



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

***“ESTUDIO DE LA PENETRACIÓN IN VITRO/IN VIVO
MEDIANTE CELDAS DE DIFUSIÓN Y LA TÉCNICA DE TAPE
STRIPPING DE CLORHIDRATO DE SIBUTRAMINA
FORMULADA EN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE QUITOSÁN”***

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A

BLANCA ESTELA PADILLA RODRÍGUEZ

ASESOR: DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

ÍNDICE

Índice general

Lista de abreviaturas

I. Introducción

1

II. Antecedentes

3

2.1 La piel

3

2.1.1 Estructuras anexas de la piel

6

2.2 Actividad enzimática

8

2.3 Absorción transdérmica

9

2.3.1 Rutas de acceso de fármacos

10

2.3.2 La Ley de Fick

12

2.4 Vía de administración transdérmica

13

2.5 Mecanismos para incrementar la absorción percutánea

13

2.6 Promotores de absorción

14

2.6.1 Transcutol®

16

2.7 Quitosán

17

2.8 Formulaciones transdérmicas

19

2.8.1 Sistemas transdérmicos

21

2.8.1.1 Recomendaciones generales para el uso correcto

22

2.8.1.2 Clasificación

23

2.8.1.2.1 Sistemas modulados por membranas

23

2.8.1.2.2 Sistemas controlados por difusión en adhesivo

24

2.8.1.2.3 Sistemas controlados por dispersión en matriz

25

2.8.1.2.4 Sistemas de microreservorio

25

2.9 Métodos para cuantificar fármacos a través de la piel

26

2.9.1 Métodos *in vivo*

27

2.9.2 Métodos *in vitro*

30

III. Justificación e Hipótesis

34

IV. Objetivos

35

V. Parte Experimental

36

5.1 Materiales

36

5.1.1 Reactivos

36

5.1.2 Material

37

5.1.3 Equipos

37

5.1.4 Material Biológico

38

5.2 Formulaciones evaluadas

38

5.2.1 Clorhidrato de Sibutramina en parches transdérmicos de Quitosán con agente promotor (Transcutol®)

39

5.3 Métodos

39

5.3.1 Métodos analíticos utilizados

39

5.3.2 Estudios de penetración *in vivo*

41

5.3.3 Estudios de penetración *in vitro*

44

5.4 Propiedades del Clorhidrato de Sibutramina

45

5.4.1 Propiedades fisicoquímicas

45

5.4.2 Mecanismo de acción

46

5.4.3 Absorción	47
5.4.4 Distribución	47
5.4.5 Metabolismo y excreción	47
5.4.6 Efectos adversos	48
VI. Resultados y discusión	49
6.1 Estudios <i>in vitro</i> . Difusión mediante celdas tipo Franz	49
6.2 Estudios <i>in vivo</i> . Técnica de Tape Stripping	67
VII. Conclusiones	73
VIII. Perspectivas	74
IX. Referencias	75
X. Anexos	80
10.1 Linealidad del Sistema	80
10.1.1 Electroferograma Sibutramina vs Agua	81
10.2 Estudios <i>in vitro</i> . Difusión mediante celdas tipo Franz	82
10.2.1 Parámetros de permeación del parche control	86
10.2.2 Parámetros de permeación del parche con APP	88
10.3 Estudios <i>in vitro</i> . Técnica de Tape Stripping	90
10.3.1 Cálculo de la distancia de penetración del parche control	90
10.3.2 Cálculo de la distancia de penetración del parche con APP	94
10.3.3 Perfiles de Permeación, Parche Control	98
10.3.4 Perfiles de Permeación, Parche con APP	102
10.3.5 Comparación entre los voluntarios del Parche Control	106
10.3.6 Comparación entre los voluntarios del Parche con APP	114
10.3.7 Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y del Parche con APP por voluntario a cada tiempo de muestreo	122
10.4 Análisis estadístico	130
10.4.1 Prueba de F para la comparación de desviaciones estándar	130
10.4.2 Prueba t* por parejas	135

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
SAT	Sistema de administración transdérmica
APP	Agentes promotores de penetración
EC	Estrato Córneo
CE	Electroforesis Capilar
AQPP	Agentes Químicos Promotores de la Penetración

RESUMEN

La principal barrera de permeación en el ser humano está constituida por los lípidos intercelulares del estrato corneo (EC), por lo que ingredientes activos de naturaleza hidrofílica presentan una pobre penetración. Sin embargo, la permeación de este tipo de ingredientes, así como la de otros de tipo lipofílico, se ha mejorado gracias al surgimiento de nuevas tecnologías tales como el uso de los Agentes Químicos Promotores de la Penetración (AQPP). El término promotores de absorción ha sido generalmente aplicado a aquellas sustancias químicas que incrementan la partición y difusión de agentes activos hacia y a través de la barrera de permeabilidad.

Cada vez es mayor la necesidad de utilizar diferentes mecanismos de penetración de activos en medicamentos transdérmicos, ya sea por medios físicos (iontoforesis) o químicos (APP), dado que sin la ayuda de éstos, sería casi imposible el paso de la mayoría de fármacos a través de nuestra piel.

El presente trabajo se encarga de estudiar un APP, como es el Transcutol® sobre el grado de penetración del activo *Clorhidrato de Sibutramina*. A continuación se describe brevemente lo realizado.

Se evaluó la penetración *in vivo* de dos formulaciones de Clorhidrato de Sibutramina en parches transdérmicos de Quitosán; uno de ellos conteniendo Transcutol® como APP y otro llamado "control", distinguido así por no contener ningún APP.

El grado de penetración *in vivo* del Clorhidrato de Sibutramina se evaluó mediante la técnica del "*Tape Stripping*". La cuantificación del principio activo se realizó mediante Electroforesis Capilar (CE), encontrándose que la formulación que no contiene promotor (Formulación Control) es la que favorece más la penetración de Clorhidrato de Sibutramina, por el contrario la que contiene el APP Transcutol® (Formulación con Promotor) es la que menos favorece la penetración del activo.

Por otro lado, se evaluó la penetración *in vitro* del mismo activo en piel abdominal obtenida de lipectomías, en la cual se administraron las dos formulaciones antes mencionadas en parches transdérmicos de Quitosán y utilizando celdas de difusión tipo Franz. Demostrándose mediante los resultados obtenidos que el uso del Transcutol® favorece la penetración del Clorhidrato de Sibutramina a capas profundas del EC.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la administración de medicamentos mediante formas farmacéuticas convencionales ha presentado dificultades que muchos especialistas han tratado de solucionar, si se compara la vía de administración oral; como son las cápsulas con la vía de administración percutánea como es el caso de los parches transdérmicos¹, se tiene que la primera representa problemas de incumplimiento terapéutico por parte del paciente, pues fomenta la automedicación y por consiguiente se administra más activo de lo originalmente prescrito y con ello el paciente se puede ver expuesto a una intoxicación. Por otro lado se presentan complicaciones en el número de tomas necesarias durante el día y ahí es donde se origina el siguiente problema, ya que la concentración plasmática efectiva puede no llegar a sus niveles o en el caso contrario excederlos si el paciente no lleva a cabo el tratamiento en el horario y con el número de tomas establecido; por ello se trata día con día de desarrollar nuevas alternativas que brinden al paciente la comodidad, seguridad y eficacia necesaria al momento de la administración.

Por lo tanto, se necesitan desarrollar sistemas que puedan evitar estos y otros problemas, como es el caso de la administración transdérmica en la que se aprovechan las propiedades de la piel (la cual cubre una superficie de 1.8 a 2 m² en promedio en un hombre adulto y que además es irrigada por un tercio de la circulación sanguínea), ya sea con fines cosméticos o farmacológicos.

Se ha destacado que el éxito de todo sistema terapéutico transdérmico depende de la capacidad de la sustancia para difundirse a través de la piel en cantidades suficientes y lograr el efecto terapéutico deseado. La primera barrera de permeación que se encuentra es el estrato córneo (EC), que forma parte de la epidermis y que a pesar de ser la capa más delgada de la piel, ofrece la mayor resistencia al transporte de sustancias.²

Dado que la administración transdérmica se emplea para fármacos con determinadas características fisicoquímicas (solubilidad y coeficiente de reparto) y biofarmacéuticas que permiten el desarrollo de sistemas de administración transdérmico (SAT)³, y que el principal problema con la administración transdérmica, es la barrera formada por la matriz de lípidos intercelulares que constituyen al EC, pueden utilizarse diversos materiales que aprovechen la acción enzimática de la piel y que promuevan la biodisponibilidad, y el incremento de la permeación de activos.

¹ http://es.wikipedia.org/wiki/Parche_transd%C3%A9rmico

² Escobar Chávez. 2008

³ Soler Ranzani. 2006

De tal manera que muchos esfuerzos han sido llevados a cabo para mejorar el desarrollo de sistemas de liberación transdérmica con la finalidad de modificar la barrera de permeabilidad de manera local y temporal.⁴

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

Una de las formas que han sido estudiadas con mayor rigor es el uso de *agentes químicos promotores de penetración* (AQPP)⁵, que son sustancias químicas capaces de disminuir la resistencia difusional que ofrece la piel, que es una opción importante para aquellas sustancias con dificultad para atravesar el EC.⁶

Además los SAT presentan muchas ventajas respecto a formas farmacéuticas tradicionales como son: mayor control en la liberación de fármaco (concentraciones más duraderas) en el caso de fármacos con un estrecho margen terapéutico, incremento en los intervalos de dosificación, evitan el efecto de primer paso hepático, disminuyen al máximo algunos de los efectos secundarios derivados de la administración oral al evitar el paso por zonas de gran actividad metabólica como lo es el sistema gastrointestinal, y se puede interrumpir más fácilmente la entrada de activo al organismo en caso de presentarse efectos adversos o tóxicos⁷, entre otros.

En este estudio se utilizará una matriz de Quitosán en la cual se formulará el activo Clorhidrato de Sibutramina que es un inhibidor de la recaptura de noradrenalina, serotonina y dopamina⁸, y que es utilizado para el tratamiento de la obesidad y del sobrepeso, incluyendo pérdida de peso y su mantenimiento; para la evaluación de la penetración *in vivo* del activo se utilizará la técnica de Tape Stripping⁹ y difusión mediante celdas tipo Franz para las determinaciones *in vitro*.¹⁰

⁴ Barel o. Andre. 2009

⁵ Escobar Chávez, José Juan. 2006

⁶ Escobar-Chávez, J. J., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A. 2005

⁷ Soler Ranzani. 2006

⁸ PLM. 2007

⁹ Escobar-Chávez, J.J., Merino-Sanjuán, V., López-Cervantes, M., et al. 2008.

¹⁰ Escobar-Chávez, J.J., Melgoza-Contreras, L.M., López-Cervantes, M., Quintanar-Guerrero, D., and Ganem Quintanar, A. 2009.

II. ANTECEDENTES

2.1 LA PIEL

La piel es el mayor órgano del cuerpo humano. Ocupa aproximadamente 2 m², y su espesor varía entre los 0.5 mm (en los párpados) a los 4 mm (en el talón). Su peso aproximado es de 5 Kg. Actúa como una barrera protectora casi impermeable que aísla al organismo del medio que lo rodea, protegiéndolo y contribuyendo a mantener íntegras sus estructuras, manteniendo la homeostasis, controlando la pérdida de calor y humedad del cuerpo; al tiempo que actúa como sistema de comunicación con el entorno variando dependiendo de la especie.

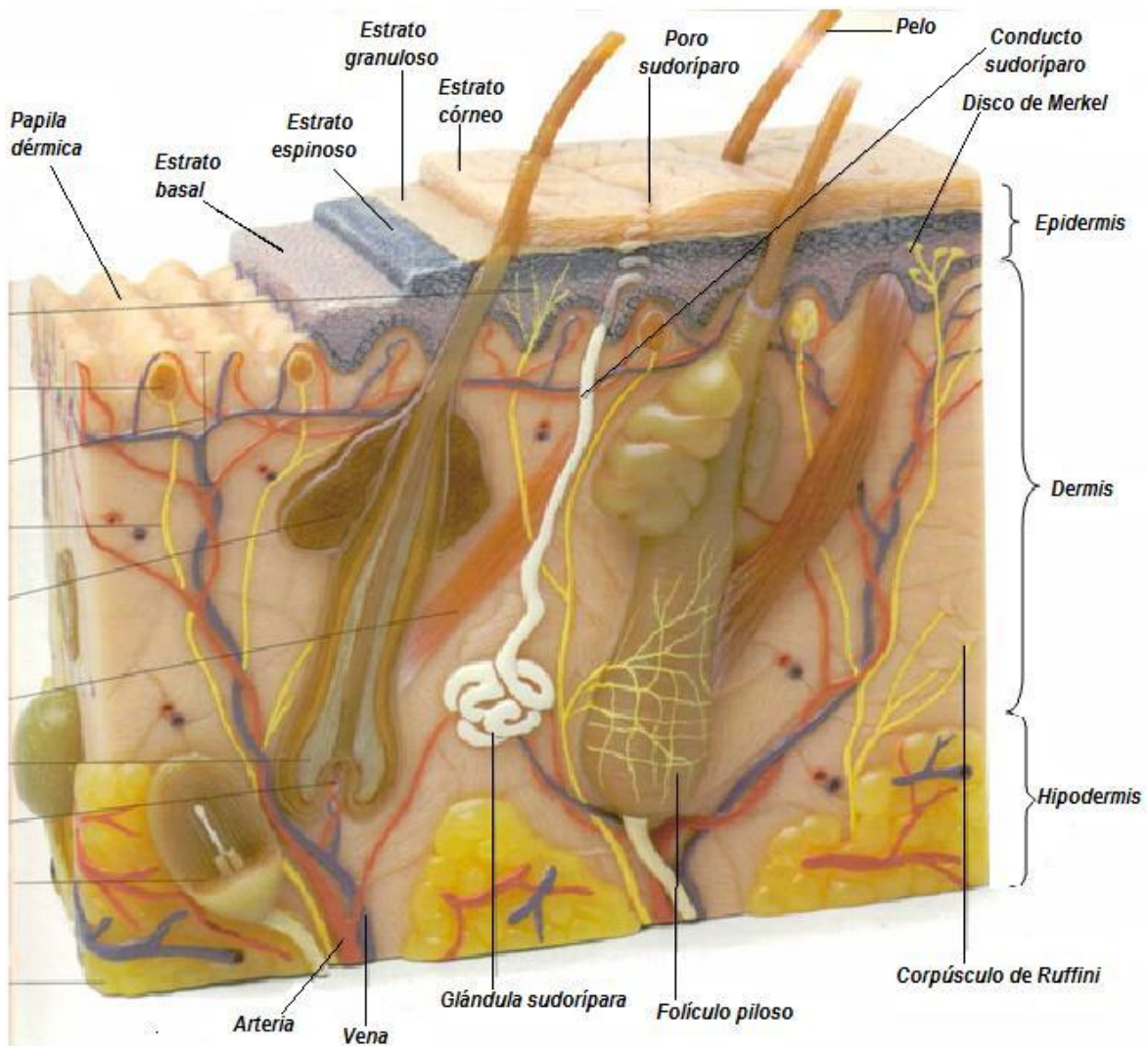


Fig. 1 Capas de la piel

En la Figura 1 se muestra la estructura de la piel, la cual se compone de tres capas principales que, de superficie a profundidad son: epidermis la capa más externa de la piel, formada por estratos celulares; la dermis formada por tejido conectivo y vascularizada y finalmente la hipodermis formada por grasa subcutánea.

Epidermis

Es la capa más superficial y su espesor varía según la zona anatómica 0.06-0.08 mm, es un epitelio poliestratificado cuyas células se forman en la capa basal y migran al exterior mediante un proceso de queratinización para formar el estrato córneo o también llamado epidermis no viable, y la epidermis viable formada por el estrato lúcido, estrato granuloso, estrato espinoso y estrato germinativo.

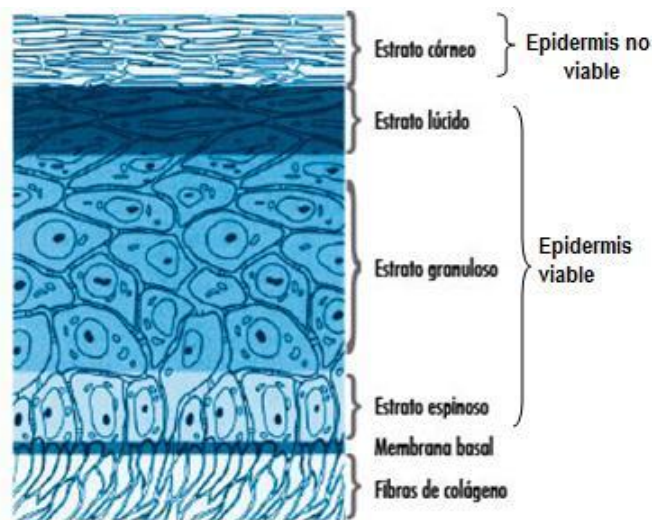


Fig. 2 Estratos de la epidermis

Estrato córneo

El EC es muy importante en el control de la permeación transdérmica de la mayoría de fármacos y productos químicos. Su composición y estructura se considera única. Pues se encuentra compuesta por proteínas (75-80%), lípidos (5-15%) y material sin identificar (5-10%). La fracción proteica está compuesta por α -queratina (70%) y β -queratina (10%) y membrana celular (5%).

Su estructura se representa por un modelo de ladrillo y cemento. Los córneoocitos queratinizados son los ladrillos de proteína y se encuentran rodeados de bicapas de lípidos que actuarán de cemento, formados por múltiples capas superpuestas. El EC es un tejido relativamente poco hidratado, que contiene solamente un 20% del agua en condiciones normales.

El espesor promedio de la capa córnea es de 10 a 50 μm , pudiendo ser de entre 300-400 μm sobre la palma de las manos o plantas de los pies bajo condiciones de hidratación máxima, el espesor puede alcanzar los 500 μm . La capa córnea tiene una densidad de 1.55 g/cm^3 .¹¹

Con un coeficiente de permeabilidad de $K_p = 0.5-1.0 \times 10^{-324} \text{cm}/\text{h}^{12}$.



Fig. 3 Modelo ladrillo (Conformación de los córneoocitos)

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

El EC funciona como una barrera física y química protectora, es solo levemente permeable al agua y retarda la pérdida de la misma por parte de los tejidos subyacentes, minimiza la penetración de la luz ultravioleta y limita la entrada de microorganismos, medicamentos y sustancias tóxicas desde el exterior.¹³

Dermis

Es una capa profunda de tejido conectivo, de un espesor que varía entre 0.2-0.3 cm^{14} , está constituida por fibras proteicas: colágeno, elastina y reticulina, insertadas en una matriz semisólida¹⁵ compuesta de polisacáridos¹⁶ y que le proporcionan a la piel la consistencia y elasticidad característica del órgano.

En la dermis se hallan los siguientes componentes: folículo piloso, músculo piloerector, terminaciones nerviosas aferentes, glándulas sebáceas y sudoríparas y vasos sanguíneos y linfáticos.

¹¹ Shing *et al.*, 1993

¹² Del Rio Gallardo, 1995

¹³ Remington, 2003

¹⁴ Woolfson *et al.*, 1993

¹⁵ Pruniéras, 1981

¹⁶ Singh *et al.*, 1993

Hipodermis (Tejido Subcutáneo)

Estrato de la piel compuesto de tejido conjuntivo laxo y adiposo en el que tiene lugar la producción y almacenamiento de compuestos lipídicos, y que le confiere a la piel funciones de regulación térmica y de movimiento a través del cuerpo como el que se observa cuando estiramos la piel del antebrazo hacia arriba, si no presentara estos tipos de tejidos sería imposible moverla. Este tejido no participa en la absorción percutánea pero tiene la función de amortiguar golpes externos y de regular la temperatura corporal¹⁷.

2.1.1 ESTRUCTURAS ANEXAS DE LA PIEL

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

Pelo

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

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

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

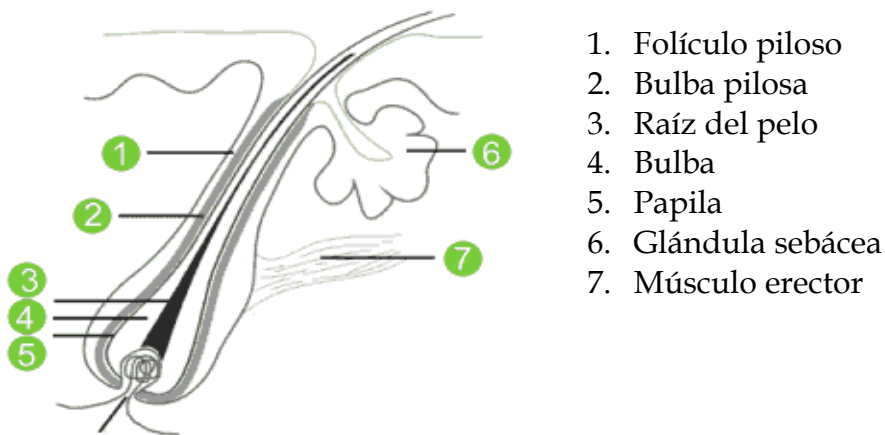


Fig. 4 Estructura del pelo

¹⁷ Escobar Chávez. 2008

Glándulas

Las glándulas sebáceas y sudoríparas son los dos tipos de glándulas que están en la piel (Fig. 5).

Glándulas sebáceas

Están conectadas con folículos pilosos, son glándulas alveolares ramificadas simples. No están presentes en palmas y plantas, y varían de tamaño y forma en otras partes del cuerpo. Estas glándulas secretan una sustancia aceitosa a la que se denomina sebo, que es una mezcla de grasas, colesterol, proteínas y sales inorgánicas. Estas glándulas evitan que el cabello se seque y vuelva quebradizo y también forman una película protectora para prevenir la evaporación excesiva de agua en la piel; además, el sebo conserva suave y flexible a esta última.

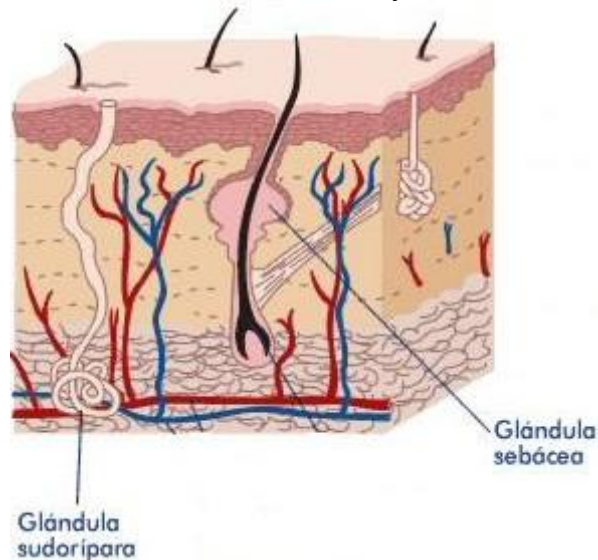


Fig. 5 Las glándulas

Glándulas sudoríparas

Están distribuidas en toda la piel, con excepción de lechos ungueales, bordes de los labios, tímpano y glande de pene y clítoris. Al contrario de las glándulas sebáceas, las sudoríparas son muy numerosas en la piel de palmas y plantas, y en las axilas y frente.

La transpiración o sudor es la secreción de las glándulas sudoríparas, y consiste en una mezcla de agua, sales (principalmente cloruro de sodio), urea y ácido úrico; aminoácidos, amoníaco, carbohidratos y ácidos láctico y ascórbico. Las funciones principales de esta secreción son la regulación de la temperatura corporal y la eliminación de desechos.

Uñas

Las uñas están constituidas por células modificadas del EC de la epidermis, que forman una placa sólida sobre la superficie dorsal de los dedos, en manos y pies (Fig. 6). Cada uña está conformada por cuerpo, borde libre y raíz¹⁸.

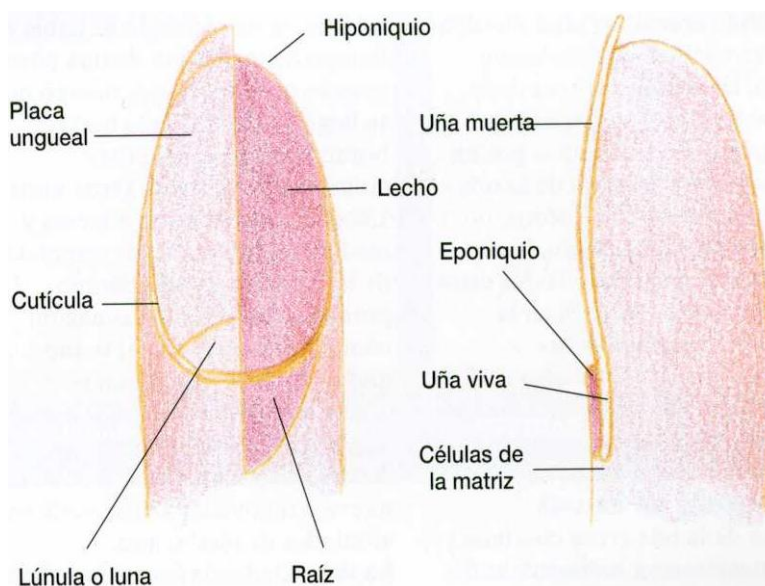


Fig. 6 Anatomía de la uña

2.2 ACTIVIDAD ENZIMÁTICA DE LA PIEL

La piel es un órgano que tiene considerable actividad enzimática, contiene isozimas citocromo P-450, las cuales pueden estar localizadas en células específicas de la epidermis y del sistema pilosebáceo. Otras enzimas identificadas en el EC incluyen: lipasas, proteasas, fosfatasas y glicosidasas.

Toda sustancia aplicada sobre la piel se activa en forma química mediante la oxidación realizada por las isozimas P-450. Estas enzimas están localizadas principalmente en el retículo endoplásmico y la actividad es más alta en la fracción microsomal de homogeneizados de piel.

La actividad catabólica de las enzimas en los folículos pilosos es particularmente grande. Mientras la actividad epidermal de la citocromo P-450 en la piel es de alrededor del 1-5% comparada con la del hígado, la actividad de transferasas puede ser 10 veces más alta que la de valores hepáticos¹⁹. La actividad enzimática varía con el sitio anatómico de nuestra piel.

¹⁸ Tortora, 1984

¹⁹ Merk *et al.*, 1996

La distribución de la actividad enzimática en las diferentes capas de la piel no se conoce con precisión y, por lo tanto, provoca dificultades en el desarrollo de experimentos. Como los capilares sanguíneos se encuentran localizados entre el punto de unión de la epidermis con la dermis, muchos fármacos tienen mínimo contacto con las enzimas de la dermis antes de alcanzar la circulación sistémica.

Sin embargo se conoce que la piel es capaz de metabolizar sustancias endógenas y exógenas. Las reacciones de biotransformación que se llevan a cabo en la piel son funcionalización y reacciones de conjugación como oxidación, reducción e hidrólisis²⁰.

De esta manera, la actividad enzimática de la epidermis será la más importante barrera para la absorción de fármacos²¹. La hidrólisis enzimática de fármacos en la piel también se ha descrito y pueden diferir los resultados obtenidos *in vivo* e *in vitro*, en el caso de los resultados *in vitro*, algunas veces hay un mayor metabolismo por incremento de la actividad enzimática y por la falta de la acción removedora de los capilares²².

Cabe destacar que la piel es un órgano metabólicamente activo en un grado muy inferior al hígado, si realizamos una comparación cuantitativa de su capacidad enzimática respecto del hígado representaría de un 2-6% de los valores hepáticos.

No obstante los fármacos pueden metabolizarse después de su administración, esta actividad metabólica cutánea está localizada a nivel epidérmico, donde por ejemplo la hidrocortisona se metaboliza en cortisona, el estradiol en estrona y los esteres de los corticosteroides son hidrolizados²³.

2.3 ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA

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

Así, la piel se comporta como una barrera pasiva ante la difusión de moléculas²⁴. La absorción transdérmica resulta un proceso complejo debido a la variedad de barreras que se deben superar.

²⁰ Del Rio Gallardo, 1995

²¹ Streinstrasser *et al.*, 1995

²² Guzek *et al.*, 1989; Potts *et al.*, 1989

²³ Nooman P, Wester RC 1989

²⁴ Remington, 2003

2.3.1 RUTAS DE ACCESO DE FÁRMACOS

Los mecanismos de transporte o vías de permeación por las que los fármacos pasan a través de la piel intacta son diversos debido a la gran cantidad de procesos que intervienen como disolución, reparto y posibles metabolizaciones en la superficie cutánea, etc.

La acción de barrera del EC es consecuencia como ya se ha mencionado de su propia estructura, en la que la queratina totaliza la mitad de su peso conjuntamente con proporciones variables de lípidos intrínsecos y procedentes de la secreción cutánea superficial.

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

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

Las rutas de acceso de fármacos a través de la piel se enlistan a continuación:

TRANSEPIDÉRMICA

1. Penetración intercelular
3. Absorción transcelular

TRANSPENDICULAR

2. Penetración transudorípara
4. Penetración transfolicular

- a) Transepidérmica, es decir a través del EC, con sus dos vertientes: Intercelular y transcelular.

La primera refiriéndose al camino que siguen las sustancias exógenas entre las células²⁵ y la segunda camino que siguen las sustancias exógenas a través de las células²⁶.

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

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

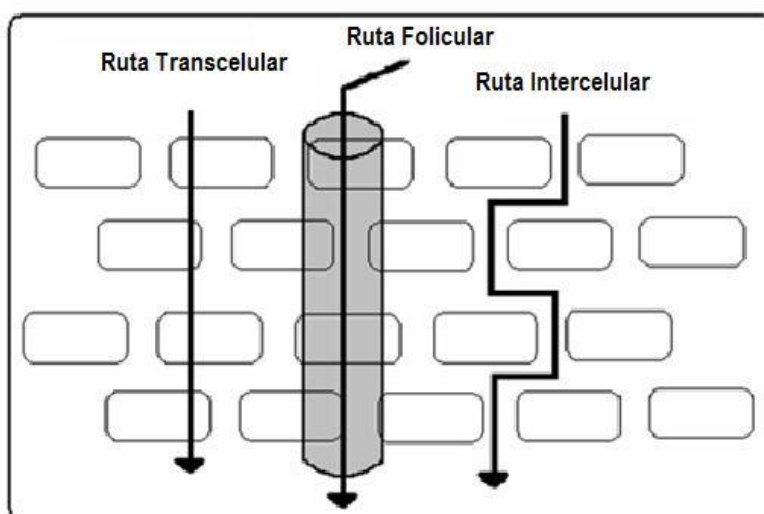


Fig. 7 Rutas de penetración de sustancias a través de la piel²⁷²⁸.

Se consideran mayoritariamente dos vías para la permeación transdérmica. La primera se realiza a través de anexos cutáneos como folículos pilosos y glándulas sudoríparas o sebáceas. La segunda vía y mayoritaria es la vía intercelular e intracelular que se realiza a través de la epidermis.

El paso a través de los anexos cutáneos puede ser importante para moléculas polares^{29,30} de elevado peso molecular, que penetran lentamente a través del

²⁵ Rosendo Valdés, 1999

²⁶ Rosendo Valdés, 1999

²⁷ Escobar-Chávez JJ, Melgoza-Contreras LM, López-Cervantes M, Quintanar-Guerrero D, and Ganem-Quintanar A. 2009

²⁸ Escobar-Chávez JJ, Merino V, López-Cervantes M, Urban-Morlan Z, Quintanar-Guerrero D. Ganem-Quintanar A. 2008

estrato córneo. Se considera que durante un corto periodo de tiempo inmediatamente después de la administración, es la principal vía de difusión para estos fármacos³¹.

Por lo tanto la penetración de las drogas a través de los dominios lipídicos del EC es un proceso lento, seguido de una rápida difusión a través de la epidermis viable y la dermis papilar³². Las moléculas polares utilizan principalmente la ruta intracelular, mientras que las moléculas más lipofílicas atraviesan el EC por la ruta intercelular.

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

2.3.2 LA LEY DE FICK

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

En situaciones en las que existen gradientes de concentración de una sustancia, o de temperatura, se produce un flujo de partículas o de calor que tiende a homogeneizar la disolución y uniformizar la concentración o la temperatura³³.

La expresión que define este proceso de difusión obedece a la primera ley de Fick, ésta es:

Donde:

- J_T es el flujo total de fármaco ($\mu\text{g}/\text{h}$)
- A es el área de la piel
- P es el coeficiente de permeabilidad
- ΔC es el gradiente de concentración

$$\frac{dM}{dt} = J_T = AP\Delta C$$

²⁹ Chien YW. 1988

³⁰ Sloan JB, Soltani K. 1986

³¹ Higuchi T. 1973

³² Ramachandran C, Fleisher D. 2000

³³ Martin, 1983

2.4 VÍA DE ADMINISTRACIÓN TRANSDÉRMICA

La vía transdérmica es una ruta atractiva para la administración sistémica debido a la accesibilidad de la piel y a la aceptación por parte del paciente³⁴. Para que un principio activo en contacto con la piel alcance la circulación sistémica, debe atravesar las diferentes estructuras que la componen, hasta alcanzar el territorio de la microcirculación dérmica, situado en la frontera entre la epidermis y la dermis, de tal manera que a partir de ahí, el fármaco sea rápidamente arrastrado hacia la circulación general.

La primera barrera que el fármaco encuentra al tratar de atravesar la piel sería el EC, como conjunto de células queratinizadas, organizado en varias capas, de naturaleza principalmente lipofílica. Superada ésta, se encuentra la segunda barrera, integrada por la agrupación epidermis/dermis, en la que la absorción es mucho más fácil, dado su carácter hidrofílico³⁵.

El principal mecanismo por el que se produce la penetración del EC es el de la simple difusión molecular, vía intracelular, a favor de un gradiente de concentración. La absorción global queda también limitada a una pequeña cantidad de producto (generalmente menor a los 10 mg/día), por la reducida superficie de aplicación de los dispositivos transdérmicos³⁶.

2.5 MECANISMOS PARA INCREMENTAR LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

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

- (i) Sus características fisicoquímicas (excesivo tamaño, excesiva carga eléctrica, insuficiente solubilidad, tendencia a causar irritación directa, etc.)
- (ii) Sus características cinético / dinámicas (biotransformación cutánea, alta extracción en sangre o baja potencia)³⁷.

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

³⁴ Remington, 2003

³⁵ Marcotegui Ros, F. 1993.

³⁶ Guy RH , Hadgraft J. 1985

³⁷ Riviere J, Papich M. 2001

2.6 PROMOTORES DE ABSORCIÓN

Un promotor de absorción o permeación es aquella sustancia que provoca un incremento en la permeación membranal³⁸. Los promotores de absorción son moléculas de diferente naturaleza química que actúan reversiblemente a nivel del EC, desestructurando y facilitando que el fármaco permee más rápidamente hacia los tejidos viables y pase a circulación sistémica.

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

En los últimos años se han desarrollado diversas estrategias tecnológicas con el objetivo de mejorar la capacidad de penetración de las drogas.

Estas tácticas pueden ser de tipo químico (mejoradores de la penetración)³⁹ o físico (iontoforesis, sonoforesis, electroporación y microagujas)^{40, 41}. En esta ocasión nos enfocaremos a los mejoradores de penetración químicos que son los que utilizaremos en esta investigación.

Mecanismos de acción

La efectividad de las sustancias promotoras depende tanto de sus propiedades fisicoquímicas como las del fármaco, del sitio de administración (grosor, morfología, actividad enzimática, composición lipídica y proteínica, factores estructurales y funcionales) y naturaleza del vehículo en el que se formule la mezcla fármaco-promotor⁴².

Algunas de los efectos que se observan mediante el uso de APP's están:

- Acciones que incrementan la permeabilidad de la piel
- Desnaturalización o modificación de la queratina intracelular causando un aumento de la hidratación (incremento del coeficiente de difusión de la droga en el EC).

³⁸ Rosendo Valdés, 1999

³⁹ Karande P, Jain A, Mitragotri S. 2004

⁴⁰ Prausnitz. M.R., Mitragotri, S. 2004

⁴¹ Escobar Chávez, 2009

⁴² Rosendo Valdés, 1999

- Alteración de los desmosomas que mantienen la cohesión entre los córneoocitos (desordenamiento de la estructura del estrato córneo con un incremento de la difusividad).
- Modificación del dominio lipídico con reducción de la resistencia de la barrera epidérmica.
- En la dermis viable, estimulación/modificación del metabolismo celular con la consecuente hiperplasia.
- Inhibición del metabolismo celular con disminución del espesor de la piel.
- Acciones que modifican las propiedades fisicoquímicas de los activos
- Incremento del coeficiente de partición de la droga en la piel por aumentar la actividad termodinámica del activo en el vehículo⁴³.

Algunos ejemplos de APP se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 1. Promotores de penetración cutánea

<i>Agente promotor</i>	<i>Ejemplos</i>
A. Disolventes	
<i>Agua</i>	
<i>Alcoholes</i>	<i>Metanol, Etanol</i>
<i>Alquilmetilsulfóxidos</i>	<i>Dimetilsulfóxido, dimetilformamida</i>
<i>Pirrolidonas</i>	<i>2-Pirrolidona, N-metil-2 pirrolidona</i>
<i>Azona® y derivados</i>	
<i>Otros</i>	<i>Propilenglicol</i>
B. Surfactantes	
<i>Aniónicos</i>	<i>Dodecil sulfato de sodio</i>
<i>Catiónicos</i>	<i>Bromuro de cetiltrimetilamonio</i>
<i>No iónicos</i>	<i>Tweens, brijs, poloxámeros</i>
<i>Ácidos y alcoholes grasos</i>	<i>Ácido oleico, ácido láurico</i>
<i>Sales biliares</i>	<i>Tioglicolato de calcio</i>
C. Otros	
<i>Urea</i>	
<i>Terpenos y aceites esenciales</i>	<i>Mentol y limoneno</i>
<i>Ciclodextrinas</i>	

⁴³ Williams AC, and Barry BW. Penetration enhancers.

Características del promotor ideal de penetración^{44,45}

- Químicamente estable
- No tóxico
- No irritante
- Hipoalergénico
- Rápida acción
- Inodoro
- Incoloro
- Económico
- Acción inmediata
- Sin actividad farmacológica sistémica
- Con efecto reversible
- Compatible con excipientes y activos
- Con tipo y duración de actividad predecible y reproducible
- Después de removido, el tejido debe recuperar inmediata y completamente su propiedad normal de barrera

2.6.1 TRANSCUTOL ® (*Carbitol o monoetil éter de dietilenglicol*)

Dentro del extenso grupo de promotores de penetración el éter monoetílico de dietilenglicol (Transcutol®) (Figura 8) mostró una clara influencia en la absorción transdérmica de muchos fármacos, principalmente en combinación con otros agentes promotores de la penetración⁴⁶.

También se ha demostrado que se incrementa el paso de varios fármacos a través de la piel sólo por el hecho de estar disueltos en Transcutol®.

Propiedades

Peso molecular	134.2
Densidad (20° C)	0.99
Punto de ebullición	202 °C
Punto de fusión	-76°C
Índice de refracción (20° C)	1.4300

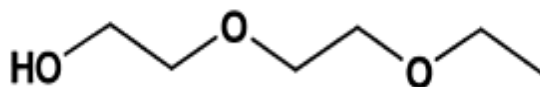


Fig. 8 Estructura química del Transcutol®

⁴⁴ Langer R. 2005

⁴⁵ Marquez Mejía, 2001

⁴⁶ Touitou *et al.*, 1991/Watkinson *et al.*, 1991

Mecanismo de acción

Los mecanismos que han sido propuestos para explicar la acción promotora de la penetración percutánea del Transcutol® se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Se muestran los mecanismos de la acción promotora de la penetración percutánea de Transcutol®

Mecanismo de Acción	Investigadores
Incremento de la solubilidad del fármaco que genera cambios en el coeficiente de partición del fármaco.	Ganem-Quintanar <i>et al.</i> , 1997 Torrado <i>et al.</i> , 1997
Acumulación de activos en capas superficiales de la piel, por formación de un “depósito intracutáneo” debido al hinchamiento de los lípidos intercelulares.	Panachagnula <i>et al.</i> , 1991 Touitou <i>et al.</i> , 1991 Godwin <i>et al.</i> , 2002
Cambios en la composición del vehículo, por absorción de agua no sólo del ambiente sino de la misma piel.	Ritschel <i>et al.</i> , 1988 Bialik <i>et al.</i> , 1993 Ganem-Quintanar <i>et al.</i> , 1997

2.7 QUITOSAN⁴⁷

Nombre Químico: Poli-b-(1,4)-2-Amino-2-deoxy-D-glucosa

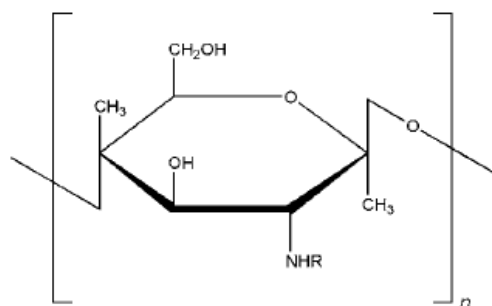


Fig. 9 Estructura química del Quitosán

Es un polímero natural de alto peso molecular figura 9, derivado de la quitina; siendo uno de los más abundantes en la naturaleza. El Quitosán es sintetizado *in vivo* por algunos organismos como cangrejo y camarón y algunos hongos como *Aspergillus phoenicis*, *Penicillium crisogenum*; por desmetilación enzimática de quitina mediante la enzima quitindesacetilasa⁴⁸, en el siguiente diagrama figura 10 se muestra de manera general el proceso para la extracción de Quitina.

⁴⁷ Handbook of pharmaceutical excipients, 2006

⁴⁸ García Alvarado, 1999

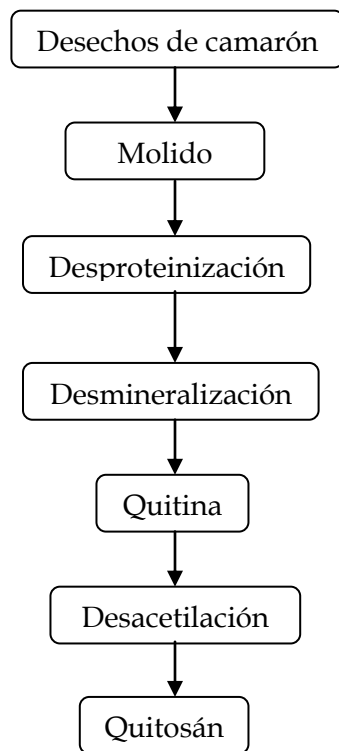


Fig. 10 Diagrama general para la extracción de quitina y modificación a Quitosán a partir de los desechos del camarón.

Descripción

Es de color crema puede encontrarse en polvo u hojuelas. La formación de fibras es bastante común durante la precipitación.

Propiedades

Es una amina catiónica con elevada densidad, posee un pH de 6.5 y se adhiere fácilmente a las superficies con carga negativa además de formar quelatos con iones metálicos. Reacciona con grupos amino e hidroxilo para dar lugar a la formación de una sal, además de tener carácter de carbohidrato.

La presencia de grupos amino permite que el quitosán reaccione químicamente con sistemas aniónicos, esto da como resultado una alteración de sus características fisicoquímicas. Los nitrógenos de esta molécula forman principalmente grupos amino-alifáticos. Por ello, puede ser sometido a reacciones típicas de aminas, por ejemplo reacciones de Shift.

Rango de pH: 4.0–6.0 (1% p/v solución acuosa)
Densidad: 1.35–1.40 g/cm³
Temperatura de transición vítrea: 2038° C
Distribución de tamaño de partícula: <30 nm
Solubilidad: Moderadamente soluble en agua, prácticamente insoluble en etanol (95%), y otros solventes orgánicos, neutros o soluciones alcalinas.

Aplicaciones

Los usos más importantes son en la industria de alimentos: clarificación de bebidas como jugos y cervezas, así como en la reducción de turbidez ocasionadas por bacterias, recuperación de proteínas de desechos alimenticios, como regulador en la formación de cristales de hielo en alimentos congelados, como agente espesante, texturizante, quelante, y emulsificante en la elaboración de aderezos, bebidas, gelatinas y productos lácteos⁴⁹.

Es utilizado en el área cosmética y es estudiado por sus numerosos usos en formulaciones farmacéuticas. Es apropiado su uso por el rendimiento como componente de formulaciones farmacéuticas en sistemas de entrega de activos pues ha sido desarrollado en numerosos estudios. Esto incluye su uso en sistemas de liberación controlada.

Ha sido utilizado en varias formas farmacéuticas como geles, películas, microesferas, tabletas y recubrimiento para liposomas. Es más, ha sido utilizado en sistemas de liberación usando técnicas que incluyen spray-drying, compresión directa y procesos de granulación convencionales.

Seguridad

Generalmente es no tóxico, no irritante y compatible con la gran mayoría de las pieles sanas e infectadas. LD₅₀ (ratón, oral): >16 g/kg

2.8 FORMULACIONES TRANSDÉRMICAS

El objetivo de cualquier sistema de liberación consiste en suministrar una cantidad terapéutica de activo al sitio apropiado del organismo, con la que se alcance rápidamente la concentración deseada y luego se mantenga.

Las formulaciones tópicas tienen la ventaja de evitar el incumplimiento terapéutico por parte del paciente, se administra menos cantidad total de activo minimizando así efectos colaterales locales y sistémicos.

⁴⁹ García Alvarado, 1999

Además de que se logra menor potenciación o reducción de la actividad del activo pues se reducen efectos secundarios ya que se permite el uso adecuado de sustancias de vida media corta; también se promueve la inactivación por enzimas digestivas y el efecto del primer paso hepático.

Mejora la eficiencia del tratamiento puesto que proporciona niveles plasmáticos estables y por consiguiente cura o controla la enfermedad más rápidamente asimismo mejora la biodisponibilidad de algunos activos, esto se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica⁵⁰

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

⁵⁰ Soler Ranzani. 2006

Entre las propiedades⁵¹ que tienen importancia para la elaboración de sistemas de liberación controlada se encuentran:

- Propiedades Físicoquímicas
 - Solubilidad acuosa y pKa
 - Coeficiente de partición
 - Estabilidad del activo
- Unión a proteínas
 - Tamaño molecular y difusividad
- Propiedades biológicas
 - Absorción
 - Distribución
 - Vida media y eliminación biológica
 - Efectos adversos
 - Magnitud de la dosis

2.8.1 SISTEMAS TRANSDÉRMICOS

La creciente investigación para el desarrollo de diversos tipos de sistemas terapéuticos transdérmicos para la infusión continua a largo plazo de antihipertensivos, analgésicos, esteroides, anticonceptivos y muy recientemente de fármacos anti-obesidad, muestra el gran interés en las posibles aplicaciones biomédicas de la administración transdérmica controlada. Se han desarrollado varias tecnologías para posibilitar el control de la velocidad de liberación y de penetración transdérmica de drogas, en las Tablas 4 y 5 se muestran algunos activos que son formulados en parches transdérmicos.




Tabla 4. Algunos activos que han sido formulados en parches⁵²

Fármaco	Uso
Nitroglicerina	Prevención de angina de pecho
Etinilestradiol + Norelgestromina	Anticonceptivo
Fentanilo	Analgésico opiáceo
Nicotina	Deshabitación Tabáquica
Rivastigmina	Alzheimer
Ritigotina	Parkinson
Estradiol + Noretisterona	Menopausia
Testosterona	Tratamiento para trastornos por menopausia quirúrgica

⁵¹ Remington, 2003

⁵²<http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.cedimcat.info/html/>

Tabla 5. Algunos activos formulados en parches transdérmicos y de venta comercial⁵³

Marca	Activo	Cada parche contiene (Excipiente, c.b.p. 1 parche)	Laboratorio
NITRADISC	Nitroglicerina	Trinitrato de glicerilo 10%...18 y 36 mg (nitroglicerina en lactosa).	
CLIMADERM	Estradiol	Estradiol..... 3.55 mg (libera 50 µg de estradiol en 24 horas) Estradiol..... 6.0 mg (Libera 100 µg de estradiol en 24 horas)	
EMLA	Clorhidrato de lidocaína /prilocaína	Lidocaína.....25 mg Prilocaína.....25 mg	

También se utiliza el sistema de administración transdérmica para parches que contienen productos que no son considerados medicamentos, pero tienen usos beneficiosos de carácter estético como son:

- Anticelulíticos
- Reductores de la grasa corporal localizada
- Reafirmantes de la piel

2.8.1.1 RECOMENDACIONES GENERALES PARA EL USO CORRECTO

1. Lavarse bien las manos antes y después de aplicar o retirar el parche.
2. La piel debe estar limpia y seca. El lugar de la aplicación no debe tener restos de maquillaje, cremas, lociones, ni otros productos tópicos.
3. La zona donde se aplique debe tener una mínima cantidad de vello, y que no tenga fricción con la ropa.
4. No debe aplicarse sobre cicatrices, quemaduras, piel irritada ni zonas donde existan pliegues ni en zonas como el codo, rodilla, pies o manos.
5. Sacar el parche de su envase protector y aplicarlo sobre la piel haciendo una ligera presión para facilitar su adhesión.
6. Los parches no se deben fraccionar (partir, doblar o cortar) para evitar romper la matriz o reservorio del mismo (puede provocarse pérdida del activo).
7. La zona de aplicación se debe alternar, esto con la finalidad de evitar reacciones alérgicas.
8. Al momento de ser retirados deben ser plegados y eliminados, dado que aun después de su uso pueden contener restos significativos de activo.

⁵³ PLM

2.8.1.2 CLASIFICACIÓN

Estos sistemas se elaboran de manera que el activo se encuentre en disolución, dentro de un reservorio con los demás componentes de la formulación, incluyendo a diversos polímeros que operan como matriz; en algunos casos hay solventes que forman parte de la fase continua generando así una elevada viscosidad formando así un gel. En estos casos la formulación de activos en reservorio resulta ser un proceso complicado pero son técnicas que sin duda se utilizan en la industria farmacéutica.⁵⁴

Así, diversas técnicas se han enfocado a desarrollar tecnologías que proporcionen un control sobre la velocidad de liberación y permeación transdérmica de activos.

Estas pueden clasificarse en cuatro grupos y son los siguientes:

- Sistemas modulados por membranas
- Sistemas controlados por difusión en adhesivo
- Sistemas controlados por dispersión en matriz
- Sistemas de microreservorio

2.8.1.2.1 SISTEMAS MODULADOS POR MEMBRANAS

En ellos el reservorio de activo se encuentra encapsulado por completo en un compartimiento poco profundo (figura 10), moldeado a partir de un respaldo impermeable a la droga, y una membrana polimérica que controla la velocidad de liberación. Las moléculas del activo solo pueden ser liberadas a través de la membrana polimérica que controla la velocidad. Ésta puede ser microporosa o no porosa.

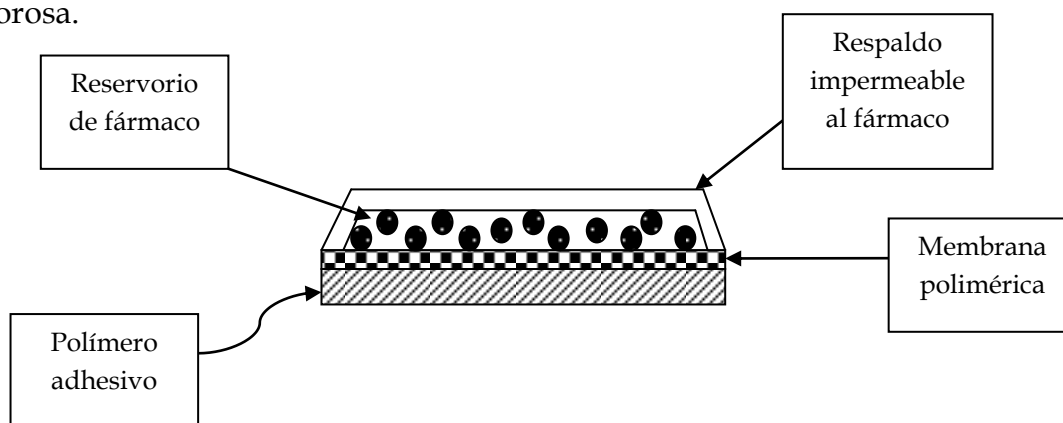


Fig. 10 El corte muestra el sistema transdérmico tipo modulado por membrana, además de los componentes estructurales del sistema

⁵⁴ Ranade, 2003/Robinson, 1987

En la superficie externa de la membrana para lograr un contacto íntimo en el sistema transdérmico con la piel, se puede aplicar una capa delgada de polímero adhesivo-hipoalérgico, compatible con la droga.

La velocidad de liberación a partir de este tipo de sistema puede ajustarse mediante la modificación de la composición del polímero, el coeficiente de permeabilidad o el espesor de la membrana limitante de la velocidad y del adhesivo.

2.8.1.2.2 SISTEMAS CONTROLADOS POR DIFUSIÓN EN ADHESIVO

En estos sistemas el reservorio de activo se elabora por dispersión directa de un polímero adhesivo, y después, por extensión del adhesivo medicinal, mediante moldeado en solvente, sobre una lámina plana de respaldo impermeable al activo para formar una capa delgada de reservorio (figura 11).

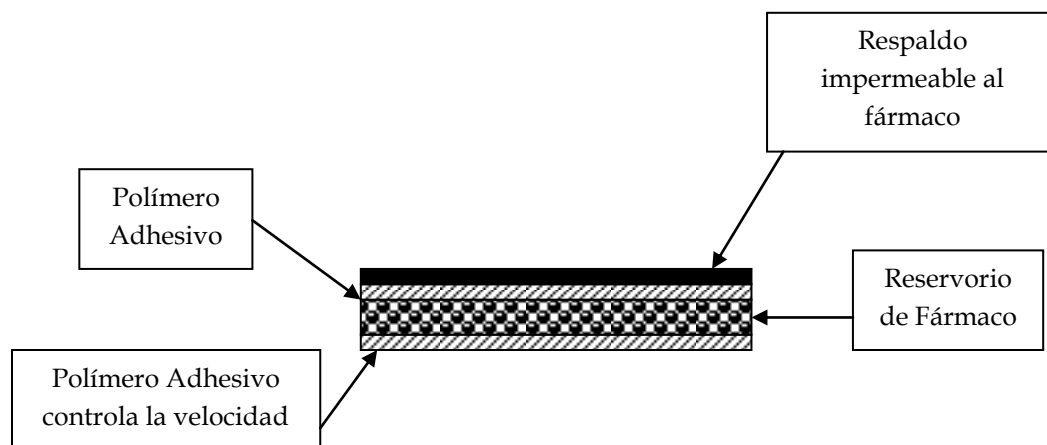


Fig. 11 El corte muestra el sistema transdérmico tipo difusión en adhesivo, además de los componentes estructurales del sistema.

En la parte superior de la capa de reservorio, se aplican capas de espesor constante de polímero adhesivo sin activo que controlan la velocidad para producir un sistema adhesivo de suministro de droga, controlado por difusión.

2.8.1.2.3 SISTEMAS CONTROLADOS DE DISPERSIÓN EN MATRIZ

En ellos el reservorio de droga se forma al dispersarla de manera homogénea en una matriz de polímero hidrofílico o lipofílico; el polímero que contiene al activo se moldea en un disco medicinal con una superficie definida y un espesor controlado (figura 12). A continuación se adhiere el disco a una capa basal oclusiva en un compartimiento fabricado a partir de un respaldo impermeable al activo. Se extiende el polímero adhesivo a lo largo de la circunferencia para formar una tira anular adhesiva alrededor del disco medicinal.

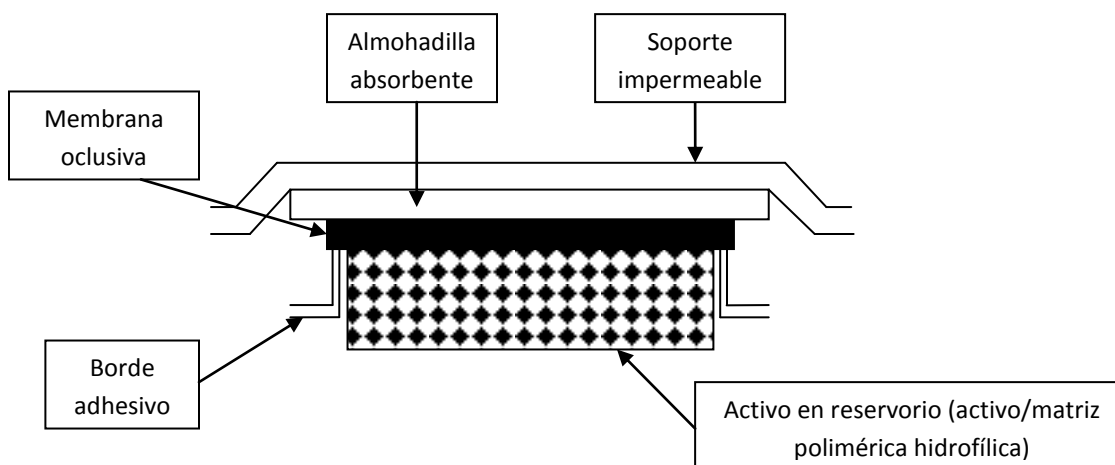


Fig. 12 El corte muestra el sistema transdérmico tipo dispersión en matriz, además de los componentes estructurales del sistema.

2.8.1.2.4 SISTEMAS DE MICRORESERVORIO

En estos sistemas el reservorio de activo se forma suspendiendo primero sus partículas en una solución acuosa de polímero hidrosoluble y dispersándola después de manera homogénea en un polímero lipofílico (figura 13), mediante una elevada fuerza mecánica de deslizamiento para formar un gran número de esferas microscópicas no filtrables de reservorios.

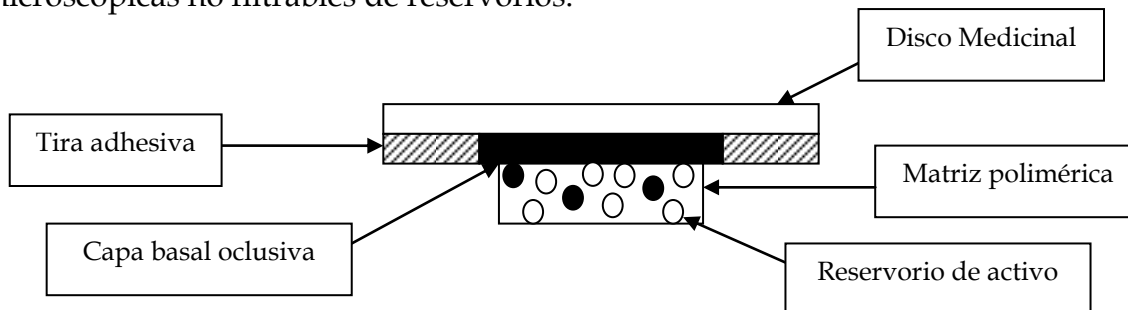


Fig. 13 El corte muestra el sistema transdérmico tipo microreservorio además de los componentes estructurales del sistema.

Esta dispersión inestable desde el punto de vista termodinámico se estabiliza con rapidez mediante la fijación *in situ* del polímero con enlaces cruzados, lo que produce un disco de polímero con una superficie constante y un espesor fijo.

Se produce un sistema terapéutico transdérmico en el que el disco medicinal se ubica en el centro, rodeado de un borde adhesivo.

2.9 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL

La cuantificación de fármacos en el interior de la piel es básico para formas farmacéuticas transdérmicas⁵⁵. Durante las últimas dos décadas las técnicas tradicionales utilizadas en investigación consisten en seccionar horizontalmente el tejido o paralelamente remover el EC con cintas adhesivas en la Tabla 6 se muestran algunas de las técnicas disponibles para la cuantificación de activos en la piel.

En años recientes, estas metodologías han sido bien aceptadas debido a que los procedimientos viejos de separación son procedimientos peligrosos como lo son la separación por calor, autoradiografía cualitativa, aislamiento de las unidades pilosebáceas y el uso de la inducción de folículos libres en la piel.

Los parámetros cruciales incluyen la cantidad de principio activo acumulado en los diferentes estratos de la piel, así como el flujo del activo en la circulación sistémica.

Tabla 6. Técnicas disponibles para la cuantificación de activos en la piel

Técnica	Fragmento que se utiliza	Costo	Tiempo	Estrategias complementarias
Extracción de piel	Todo el estrato	Económico	Rápido	Separación de tejidos
Seccionar piel	Todo el estrato	Económico	Demorado	----
Autoradiografía	Todo el estrato	Costoso	Demorado	----
ATR-FTIR espectroscopia	Estrato córneo	Costoso	Rápido	Tape Stripping
Espectroscopia Fluorescente directa	Estrato córneo	Medio	Rápido	Separación de folículos/Microscopía de fluorescencia
Espectroscopia fototérmica	Estrato córneo	Medio	Rápido	----
Espectroscopia Fluorescente indirecta	Estrato córneo	Medio	Rápido	----
Tape Stripping	Estrato córneo	Económico	Medio	----

⁵⁵ Touitou*, Meidan, Horwitz. 1998

2.9.1 MÉTODOS *IN VIVO*

A. *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 ¹⁴C 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 (CO₂, sudor) es corregida determinando la cantidad de radiactividad excretada después de la administración parenteral. La cantidad final de radiactividad es entonces expresada como el porcentaje de la dosis aplicada que fue absorbida⁵⁶.

La ecuación utilizada para determinar la absorción percutánea es:

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

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.

B. *Radiactividad en sangre*

La radiactividad en plasma puede ser medida y determinarse la absorción percutánea por relación de las áreas bajo la curva (AUC) del perfil de concentraciones plasmáticas en función del tiempo seguido tópicamente y de una administración intravenosa⁵⁷. Algo importante a resaltar en este tipo de estudios es que tanto el compuesto aplicado y metabolitos pueden ser determinados. Este método ha generado resultados similares a aquellos obtenidos por excreción urinaria⁵⁸.

⁵⁶ Feldman, 1967

⁵⁷ Wester & Noonan, 1978.

⁵⁸ Wester & Noonan, 1983.

C. Recobro de la Superficie

En este método se determina la pérdida 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.

D. Desaparición de la Superficie

Similar al método de recobro en la superficie, en éste es posible monitorear la desaparición de ^{14}C 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 ^{14}C 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.

E. 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 transcurrido el tiempo de aplicación, el EC es removido mediante la aplicación sucesiva de cintas adhesivas (Fig. 14) y remoción de las mismas para posterior tratamiento y cuantificación del activo.

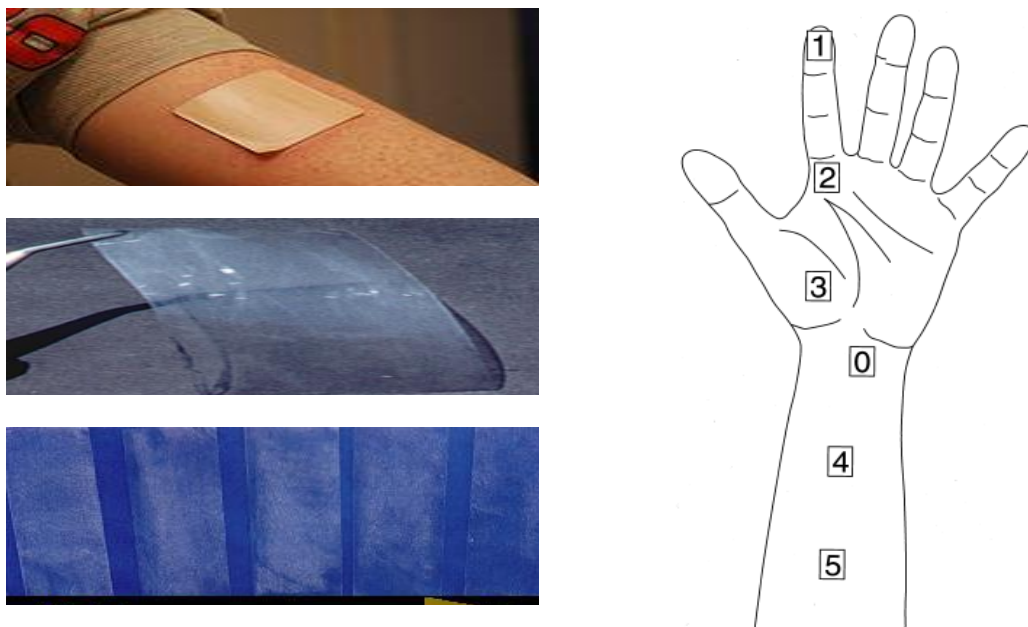


Fig. 14 Sitios de aplicación de formulaciones transdérmicas para el uso de la técnica de Tape Stripping (Derecha) y Técnica del *tape Stripping* (Izquierda).

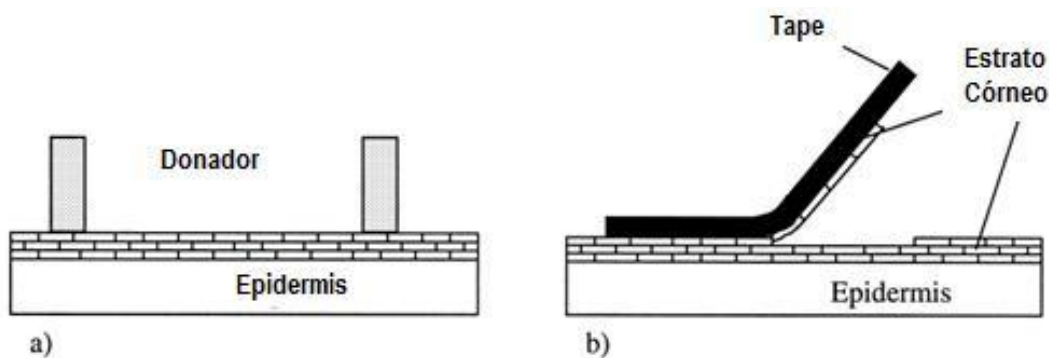


Fig. 15 Representación esquemática del método de Tape Stripping. a) Sitio de la aplicación del sistema transdérmico, b) Remoción del estrato córneo mediante el Tape⁵⁹

El activo es extraído de las cintas adhesivas (Fig. 15), mediante el uso de solventes para su posterior cuantificación mediante algún método analítico^{60, 61}.

⁵⁹ Moser, Kriwet, Naik, Kalia, Guy. 2001

⁶⁰ Escobar-Chávez, J. J., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A. 2005

⁶¹ Rougier, Lotte y colaboradores (1983; 1986)

Las ventajas de este método son:

- a) La eliminación de la excreción urinaria (y fecal) para determinar la absorción y,
- b) El 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 estos.

F. Biodisponibilidad tópica absoluta

El único medio para determinar la biodisponibilidad absoluta de un activo aplicado tópicamente, es precisamente el medirlo en sangre u orina después de una aplicación intravenosa.

Esto es extremadamente difícil de hacer en plasma dado que las concentraciones después de la administración tópica son muy bajas.

Sin embargo, avances en la metodología analítica han ido generando ensayos con una mayor sensibilidad, haciendo que la biodisponibilidad tópica pueda llegar a ser determinada

G. Biodisponibilidad en tiempo real in vivo

Ahora es posible determinar la biodisponibilidad tópica de un activo tan pronto como sea posible, al obtener mediciones mediante un espectrómetro de masas, cada cuatro segundos en un sujeto. Este método determina la biodisponibilidad de solventes orgánicos después de ser expuesta la piel a ellos.

El análisis de la respiración es usado para obtener mediciones en tiempo real de compuestos orgánicos volátiles en el aire expirado. El sistema usa un espectrómetro de masas equipado.

2.9.2 MÉTODOS *IN VITRO*

Los métodos *in vitro* aplicados al estudio de la penetración de drogas representan las técnicas más difundidas. En estos métodos se utilizan tanto piel animal o humana como membranas artificiales (piel artificial)⁶². Los métodos de absorción percutánea *in vitro* han sido ampliamente utilizados para medir la absorción de un activo que está en contacto con la piel. Evaluaciones de seguridad y de toxicidad química frecuentemente son efectuadas mediante estudios *in vitro* para obtener datos de permeación.

⁶² Villarino, 2006

Datos obtenidos de animales para estimar la absorción en humanos deben ser usados cautelosamente debido a las diferencia en las propiedades de barrera de permeabilidad de la piel existentes entre animales y humanos⁶³.

Estudios de absorción *in vitro* también son usados para medir el metabolismo si piel viable es obtenida para el estudio y si la disponibilidad es mantenida en las *celdas de difusión*⁶⁴.

La celda de difusión de Franz (Fig. 16) representa, desde su desarrollo en 1975, el principal método utilizado para evaluar la penetración transepitelial de fármacos⁶⁵.

La celda de difusión es un sistema compuesto por dos cámaras, una donante y otra receptora, separadas por piel (humana, cerdo, rata, etc.) o membrana artificial, la formulación es colocada en el compartimiento del donador y el activo pasa mediante difusión a través de la piel hacia el compartimiento del receptor, así la medición se realiza tomando muestras de este último sector a diferentes tiempos.

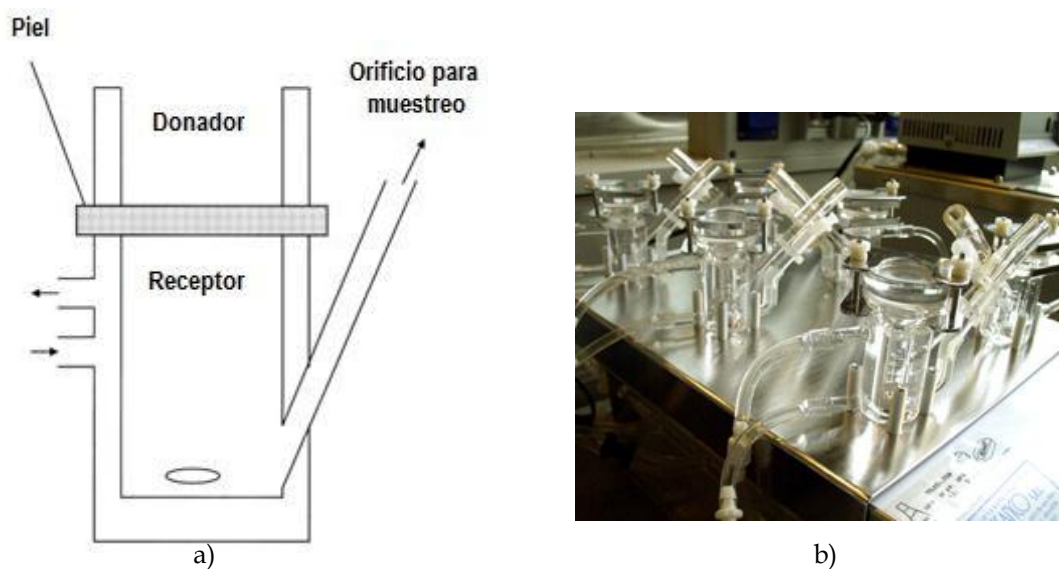


Fig. 16 Representación esquemática de una celda de difusión para evaluar la permeación de un activo. a), y fotografía de una celda Tipo Franz b).

⁶³ Bronaugh *et al.*, 1982).

⁶⁴ Collier *et al.*, 1989

⁶⁵ Higaki, 2005

En el compartimiento donador, se coloca una muestra representativa de la formulación en estudio, y en el receptor, una solución que permita solubilizar la sustancia que difunde⁶⁶, debe considerarse que las celdas de difusión deben mantenerse a 32-35 °C⁶⁷.

Se toman luego alícuotas a diferentes tiempos durante un período establecido, y a continuación se mide el principio activo mediante el método analítico adecuado. De esta manera se obtienen cinéticas de difusión, a partir de las cuales se puede predecir la velocidad de transferencia del activo de las distintas formulaciones. Debido a la gran dispersión de los resultados que puede generar este tipo de ensayos, deben realizarse replicados y emplearse como control el principio activo en solución.

Aún cuando este método es considerado un sistema confiable, tiene varias limitaciones, por un lado, no contiene como variable de análisis a las rutas de eliminación de activos (sistema vascular y metabolismo en la dermis) y por otro, no pondera las modificaciones fisiológicas de la piel (contenido de agua, pH cutáneo, descamación del estrato córneo, temperatura)⁶⁸.

Es importante remarcar que la piel una vez montada en celdas de Franz o sistemas similares permanece con un grado constante de hidratación durante todo el período del ensayo. Este factor podría afectar la bicapa lipídica⁶⁹ o inducir la formación de vesículas extracelulares en el estrato⁷⁰. Los sistemas *in vitro* permiten el aislamiento de la piel de forma tal que el metabolismo del órgano puede ser distinguido del metabolismo sistémico. Las consideraciones más importantes a tomarse en cuenta para la realización de estudios de absorción percutánea *in vitro* se muestran en la Tabla 7.

⁶⁶ Laura. H, María. D, 2005

⁶⁷ Escribano, 2003

⁶⁸ Riviere J, Papich M. 2001/Ponec M. 2002

⁶⁹ Warner RR, 1999

⁷⁰ van Hal DA, Jeremiase E, 1996

Tabla 7. Información a considerar para evaluar la absorción percutánea *in vitro*⁷¹

Parámetros	Consideraciones
Ensayos del compuesto	Pureza, propiedades fisicoquímicas, características de posibles impurezas
Vehículo	Disolvente o formulación usada para la prueba de liberación de la sustancia
Tipo de celda	Diseño, material de construcción, solución receptora, flujo de celda
Condiciones de exposición	Volumen, duración de contacto, naturaleza oclusiva del compartimiento donador
Piel o membrana	Fuente, procedimientos de separación, almacenamiento, capacidad metabólica, temperatura de la superficie
Solución del receptor	Identidad, propiedades, solubilidad del activo
Procedimiento terminal	Enjuague de la piel, extracción de la sustancia, preparación para el análisis
Procedimiento analítico	Métodos usados para determinar la concentración del activo en los compartimientos donador y receptor
Resultados	Tablas que muestren los datos de las celdas individualmente, sobre la cantidad penetrada por unidad de área, graficas que muestren los cambios del flujo en función del tiempo.

⁷¹ Howes et al, 1994

III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

La obesidad es una enfermedad endocrino-metabólica que se caracteriza por la acumulación de grasa en el tejido adiposo. Dado que es un problema de salud mundial debido a los malos hábitos alimenticios surge la idea de darle tratamiento a esta patología, no solo por la alta incidencia en los últimos años, sino por el elevado riesgo de salud que ésta implica. Los pilares de la terapéutica son modificar la conducta, dieta y ejercicios.

Sin embargo, estas herramientas no garantizan el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo sin efecto de rebote. Los fármacos constituyen una herramienta empleada, asociado con los anteriores. En la actualidad sólo Sibutramina y Orlistat se vislumbran como los únicos activos cuya seguridad y eficacia demostrada permiten su aplicación clínica a largo plazo (2 años).

No obstante, como el Clorhidrato de Sibutramina sólo se encuentra formulado en cápsulas, las cuales deben administrarse por vía oral y realizar su biotransformación mediante metabolismo hepático para la obtención de los metabolitos activos y metabolismo renal para su consecuente eliminación; se considera como no idónea la utilización de éste fármaco en pacientes con insuficiencia renal o hepática, ni en pacientes en tratamiento con fármacos inhibidores de la MAO⁷².

El estudio de la penetración de Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos de quitosán incluyendo como APP al Transcutol[®], así como la evaluación de la penetración tanto *in vivo* como *in vitro* mediante la técnica de Tape Stripping y celdas de difusión tipo Franz permitirán vislumbrar un mejoramiento en la formulación de este activo ya que se podría evitar el efecto de primer paso en el hígado y además hacer una formulación más cómoda y segura para el paciente.

Por lo tanto, si se formulan parches transdérmicos de Quitosán que contengan Transcutol^{®73} como APP transdérmica, entonces la absorción percutánea del Clorhidrato de Sibutramina se verá incrementada; pudiendo ser una alternativa para la formulación de este activo el cual es muy útil en el tratamiento de control de peso.

⁷² Valdelamar, Valmore, Elliuz Leal, Bermúdez, Cabrera, Mengual, Silva, Amell, Toledo. 2007

⁷³ Escobar-Chávez, J. J., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A. 2005

IV. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- ◆ Evaluar la penetración *in vivo/in vitro* de Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos de quitosán mediante el uso de celdas de difusión tipo Franz y la técnica de Tape Stripping.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ◆ Formular Clorhidrato de Sibutramina en parches transdérmicos de Quitosán incluyendo al Transcutol® como agente promotor de penetración.
- ◆ Evaluar el grado de penetración *in vivo* a través de la piel, de Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos de Quitosán mediante la técnica de Tape Stripping.
- ◆ Obtener y analizar los perfiles de penetración (Concentración de Clorhidrato de Sibutramina en función de la distancia de penetración) de Clorhidrato de Sibutramina mediante el uso de la técnica de Tape Stripping.
- ◆ Obtener los flujos transdérmicos y tiempos de latencia *in vitro* de Clorhidrato de Sibutramina por estudios de difusión en celdas tipo Franz.
- ◆ Evaluar el efecto del promotor de penetración del Transcutol® sobre la penetración del activo Clorhidrato de Sibutramina a través de la piel *in vivo* e *in vitro*.

V. PARTE EXPERIMENTAL

5.1 MATERIALES

5.1.1 Reactivos

- ◆ Para la formulación del sistema transdérmico de Clorhidrato de Sibutramina

Reactivos

Donado por

- | | |
|------------------------------|------------------------------|
| • Quitosán | Sigma-Aldrich |
| • Propilenglicol | Farmacia Paris |
| • Ácido acético glacial | Farmacia Paris |
| • Transcutol® | Noveon |
| • Clorhidrato de Sibutramina | Globe Chemical S,A |
| • Pluronic PF-127® | Sigma-Aldrich |
| • Agua Destilada | Millipore Inc., Bedford, USA |

- ◆ Para la preparación de las muestras de calibrado y evaluación de contenido químico de los sistemas transdérmicos

- | | |
|------------------------------|----------------|
| • Ácido acético glacial | Farmacia Paris |
| • Buffer de citratos pH | |
| • Ácido cítrico | Sigma-Aldrich |
| • Agua desionizada | |
| • Clorhidrato de Sibutramina | Helm |

- ◆ Para la cuantificación y extracción de las muestras de Tape Stripping y Celdas de difusión

- | | |
|---------------------------|----------------|
| • Ácido acético glacial | Farmacia Paris |
| • Agua destilada | |
| • Agua desionizada | |
| • Buffer de citratos pH 3 | |
| • Buffer Hepes pH 5.5 | Sigma |

5.1.2 MATERIAL

Agitador Magnético
Celdas Franz
Cinta adhesiva Scotch® No. 845 (3M, USA)
Desecador
Jeringa de 10mL
Matraz volumétrico de 200mL
Matraz volumétrico de 20mL
Matraz volumétrico de 250mL
Matraz volumétrico de 50mL
Molde para Parche
Pipeta volumétrica de 2mL
Pipeta volumétrica de 3mL
Pipeta volumétrica de 4mL
Pipeta volumétrica de 5mL
Pipeta volumétrica de 6mL
Pipeta volumétrica de 7mL
Pipetas Pasteur
Vaso de precipitado de 100mL
Vaso de precipitado de 50mL
Viales de 1.5mL

5.1.3 EQUIPOS

- P/ACE MDQ Capillary Electrophoresis System Beckman Coulter, Germany
- Balanza analítica BOECO Germany
- Multiplaza con termostato/ Agitador magnético Thermolyne MIRAK™, Germany
- pHmetro HI 931401 Microprocessor Hanna Instruments, Germany

5.1.4 MATERIAL BIOLÓGICO

En lo que se refiere a los voluntarios para los estudios de penetración realizados *in vivo* con el **promotor de penetración químico** (Transcutol®) para el caso del Clorhidrato de Sibutramina formulado en parches transdérmicos de Quitosán, se evaluaron cuatro voluntarios (hombres y mujeres adultos) sanos, sin enfermedad alguna y sin antecedentes de alergias o patologías en piel y que mantuviesen los sitios de aplicación (porción interna de antebrazo derecho e izquierdo) libres de aplicación de medicamento de uso tópico o transdérmico, así como cosmético.

Respecto a los estudios de penetración realizados *in vitro* se utilizará como membrana de permeación transdérmica, piel humana procedente de lipectomías abdominales donada por la Clínica R&R.

5.2 FORMULACIONES EVALUADAS

a) Elaboración de los parches transdérmicos

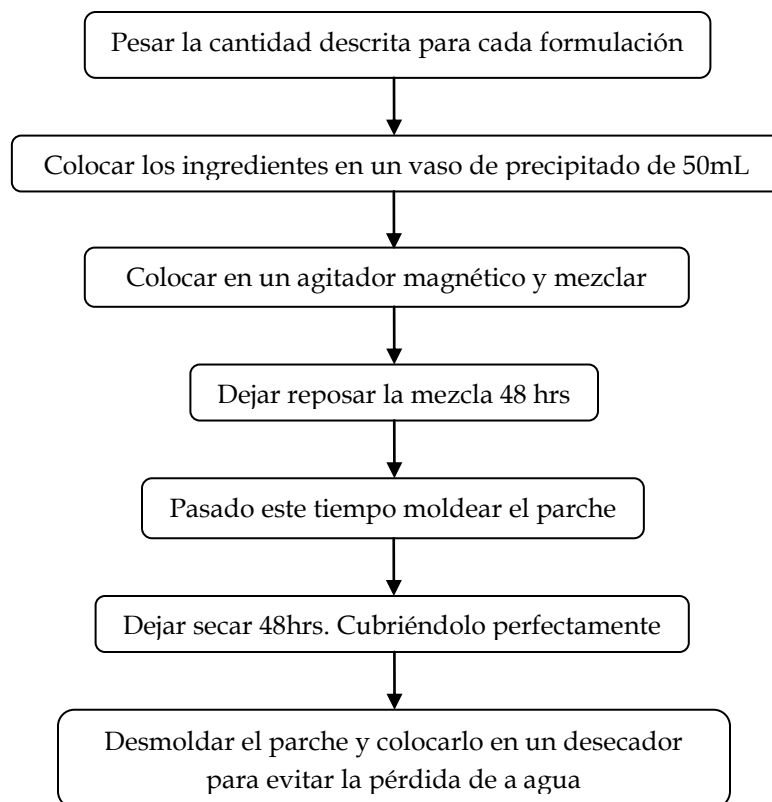
Tabla 8. Composición de las formulaciones de Clorhidrato de Sibutramina en la matriz de quitosán, utilizando Clorhidrato de Sibutramina a una concentración de 7mg/mL.

Formulación para parche control		Formulación para parche con promotor	
Ingrediente	Porcentaje %	Ingrediente	Porcentaje %
Quitosán	1.5	Quitosán	1.5
Propilenglicol	15	Propilenglicol	15
A.Ac.Glacial	78.5	A.Ac.Glacial	73.5
Pluronic PF-127	5	Pluronic PF-127	5
		Transcutol	5

*Formulación para 100mL, por lo cual de Clorhidrato de Sibutramina se utilizaron 700mg

5.2.1 CLORHIDRATO DE SIBUTRAMINA EN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE QUITOSÁN CON AGENTE PROMOTOR (TRANSCUTOL®)

A continuación se muestra en procedimiento para la formulación de los parches de Clorhidrato de Sibutramina con Quitosán:



5.3 MÉTODOS

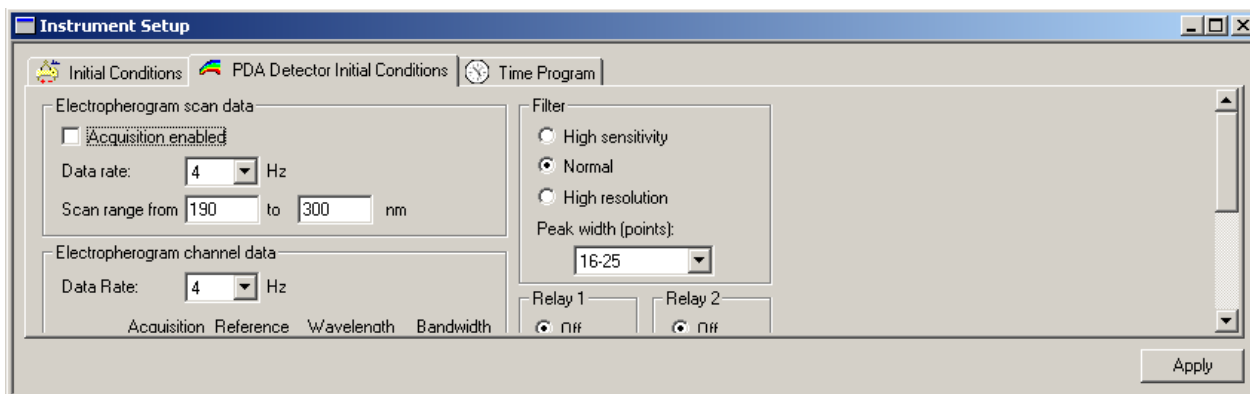
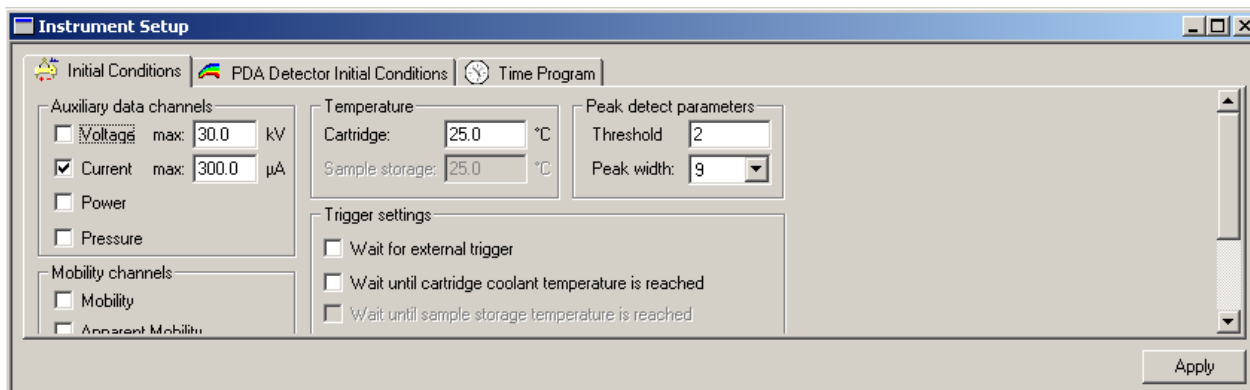
5.3.1 MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

Para la determinación del activo Clorhidrato de Sibutramina en las muestras *in vitro/in vivo* se utilizó Electroforesis Capilar, por ser un método sensible y rápido ya que las cantidades que se esperan son muy pequeñas y además por que el equipo permite la lectura en secuencia de un número considerable de muestras figura 17.

Las condiciones del método fueron las siguientes:

Capilar de sílice fundida
Electrólito de soporte

75 μ de diámetro interno y 31cm de longitud
Buffer de citratos 30mM, pH 3.0



Time (min)	Event	Value	Duration	Inlet vial	Outlet vial	Summary
1	Rinse - Pressure	30.0 psi	1.00 min	BI:A1	BO:A1	forward
2	Inject - Pressure	0.5 psi	5.0 sec	SI:A5	BO:B1	Override, forward
3	Separate - Voltage	30.0 KV	5.00 min	BI:D2	BO:D2	0.17 Min ramp, normal polarity, In / Out vial inc 3
4	Autozero					
5	End					
6						

Fig. 17 Condiciones del método para la posterior cuantificación

5.3.2 ESTUDIOS DE PENETRACIÓN *IN VIVO*

Para ello se utilizó el antebrazo de 4 voluntarios sanos (3 hombres y 1 mujer) sin antecedentes de enfermedades en la piel, a los cuales se les administró la Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos, el número de parches a colocar es de 4 con un área de 16 cm², colocándose 2 en cada antebrazo (Fig. 18), tras la colocación de estos se realizan muestreos a los tiempos 1, 3, 6 y 24hrs, mediante la técnica de Tape Stripping.

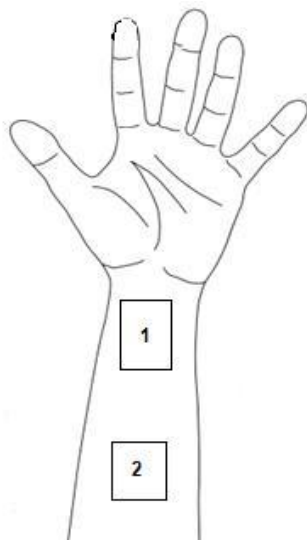
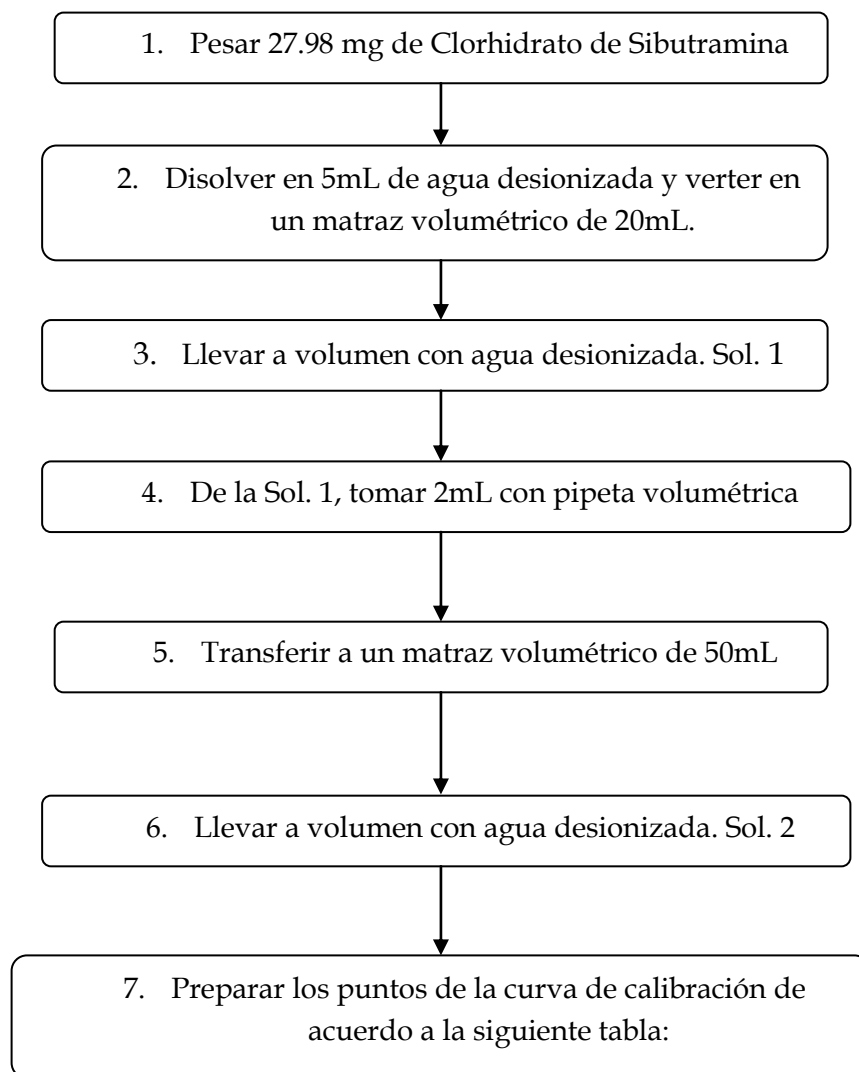


Fig. 18 Esquema que representa el sitio de aplicación de los parches transdérmicos que contienen Clorhidrato de Sibutramina para los estudios de permeación *in vivo*.

La técnica de Tape Stripping, consiste en colocar cintas adhesivas con un área de 20.25 cm² e ir retirando con cada una de ellas poco a poco el EC del lugar de la administración con la finalidad de conservar en dichas células alguna cantidad de activo. Para esta experimentación se analizaron un total de 60 Tapes, 15 por cada parche colocado.

Cuantificación

Para ello se preparó una curva de calibración utilizando la técnica analítica de electroforesis capilar, este método previamente validado⁷⁴. Los sistemas se prepararon de la siguiente manera:



⁷⁴ Fernández Ruíz, 2010

Tabla 9. Preparación de los puntos de la curva de calibración

Sistemas	Volumen Sol. 2 (mL)	Volumen de aforo con agua desionizada (mL)	Concentración (mmol/mL)
1	2	20	1.993
2	3		2.9895
3	4		3.986
4	5		4.9825
5	6		5.979
6	7		6.9755

Extracción del clorhidrato de Sibutramina de las cintas adhesivas y acondicionamiento de la muestra

Para llevar a cabo el aislamiento y cuantificación del activo en dichas cintas (entiéndase a las cintas obtenidas con la técnica Tape Stripping), se realizó primero una extracción para ello se sumergió cada cinta en un frasco vial al cual se le agregaron 5 mL de agua ácida (pH de 3) por un periodo aproximado de 3 días, a continuación se les colocó en refrigeración para evitar la contaminación de las mismas por bacterias u hongos, debido a que estas muestras contienen células humanas.

Las muestras para lectura se prepararon utilizando 1mL de cada solución de extracción, colocándose en un vial el cual se introduce en el equipo para posteriormente realizar las lecturas de cada una de las muestras, que en total fueron 60.

A continuación se lleva a cabo el registro de la señal que proporciona el equipo el cual estará dado en área de los picos generados por cada muestra.

Finalmente se realiza la interpolación de los datos en la ecuación de la recta de la curva de calibración, la cual da como resultado datos confiables, solo se realizan los ajustes correspondientes, debido a las diluciones efectuadas.

5.3.3 ESTUDIOS DE PENETRACIÓ *IN VITRO*

Se utilizó como membrana de permeación transdérmica, piel humana procedente de lipectomías abdominales de esta manera la piel se limpia eliminando la mayor cantidad de vello y de grasa, posteriormente se corta en trozos cuadrados de aproximadamente 7x7 cm; dentro de la celda se colocó una barra magnética la cual sirvió para mantener el medio en agitación durante el tiempo de experimentación.

Una vez colocada la barra, se colocó el corte de piel sobre la parte superior de la base de la celda y sobre ésta un trozo de parche de con un área de 2.54 cm².

Después se colocó el compartimiento donador de la celda vertical tipo Franz asegurándola perfectamente, posteriormente se llenó el compartimiento receptor con una solución buffer de Hepes pH 5.5 y de concentración 25 mM.

Finalmente se colocaron las celdas (figura 19) en un agitador multiplaza a 37 ± 0.5 °C y a una velocidad de agitación de 200 rpm, recolectando muestras a las 2, 4, 6, 8, 24, 26, 28, 30 y 32 h, sin interrumpir las condiciones.

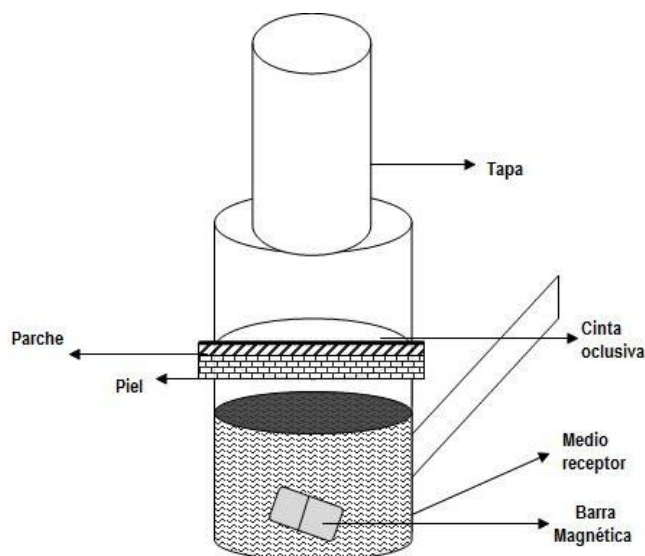
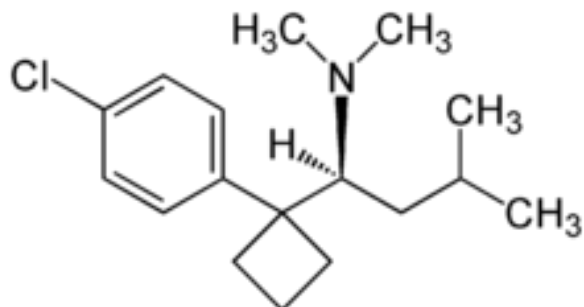


Fig. 19 Montaje de una celda de difusión tipo Franz para estudios de permeación a través de la piel *in vitro*

5.4 PROPIEDADES DEL CLORHIDRATO DE SIBUTRAMINA

5.4.1 PROPIEDADES FISICOQUIMICAS



Denominación Química: N-1-[1-(4-clorofenil)ciclobutil]-3-metilbutil-N,N-dimetil-amina

Composición cuantitativa: H 9.36% C 72.96% N 5.01% Cl 12.67%

Fórmula empírica: C₁₇H₂₆ClN

Peso molecular: 279.85 g/mol

Solubilidad en agua: 2.5 mg/mL a pH 5.2

Actividades farmacológicas: Anorexígeno (supresor del apetito), inhibidor de la recaptación de noradrenalina y serotonina.

Grupo terapéutico: A08AA: Antiobesidad de acción central

Aprobada por la FDA en Noviembre de 1997 y por la EMEA en Marzo de 2001. Originariamente fue investigada como un antidepresivo, pero se evidenció que, pese a ser ineficaz para ese efecto, los sujetos tratados perdían peso sin proponérselo, por lo que se reorientó su utilidad como fármaco antiobesidad.

5.4.2 MECANISMO DE ACCIÓN

Es la inhibición de la recaptación de los neurotransmisores monoamínicos del SNC (Noradrenalina, Serotonina y en menor medida Dopamina) que intervienen en la regulación de la ingesta de alimentos (Fig. 20).

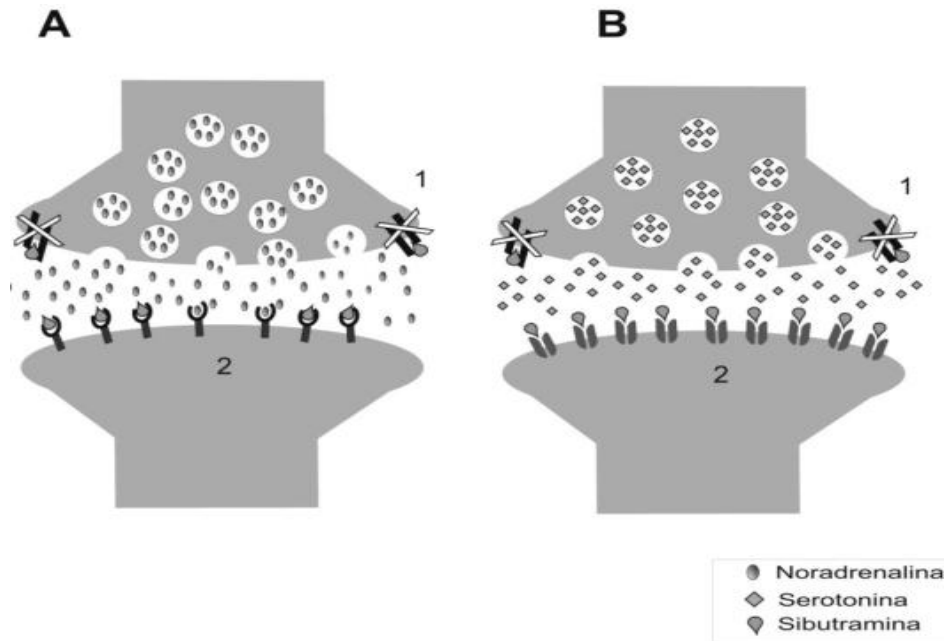


Fig. 20 Efecto farmacológico de Sibutramina. A) Neurotransmisión Adrenérgica. y B) Neurotransmisión Serotoninérgica. En ambos casos la Sibutramina actúa: 1. Inhibiendo selectivamente la recaptación del neurotransmisor y 2. Ejerciendo un papel agonista de receptores adrenérgicos y serotoninérgicos.

La acción directa de la Sibutramina se ejerce a través de sus metabolitos amínicos (figura 20) primarios y secundarios (M1 y M2), al inhibir la recaptación de los neurotransmisores ya mencionados⁷⁵.

⁷⁵ Unidad de Farmacología Clínica. 2001

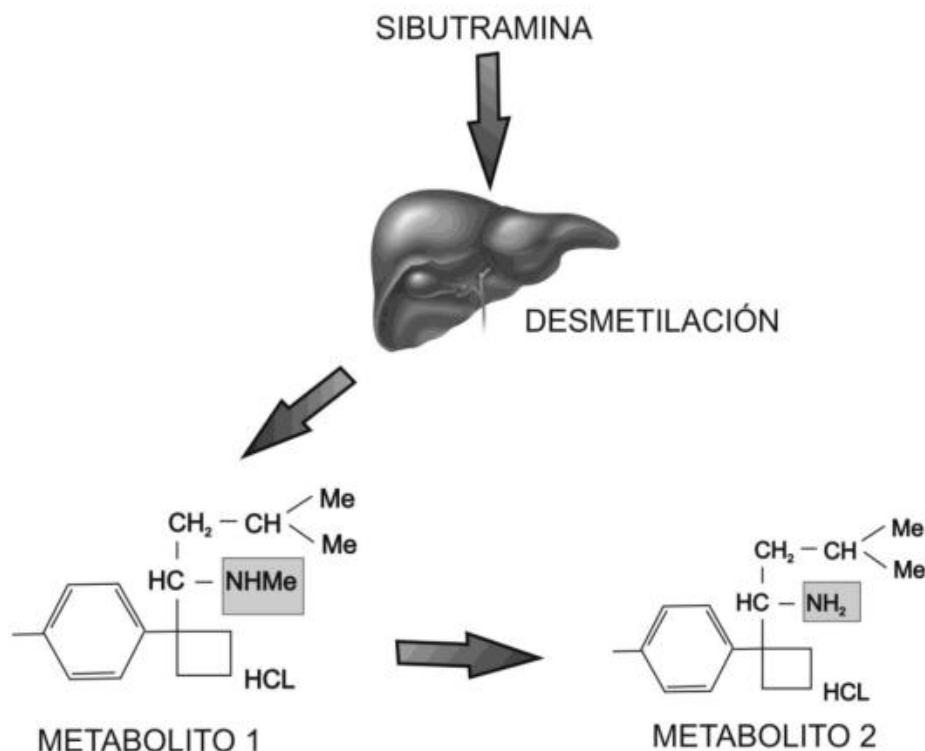


Fig. 21 Farmacodinamia de la Sibutramina

Cerca de un 77% de la dosis administrada, que sufre un intenso metabolismo de primer paso hepático.

5.4.3 ABSORCIÓN

Se absorbe por la vía más común, la oral; los metabolitos (M1 y M2) con actividad farmacológica tienen una t_{max} de 3 horas y $t_{1/2}$ de 14 y 16 horas respectivamente.

5.4.4 DISTRIBUCIÓN

In vitro se ha calculado que el grado de unión a las proteínas plasmáticas es del 94%.

5.4.5 METABOLISMO Y EXCRECIÓN

Se metaboliza principalmente por el hígado mediante la enzima Citocromo P450A4 a los metabolitos desmetilados y con actividad farmacológica (figura 21). Estos metabolitos son mayoritariamente hidroxilados y conjugados (ya sin actividad farmacológica). Aproximadamente el 85% se elimina en la orina y 3% de la Sibutramina inalterada. En cambio los metabolitos activos se eliminan preferentemente en heces a través del metabolismo hepático.

5.4.6 EFECTOS ADVERSOS

Los efectos secundarios reportados, son de leve a moderada intensidad y se producen generalmente en las primeras 4 semanas de tratamiento, algunas veces autolimitados.

Los más frecuentes son boca seca, náuseas, mareos, constipación, insomnio, y cefalea. Dentro de los efectos adversos sobre el sistema cardiovascular se encuentran aumento de la presión arterial sistólica y diastólica (± 2 mmHg dosis de 10-15 mg) taquicardia y palpitaciones por el aumento del gasto cardíaco (6-13 latidos por minuto), sin asociarse a infarto miocárdico o accidente cerebrovascular, por lo cual la presión arterial y el pulso deben ser cuidadosamente monitoreados en los pacientes obesos con hipertensión, que inician la farmacoterapia con sibutramina.

Un efecto secundario poco reportado que debe ser objeto de estudio, lo constituye el desmejoramiento de la memoria y el desarrollo de amnesia asociado al uso de la sibutramina.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 ESTUDIOS IN VITRO. DIFUSIÓN MEDIANTE CELDAS TIPO FRANZ

Como se mencionó en capítulos anteriores el uso de Celdas Franz es un modelo muy útil que nos permite predecir el flujo de un activo a través de la piel, debido a que las celdas de difusión permiten realizar ensayos de permeación transdérmica empleando piel humana o animal, y ensayos de difusión de sustancias empleando membranas sintéticas⁷⁶.

Estos ensayos permiten:

- Obtener una evaluación pre-clínica de la absorción transdérmica del activo, antes de realizar un estudio clínico. De esta manera, el uso de los resultados *in vitro* hará posible predecir el comportamiento *in vivo*.
- Comparar prototipos de formulaciones transdérmicas y optimizar su composición.
- Estudiar la distribución de la droga en las distintas capas de la piel (biodistribución), en este proyecto se llevó a cabo tal estudio mediante el uso de la Técnica de Tape Stripping.

En este caso, la metodología consiste en colocar un corte de piel en la celda de difusión, aplicar la formulación en estudio sobre la piel, y luego determinar la cantidad de droga que queda retenida en las distintas capas de la misma, así como la cedida al compartimiento receptor, en un tiempo determinado

Por ello en este estudio se evaluó la penetración del activo Clorhidrato de Sibutramina la cual se formuló en parches transdérmicos de Qitosán a través de piel abdominal humana. Se evaluaron un parche control y otro formulado con Transcutol® como agente promotor de penetración transdérmica. En las tablas 10 y 11 se muestran los resultados de las concentraciones (mg/mL) obtenidos en los estudios de penetración *in vitro* sin APP y con APP respectivamente.

⁷⁶ <http://www.inti.gov.ar/hilo/h8/www.inti.gov.ar/quimica/>

Tabla 10. Concentraciones (mg/mL) de las muestras de cada celda de Parche Control a los diferentes tiempos de muestreo

t de Muestreo (h)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VITRO</i> SIN APP							
	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	No. CELDA						Promedio
		1	2	3	4	5	6	
2		4.69E-03	5.26E-03	4.19E-03	4.22E-03	5.58E-03	3.29E-03	4.54E-03
4		3.02E-03	3.08E-03	2.84E-03	4.98E-03	7.00E-03	5.52E-03	4.41E-03
6		8.69E-03	9.50E-03	6.95E-03	8.06E-03	7.98E-03	4.31E-03	7.58E-03
8		5.15E-03	9.64E-03	5.87E-03	8.70E-03	1.54E-02	1.14E-02	9.36E-03
24		5.41E-03	1.07E-02	8.30E-03	1.99E-02	2.41E-02	1.59E-02	1.40E-02
26		2.00E-02	1.73E-02	1.57E-02	1.60E-02	3.41E-02	2.82E-02	2.19E-02
28		1.72E-02	3.22E-02	2.03E-02	1.47E-02	1.68E-02	2.35E-02	2.08E-02
30		1.18E-02	8.74E-03	1.17E-02	8.86E-03	1.40E-02	1.20E-02	1.12E-02
32		1.82E-02	1.56E-02	1.87E-02	1.79E-02	2.59E-02	1.70E-02	1.89E-02
Concentración total (mg/mL) a las 32 h								1.13E-01
Desviación estándar								0.0067

Tabla 11. Concentraciones (mg/mL) de las muestras de cada celda de Parche con Transcutol® (APP) a los diferentes tiempos de muestreo

t de Muestreo (h)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VITRO</i> CON TRANSCUTOL (APP)							
	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	No. CELDA						Promedio
		1	2	3	4	5	6	
2		2.52E-03	3.99E-03	3.78E-03	5.49E-03	3.57E-03	3.96E-03	3.89E-03
4		6.01E-03	4.09E-03	6.39E-03	4.05E-03	4.51E-03	3.79E-03	4.81E-03
6		3.14E-03	4.18E-03	1.73E-02	9.23E-03	8.44E-03	5.20E-03	7.92E-03
8		1.61E-02	8.84E-03	1.79E-02	1.80E-02	1.19E-02	1.17E-02	1.41E-02
24		3.34E-02	3.63E-02	2.90E-02	2.99E-02	1.29E-02	2.93E-02	2.85E-02
26		3.72E-02	4.54E-02	5.67E-02	1.08E-02	2.21E-02	2.51E-02	3.29E-02
28		2.00E-02	2.36E-02	4.78E-02	2.52E-02	2.78E-02	3.55E-02	3.00E-02
30		7.61E-02	6.60E-02	1.01E-01	1.80E-02	1.40E-02	1.72E-02	4.87E-02
32		1.11E-01	2.37E-02	4.62E-02	3.38E-02	5.77E-02	5.23E-02	5.40E-02
Concentración total (mg/mL) a las 32 h								2.25E-01
Desviación estándar								0.0185

Como se puede observar en las tablas anteriores, el parche que contiene Transcutol® como APP proporciona una mayor penetración del activo a través de la piel (0.225mg/mL \pm 0.0185) con respecto al parche control (0.113mg/mL \pm 0.0067). Esto es importante ya que pone de manifiesto el efecto promotor del Transcutol® para el caso del Clorhidrato de Sibutramina. De hecho el efecto promotor ejercido por la adición de Transcutol® al parche transdérmico en función de las concentraciones obtenidas es de 2.30. Este efecto puede ser debido a un incremento en la solubilidad del activo originando cambios en el coeficiente de partición⁷⁷, también mediante la acumulación del activo en capas superficiales en la piel por la formación de un depósito intracutáneo debido al hinchamiento de los lípidos intracelulares^{78,79} y finalmente por cambios generados en la composición del vehículo, por absorción de agua de la misma piel⁸⁰.

⁷⁷ Ganem-Quintanar *et al.*, 1997

⁷⁸ Touitou *et al.*, 1991

⁷⁹ Godwin *et al.*, 2002

⁸⁰ Bialik *et al.*, 1993

Tabla 12. Cantidades permeadas del Clorhidrato de Sibutramina correspondientes a cada una de las celdas Franz del Parche Control

Cantidades permeadas en función del tiempo : Parche Control							
Tiempo (h)	No. de Celda						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
2	9.21E-03	1.03E-02	8.23E-03	8.29E-03	1.10E-02	6.46E-03	8.92E-03
4	1.51E-02	1.64E-02	1.38E-02	1.81E-02	2.47E-02	1.73E-02	1.76E-02
6	3.22E-02	3.51E-02	2.75E-02	3.39E-02	4.04E-02	2.58E-02	3.25E-02
8	4.23E-02	5.40E-02	3.90E-02	5.10E-02	7.07E-02	4.81E-02	5.09E-02
24	5.30E-02	7.50E-02	5.53E-02	9.01E-02	1.18E-01	7.93E-02	7.85E-02
26	9.23E-02	1.09E-01	8.61E-02	1.21E-01	1.85E-01	1.35E-01	1.21E-01
28	1.26E-01	1.72E-01	1.26E-01	1.50E-01	2.18E-01	1.81E-01	1.62E-01
30	1.49E-01	1.89E-01	1.49E-01	1.68E-01	2.46E-01	2.05E-01	1.84E-01
32	1.85E-01	2.20E-01	1.86E-01	2.03E-01	2.96E-01	2.38E-01	2.21E-01

La tabla 12 muestra los resultados para la obtención de los perfiles individuales de penetración de Clorhidrato de Sibutramina *in vitro* a través de piel abdominal humana por difusión pasiva mediante Celdas Franz a partir de matrices que no contenían Transcutol®. Los perfiles de penetración individuales se muestran a continuación en el gráfico 1.

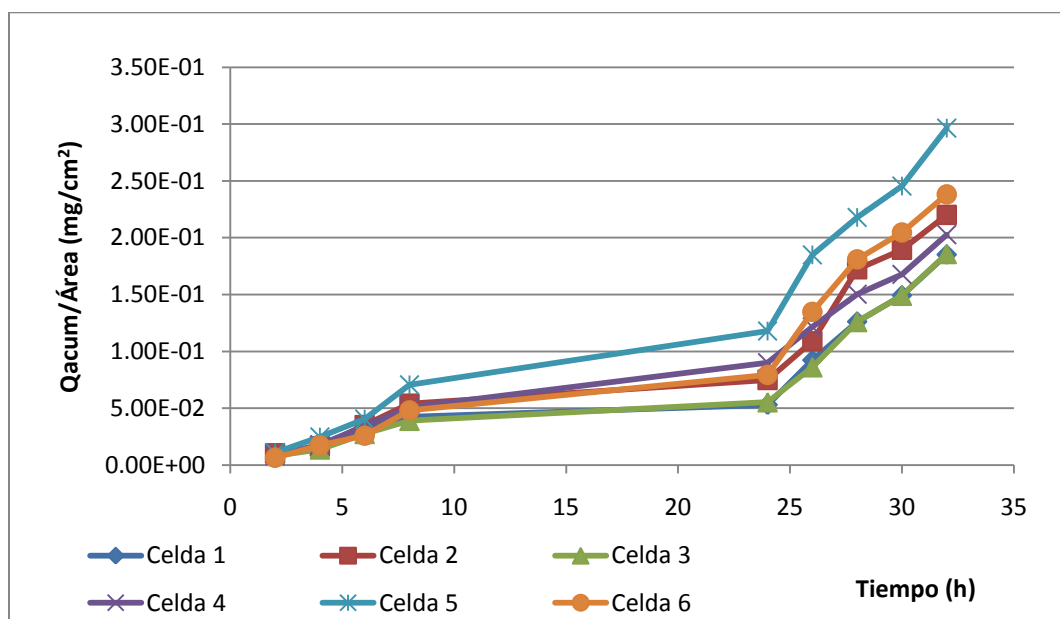


Gráfico 1. Perfiles individuales de permeación del Clorhidrato de Sibutramina en Parches Control.

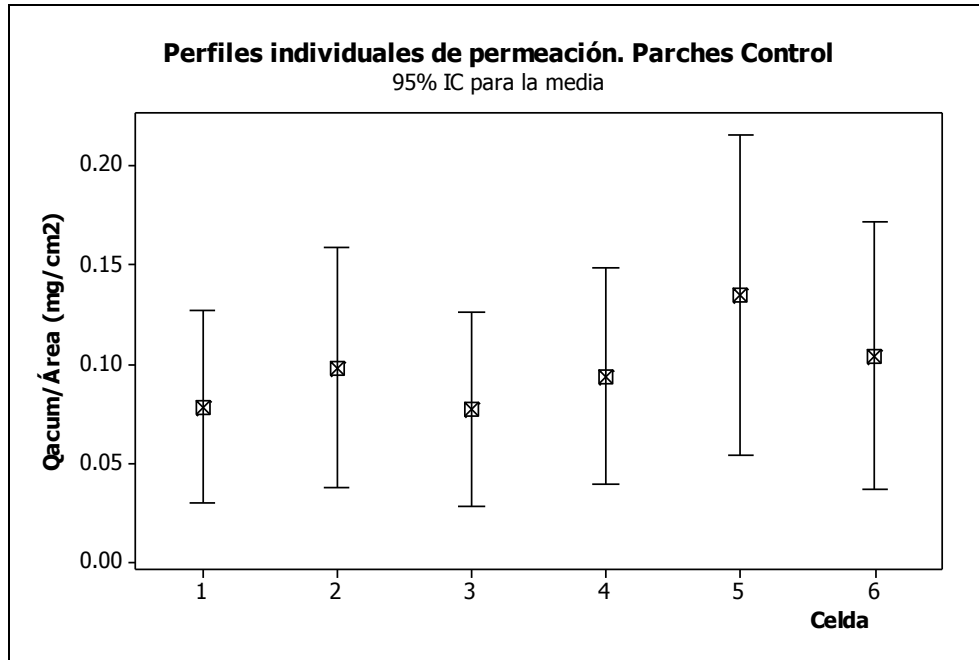


Gráfico 1.1. Gráfico de intervalos que muestra los perfiles individuales de permeación del Clorhidrato de Sibutramina en Parches Control.

El Gráfico 1 muestra los perfiles de penetración de Clorhidrato de Sibutramina *in vitro*, a través de piel abdominal humana por cada celda Franz mediante difusión pasiva para el parche control sin APP. En donde se observa que la formulación control sigue la tendencia típica para este tipo de estudio, observándose un incremento importante en las concentraciones en el compartimiento donador de las 6 celdas tipo Franz a partir de las 24 h.

Tabla 13. Parámetros de flujo, Kp y tiempo de latencia del Clorhidrato de Sibutramina a través de piel abdominal humana por celda en Parche Control, acompañados de media y desviación estándar

Parámetros de permeación : Parche Control				
Tipo de parche	Celda	Flujo (mg/cm²h)	Tiempo de latencia (h)	Constante de permeabilidad (Kp)
Sin Agente Promotor de penetración	1	1.606E-02	20.45	2.294E-03
	2	1.853E-02	19.73	2.648E-03
	3	1.619E-02	20.56	2.313E-03
	4	1.358E-02	17.21	1.940E-03
	5	2.088E-02	17.81	2.982E-03
	6	1.937E-02	19.34	2.766E-03
Media		1.743E-02	19.18	2.491E-03
DSTD		2.649E-03	1.386	3.784E-04

Tabla 14. Promedios de las Cantidades permeadas del Clorhidrato de Sibutramina correspondientes a los diferentes tiempos y sus parámetros de permeación para el Parche Control.

Promedios de Cantidades permeadas en función del tiempo : Parche Control				
Tiempo	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	4.54E-03	4.54E-03	2.27E-02	8.92E-03
4	4.41E-03	8.94E-03	4.47E-02	1.76E-02
6	7.58E-03	1.65E-02	8.26E-02	3.25E-02
8	9.36E-03	2.59E-02	1.29E-01	5.09E-02
24	1.40E-02	3.99E-02	2.00E-01	7.85E-02
26	2.19E-02	6.18E-02	3.09E-01	1.21E-01
28	2.08E-02	8.26E-02	4.13E-01	1.62E-01
30	1.12E-02	9.38E-02	4.69E-01	1.84E-01
32	1.89E-02	1.13E-01	5.63E-01	2.21E-01
Flujo (mg/cm²h)		0.0174345099		
Tiempo de latencia (h)		19.19		
Constante de permeabilidad		0.002490644		
Kp*1000		2.490644265		

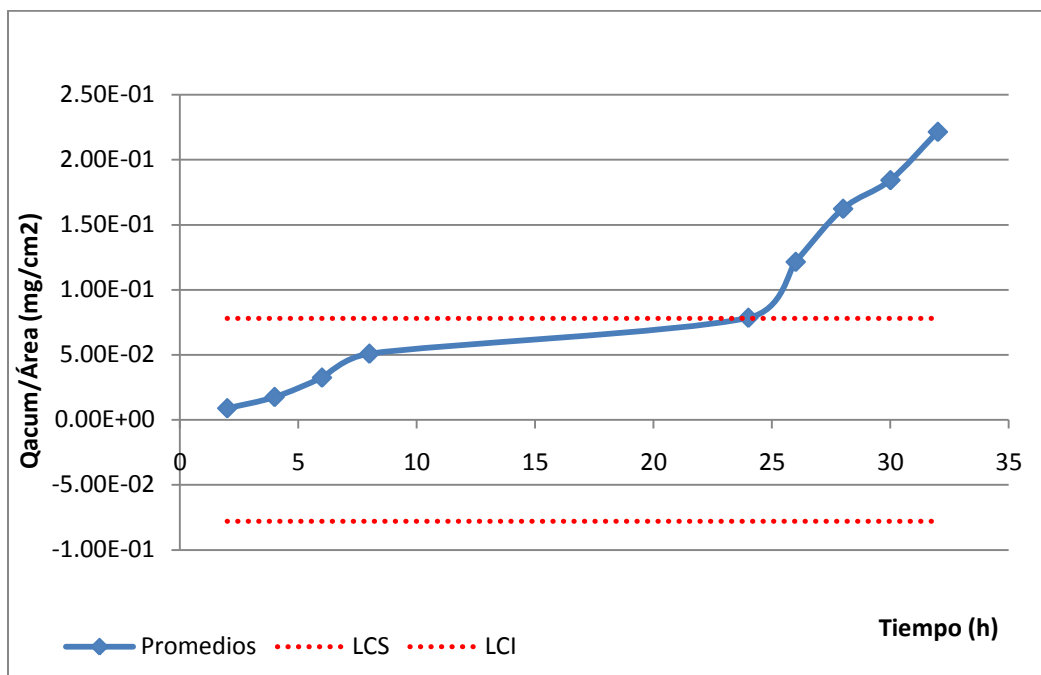


Gráfico 2. Perfil de permeación general (Promedios) de Clorhidrato de Sibutramina correspondientes al Parche Control

Respecto al perfil general de permeación de Clorhidrato de Sibutramina en los Parches Control, sin Transcutol® (gráfico 2), se observa que el tiempo de latencia no sobrepasa las 24 h, esto se confirma con los parámetros de la tabla 14 obtenidos mediante el cálculo matemático. Se observa que el valor del tiempo de latencia es de 19.19 hrs; lo cual indica que a este tiempo se concentrarán cantidades considerables de Clorhidrato de Sibutramina en EC de tal manera que se lleve a cabo el siguiente paso que es la incorporación del activo a circulación sistémica.

Tabla 15. Cantidades permeadas del Clorhidrato de Sibutramina correspondientes a cada una de las celdas Franz del Parche con Transcutol® (APP)

Cantidades permeadas en función del tiempo : Parche con Promotor							
Tiempo (h)	No. de Celda						Promedio
	1	2	3	4	5	6	
2	4.94E-03	7.85E-03	7.44E-03	1.08E-02	7.01E-03	7.79E-03	7.64E-03
4	1.68E-02	1.59E-02	2.00E-02	1.88E-02	1.59E-02	1.52E-02	1.71E-02
6	2.29E-02	2.41E-02	5.40E-02	3.69E-02	3.25E-02	2.55E-02	3.26E-02
8	5.45E-02	4.15E-02	8.92E-02	7.22E-02	5.59E-02	4.84E-02	6.03E-02
24	1.20E-01	1.13E-01	1.46E-01	1.31E-01	8.13E-02	1.06E-01	1.16E-01
26	1.93E-01	2.02E-01	2.58E-01	1.52E-01	1.25E-01	1.55E-01	1.81E-01
28	2.33E-01	2.48E-01	3.51E-01	2.02E-01	1.79E-01	2.25E-01	2.40E-01
30	3.82E-01	3.78E-01	5.49E-01	2.37E-01	2.07E-01	2.59E-01	3.35E-01
32	5.99E-01	4.25E-01	6.40E-01	3.03E-01	3.20E-01	3.62E-01	4.42E-01

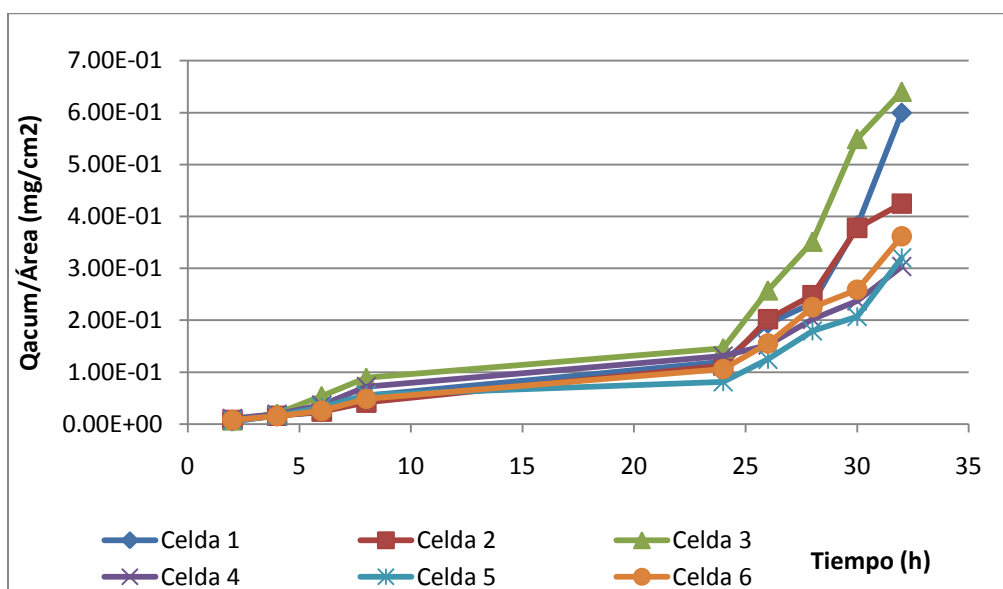


Gráfico 3. Perfiles individuales de permeación del Clorhidrato de Sibutramina en Parches con Promotor.

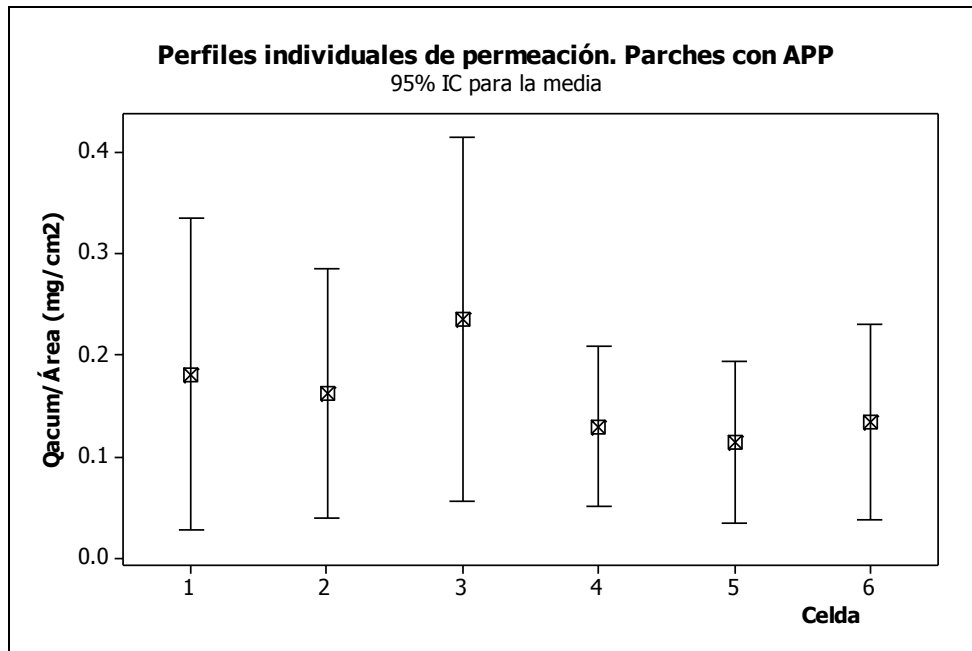


Gráfico 3.1. Gráfico de intervalos que muestra los perfiles individuales de permeación del Clorhidrato de Sibutramina en Parches con Promotor.

Concerniente a los estudios de penetración *in vitro*, los perfiles individuales de penetración de Clorhidrato de Sibutramina a través de piel abdominal humana por difusión pasiva mediante Celdas Franz a partir de matrices que contenían Transcutol® se muestran en el gráfico 3. En donde se observa que los parches transdérmicos con Transcutol® siguen la tendencia típica para estudios de penetración a través de membranas, esto se observa en el ascenso sostenido de las concentraciones con respecto al tiempo, en las 6 celdas a partir de las 24 h.

Tabla 16. Valores de los parámetros de permeación del Clorhidrato de Sibutramina por celda en Parches con Transcutol® como agente promotor de la penetración, acompañados de media y desviación estándar.

Parámetros de permeabilidad : Promotor				
Tipo de parche	Celda	Flujo (mg/cm²h)	Tiempo de latencia (h)	Constante de permeabilidad (Kp)
Con Agente Promotor de penetración	1	5.736E-02	22.67	8.194E-03
	2	3.999E-02	21.17	5.713E-03
	3	6.401E-02	21.92	9.145E-03
	4	2.147E-02	18.44	3.068E-03
	5	2.799E-02	21.48	3.999E-03
	6	3.076E-02	20.80	4.394E-03
Media		4.026E-02	21.08	5.752E-03
DSTD		1.703E-02	1.444	2.433E-03

Tabla 17. Promedios de las Cantidades permeadas del Clorhidrato de Sibutramina correspondientes a los diferentes tiempos y sus parámetros de permeación. Parche con Promotor

Promedios de Cantidades permeadas en función del tiempo : Promotor				
Tiempo (h)	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	3.89E-03	3.89E-03	1.94E-02	7.64E-03
4	4.81E-03	8.69E-03	4.35E-02	1.71E-02
6	7.92E-03	1.66E-02	8.31E-02	3.26E-02
8	1.41E-02	3.07E-02	1.53E-01	6.03E-02
24	2.85E-02	5.92E-02	2.96E-01	1.16E-01
26	3.29E-02	9.21E-02	4.60E-01	1.81E-01
28	3.00E-02	1.22E-01	6.10E-01	2.40E-01
30	4.87E-02	1.71E-01	8.54E-01	3.35E-01
32	5.40E-02	2.25E-01	1.12E+00	4.42E-01
Flujo (mg/cm²h)		0.0402633285		
Tiempo de latencia (h)		21.47		
Constante de permeabilidad		0.005751904		
Kp*1000		5.751904071		

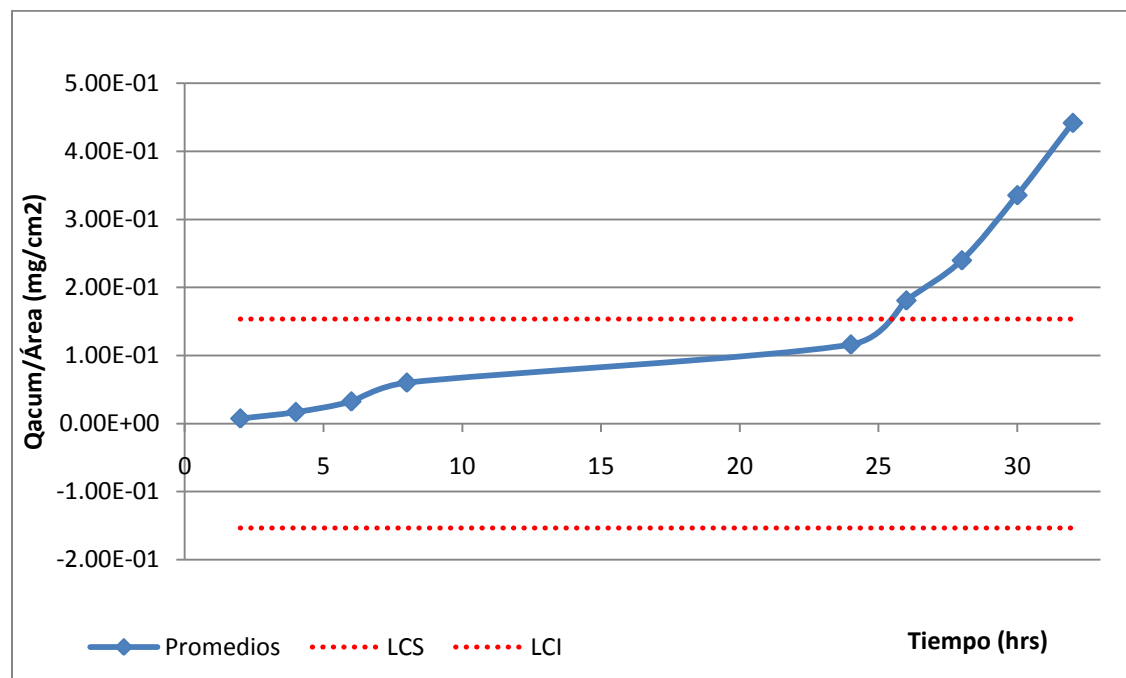


Gráfico 4. Perfil de permeación general (Promedios) de Clorhidrato de Sibutramina correspondientes al Parche con Promotor

Respecto al perfil general de permeación de Clorhidrato de Sibutramina en Parches con Transcutol® (gráfico 4), se observa que el tiempo de latencia no supera las 24 h, reafirmando con los parámetros mostrados en la tabla 17 obtenidos mediante el cálculo matemático. Nótese que el valor del tiempo de latencia es de 21.47 h; indicando que a este tiempo se concentrarán cantidades considerables de Clorhidrato de Sibutramina en EC de forma tal que se lleve a cabo el siguiente paso que es la incorporación del activo a circulación sistémica.

Tabla 18. Comparación de las cantidades permeadas del Parche Control y Parche con Promotor en función del tiempo, acompañadas de su desviación estándar

Tiempo	Con Agente Promotor de Penetración	Sin Agente Promotor de Penetración
	Qacum/ Área (mg/cm ²)	Qacum/ Área (mg/cm ²)
2	7.64E-03	8.92E-03
4	1.71E-02	1.76E-02
6	3.26E-02	3.25E-02
8	6.03E-02	5.09E-02
24	1.16E-01	7.85E-02
26	1.81E-01	1.21E-01
28	2.40E-01	1.62E-01
30	3.35E-01	1.84E-01
32	4.42E-01	2.21E-01
Qacum/ Área (mg/cm ²) TOTAL	1.43E+00	8.78E-01
Desv. STD	0.153534344	0.077972635

Es importante resaltar que en la formulación con APP la cantidad de activo acumulada por área es mayor 1.43 mg/cm² en comparación con la cantidad de activo acumulada en el caso de los parches control con 8.78E⁻⁰¹ mg/cm². De esta manera se confirma la acción promotora de el APP Transcutol®.

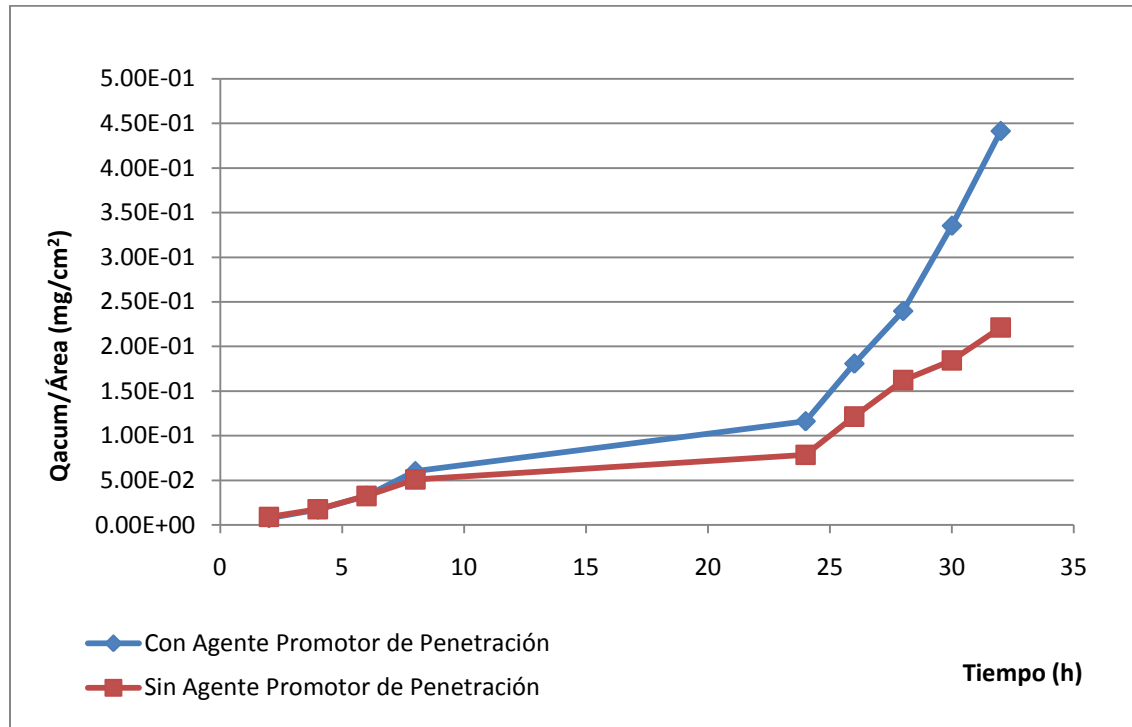


Gráfico 5. Representación de los perfiles de permeación del Parche Control y Parche con Promotor

Respecto a los perfiles de permeación del parche control y el parche con Transcutol®, que se muestran en el gráfico 5 y 6; se observa que los dos siguen la tendencia ideal de ascenso de la concentración respecto al tiempo, sin embargo se observa que se logran concentraciones superiores con el parche que contiene al APP que con el parche control, ambos posteriores a las 24 h.

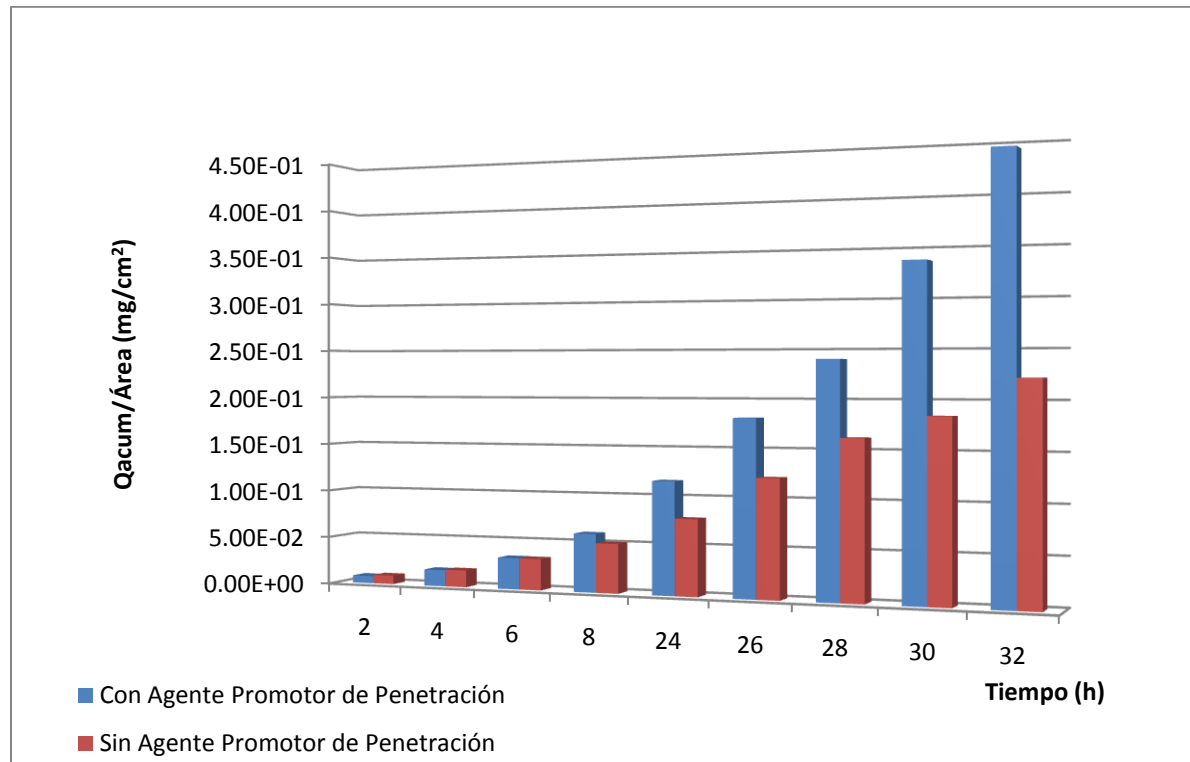


Gráfico 6. Comparación de las cantidades permeadas de Clorhidrato de Sibutramina del Parche Control y Parche con Promotor

Respecto a las cantidades permeadas de Clorhidrato de Sibutramina con respecto al tiempo (32 h) el gráfico 6 muestra la tendencia típica para estudios de penetración, que se muestra como un incremento de la concentración de activo al transcurrir el tiempo en ambos casos, sin embargo; se logran concentraciones mucho más elevadas con la formulación que contiene Transcutol®, esto es debido a que el efecto promotor de la formulación que contiene al APP es de 2.30 veces más en comparación con la formulación que no contenía al APP.

Tabla 19. Que muestra los parámetros de permeabilidad (Flujo, Tiempo de latencia y Kp) del Parche Control y Parche con Promotor

Parámetros de permeabilidad			
Tipo de parche	Flujo (mg/cm²h)	Tiempo de latencia (h)	Constante de permeabilidad (Kp)
Con Agente Promotor de Penetración	0.040	21.473	0.005
Sin Agente Promotor de Penetración	0.017	19.192	0.002

Cabe mencionar que en los estudios *in vitro*, pese a que el Clorhidrato de Sibutramina si atravesó el EC y se logró detectar en las muestras obtenidas del medio receptor y pudiéndose cuantificar mediante electroforesis capilar, existe una ligera diferencia respecto a los tiempos de latencia entre ambas formulaciones ya que este parámetro de permeación es mayor en la formulación que contiene APP 21.4 h con respecto a la formulación control, esto puede deberse a una interacción entre los componentes de la formulación, o a la red polimérica que forma el Quitosán y que pudo haber retardado la liberación del activo desde la matriz.

Examinando los cálculos obtenidos en el análisis de varianza (con un nivel de confianza del 95%) se observa que si presenta una diferencia significativa en el tiempo de latencia del parche con Transcutol® (APP), pues esta es de casi 3 horas más con respecto al parche control. En el caso del Flujo, el cual es un parámetro importante en el que si es válido basarse, se observa que es 4 veces mayor en la formulación que contiene Transcutol® además de que si existe una diferencia significativa con respecto a la formulación control.

6.2 ESTUDIOS *IN VIVO*. TÉCNICA DE TAPE STRIPPING

En cuanto a los resultados de los estudios de permeación *in vivo*, las siguientes tablas muestran los datos obtenidos para su posterior análisis.

- ◆ Concentraciones totales de HCl-Sib ($\mu\text{g}/\text{mL}$)

Tabla 20. Concentraciones totales de HCl-Sib ($\mu\text{g}/\text{mL}$) en el Parche Control por voluntario

Parche control	Concentración total ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
Tiempo de muestreo (h)	Voluntario 1	Voluntario 2	Voluntario 3	Voluntario 4
1	5.01E+02	1.29E+02	1.32E+02	5.43E+01
6	2.88E+02	2.03E+02	1.85E+02	7.89E+01
24	2.13E+02	2.36E+02	2.65E+02	1.37E+02

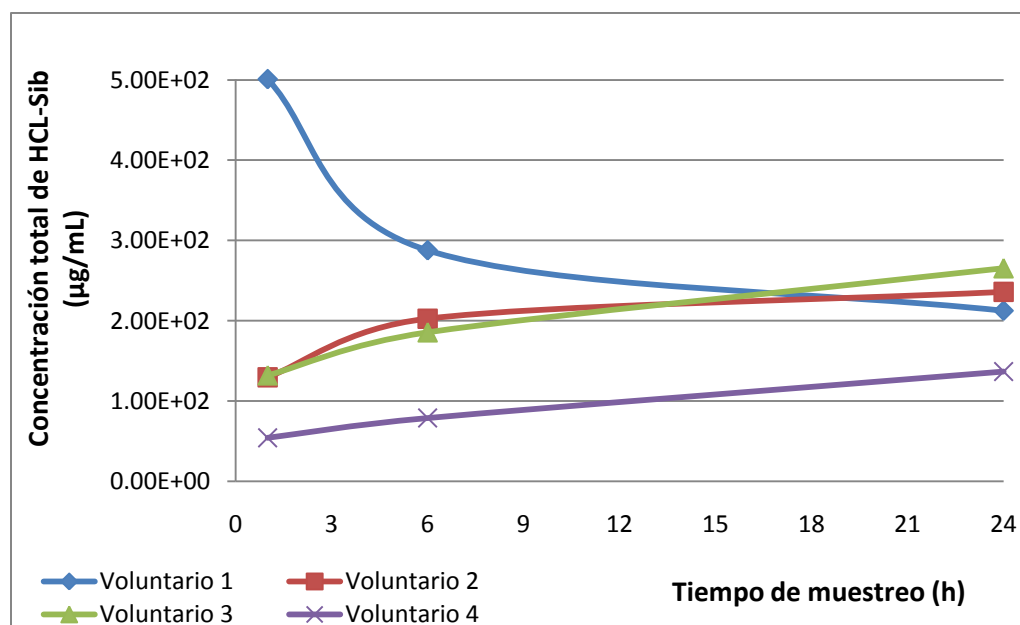


Gráfico 7. Concentración total de Clorhidrato de Sibutramina por voluntario a diferentes tiempos con el Parche Control

Tabla 21. Concentraciones totales de HCl-Sib ($\mu\text{g}/\text{mL}$) en el Parche con Promotor por voluntario

Parche con Promotor	Concentración total ($\mu\text{g}/\text{mL}$)			
	Voluntario 1	Voluntario 2	Voluntario 3	Voluntario 4
1	2.43E+02	3.39E+01	1.99E+02	1.69E+02
6	3.18E+02	9.78E+01	3.22E+02	2.74E+02
24	2.43E+02	6.91E+01	2.23E+02	3.15E+01

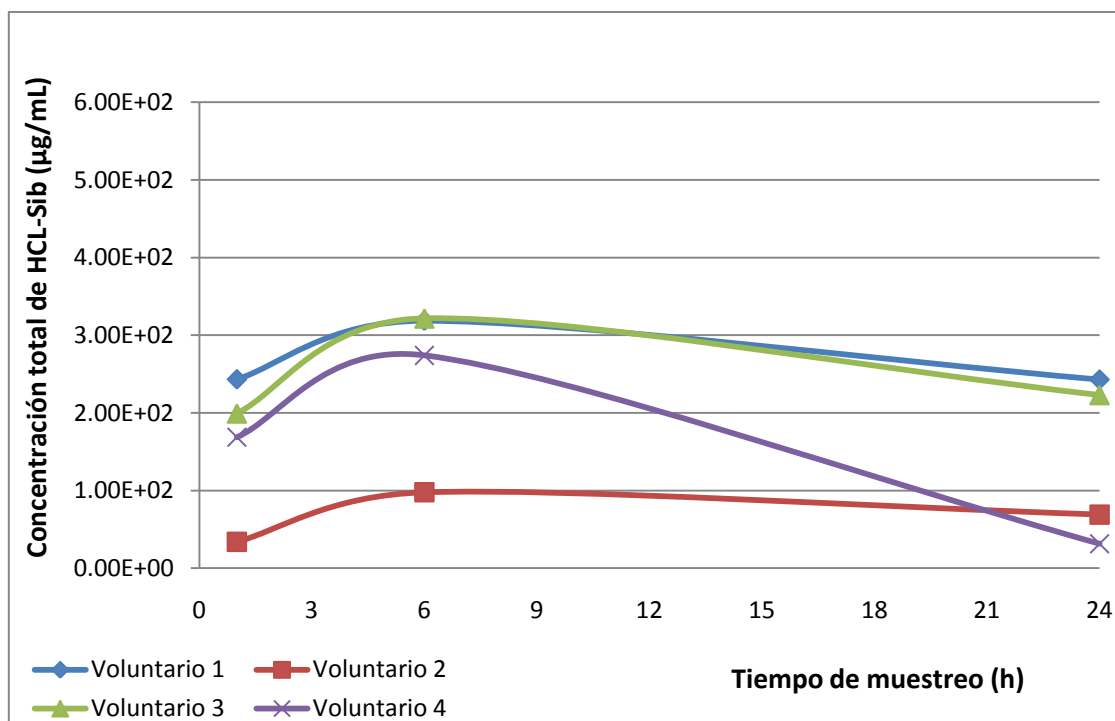


Gráfico 8. Concentración total de Clorhidrato de Sibutramina por voluntario a diferentes tiempos con el Parche con Promotor

En el gráfico 7 y 8 se muestran la concentraciones de Clorhidrato de Sibutramina por voluntario a cada uno de los tiempos de muestreo de los parches control y con APP, respectivamente observándose el incremento sostenido y gradual con el voluntario 2 en el caso del parche control, y con el voluntario 2 y 3 respecto al parche que contenía Transcutol®.

Tabla 22. Comparación de la concentración total del Parche Control y Parche con Promotor

Parche control		Parche con Promotor	
Tiempo de muestreo (h)	Promedios de Concentración (µg/mL)	Tiempo de muestreo (h)	Promedios de Concentración (µg/mL)
1	2.04E+02	1	1.61E+02
6	1.89E+02	6	2.53E+02
24	2.13E+02	24	1.42E+02
Concentración Total (µg/mL)	7.91E+02	Concentración Total (µg/mL)	7.17E+02

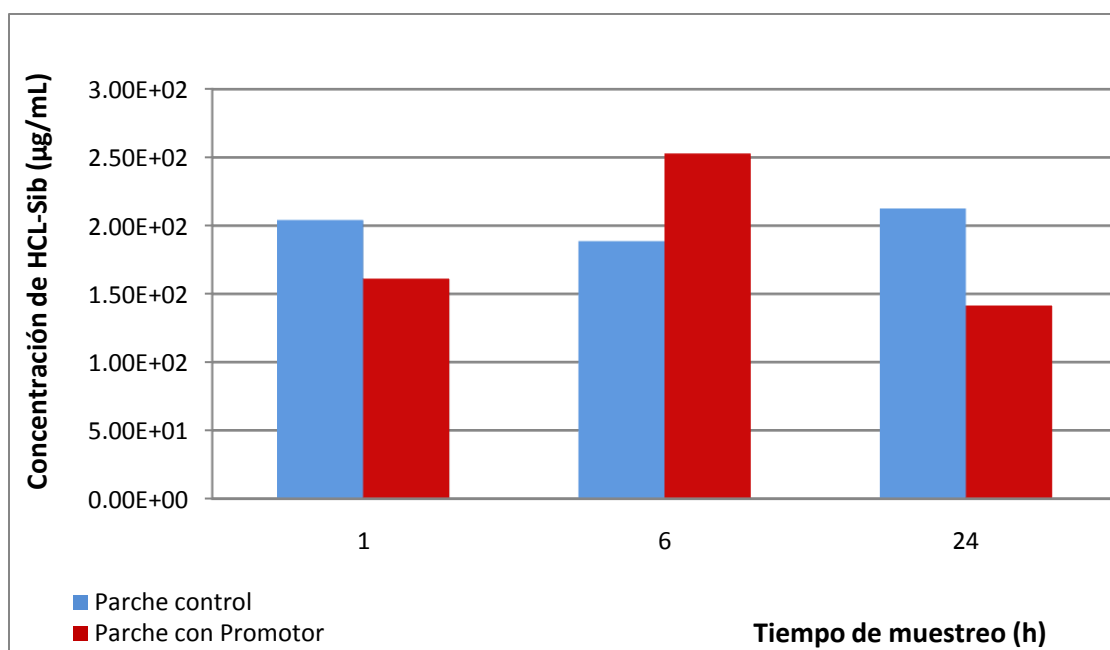


Gráfico 9. Comparación de la concentración total de Clorhidrato de Sibutramina (Promedios) entre el Parche Control y el Parche con Promotor a diferentes tiempos

Referente al gráfico 9, el cual representa las concentraciones alcanzadas a cada tiempo de muestreo en cada una de las formulaciones (control y con APP), se observa un ligero incremento en el tiempo 6 h con el parche con APP con respecto al control.

Tabla 23. Comparación de la concentración total del Parche Control y Parche con Promotor

Parche control		Parche con Promotor	
Concentración Total ($\mu\text{g/mL}$)	7.91E+02	Concentración Total ($\mu\text{g/mL}$)	7.17E+02

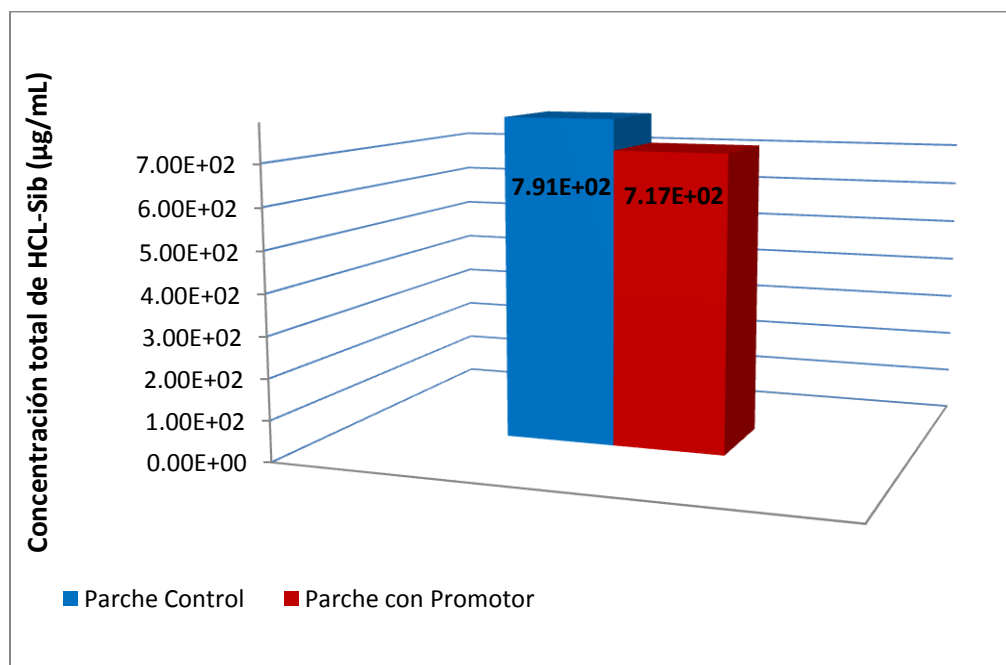


Gráfico 10. Comparación de la concentración total de Clorhidrato de Sibutramina entre el Parche Control y el Parche con Promotor

En el caso de ambas formulaciones: control (sin Transcutol®) y con APP, el Clorhidrato de Sibutramina si se detectó al momento de la cuantificación, demostrándose que efectivamente el activo atraviesa EC, sin embargo se registraron concentraciones ligeramente mayores en el caso de las matrices con Transcutol®.

Esto pudiera deberse en primera instancia al Transcutol® y su efecto promotor y en segundo lugar a que los ingredientes de la formulación actúen por sí mismos como agentes promotores de la penetración tal es el caso del Pluronic-Pf-127 el cual es un gel termorreversible⁸¹ y un agente activo de superficie no iónico.

⁸¹ Dibiase *et al.*, 1996.

Es precisamente esta característica la que le permite ser utilizado como acarreador de activos por la gran mayoría de vías de administración entre ellas la tópica,^{82, 83}; además de que tiene la capacidad de formar, romper y modificar los enlaces responsables de mantener a la red polimérica unida. Además, se ha encontrado que el PF-127 puede potencialmente actuar como piel artificial.⁸⁴

Finalmente y no por ser menos importante se demuestra la acción promotora y eficiencia del APP utilizado para esta investigación, esta capacidad promotora de la penetración del Transcutol® ha sido atribuida a su posibilidad de pasar a través de la piel⁸⁵, siendo incorporado dentro de las capas lipídicas de EC, generando un hinchamiento de los lípidos intercelulares⁸⁶.

Lo anterior se confirma con el valor de Kp (constante de permeabilidad) el cual se define como la cantidad de fármaco que atraviesa una sección de membrana por unidad tiempo, los valores se muestran en la tabla 19, en la cual se exponen los valores de este parámetro observándose que este valor es mayor en la formulación que contiene APP en comparación a la formulación Control.

Respecto a los estudios de permeación *in vivo*, la comparación entre los voluntarios muestra variabilidad, debido a que las propiedades metabólicas de la piel varían de un individuo a otro, sin embargo en el gráfico 9, destaca el efecto que ejerce el Transcutol® en la penetración de Clorhidrato de Sibutramina a través de piel abdominal humana ya que se alcanzan concentraciones mayores de Clorhidrato de Sibutramina en las formulaciones que no contienen APP, a excepción del tiempo 6hrs.

No hay que olvidar que la piel es la principal barrera de permeación predominantemente lipofílica y que la eficacia de las diferentes rutas de penetración depende de la solubilidad, coeficiente de partición y la difusividad del fármaco entre las proteínas y las fases lipídicas de la piel.

Esto en principio porque la velocidad de difusión del activo es proporcional a la concentración, esta relación es lineal a concentraciones bajas del activo y sólo cuando este es soluble en el vehículo. Generándose así una meseta en la que los incrementos de concentración no generan ascensos en la respuesta, este factor explica los efectos terapéuticos variables de diferentes formulaciones de un mismo compuesto.

⁸² Morikawa *et al.*, 1987

⁸³ Padilla, 2000

⁸⁴ Dibiase *et al.*, 1996.

⁸⁵ Ganem.Quintanar, et al. 1997

⁸⁶ Godwin, et al. 2002

La solubilidad del fármaco interviene también debido a que el EC es lipófilo y por ende es mucho más factible que los activos liposolubles puedan atravesarlo, en consecuencia, la penetración de este a través de la piel será óptima cuando se mantenga en solución dentro del vehículo, y además posea un coeficiente de partición favorable, es decir, que el activo sea mucho más soluble en el EC que en el propio excipiente.

En último lugar, y no por menos importante se encuentra el coeficiente de difusión del activo en el EC; entiéndase como coeficiente de difusión a la magnitud con que la piel se opone de manera natural al paso del fármaco⁸⁷. Esto depende de diversos factores como son el tamaño molecular y la capacidad de difusión de la capa de la piel, pues el coeficiente de difusión del EC es menor comparado con otras células y por ello se opone con más mayor intensidad al paso del activo.

⁸⁷ Martin Avila-Revisión

VII. CONCLUSIONES

- ◆ Se evaluó la penetración *in vivo/in vitro* de Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos de Quitosán mediante el uso de celdas de difusión tipo Franz y la técnica de Tape Stripping encontrándose que en el caso de la penetración *in vitro* los parches con APP (Transcutol®) la penetración de Clorhidrato de Sibutramina fue ligeramente mayor en comparación con los parches control.
- ◆ Se formuló al Clorhidrato de Sibutramina en parches transdérmicos de Quitosán incluyendo al Transcutol® como agente promotor de penetración.
- ◆ Se evaluó el grado de penetración *in vivo* a través de la piel, de Clorhidrato de Sibutramina formulada en parches transdérmicos de Quitosán mediante la técnica de Tape Stripping obteniéndose una Concentración Total de Clorhidrato de Sibutramina de $7.91E+02\mu\text{g}/\text{mL}$ y de $7.17E+02\mu\text{g}/\text{mL}$ con el parche control y con el parche con Transcutol® respectivamente, encontrándose que no existe diferencia significativa según la prueba de F realizada, entre uno y otro a pesar de que en el caso del parche control existe un ligero incremento en la concentración.
- ◆ Se obtuvieron los perfiles de penetración (Concentración en función de la distancia de penetración) de Clorhidrato de Sibutramina mediante el uso de la técnica de Tape Stripping.
- ◆ Se obtuvieron los flujos transdérmicos $0.040\text{ mg}/\text{cm}^2\text{h}$ para la formulación con Transcutol® como APP y $0.017\text{ mg}/\text{cm}^2\text{h}$ para la formulación control respectivamente; y los tiempos de latencia 21.47 h para los parches transdérmicos con Transcutol® (APP) y 19.19 h para el parche control, *in vitro* de Clorhidrato de Sibutramina por estudios de difusión en celdas tipo Franz.
- ◆ Se evaluó el efecto promotor del Transcutol® sobre la penetración de sustancias a través de la piel *in vivo* e *in vitro* obteniéndose un efecto promotor de la formulación que contiene Transcutol® como APP de 2.30 veces más en comparación con la formulación control para los estudios *in vitro*.

VIII. PERSPECTIVAS

- ◆ Se sugiere evaluar el efecto de más variables sobre los estudios de Tape Stripping.
- ◆ Se propone evaluar a otros APP de naturaleza química como el caso de la Azona[®], la cual también ha demostrado ser un buen agente promotor debido a su actividad debido a que es uno de los más efectivos tanto para sustancias de naturaleza lipofílica como hidrofílica además de que es miscible prácticamente en todos los solventes orgánicos por lo que tiene una gran capacidad para disolver un número importante de fármacos. Se incorpora fácil y rápidamente en diferentes formulaciones, mostrando una alta estabilidad y compatibilidad con los excipientes de las formulaciones.

VIII. REFERENCIAS

- Bialik, W., Walters, K. A., Brian, K. R., Hadgraft, J. (1993). Some factors affecting the *in vitro* penetration of ibuprofen through human skin, *Int. J. Pharm.*, 92, 219-223.
- Bronaugh, R. L., Stewart, R. F., Congdon, E. R. (1982). Methods for *in vitro* percutaneous absorption studies II: Comparison of human and animal skin, *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 62, 481-488.
- Chien YW. Transdermal Therapeutic Systems. Controlled Drug Delivery Fundamentals and Application. New York and Basel: Marcel Dekker 1988
- Collier, S.W., Sheikh, N. M., Sakr, A., Lichtin, J. L., Stewart, R. F., Bronaugh, R. L. (1989). Maintenance of skin viability during *in vitro* percutaneous absorption/metabolism studies, *Tox. Appl. Pharmacol.*, 99, 522-533.
- Del Rio Gallardo, M.E., Estudios de liberación transdérmica para tres fármacos de diferente peso molecular en sistemas iontoforéticos. , Tesis UNAM QFB. Cuautitlán Izcalli, 1995.
- DiBiase, M., Rhodes, C.T. 1996. Formulation and evaluation of epidermal growth factor in pluronic-127 Gel, *Drug Develop. Ind. Pharm.*, 22(8), 823-831.
- Escobar-Chávez JJ, Melgoza-Contreras LM, López-Cervantes M, Quintanar-Guerrero D, and Ganem-Quintanar A. The tape stripping technique as a valuable tool for evaluating topical applied compounds. In: *Frontiers in Drug Design & Discovery*, Gary W. Caldwell / Atta-ur-Rahman / Z. Yan / M. Iqbal Choudhary (Eds.) Bentham Science Publishers, Vol. 4, 189-227, 2009.
- Escobar-Chávez JJ, Merino V, López-Cervantes M, Urban-Morlan Z, Quintanar-Guerrero D. Ganem-Quintanar A. The tape stripping technique as a method for drug quantification in skin, *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 11(1): 104-130, 2008.
- 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 2006.
- Escobar-Chávez, J. J., Quintanar-Guerrero, D., Ganem-Quintanar, A. 2005. *In vivo* skin permeation of sodium naproxen formulated in Pluronic F-127 gels: Effect of azone® and transcutol®, *Drug Dev. Ind. Pharm.*, 31, 447-454.
- Escobar-Chávez, J.J., Merino-Sanjuán, V., López-Cervantes, M., et al. 2008. The Tape-Stripping Technique as a Method for Drug Quantification in Skin. *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.*, 11(1):104-130.
- Escribano E, Calpena AC, Queralt J, Obachand R, Doménech J. Assessment of diclofenac permeation with different formulations: anti-inflammatory study of a selected formula. *Eur J Pharm I Sci.* 2003; 19 (4): 203-210.

- Feldmann RJ, Maibach HI. Regional variation in percutaneous penetration of ¹⁴C cortisol in man. *J Invest Dermatol* 1967; 48: 181-183.
- Fernández Ruíz, A.A. Desarrollo de un método analítico para la cuantificación de Sibutramina en parches dermatológicos por Electroforesis Capilar. Tesis Licenciatura, QFB. UNAM. Cuautitlán Izcalli, 2010
- Ficha Técnica. Unidad de Farmacología Clínica. HGUA Dirección General para la prestación farmacéutica. España
- Ganem-Quintanar, A., Lafforgue, A.C., Falson-Rieg, F., Buri, P. 1997. Evaluation of the transepidermal permeation of diethyleneglycol monoethylether and skin water loss. *Int. J. Pharm.*, 147, 165-172.
- Godwin, D.A., Kim, N.H., Felton, L.A. (2002). Influence of transcutol CG on the skin accumulation and transepidermal permeation of ultraviolet absorbers. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 53, 23-27.
- Guy RH, Hadgraft J. Transdermal drug delivery : the ground rules are emerging. *Pharm Int* 1985; 5: 112-16.
- Guzek, D.B., Kennedy, A.H., McNeill, S.C., Wakshull, E., Potts, R.O. (1989). Transdermal drug transport and metabolism. Comparison of *in vitro* and *in vivo* results, *Pharm. Res.*, 6, 33-39.
- Handbook of pharmaceuticals excipientes 50a. Edicion Pharmaceutical Press. 2006 Washington DC, USA.
- Higaki K, Nakayama K, Suyama T, Amnuakitt C, Ogawara K, Kimura T. Enhancement of topical delivery of drugs via direct penetration by reducing blood flow rate in skin *Inter. J Pharm.* 2005; 288: 227-233.
- Higuchi T. Pro Drug, Molecular Structure and Percutaneous Delivery. In *Design of Biopharmaceutical Properties Through Pro Drugs and Analogues*. American Pharmaceutical Association. Washington DC, 1973, 409-421.
- Howes, D., Guy, R. H., Hadgraft, J., Heylings, J., Hoeck, U., Kemper, F., Maibach, H., Marty, J. P., Merk, H., Parra, J., Rekkas, D., Rondelli, I., Schaefer, H., Täuber, U., Verbiere, N. (1994). Methods for assessing percutaneous absorption. *Atla*, 24, 81-106.
- http://es.wikipedia.org/wiki/Parche_transd%C3%A9rmico
- <http://www.google.com.mx/imgres?imgurl=http://www.cedimcat.info/html>
- <http://www.inti.gov.ar/hilo/h8/www.inti.gov.ar/quimica/>
- José Juan Escobar-Chávez, Dalia Bonilla-Martínez, Angélica Villegas-González, Alma Luisa Revilla-Vazquez. The electroporation as an efficient physical enhancer for transdermal drug delivery. *J. Clin. Pharmacol.*, 49 (11): 1262-83, (2009).
- Karande P, Jain A, Mitagotri S. Discovery of transdermal penetration enhancers by high-throughput screening. *Nature Biotechnology* 2004; 22 (2):192- 197.
- Langer R. Transdermal drug delivery: past progress, current status, and future prospects. *Adv Drug Deliv Rev* 2005; 56 (5): 557-558.

- Lisney Valdelamar, Moisés Rodríguez, Valmore Bermúdez, Elliuz Leal, Fernando Bermúdez, Mayela Cabrera, Edgardo Mengual, Carlos Silva, Anilsa Amell, Abdón Toledo. Tratamiento farmacológico de la obesidad: presente, pasado y futuro. Universidad del Zulia. Facultad de Medicina centro de investigaciones endocrino-metabólicas "Dr. Félix Gómez" 2007.
- Manual Merck. (1996). Duodécima edición.
- Marcotegui Ros, F. Sistemas terapéuticos transdérmicos. Boletín de información farmacoterapéutica de Navarra. Vol 1 nº 3. 1993.
- Márquez Mejía, E. La Azona® como promotor de absorción transdérmica: Propiedades y mecanismos de acción. Tesis UNAM QFB. Cuautitlán Izcalli, 2001.
- Martin, Alfred. Physical Pharmacy. 3ra. Edición. Lea & Febiger, Philadelphia; EUA. 1983.
- Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. Journal of controlled release. 1998. Department of Pharmaceutics, School of Pharmacy, The Hebrew University of Jerusalem, Jerusalem 91120, Israel
- Métodos convencionales para la cuantificación de fármacos en piel (Tape stripping, microdialisis, blisters y biopsias de piel). Martín Ávila Avalos. Tesis de licenciatura (Q.F.B.) UNAM-FESC. 2010.
- Miller, J.C./ Miller, J.N. Estadística para química analítica. 2ª. Edición Addison Wesley Iberoamericana. EUA 1993
- Morikawa, K., Okada ,F., Hosokawa , M., Kobayashi, H.. (1987). Enhancement of therapeutic effects of recombinant interleukin 2 on a transplantable rat fibrosarcoma by the use of a sustained release vehicle pluronic gel, *Cancer Res.*, 47, 37-41.
- N.F. Villarino. Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. Calle 60 y 118 cc 296. B1900AVW. La Plata, Buenos Aires, Argentina. Analecta Veterinaria
- Nooman P, Wester RC. Cutaneous Metabolism of Xenobiotics. Ed Marcel Dekker New York, 1989. 53-75.
- P.M. Elias, Epidermal lipids, membranes and keratinization, *Int. J. Dermatol.* 20 (1981) 1-19
- Padilla, M., Clark, G.T., Merrill, R.L. (2000). Topical medications for orofacial neuropathic pain: a review, *J. Am. Dent. Assoc.*, 131-132.
- Passive skin penetration enhancement and its quantification in vitro. Katrin Moser, Katrin Kriwet, Aarti Naik, Yogeshvar N. Kalia, Richard H. Guy. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics.* 2001
- PLM. Diccionario de Especialidades Farmacéuticas. Edición 57. Thompson S.A de C.V
- Prausnitz. M.R., Mitragotri, S., Langer, R. Current status and future potential of transdermal drug delivery. *Nat Rev Drug Discov.* 2004; 3 (2):115-24.

- Pruebas de actividad antibacteriana de Quitosán. Hermenegildo García Alvarado, Tesis Licenciatura QFB, UNAM. Cuautitlán Izcalli, 1999.
- Pruniéras, M. (1981). Précis de cosmetologie dermatologique, Masson Paris.
- Ramachandran C, Fleisher D. Transdermal delivery of drugs for the treatment of bone diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2000; 42 (3): 197-223.
- Ranade, Vasant. V., Hollinger, Manfred. A., Drug delivery systems. 2a. Edición. CRC Press, EUA. 2003/Robinson, Joseph. R., L-Lee, Vincent. H., Controlled drug delivery Fundamentals and applications. 2a. Edición. Marcel-Dekker-Inc. New York, USA. 1987
- Remington, A. Remington: Farmacia 20a. Edición. Tomo 1. Editorial Médica Panamericana, buenos Aires. 2003
- Riviere J, Papich M. Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 50: 175-203.
- Riviere J, Papich M. Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 50: 175-203. /Ponec M. Skin constructs for replacement of skin tissues for in vitro testing. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002; 54: 19-30.
- Rosendo Valdés, I. Estudio del efecto de dos promotores de absorción (Azona y 4-Deciloxazolidin-2-ona) sobre la penetración de fármacos a través de mucosa oral no queratinizada. Tesis Licenciatura, QFB, UNAM . Cuautitlán Izcalli, 1999.
- Rougier, A., Dupuis, D., Lotte, C., Rouguet, R., Schaefer, H. (1983). *In vivo* correlation between stratum corneum reservoir function and percutaneous absorption, *J. Invest. Dermatol*, 81, 271-275.
- Rougier, A., Dupuis, D., Lotte, C., Rouguet, R., Wester, R. C., Maibach, H. I. (1986). Regular variation in percutaneous absorption in man: measurement by the stripping method , *Arch. Dermatol. Res.*, 278, 465-469.
- Singh, S; Singh, J. (1993). Transdermal drug delivery by passive diffusion and iontophoresis: a review. *Med. Res. Rev.*, 13, 569-621.
- Singh, S; Singh, J. (1993). Transdermal drug delivery by passive diffusion and iontophoresis: a review. *Med. Res. Rev.*, 13, 569-621.
- Sloan JB, Soltani K. Iontophoresis in Dermatology. *J Am Acad. Dermatol.* 1986; 15, 671-684
- Soler-Ranzani L. Desarrollo y evaluación biofarmacéutica de un sistema de administración transdérmica de alprazolam Tesis doctoral 2006. 9-11
- Streinstrasser, I., Merkle, H.P. (1995). Dermal metabolism of topically applied drugs: Pathways and models reconsidered, *Pharm. Acta Helv.*, 70, 3-24.
- Tortora, Gerard, J; Anagnostakos, Nicholas, P. Principios de Anatomía y Fisiología. 3era. Edición. Harla. México, 1984

- Touitou, E., Levi-Schaffer, F., Shaco-Ezra, N., Ben-Yossef, R., Fabin, B. (1991). Enhanced permeation of teophylline through the skin and its effect on fibroblast proliferation, *Int. J. Pharm*, 70, 159-166.
- Touitou, E., Levi-Schaffer, F., Shaco-Ezra, N., Ben-Yossef, R., Fabin, B. (1991). Enhanced permeation of teophylline through the skin and its effect on fibroblast proliferation, *Int. J. Pharm*, 70, 159-166.
- Van Hal DA, Jeremiassse E, Junginger HE, Spies J, Bouwstra JA. Structure of fully hydrated human stratum corneum: a freeze-fracture electron microscopy study. *J Invest Dermatol*. 1996; 106: 89-95.
- Warner RR, Boissy YL, Lilly NA, McKillop K, Marshall JA, Stone KJ. Water disrupts stratum corneum lipid lamellae: damage is similar to surfactants. *J Invest Dermatol*. 1999; 960-966.
- Watkinson, A.C., Hadgraft, J., Bye, A. (1991). Aspects of the transdermal delivery of prostaglandins. *Int. J. Pharm.*, 74, 229-236.
- Wester, R. C., Noonan, P. K. (1978). Topical bioavailability of a potential antiacne agent (SC-23110) as determined by cumulative excretion an areas under plasma concentration-time curves, *J. Invest. Dermatol.*, 70, 92-94.
- Wester, R. C., Noonan, P. K., Smeach, S., kosobud, L. (1983). Pharmacokinetics and bioavailability of intravenous and topical nitroglycerin in the Rhesus monkey: Estimate of first-pass metabolism. *J. Pharm. Sci.*, 72, 745-748.
- Williams AC, and Barry BW. Penetration enhancers. *Adv Drug Del Rev*. 56: 603-618
- Woolfson, D., McCaffety, D. (1993). Percutaneous local anaesthesia. Ellis Horwood.

IX. ANEXOS

10.1 LINEALIDAD DEL SISTEMA

Tabla 24. Muestra la linealidad del sistema de calibración

Nivel (%)	Sistema	Concentración (mmol/ml)	t _m (min)	Área
60	1	3.02E-05	1.438	4297
	1	3.02E-05	1.429	4302
	1	3.02E-05	1.433	4283
80	2	4.03E-05	1.433	5713
	2	4.03E-05	1.438	5706
	2	4.03E-05	1.429	5716
100	3	5.04E-05	1.413	7150
	3	5.04E-05	1.433	7098
	3	5.04E-05	1.438	7172
120	4	6.05E-05	1.442	8400
	4	6.05E-05	1.438	8575
	4	6.05E-05	1.438	8486
140	5	7.06E-05	1.433	10169
	5	7.06E-05	1.433	10014
	5	7.06E-05	1.438	10053
PROMEDIO			1.434	
S			0.007	
CV			0.477	

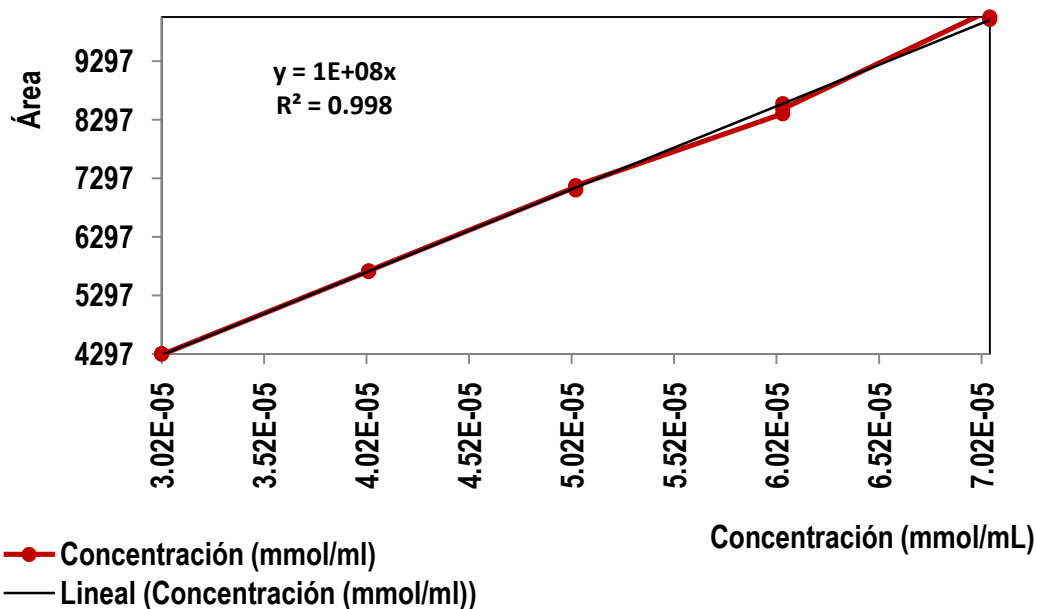


Gráfico 11. Que representa el modelo ajustado de regresión simple para la curva de calibración de Clorhidrato de Sibutramina.

10.1.1 ELECTROFEROGRAMA SIBUTRAMINA VS AGUA

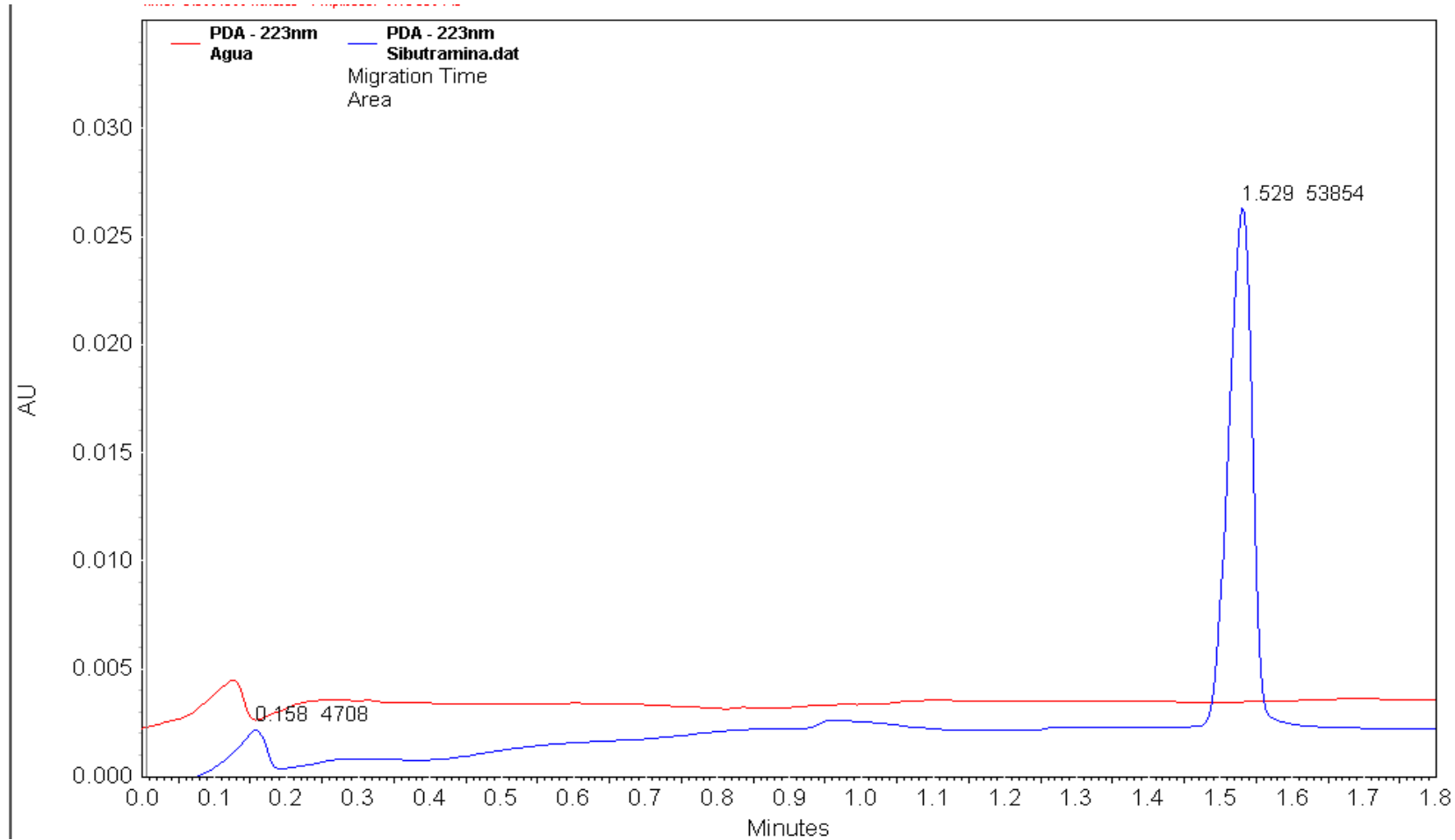


Fig. 22 Electroferograma del Clorhidrato de Sibutramina (azul) vs agua (rojo)

10.2 ESTUDIOS *IN VITRO*. PERMEACIÓN EN CELDAS TIPO FRANZ

Tabla 25. Áreas de las muestras de cada celda del parche control a los diferentes tiempos de muestreo

Á R E A S							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VIVO</i> SIN APP						
	ÁREA	No. CELDA					
		1	2	3	4	5	6
2		926	1111	765	774	1211	476
4		195	211	149	699	1218	838
6		1207	1373	849	1076	1060	306
8		266	1006	385	851	1959	1288
24		130	824	511	2039	2589	1511
26		1526	1239	1070	1102	3008	2392
28		870	2132	1127	653	833	1399
30		969	569	965	585	1268	1003
32		648	473	680	622	1167	567

Tabla 26. Concentraciones molares de las muestras de cada celda del parche control a los diferentes tiempos de muestreo

C O N C E N T R A C I O N E S M O L A R E S							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VIVO</i> SIN APP						
	CONCENTRACIÓN (M)	No. CELDA					
		1	2	3	4	5	6
2		1.68E-05	1.88E-05	1.50E-05	1.51E-05	1.99E-05	1.18E-05
4		8.63E-06	8.81E-06	8.12E-06	1.42E-05	2.00E-05	1.58E-05
6		1.99E-05	2.17E-05	1.59E-05	1.84E-05	1.82E-05	9.87E-06
8		9.42E-06	1.76E-05	1.07E-05	1.59E-05	2.82E-05	2.08E-05
24		7.91E-06	1.56E-05	1.21E-05	2.91E-05	3.52E-05	2.33E-05
26		2.34E-05	2.02E-05	1.84E-05	1.87E-05	3.99E-05	3.30E-05
28		1.61E-05	3.02E-05	1.90E-05	1.37E-05	1.57E-05	2.20E-05
30		1.72E-05	1.28E-05	1.72E-05	1.30E-05	2.06E-05	1.76E-05
32		1.37E-05	1.17E-05	1.40E-05	1.34E-05	1.94E-05	1.28E-05

Tabla 27. Concentraciones molares corregidas por dilución de las muestras de cada celda del parche control a los diferentes tiempos de muestreo

CONCENTRACIONES MOLARES (Corregidas por dilución)							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN IN VIVO SIN APP						
	CONCENTRACIÓN (M)	No. CELDA					
1		2	3	4	5	6	
2		1.68E-05	1.88E-05	1.50E-05	1.51E-05	1.99E-05	1.18E-05
4		1.08E-05	1.10E-05	1.02E-05	1.78E-05	2.50E-05	1.97E-05
6		3.11E-05	3.39E-05	2.48E-05	2.88E-05	2.85E-05	1.54E-05
8		1.84E-05	3.45E-05	2.10E-05	3.11E-05	5.51E-05	4.06E-05
24		1.93E-05	3.81E-05	2.97E-05	7.11E-05	8.60E-05	5.68E-05
26		7.15E-05	6.18E-05	5.60E-05	5.71E-05	1.22E-04	1.01E-04
28		6.15E-05	1.15E-04	7.24E-05	5.24E-05	6.00E-05	8.40E-05
30		4.21E-05	3.12E-05	4.20E-05	3.17E-05	5.02E-05	4.30E-05
32		6.52E-05	5.59E-05	6.69E-05	6.38E-05	9.27E-05	6.09E-05

Tabla 28. Áreas de las muestras de cada celda del parche con promotor a los diferentes tiempos de muestreo

ÁREAS							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VITRO</i> CON APP						
	ÁREA	No. CELDA					
		1	2	3	4	5	6
2		227	702	635	1185	565	693
4		965	469	1061	461	579	394
6		65	279	2985	1317	1156	488
8		2066	873	2367	2380	1382	1339
24		3824	4197	3232	3363	1119	3275
26		3343	4200	5394	560	1751	2065
28		1104	1409	3445	1539	1759	2414
30		4549	3871	6217	630	1260	1684
32		5383	695	1911	1239	3309	2945

Tabla 29. Concentraciones molares de las muestras de cada celda del parche con promotor a los diferentes tiempos de muestreo

CONCENTRACIONES MOLARES							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN <i>IN VITRO</i> CON APP						
	CONCENTRACIÓN (M)	No. CELDA					
		1	2	3	4	5	6
2		8.99E-06	1.43E-05	1.35E-05	1.96E-05	1.27E-05	1.42E-05
4		1.72E-05	1.17E-05	1.83E-05	1.16E-05	1.29E-05	1.08E-05
6		7.19E-06	9.57E-06	3.96E-05	2.11E-05	1.93E-05	1.19E-05
8		2.94E-05	1.62E-05	3.28E-05	3.29E-05	2.18E-05	2.13E-05
24		4.90E-05	5.31E-05	4.24E-05	4.38E-05	1.89E-05	4.29E-05
26		4.36E-05	5.31E-05	6.64E-05	1.27E-05	2.59E-05	2.94E-05
28		1.87E-05	2.21E-05	4.47E-05	2.36E-05	2.60E-05	3.33E-05
30		5.70E-05	4.95E-05	7.55E-05	1.35E-05	2.05E-05	2.52E-05
32		6.63E-05	1.42E-05	2.77E-05	2.02E-05	4.32E-05	3.92E-05

Tabla 30. Concentraciones molares corregidas por dilución de las muestras de cada celda del parche control a los diferentes tiempos de muestreo

CONCENTRACIONES MOLARES (Corregidas por dilución)							
t de Muestreo (Hrs)	ESTUDIOS DE DIFUSIÓN IN VITRO CON APP						
	CONCENTRACIÓN (M)	No. CELDA					
1		2	3	4	5	6	
2		8.99E-06	1.43E-05	1.35E-05	1.96E-05	1.27E-05	1.42E-05
4		2.15E-05	1.46E-05	2.28E-05	1.45E-05	1.61E-05	1.36E-05
6		1.12E-05	1.49E-05	6.19E-05	3.30E-05	3.02E-05	1.86E-05
8		5.75E-05	3.16E-05	6.40E-05	6.43E-05	4.26E-05	4.17E-05
24		1.20E-04	1.30E-04	1.03E-04	1.07E-04	4.61E-05	1.05E-04
26		1.33E-04	1.62E-04	2.03E-04	3.87E-05	7.91E-05	8.98E-05
28		7.15E-05	8.44E-05	1.71E-04	8.99E-05	9.92E-05	1.27E-04
30		2.72E-04	2.36E-04	3.60E-04	6.42E-05	5.00E-05	6.15E-05
32	3.95E-04	8.46E-05	1.65E-04	1.21E-04	2.06E-04	1.87E-04	

10.2.1 Parámetros de permeación, del Parche Control

Tabla 31. Parámetros de permeación de la celda 1. Parche Control

Celda 1:Parche control				
Tiempo	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	4.69E-03	4.69E-03	2.34E-02	9.21E-03
4	3.02E-03	7.71E-03	3.85E-02	1.51E-02
6	8.69E-03	1.64E-02	8.20E-02	3.22E-02
8	5.15E-03	2.16E-02	1.08E-01	4.23E-02
24	5.41E-03	2.70E-02	1.35E-01	5.30E-02
26	2.00E-02	4.70E-02	2.35E-01	9.23E-02
28	1.72E-02	6.42E-02	3.21E-01	1.26E-01
30	1.18E-02	7.60E-02	3.80E-01	1.49E-01
32	1.82E-02	9.42E-02	4.71E-01	1.85E-01
Flujo (mg/cm²h)		0.0160612685		
Tiempo de latencia (hrs)		20.46		
Constante de permeabilidad		0.002294467		
Kp*1000		2.294466929		

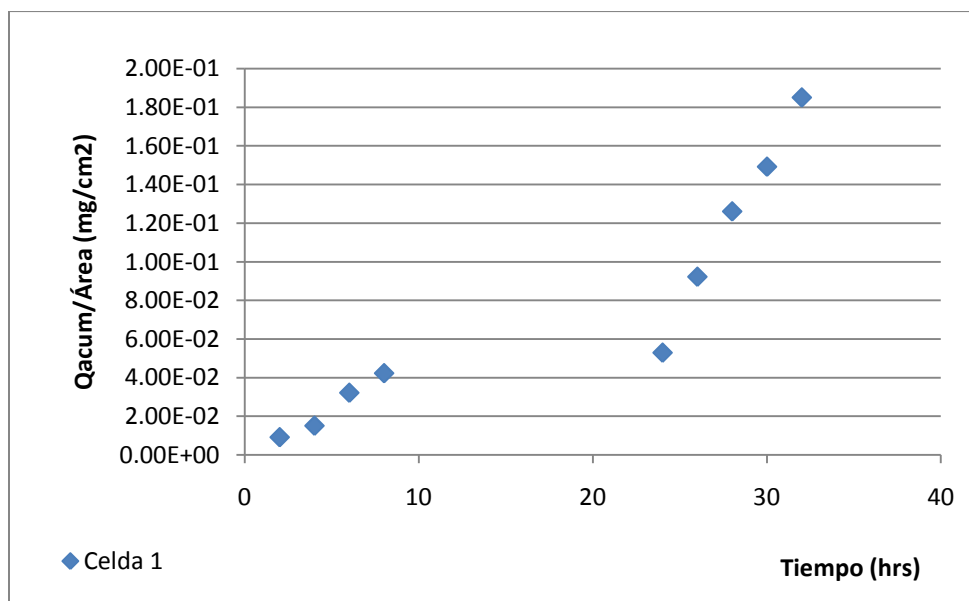


Gráfico 12. Que representa el perfil de permeación de la celda No. 1 con la Formulación Control

Tabla 32. Parámetros de permeación de la celda 2. Parche Control

Celda 2:Parche Control				
Tiempo	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	5.26E-03	5.26E-03	2.63E-02	1.03E-02
4	3.08E-03	8.35E-03	4.17E-02	1.64E-02
6	9.50E-03	1.78E-02	8.92E-02	3.51E-02
8	9.64E-03	2.75E-02	1.37E-01	5.40E-02
24	1.07E-02	3.82E-02	1.91E-01	7.50E-02
26	1.73E-02	5.54E-02	2.77E-01	1.09E-01
28	3.22E-02	8.76E-02	4.38E-01	1.72E-01
30	8.74E-03	9.64E-02	4.82E-01	1.89E-01
32	1.56E-02	1.12E-01	5.60E-01	2.20E-01
Flujo (mg/cm²h)			0.0185332777	
Tiempo de latencia (hrs)			19.74	
Constante de permeabilidad			0.002647611	
Kp*1000			2.647611105	

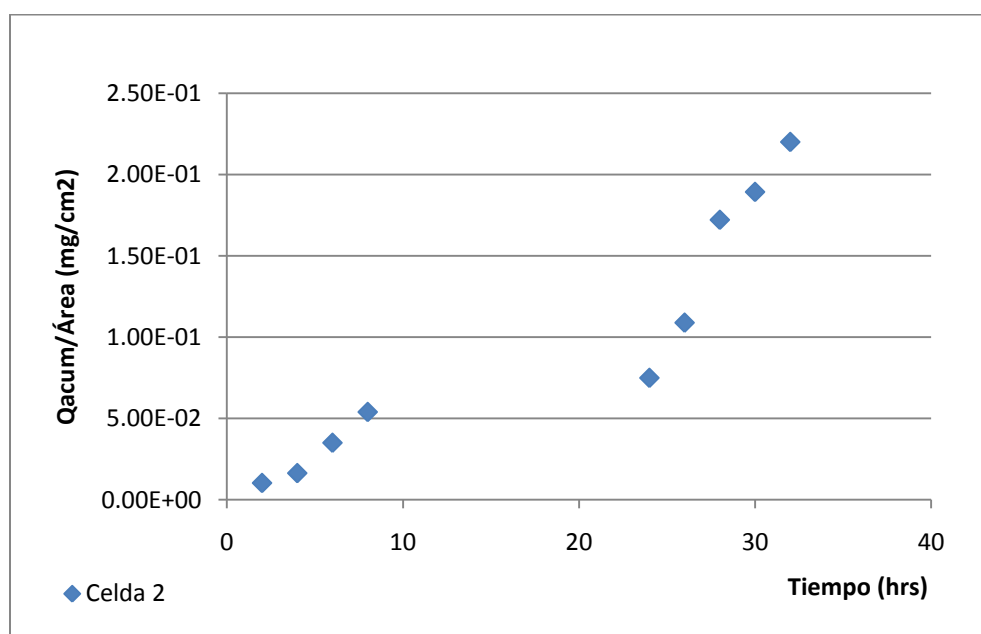


Gráfico 13. Que representa el perfil de permeación de la celda No. 2 con la Formulación Control

10.2.2 Parámetros de permeación, del Parche con APP

Tabla 33. Parámetros de permeación de la celda 1. Parche con Promotor

Celda 1:Promotor				
Tiempo	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	2.52E-03	2.52E-03	1.26E-02	4.94E-03
4	6.01E-03	8.53E-03	4.26E-02	1.68E-02
6	3.14E-03	1.17E-02	5.84E-02	2.29E-02
8	1.61E-02	2.78E-02	1.39E-01	5.45E-02
24	3.34E-02	6.12E-02	3.06E-01	1.20E-01
26	3.72E-02	9.85E-02	4.92E-01	1.93E-01
28	2.00E-02	1.18E-01	5.92E-01	2.33E-01
30	7.61E-02	1.95E-01	9.73E-01	3.82E-01
32	1.11E-01	3.05E-01	1.53E+00	5.99E-01
Flujo (mg/cm²h)		0.0573586113		
Tiempo de latencia (hrs)		22.67		
Constante de permeabilidad		0.008194087		
Kp*1000		8.194087331		

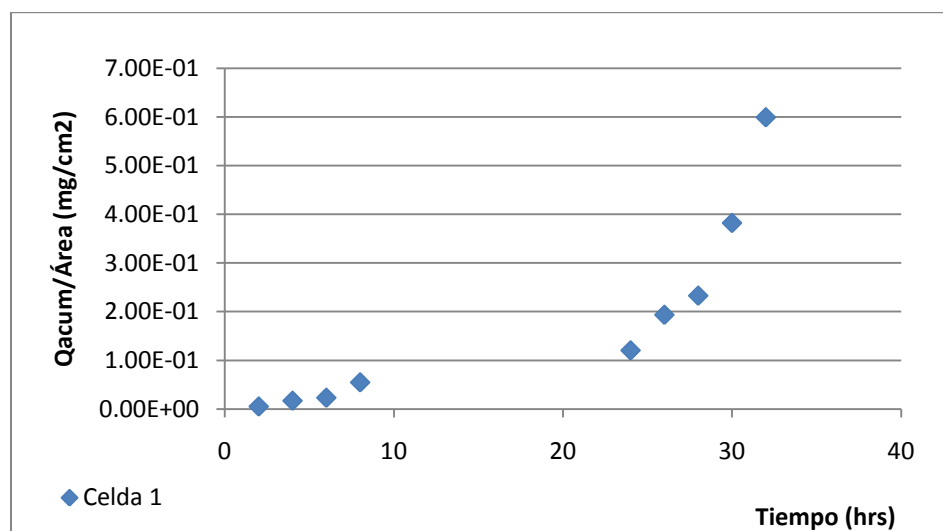


Gráfico 14. Que representa el perfil de permeación de la celda No. 1 con la Formulación con Promotor

Tabla 34. Parámetros de permeación de la celda 2. Parche con Promotor

Celda 2:Promotor				
Tiempo	C (mg/mL)	C _{acum} (mg/mL)	Q _{acum} (mg)	Q _{acum} /Área (mg/cm ²)
2	3.99E-03	3.99E-03	2.00E-02	7.85E-03
4	4.09E-03	8.08E-03	4.04E-02	1.59E-02
6	4.18E-03	1.23E-02	6.13E-02	2.41E-02
8	8.84E-03	2.11E-02	1.05E-01	4.15E-02
24	3.63E-02	5.74E-02	2.87E-01	1.13E-01
26	4.54E-02	1.03E-01	5.14E-01	2.02E-01
28	2.36E-02	1.26E-01	6.32E-01	2.48E-01
30	6.60E-02	1.92E-01	9.62E-01	3.78E-01
32	2.37E-02	2.16E-01	1.08E+00	4.25E-01
Flujo (mg/cm²h)		0.0399878899		
Tiempo de latencia (hrs)		21.17		
Constante de permeabilidad		0.005712556		
Kp*1000		5.712555705		

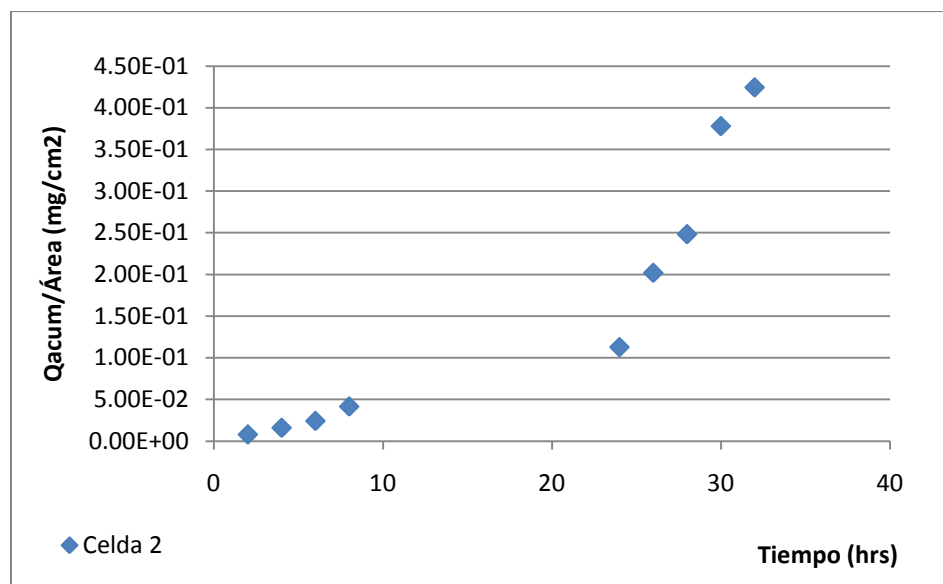


Gráfico 15. Que representa el perfil de permeación de la celda No. 2 con la Formulación con Promotor

10.3 ESTUDIOS *IN VIVO*. TECNICA DE TAPE STRIPPING

10.3.1 Cálculo de la distancia de penetración del Parche Control. Solo se muestran los resultados al tiempo de muestreo de 1 h.

Tabla 35. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 1, con el Parche Control, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche control/Voluntario 1/t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	$W_{\text{cinta removida}}$ (gr)	$W_{\text{cinta inicial}}$ (gr)	$W_{\text{EC removido}}$ (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen $_{\text{EC removido}}$ (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
C1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
C1,1	0.155	0.153	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000194
C1,2	0.158	0.156	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000388
C1,3	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
C1,4	0.159	0.158	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
C1,5	0.154	0.152	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000775
C1,6	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000872
C1,7	0.165	0.164	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000969
C1,8	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001066
C1,9	0.158	0.156	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.001259
C1,10	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
C1,11	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
C1,12	0.164	0.163	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
C1,13	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647
C1,14	0.162	0.161	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001744
C1,15	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001841

Tabla 36. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 2, con el Parche Control, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche control/Voluntario 2/t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	$W_{\text{cinta removida}}$ (gr)	$W_{\text{cinta inicial}}$ (gr)	$W_{\text{EC removido}}$ (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen $_{\text{EC removido}}$ (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
C1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
C1,1	0.168	0.165	0.003	1.55	0.00465	16	0.000291	0.000291
C1,2	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000388
C1,3	0.141	0.140	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
C1,4	0.152	0.151	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
C1,5	0.149	0.148	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000678
C1,6	0.163	0.162	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000775
C1,7	0.147	0.146	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000872
C1,8	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000969
C1,9	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001066
C1,10	0.152	0.151	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001163
C1,11	0.170	0.169	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001259
C1,12	0.161	0.160	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
C1,13	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
C1,14	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
C1,15	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647

Tabla 37. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 3, con el Parche Control, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche control/Voluntario 3 /t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	W cinta removida (gr)	W cinta inicial (gr)	W _{EC} removido (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen _{EC} removido (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
C1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
C1,1	0.158	0.154	0.004	1.55	0.00620	16	0.000388	0.000388
C1,2	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
C1,3	0.165	0.164	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
C1,4	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000678
C1,5	0.158	0.152	0.006	1.55	0.00930	16	0.000581	0.001259
C1,6	0.159	0.158	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
C1,7	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
C1,8	0.162	0.161	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
C1,9	0.157	0.156	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647
C1,10	0.158	0.155	0.003	1.55	0.00465	16	0.000291	0.001938
C1,11	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002034
C1,12	0.156	0.152	0.004	1.55	0.00620	16	0.000388	0.002422
C1,13	0.150	0.148	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.002616
C1,14	0.150	0.149	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002713
C1,15	0.161	0.160	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002809

Tabla 38. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 4, con el Parche Control, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche control/Voluntario 4 /t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	$W_{\text{cinta removida}}$ (gr)	$W_{\text{cinta inicial}}$ (gr)	$W_{\text{EC removido}}$ (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen _{EC} removido (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
C1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
C1,1	0.203	0.202	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000097
C1,2	0.171	0.170	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000194
C1,3	0.170	0.169	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000291
C1,4	0.175	0.174	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000388
C1,5	0.168	0.167	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
C1,6	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
C1,7	0.189	0.188	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000678
C1,8	0.172	0.170	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000872
C1,9	0.171	0.170	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000969
C1,10	0.157	0.156	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001066
C1,11	0.175	0.174	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001163
C1,12	0.167	0.161	0.006	1.55	0.00930	16	0.000581	0.001744
C1,13	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001841
C1,14	0.181	0.180	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001938
C1,15	0.169	0.168	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002034

10.3.2 Cálculo de la distancia de penetración del Parche con APP. Solo se muestran los resultados al tiempo de muestreo de 1 h.

Tabla 39. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 1, con el Parche con Promotor, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche con Promotor/Voluntario 1/t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	W cinta removida (gr)	W cinta inicial (gr)	W _{EC} removido (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen _{EC} removido (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
P1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
P1,1	0.155	0.153	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000194
P1,2	0.158	0.156	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000388
P1,3	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
P1,4	0.159	0.158	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
P1,5	0.154	0.152	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000775
P1,6	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000872
P1,7	0.165	0.164	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000969
P1,8	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001066
P1,9	0.158	0.156	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.001259
P1,10	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
P1,11	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
P1,12	0.164	0.163	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
P1,13	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647
P1,14	0.162	0.161	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001744
P1,15	0.160	0.159	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001841

Tabla 40. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 2, con el Parche con Promotor, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche con Promotor/Voluntario 2 /t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	$W_{\text{cinta removida}}$ (gr)	$W_{\text{cinta inicial}}$ (gr)	$W_{\text{EC removido}}$ (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen $_{\text{EC removido}}$ (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
P1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
P1,1	0.168	0.165	0.003	1.55	0.00465	16	0.000291	0.000291
P1,2	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000388
P1,3	0.141	0.140	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
P1,4	0.152	0.151	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
P1,5	0.149	0.148	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000678
P1,6	0.163	0.162	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000775
P1,7	0.147	0.146	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000872
P1,8	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000969
P1,9	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001066
P1,10	0.152	0.151	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001163
P1,11	0.170	0.169	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001259
P1,12	0.161	0.160	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
P1,13	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
P1,14	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
P1,15	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647

Tabla 41. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 3, con el Parche con Promotor, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche con Promotor/Voluntario 3/t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	W_{cinta removida} (gr)	W_{cinta inicial} (gr)	W_{EC removido} (gr)	δ_{EC} (cm³/gr)	Volumen_{EC removido} (cm³)	Área de administración (cm²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
P1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
P1,1	0.158	0.154	0.004	1.55	0.00620	16	0.000388	0.000388
P1,2	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000484
P1,3	0.165	0.164	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000581
P1,4	0.153	0.152	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000678
P1,5	0.158	0.152	0.006	1.55	0.00930	16	0.000581	0.001259
P1,6	0.159	0.158	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
P1,7	0.155	0.154	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001453
P1,8	0.162	0.161	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001550
P1,9	0.157	0.156	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001647
P1,10	0.158	0.155	0.003	1.55	0.00465	16	0.000291	0.001938
P1,11	0.151	0.150	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002034
P1,12	0.156	0.152	0.004	1.55	0.00620	16	0.000388	0.002422
P1,13	0.150	0.148	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.002616
P1,14	0.150	0.149	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002713
P1,15	0.161	0.160	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002809

Tabla 42. Cálculo de la distancia de penetración del Voluntario 4, con el Parche con Promotor, al tiempo de muestreo 1Hr

Parche con Promotor/Voluntario 4/t de muestreo 1Hr								
No. de Tape	$W_{\text{cinta removida}}$ (gr)	$W_{\text{cinta inicial}}$ (gr)	$W_{\text{EC removido}}$ (gr)	δ_{EC} (cm ³ /gr)	Volumen _{EC removido} (cm ³)	Área de administración (cm ²)	Distancia de penetración (cm)	Distancia acumulada de penetración (cm)
P1	Peso Final (g)	Peso Inicial (g)						
P1,1	0.198	0.196	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000194
P1,2	0.187	0.186	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.000291
P1,3	0.178	0.173	0.005	1.55	0.00775	16	0.000484	0.000775
P1,4	0.196	0.194	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.000969
P1,5	0.175	0.173	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.001163
P1,6	0.158	0.157	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001259
P1,7	0.166	0.165	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001356
P1,8	0.162	0.160	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.001550
P1,9	0.173	0.170	0.003	1.55	0.00465	16	0.000291	0.001841
P1,10	0.166	0.165	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.001938
P1,11	0.165	0.164	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002034
P1,12	0.163	0.161	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.002228
P1,13	0.164	0.162	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.002422
P1,14	0.168	0.167	0.001	1.55	0.00155	16	0.000097	0.002519
P1,15	0.176	0.174	0.002	1.55	0.00310	16	0.000194	0.002713

10.3.3 Perfiles de Permeación, Parche Control

Tabla 43. Perfil de Permeación del voluntario 1 al tiempo de muestreo 1, con el Parche control

No. de Tape	Voluntario No. 1: Parche control: 1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000194	2.78E+01	0.000388	3.81E+01
2	0.000388	3.81E+01	0.000484	3.81E+01
3	0.000484	3.81E+01	0.001066	3.64E+01
4	0.000581	2.76E+01	0.001259	3.29E+01
5	0.000775	2.85E+01	0.001356	3.35E+01
6	0.000872	4.03E+01	0.001453	3.20E+01
7	0.000969	3.03E+01	0.001647	3.19E+01
8	0.001066	3.64E+01	0.001744	3.60E+01
9	0.001259	3.29E+01	0.001841	3.78E+01
10	0.001356	3.35E+01		
11	0.001453	3.20E+01		
12	0.001550	2.97E+01		
13	0.001647	3.19E+01		
14	0.001744	3.60E+01		
15	0.001841	3.78E+01		

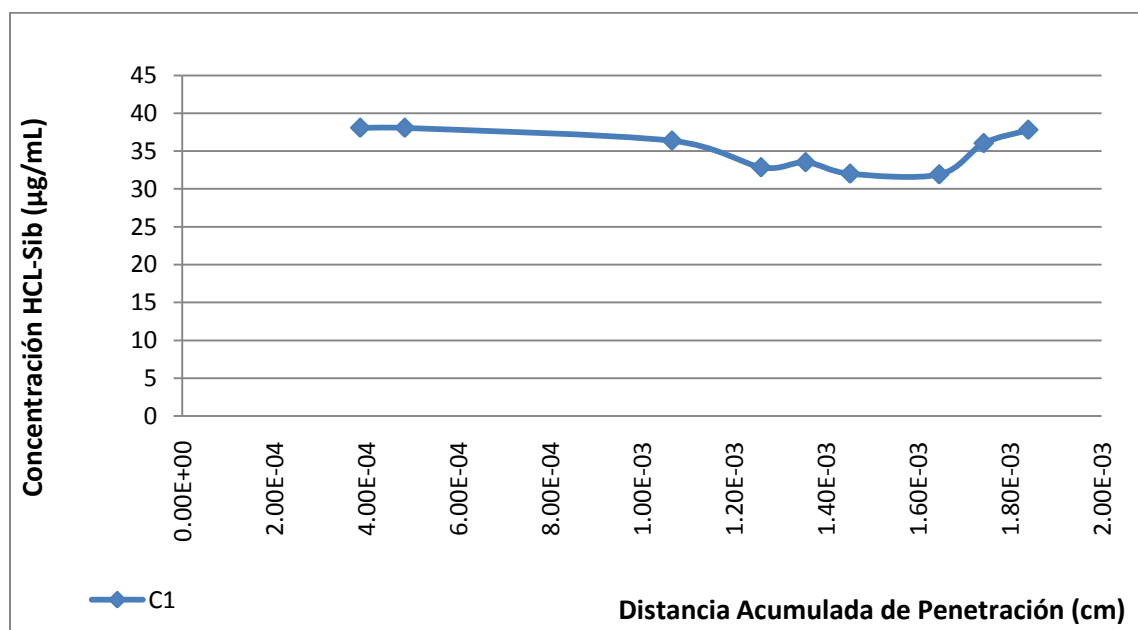


Gráfico 16. Que representa el perfil de permeación del voluntario 1 al tiempo 1hr con la Formulación Control

Tabla 44. Perfil de Permeación del voluntario 2 al tiempo de muestreo 1, con el Parche control

No. de Tape	Voluntario No. 2:Parche control:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000291	3.77E+01	0.000291	3.77E+01
2	0.000388	2.03E+01	0.000388	2.03E+01
3	0.000484	9.74E+00	0.000581	1.24E+01
4	0.000581	1.24E+01	0.000678	1.14E+01
5	0.000678	1.14E+01	0.000872	8.47E+00
6	0.000775	3.83E+00	0.000969	5.75E+00
7	0.000872	8.47E+00	0.001066	5.09E+00
8	0.000969	5.75E+00	0.001163	3.51E+00
9	0.001066	5.09E+00	0.001259	1.80E+00
10	0.001163	3.51E+00	0.001356	3.21E+00
11	0.001259	1.80E+00	0.001453	1.57E+00
12	0.001356	3.21E+00	0.001550	1.96E+00
13	0.001453	1.57E+00	0.001647	2.68E+00
14	0.001550	1.96E+00		
15	0.001647	2.68E+00		

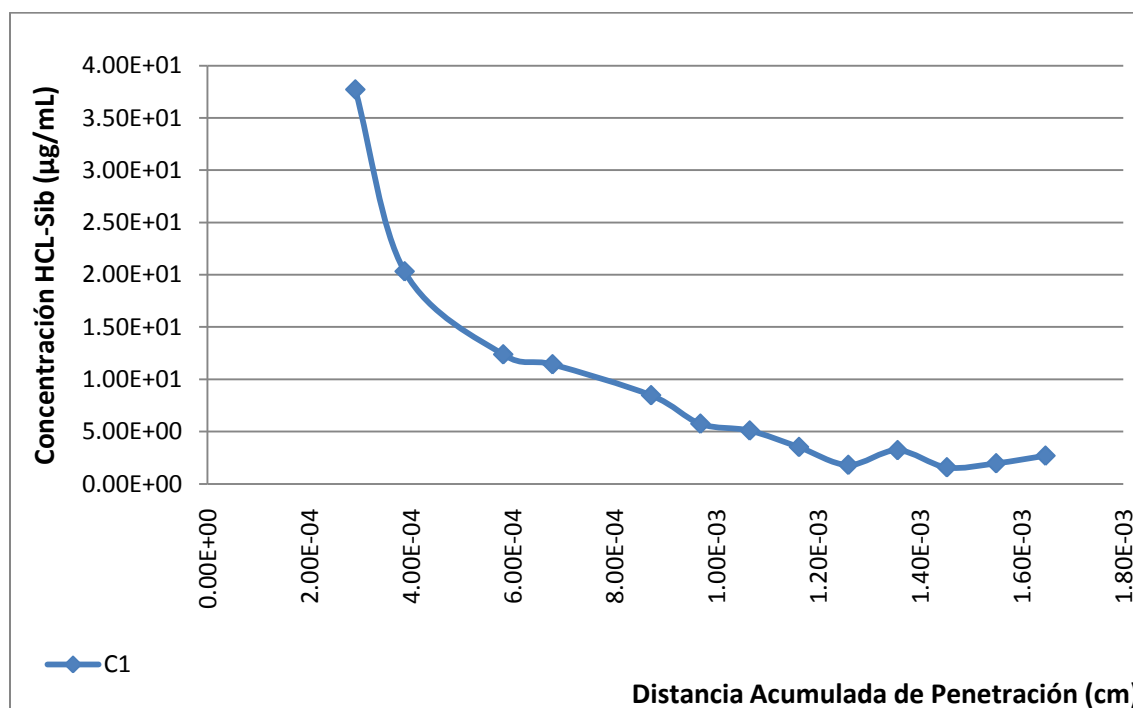


Gráfico 17. Que representa el perfil de permeación del voluntario 2 al tiempo de muestreo 1hr con la Formulación Control

Tabla 45. Perfil de Permeación del voluntario 3 al tiempo de muestreo 1, con el Parche control

No. de Tape	Voluntario No. 3:Parche control:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000388	1.35E+01	0.000388	1.35E+01
2	0.000484	2.28E+01	0.000581	1.13E+01
3	0.000581	1.13E+01	0.001259	8.79E+00
4	0.000678	1.40E+01	0.001356	6.89E+00
5	0.001259	8.79E+00	0.001647	8.19E+00
6	0.001356	6.89E+00	0.001938	6.21E+00
7	0.001453	4.24E+00	0.002422	4.30E+00
8	0.001550	5.80E+00	0.002616	3.97E+00
9	0.001647	8.19E+00	0.002713	5.87E+00
10	0.001938	6.21E+00	0.002809	5.90E+00
11	0.002034	1.01E+01		
12	0.002422	4.30E+00		
13	0.002616	3.97E+00		
14	0.002713	5.87E+00		
15	0.002809	5.90E+00		

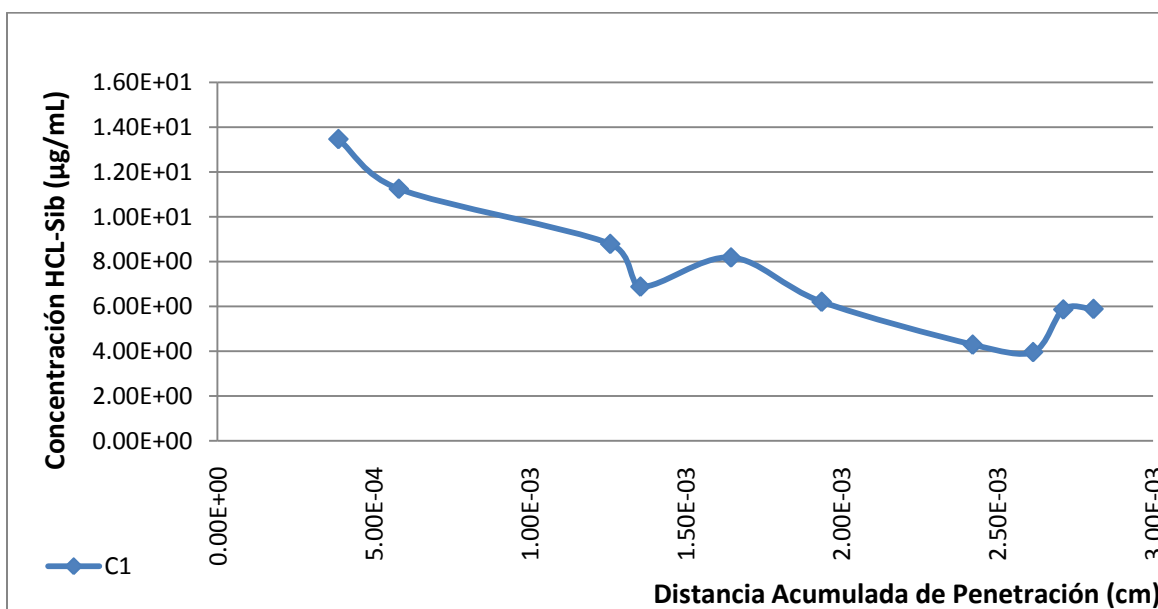


Gráfico 18. Que representa el perfil de permeación del voluntario 3 al tiempo de muestreo 1hr con la Formulación Control

Tabla 46. Perfil de Permeación del voluntario 4 al tiempo de muestreo 1, con el Parche control

No. de Tape	Voluntario No. 4:Parche control:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	2.50E+01	0.000097	2.50E+01
2	0.000194	3.13E-02	0.000291	7.01E+00
3	0.000291	7.01E+00	0.000484	2.13E+00
4	0.000388	7.42E+00	0.000581	2.79E+00
5	0.000484	2.13E+00	0.000678	1.65E+00
6	0.000581	2.79E+00	0.000872	2.22E+00
7	0.000678	1.65E+00	0.000969	3.13E-02
8	0.000872	2.22E+00	0.001066	1.55E+00
9	0.000969	3.13E-02	0.001163	1.30E+00
10	0.001066	1.55E+00	0.001744	1.06E+00
11	0.001163	1.30E+00	0.001841	6.78E-01
12	0.001744	1.06E+00	0.001938	3.13E-02
13	0.001841	6.78E-01	0.002034	1.44E+00
14	0.001938	3.13E-02		
15	0.002034	1.44E+00		

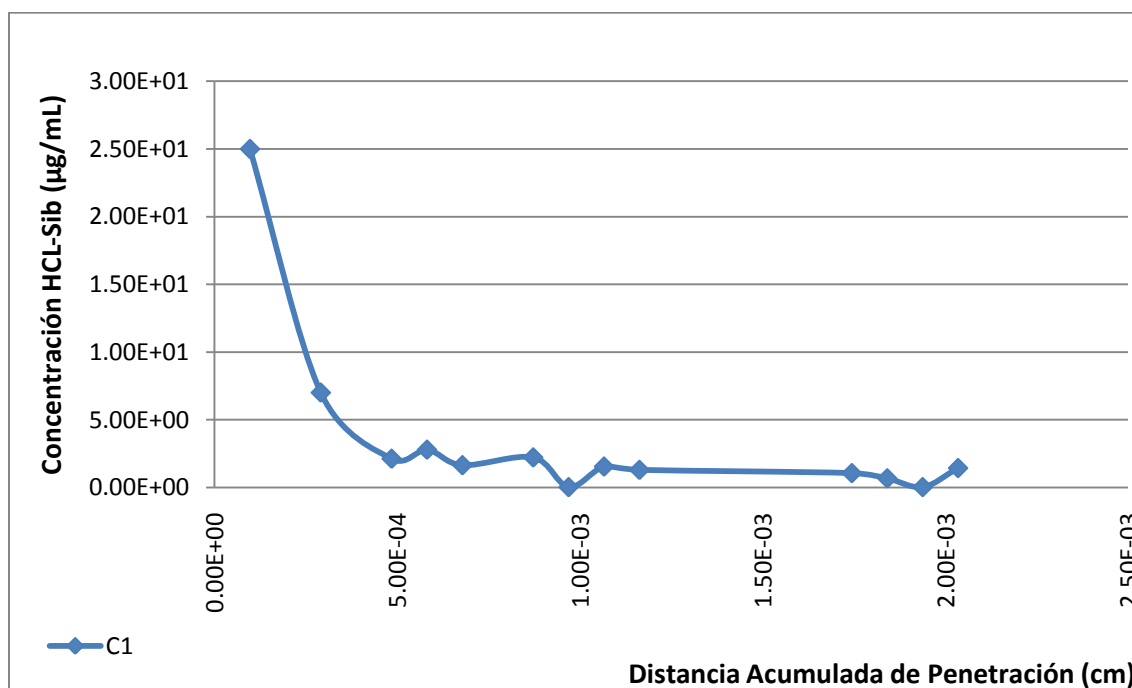


Gráfico 19. Que representa el perfil de permeación del voluntario 4 al tiempo 1hr con la Formulación Control

10.3.4 Perfiles de Permeación, Parche con APP

Tabla 47. Perfil de Permeación del voluntario 1 al tiempo de muestreo 1, con el Parche con Promotor

No. de Tape	Voluntario No. 1:Parche con Promotor:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000194	8.25E+01	0.000194	8.25E+01
2	0.000388	5.40E+01	0.000388	5.40E+01
3	0.000484	4.50E+01	0.000484	4.50E+01
4	0.000581	9.80E+00	0.000581	9.80E+00
5	0.000775	8.82E+00	0.000775	8.82E+00
6	0.000872	3.03E+00	0.000872	3.03E+00
7	0.000969	5.38E+00	0.000969	5.38E+00
8	0.001066	3.55E+00	0.001066	3.55E+00
9	0.001259	1.11E+01	0.001356	5.46E+00
10	0.001356	5.46E+00	0.001453	2.79E+00
11	0.001453	2.79E+00	0.001550	3.48E+00
12	0.001550	3.48E+00	0.001647	4.45E+00
13	0.001647	4.45E+00	0.001744	1.80E+00
14	0.001744	1.80E+00	0.001841	1.84E+00
15	0.001841	1.84E+00		

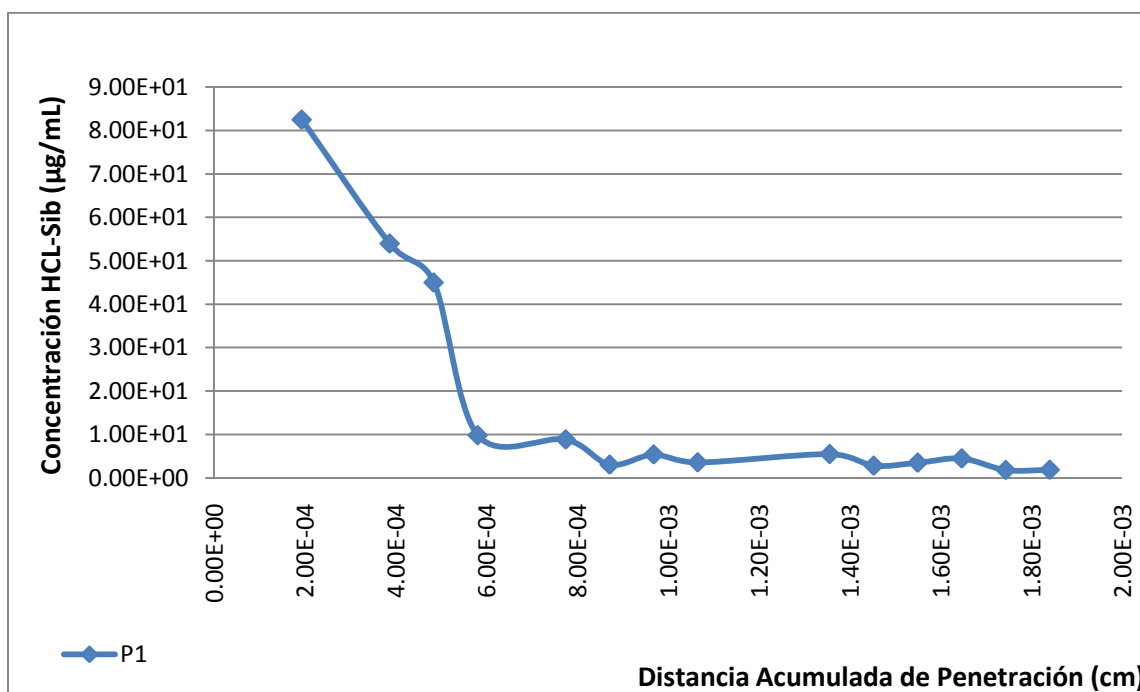


Gráfico 20. Que representa el perfil de permeación del voluntario 1 al tiempo de muestreo 1hr con la Formulación con Promotor

Tabla 48. Perfil de Permeación del voluntario 2 al tiempo de muestreo 1, con el Parche con Promotor

No. de Tape	Voluntario No. 2:Parche con Promotor:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000291	9.53E+00	0.000291	9.53E+00
2	0.000388	5.85E+00	0.000388	5.85E+00
3	0.000484	1.70E+00	0.000484	1.70E+00
4	0.000581	3.26E+00	0.000775	1.81E+00
5	0.000678	4.86E-01	0.000872	1.25E+00
6	0.000775	1.81E+00	0.000969	1.56E+00
7	0.000872	1.25E+00	0.001066	1.39E+00
8	0.000969	1.56E+00	0.001163	1.43E+00
9	0.001066	1.39E+00	0.001259	1.52E+00
10	0.001163	1.43E+00	0.001356	1.45E+00
11	0.001259	1.52E+00	0.001453	5.71E-01
12	0.001356	1.45E+00	0.001647	6.36E-01
13	0.001453	5.71E-01		
14	0.001550	1.39E+00		
15	0.001647	6.36E-01		

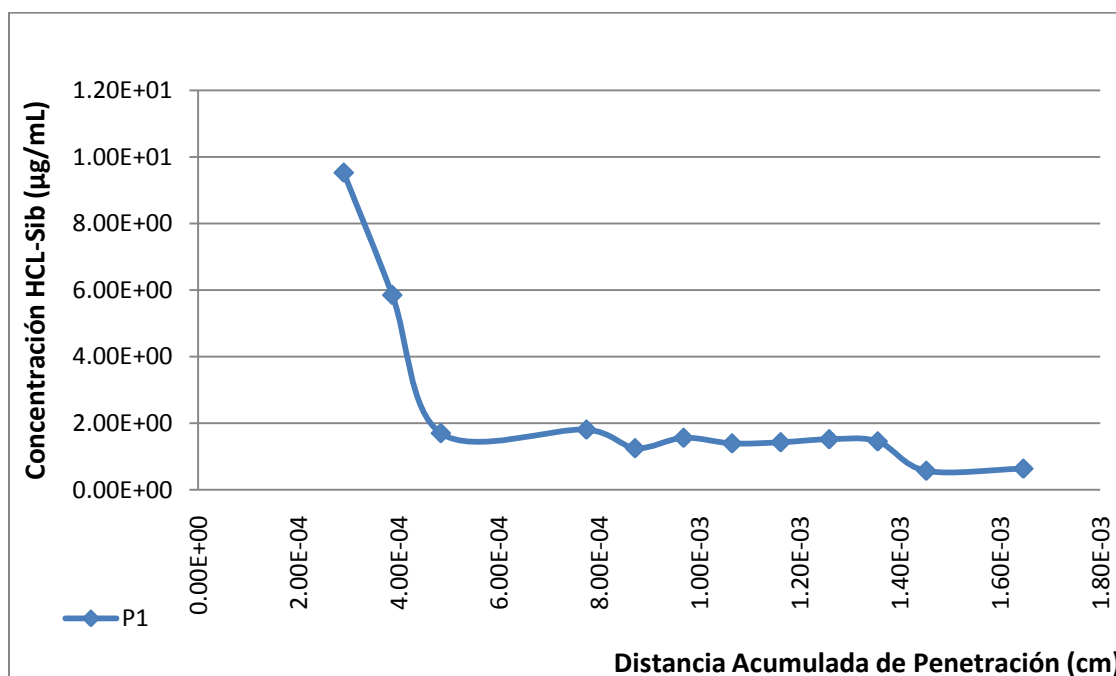


Gráfico 21. Que representa el perfil de permeación del voluntario 2 al tiempo de muestreo 1hr con la Formulación con Promotor

Tabla 49. Perfil de Permeación del voluntario 3 al tiempo de muestreo 1, con el Parche con Promotor

No. de Tape	Voluntario No. 3:Parche con Promotor:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000388	6.60E+01	0.000388	6.60E+01
2	0.000484	1.54E+01	0.000484	1.54E+01
3	0.000581	1.18E+01	0.000581	1.18E+01
4	0.000678	1.20E+01	0.000678	1.20E+01
5	0.001259	1.79E+01	0.001259	1.79E+01
6	0.001356	1.07E+01	0.001453	1.64E+01
7	0.001453	1.64E+01	0.001550	7.37E+00
8	0.001550	7.37E+00	0.001647	7.57E+00
9	0.001647	7.57E+00	0.001938	8.53E+00
10	0.001938	8.53E+00	0.002034	7.82E+00
11	0.002034	7.82E+00	0.002422	4.49E+00
12	0.002422	4.49E+00	0.002616	5.64E+00
13	0.002616	5.64E+00	0.002713	2.58E+00
14	0.002713	2.58E+00	0.002809	4.95E+00
15	0.002809	4.95E+00		

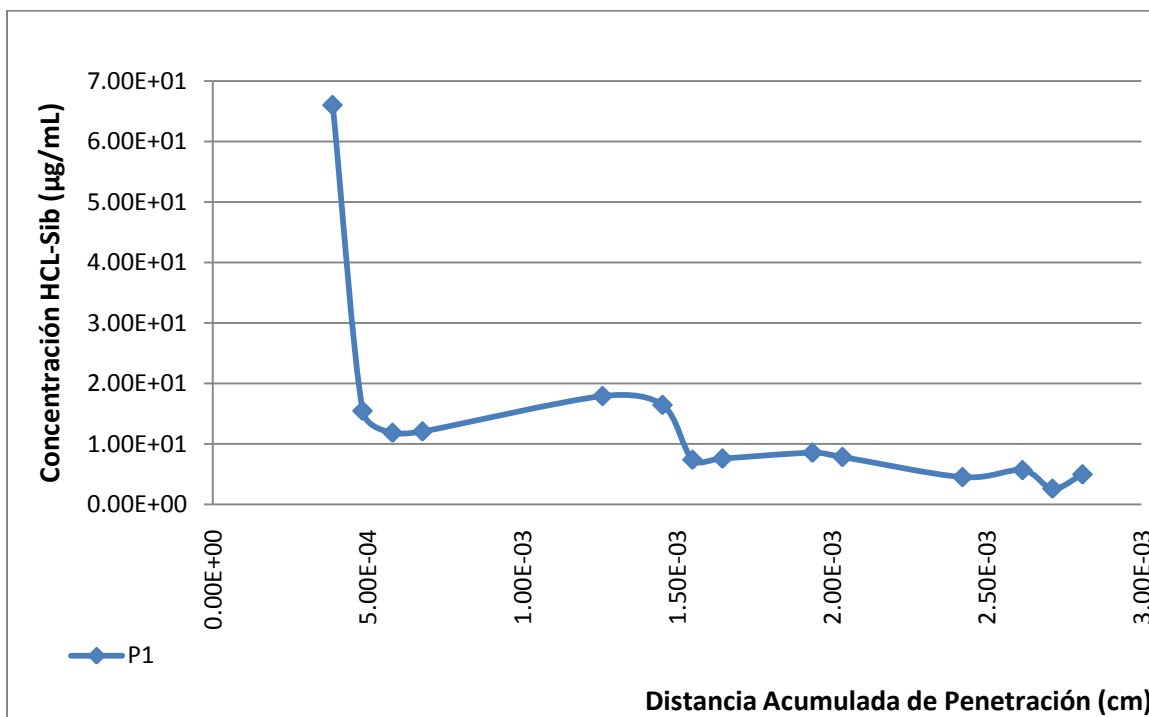


Gráfico 22. Que representa el perfil de permeación del voluntario 3 al tiempo 1hr con la Formulación con Promotor

Tabla 50. Perfil de Permeación del voluntario 4 al tiempo de muestreo 1, con el Parche con Promotor

No. de Tape	Voluntario No. 4:Parche con Promotor:1 Hr			
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000194	6.25E+01	0.000194	6.25E+01
2	0.000291	2.85E+01	0.000291	2.85E+01
3	0.000775	1.66E+01	0.000775	1.66E+01
4	0.000969	6.70E+00	0.000969	6.70E+00
5	0.001163	6.70E+00	0.001163	6.70E+00
6	0.001259	1.05E+01	0.001356	5.57E+00
7	0.001356	5.57E+00	0.001550	6.44E+00
8	0.001550	6.44E+00	0.001841	3.72E+00
9	0.001841	3.72E+00	0.002034	4.29E+00
10	0.001938	8.57E+00	0.002228	1.69E+00
11	0.002034	4.29E+00	0.002422	2.47E+00
12	0.002228	1.69E+00	0.002519	1.45E+00
13	0.002422	2.47E+00		
14	0.002519	1.45E+00		
15	0.002713	2.81E+00		

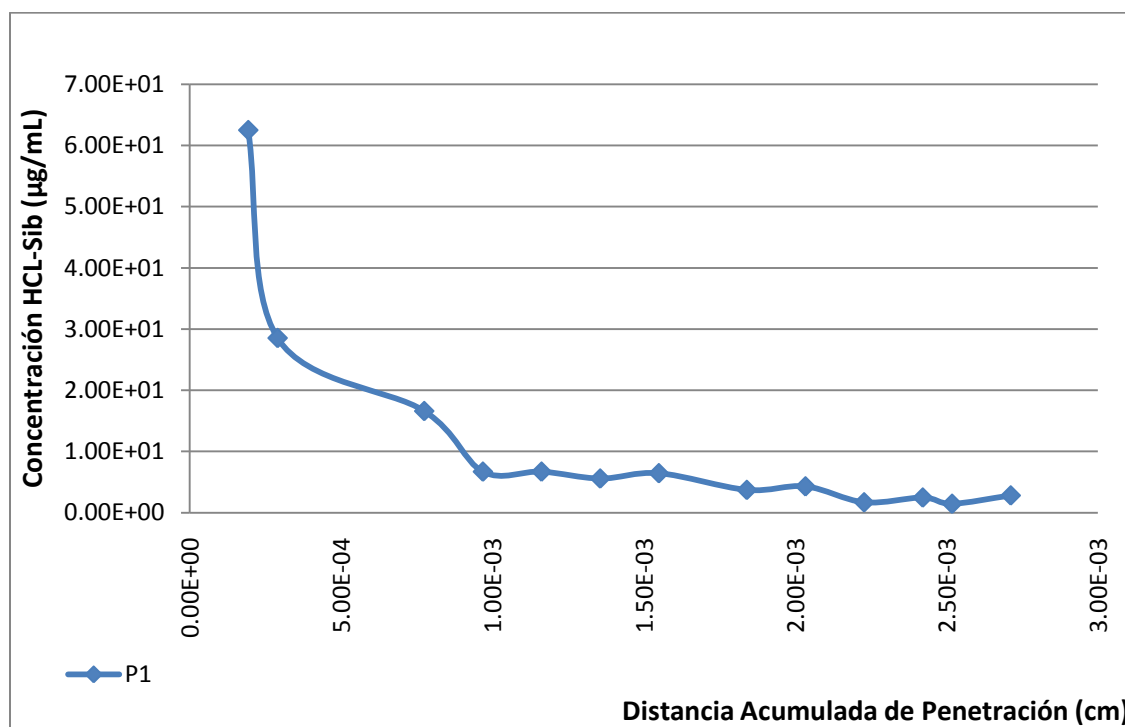


Gráfico 23. Que representa el perfil de permeación del voluntario 4 al tiempo 1hr con la Formulación con Promotor

10.3.5 Comparación entre los voluntarios del Parche Control

Tabla 51. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 1 hr, con el Parche Control

Tiempo de muestreo: 1Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000388	3.81E+01	0.000291	3.77E+01	0.000388	1.35E+01	0.000097	2.50E+01
2	0.000484	3.81E+01	0.000388	2.03E+01	0.000581	1.13E+01	0.000291	7.01E+00
3	0.001066	3.64E+01	0.000581	1.24E+01	0.001259	8.79E+00	0.000484	2.13E+00
4	0.001259	3.29E+01	0.000678	1.14E+01	0.001356	6.89E+00	0.000581	2.79E+00
5	0.001356	3.35E+01	0.000872	8.47E+00	0.001647	8.19E+00	0.000678	1.65E+00
6	0.001453	3.20E+01	0.000969	5.75E+00	0.001938	6.21E+00	0.000872	2.22E+00
7	0.001647	3.19E+01	0.001066	5.09E+00	0.002422	4.30E+00	0.000969	3.13E-02
8	0.001744	3.60E+01	0.001163	3.51E+00	0.002616	3.97E+00	0.001066	1.55E+00
9	0.001841	3.78E+01	0.001259	1.80E+00	0.002713	5.87E+00	0.001163	1.30E+00
10			0.001356	3.21E+00	0.002809	5.90E+00	0.001744	1.06E+00
11			0.001453	1.57E+00			0.001841	6.78E-01
12			0.001550	1.96E+00			0.001938	3.13E-02
13			0.001647	2.68E+00			0.002034	1.44E+00
14								
15								

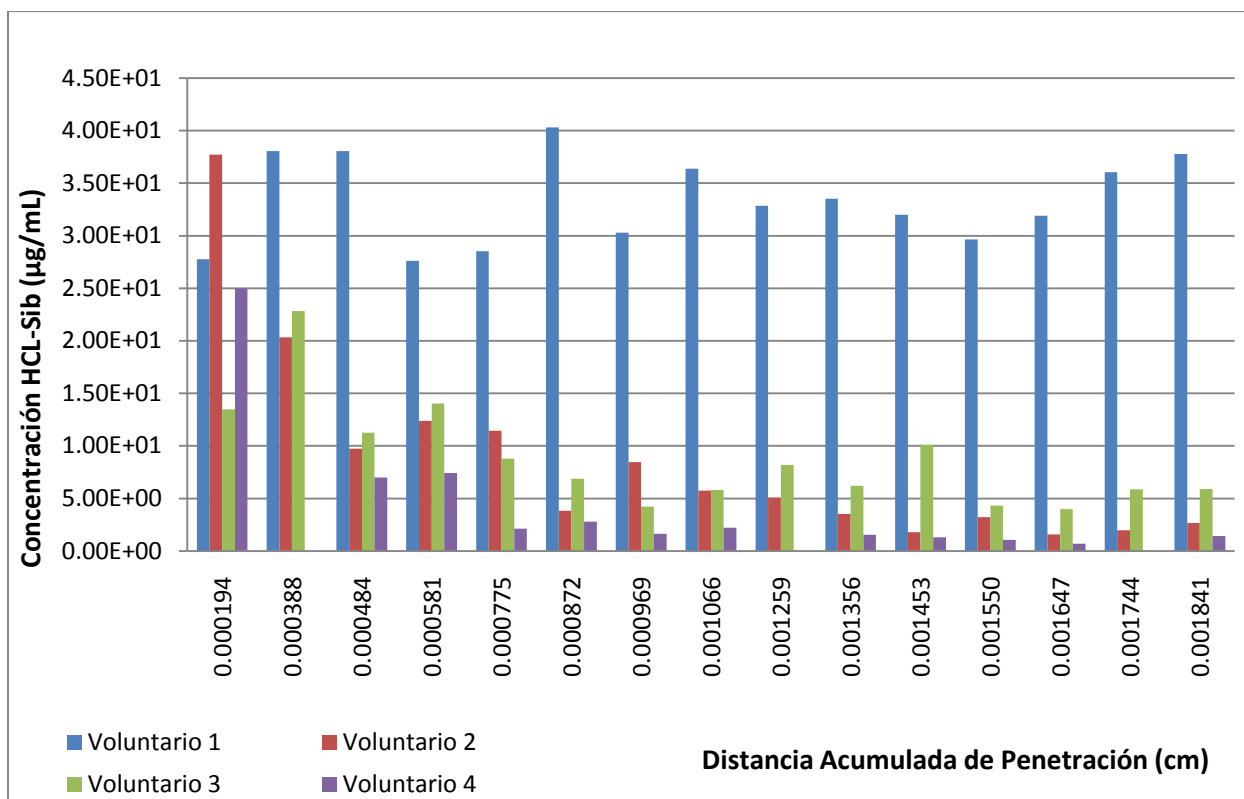


Gráfico 24. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 1hr con la Formulación Control

Tabla 52. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 3 hr, con el Parche Control

Tiempo de muestreo: 3Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	4.79E+01	0.000388	4.76E+01	0.000484	6.85E+01	0.000194	3.67E+01
2	0.000194	2.12E+01	0.000581	2.71E+01	0.000775	4.78E+01	0.000388	2.61E+01
3	0.000388	9.74E+00	0.000678	2.07E+01	0.000969	2.21E+01	0.000484	1.87E+01
4	0.000484	5.76E+00	0.000775	1.54E+01	0.001066	2.17E+01	0.000581	1.25E+01
5	0.000775	6.54E+00	0.000872	8.77E+00	0.001163	1.56E+01	0.000872	8.44E+00
6	0.001066	4.55E+00	0.000969	8.38E+00	0.001550	6.20E+00	0.001066	8.21E+00
7	0.001163	4.18E+00	0.001066	6.37E+00	0.001647	8.38E+00	0.001259	7.70E+00
8	0.001259	3.50E+00	0.001163	3.39E+00	0.001841	9.85E+00	0.001550	3.08E+00
9	0.001356	3.72E+00	0.001259	3.95E+00	0.001938	7.91E+00	0.001647	9.75E-01
10	0.001453	3.81E+00	0.001356	3.14E+00	0.002034	1.02E+01	0.001744	2.14E+00
11			0.001453	1.85E+00	0.002131	5.98E+00	0.001841	1.85E+00
12			0.001550	3.18E+00	0.002228	7.17E+00	0.001938	1.10E+00
13			0.001647	4.62E+00	0.002325	1.04E+01	0.002034	2.76E-01
14			0.001744	2.75E+00	0.002422	5.04E+00	0.002131	1.38E+00
15								

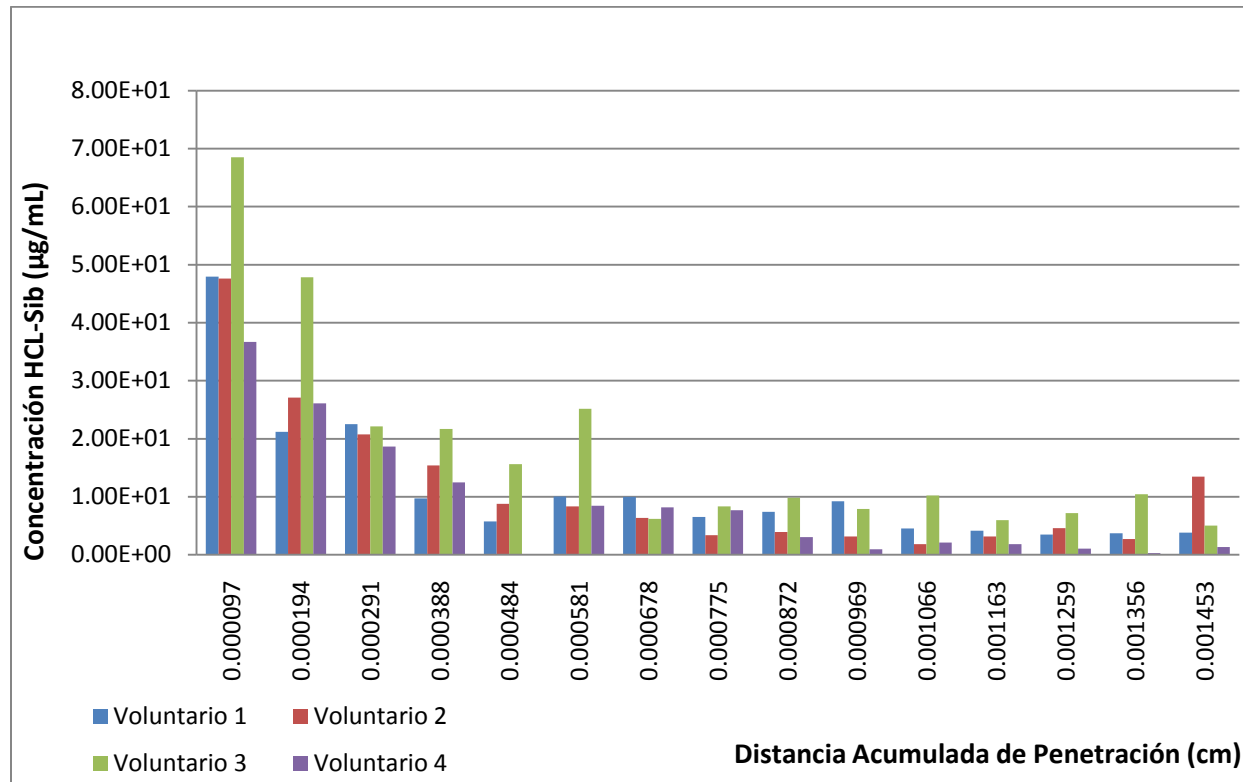


Gráfico 25. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 3hrs con la Formulación Control

Tabla 53. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 6 hr, con el Parche Control

Tiempo de muestreo: 6Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	6.73E+01	0.000194	5.93E+01	0.000194	3.00E+01	0.000097	1.19E+01
2	0.000291	4.55E+01	0.000581	3.21E+01	0.000678	2.53E+01	0.000291	8.50E+00
3	0.000484	3.27E+01	0.000775	2.31E+01	0.000775	1.37E+01	0.000969	7.05E+00
4	0.000581	2.55E+01	0.000969	1.37E+01	0.001066	1.19E+01	0.001453	5.85E+00
5	0.000678	1.75E+01	0.001066	1.18E+01	0.001453	1.30E+01	0.001647	3.74E+00
6	0.000872	1.32E+01	0.001163	9.12E+00	0.001647	9.96E+00	0.002034	1.74E+00
7	0.000969	1.03E+01	0.001259	8.60E+00	0.002034	8.57E+00	0.002325	2.79E+00
8	0.001066	8.78E+00	0.001356	6.74E+00	0.002131	6.62E+00	0.002422	2.55E+00
9	0.001163	6.14E+00	0.001453	3.93E+00	0.002228	6.33E+00	0.002519	1.53E+00
10	0.001356	4.48E+00	0.001550	5.79E+00	0.002325	6.55E+00	0.002616	1.49E+00
11	0.001453	5.16E+00	0.001647	4.22E+00	0.002422	5.89E+00		
12	0.001550	4.47E+00	0.001744	5.47E+00	0.003100	8.19E+00		
13			0.001841	3.13E+00				
14								
15								

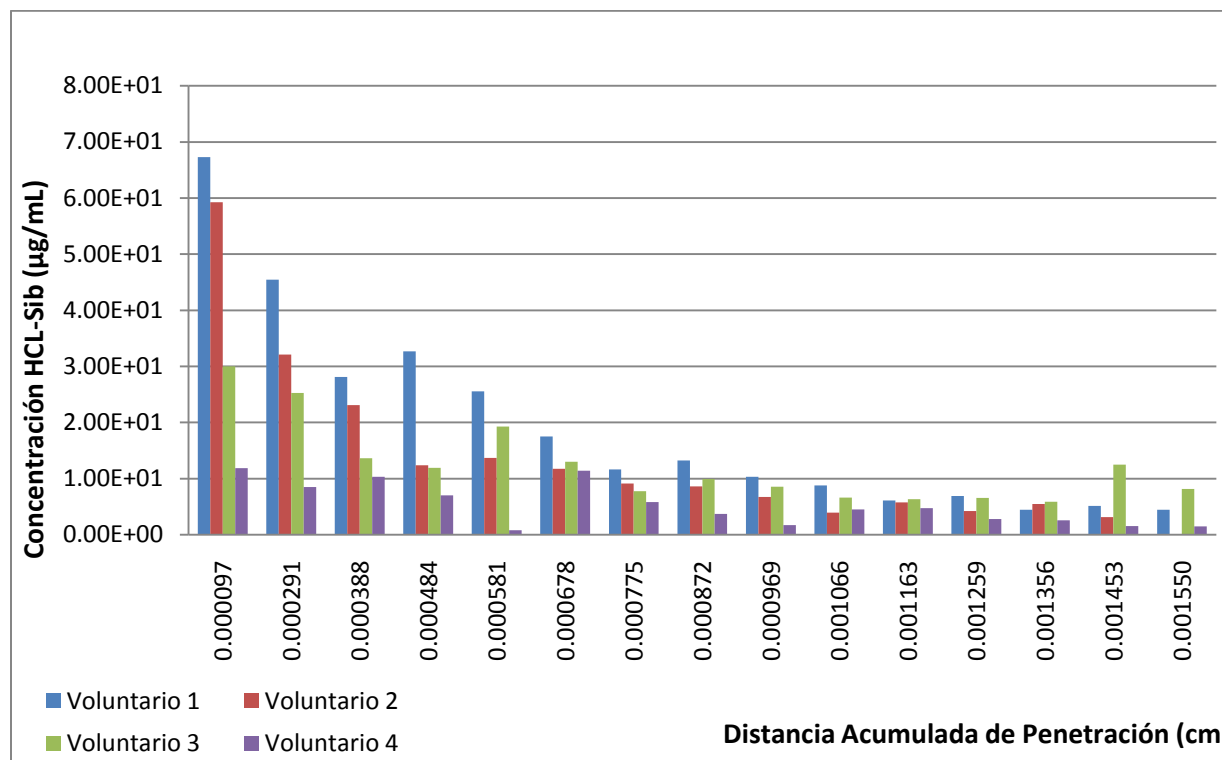


Gráfico 26. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 6hrs con la Formulación Control

Tabla 54. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 24 hr, con el Parche Control

Tiempo de muestreo: 24Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	5.85E+01	0.000291	8.25E+01	0.000097	4.55E+01	0.000291	2.36E+01
2	0.000291	3.36E+01	0.000872	5.40E+01	0.000484	2.02E+01	0.000581	1.45E+01
3	0.000581	1.08E+01	0.001259	9.80E+00	0.000775	1.75E+01	0.000872	6.51E+00
4	0.000872	7.05E+00	0.001453	8.82E+00	0.001066	1.81E+01	0.000969	7.27E+00
5	0.001066	6.66E+00	0.001647	5.38E+00	0.001259	1.60E+01	0.001453	8.78E+00
6	0.001356	1.16E+01	0.001744	3.55E+00	0.001938	1.35E+01	0.001647	6.77E+00
7	0.001453	1.12E+01	0.001841	3.02E+00	0.002034	1.34E+01	0.001841	8.27E+00
8	0.001550	9.37E+00	0.001938	5.46E+00	0.002131	1.30E+01	0.001938	7.56E+00
9	0.001647	5.23E+00	0.002034	3.77E+00	0.002616	1.40E+01	0.002131	5.58E+00
10			0.002131	3.48E+00	0.002809	8.78E+00	0.002325	7.26E+00
11			0.002228	4.45E+00			0.002422	4.81E+00
12			0.002325	1.80E+00			0.003100	5.17E+00
13			0.002422	1.84E+00			0.003391	3.99E+00
14								
15								

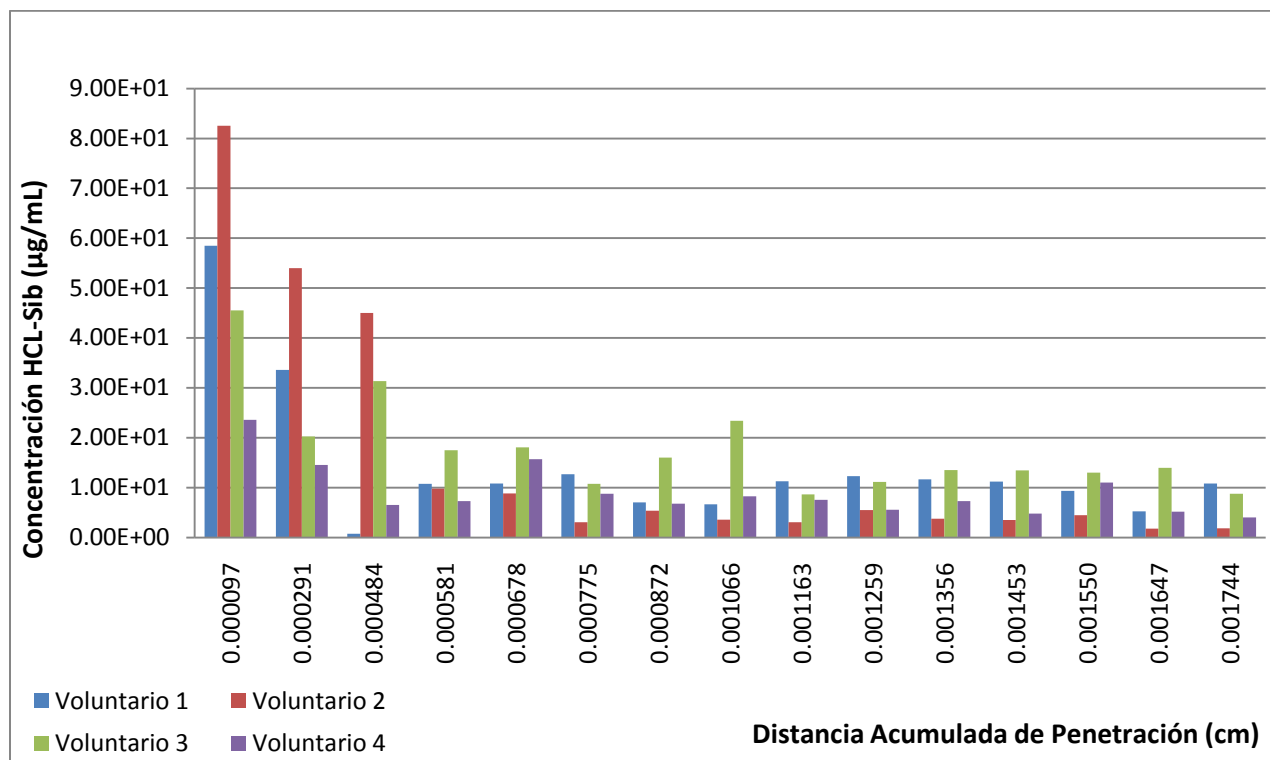


Gráfico 27. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 24hrs con la Formulación Control

10.3.6 Comparación entre los voluntarios del Parche con APP

Tabla 55. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 1 hr, con el Parche con Promotor

Tiempo de muestreo: 1Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000194	8.25E+01	0.000291	9.53E+00	0.000388	6.60E+01	0.000194	6.25E+01
2	0.000388	5.40E+01	0.000388	5.85E+00	0.000484	1.54E+01	0.000291	2.85E+01
3	0.000484	4.50E+01	0.000484	1.70E+00	0.000581	1.18E+01	0.000775	1.66E+01
4	0.000581	9.80E+00	0.000775	1.81E+00	0.000678	1.20E+01	0.000969	6.70E+00
5	0.000775	8.82E+00	0.000872	1.25E+00	0.001259	1.79E+01	0.001163	6.70E+00
6	0.000872	3.03E+00	0.000969	1.56E+00	0.001453	1.64E+01	0.001356	5.57E+00
7	0.000969	5.38E+00	0.001066	1.39E+00	0.001550	7.37E+00	0.001550	6.44E+00
8	0.001066	3.55E+00	0.001163	1.43E+00	0.001647	7.57E+00	0.001841	3.72E+00
9	0.001356	5.46E+00	0.001259	1.52E+00	0.001938	8.53E+00	0.002034	4.29E+00
10	0.001453	2.79E+00	0.001356	1.45E+00	0.002034	7.82E+00	0.002228	1.69E+00
11	0.001550	3.48E+00	0.001453	5.71E-01	0.002422	4.49E+00	0.002422	2.47E+00
12	0.001647	4.45E+00	0.001647	6.36E-01	0.002616	5.64E+00	0.002519	1.45E+00
13	0.001744	1.80E+00			0.002713	2.58E+00	0.002713	2.81E+00
14	0.001841	1.84E+00			0.002809	4.95E+00		
15								

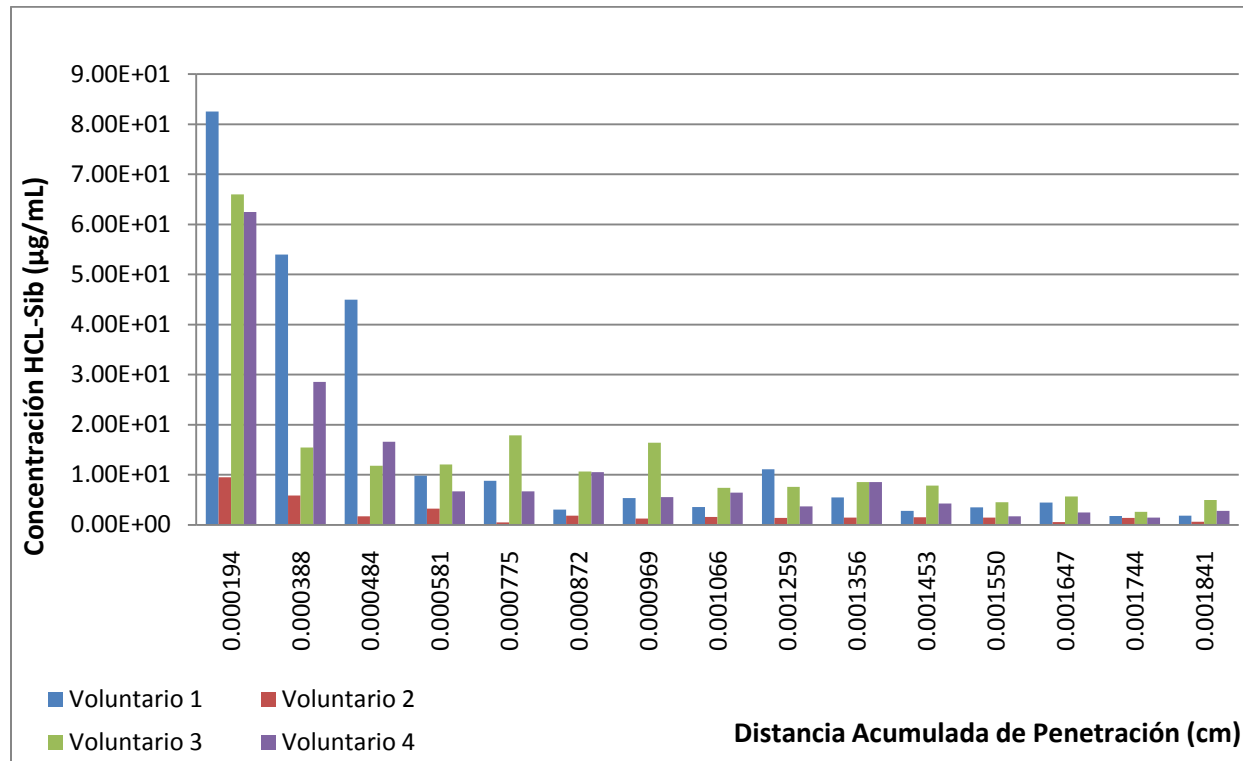


Gráfico 28. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 1hr con la Formulación con Promotor

Tabla 56. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 3 hr, con el Parche con Promotor

Tiempo de muestreo: 3Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000388	2.59E+01	0.000388	2.14E+01	0.000484	6.25E+01	0.000291	3.14E+01
2	0.000581	2.63E+01	0.000581	9.11E+00	0.000775	3.64E+01	0.000484	1.65E+01
3	0.000678	2.40E+01	0.000678	3.31E+00	0.000969	2.65E+01	0.000581	8.52E+00
4	0.000775	2.07E+01	0.000775	2.69E+00	0.001163	2.89E+01	0.000678	7.06E+00
5	0.000969	1.10E+01	0.000969	2.07E+00	0.001453	1.92E+01	0.000872	5.09E+00
6	0.001163	1.34E+01	0.001066	2.15E+00	0.001550	1.27E+01	0.001163	6.77E+00
7	0.001259	1.10E+01	0.001163	2.10E+00	0.001841	5.55E+00	0.001356	6.18E+00
8	0.001356	4.46E+00	0.001259	2.28E+00	0.001938	7.35E+00	0.001453	4.50E+00
9	0.001453	5.09E+00	0.001453	1.72E+00	0.002034	8.98E+00	0.001647	4.41E+00
10			0.001550	1.54E+00	0.002131	8.22E+00	0.001744	2.89E+00
11			0.001647	9.10E-01	0.002228	1.09E+01	0.002034	1.88E+00
12			0.001744	1.67E+00	0.002325	8.31E+00		
13			0.001841	1.03E+00	0.002422	1.13E+01		
14								
15								

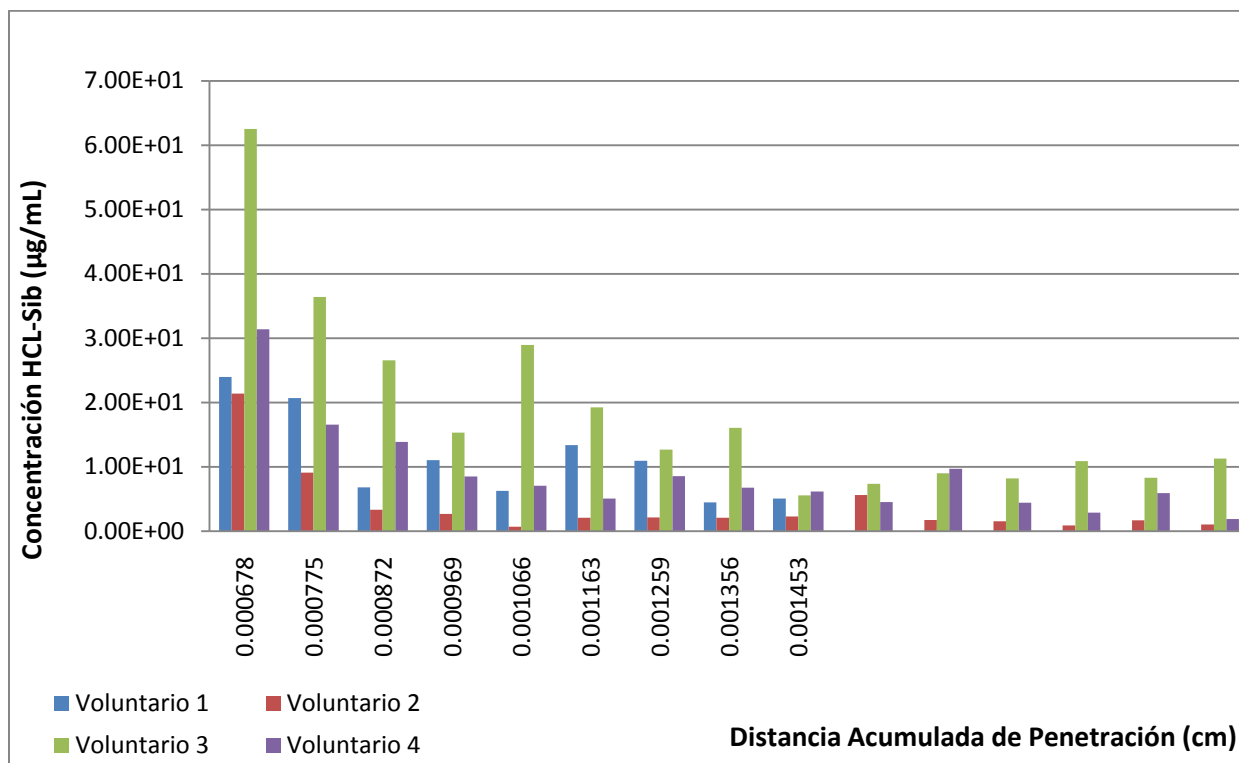


Gráfico 29. Que representa el perfil de permeación de HCL-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 3hrs con la Formulación con Promotor

Tabla 57. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 6 hr, con el Parche con Promotor

Tiempo de muestreo: 6Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	9.56E+01	0.000194	2.59E+01	0.000775	9.84E+01	0.002422	1.62E+02
2	0.000291	5.20E+01	0.000581	1.94E+01	0.001066	8.09E+01	0.004263	5.41E+00
3	0.000388	2.05E+01	0.000775	1.06E+01	0.001356	4.50E+01	0.004553	1.62E+00
4	0.000581	1.59E+01	0.000872	5.88E+00	0.001453	1.66E+01	0.004844	9.75E-01
5	0.000775	5.84E+00	0.000969	3.60E+00	0.001647	1.20E+01	0.005038	2.24E+00
6	0.000872	7.38E+00	0.001066	3.07E+00	0.002034	1.46E+01	0.005134	1.93E+00
7	0.000969	2.94E+00	0.001163	3.69E+00	0.002131	8.25E+00	0.005328	1.12E+00
8	0.001066	4.30E+00	0.001259	2.52E+00	0.002228	7.53E+00	0.005328	1.45E+00
9	0.001163	5.23E+00	0.001356	2.08E+00	0.002325	4.91E+00	0.005522	1.81E+00
10	0.001259	3.61E+00	0.001453	2.01E+00	0.002422	2.54E+00	0.005716	1.11E+00
11	0.001356	2.48E+00	0.001550	2.27E+00	0.002906	2.98E+00	0.005909	4.57E-01
12	0.001453	5.99E+00	0.001647	3.20E+00	0.003100	3.70E+00		
13	0.001550	9.08E+00	0.001841	4.29E+00				
14			0.001938	3.76E+00				
15								

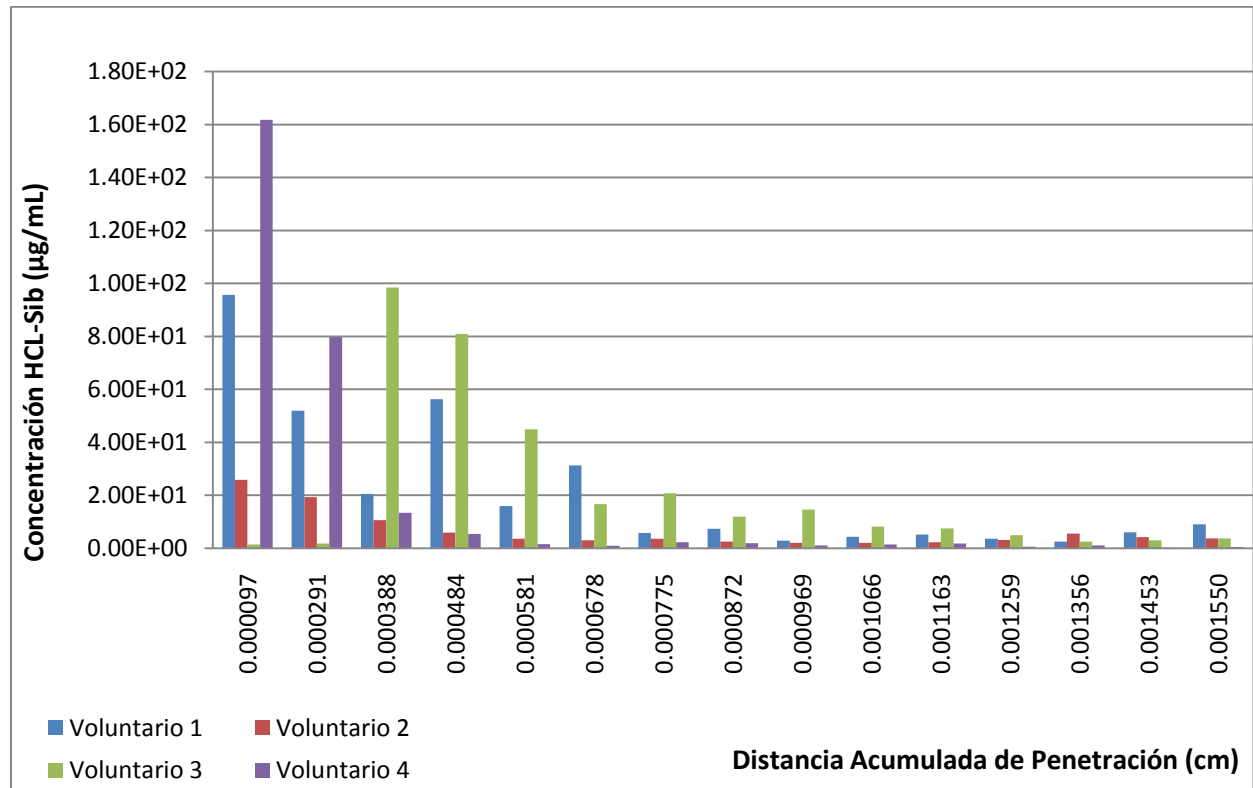


Gráfico 30. Que representa el perfil de permeación de HCl-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 6hrs con la Formulación con Promotor

Tabla 58. Perfiles de Permeación de los 4 voluntarios al tiempo de muestreo 24 hr, con el Parche con Promotor

Tiempo de muestreo: 24Hr								
No. de Tape	Voluntario 1		Voluntario 2		Voluntario 3		Voluntario 4	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	3.09E+01	0.000291	1.93E+01	0.000097	5.02E+01	0.000291	7.28E+00
2	0.000291	2.87E+01	0.001163	4.12E+00	0.000484	4.07E+01	0.000581	3.49E+00
3	0.000581	1.82E+01	0.001259	4.31E+00	0.000678	3.03E+01	0.000678	2.14E+00
4	0.000678	1.98E+01	0.001453	2.14E+00	0.001163	1.69E+01	0.000775	2.12E+00
5	0.001259	8.00E+00	0.001647	9.28E-01	0.001356	7.08E+00	0.000872	1.59E+00
6	0.001356	6.33E+00	0.001744	9.75E-01	0.001744	1.08E+01	0.000969	1.34E+00
7	0.001453	7.57E+00	0.001841	5.16E-01	0.001841	3.70E+00	0.001066	7.94E-01
8	0.001550	3.24E+00	0.001938	9.63E-01	0.001938	3.36E+00	0.001259	1.24E+00
9	0.001647	5.08E+00	0.002034	8.37E-01	0.002034	3.52E+00	0.001453	1.19E+00
10	0.001744	4.09E+00	0.002131	1.28E+00	0.002131	4.62E+00	0.001550	9.26E-01
11			0.002228	1.04E+00	0.002616	2.04E+00	0.001841	4.08E-01
12			0.002325	1.60E+00	0.002809	2.93E+00		
13			0.002422	9.55E-01				
14								
15								

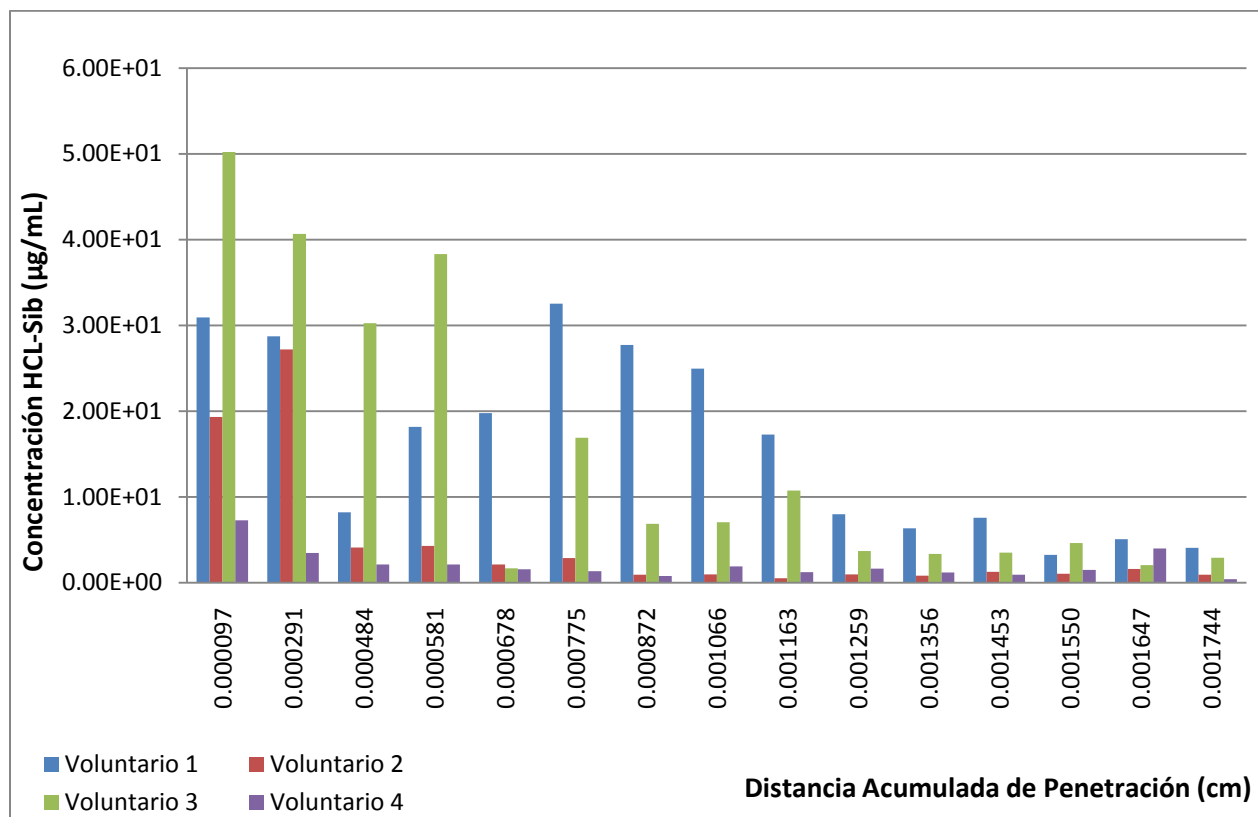


Gráfico 31. Que representa el perfil de permeación de HCl-Sib de los 4 voluntarios al tiempo 24hrs con la Formulación con Promotor

10.3.7 Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y del Parche con APP por voluntario a cada tiempo de muestreo

Tabla 59. Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y Parche Promotor al tiempo de 1 hr del voluntario 1

No. de Tape	Tiempo de muestreo: 1Hr			
	Voluntario 1			
	Parche Control		Parche promotor	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000388	3.81E+01	0.000194	8.25E+01
2	0.000484	3.81E+01	0.000388	5.40E+01
3	0.001066	3.64E+01	0.000484	4.50E+01
4	0.001259	3.29E+01	0.000581	9.80E+00
5	0.001356	3.35E+01	0.000775	8.82E+00
6	0.001453	3.20E+01	0.000872	3.03E+00
7	0.001647	3.19E+01	0.000969	5.38E+00
8	0.001744	3.60E+01	0.001066	3.55E+00
9	0.001841	3.78E+01	0.001356	5.46E+00
10			0.001453	2.79E+00
11			0.001550	3.48E+00
12			0.001647	4.45E+00
13			0.001744	1.80E+00
14			0.001841	1.84E+00
15				

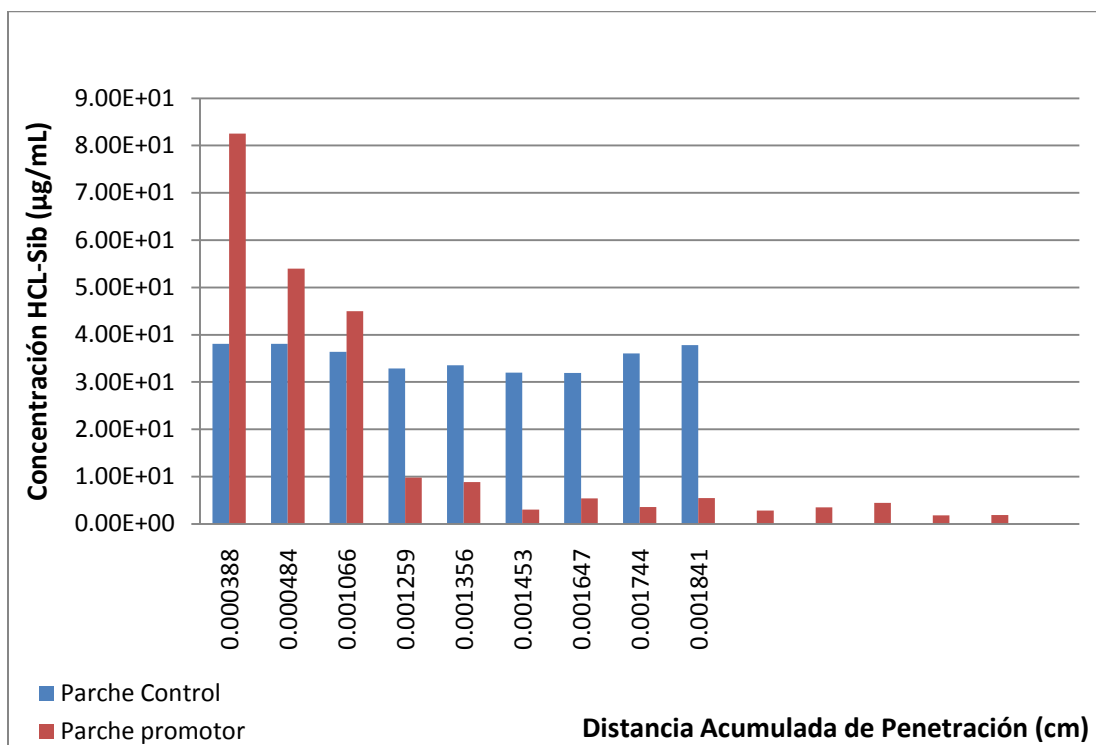


Gráfico 32. Que representa la comparación de los perfiles de permeación de HCl-Sib con y sin APP del voluntario 1 al tiempo 1hr

Tabla 60. Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y Parche Promotor al tiempo de 3 hr del voluntario 1

No. de Tape	Tiempo de muestreo: 3Hr			
	Voluntario 1			
	Parche Control		Parche promotor	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	4.79E+01	0.000388	2.59E+01
2	0.000194	2.12E+01	0.000581	2.63E+01
3	0.000388	9.74E+00	0.000678	2.40E+01
4	0.000484	5.76E+00	0.000775	2.07E+01
5	0.000775	6.54E+00	0.000969	1.10E+01
6	0.001066	4.55E+00	0.001163	1.34E+01
7	0.001163	4.18E+00	0.001259	1.10E+01
8	0.001259	3.50E+00	0.001356	4.46E+00
9	0.001356	3.72E+00	0.001453	5.09E+00
10	0.001453	3.81E+00		
11				
12				
13				
14				
15				

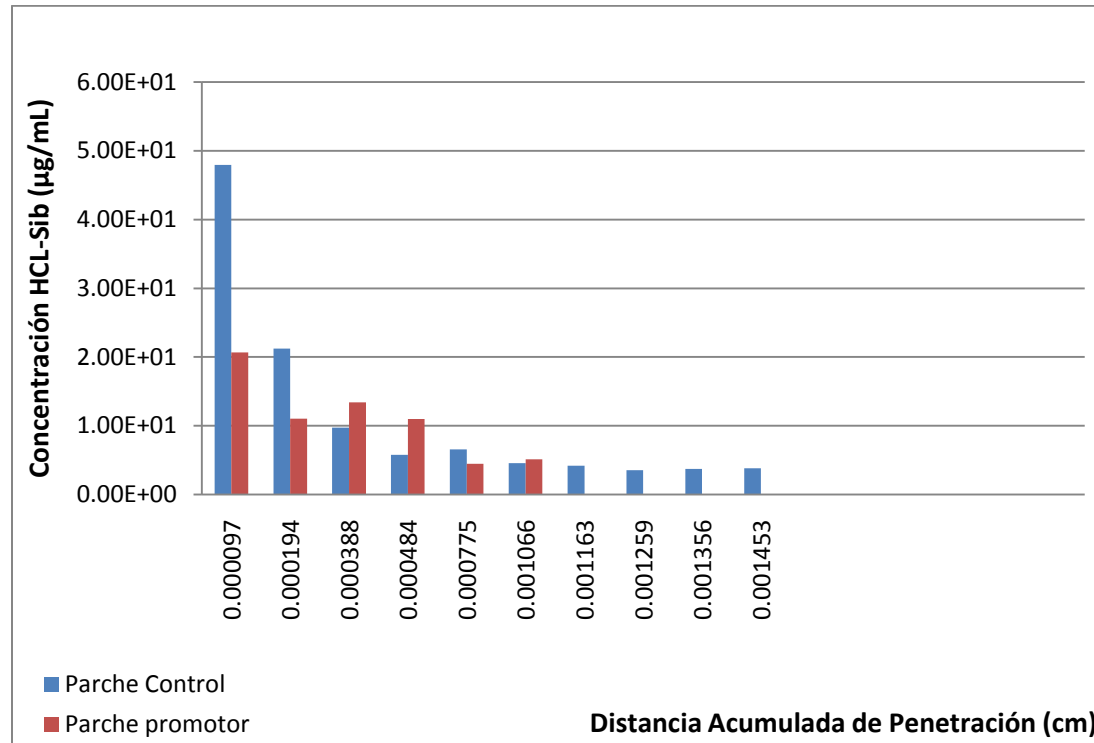


Gráfico 33. Que representa la comparación de los perfiles de permeación de HCL-Sib con y sin APP del voluntario 1 al tiempo 3hrs

Tabla 61. Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y Parche Promotor al tiempo de 6 hr del voluntario 1

No. de Tape	Tiempo de muestreo: 6Hr			
	Voluntario 1			
	Parche Control		Parche promotor	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	6.73E+01	0.000097	9.56E+01
2	0.000291	4.55E+01	0.000291	5.20E+01
3	0.000484	3.27E+01	0.000388	2.05E+01
4	0.000581	2.55E+01	0.000581	1.59E+01
5	0.000678	1.75E+01	0.000775	5.84E+00
6	0.000872	1.32E+01	0.000872	7.38E+00
7	0.000969	1.03E+01	0.000969	2.94E+00
8	0.001066	8.78E+00	0.001066	4.30E+00
9	0.001163	6.14E+00	0.001163	5.23E+00
10	0.001356	4.48E+00	0.001259	3.61E+00
11	0.001453	5.16E+00	0.001356	2.48E+00
12	0.001550	4.47E+00	0.001453	5.99E+00
13			0.001550	9.08E+00
14				
15				

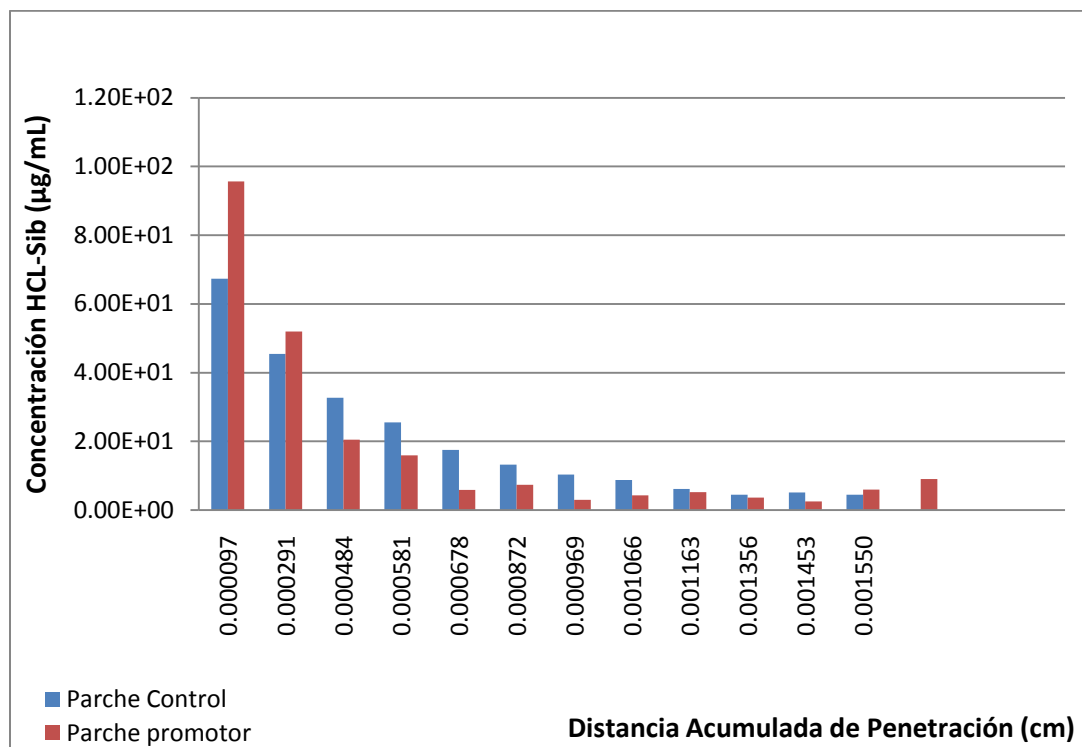


Gráfico 34. Que representa la comparación de los perfiles de permeación de HCl-Sib con y sin APP del voluntario 1 al tiempo 6hrs

Tabla 62. Comparación de los perfiles de Permeación del Parche Control y Parche Promotor al tiempo de 24 hr del voluntario 1

No. de Tape	Tiempo de muestreo: 24Hr			
	Voluntario 1			
	Parche Control		Parche promotor	
	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)	Distancia acumulada de penetración (cm)	Concentración (µg/mL)
1	0.000097	5.85E+01	0.000097	3.09E+01
2	0.000291	3.36E+01	0.000291	2.87E+01
3	0.000581	1.08E+01	0.000581	1.82E+01
4	0.000872	7.05E+00	0.000678	1.98E+01
5	0.001066	6.66E+00	0.001259	8.00E+00
6	0.001356	1.16E+01	0.001356	6.33E+00
7	0.001453	1.12E+01	0.001453	7.57E+00
8	0.001550	9.37E+00	0.001550	3.24E+00
9	0.001647	5.23E+00	0.001647	5.08E+00
10			0.001744	4.09E+00
11				
12				
13				
14				
15				

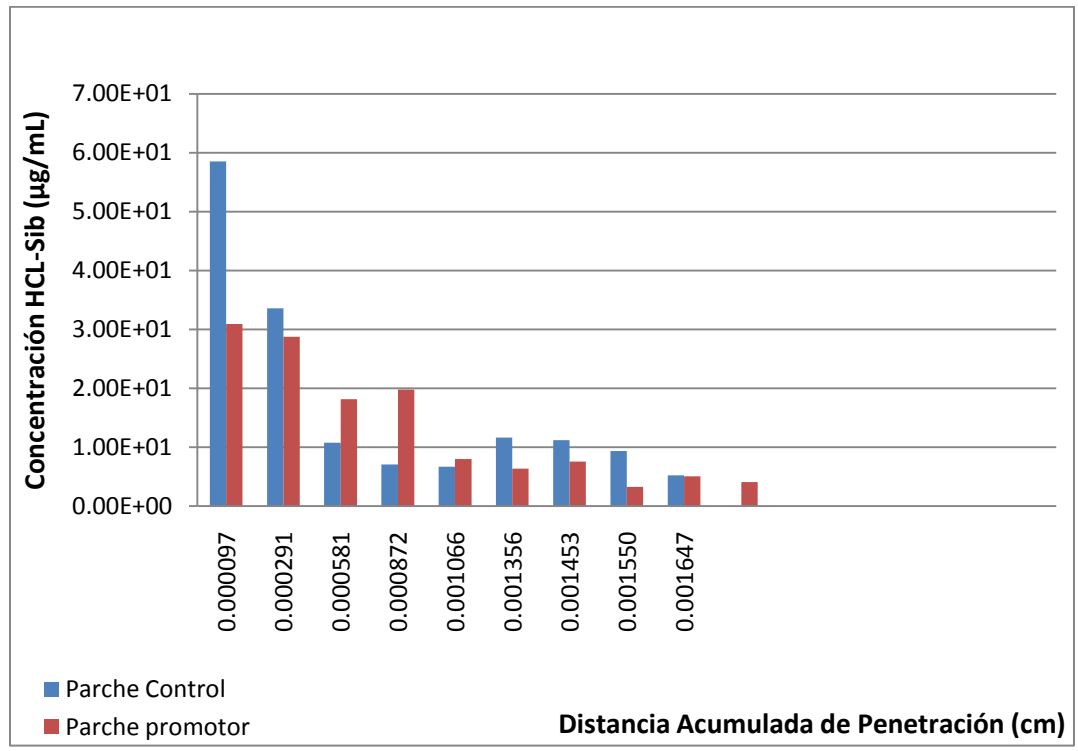


Gráfico 35. Que representa la comparación de los perfiles de permeación de HCL-Sib con y sin APP del voluntario 1 al tiempo 24hr

10.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

a) Uso del Promotor de Penetración (Transcutol®)

- Estudios de Penetración *in vitro*

Tabla 63. Que muestra los parámetros de permeabilidad (Flujo, Tiempo de latencia y Kp) del Parche Control y Parche con Promotor

Parámetros de permeabilidad			
Tipo de parche	Flujo (mg/cm2h)	Tiempo de latencia (Hrs)	Constante de permeabilidad (Kp)
Con Agente Promotor de Penetración	0.04026333	21.47328096	0.005751904
Sin Agente Promotor de Penetración	0.01743451	19.19278097	0.002490644

10.4.1 PRUEBA DE F* PARA LA COMPARACIÓN DE DESVIACIONES ESTÁNDAR

*El análisis se realizó a un nivel del 95% de Confianza

$$F = S_1^2 / S_2^2$$

Donde:

F - Cantidad calculada siempre ≥ 1

S₁ - Desviación estándar del primer conjunto de datos

S₂ - Desviación estándar del segundo conjunto de datos

Así, se plantea lo siguiente:

H₀ - Que ambas poblaciones son normales y las varianzas son iguales

Tabla 64. Que muestra los flujos obtenidos en cada celda con el Parche Control y el Parche con Promotor, acompañados de sus medias, desviaciones estándar y valores de F

Celda	Sin APP Flujo (mg/cm ² h)	Con APP Flujo (mg/cm ² h)
1	1.606E-02	5.736E-02
2	1.853E-02	3.999E-02
3	1.619E-02	6.401E-02
4	1.358E-02	2.147E-02
5	2.088E-02	2.799E-02
6	1.937E-02	3.076E-02
Media	1.743E-02	4.026E-02
DSTD	2.649E-03	1.703E-02
	F Crítica_{0,95,5}	5.05
	F Calculada	41.329

Se tiene $F_{calculada} > F_{Crítica} \therefore$ se rechaza H_0 que suponía que las varianzas son iguales pues hay diferencia en al menos un par de ellas.

Tabla 65. Que muestra los tiempos de latencia obtenidos en cada celda con el Parche Control y el Parche con Promotor, acompañados de sus medias, desviaciones estándar y valores de F

Celda	Sin APP Tiempo de latencia (hrs)	Con APP Tiempo de latencia (hrs)
1	2.046E+01	2.267E+01
2	1.974E+01	2.117E+01
3	2.056E+01	2.192E+01
4	1.721E+01	1.845E+01
5	1.782E+01	2.148E+01
6	1.935E+01	2.080E+01
Media	1.919E+01	2.108E+01
DSTD	1.386E+00	1.444E+00
	F Crítica_{0,95,5}	5.05
	F Calculada	1.085

Se tiene $F_{Calculada} < F_{Crítica} \therefore$ se acepta H_0 que supone que las varianzas son iguales pues no hay diferencia significativa entre ellas.

Tabla 66. Que muestra las Constantes de Permeabilidad obtenidas en cada celda con el Parche Control y el Parche con Promotor, acompañados de sus medias, desviaciones estándar y valores de F

Celda	Sin APP	Con APP
	Constante de Permeabilidad (Kp)	Constante de Permeabilidad (Kp)
1	2.294E-03	8.194E-03
2	2.648E-03	5.713E-03
3	2.313E-03	9.145E-03
4	1.940E-03	3.068E-03
5	2.982E-03	3.999E-03
6	2.766E-03	4.394E-03
Media	2.491E-03	5.752E-03
DSTD	3.784E-04	2.433E-03
F Crítica_{0,95,5}		5.05
F Calculada		41.341

Se tiene $F \text{ Calculada} > F \text{ Crítica} \therefore$ se rechaza H_0 que suponía que las varianzas son iguales pues hay diferencia en al menos un par de ellas.

Tabla 67. Que muestra las cantidades acumuladas/Área obtenidas en cada celda con el Parche Control y el Parche con Promotor, acompañados de sus medias, desviaciones estándar y valores de F

Tiempo	Con Agente Promotor de Penetración	Sin Agente Promotor de Penetración
	Qacum/Área (mg/cm ²)	Qacum/Área (mg/cm ²)
2	7.64E-03	8.92E-03
4	1.71E-02	1.76E-02
6	3.26E-02	3.25E-02
8	6.03E-02	5.09E-02
24	1.16E-01	7.85E-02
26	1.81E-01	1.21E-01
28	2.40E-01	1.62E-01
30	3.35E-01	1.84E-01
32	4.42E-01	2.21E-01
Qacum/Área (mg/cm ²) TOTAL	1.43E+00	8.78E-01
Desv. STD	0.153534344	0.077972635
F Crítica_{0,95,5}		5.05
F Calculada		3.948

Se tiene $F \text{ Calculada} < F \text{ Crítica} \therefore$ se acepta H_0 que supone que las varianzas son iguales pues no hay diferencia significativa entre ellas.

- Estudios de Penetración *in vivo**

Tabla 68. Que muestra las concentraciones totales de HCl-Sib del Parche Control por voluntario a cada t de muestreo y sus medias

Parche Control	Concentración total (µg/mL)				
Tiempo de muestreo (hrs)	Voluntario 1	Voluntario 2	Voluntario 3	Voluntario 4	Media
1	5.01E+02	1.29E+02	1.32E+02	5.43E+01	2.04E+02
3	1.70E+02	1.71E+02	2.72E+02	1.29E+02	1.86E+02
6	2.88E+02	2.03E+02	1.85E+02	7.89E+01	1.89E+02
24	2.13E+02	2.36E+02	2.65E+02	1.37E+02	2.13E+02

Tabla 69. Que muestra las concentraciones totales de Hcl-Sib del Parche con Promotor por voluntario a cada t de muestreo y sus medias

Parche con Promotor	Concentración total (µg/mL)				
Tiempo de muestreo (hrs)	Voluntario 1	Voluntario 2	Voluntario 3	Voluntario 4	Media
1	2.43E+02	3.39E+01	1.99E+02	1.69E+02	1.61E+02
3	1.77E+02	5.82E+01	2.78E+02	1.33E+02	1.62E+02
6	3.18E+02	9.78E+01	3.22E+02	2.74E+02	2.53E+02
24	2.43E+02	6.91E+01	2.23E+02	3.15E+01	1.42E+02

Tabla 70. Que muestra las concentraciones totales de Hcl-Sib permeadas del Parche Control y del Parche con Promotor a las 24 Hrs

Formulación	Parche control	Parche con Promotor
Concentración Total (µg/mL)	7.91E+02	7.17E+02

Tabla 71. Prueba de F para varianzas de dos muestras

	<i>Parche Control</i>	<i>Parche con Transcutol®</i>
Media	1.98E+02	1.79E+02
Varianza	1.65E+02	2.49E+03
Observaciones	4	4
Grados de libertad	3	3
F	0.06600493	
P(F<=f) una cola	0.025664829	
Valor crítico para F (una cola)	0.107797789	

Se tiene $F \text{ Calculada} < F \text{ Crítica} \therefore$ se acepta H_0 que supone que las varianzas son iguales pues no hay diferencia significativa entre ellas.

10.4.2 PRUEBA t* POR PAREJAS

*El análisis se realizó a un nivel del 95% de Confianza (P = 0.05)

$$t = \frac{\overline{Xd}\sqrt{n}}{Sd}$$

Donde:

t - Tiene n-1 grados de libertad

\overline{Xd} - Es la media de las diferencias

n - Es el número de muestras o ensayos

Sd - Desviación estándar de las diferencias

Así, se plantea lo siguiente:

H₀ - El método no da valores significativamente diferentes de ambos tipos de parche para las concentraciones de HCl-Sib

Tabla 72. Que muestra las medias de la concentración permeada con el Parche Control y el Parche con Promotor a los diferentes tiempos de muestreo, las diferencias de las concentraciones, desviación estándar, y los valores de t para la prueba

Medias de la Concentración total (µg/mL)			
Tiempo de muestreo (hrs)	Parche Control	Parche con Promotor	Diferencia
1	2.04E+02	1.61E+02	4.30E+01
3	1.86E+02	1.62E+02	2.40E+01
6	1.89E+02	2.53E+02	-6.40E+01
24	2.13E+02	1.42E+02	7.10E+01
Promedio			1.85E+01
Desviación Estándar			58.2895073
t Crítica _{95,3}			3.18
t Calculada			0.06

Se tiene que t Crítica_{95,3} > t Calculada ∴ se acepta H₀ pues no existe diferencia significativa entre los valores de Concentración permeada a las 24 hrs del Parche Control y Parche con Promotor.