelo de la dosis finita. Tomada de Sánchez, L. *Absorción percutánea*. 2018.

Con el propósito de incrementar el grado de penetración percutánea de la Glibenclamida formulada en el parche transdérmico se empleó la utilización de un promotor químico: dimetilsulfóxido y un promotor físico: microagujas metálicas de 0.25 mm.

El dimetilsulfóxido (DMSO) incrementa la penetración cutánea de numerosos fármacos favoreciendo la absorción de sustancias tanto hidrófilas como lipófilas. Su mecanismo de acción se atribuye, por una parte, a sus propiedades disolventes que incrementan el reparto de fármacos en la piel y, por otra, a sus efectos sobre los lípidos del estrato córneo, que incrementan la difusión (Barry, 1991); lo anterior a concentraciones superiores al 50% (Kurihara et. al., 1986). Es importante resaltar que en la actualidad su uso está restringido debido a la irreversibilidad de su efecto sobre la piel por la creación de poros a altas concentraciones e interrupción general de la piel (Gurtovenko y Anwar, 2007), los problemas toxicológicos cutáneos que aparecen a los niveles requeridos para su efecto (Sjögren y Anderson, 2000) y los efectos negativos en el epitelio pulmonar, provocados por su inhalación (Sharma et. al., 2011).

Las microagujas constituyen la base de una novedosa técnica para administrar pequeñas cantidades de fármacos altamente potentes a través de la piel sin causar dolor. Están compuestas por numerosas estructuras mucho más finas que el diámetro de un cabello humano, no causan dolor al paciente ya que únicamente penetran la capa más externa de la piel donde no existen terminaciones nerviosas. Estos dispositivos perforan el estrato córneo creando microcanales hidrofílicos transitorios a través de la piel proporcionando el acceso directo a la epidermis viable subyacente, sin llegar a los vasos sanguíneos. Una vez que las microagujas han perforado el estrato córneo, se permite el acceso del fármaco hacia estructuras más internas de la piel donde difunde y es absorbido por los capilares para ser transportado posteriormente a la circulación sistémica (Arroyo, 2014). La longitud de las microagujas tiene un papel importante en la absorción percutánea; en estudios realizados se demostró que las microagujas de 2.25 mm presentan mayor penetración

de fármaco dado que el grosor característico de la epidermis (capa más externa de la piel donde se encuentra el estrato córneo, el cual es la principal barrera de permeabilidad) es perforado y atravesado fácilmente al usar microagujas de estas dimensiones, proporcionando así mayor facilidad al fármaco de ingresar y llegar hasta la dermis para pasar a la circulación sistémica (Anguiano, 2017).

De acuerdo a los resultados obtenidos con el uso de dos promotores de la permeación percutánea (DMSO al 15% y microagujas metálicas de 0.25 mm), un parche transdérmico de aproximadamente 7 x 7 cm (49 cm²) liberaría 5.9647 mg de Glibenclamida en 24 hrs, siendo más de una dosis terapéutica necesaria y en aproximadamente 10 x 10 cm (100 cm²) se estarían liberando 12.1730 mg de Glibenclamida en 24 hrs siendo más de dos dosis necesarias para alcanzar el efecto terapéutico deseado. Ante esto, si se deseara utilizar un parche de dimensiones inferiores bastaría con incrementar la carga de fármaco al doble en su proceso de elaboración para obtener los mismos resultados, es decir que con un área de 50 cm² aproximadamente se estarían liberando más de dos dosis terapéuticas por día.

8. CONCLUSIONES

- Se llevó a cabo una investigación documental para seleccionar los excipientes adecuados a fin de formular un parche transdérmico de Glibenclamida.
- A través de los ensayos de preformulación se obtuvo que las películas poliméricas elaboradas a partir de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 empleando Triacetina como agente plastificante presentaron las mejores características visibles: homogeneidad, aspecto traslúcido, sin presencia de precipitados y con rigidez al tacto.
- Se llevó a cabo un diseño de experimentos de tipo factorial 3^2 estudiando la influencia de las cantidades de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100 adicionadas en las respuestas resistencia a la ruptura, bioadhesión y bioadhesión posthumectación y se determinó que a mayores cantidades adicionadas de Eudragit RL 100 se incrementan dichas respuestas. Por el contrario, a mayores cantidades adicionadas de Eudragit RS 100 las respuestas mencionadas anteriormente disminuyen.
- Se determinaron además las cantidades óptimas de los polímeros a utilizar, siendo 407 mg para Eudragit RS 100 y 700 mg para Eudragit RL 100.
- Se llevó a cabo la caracterización física de la formulación óptima mediante las pruebas de diámetro, peso y área, resistencia a la ruptura, bioadhesión, bioadhesión posthumectación, determinándose que el parche posee dimensiones (8.60 cm de diámetro y 58.1039 cm² de área en promedio) y peso 1.7454 g en promedio) uniformes, requiriéndose un total de 198.50 g/F para provocar su fractura, un total de 209.75 g/F para retirarlo de la piel y un total de 266.75 g/F para retirarlo de la piel tras un tratamiento previo de humectación.
- Se llevó a cabo además la caracterización química de la formulación óptima mediante las pruebas de contenido químico, liberación y permeación percutánea a través de piel animal (cerdo) obtenido un porcentaje promedio de contenido químico del 100.9899% cumpliendo con las especificaciones establecidas en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos; se demostró que al cabo de 8 horas se liberó más del 50% del fármaco y al cabo de 26 horas se liberó más del 90% del fármaco contenido en el parche transdérmico mediante un mecanismo de erosión-difusión pues los datos obtenidos se ajustaron a los modelos cinéticos de Higuchi y de Korsmeyer-Peppas; finalmente se determinó que la Glibenclamida contenida en el parche transdérmico presentó un flujo de 5.0721 $\mu\text{g}/\text{cm}^2\text{h}$ a través de piel animal (cerdo) y un tiempo de latencia de 5.4143 hrs, tiempo en el cual la liberación del fármaco se presenta de manera constante y gradual con una constante de permeabilidad de $1.4518 \times 10^{-3} \text{ cm}^2/\text{h}$.
- Con el propósito de mejorar las propiedades de permeación percutánea del fármaco en el parche transdérmico se implementó el uso de un promotor químico (dimetilsulfóxido) y un promotor físico (microagujas metálicas), determinando así que a una concentración de DMSO del 15% y una dimensión de microagujas sólidas de 0.25 mm es necesario un parche transdérmico de 49 cm² para liberar una dosis de 5.9647 mg en 24 hrs, lo que representa más de una dosis necesaria para alcanzar el efecto terapéutico deseado.

- Se llevó a cabo el desarrollo y validación de un método analítico que permitió cuantificar la Glibenclamida en el parche transdérmico estableciendo así que el método es preciso, exacto, repetible, reproducible y con buena linealidad.
- Los resultados obtenidos en este proyecto permiten concluir que el parche transdérmico formulado de Glibenclamida puede ser considerado como una posible alternativa para incrementar la adherencia al tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2.

9. PERSPECTIVAS

- Llevar a cabo estudios de estabilidad al parche transdérmico de Glibenclamida mediante técnicas como la calorimetría diferencial de barrido (DSC) y análisis termogravimétrico (TGA) a fin de indagar sobre la incompatibilidad del fármaco-excipientes y excipientes-excipientes con el propósito de estudiar su estabilidad y establecer así su vida de anaquel.
- Llevar a cabo estudios de permeación percutánea utilizando diferentes concentraciones de dimetilsulfóxido y diferentes dimensiones de microagujas en piel humana a fin de determinar las condiciones que proporcionen un mejor flujo del fármaco y con ello una mayor absorción percutánea.
- Llevar a cabo alguno de los métodos de estudio *in vivo* a fin de correlacionar los resultados obtenidos del estudio *in vitro* y con ello caracterizar de forma más completa el parche transdérmico de Glibenclamida.
- Llevar a cabo un estudio que permita observar la mejora en la adherencia al tratamiento de los pacientes con diabetes mellitus tipo 2 utilizando un parche transdérmico frente a los hipoglucemiantes orales convencionales.

10. REFERENCIAS

1. Anguiano, E. (2017). *Desarrollo, caracterización fisicoquímica y estudios de penetración in vitro a través de piel humana de losartán potásico formulado en parche transdérmico usando microagujas como promotor físico* (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
2. Alkilani, Z.A., et. al. (2015). Transdermal Drug Delivery: Innovative Pharmaceutical Developments Base don Disruption of the Barrier Propierties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*, 7(1). 438-470.
3. Allevato, M.A. (2007). Sistemas terapéuticos transdérmicos. *Act. Terap. Dermatol*, 30(1): 154-166.
4. Alonso, F.M. et. al. (2015). Guías Clínicas: Diabetes mellitus. *Euromedice*. Badalona, España.
5. Apurba, S.A. et. al. (2009). Investigation of *in vitro* reléase kinetics of carbamazepine from Eudragit RS PO and RL PO matrix tablets. *Trop. J. Pharm. Res.*, 8(2): 145-152.
6. Arroyo, J. (2014). *Estudio de la penetración in vitro a través de piel humana de pravastatina sódica formulada en parches transdérmicos de quitosán usando microagujas como promotor físico* (tesis de licenciatura). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
7. Barry, B.W (1983). *Dermatological Formulations*. New York: Marcel Dekker.
8. Barry, B.W. (1991). Lipid-protein-partitioning theory of skin penetration enhancement. *J. Control. Release*, 15(3). 237-248.
9. Beetge, E. et. al. (2000). The influencie of the physicochemical characteristics and pharmacokinetic properties of selected NSAID's on their transdermal absorption. *Int. J. Pharm.*, 193(2) : 261-264.
10. Bonet, R. y Garrote, A. (2015). Parches Medicamentosos. *Farmacia Abierta*, 29(5): 32-35.
11. Bonima, F.P. et. al. (1993). In vitro percutaneous absorption evaluation of phenobarbital through hairless mouse, adult and premature human skin. *Int. J. Pharm.*, 98(1): 93-99.
12. Braverman, I.M. y Keh-Yen, A. (1984). Ultrastructural abnormalities of the microvasculate and elastic fibers in the skin of juvenile diabetics. *J. Invest. Dermatol.*, 82(1): 270-274.
13. Busquet, M (2007). Polímeros y suturas. [En línea]. Recuperado el 21/Agosto de 2019 de: [https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4014/ANEXO%20POLI MEROS%20Y%20SUTURAS.pdf](https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4014/ANEXO%20POLI%20MEROS%20Y%20SUTURAS.pdf)
14. Cervantes, V.R.D. y Presno, B.J.M. (2013). Fisiopatología de la diabetes y los mecanismos de muerte de las células β pancreáticas. *Rev. Endocr. Nut.*, 21(3): 98-106.
15. Chang, S.K. y Riviere, J.E. (1991). Percutaneous absorption of parathion in vitro in porcine skin: effects of dose, temperatura, humidity and perfusate composition on absorptive flux. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 17(3): 494-504.

16. Clarí Pons, M.A. (2004). *Estudios “in vitro” e “in vivo” de la absorción percutánea de la bemiparina: métodos de valoración* (tesis doctoral). Universitat de València. Valencia, España.
17. Cross, S.E. et. al. (2003). Determination of the effect of lipphilicity on the in vitro permeability and tissue reservoir characteristics of topically applied solutes in human skin layers. *J. Invest. Dermatol.*, 120(5): 759-764.
18. Earle, R.R. y Subramanyam, P.V. (2014) A review on microneedles: an emerging transdermal drug delivery system. *Indo American J. of Pharm. Reser.*, 4(4). 1917-1922
19. Escobar Chávez, J. J. *Estudio de la penetración a través de la piel de Naproxeno Sódico utilizando agentes promotores de penetración (Azona® y Transcutol®), y de Digluconato de Clorhexidina mediante iontoforesis* (tesis doctoral). Universidad Nacional Autónoma de México. México.
20. Escobar Chávez, J. J et. al. (2012). Chemical and physical enhancers of transdermal drug delivery. *Pharmacology*: 397-434.
21. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (2016). Secretaría de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
22. Federación Internacional de Diabetes, (2013). Atlas de la Diabetes de la FID. [En línea]. Recuperado el 22/Junio/2019 de: http://fmdiabetes.org/wp-content/uploads/2014/10/SP_6E_Atlas_Full.pdf
23. Flynn, G.L. y Yalkowsky, S.H. (1972). Correlation and prediction of mass transport across the membranes I: Influence of alkyl chain length on flux determining properties of barrier and difusant. *J. Pharm. Sci.*, 61(1): 838-852.
24. Fórtich, A.J. (S.F.). Fisiología de la secreción de insulina y glucagón. [En línea]. Recuperado el 22/Junio/2019 de: https://www.endocrino.org.co/wp-content/uploads/2015/10/Fisiologia_de_la_Secrecion_de_Insulina_AJ_Fortich.pdf
25. Fumani, T. et. al. (2009). Rheological properties of sodium alginate in an aqueous system during gelation in relation to supermolecular structures and Ca²⁺ binding. *Food Hydrocolloids*, 23(7). 1746-1756.
26. Gil, L.E. et. al. (2013). Guía de Práctica Clínica: Diagnóstico y tratamiento de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev. Med. Inst. Mex. Seguro Soc.*, 51(1): 104-119.
27. Grouthamel, W.G. et. al. (1971). Drug absorption IV. Influence of pH on absorption kinetics of weakly acidic drugs. *J. Pharm. Sci.*, 60(1): 1160-1163.
28. Gurtovenko, A. y Anwar, J. (2007). Modulating the structure and properties of cell membranes: the molecular mechanism of action of dimehyl sulfoxide. *J. Phys. Chem. B.*, 111(35). 10,453-10,460.
29. Gutiérrez, H. y De la Vara, R. (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos*. México: McGraw-Hill.
30. Instituto Mexicano del Seguro Social, (2018). Diagnóstico y Tratamiento Farmacológico de la Diabetes Mellitus Tipo 2 en el Primer Nivel de Atención. Guía de Evidencias y Recomendaciones: Guía de Práctica Clínica. México.
31. Janssens, S. et. al. (2007). The use of a new hydrophilic polymer, Kollicoat IR®, in the formulation of solid dispersions of Itraconazole. *Euro. J. Pharm. Scien.*, 30(1): 288-294.

32. Kurihara, T., Flynn, G. y Higuchi, W. Physicochemical study of percutaneous absorption enhancement by Dimethyl Sulfoxide: kinetic and thermodynamic determinants of Dimethyl Sulfoxide mediated mass transfer of alkanols. *J. Pharm. Sci.*, 75(1). 479-486.
33. Lin, S.Y. et. al. (1991). The effect of plasticizers on compatibility, mechanical properties, and adhesion strength of drug-free Eudragit E films. *Pharm. Res.*, 8(9). 1137-1143.
34. Lupo, P.B. et. al. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Rev. Ven. Cienc. y Tecnol. Alimen.*, 3(1). 130-151.
35. Martínez, N.Y. (2013). *Desarrollo de matrices biopoliméricas basadas en polivinil alcohol para la liberación controlada de antibióticos y biomoléculas* (tesis doctoral). Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
36. Marzulli, F.N. et. al. (1965). Chemical structure and skin penetrating capacity of a short series of organic phosphates and phosphoric acid. *J. Invest. Dermatol.*, 44(1): 39-344.
37. Mc Cormick, K. y Rahman, M.S. (1991). The role of testosterone in trichloroethylene penetration in vitro. *Eviron. Res.*, 54(1): 82-92.
38. McHugh, D.J. (1987). Production, Properties and Uses of Alginates. Department of Chemistry, University College. University of New South Wales. *Australian Defence Force Academy*. Campbell, ACT 2600, Australia.
39. Morais, A.L. et. al. (2016). Evaluation of skin absorption of drugs from topical and transdermal formulations. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 52(3). 527-544.
40. Moral, F.E. (2017). *Desarrollo de formulaciones transdérmicas III* (trabajo de fin de grado). Universidad Complutense. Madrid, España.
41. Pallardo, S. (2008). Sulfonilureas en el tratamiento del paciente con diabetes mellitus tipo 2. *Endocrinol Nutr.*, 55(2): 17-25.
42. Pascacio, G. et. al. (2016). Adherencia al tratamiento y conocimiento de la enfermedad en pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
43. Patel, N. et. al. (2015). Design and evaluation of buccal patch containing combination of hydrochlorthiazide and lisinopril. *RGUHS J. Pharm. Sci.*, 5(4). 142-154.
44. Pérez, F. (2009). Epidemiología y fisiopatología de la diabetes mellitus tipo 2. *Rev. Med. Clin. Condes.*, 20(5). 565-571.
45. Prabhu, S.L. et. al. (2012). Design and evaluation of matrix diffusion controlled transdermal patches of dexibuprofen. *J. Appl. Res.*, 12(1): 38-46.
46. Rabasco, A (1997). *Tecnología Farmacéutica, Vol. II: Formas Farmacéuticas*. Madrid: Síntesis S.A.
47. Reyes, F.A. et. al. (2016). Tratamiento actual de la diabetes mellitus tipo 2. *CCM.*, 20(1): 98-121.
48. Rodríguez, I. (1998). Agentes promotores de la permeación percutánea. *Rev. Cubana Farm*, 32(1).
49. Rodríguez, I. et. al. (2016). Current Technologies to increase the transdermal delivery of drugs. Physical Penetration Enhancers: Therapeutic Applications and Devices. *Bent. Science Pub.*, 210-244.

50. Rodríguez, A.M. y Trujillo, S. (2007). Modelos matemáticos para evaluar la absorción transdérmica de principios activos formulados como parches. *Rev. O.F.I.L.*, 17(4): 41-45.
51. Sáez, V., Hernández, E. y Sanz, L. (2004). Mecanismos de liberación de fármacos desde materiales polímeros. *Rev. Ibero. Pol.*, 5(1). 55-70.
52. Saladin, K.S. (2013). *Anatomía y fisiología. La unidad entre forma y función*. México: McGraw-Hill Interamericana Editores.
53. Salehi, S. y Boddohi, S. (2018). Design and optimization of kollicoat® IR based mucoadhesive buccal film for co-delivery of rizatriptan benzoate and propranolol hydrochloride. *Mater. Science and Eng.*, 97(1): 230-244.
54. Sánchez, E. (2017). *Sistemas de liberación entérica para el tratamiento de afecciones locales y sistémicas* (tesis de grado). Universidad Complutense. Madrid.
55. Sánchez, R. et. al. (2010). Uso de la HidroxiPropilMetilCelulosa (HPMC) en liberación modificada de fármacos. *Farmespaña Industrial*, 1. 48-51.
56. Santosh K. y Jyoti, M. (2013). Formulation and evaluation of transdermal patches of ketoprofen drug. *Int. J. Pharmtech Res.*, 5(2): 670-673.
57. Scheuplein, R.J. (1965). Mechanism of percutaneous absorption I. Routes of penetration and the influence of solubility. *J. Invest. Dermatol.*, 45(1): 334-346.
58. Shang-Yang, L. et. al. (1995). Drug-polymer interaction affecting the mechanical properties, adhesión srtenhtj and release kinetics of piroxicam-loaded Eudragit E films plasticized with different plasticizers. *Journal of Controlled Release*, 33(3). 375-381.
59. Shang-Yang, L. et. al. (2000). Organic esters of plasticizers affecting the wáter absorption, adhesive property, glass transition temperature and plasticizer permanence of Eudragit acrylic films. *Journal of Controlled Release*, 68(1). 343-350.
60. Sharma, S. et. al. (2011). Toxicity profile of solvents by aspiration approach for topical agent delivery to respiratory tract epithelium. *Int. J. Toxicol.*, 30(3). 358-366.
61. Sjögren, F. y Anderson, C. (2000). The spectrum of inflammatory cell response to dimethyl sulfoxide. *Contact Dermatitis*, 42(4). 216-221.
62. Soraya, R.M. et. al. (2018). *In vitro* Permeation Study of Ketoprofen Patch with Combination of Ethylcellulose and Polyvynil Pyrrolidone as Matrix Polymers. *J. Young Pharm.*, 10(2): 101-105.
63. Sukhbir, S. et. al. (2015). An overview of multifaceted significance of Eudragit polymers in drug delivery systems. *Asian J. Pharm. Clin. Res.*, 8(1): 1-6.
64. Sur Milner, P. (2008). Sistemas terapéuticos transdérmicos. *Tendencias en Medicina*, 121-130.
65. Suvakanta, D. et. al. (2010). Kinetic modeling of drug reléase from controlled drug delivery systems. *Acta Polonie Pharm.*, 67(3). 217-223.
66. Talevi, A., Quiroga, P. y Ruíz, M. (2016). *Procesos biofarmacéuticos: su relación con el diseño de formas farmacéuticas y el éxito de la farmacoterapia*. Buenos Aires: Editorial de la Universidad de La Plata.
67. Thibodeau, G.A. y Patton, K.T. (2007). *Anatomía y fisiología*. Barcelona: Elsevier.

68. Tortora, G.J. y Derrickson, B. (2006). *Principios de anatomía y fisiología*. México: Medica Panamericana.
69. Treffel, P. et. al. (1994). Hydration, transepidermal water loss, pH and skin surface parameters. Correlations and variations between dominant and non-dominant forearms. *British J. Derm.*, 130(1): 325-328.
70. Vallejo, B. y Perilla, J. (2008). Elementos conceptuales para estudiar el comportamiento bioadhesivo en polímeros. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, 37(1). 33-61.
71. Velasco, G.B.J. y Brena, R.V.M. (2014). Diabetes Mellitus Tipo 2: Epidemiología y Emergencia en Salud. *Salud y Administración.*, 1(2): 11-16.
72. Veloso, F. (2011). *Evaluación de un agente dispersante y una dispersión sólida, sobre la liberación de albendazol desde sistemas matriciales lipídicos*. (tesis de licenciatura). Universidad de Chile. Chile.
73. Wagner, K. y McGinity, J. (2002). Influence of chloride ion Exchange on the permeability and drug release of Eudragit RS 30 D films. *J. Control Release*, 82(2-3): 385-397.
74. Weingand, D.A. et. al. (1991). *Current concepts in cutaneous toxicity*. New York: Academic Press Eds.
75. Williams, A.C. y Barry, B.W. (2004). Penetration enhancers. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 56(1): 603-618.

11. ANEXOS

11.1. Protocolo de validación del método analítico para la determinación de contenido químico de Glibenclamida en el parche transdérmico

11.1.1. Objetivo

Llevar a cabo la validación del método analítico desarrollado para la determinación de contenido químico de Glibenclamida en el parche transdérmico formulado mediante la evaluación de los parámetros de linealidad del sistema, linealidad del método, precisión del sistema, precisión del método, exactitud, repetibilidad y reproducibilidad, de acuerdo a lo estipulado en la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.

11.1.2. Justificación

El desarrollo y validación de un método analítico que permita llevar a cabo la prueba de valoración (% de contenido químico) de Glibenclamida de acuerdo a los requerimientos estipulados en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (la cual establece que para los parches transdérmicos el contenido de fármaco no debe ser menor del 85.0% y no mayor del 115.0% y ninguna unidad debe localizarse fuera del intervalo de 75.0 al 125.0%) es necesario a fin de garantizar que el método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada y con ello garantizar que el contenido químico del fármaco presente en la forma farmacéutica es el adecuado para ejercer el efecto farmacéutico necesario.

11.1.3. Alcance

El presente protocolo aplica para todos los usuarios que realicen los procedimientos normalizados de operación para la determinación de Glibenclamida en el parche transdérmico.

11.1.4. Materiales, reactivos y equipos

- Glibenclamida, CPQ, lote no. 16GLB035.
- Eudragit RL 100, HELM de México, lote no. G15086553.
- Eudragit RS 100, EVONIK Industries, lote no. B130908519.
- Dimetilsulfóxido, MEYER, lote no. G0514295.
- Triacetina, ALDRICH, lote no. MKBR5987V.
- Alcohol etílico absoluto, MEYER, lote no. B0319169.
- Balanza analítica, modelo AS 220.R2, no. de serie: 413789.
- Espectrofotómetro UV/Vis, modelo VE 5100UV, no. de serie: AE1303032.
- Parrilla con termoagitación, modelo MS-H-S10, no. de serie: MF10000064.
- Micropipeta de 100–1,000 μL , modelo SBS-PIP100, no. de serie: 4250928641694.
- Celdas de cuarzo para espectrofotómetro de 1 cm^2 .
- Vasos de precipitados KIMAX de 25, 50 y 100 mL.
- Matraces volumétricos KIMAX de 25, 50 y 100 mL.
- Pipetas volumétricas KIMAX de 2, 3, 4, 6, 8 y 10 mL.
- Probeta graduada KIMAX de 50 mL.

- Espátula.
- Barra magnética.
- Varilla de vidrio.

11.1.5. Métodos

11.1.5.1. Procedimiento para la determinación de la longitud de onda de máxima absorción para Glibenclamida

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos 25 mg de Glibenclamida (P.A.) en un vaso de precipitados de 25 mL con una balanza analítica adecuada.
3. Añadir 30 mL de etanol absoluto medidos con una probeta de 50 mL y solubilizar con agitación magnética.
4. Verter el contenido anterior en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto cada vez para asegurar el completo trasvase del principio activo.
5. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar la solución completamente (solución A).
6. Tomar una alícuota de 2 mL con una pipeta volumétrica y trasvasar a un matraz volumétrico de 25 mL.
7. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
8. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
9. Realizar el barrido de la solución B para determinar la longitud de onda con la cual se obtiene la máxima absorción de la Glibenclamida.

11.1.5.2. Procedimiento para la determinación de posibles interferencias entre fármaco y excipientes para la lectura espectrofotométrica

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos 25 mg de Glibenclamida (P.A.) en un vaso de precipitados de 50 mL con una balanza analítica adecuada.
3. Añadir 30 mL de etanol absoluto medidos con una probeta de 50 mL y solubilizar con agitación magnética tapando el vaso con papel aluminio para evitar la evaporación rápida del disolvente.
4. Pesar aproximadamente bien conocidos 102 mg de Eudragit RS 100 en un vaso de precipitados de 25 mL con una balanza analítica adecuada y adicionar a la solución de principio activo con etanol absoluto, manteniendo la agitación constante hasta homogenizar por completo (solución A).
5. Trasvasar la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados 3 veces con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.
6. Llevar hasta la marca del aforo con etanol y homogenizar completamente (solución B).

7. Tomar una alícuota de 2 mL de la solución B con una pipeta volumétrica y trasvasar a un matraz volumétrico de 25 mL.
8. Llevar hasta la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución C).
9. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
10. Realizar la lectura de la solución C a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para determinar si existe algún tipo de interferencia con los excipientes utilizados en la lectura espectrofotométrica.
11. Repetir los pasos anteriores para los demás excipientes utilizando las siguientes cantidades: Eudragit RL 100 = 175 mg, Dimetilsulfóxido = 79 μ L., Triacetina = 41 μ L.

11.1.5.3. Procedimiento para la determinación de exactitud y repetibilidad

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Elaborar un parche transdérmico placebo (sin adicionar principio activo) conforme al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2. de la sección "Métodos".
3. Pesar aproximadamente bien conocidos 15 mg de Glibenclamida (P.A.) en un vaso de precipitados de 50 mL con una balanza analítica adecuada.
4. Adicionar 20 mL de etanol absoluto con una probeta de 50 mL y solubilizar con agitación magnética tapando el vaso con papel aluminio para evitar la evaporación rápida del disolvente.
5. Añadir un parche transdérmico placebo de 3x3 cm y disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
6. Verter la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.
7. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente.
8. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
9. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
10. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico.
11. El procedimiento anterior se llevará a cabo por sextuplicado con un analista en un sólo día.

Criterios de aceptación:

- $IC_{(\mu)}$ debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo del 97 – 103%

- El valor del coeficiente de variación para el porcentaje de recobro, debe ser menor o igual que el 3.0%.

11.1.5.4. Procedimiento para la determinación de reproducibilidad

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Elaborar un parche transdérmico conforme al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2. de la sección “Métodos”.
3. Colocar un parche transdérmico de 3x3 cm en un vaso de precipitados de 50 mL y adicionar 15 mL de etanol absoluto con una probeta de 20 mL.
4. Disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
5. Verter la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.
6. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente.
7. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
8. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
9. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico.
10. El procedimiento anterior se llevará a cabo por triplicado con dos analistas diferentes en dos días distintos.

Criterios de aceptación:

- $IC_{(\mu)}$ debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo del 97 – 103%
- El valor del coeficiente de variación para el porcentaje de recobro, debe ser menor o igual que el 3.0%.

11.1.5.5. Procedimiento para la determinación de precisión del sistema

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Elaborar un parche transdérmico conforme al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2. de la sección “Métodos”.
3. Colocar un parche transdérmico de 3x3 cm en un vaso de precipitados de 50 mL y adicionar 15 mL de etanol absoluto con una probeta de 20 mL.
4. Disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
5. Verter la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.

6. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente.
7. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
8. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
9. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico.
10. El procedimiento anterior se llevará a cabo por sextuplicado con un analista en un sólo día.

Criterios de aceptación:

- $IC_{(\mu)}$ debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo del 97 – 103%
- El valor del coeficiente de variación para el porciento de recobro, debe ser menor o igual que el 3.0%.

11.1.5.6. Procedimiento para la determinación de precisión del método

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Elaborar un parche transdérmico conforme al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2. de la sección “Métodos”.
3. Colocar un parche transdérmico de 3x3 cm en un vaso de precipitados de 50 mL y adicionar 15 mL de etanol absoluto con una probeta de 20 mL.
4. Disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
5. Verter la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.
6. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente.
7. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
8. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
9. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico.
10. El procedimiento anterior se llevará a cabo por triplicado con un analista en un sólo día.

Criterios de aceptación:

- $IC_{(\mu)}$ debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo del 97 – 103%

- El valor del coeficiente de variación para el porcentaje de recobro, debe ser menor o igual que el 3.0%.

11.1.5.7. Procedimiento para la determinación de linealidad del sistema

11.1.5.7.1. Preparación de la solución stock

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos 50 mg de Glibenclamida (P.A.) en un vaso de precipitados de 25 mL con una balanza analítica adecuada.
3. Adicionar 20 mL de etanol medidos con una probeta de 50 mL y disolver completamente con agitación magnética constante (solución A).
4. Trasvasar la solución A hacia un matraz volumétrico de 50 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados 3 veces con 1 mL de etanol para asegurar el trasvase de todo el contenido.
5. Llevar hasta la marca del aforo con etanol y homogenizar completamente (solución B).
6. Tomar una alícuota de 10 mL de la solución B con una pipeta volumétrica y trasvasar a un matraz volumétrico de 100 mL.
7. Llevar hasta la marca del aforo con etanol y homogenizar completamente.

11.1.5.7.2. Preparación de la curva de calibración

1. De la Solución Stock de Glibenclamida tomar 2 mL con una pipeta volumétrica y verter el contenido en un matraz volumétrico de 25 mL; llevar poco a poco hasta la marca de aforo con etanol.
2. De la Solución Stock de Glibenclamida tomar 4 mL con una pipeta volumétrica y verter el contenido en un matraz volumétrico de 25 mL; llevar poco a poco hasta la marca de aforo con etanol.
3. De la Solución Stock de Glibenclamida tomar 6 mL con una pipeta volumétrica y verter el contenido en un matraz volumétrico de 25 mL; llevar poco a poco hasta la marca de aforo con etanol.
4. De la Solución Stock de Glibenclamida tomar 8 mL con una pipeta volumétrica y verter el contenido en un matraz volumétrico de 25 mL; llevar poco a poco hasta la marca de aforo con etanol.
5. De la Solución Stock de Glibenclamida tomar 10 mL con una pipeta volumétrica y verter el contenido en un matraz volumétrico de 25 mL; llevar poco a poco hasta la marca de aforo con etanol.

11.1.5.7.3. Determinación de la linealidad del sistema

1. Verificar que el espectrofotómetro se encuentre encendido y listo para utilizarse.
2. Realizar el ajuste a cero utilizando etanol como blanco.
3. Obtener la absorbancia de cada solución preparada del sistema de la curva de calibración.
4. Determinar las concentraciones reales de cada solución a partir del peso real del P.A. y las diluciones pertinentes.
5. Obtener el coeficiente de absortividad para cada solución preparada y determinar los parámetros de los criterios de aceptación.

Criterios de aceptación:

- El coeficiente de correlación (r) debe ser mayor o igual a 0.99.
- El coeficiente de determinación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.98.
- $IC(\beta_1)$, no debe incluir el cero.
- El coeficiente de variación no debe ser mayor al 3%.

11.1.5.8. Procedimiento para la determinación de linealidad del método

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Elaborar los parches transdérmicos placebo (sin adicionar principio activo) necesarios conforme al procedimiento descrito en el apartado 6.4.1.2. de la sección “Métodos”.
3. Pesar aproximadamente bien conocidos 15 mg de Glibenclamida (P.A.) (correspondientes al 100%) en un vaso de precipitados de 50 mL con una balanza analítica adecuada.
4. Adicionar 20 mL de etanol absoluto con una probeta de 50 mL y solubilizar con agitación magnética tapando el vaso con papel aluminio para evitar la evaporación rápida del disolvente.
5. Añadir un parche transdérmico placebo de 3x3 cm y disolver con agitación magnética constante hasta obtener una solución completamente homogénea (solución A).
6. Verter la solución A en un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando las paredes del vaso de precipitados con 1 mL de etanol absoluto para asegurar el trasvase de todo el contenido.
7. Llevar hasta la marca de aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente.
8. Tomar una alícuota de 3 mL de la solución A con una pipeta volumétrica y depositar en un matraz volumétrico de 25 mL, llevar a la marca del aforo con etanol absoluto y homogenizar completamente (solución B).
9. Ajustar el espectrofotómetro a cero utilizando como blanco etanol absoluto.
10. Realizar la lectura de la solución B a la longitud de onda determinada con la realización del barrido de Glibenclamida para obtener la absorbancia y determinar el porcentaje de contenido químico.
11. Realizar el procedimiento anterior por triplicado, seleccionando además dos niveles superior e inferior del analito, correspondientes al 80, 90, 110 y 120% y determinar los parámetros de los criterios de aceptación.
12. Graficar la relación de cantidad adicionada vs cantidad recuperada.

Criterios de aceptación:

- El coeficiente de correlación (r) debe ser mayor o igual a 0.99.
- El coeficiente de determinación (r^2) debe ser mayor o igual a 0.98.
- $IC(\beta_1)$, debe incluir la unidad.
- El $IC(\mu)$ debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se incluya en el intervalo del 97 – 103%.

- El coeficiente de variación no debe ser mayor al 3%.

11.1.6. Resultados y dictamen

11.1.6.1. Longitud de onda de máxima absorción para Glibenclamida

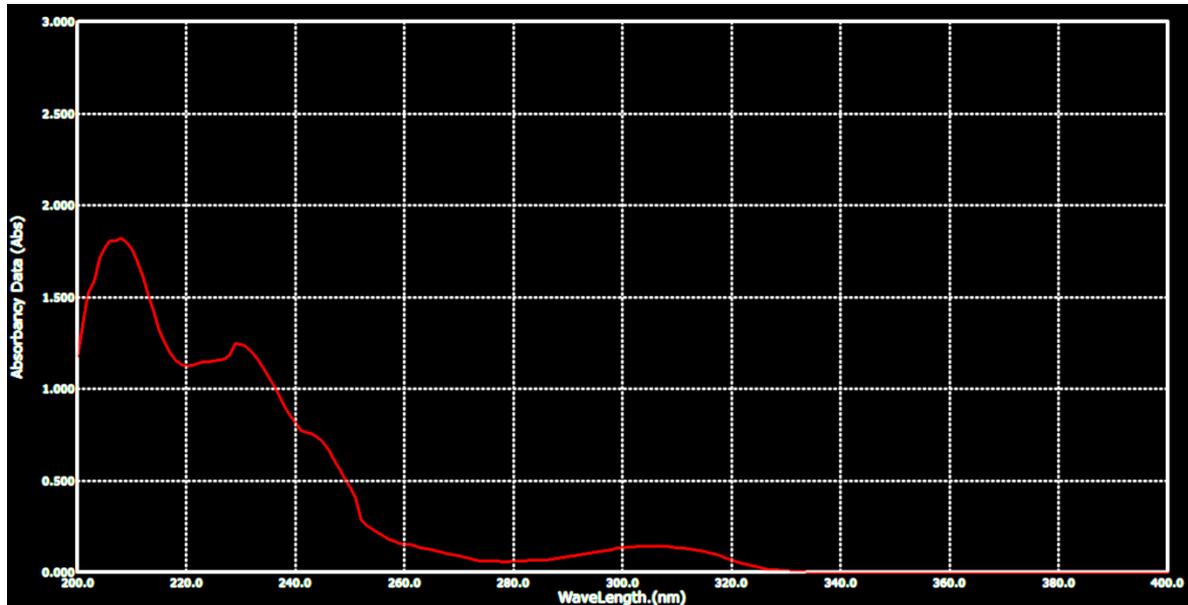
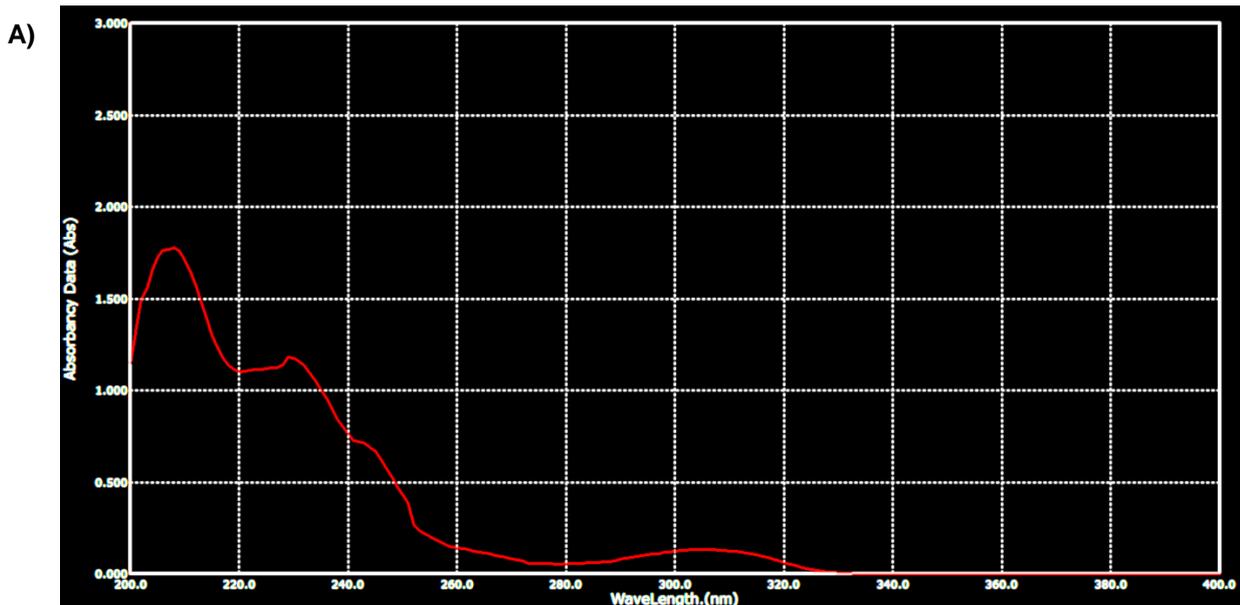


Figura 62. Barrido espectrofotométrico de Glibenclamida en Etanol Absoluto.

De acuerdo al barrido elaborado se observa que la longitud de onda a la cual la Glibenclamida presenta la mayor absorción es alrededor de los 215 nm.

11.1.6.2. Determinación de posibles interferencias entre fármaco y excipientes para la lectura espectrofotométrica



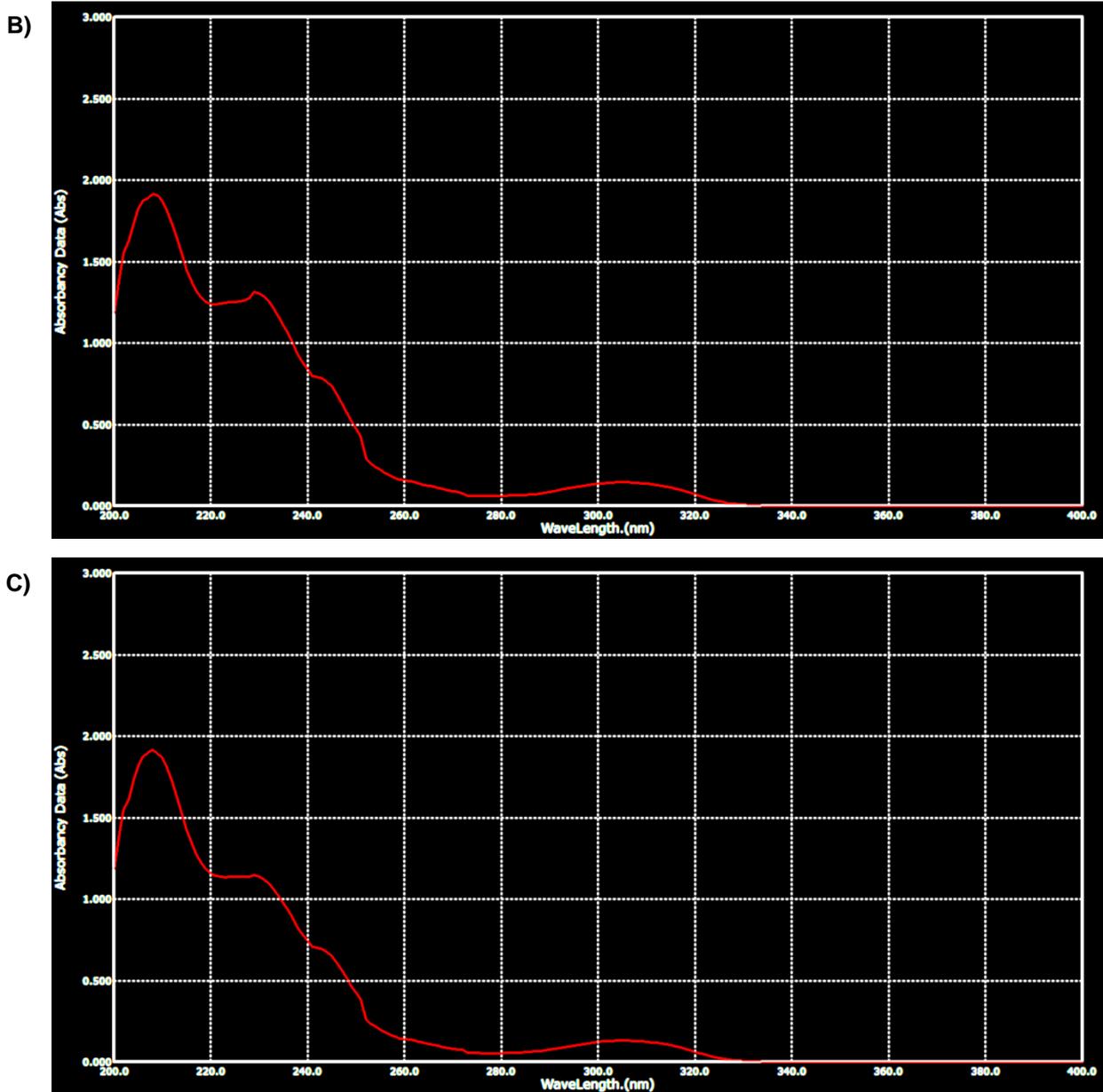


Figura 63. Barridos espectrofotométricos de Glibenclamida con: a) Eudragit RS 100, b) Eudragit RL 100 y c) Dimetilsulfóxido en Etanol Absoluto.

De acuerdo a los barridos realizados del principio activo con los excipientes utilizados se observa que ninguno de ellos causa alguna interferencia con respecto al comportamiento del barrido inicial hecho únicamente con Glibenclamida en etanol absoluto, sin embargo al llevar a cabo un barrido de un parche transdérmico placebo que incluía Eudragit RS 100, Eudragit RL 100, Dimetilsulfóxido y Triacetina se observa que en el rango de los 200 a los 250 nm se presenta una absorbancia lo cual puede constatarse en la figura 64:

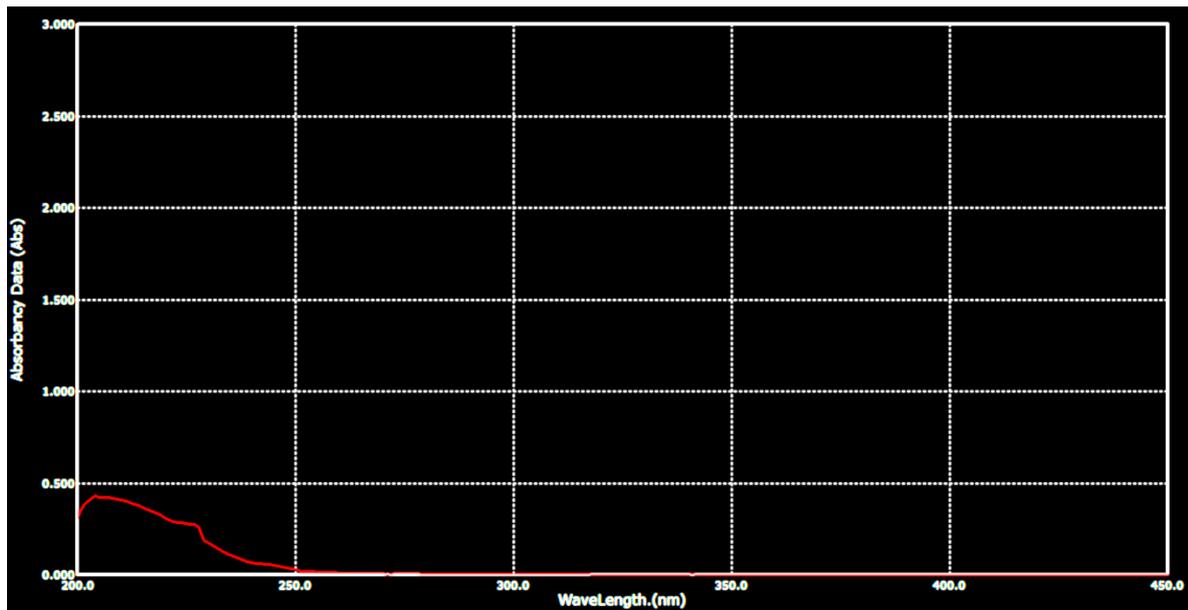


Figura 64. Barrido espectrofotométrico de un Placebo de parche transdérmico en Etanol Absoluto.

Ante esta situación, se decidió trabajar a una longitud de onda de 300 nm puesto que es en esta región donde se observa que la absorbancia observada es debida únicamente a la presencia de Glibenclamida y no a la de otro componente presente en la formulación elaborada.

11.1.6.3. Determinación de exactitud y repetibilidad

Los resultados para la determinación de exactitud y repetibilidad pueden observarse en la tabla 20.

Tabla 20. Resultados experimentales para la determinación de exactitud y repetibilidad del método analítico

Placebo	Peso muestra (g)	Cantidad adicionada de P.A. (mg)	Absorbancia	Cantidad recuperada (µg/mL)	Cantidad total recuperada (mg)	%Recobro
1	0.1290	15.2	0.1054	18.4561	15.3801	101.1850
2	0.2229	15.1	0.1026	17.9649	14.9708	99.1441
3	0.2339	15.2	0.1068	18.7018	15.5848	102.5315
4	0.1307	15.0	0.1018	17.8246	14.8538	99.0253
5	0.1019	15.2	0.1073	18.7895	15.6579	103.0125
6	0.1673	15.0	0.1021	17.8772	14.8977	99.3177
					Promedio	100.7027
					Desv. Est.	1.7929
					%C.V.	1.7804

Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que es exacto y repetible.

11.1.6.4. Determinación de reproducibilidad

Los resultados para la determinación de reproducibilidad pueden observarse en la tabla 21.

Tabla 21. Resultados experimentales para la determinación de reproducibilidad del método analítico

Día	Analista	Réplica	Peso muestra (g)	Absorbancia	Cantidad recuperada en la muestra (mg)	Cantidad total recuperada (mg)	%Recobro
1	1	1	0.1783	0.0697	10.1608	99.7333	99.1681
		2	0.1922	0.0743	10.8333	98.6442	98.0851
		3	0.1519	0.0611	8.9035	102.5808	101.9995
	2	1	0.1385	0.0561	8.1725	103.2687	102.6834
		2	0.2080	0.0833	12.1491	102.2220	101.6427
		3	0.2295	0.0892	13.0117	99.2234	98.6610
2	1	4	0.1902	0.0742	10.8187	99.5470	98.9828
		5	0.1685	0.0646	9.4152	97.7896	97.2354
		6	0.2603	0.1030	15.0292	101.0475	100.4748
	2	4	0.1847	0.0728	10.6140	100.5719	100.0019
		5	0.1677	0.0648	9.4444	98.5613	98.0026
		6	0.1362	0.0544	7.9240	101.8190	101.2419
Promedio							99.8483
Des. Est.							1.7635
%C.V.							1.7661

Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que es reproducible.

11.1.6.5. Determinación de precisión del sistema

Los resultados para la determinación de precisión del sistema pueden observarse en la tabla 22.

Tabla 22. Resultados experimentales para la determinación de precisión del sistema del método analítico

Réplica	Peso muestra (g)	Absorbancia	Cantidad recuperada (µg/mL)	Cantidad recuperada en la muestra (mg)	Cantidad total recuperada (mg)	%Recobro
1	0.1724	0.0674	11.7895	9.8246	99.7330	99.1677
2	0.3091	0.1198	20.9825	17.4854	99.0009	98.4397
3	0.1756	0.0711	12.4386	10.3655	103.3067	102.7212
4	0.1199	0.0474	8.2807	6.9006	100.7232	100.1526
5	0.2629	0.1022	17.8947	14.9123	99.2696	98.7070
6	0.2009	0.0813	14.2281	11.8567	103.2875	102.7021
Promedio						100.3150
Desv. Est.						1.9459
%C.V.						1.9398

Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que posee precisión del sistema.

11.1.6.6. Determinación de precisión del método

Los resultados para la determinación de precisión del método pueden observarse en la tabla 23.

Tabla 23. Resultados experimentales para la determinación de precisión del método del método analítico.

Réplica	Peso muestra (g)	Absorbancia	Cantidad recuperada (µg/mL)	Cantidad recuperada en la muestra (mg)	Cantidad total recuperada (mg)	%Recobro
1	0.2898	0.1169	20.4737	17.0614	103.0337	102.4497
2	0.2070	0.0826	14.4561	12.0468	101.8506	101.2734
3	0.2802	0.1118	19.5789	16.3158	101.9067	101.3291
Promedio						101.6841
Desv. Est.						0.6637
%C.V.						0.6527

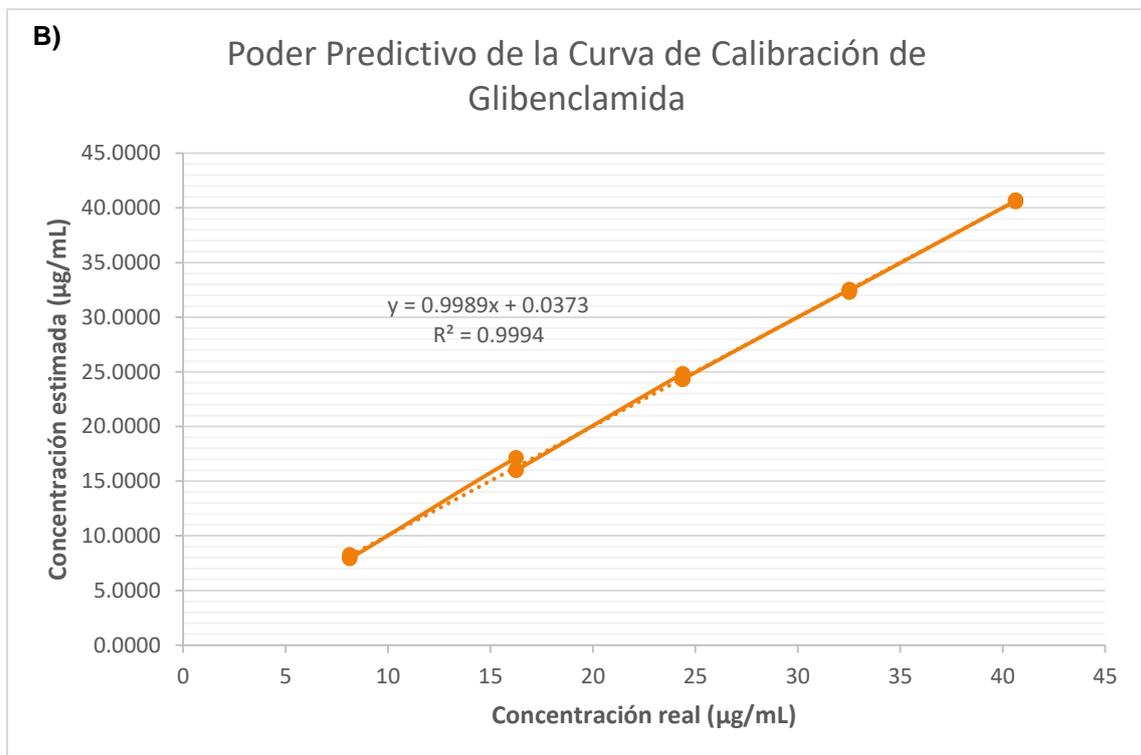
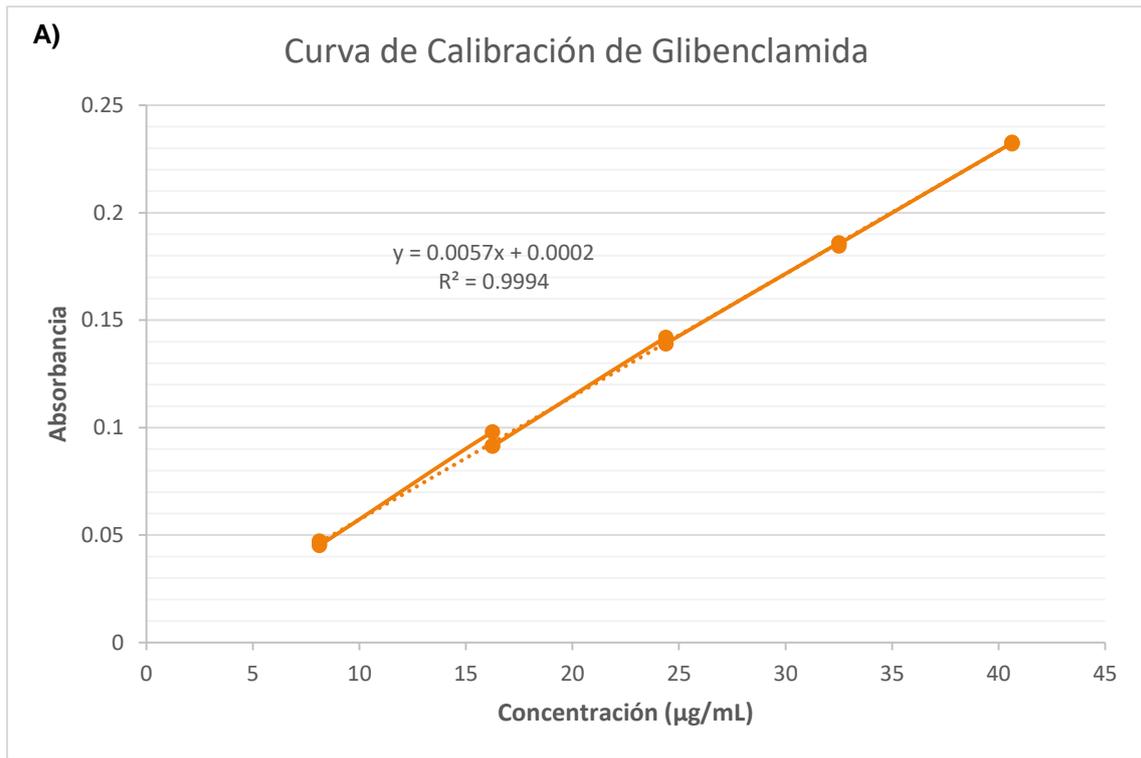
Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que posee precisión del método.

11.1.6.7. Determinación de linealidad del sistema

Los resultados para la determinación de linealidad del sistema pueden observarse en la tabla 24 y en la figura 65.

Tabla 24. Resultados experimentales para la determinación de linealidad del sistema del método analítico.

Concentración teórica (µg/mL)	Concentración real (µg/mL)	Absorbancia	Coefficiente de Absortividad	Concentración Estimada (µg/mL)	% Desviación
8	8.1280	0.0459	0.005647	8.0255	-0.0128
8	8.1280	0.0472	0.005807	8.2528	0.0151
8	8.1280	0.0452	0.005561	7.9031	-0.0285
16	16.2560	0.0980	0.006029	17.1351	0.0513
16	16.2560	0.0916	0.005635	16.0160	-0.0150
16	16.2560	0.0914	0.005623	15.9811	-0.0172
24	24.3840	0.1420	0.005823	24.8283	0.0179
24	24.3840	0.1390	0.005700	24.3038	-0.0033
24	24.3840	0.1391	0.005705	24.3213	-0.0026
32	32.5120	0.1860	0.005721	32.5216	0.0003
32	32.5120	0.1845	0.005675	32.2594	-0.0078
32	32.5120	0.1855	0.005706	32.4342	-0.0024
40	40.6400	0.2325	0.005721	40.6520	0.0003
40	40.6400	0.2328	0.005728	40.7045	0.0016
40	40.6400	0.2320	0.005709	40.5646	-0.0019
Promedio			0.005179		
Desv. Est.			0.000108		
%C.V.			1.891759		



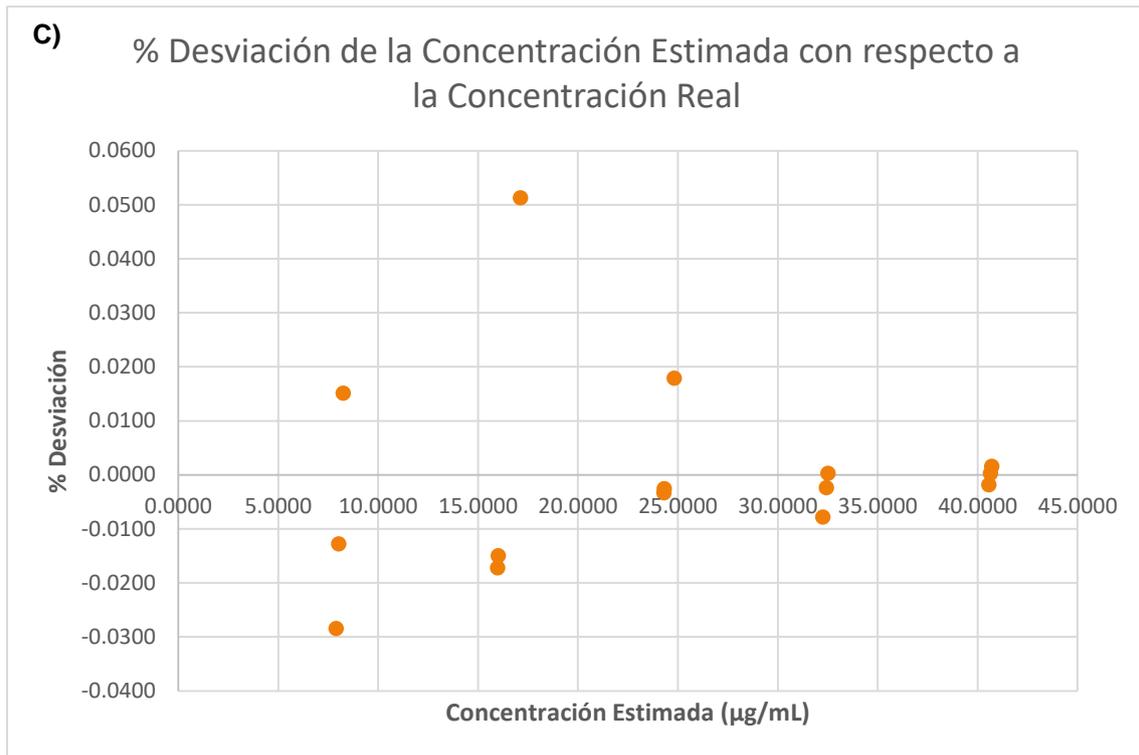


Figura 65. Curva de calibración de Glibenclamida.

En la figura se observa que: **a)** la curva de calibración de Glibenclamida elaborada presenta una adecuada dispersión de los datos con una R^2 de 0.9994 y un %C.V. de 1.8917, **b)** su poder predictivo es alto puesto que presenta una R^2 de 0.9994 y **c)** el gráfico de % de dispersión de la concentración estimada con respecto a la concentración real permite observar que los puntos se encuentran dispersos de forma aleatoria sin ningún tipo de comportamiento predeterminado por lo cual es posible concluir que no manipulación de los datos por parte del analista.

Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que posee linealidad del sistema.

La ecuación que permite la cuantificación de Glibenclamida en los procedimientos de este proyecto es la siguiente:

Ecuación 3.5

$$\text{Absorbancia} = (0.0057) [\text{Concentración de Glibenclamida } \mu\text{g/mL}] + 0.0002$$

11.1.6.8. Determinación de linealidad del método

Los resultados para la determinación de linealidad del método pueden observarse en la tabla 25 y en la figura 66.

Tabla 25. Resultados experimentales para la determinación de linealidad del método del método analítico.

Placebo	Peso muestra (g)	Cantidad teórica de P.A. (mg)	Cantidad adicionada de P.A. (mg)	Absorbancia	Cantidad recuperada de P.A. (mg)	% Teórico	% Recobro en placebos	% Recobro total
1	0.3099	12.0	12.1	0.0826	12.0468	80	79.6482	99.5602
1	0.2111	12.0	12.2	0.0846	12.3830	80	81.2003	101.5003
1	0.1968	12.0	12.0	0.0810	11.8129	80	78.7524	98.4405
2	0.1600	13.5	13.5	0.0912	13.3041	90	88.6940	98.5488
2	0.1302	13.5	13.5	0.0938	13.6842	90	91.2281	101.3645
2	0.1407	13.5	13.6	0.0953	13.9035	90	92.0085	102.2317
3	0.2816	15.0	15.1	0.1061	15.4825	100	102.5328	102.5328
3	0.1167	15.0	15.1	0.1047	15.2778	100	101.1773	101.1773
3	0.2601	15.0	15.0	0.1006	14.6784	100	97.8558	97.8558
4	0.2073	16.5	16.5	0.1132	16.5205	110	110.1365	100.1240
4	0.2458	16.5	16.6	0.1171	17.0906	110	113.2513	102.9557
4	0.0961	16.5	16.6	0.1158	16.9006	110	111.9918	101.8108
5	0.1659	18.0	18.1	0.1271	18.5526	120	123.0009	102.5007
5	0.2199	18.0	18.0	0.1223	17.8509	120	119.0058	99.1715
5	0.2585	18.0	18.0	0.1257	18.3480	120	122.3197	101.9331
Promedio							100.7805	
Desv. Est.							1.6859	
%C.V.							1.6729	

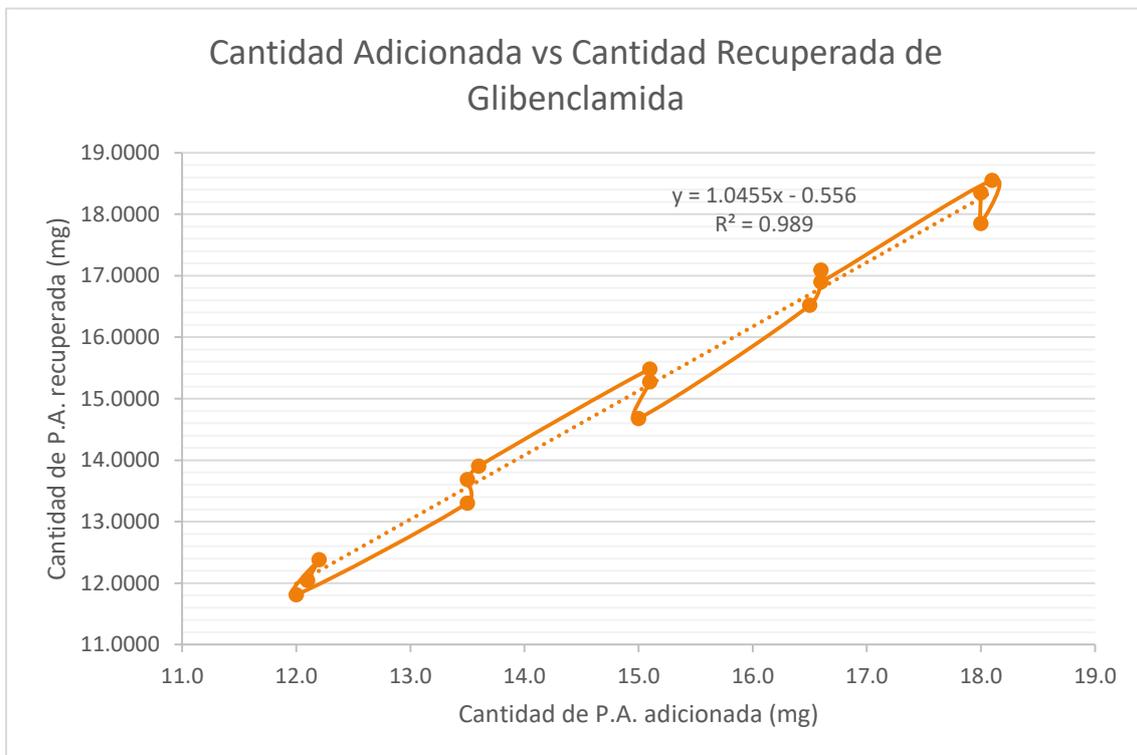


Figura 66. Gráfico de cantidad adicionada vs cantidad recuperada de Glibenclamida.

Acorde a la figura se observa que la dispersión de los datos es aceptable puesto que se presenta una R^2 de 0.9890 y un %C.V. de 1.6729

Dictamen: El método analítico cumple con las especificaciones requeridas por lo cual se concluye que posee linealidad del método.

11.2. Utilización del software “Statgraphics Centurión XV.II”

1. Abrir el programa Statgraphics Centurión XV.II.
2. En la ventana emergente seleccionar la opción “Diseñar un nuevo experimento, Estudio de calibradores, Gráfico de Control o Plan de Muestreo...” y posteriormente seleccionar “Aceptar”.
3. En la siguiente ventana emergente seleccionar la opción “Diseñar un Experimento...” y seleccionar la opción “Aceptar”.
4. En la ventana emergente de “Opciones de Creación de Diseños” seleccionar la opción “Factorial multinivel”, en el recuadro de “Número de Variables Respuesta” escribir 3 (correspondientes a Resistencia a la ruptura, Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación) y en el recuadro de “Número de Factores Experimentales” escribir 2 (correspondientes a los niveles de Eudragit RS 100 y Eudragit RL 100) seguido de la opción “Aceptar”.
5. En la ventana emergente de “Opciones de Definición de Factores” para el “Factor A” escribir en “Nombre” Eudragit RS 100, en nivel bajo escribir 300 y en alto 700, en la opción “Número de Niveles” dejar el predeterminado “3” y dar clic en la opción “Aceptar”. Realizar lo mismo para el “Factor B” escribiendo Eudragit RL 100 en la opción “Nombre”.
6. En la ventana emergente posterior de “Opciones de Definición de Respuesta” escribir en la opción “Nombre” el nombre de cada una de las respuestas a evaluar: Resistencia a la Ruptura, Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación, con sus respectivas unidades de g/F seguido de la opción “Aceptar”.
7. En la ventana emergente “Opciones de Diseño Factorial Multilevel” en la opción “Número” escribir 2, marcar la casilla “Aleatorizar” y dar clic en la opción “Aceptar”.
8. Posteriormente se abrirá el libro de datos en el cual hay que escribir los resultados obtenidos de la evaluación de las respuestas introducidas para las 27 corridas programadas de forma aleatorizada.
9. Una vez capturados los datos de las evaluaciones, seleccionar la opción “DDE”, la cual desplegará un menú en el cual hay que seleccionar la opción “Analizar Diseño”; se desplegará un menú en el cual hay que seleccionar cada una de las variables respuesta a analizar (Resistencia a la Ruptura, Bioadhesión y Bioadhesión Posthumectación) seguido de la opción “Aceptar”.
10. Se abrirá una ventana emergente en la cual aparecerán las tablas con el análisis ANOVA de cada una de las variables respuesta a analizar y se desplegarán los gráficos correspondientes a los diagramas de Pareto y diagramas de Superficie-Respuesta.
11. Finalmente, para obtener la optimización de la formulación, en la barra de herramientas seleccionar nuevamente la opción “DDE” y en el menú desplegable seleccionar la opción “Optimización de Múltiples Respuestas” y en la barra de herramientas seleccionar la opción de “Tablas” seguido de la opción

“Optimización” para la obtención de las cantidades óptimas a utilizar de los factores estudiados.

11.3. Preparación de 1,000 mL de solución buffer de HEPES pH = 7.4

11.3.1. Materiales, reactivos y equipos

- Buffer HEPES, SIGMA, lote no. SLBH9885V.
- Solución de hidróxido de sodio 1M.
- Agua desionizada.
- Balanza analítica, modelo AS 220.R2, no. de serie: 413789.
- Potenciómetro, modelo HI 2210, no. de serie: 02505500.
- Parrilla con termoagitación, modelo MS-H-S10, no. de serie: MF10000064.
- Vaso de precipitados, KIMAX, de 500 mL.
- Probeta graduada, KIMAX, de 1,000 mL.
- Espátula.
- Barra magnética.

11.3.2. Procedimiento

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos 12 g de HEPES (Ácido-2-[4-(2-hidroxietil)piperacín-l-il]etanosulfónico) en un vaso de precipitados de 500 mL en una balanza analítica adecuada.
3. Adicionar 500 mL de agua desionizada con ayuda de una probeta graduada de 1,000 mL.
4. Homogenizar completamente con ayuda de un agitador magnético y una barra magnética adecuados.
5. Medir el pH de la solución con ayuda de un potenciómetro adecuado.
6. Llevar hasta pH de 7.4 adicionando gota a gota solución de NaOH (1M).
7. Una vez alcanzando el pH necesario, trasvasar la preparación anterior a un matraz volumétrico de 1,000 mL.
8. Llevar hasta la marca de aforo con agua desionizada.

11.4. Preparación de 100 mL de solución de hidróxido de sodio 1M

11.4.1. Materiales, reactivos y equipos

- Hidróxido de sodio, MEYER, lote no. L0918586.
- Agua desionizada.
- Balanza analítica, modelo AS 220.R2, no. de serie: 413789.
- Parrilla con termoagitación, modelo MS-H-S10, no. de serie: MF10000064.
- Vaso de precipitados, KIMAX, de 150 mL.
- Probeta graduada, KIMAX, de 100 mL.
- Espátula.
- Barra magnética.

11.4.2. Procedimiento

1. Verificar que el área de trabajo esté limpia, el material se encuentre completamente limpio y seco y que los equipos se encuentran listos para su utilización.
2. Pesar aproximadamente bien conocidos 4 g de hidróxido de sodio en un vaso de precipitados de 150 mL en una balanza analítica adecuada.
3. Adicionar lentamente 50 mL de agua desionizada con ayuda de una probeta graduada de 100 mL.
4. Homogenizar completamente con ayuda de un agitador magnético y una barra magnética adecuados (llevar a cabo la agitación gradual ya que la reacción es violenta).
5. Trasvasar la preparación anterior a un matraz volumétrico de 100 mL.
6. Llevar hasta la marca de aforo con agua desionizada.

Cálculo de la cantidad necesaria de hidróxido de sodio para la preparación de una solución 1M:

$$\text{g NaOH} = \frac{1 \text{ mol NaOH}}{1 \text{ L}} \times \frac{39.997 \text{ g NaOH}}{1 \text{ mol NaOH}} \times \frac{1 \text{ L}}{1000 \text{ mL}} \times 100 \text{ mL} = 3.9997 = 4 \text{ g NaOH.}$$