



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN**

**Efecto del batil-alcohol como
modulador de la absorción
transdérmica de avobenzona**

TESIS

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

PRESENTA:

GERARDO SANTILLÁN GARCÍA

ASESORA:

Dra. MARÍA GUADALUPE NAVA ARZALUZ

COASESORA:

Dra. FLORA ADRIANA GANEM RONDERO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

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

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

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

Efecto del batil-alcohol como modulador de la absorción transdérmica de avobenzona.

Que presenta el pasante: Gerardo Santillán García

Con número de cuenta: 308155907 para obtener el Título de la carrera: Licenciatura en Farmacia.

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

ATENTAMENTE

"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 08 de Octubre de 2018.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	Dr. Julio César Botello Pozos	
VOCAL	Dra. Elizabeth Piñón Segundo	
SECRETARIO	Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz	
1er. SUPLENTE	Dr. José Juan Escobar Chávez	
2do. SUPLENTE	M.C. Miriam Aidé Castillo Rodríguez	

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

LMCF/cga*

Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Investigación y Posgrado en Tecnología Farmacéutica (L-322), Campo 1 de la FES-Cuautitlán UNAM

Investigación realizada gracias al programa UNAM-DGAPA-PAPIIT-IN216016 y PIAPI1803, FES-Cuautitlán, UNAM

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) por brindarme un lugar dentro de sus instalaciones desde mi preparación en el bachillerato y en particular a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán (FESC) por favorecer y aportar los medios necesarios para la expansión de mi camino dentro del conocimiento.

A mi asesora la Dra. María Guadalupe Nava Arzaluz por aceptarme dentro de su tutoría y brindarme todo el apoyo posible, ya que sin su asesoría este trabajo no hubiese podido llevarse a cabo.

A mi co-asesora la Dra. Flora Adriana Ganem Rondero que me brindó la oportunidad de ser parte de su equipo de trabajo y concederme un lugar dentro de su línea de investigación, así como la facilitación de su equipo y recursos.

A Todos mis profesores de la licenciatura que me brindaron sus conocimientos tanto teóricos como prácticos

A cada uno de mis compañeros del laboratorio L-322 por su apoyo, amistad y aceptación.

A mi mejor amiga de la licenciatura Mágica Flor Del rio Porras por incentivar me con sus palabras y amistad incondicional.

A mi compañera de vida Priscila Abasolo Hernández por creer siempre en mí y demostrarme que todo se puede lograr en esta vida con esfuerzo y dedicación.

A mi familia, por aceptarme tal como soy.

DEDICATORIAS

“JEFA”

Te dedico este trabajo porque tú eres la única persona a la cual le debo este camino emprendido. Espero que estés tan orgullosa de mí, como lo estoy yo de ti. Te amo. ¡Gracias por tu confianza!

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS.....	iii
ÍNDICE DE TABLAS	iv
LISTA DE ABREVIATURAS.....	v
1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	2
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 La piel.....	4
3.2 Estructura de la piel	6
3.2.1 Epidermis	7
3.2.2 Dermis.....	10
3.2.3 Hipodermis	10
3.2.4 Anexos cutáneos.....	10
3.3 Composición química de la piel.....	14
3.4 Funciones de la piel	15
3.4.1 Órgano de protección y frontera	15
3.4.2 Función sensitiva	15
3.4.3 Función de comunicación y expresión.....	16
3.4.4 Función metabólica y de reserva.....	16
3.5 Permeación/Administración transdérmica.....	16
3.6 Ley de Fick	20
3.7 Moduladores de la permeación.....	22
3.7.1 Promotores de la absorción.....	23
3.7.1.1 Promotores físicos.....	23
3.7.1.2 Promotores químicos	23
3.7.1.2.1 TRANSCUTOL® (Carbitol o monoetil éter de dietilenglicol)	24
3.7.2 Retardadores de la absorción	25
3.8 El sol.....	26
3.8.1 Radiación solar	26
3.8.2 Penetración de la radiación UV en la piel	30
3.8.3 Reacciones biológicas fotoinducidas	30
3.8.4 Efectos benéficos del sol a la piel	30
3.8.5 Agresiones de los radicales libres	31
3.8.6 Protección antirradicalar	31
3.9 Filtros solares	32
3.9.1 Filtros inorgánicos	33
3.9.2 Filtros orgánicos	34
3.9.3 Fotoprotectores organominerales.....	37

3.10 Avobenzona.....	37
4. JUSTIFICACIÓN.....	39
5. HIPÓTESIS	41
6. OBJETIVOS.....	42
6.1 Objetivo general.....	42
6.2 Objetivos particulares.....	42
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	43
7.1 Reactivos, material y equipos.....	43
7.2 Metodología.....	45
7.2.1 Preparación de la solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.4	45
7.2.2 Determinación de la λ de máxima absorción de la AVB en etanol.....	45
7.2.3 Prueba de solubilidad	45
7.2.4 Preparación del medio para el método analítico para cuantificar la AVB que pasa a través de la piel	46
7.2.5 Obtención de la λ (longitud de onda) de máxima absorción de AVB en SAF pH=7.4 + 6 % de Tween® 20 + piel.....	47
7.2.6 Desarrollo del método analítico	47
7.2.6.1 Determinación de la linealidad del método.	47
7.2.6.2 Determinación de la precisión del método	47
7.2.6.3 Determinación de la exactitud del método	48
7.2.6.4 Límite de detección y cuantificación del método	48
7.2.6.5 Preparación de la curva de calibración para cuantificar la cantidad de AVB en las cintas adhesivas.	48
7.2.7 Evaluación de la permeación pasiva <i>in vitro</i> de AVB con/sin BA.	49
7.2.8 Determinación de la distancia de penetración de AVB mediante <i>Tape-Stripping</i>	50
8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	51
8.1 Métodos analíticos	51
8.1.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de AVB en etanol.....	51
8.1.2 Determinación de la solubilidad de la AVB	51
8.1.3 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de AVB en SAF pH=7.4 adicionada con 6% de Tween® 20 en contacto con piel	52
8.1.4 Especificidad.....	53
8.1.5 Linealidad del sistema. Curva de calibración para cuantificar AVB en un medio biológico (SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20- Piel de cerdo).....	53
8.1.6 Precisión del sistema (Repetibilidad entre días)	54
8.1.7 Exactitud.....	55
8.1.8 Límite de detección y cuantificación	55
8.1.9 Linealidad del sistema. Curva de calibración para cuantificar AVB en un medio biológico mediante <i>Tape-Stripping</i> (SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20 - Piel de cerdo).....	56
8.2 Estudios de permeación	57
8.2.1 Permeación <i>in vitro</i> de AVB.....	57
8.2.2 Permeación <i>in vitro</i> de AVB mediante <i>Tape-Stripping</i>	60

9. CONCLUSIONES	62
10. PERSPECTIVAS	63
11. REFERENCIAS	64
12. ANEXOS	68
12.1 Anexo I.....	68
12.2 Anexo II.....	69
12.3 Anexo III.....	70
12.4 Anexo IV.....	72
12.5 Anexo V.....	73
12.6 Anexo VI.....	74
12.7 Anexo VII.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de superficie representada por cada una de las regiones corporales (en porcentaje)	6
Figura 2. Estructura de la piel	7
Figura 3. Estratos de la epidermis	9
Figura 4. Glándula sudorípara ecrina y apocrina	11
Figura 5. Folículo pilosebáceo	12
Figura 6. Folículo piloso	12
Figura 7. Estructura de la uña	14
Figura 8. Representación de la difusión de un fármaco a través de la piel	18
Figura 9. Representación de las principales vías de absorción percutánea	19
Figura 10. Vías de administración transdérmica. Intercelular y transcelular	19
Figura 11. Gráfico típico de un estudio de permeación	22
Figura 12. Estructura química del Transcutol®	25
Figura 13. Alquilglicerol principales	26
Figura 14. Transmisión de la luz del sol en la piel	27
Figura 15. Fotodegradación irreversible de la AVB	38
Figura 16. Espectro de absorción en la región ultravioleta de AVB en etanol como disolvente. λ max a 357.5 nm	51
Figura 17. Determinación de la longitud de absorción máxima en SAF- 6% Tween®20- Piel . 52	
Figura 18. Espectros de absorción en la región ultravioleta de AVB en SAF pH= 7.4- Tween® 20- Piel y SAF pH=7.4-Tween® 20- Piel	53
Figura 19. Curva de calibración de la AVB en SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20- Piel de cerdo	54
Figura 20. Curva de calibración para la técnica del Tape-Stripping.	57
Figura 21. Permeación del filtro solar AVB en Transcutol® a través de piel de cerdo extirpada	58

Figura 22. Cantidad de AVB retenida en la piel (μg) después de la permeación usando Transcutol® como disolvente y BA como modificador de la permeación (Sin = Sin BA; Con = Con BA) 59

Figura 23. Profundidad de permeación con/sin BA (● Sin batil-alcohol, ▲ con batil-alcohol)... 61

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación de los tipos de piel de acuerdo con su grosor.....	5
Tabla 2. Tipos de piel según la secreción.....	5
Tabla 3. Características de glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas.....	13
Tabla 4. Características ideales de un fármaco para la vía transdérmica.....	17
Tabla 5. Capacidad de las moléculas para la penetración transdérmica.....	17
Tabla 6. Propiedades del Transcutol®.....	25
Tabla 7. Comparación de las radiaciones UVA y UVB.....	29
Tabla 8. Principales filtros inorgánicos.....	33
Tabla 9. Principales familias de filtros orgánicos.....	34
Tabla 10. Filtros solares aprobados por la FDA.....	35
Tabla 11. Resultados de la prueba de solubilidad.....	68
Tabla 12. Datos de la curva de calibración en solución de PBS pH 7.4 – 6% Tween 20- Piel de cerdo.....	69
Tabla 13. Datos de Validación curva de calibración de PBS pH 7.4 – 6% Tween® 20- Piel de cerdo.....	69
Tabla 14. Resultados obtenidos para determinar la precisión del sistema. Día 1.....	70
Tabla 15. Resultados obtenidos para determinar la precisión del Sistema. Día 2.....	71
Tabla 16. Resultados obtenidos para determinar la exactitud del sistema.....	72
Tabla 17. Prueba t para dos muestras con varianzas iguales.....	72
Tabla 18. Resultados obtenidos para la determinación de Límite de detección y cuantificación del sistema.....	73
Tabla 19. Límites de Detección y Cuantificación para el sistema.....	73
Tabla 20. Datos de la curva de calibración para el Tape-Stripping.....	74
Tabla 21. Prueba t para dos muestras con varianzas diferentes. Comparación entre retención de AVB en la piel con y sin el uso de BA.....	75

LISTA DE ABREVIATURAS

Símbolo/abreviatura	Significado
AVB	Avobenzona
AG	Alquilglicerol
BA	Batil-alcohol
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios
DESV. STD	Desviación estándar
EC	Etrato Córneo
FDA	Administración de Alimentos y Medicamentos por sus siglas en inglés
mg/mL	Miligramos contenidos de analito por mililitro de solución
µg/mL	Microgramos contenidos de analito por mililitro de solución
pH	Potencial de hidrógeno
PG	Polietilenglicol
SAF	Solución amortiguadora de fosfatos
TS	<i>Tape-Stripping</i>
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta tipo B
UVB	Ultravioleta tipo A
NOM	Norma Oficial Mexicana
λ_{max}	Longitud de máxima absorción
O/W	Emulsión Aceite-Agua por sus siglas en inglés
PABA	Ácido p-aminobenzoico por sus siglas en inglés
W/O	Emulsión Agua-Aceite por sus siglas en inglés
% CV	Porcentaje de coeficiente de variación

1. RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto modulador del batil alcohol (BA) sobre la permeación transdérmica de un filtro solar muy utilizado; la avobenzona (AVB). En el estudio de permeación *in-vitro* utilizando celdas de difusión tipo Franz y empleando como membrana piel de oreja de cerdo, se observó que la AVB disuelta en Transcutol® es capaz de permear a través de la piel obteniéndose un flujo de $3.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}$. Sin embargo, al adicionar el BA al 1% junto con la AVB en Transcutol® no se detectó AVB en la fase receptora, por lo que se puede decir que el BA actúa como retardante de la permeación de AVB. También se encontró que el BA redujo la cantidad de AVB retenida en la piel, pero no se encontró diferencia significativa con la cantidad retenida de AVB en los estudios que no se empleó BA. Se realizó la técnica de tape stripping (TS) para evaluar la distancia de penetración del filtro solar. Determinándose que la distancia de penetración de AVB fue menor al estar presente en la solución el BA. El efecto retardante de este modulador de la permeación puede sugerir su posible aplicación en fotoprotectores tópicos, con una eficacia mejorada y efectos secundarios reducidos.

Palabras Clave: Permeación transdérmica, Avobenzona, Filtro solar, Batil-alcohol, Moduladores de absorción.

2. INTRODUCCIÓN

La radiación solar es imprescindible para la vida, pero en ciertas circunstancias puede causar efectos dañinos sobre la piel, la exposición excesiva a esta radiación causa daños que pueden ir desde quemaduras solares hasta cáncer de piel, por lo que el uso de fotoprotectores tópicos ha ido en aumento, no obstante, algunos fotoprotectores químicos como la AVB pueden penetrar a través de la piel, no siendo del todo seguros.

La radiación solar que recibimos está compuesta entre otras por las radiaciones ultravioleta y visible. Los daños producidos en la piel se deben a la radiación ultravioleta (UV), esta se divide en rayos UV tipo A (UVA), tipo B (UVB) y tipo C (UVC) esta última no llega a la superficie terrestre gracias a la capa de ozono y de la radiación UV solo nos llega el 5%. Una medida de protección y prevención para evitar que la radiación UV llegue a producir daños es la aplicación tópica de productos que contengan en su formulación compuestos que de algún modo eviten el contacto de la radiación con la piel, a estos compuestos se les llama filtros solares. Existen dos tipos de filtros solares, los filtros solares inorgánicos que reflejan y dispersan los rayos UV y los filtros solares químicos orgánicos que absorben la radiación solar y disipan la energía en radiación de menor energía. Además de clasificarse por su función, los filtros solares también se clasifican de acuerdo con los tipos de rayos UV de los cuales protegen a la piel, ya que pueden resguardar de los UVA, otros de los UVB e incluso existen filtros que actúan protegiendo de ambas radiaciones (González, 2010).

La regulación que deben seguir los productores de filtros solares en México es la NOM 141 SSA1/SCFI-2012 que regula y reglamenta las leyendas de las etiquetas y con el Acuerdo por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza, que en su apartado quinto enlista las sustancias que pueden utilizarse en la manufactura de filtros solares.

El llamado ácido para-amino benzoico (PABA) es el primer filtro solar que se utilizó en la industria cosmética, su uso ha decaído enormemente debido a que pueden causar alergias. Los filtros solares más empleados en la industria mexicana son: la Oxibenzona (OB), el Octil metoxicinamato (OMC) y la Avobenzona (AVB).

Es deseable que los filtros solares no sean absorbidos a capas profundas de la piel y mucho menos que pasen a circulación sistémica, ya que algunos han mostrado tener efectos tóxicos.

Dado que la sociedad busca protegerse con mayor eficacia y durante mayor tiempo. La elaboración de este trabajo es muy importante en la innovación de estos productos ya que se demuestra que el BA puede evitar que la AVB se absorba quedando retenida en las capas superiores de la piel, lo que mejoraría la eficacia

del filtro solar al delimitar el paso en el EC exclusivamente que es en donde se pretende ejerza su acción, por lo que el BA podría ser incluido en fotoprotectores tópicos aumentando la seguridad de estos.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 La piel

La piel es un órgano complejo que protege al organismo del ambiente y, al mismo tiempo, permite su interacción con el mismo. La piel es una estructura dinámica y compleja integrada por células, tejidos y elementos de la matriz extracelular (Wolf *et al.* 2009). Es el órgano más grande del cuerpo y no solo proporciona una cobertura superficial, sino que también es un órgano sensorial dotado de múltiples terminaciones nerviosas que le confieren sensibilidad al tacto, a la presión, a los cambios de temperatura y a los estímulos dolorosos (Palastanga, *et al.* 2000). En los adultos, la piel ocupa una superficie alrededor de 2 m² y pesa entre 4,5 y 5 kg, es decir aproximadamente el 7 % del peso corporal total. Su grosor varía entre 0.5 mm en los párpados hasta 4 mm en el talón, sin embargo, en la mayor parte del cuerpo su espesor oscila entre 1 y 2 mm. La diferencia se debe, sobre todo, a la variación en el grosor de la dermis y de epidermis (de las cuales se mencionarán aspectos importantes posteriormente) y por ello existe una clasificación que las divide como gruesa o delgada (Anguiano, 2017). Tabla 1.

Se pueden utilizar diferentes criterios para clasificar la piel, uno de los más aceptados se basa en la naturaleza de la emulsión que se forma sobre la superficie corporal entre las moléculas lipídicas y acuosas presentes en su superficie, denominada manto hidrolipídico o emulsión epicutánea; ver Tabla 2.

Como ya se mencionó, el grosor de la piel depende del espesor de la epidermis y la dermis. En las palmas de las manos y plantas de los pies, la epidermis es responsable del espesor de la piel, mientras que la dermis es relativamente fina. Esta disposición protege la dermis subyacente, pues estas zonas están sometidas a un gran desgaste. El carácter de la superficie flexora y extensora de la piel difiere en otros aspectos aparte del espesor. La piel de las áreas extensoras de las extremidades tiende a tener más vello que la piel de las áreas flexoras, si bien ésta suele ser mucho más sensible porque su inervación es más abundante (Palastanga, *et al.* 2000).

La piel se divide en función de los puntos de referencia anatómo-topográficos en distintas regiones cutáneas (regiones corporales): cara, cabeza con pelo (cuero cabelludo, *capitillium*), cuello, pecho, abdomen, espalda, genitales, región anal, periné, brazos y piernas. También se utilizan los conceptos de tronco (cuerpo sin extremidades) y torso (cuerpo sin cabeza, cuello ni extremidades). La piel de cada una de las regiones muestra diferencias claras en su grosor, color y en la distribución de los anexos. En determinadas circunstancias se puede demostrar divisiones de la piel en forma de líneas. Para estimar de modo aproximado el porcentaje de superficie que ocupa cada región cutánea se debe recordar la “regla de los nueves”: cabeza 9%, cada brazo 9%, parte anterior del tronco 18%, cada pierna con glúteo 18% y genitales 1% (aplicable para los adultos ya que en los niños los valores son

diferentes, ver Figura 1. Los labios, la mucosa oral, la región anal y perianal y la región genital son zonas cutáneo-mucosas especiales (Rassner, 1997).

Tabla 1. Clasificación de los tipos de piel de acuerdo con su grosor (Anguiano, 2017).

Tipo de piel	Localización	Características
Piel gruesa	Palmas de las manos y plantas de los pies	La epidermis mide casi 0.5 mm de grueso, a causa de una capa superficial muy gruesa de células muertas; el estrato córneo (EC). La dermis mide 0.2mm de grueso Abundan glándulas sudoríparas eccrinas. Ausencia de vellos y glándulas sebáceas.
Piel delgada	Resto del cuerpo	Tiene una epidermis de casi 0.1 mm de grueso y un EC delgado. La dermis mide 0.05 mm de grueso Menor cantidad de glándulas sudoríparas. Presencia variable de vellos y glándulas sebáceas.

Tabla 2. Tipos de piel según la secreción (Altamirano, 2015).

	Piel seca	Piel normal	Piel grasa
Tipo de emulsión	O/W	O/W*	W/O*
Secreción sebácea	Escasa	Media	Alta
Tamaño de poro	Pequeño	Normal	Grasa

*O/W: emulsión aceite en agua; W/O: emulsión agua en aceite

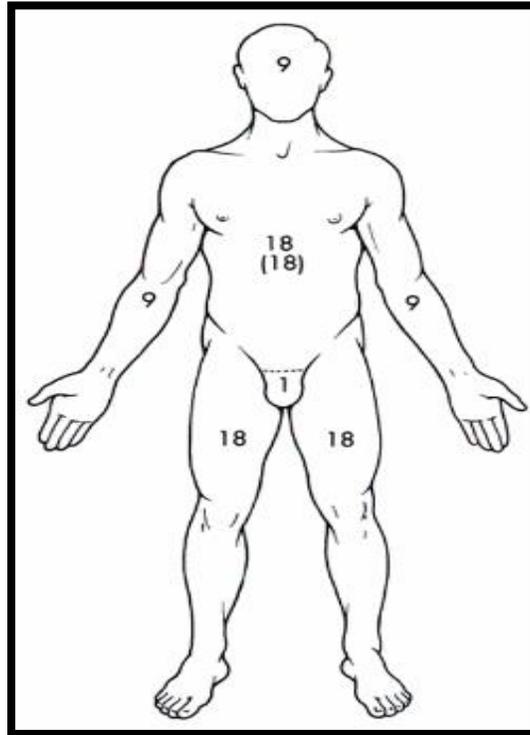


Figura 1. Porcentaje de superficie representada por cada una de las regiones corporales (en porcentaje) (Rassner, 1997).

3.2 Estructura de la piel

La piel consta de una capa superficial de origen ectodérmico llamada *epidermis* y de una capa mesodérmica más profunda llamada *dermis* (Thews, 1983). La Figura 2 muestra la estructura general de la piel. La epidermis es una estructura que se renueva continuamente y que da origen a estructuras derivadas denominadas apéndices (unidades pilocebáceas, uñas y glándulas sudoríparas) (Wolff, *et al.* 2009). La epidermis es avascular, mientras que la dermis esta vascularizada. Debajo de la dermis está el tejido subcutáneo, esta capa se llama hipodermis y está constituida por tejido conjuntivo laxo (aerolar) y adiposo. Las fibras que se extienden desde la epidermis fijan la piel al tejido subcutáneo, el cual a su vez se adhiere a la fascia subyacente, que ésta compuesta por tejido conectivo que rodea los músculos y huesos. El tejido subcutáneo almacena grasa y contiene vasos sanguíneos grandes que irrigan la piel, esta región (y en ocasiones la dermis) también contiene terminaciones nerviosas denominadas corpúsculos de Pacini que son sensibles a la presión (Anguiano, 2017).

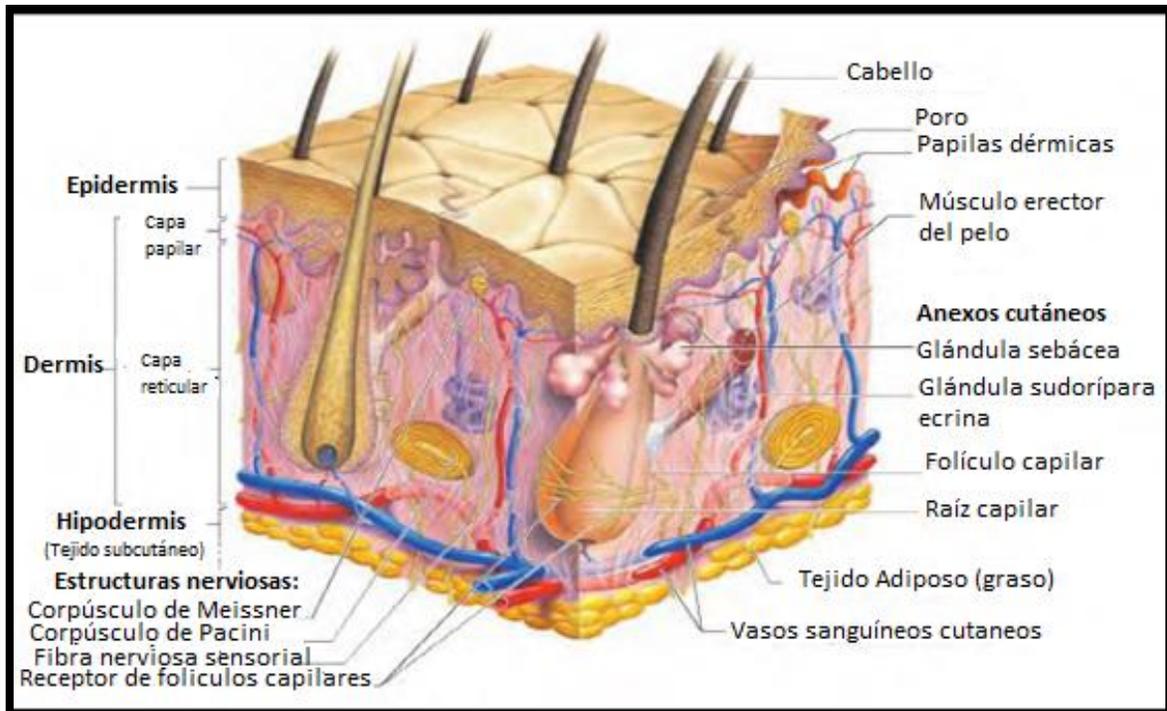


Figura 2. Estructura de la piel (Marieb, 2008).

3.2.1 Epidermis

La epidermis tiene un espesor de 0,4 a 1,5 mm mientras que el espesor total de la piel es de 1,5 a 4,0 mm. La mayor parte de las células de la epidermis son queratinocitos que están organizados en cuatro o cinco capas según la región corporal, denominadas según su posición o alguna propiedad estructural de sus células. Estas células se diferencian progresivamente a partir de las células basales proliferativas adheridas a la membrana basal epidérmica, hasta las células terminalmente diferenciadas del EC queratinizado, la capa más externa que constituye la barrera de la piel intercaladas entre los queratinocitos a niveles variados se encuentra otras células: melanocitos, células de Langerhans (células dendríticas del sistema inmune) y células de Merkel (células del sistema nervioso periférico) (Wolff *et al.*, 2009).

- **Queratinocitos:** Alrededor del 90 % de las células de la epidermis son queratinocitos, que están distribuidos en cuatro o cinco capas y producen la proteína queratina. La queratina es una proteína fibrosa resistente que ayuda a proteger la piel y los tejidos subyacentes de: las abrasiones, el calor, los microorganismos y los compuestos químicos. Los queratinocitos también producen gránulos lamelares, que liberan lípidos que repelen el agua y disminuye la entrada y la pérdida de esta, además de inhibir el ingreso de materiales extraños.
- **Melanocitos:** Alrededor del 8% de las células epidérmicas son melanocitos, solo se presentan en el estrato basal. Sintetizan las melaninas, unos

pigmentos que van de color amarillo-rojizo a pardo-negruzco que contribuyen a otorgarle el color a la piel y absorben los rayos UV.

- **Células de Langerhans:** También denominadas células dendríticas epidérmicas, se originan en la médula ósea migran a la epidermis y el epitelio de la cavidad oral, el esófago y la vagina. Se encuentran en dos capas de la epidermis: el estrato espinoso y el estrato granuloso, la epidermis tiene aproximadamente 800 células dendríticas por mm², estas células participan en la respuesta inmunitaria contra los microorganismos que invaden la piel y son muy sensibles a la luz UV.
- **Células de Merkel:** Las células táctiles (de Merkel) son las menos numerosas de la epidermis, están localizadas en la capa más profunda de la epidermis, donde entran en contacto con prolongaciones aplanadas de las neuronas sensitivas (células nerviosas) denominadas discos (táctiles) de Merkel. Las células y los discos de Merkel perciben las sensaciones táctiles (Anguiano, 2017).

La epidermis es la capa más superficial y tiene un espesor variable, máximo en las regiones palmo plantares (1mm) y mínimo en los párpados (50µm). Esta capa posee una función protectora o de barrera: i) es semipermeable frente a la penetración de sustancias químicas y de líquidos gracias a la capa córnea constituida como consecuencia de la maduración de los queratinocitos, ii) es una protección frente al sol gracias a la presencia de melanocitos como se mencionó anteriormente, iii) es una barrera inmunológica (Altamirano, 2015). La epidermis tiene cinco estratos: basal, espinoso, granuloso, estrato lúcido y una capa córnea gruesa, ver Figura 3.

- **Estrato basal:** Formado de una capa de queratinocitos cúbicos, además se encuentran dispersos melanocitos, células de Langerhans y células de Merkel. Esta capa es la más profunda de la epidermis, siendo la función de esta la formación de nuevas células. Las células formadas sufren cambios morfológicos y nucleares a medida que son empujadas hacia arriba por las células en división que se encuentran por debajo de ellas, para así pasar a formar parte de los estratos más superficiales de la piel.
- **Estrato espinoso:** Situado en la parte superior del estrato basal, el cual está formado de 8-10 capas de queratinocitos cuya forma es poliédrica, algunos de los cuales conservan su capacidad de división celular, a medida que se les empuja hacia arriba dejan de dividirse, en cambio, producen cada vez más filamentos de queratina, lo que causa que su aspecto se aplane, por tanto, cuanto más arriba se observa el estrato espinoso, más planas son las células.
- **Estrato granuloso:** Se le denomina de esta manera, debido a que en este se encuentran presentes gránulos de color oscuro que se debe a la proteína denominada queratohialina. El estrato granuloso está formado por 3 a 5 capas de queratinocitos aplanados, estando sus núcleos en proceso de degeneración constante. Su función es la de producir una capa impermeable

que retrasa la salida de líquidos corporales e impide la entrada de materiales extraños al cuerpo humano.

- **Estrato lúcido:** Consiste en cuatro a seis capas de queratinocitos muertos, que son aplanados y transparentes, contienen grandes cantidades de queratina y membranas plasmáticas engrosadas. Está presente únicamente en la piel gruesa (yemas de los dedos, palmas de las manos, y planta de los pies).
- **Estrato córneo (EC):** Conformado de 25-30 capas de queratinocitos muertos (córneocitos), cuya forma es aplanada. Estas células contienen la proteína queratina y filamentos intermedios, entre estas células se encuentran lípidos que le confieren permeabilidad selectiva al estrato. Este estrato tiene la función de protección contra microorganismos, lesiones y pérdida excesiva de agua. Esta compleja organización de células y lípidos ofrece resistencia a la mayoría de los agentes cosméticos y farmacológicos, por lo que es un obstáculo para que los productos administrados tópicamente ejerzan su efecto. Esto ha limitado el número de candidatos cosméticos y de fármacos que se pueden administrar por vía transdérmica y los productos transdérmicos comerciales que están disponibles para uso humano solo están limitados a una cierta categoría de moléculas. En los últimos 50 años se han llevado a cabo investigaciones considerables sobre las propiedades de barrera de la piel y las formas de superarlas, evaluando los parámetros que rigen la penetración de una molécula a través de esta (Altamirano, 2015; Anguiano, 2017; Gabriel, 2014).

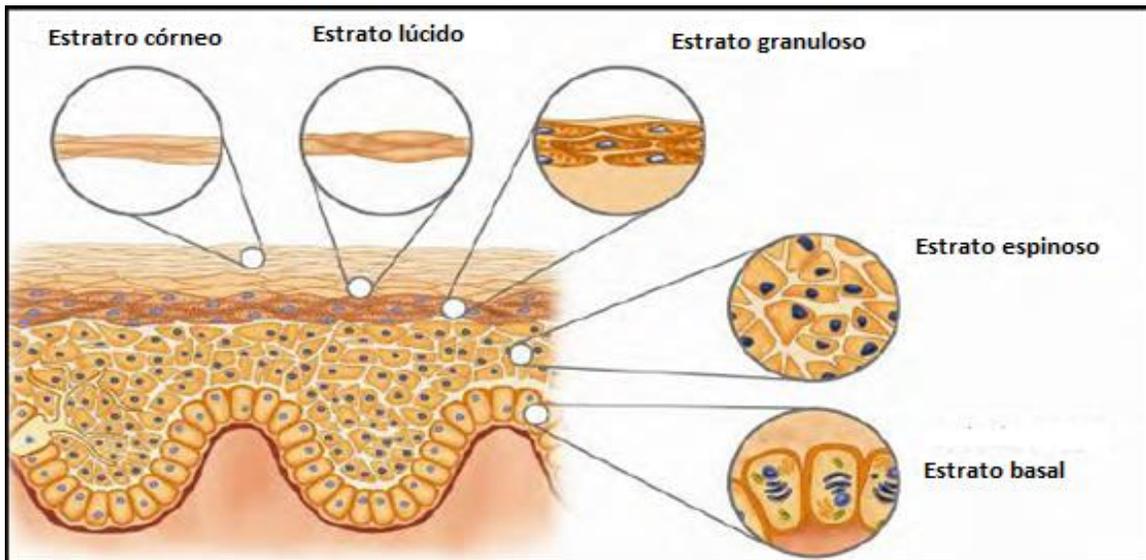


Figura 3. Estratos de la epidermis.

<http://www.inexpertablog.com/2012/10/epidermal-re-texturizig-micro.html>

3.2.2 Dermis

La dermis es un sistema integrado de elementos fibrosos, filamentosos, difusos y celulares de tejido conjuntivo, en el que se localizan las redes vasculares y nerviosas, los apéndices derivados de la epidermis, y contiene muchos tipos de células residentes, entre las que se encuentran los fibroblastos, macrófagos, células mastoideas y células circulantes transitorias del sistema inmunitario (Wolff *et al.*, 2009). Se divide en una capa superficial de textura fina llamada *capa papilar*, la cual, aunque claramente separada, se interdigita con la epidermis, y una *capa reticular* más profunda y áspera, que se mezcla gradualmente con el tejido conectivo subcutáneo subyacente (Palastanga *et al.*, 2000).

- **Capa papilar:** Es una zona superficial de tejido conectivo laxo, que contacta con la membrana basal. Representa alrededor de la quinta parte del grosor total y consiste en fibras delgadas de colágeno y elastina. Todas las papilas dérmicas contienen asas capilares (vasos sanguíneos) y algunas también presentan receptores táctiles llamados corpúsculos de Meissner o corpúsculos táctiles. Que son terminaciones nerviosas libres.
- **Capa reticular:** Contiene la mayoría de los anexos de la piel. Está constituida por tejido conectivo con fibras elásticas que se disponen en todas las direcciones y se ordenan en forma compacta, dando resistencia y elasticidad a la piel. Posee fibras musculares lisas que corresponden a los músculos erectores de los pelos (Altamirano, 2015).

3.2.3 Hipodermis

La hipodermis es la capa más interna de la piel, se trata de un tejido conjuntivo laxo que, según las zonas de la piel y el estado nutricional, resulta más o menos rico en tejido adiposo. Esta capa no está distribuida con uniformidad; por ejemplo, se encuentra casi ausente en el cuero cabelludo, pero es abundante en mamas, abdomen, cadera y muslos. El grosor de esta capa es en promedio 8% mayor en mujeres que en hombres y varía con la edad. La hipodermis rellena el cuerpo y une la piel con los tejidos subyacentes, además sirve como depósito de energía y aislamiento térmico, sin embargo, la función principal de esta capa es transportar los sistemas vasculares y neurales para la piel (Anguiano, 2017).

3.2.4 Anexos cutáneos

Estos apéndices (anexos) surgen en la epidermis y desempeñan una función única en el mantenimiento de la homeostasis corporal. Podemos encontrar tres tipos: las glándulas sudoríparas, folículos pilosebáceos y uñas (Anguiano, 2017).

- **Glándulas sudoríparas:** Las glándulas sudoríparas están repartidas por la piel. Su número varía; en promedio más de 2.5 millones por persona. Hay dos tipos de glándulas sudoríparas, ecrinas y apocrinas, ver Figura 4. En la Tabla 3 se muestran las características de éstas.
- **Folículos pilosebáceos:** Aparece como invaginaciones de la epidermis que penetran más o menos profundamente en la dermis, llegando a veces a la hipodermis, según su grado de desarrollo. Estos folículos pilosebáceos, ver Figura 5 recubren toda la piel, con excepción de las regiones palmoplantares y labios. Están constituidas por: folículo piloso, el pelo, glándulas sebáceas y músculo erector del pelo.
 - **Folículo piloso:** Las funciones del folículo piloso son: sensorial, excreción de sebo y protección. El infundíbulo es la parte superior del folículo piloso y consiste en una porción superior e inferior. En total cada individuo humano muestra un número estimado de cinco millones de folículos pilosos, ver Figura 6.
 - **Pelo:** Se distribuyen por toda la piel en número, longitud y grosor variables, a excepción de ciertas regiones, como las palmas de las manos y de los pies. Están formados por células epiteliales queratinizadas sin núcleo, contienen gránulos de melanina (pigmento responsable del color).
 - **Glándulas sebáceas:** Se encuentran en toda la piel, el producto de éstas se le conoce como sebo, que es una mezcla de sustancias aceitosas y células fragmentadas, el sebo es un lubricante que mantiene la piel suave, tersa y evita que el pelo se quiebre. El sebo también contiene sustancias químicas que inhibe las bacterias, de modo que resulta importante para evitar que las bacterias presentes en la superficie cutánea invadan las zonas más profundas de la piel.

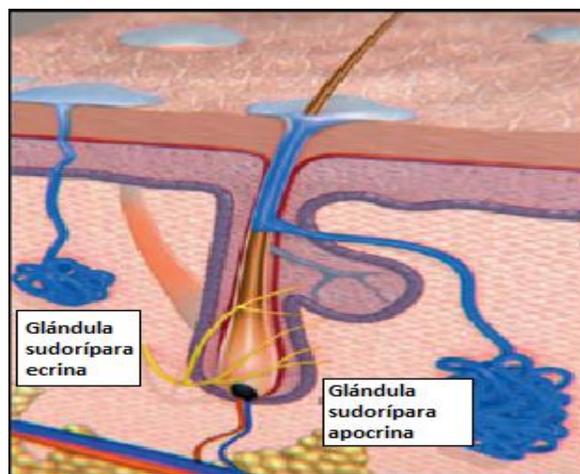


Figura 4. Glándula sudorípara ecrina y apocrina. Leger, C. (s.f). Clinica Leger.
 Recuperado el 20 de agosto de 2017, de <http://www.clinicaleger.com.br/miradry.html>

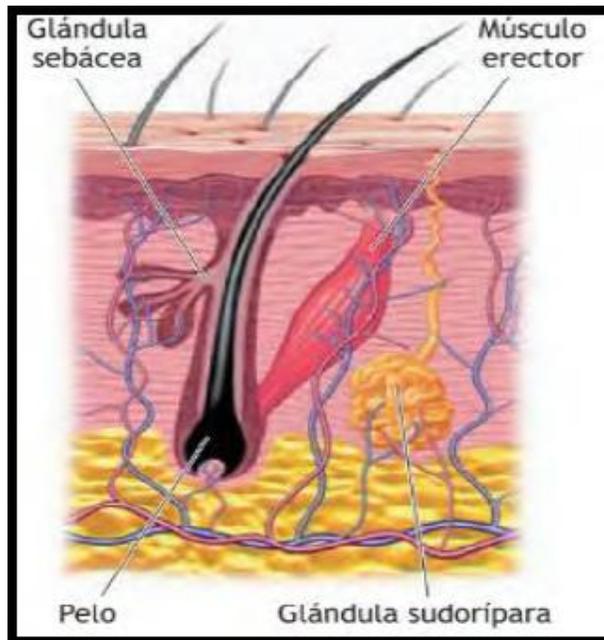


Figura 5. Folículo pilosebáceo (Cardelús *et al.*, 2013).

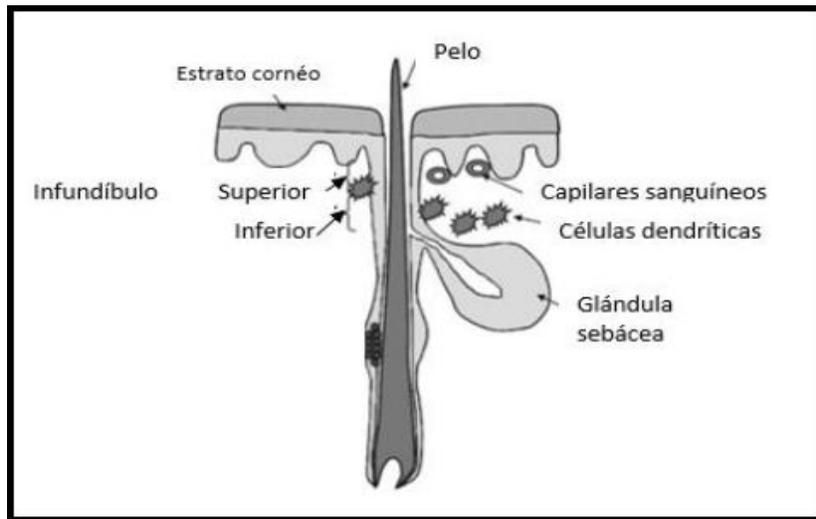


Figura 6. Folículo piloso (Patzelt & Lademann, 2015).

- **Músculo erector del pelo:** Son fibras musculares lisas cuyo extremo profundo se inserta en el pelo mientras que el superficial lo hace en la capa papilar de la dermis. Su contracción bajo el efecto del frío, miedo, etc., desencadena la erección de los pelos.

Tabla 3. Características de glándulas sudoríparas ecrinas y apocrinas (Avril, 2004; Cardelús et al., 2013; Marieb, 2008).

Glándulas sudoríparas ecrinas	Glándulas sudoríparas apocrinas
<ul style="list-style-type: none"> • Se encuentran por toda la piel, en mayor número en las palmas, plantas de los pies y manos. Su número oscila entre 2 y 5 millones en total. • Estas glándulas producen sudor, el cual es una secreción transparente formada por sustancias, principalmente por agua y algunas sales (NaCl), vitamina C, restos de desperdicios metabólicos (amoníaco, urea, ácido úrico) y ácido láctico (una sustancia que se acumula durante la actividad muscular vigorosa). El sudor es ácido (pH de 4 a 6), una característica que inhibe el crecimiento de las bacterias, que siempre están presentes en la superficie cutánea. • Son una parte importante y muy eficaz en la regulación del calor corporal. Están llenas de terminaciones nerviosas que hacen que secreten sudor cuando la temperatura externa o la temperatura corporal son elevadas. 	<ul style="list-style-type: none"> • Se encuentran en gran medida en la zona de las axilas y la zona genital del cuerpo. • Suelen ser mayores que las glándulas ecrinas y sus conductos se vacían en los folículos capilares. • Su secreción contiene ácidos grasos y proteínas, así como todas las sustancias presentes en la secreción ecrina; por tanto, pueden tener un color lechoso o amarillento, La secreción es inodora, pero cuando las bacterias que viven en la piel utilizan sus proteínas y grasas como fuente de nutrientes para su crecimiento, adquiere un olor desagradable. • Aunque su secreción se produce casi continuamente, las glándulas sudoríparas apocrinas desempeñan una función ínfima en la regulación térmica. Aún se desconoce su función precisa, pero las activan las fibras nerviosas ante las sensaciones dolorosas y estresantes.

- **Uñas:** Cada una tiene un borde libre, un cuerpo (parte unida visible) y una raíz (incrustada en la piel). Los bordes de la uña tienen pliegues cutáneos superpuestos, denominados pliegues ungueales, el pliegue ungueal proximal grueso suele denominarse cutícula. La Figura 7 muestra la estructura de la uña (Anguiano, 2017).

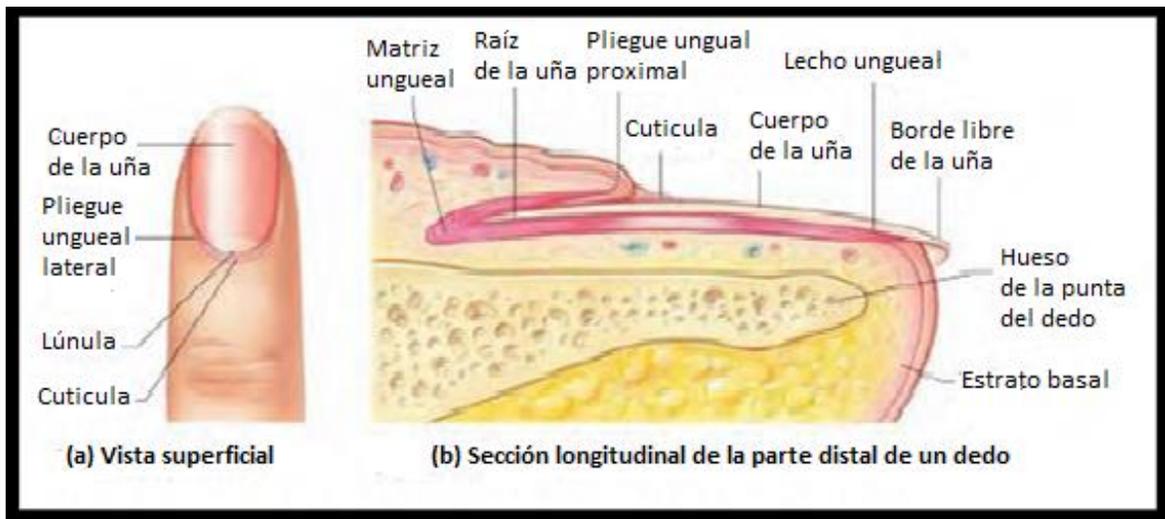


Figura 7. Estructura de la uña (Anguiano, 2017).

3.3 Composición química de la piel

La piel está constituida principalmente por cuatro componentes químicos:

- **Agua:** Constituye el 70-80% de la piel y el 10-15% pertenece a la capa córnea. Para que la capa córnea permanezca bien hidratada, es necesario que exista un equilibrio entre la difusión (que es el paso de agua desde la dermis hasta la epidermis) y la evaporación en la superficie y al mismo tiempo que la capacidad de la capa córnea para fijar el agua, sea óptima.
- **Carbohidratos:** Glucosa y ciertos glúcidos llamados mucopolisacáridos.
- **Lípidos:** Colesterol, fosfolípidos, entre otros, estos aseguran el mantenimiento de las propiedades de barrera de la piel y su protección contra los microorganismos.
- **Proteínas:** Son largas cadenas de aminoácidos, estas moléculas sirven para formar los tejidos y componentes que le dan características propias a la piel como la elastina, el colágeno, entre otras (Altamirano, 2015).

3.4 Funciones de la piel

La función de la piel depende de su situación única entre el “entorno” y el “interior”. Sus funciones principales de protección y comunicación se realizan tanto respecto del exterior como del interior.

3.4.1 Órgano de protección y frontera

- Protección y frontera con el mundo externo.
 - Defensa frente a las infecciones virales, bacterianas o por hongos: la película superficial cutánea tiene un efecto antimicrobiano, la capa córnea representa una barrera frente a los patógenos. Cuando se produce una herida (puerta de entrada), se desencadena una reacción defensiva de la piel en forma de inflamación local.
 - Defensa frente a los estímulos mecánicos nocivos: Las propiedades biomecánicas de la piel constituyen una barrera frente a las lesiones y heridas. La capa córnea compacta y flexible y el tejido conjuntivo rico en fibras de la dermis protegen a la piel de los estímulos nocivos cortantes.
 - Defensa frente a estímulos térmicos nocivos: la piel actúa como barrera aislante (sobre todo el tejido subcutáneo). La circulación sanguínea (un 90% de la circulación cutánea sirve para la termorregulación y un 10% para la nutrición) y la secreción de las glándulas sudoríparas permiten una termorregulación reactiva.
 - Defensa frente a las radiaciones nocivas: La piel refleja y absorbe la luz. Después de la reflexión/absorción de la luz en la película superficial y en la capa córnea, se produce la absorción de los rayos que hayan penetrado por la melanina. No obstante, los daños celulares (de los ácidos nucleicos) por la radiación se evitan por los mecanismos de reparación enzimáticos.
 - Frontera respecto del mundo interior: La piel impide el intercambio incontrolado de sustancias entre el cuerpo y el entorno, por lo que resulta fundamental para la homeostasis interna. Cuando se producen lesiones o defectos existe el riesgo de pérdida de líquido, electrolitos y proteínas con las consiguientes alteraciones del metabolismo o pérdidas de sangre. La pérdida de la piel sería mortal y se han empleado para la pena de muerte (desollamiento), como lo demuestra la obra artística del martirio de San Bartolomé (Miguel Ángel, capilla Sixtina) (Rassner, 1997).

3.4.2 Función sensitiva

La piel tiene receptores sensitivos repartidos en toda la superficie que le permiten el reconocimiento del medio ambiente y la defensa ante los peligros. Los estímulos

adecuados provocan las sensaciones de tacto, presión, temperatura y dolor y permiten el reconocimiento de la intensidad y la procedencia del estímulo (palpación de un tumor cutáneo, picadura de insecto en la espalda, uña dentro del zapato, agua demasiado caliente). Los estímulos pueden desencadenar reacciones motoras voluntarias o involuntarias reflejas (p. ej., control de la motricidad fina de la mano, reflejo de huida ante un estímulo doloroso, etc.) (Rassner, 1997).

3.4.3 Función de comunicación y expresión

La piel, como órgano superficial, desempeña un papel esencial en la comunicación psicosocial. Su aspecto será valorado para obtener conclusiones acerca de su edad, estado anímico, carácter (“la piel como espejo del alma”), pero también para descartar posibles enfermedades internas (“la piel como espejo de las enfermedades internas”). El estado y el aspecto de la piel determinan también en gran medida la propia imagen de uno mismo y por eso se manipulan de modo voluntario (cosméticos). Por tanto, la piel normal y patológica tienen una importante dimensión psicosocial (Rassner, 1997).

3.4.4 Función metabólica y de reserva

La piel puede acumular agua en forma de edema y desecarse ante una gran pérdida de agua (exicosis). Cuando se produce una sobrealimentación se puede acumular un exceso de grasa en la piel (adiposidad), mientras que en la desnutrición se pierde dicho depósito (caquexia). A nivel metabólico destaca la síntesis fotoquímica de la vitamina D (si falta la luz solar se puede producir raquitismo). Cuando se produce un exceso de metabolitos normales o patológicos, estos se pueden acumular en la piel (Rassner, 1997).

3.5 Permeación/Administración transdérmica

La permeación transdérmica o percutánea se define como el paso de una molécula a través de las capas de la piel. A pesar de que la piel tiene como función el evitar que sustancias exógenas entren al organismo, algunas sustancias al tener propiedades de liposolubilidad adecuadas se abren paso a través de ella. La piel tiene función de barrera, pero aun así ciertos productos químicos son capaces de pasar a través de ella, es por ello por lo que en los últimos años se ha optado por utilizarla como vía de administración de fármacos. Una de las principales limitantes de esta vía son las características del fármaco y la adecuación de éste a una formulación (Naik *et al.*, 2000). En las Tablas 4 y 5 se muestran las características ideales que debe tener un fármaco para poder ser utilizado en la vía transdérmica.

Tabla 4. Características ideales de un fármaco para la vía transdérmica (Flores, 2013).

Coefficiente de partición	10 <math>< K_{O/W} < 1000</math>
Peso molecular	< 400 Da
Punto de fusión	< 200 °C
Dosis terapéutica	< 10 mg /día
pH de saturación de la solución acuosa	pH 5-9
Solubilidad acuosa	> 1mg /mL

Tabla 5. Capacidad de las moléculas para la penetración transdérmica (Kingman et al., 1984).

Grado de penetración	Características
Pobre	Polímeros de alto peso molecular y macromoléculas (proteínas y polisacáridos)
Pobre	Electrolitos solubles en agua (Na ⁺ , Cl ⁻)
Pobre	Sustancias solubles en agua (glucosa, urea)
Buena	Sustancias liposolubles
Excelente	Sustancias liposolubles, no polares, bajo peso molecular

Los fármacos para que puedan ser absorbidos por la piel se enfrentan al EC y posteriormente deben difundir a través de los demás estratos de la epidermis y dermis, para así poder acceder a la circulación sistémica. Esto se lleva a cabo en varias etapas, ver Figura 8:

1. Disolución y liberación del fármaco a partir de la formulación.
2. Equilibrio de partición del fármaco en la capa más externa del estrato córneo.
3. Difusión del fármaco a través del estrato córneo por medio de la vía intercelular lipídica.
4. Partición del fármaco del estrato córneo hacia la epidermis viable acuosa.
5. Difusión hacia la dermis superior.

6. Incorporación del fármaco a la red capilar para su distribución sistémica (Flores, 2013).

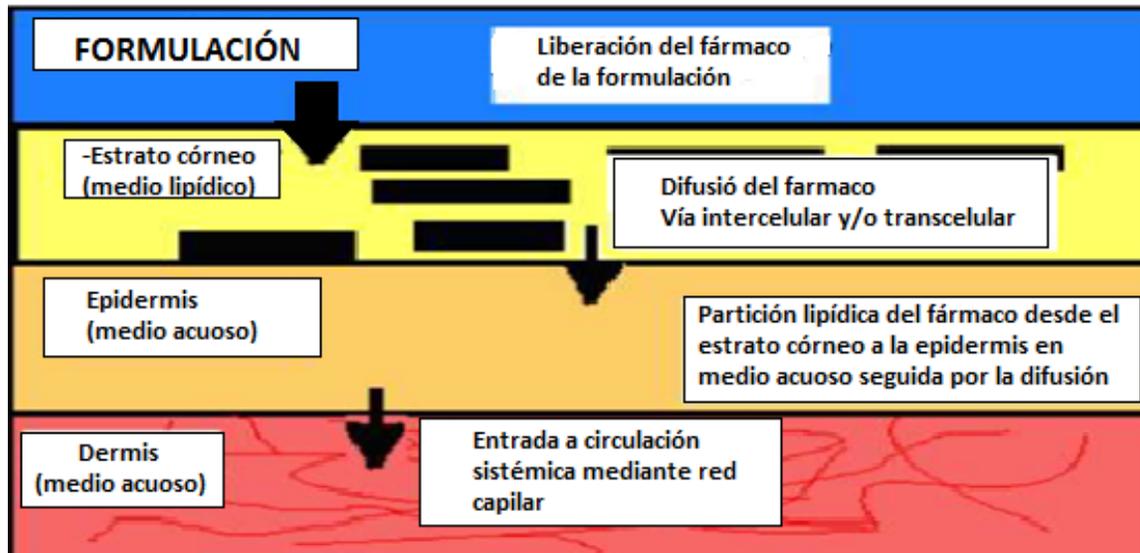


Figura 8. Representación de la difusión de un fármaco a través de la piel (Diez & Domínguez, 1990).

Los fármacos aplicados sobre la superficie de la piel siguen dos vías de penetración:

- Vía transexial/trans-apéndices: El área disponible para que una molécula penetre a través de las glándulas corresponde solo al 0.1 % del área total de la piel. Se efectúa a través de los anexos cutáneos como folículos pilosos y glándulas sebáceas o sudoríparas. Es de mayor importancia para moléculas que sean polares de elevado peso molecular, que penetran lentamente a través del EC.
- Administración transdérmica: la molécula penetra a través de la epidermis. Esta vía está limitada por la velocidad en que el fármaco se mueve a través de la piel. Existen dos tipos de ruta transdérmica, la ruta intercelular y la ruta intracelular/transcelular. La vía intercelular (entre las células) es la más común para moléculas lipófilas; depende de numerosos factores intrínsecos de la molécula como son las propiedades fisicoquímicas (pKa, peso molecular, solubilidad y coeficiente de reparto), la integridad y el espesor del EC, variabilidad de la zona anatómica, estado de hidratación de la piel, y del metabolismo. La vía intracelular (a través de las células) es más común para moléculas polares, cabe mencionar que también depende de las propiedades fisicoquímicas de la molécula (Gabriel, 2014; Pérez, 2005).

En las Figuras 9 y 10 se muestran las vías por las que una molécula puede pasar a través de la piel.

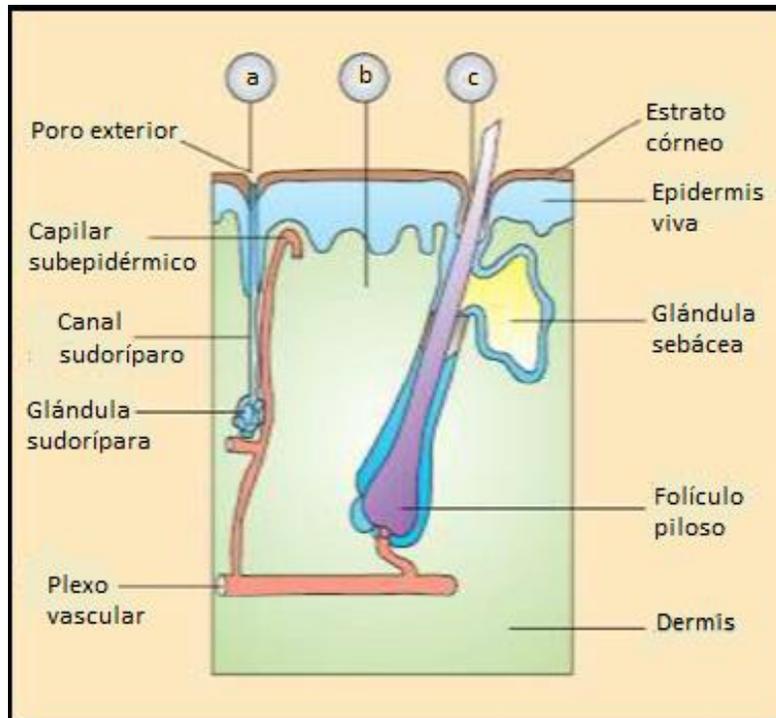


Figura 9. Representación de las principales vías de absorción percutánea: a) Sudorípara; b) Transepidérmica y c) Pilosebácea (Diez & Domínguez, 1990).

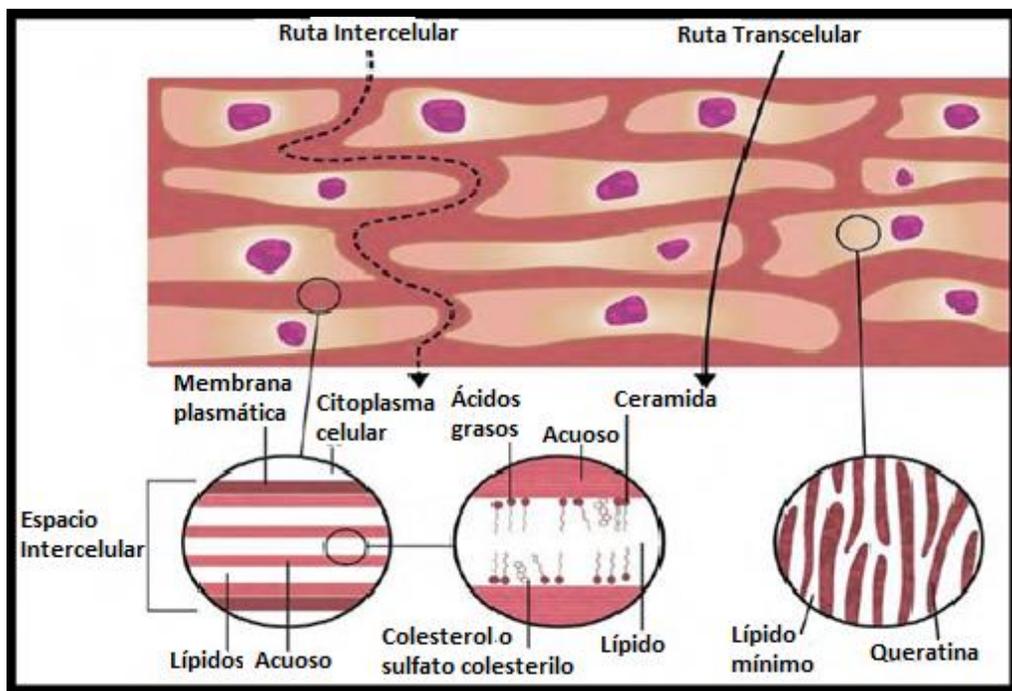


Figura 10. Vías de administración transdérmica. Intercelular y transcelular (Anguiano, 2017).

Existen 3 diferentes grados de penetración a través de la piel, a continuación, explicamos cada uno de ellos.

- Absorción: La sustancia penetra desde la superficie de la piel hasta los capilares sanguíneos para poder ser distribuida en todo el organismo.
- Penetración: La sustancia llega hasta las capas basales, este grado de penetración es más común en cosméticos.
- Contactación: La sustancia no penetra solo se queda en la superficie de la piel (Gabriel, 2014).

3.6 Ley de Fick

El paso de muchas moléculas a través de las membranas biológicas tiene lugar por difusión pasiva, proceso por el cual una sustancia difunde en función del gradiente de concentración, por lo tanto, el transporte de moléculas a través de la piel se mantendrá hasta que las concentraciones en ambos lados de la membrana se igualen (Anguiano, 2017).

El transporte molecular a través de una barrera se mide normalmente mediante flujos, el flujo de un soluto se define simplemente como la masa o el número de moléculas que se mueven a través de un área transversal dada, durante cierto periodo de tiempo. La primera ley de Fick de difusión se puede utilizar para describir la penetración cutánea de moléculas haciendo una aproximación del gradiente de concentración, esto debido a que no se puede medir fácilmente (Gabriel, 2014). La ecuación 1 indica que el flujo es directamente proporcional al gradiente de concentración.

$$J = -D \frac{dQ}{dt}$$

ecuación (1)

Donde J es el flujo, D es el coeficiente de difusión y dc / dt es el gradiente de concentración. El signo negativo indica que la velocidad (variación de la concentración en función del tiempo = dc/dt) disminuye con el tiempo, pues la diferencia de concentraciones es progresivamente menor a medida que la molécula pasa del compartimiento donde se encuentra más concentrada al compartimiento donde se encuentra menos concentrada. La velocidad de difusión que es la cantidad de sustancia que difunde en la unidad de tiempo sigue una cinética de primer orden ecuación 2.

$$-dQ/dt = K (C_d - C_r)$$

ecuación (2)

Donde C_d y C_r son la concentración de la molécula en el compartimiento del donante (es decir, en la superficie del EC) y en el compartimiento del receptor (es decir, el cuerpo), respectivamente. Ya que puede despreciarse la concentración de la molécula en el compartimiento receptor, puesto que es muy pequeña en relación con la concentración del compartimiento de partida, se puede establecer una relación lineal entre la velocidad de difusión y la concentración de la molécula. K es el coeficiente de permeabilidad de la molécula en la piel, este engloba características de la membrana y de la molécula, como su tamaño y liposolubilidad (ecuación 3) (Lorenzo *et al.*, 2008).

$$K = D * P / L$$

ecuación (3)

Donde D es el coeficiente de difusión obtenido a partir del coeficiente de permeabilidad K , el coeficiente de partición del soluto P y L es el grosor total de la piel. De la ecuación 2 está claro que puede obtenerse una velocidad constante de penetración de la molécula sólo cuando la concentración de fármaco en la superficie del EC (C_d) es consistentemente y sustancialmente mayor que la concentración de fármaco en el cuerpo (C_r). Se obtiene la ecuación 4 (Lorenzo *et al.*, 2008).

$$DQ/dt = K * C_d$$

ecuación (4)

La cantidad acumulada que permea (Q) la barrera con el área superficial eficaz de permeación (A) en un tiempo dado (t) se calcula usando la ecuación 5:

$$Q = KAC_d t$$

ecuación (5)

El coeficiente de permeabilidad (P) puede obtenerse a partir de la pendiente de un gráfico de permeación experimental.

Como se muestra en la Figura 11, la curva de permeación acumulativa tiene dos porciones, la porción inicial de la curva representa la difusión no estacionaria y la porción lineal corresponde a la difusión en estado estacionario. La parte no estable de la curva puede ser descrita matemáticamente por la segunda ley de Fick, mientras que la porción lineal estable por la primera ley de Fick. El tiempo requerido para alcanzar el estado estacionario se llama tiempo de latencia (T_L). El tiempo de latencia se puede determinar extrapolando la porción lineal de permeación al eje de tiempo (Zaid *et al.*, 2015).

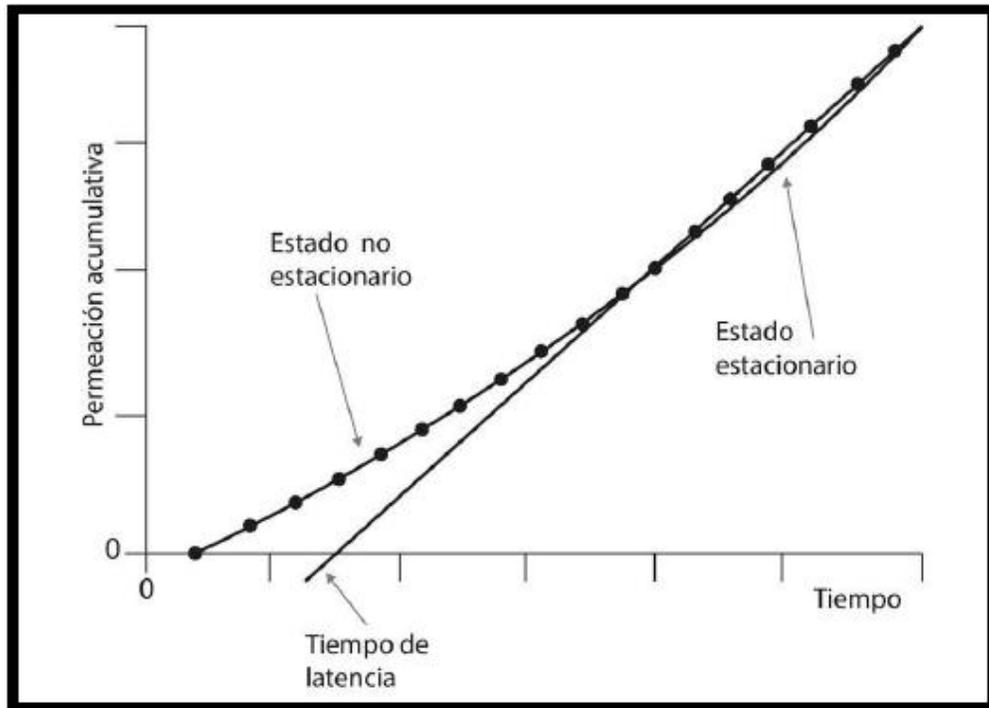


Figura 11. Gráfico típico de un estudio de permeación (Zaid et al., 2015).

Con el tiempo de latencia la ecuación se puede reescribir de la siguiente manera:

$$Q = [DPAC_d (t - t_L)] / L$$

$$Q = KAC_d(t - t_L)$$

ecuación (6)

El tiempo de latencia puede calcularse mediante la ecuación 7:

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

ecuación (7)

En este campo los moduladores de la permeación han sido una de las estrategias más prometedoras de los últimos años para afrontar el suministro de sustancias a través de la piel.

3.7 Moduladores de la permeación

Un modulador de la absorción percutánea puede ser un promotor y/o retardador y estos se definen como aquella sustancia que incrementa o disminuye la partición y difusión de agentes activos hacia y a través de la barrera de permeabilidad de la

piel. Son empleados como vehículos de los principios activos, siendo elementos de gran importancia que permitirán la mejor absorción o el control de ésta a través de las membranas corporales (Vázquez, 2004).

3.7.1 Promotores de la absorción

El número de moléculas capaces de penetrar por si mismos el EC en cantidad suficiente para alcanzar la circulación sistémica y producir una respuesta terapéutica es bajo. Para aumentar el número de moléculas candidatas a ser administradas transdérmicamente, es indispensable incrementar la penetración de estas moléculas a través de la piel. Por lo que en las últimas décadas se han realizado estudios dirigidos a reducir la función de barrera del EC empleando para ello promotores de la absorción tanto de tipo químico como físico.

3.7.1.1 Promotores físicos

Es complicado introducir fármacos cargados o de peso molecular elevado, por ello se utilizan promotores físicos (Escobar *et al.*, 2010; Lane, 2013). Por ejemplo:

1. Iontoforesis: es la aplicación de corriente eléctrica (0.5 mA) sobre la piel por largos periodos (hasta 8 h), permite al fármaco alcanzar la circulación sistémica.
2. Electroporación: logra que el fármaco penetre al administrar voltajes de 100 V por fracciones de segundo, generando poros en las capas de la piel; trabaja por vía transcelular.
3. Sonoforesis: maneja la tecnología de ultrasonido para formar burbujas que rompen o desorganizan las estructuras de los lípidos del EC, abriendo los espacios que se necesitan para introducir el fármaco.
4. Radio frecuencia: el fármaco alcanza circulación sistémica al colocar un parche y administrar ondas electromagnéticas.
5. Microagujas: perforan las diversas capas de la piel sin causar dolor, ingresando el fármaco fácilmente.

3.7.1.2 Promotores químicos

Como ya se mencionó, la piel actúa como barrera contra la entrada de sustancias. El EC, la capa más externa, está formada por células queratinizadas tiene un grosor aproximado de 15 μm) es la principal barrera por vencer para que una molécula pueda penetrar a través de la piel (Kawakami *et al.*, 2015). Las propiedades químicas de las moléculas determinarán la vía de permeación, que será en mayor proporción intercelular si el compuesto es más hidrofóbico, o transcelular si tiene

una mayor afinidad por la fase acuosa (Albery & Hadgraft, 1979). Los promotores químicos son moléculas especiales que interactúan con los componentes del EC para aumentar la permeación de moléculas a través de la piel. Se han evaluado numerosos compuestos de diferentes estructuras químicas y se han propuesto varios posibles mecanismos de acción que a continuación se enlistan: (Coufalova *et al.*, 2013; Hadgraft *et al.*, 1999; Moser *et al.*, 2001; Pellet, 1994).

- Extracción de lípidos intercelulares.
- Alteración de la barrera enzimática.
- Interacción con componentes proteicos.
- Incremento de la fluidez de la bicapa lipídica de la membrana, con la consecuente disminución de la temperatura de transición vítrea de los lípidos.
- Incremento de la hidratación del EC.
- Co-difusión del promotor y el soluto.
- Aumentando el coeficiente de difusión desorganizando los lípidos del EC, aumentando la difusividad del compuesto modelo (e.g., ácidos grasos o tensioactivos).
- Aumentando la solubilidad del principio activo en la membrana. Los promotores que siguen este mecanismo son el PG, etanol, Transcutol® y N-metil pirrolidona.
- Aumentando tanto el coeficiente de difusión y de solubilidad. Combinando diferentes promotores de la absorción con efectos aditivos y sinérgicos, se potenciará la penetración por ambos mecanismos.
- Aumentando el nivel de saturación. La actividad termodinámica de un principio activo puede aumentarse incrementando la concentración en el vehículo o disminuyendo la solubilidad del principio activo en el disolvente.

3.7.1.2.1 TRANSCUTOL® (Carbitol o monoetil éter de dietilenglicol)

Dentro del extenso grupo de promotores de penetración el éter monoetílico de dietilenglicol (Transcutol®), su estructura molecular se muestra en la Figura 12; ha mostrado una clara influencia en la absorción transdérmica de muchos fármacos, principalmente en combinación con otros agentes promotores de la penetración. 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® (Padilla, 2011).

El Transcutol® es un líquido higroscópico que es fácilmente miscible tanto con disolventes polares como no polares. El Transcutol® ha sido reconocido como un potenciador de la permeación transdérmica debido a su no toxicidad, su biocompatibilidad con la piel y sus excelentes propiedades solubilizantes (Godwin *et al.*, 2002). En la Tabla 6 se muestran las propiedades fisicoquímicas del

Transcutol®. Se han propuesto diversos mecanismos por medio de los cuales el Transcutol® ejerce su efecto promotor: 1) incremento de la solubilidad del fármaco que genera un cambio en el coeficiente de partición de este; 2) acumulación del activo en capas superficiales de la piel, por formación de un “deposito intracutáneo” debido al hinchamiento de los lípidos intercelulares y 3) cambios en la composición del vehículo, por absorción de agua del ambiente y de la misma piel (Padilla, 2011).

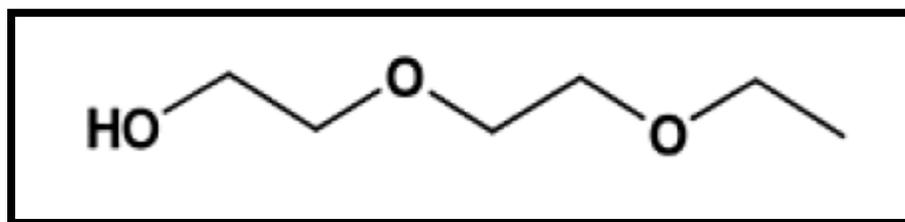


Figura 12. Estructura química del Transcutol® (Padilla, 2011).

Tabla 6. Propiedades del Transcutol® (Godwin et al., 2002).

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

3.7.2 Retardadores de la absorción

Se reconoce plenamente que uno de los principales inconvenientes cuando se administran fármacos a través de la piel, especialmente cuando se busca un efecto sistémico, es la penetración limitada de la mayoría de estos fármacos debido a la presencia de la barrera impuesta por las características estructurales del EC. En las últimas décadas, se han probado diferentes enfoques para superar la barrera de la piel, incluida la disrupción mecánica y eléctrica, así como la modificación química. Sin embargo, en casos específicos, como pesticidas, agentes de guerra química, protectores solares, repelentes de mosquitos y agentes dirigidos al EC, donde es deseable que residan en la superficie de la piel, se busca un aumento en la impermeabilidad del EC. Mientras que algunos potenciadores de la penetración actúan sobre los lípidos de la piel, creando un entorno más fluido y luego promoviendo la penetración de agentes terapéuticos, existen moléculas con un efecto opuesto. Estas moléculas conocidas como retardadores o reductores de la

penetración pueden ser útiles al restringir la ubicación de los fármacos a las capas superiores de la piel, no solo en aquellos casos donde el sitio objetivo es la superficie de la piel, sino también cuando la absorción puede conducir a efectos secundarios o toxicidad no deseados.

Aunque los mecanismos de acción de los retardadores no se han entendido completamente, se ha propuesto que pueden actuar (i) como antidisolventes, evitando la partición del fármaco en el EC; (ii) mediante la adición de moléculas lipídicas en las bicapas lipídicas para endurecer el EC; (iii) ordenando la disposición lípido-lípido en el EC y luego disminuyendo el coeficiente de difusión del fármaco.

Los alquilgliceroles (AG) (éteres alquílicos de glicerol) se encuentran en fuentes naturales, principalmente en el aceite de hígado de tiburón. Los principales AG, cuyas estructuras se muestran en la Figura 13, incluyen los éteres de chimil (hexadecilo), batil (octadecilo) y selaquilo (E-octadec-9-enilo). Otra fuente de 1-O-alquilgliceroles puede ocurrir naturalmente como éteres lipídicos en la leche de vaca, la leche humana y los órganos productores de sangre (médula ósea, hígado y bazo) (Bernal *et al.*, 2017).

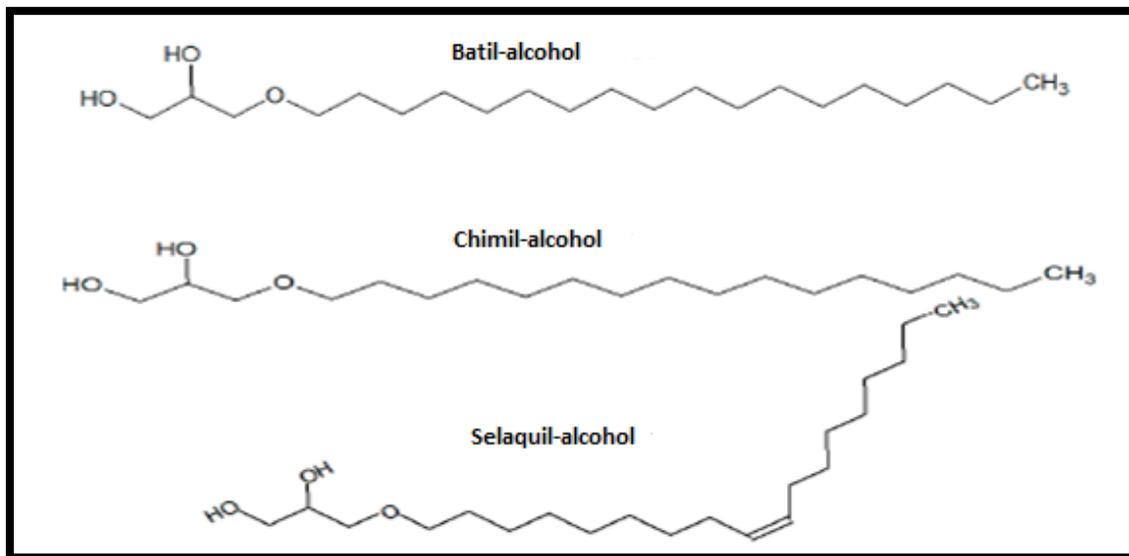


Figura 13. Alquilgliceroles principales

3.8 El sol

3.8.1 Radiación solar

El sol es una esfera gaseosa de 2×10^{27} toneladas y de 696.000 km de radio (100 veces el de la Tierra) que está situado a 149.000.000 km de la Tierra. Esta central termonuclear (con una temperatura de 15.000.000 °C) produce en el espacio que la

rodea una inmensa radiación electromagnética, formada por una infinita y continua serie de radiaciones constituidas por pequeñas partículas de energía llamadas *fotones* que se propagan a una velocidad constante (300.000 Km/s) en forma de una onda que se caracteriza por una doble periodicidad en el tiempo. Las radiaciones electromagnéticas son tanto más energéticas cuanto menor es la longitud de onda. Los físicos clasifican en tres categorías las diferentes ondas electromagnéticas emitidas por el Sol. Esto es, de más a menos energéticas: las radiaciones ionizantes, las radiaciones ópticas y las ondas hertzianas.

Las radiaciones ionizantes comprenden los rayos cósmicos, tan potentes que son capaces de atravesar el globo terráqueo; los rayos γ , que pueden destruir un ser vivo, y los rayos X, suficientemente potentes para poder atravesar en parte el cuerpo humano. Las radiaciones ópticas comprenden la radiación ultravioleta (UV), no visible para el ojo humano y la radiación visible (Avril, 2004).

La exposición a la radiación solar tiene efectos benéficos y perjudiciales sobre el cuerpo humano, dependiendo de la duración, frecuencia, intensidad de la luz y sensibilidad del individuo. En general la acción del sol sobre el hombre tiene dos efectos contrastantes; por un lado, tenemos el efecto benéfico, el sol calienta la superficie terrestre y por consiguiente a sus habitantes con lo que obtenemos un efecto antirraquítico y antidepresivo, y por el otro lado tenemos el efecto adverso, ya que posee una gran influencia en el envejecimiento de la piel lo que inclusive nos puede conducir a desarrollar cáncer, es decir la piel es el órgano que más sufre a largo plazo de la exposición crónica a la radiación solar (Bouzas, 2003).

En la Figura 14 se observa la transmisión de la luz del sol en la piel.

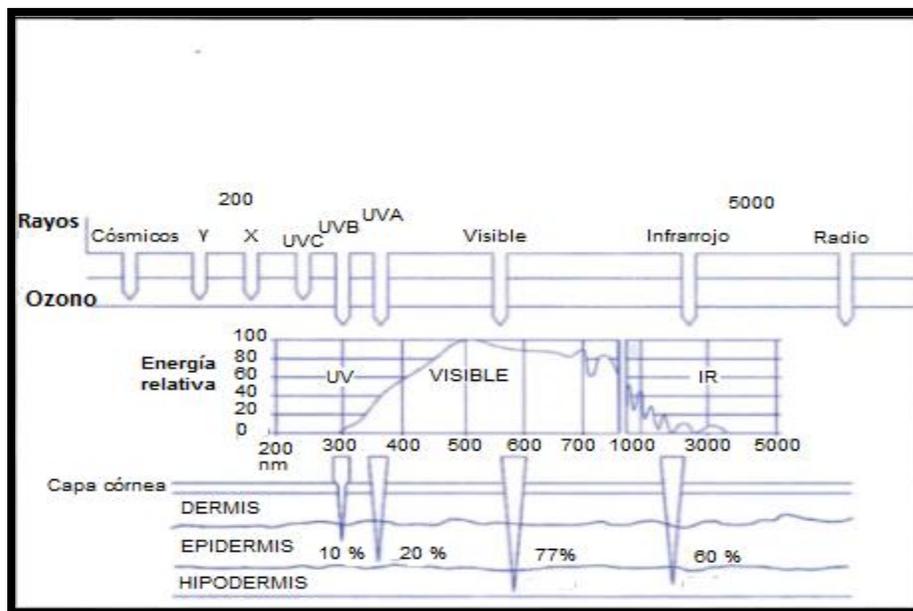


Figura 14. Transmisión de la luz del sol en la piel (Avril, 2004).

La radiación UV a su vez se divide en UVA, UVB y UVC. La radiación UVC, conocida como radiación germicida o radiación ultravioleta corta, se encuentra entre los 200 y 290 nm, es perjudicial para el tejido, pero es filtrada por el ozono (O₃) de la atmósfera. Puede producirse por fuentes ultravioleta artificiales. No es eficaz en la estimulación del bronceado y causa eritema, es una radiación muy tóxica, letal para la mayoría de los microorganismos, tales como bacterias, levaduras y protozoos, así como para la mayoría de las plantas.

La radiación UVB, se encuentra entre las longitudes de onda comprendidas entre los 290 y 320 nm. Se le conoce como la radiación de quemaduras solares o radiación ultravioleta media. Es la radiación responsable de la producción de quemaduras solares, así como reacciones irritantes que producen la formación de melanina y el desarrollo del bronceado. Representa el 0.1 % de la radiación electromagnética que alcanza la tierra, pero su energía es 100 veces más eficaz para producir eritema que la UVA.

La radiación UVA, denominada radiación ultravioleta de onda larga, tiene longitudes de onda comprendidas entre 320 y 400 nm. Esta es la radiación responsable del bronceado directo de la piel. Este tipo de radiación tiene una mayor longitud de onda que la UVB y por tanto su energía es menor. Tiene una gran capacidad de penetración en la piel, representa el 4.9% de la radiación solar que llega a la tierra (Bouzas, 2003). En la Tabla 7 hay una comparación entre las radiaciones UVA y UVB.

La luz visible (39% de la radiación total), de 400 a 800 nm, que puede ser percibida por el ojo humano y se puede descomponer a través de un prisma o en el arco iris en siete colores: violeta, añil, azul, verde, amarillo, naranja y rojo (Bouzas, 2003).

Los rayos infrarrojos (IR) (56% de la radiación total), de 800 a 5000 nm, que pueden ser absorbidos por las estructuras líquidas, agitan las moléculas de agua y producen calor, promueve además una dilatación de los vasos capilares y poros de la piel como consecuencia del aumento de la temperatura, se activa el mecanismo de la transpiración, que mantiene la temperatura estable del cuerpo humano (Avril, 2004; Bouzas, 2003).

Las ondas Hertzianas no son absorbidas por las moléculas del cuerpo humano y no tienen efectos biológicos conocidos: microondas, ondas radar, televisión y radio.

La radiación electromagnética es emitida por el sol en todas las direcciones y solo una pequeña parte de ella va a llegar a la tierra, después de haber sido "filtrada" por el ozono estratosférico. Esta capa de ozono, situada entre 15 y 35 Km de altitud, retiene las radiaciones ionizantes y la radiación óptica de muy corta longitud de onda (La totalidad de los rayos UVC y una parte de los UVB). La capa de ozono es un escudo protector esencial y su disminución daría lugar a modificaciones fotoclimáticas globales que podrían tener consecuencias para la salud humana. Se cree que la reducción del 5% de la cantidad de ozono provocaría un aumento del

10% de la radiación UVB que llegaría a la superficie terrestre, provocando previsiblemente un aumento de la incidencia de cánceres cutáneos, aparición precoz de cataratas y alteraciones en las defensas inmunitarias. Así la radiación que llega a la superficie terrestre está constituida por 55% de rayos infrarrojos, 40% de luz visible y 5% de rayos ultravioleta. Los rayos UVB solo representan el 2% de la radiación ultravioleta, pero son extremadamente energéticos. Los rayos UVA (98% de los UV) (Avril, 2004).

Tabla 7. Comparación de las radiaciones UVA y UVB (González, 2010).

Luz ultravioleta B	Luz ultravioleta A
Comprende de los 290- 320 nm	Comprende de los 320-400 nm
Son bloqueados parcialmente por la atmósfera terrestre (principalmente por la capa de ozono).	No son bloqueados, atraviesan la atmosfera terrestre.
El 70% son reflejados por la capa córnea El 30% atraviesan la epidermis o son absorbidos por la melanina. El 10% de este 30% llegan a la dermis superficial	El 80% de ellos pueden penetrar hasta la dermis. El 20% penetra a las capas internas de la piel (dermis).
Causa eritema y quemaduras	No causa eritema, ni quemaduras
Interviene en la síntesis de vitamina D ₃	No interviene en síntesis de vitamina D ₃
No traspasa vidrios	Traspasa vidrios
Responsable de foto-envejecimiento	
Produce carcinogénesis de alto grado	Produce carcinogénesis en bajo grado
Causa bronceado inmediato	Responsables del bronceado de efecto acumulativo
Son muy energéticos y biológicamente muy activos	Menos energéticos, pero más abundantes

3.8.2 Penetración de la radiación UV en la piel

Ciertas radiaciones luminosas, al ponerse en contacto con la piel son más o menos absorbidas por las moléculas de queratina y melanina. La mayoría de los rayos UVB (70%) son retenidos por la capa córnea, pero el 20% alcanza la capa espinosa y el 10% llega a la dermis superficial. La mayoría de los rayos UVA atraviesan la capa córnea, pero solo de un 20 a un 30% alcanzan la parte más profunda de la dermis. La radiación visible y la infrarroja atraviesan la epidermis y llegan hasta la dermis (Avril, 2004).

3.8.3 Reacciones biológicas fotoinducidas

Los efectos biológicos de las radiaciones ópticas sobre la piel se manifiestan en todos los individuos, siempre y cuando la dosis de irradiación (intensidad o duración) hayan sido suficientes. Sin embargo, las consecuencias moleculares intracelulares pueden ser importantes, aunque no se aprecien lesiones cutáneas clínicamente perceptibles (Avril, 2004).

3.8.4 Efectos benéficos del sol a la piel

La exposición moderada a la radiación solar produce una sensación de salud y bienestar general, estimula la circulación sanguínea, aumenta la formación de hemoglobina, promueve la reducción de la presión sanguínea y desempeña un papel vital en la producción de vitamina D activando el 7-dihidrocolesterol (provitamina D3) presente en la epidermis, disminuye la sensibilidad de los individuos a ciertas infecciones. El sol y en especial la radiación UVB tienen un efecto antirraquítico, ya que permite la síntesis de vitamina D en la piel. La exposición de las partes del cuerpo de 10 a 15 minutos durante el verano de dos a tres veces a la semana es suficiente para cubrir los requerimientos del organismo. Existen datos que muestran mayor incidencia de osteoporosis en los individuos que “huyen” del sol por temor al cáncer. La acción antidepresiva del sol es fácilmente demostrada. La luz ayuda a tratar las “depresiones invernales”, interviniendo en la modulación de las funciones hormonales del cerebro (melatonina). Se ha demostrado en los países nórdicos que existe una mayor frecuencia de depresión como producto de la baja insolación. La radiación ultravioleta puede influir en la recuperación de ciertas enfermedades como psoriasis, dermatitis atópica, fotodermatosis, ictericia neonatal, entre otras (Avril, 2004).

3.8.5 Agresiones de los radicales libres

Los fotones solares, en función de su longitud de onda son absorbidos por ciertas moléculas denominadas cromóforos. El cromóforo “activado” puede modificar su estructura, establecer enlaces con las macromoléculas que lo rodean y sobre todo transmitir la energía absorbida a moléculas vecinas, creando especies reactivas de oxígeno (EROs), comúnmente denominadas “radicales libres”: oxígeno molecular singlete, anión superóxido, peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo. Estos radicales libres son moléculas extremadamente reactivas, con una gran capacidad oxidante de numerosas moléculas intracelulares en las que las alteraciones secundarias al estrés oxidativo van a modificar las funciones biológicas en las que se encuentran implicadas. Las dianas biológicas de las EROs son, sobre todo:

- El ácido desoxirribonucleico, en el que se producen alteraciones y roturas de las cadenas de ADN, responsables de modificaciones de la expresión del material genético con riesgo de mutaciones.
- Los lípidos insaturados de las membranas celulares, en los que la lipoperoxidación puede llevar a una inactivación de los receptores de las membranas, a una ruptura de las membranas que provoca una liberación de los mediadores implicados en la inflamación (citocinas) y de productos mutagénicos.
- Los aminoácidos, que llevan a una desnaturalización de las proteínas con una perturbación de su actividad.

Estas agresiones de los radicales libres se van a acumular poco a poco con un envejecimiento celular y las exposiciones solares, alterando las células epidérmicas y las dérmicas. Afortunadamente, las células cutáneas disponen de mecanismos de defensa antirradicales libres (Avril, 2004).

3.8.6 Protección antirradicalar

Todos los órganos pueden verse afectados por las reacciones inducidas por los radicales libres, pero la piel es el primer órgano que recibe las agresiones del entorno luminoso, particularmente por parte de los fotones UVB y UVA, que son capaces de generar especies reactivas de oxígeno, tóxicas para las células epidérmicas y dérmicas. Afortunadamente, existe una homeostasia celular que es capaz de mantener un equilibrio entre la producción de radicales libres y su eliminación. En su estado fisiológico, las células disponen de numerosos y complejos sistemas de defensa antioxidante:

- Enzimas antioxidantes: las superoxidodismutasas cobre-zinc y manganeso, las glutathionperoxidadas selenio independientes, las catalasas y las tioredoxinas reductasas.
- Sustancias antirradicales libres: el ácido ascórbico (vitamina C), el tocoferol (vitamina E), los carotenoides (β -caroteno), el glutati3n, 3cido 3rico y los amino3cidos azufrados.
- Prote3nas de estr3s y citoquinas.

Si estos sistemas de defensa antioxidante no son suficientes para eliminar los radicales libres producidos por la exposici3n excesiva a la radiaci3n solar, estos degradaran las estructuras cut3neas. Por ejemplo, la ausencia fisiol3gica en la dermis de superoxidodismutasas (enzimas claves en la defensa frente a los radicales libres) provoca que los fibroblastos, las fibras el3sticas y las col3genas capten directamente los radicales libres, con lo que se producen degradaciones acumulativas, responsables de las elastosis (Avril, 2004).

3.9 Filtros solares

A partir del conocimiento del da3o que puede causar la exposici3n cr3nica a la radiaci3n solar, se ha popularizado el uso de protectores solares t3picos, aumentando cada vez m3s la demanda de estos. Esta demanda ha ocasionado la introducci3n al mercado de una alta gama de productos cosm3ticos y no cosm3ticos conteniendo una diversa variedad de activos conocidos com3nmente como filtros solares.

Se denomina protectores solares o fotoprotectores a todos aquellos productos (cremas, lociones, leches, etc.) que se aplican sobre la piel con el fin de protegerla de los efectos perjudiciales de las radiaciones solares ultravioleta A y/o B; tienen la capacidad de absorber dentro del rango comprendido entre los 100 y los 400 nm. Esto es posible porque en su composici3n llevan unas sustancias denominadas filtros, capaces de frenar la acci3n de uno y/u otro tipo de radiaci3n (Bouzas, 2003; Ribera *et al.*, 2003).

Los protectores solares para ser eficaces deben ser de baja penetraci3n en la piel y alta fotoprotecci3n. Estas caracter3sticas son importantes para la seguridad cosm3tica de la protecci3n solar. Los protectores solares se aplican repetidamente a la piel expuesta en una gran 3rea superficial: aproximadamente 1,8 m² para un adulto de 70 kg (Fern3ndez *et al.*, 2000).

Los productos cosm3ticos de protecci3n solar se han utilizado durante casi 75 a3os y comprenden sustancias (com3nmente denominadas filtros ultravioleta (UV) capaces de absorber la radiaci3n UV y proteger la piel humana de la exposici3n directa a las da3inas longitudes de onda de la radiaci3n solar.

Los filtros solares dispersan con eficacia la luz incidente o absorben la porción eritematogena de la energía radiante del sol. Las propiedades imprescindibles en un filtro solar son:

- Deben absorber eficientemente la radiación eritemogena en el intervalo de 290-320 nm sin descomposición que pueda reducir su eficacia u originar compuestos tóxicos o irritantes.
- No deben ser volátiles y deben ser resistentes al agua y a la transpiración.
- Tener características adecuadas de solubilidad para hacer posible la formulación del producto deseado con la cantidad requerida de filtro solar.
- Deben ser inodoros o al menos tener un olor aceptable por el usuario y tener propiedades satisfactorias al tacto (no deben ser grasosos, etc).
- No deben ser tóxicos, irritantes o sensibilizantes.
- Capaces de retener su propiedad protectora por varias horas

Los filtros solares se pueden clasificar en filtros inorgánicos, filtros organominerales y filtros orgánicos.

3.9.1 Filtros inorgánicos

Los filtros inorgánicos (anteriormente llamados filtros físicos son impermeables a la radiación solar y actúan sobre ella por reflexión. Son de amplio espectro, controlan el UV, visible e IR. Son los más utilizados en niños. Debido a que el tamaño de partícula es grande, los filtros solares son opacos y pueden alcanzar a brindar protección hasta contra la luz visible, por lo cual son muy útiles en fotodermatitis como el lupus eritematoso sistémico. No obstante, debido a la sensación de máscara que pueden dejar (efecto mínimo) y a su capacidad de producir comedones, se ha buscado mejorarlo cosméticamente, disminuyendo el tamaño de partícula, a tamaños ultrafinos, o micronizados, mejorando visiblemente sus propiedades cosméticas. En la Tabla 8 se observan los principales filtros solares inorgánicos (Altamirano, 2015).

Tabla 8. Principales filtros inorgánicos (Altamirano, 2015).

Filtros físicos	Radiación a la que actúan
Dióxido de Titanio	UVA, UVB, Visible e IR
Óxido de Zinc	
Mica	

3.9.2 Filtros orgánicos

Son sustancias químicas que absorben longitudes de onda del espectro UV (UVB o UVA) y las transforman, impidiendo que las radiaciones afecten a las estructuras cutáneas.

Estos compuestos generalmente poseen estructuras aromáticas únicas o múltiples, a veces conjugadas con dobles enlaces carbono-carbono y/o restos carbonilo, capaces de atenuar la transmisión de fotones solares energéticos que alcanzan la superficie de la tierra. Más específicamente, los filtros UV absorben fotones y vuelven rápidamente al estado fundamental al emitir térmicamente la energía a través de una serie de transiciones vibratorias (relajación vibratoria) (Giokas, 2007).

En la Tabla 9 se enlistan las principales familias de filtros solares orgánicos y la radiación sobre la que actúan. Actualmente se investigan nuevas moléculas inocuas con capacidad de filtración del UVA-lejano, causante de las reacciones de fototóxica y fotoalérgica. El uso de fotoprotectores con filtros UVB aumenta la exposición a radiación UVA, ya que al evitar el eritema alargan la exposición al sol sin filtrar el UVA (Altamirano, 2015).

Tabla 9. . Principales familias de filtros orgánicos (Altamirano, 2015).

Filtros orgánicos	Radiación sobre la que actúan
Derivados del ácido-para-amino-benzoico	UVB
Cinamatos	UVB
Salicilatos	UVB
Benzofenonas	UVA, UVB
Antralinatos	UVA
Dibenzoilmetanos	UVA

En su mecanismo de acción se utilizan dos procesos: dispersión y absorción. Los protectores solares tienen sustancias que actúan mediante ambos mecanismos.

- Dispersión: ocurre cuando los rayos ultravioleta chocan con una película o pantalla que desvía su trayectoria, lo cual permite que se disipe en el entorno.
- Absorción: en este caso, las moléculas del protector solar absorben la radiación ultravioleta. Implica la incorporación de energía en la estructura del

protector. Los fotones son absorbidos hasta alcanzar la piel y conducidos en forma de calor (Altamirano, 2015).

La monografía más reciente de la FDA incluye 14 filtros solares químicos, que son considerados seguros y eficaces para su utilización como productos de adquisición sin receta. En la Tabla 10 se presentan los filtros solares aprobados por la FDA, y el acuerdo de COFEPRIS por el que se determinan las sustancias prohibidas y restringidas en la elaboración de productos de perfumería y belleza y sus concentraciones máximas permitidas para uso en cosméticos (González, 2010).

Tabla 10. Filtros solares aprobados por la FDA.

<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?CFRPart=352&showFR=1&subpartNode=21:5.0.1.1.27.2>

Ingrediente activo	[máxima] (%) FDA	[máxima] (%) En México	Comentarios
Ácido aminobenzoico (PABA)	15	5	Causa alergias, ya casi no se utiliza
Ácido fenilbencimidazol sulfónico	4	8	Soluble en agua
Avobenzona	3	5	Fotoinestable
Cinoxato	3	3	Derivado del cinamato
Padimato O	8	8	Se utiliza como derivado de PABA
Homosalato	15	10	Estos 3 salicilatos son absorbedores débiles fotoestables
Trolamina Salicilato	12	12	
Octil salicilato	5	5	
Octil metoxicinamato	7.5	10	Filtro UVB fotolábil
Octocrileno	10	10	Fotoestable

Continuación de la Tabla 10.

Ingrediente activo	[máxima] (%) FDA	[máxima] (%) En México	Comentarios
Oxibenzona	6	10	Son derivados de Benzofenona que tienen picos en UVB y UVA fotoestables
Dioxibenzona	3	3	
Sulisobenzona	10	5	
Mentol antranilato	5	5	Filtro UVA

Los protectores solares deben ser eficaces frente a la radiación solar que llega a la tierra, tanto frente a la UVB, más energética y más dañina, como frente a la UVA, menos energética, pero, con un mayor poder de penetración en la piel. A pesar de que la radiación UVB es la principal causante del enrojecimiento de la piel (eritema solar) y del cáncer de piel, se debe tener en cuenta la contribución de la radiación UVA, que además provoca el envejecimiento prematuro de la piel. También hay que tener en cuenta que ambos tipos de radiación afectan al sistema inmunitario. Sin embargo, aunque el uso de protectores solares es necesario, también puede entrañar ciertos riesgos para los usuarios (Lionetti & Rigano, 2017).

Los riesgos más comunes son la posible aparición de problemas dermatológicos como consecuencia de reacciones alérgicas (por contacto o fotoalergias) producidas por algunos filtros UV. Por otro lado, se ha puesto de manifiesto la actividad estrogénica de algunos filtros UV ampliamente utilizados.

Otro tipo de efecto secundario estudiado es la influencia en la generación de radicales libres. Algunos autores indican que los filtros solares Octocrileno (OCR), Butil metoxidibenzoilmetano (BDM) o avobenzona (AVB) entre otros aumentan los niveles de radicales libres generados tras su aplicación. Los radicales libres desencadenan multitud de procesos oxidativos que dañan las macromoléculas del tejido conjuntivo y alteran la síntesis de las nuevas moléculas, lo que conduce a un envejecimiento prematuro de la piel. No obstante, existe cierta controversia ya que otros autores indican el papel protector de los filtros UV ante la generación de dichos radicales (Lionetti & Rigano, 2017).

Todos estos efectos secundarios adquieren una especial relevancia si se tiene en cuenta que, además, algunos filtros solares son capaces de ser absorbidos

percutáneamente, pasando al torrente sanguíneo, lo que podría ocasionar la aparición de efectos sistémicos (a largo plazo), especialmente si el uso de protectores solares que los contienen es continuado. Además, algunos filtros UV parecen tener un efecto sinérgico sobre la absorción percutánea de determinados pesticidas, lo que debe tenerse en cuenta cuando los usuarios de los protectores solares son agricultores (Lionetti *et al.*, 2010).

En el contexto anteriormente descrito es necesario evaluar la permeación transdérmica de filtros solares y determinar si los moduladores de la permeación pueden impedir que sean absorbidos.

3.9.3 Fotoprotectores organominerales

Son un hallazgo reciente y consisten en filtros químicos insolubles. Combinan el efecto cosmético de los filtros químicos con la seguridad de los filtros físicos, ya que no penetran en la piel. Además, actúan por un triple sistema de filtro: por absorción, por reflexión y por dispersión, poseen gran capacidad filtrante de UVA, los principales filtros solares de ésta categoría son los derivados del benzotriazol; como el metilen-bis-benzotriazolil-tetrametil butil-fenol, comercializado como Tinosorb® M (Altamirano, 2015).

3.10 Avobenzona

La AVB (1-(4-ter-butil-fenil)-3-(4-metoxifenil) propano-1,3-diona) es un filtro solar químico soluble en aceite, capaz de absorber la radiación a lo largo de todo el espectro de UVA. Esta absorción se debe a su grupo fenil cetónico. La AVB junto al dióxido de titanio y óxido de zinc son los únicos aprobados por la FDA para proteger contra UVA. Por lo que se considera un filtro solar muy efectivo. La AVB tiene nombres comerciales como Parsol 1789, Eusolex 9020, Escalol 517 (González, 2010).

La AVB es uno de los filtros UVA más comunes presentes en formulaciones cosméticas; sin embargo, se degrada significativamente bajo la exposición a la radiación ultravioleta, reduciendo sus efectos de protección contra los rayos UVA, lo que da como resultado una pérdida de eficacia y la generación de foto-productos. Las reacciones fotoalérgicas a menudo se han asociado con la AVB debido a la generación de productos de fotodegradación como bencilos (Kawakami *et al.*, 2015).

Hasta hace poco este filtro solar se consideraba seguro, sin embargo, se ha reportado que la AVB sufre fotodegradación que resulta en la generación de

radicales libres, lo que puede aumentar el riesgo de cáncer. La Figura 15 muestra la fotodegradación irreversible de la AVB.

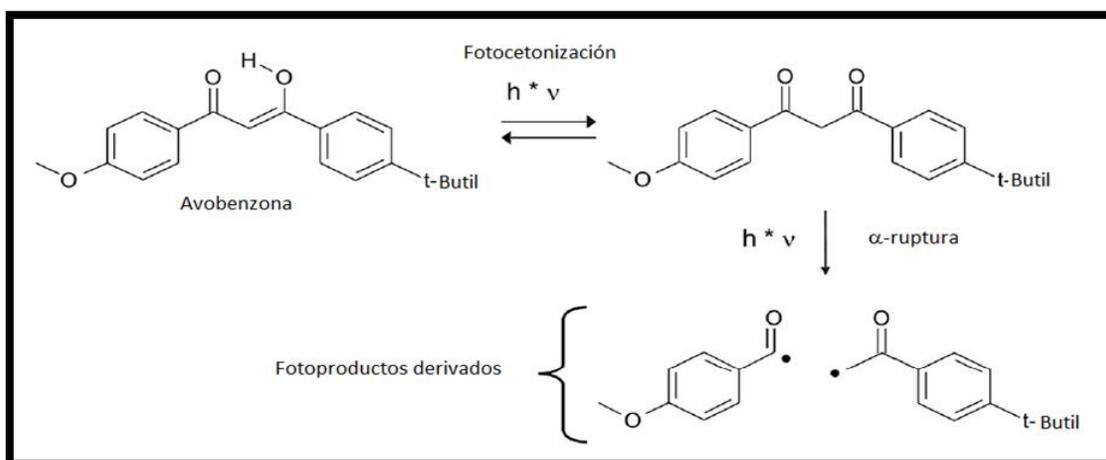


Figura 15. Fotodegradación irreversible de la AVB (Lionetti *et al.*, 2010).

Recientemente ha habido una tendencia a utilizar compuestos naturales, como los polifenoles (Kawakami *et al.*, 2015), en un esfuerzo por mejorar el potencial de los filtros solares para evitar los efectos nocivos inducidos por los rayos UV. Esto se debe principalmente a algunas limitaciones de los filtros UV orgánicos convencionales, que se caracterizan por su estrecho espectro de protección y baja fotoestabilidad.

Debido a lo expuesto anteriormente es necesario utilizar estrategias que limiten el paso de este filtro solar a través de la piel, para evitar el daño producido por los radicales libres generados, una de estas estrategias es empleando retardadores de la permeación. Por lo que las actividades experimentales realizadas están enfocadas en evaluar la permeación transdérmica de AVB a través de piel de oreja de cerdo.

4. JUSTIFICACIÓN

Desde el descubrimiento del agujero en la capa de ozono y su posterior aceptación por los gobiernos de los diferentes países, los filtros solares han ido cobrando día a día una mayor importancia ya que pueden proteger la piel de los efectos dañinos de la radiación solar. Las personas que se ven más afectadas son aquellas con un tono de piel claro, sin embargo, eso no significa que las personas de piel oscura no se vean afectadas por los efectos dañinos de la radiación solar. En México un color bronceado en la piel ha sido un signo de buena salud, sin embargo, la excesiva exposición a la radiación solar causa daños que pueden ir desde quemaduras solares hasta cáncer de piel. El rápido crecimiento en la demanda de los protectores solares por parte de los consumidores para contrarrestar los efectos negativos por la excesiva exposición al sol ha ocasionado una introducción masiva de agentes activos conocidos como protectores solares que se encuentran en una alta gama de cosméticos y artículos de tocador (Hernández, 1994).

El cáncer de piel es el segundo más frecuente en México, según datos del 2001. Es una manifestación de daño solar acumulado: la excesiva y recurrente exposición al sol, desde la infancia y sin cuidados, es el factor número uno en el desarrollo de esta enfermedad (Roldán, R., 2017).

Debido a la gran promoción que existe actualmente sobre la necesidad de protegerse contra el sol, principalmente en países donde sus habitantes poseen pieles más sensibles, las ventas de productos contra la radiación solar no solo se ha mantenido, sino que han ido en aumento. Esta demanda es día con día mayor, debido a que la gente cada vez es más consiente de los riesgos que implica la exposición prolongada al sol sin la protección adecuada, por lo que con el paso de los años los protectores solares han pasado poco a poco de ser considerados un artículo de lujo a un producto necesario para la vida cotidiana.

Actualmente existe una gran cantidad de innovaciones en productos de protección solar y es importante señalar que constantemente aparecen nuevas formulaciones realizadas por empresas que se dedican a la producción, venta y distribución de estos productos. Por lo tanto, el cuidado de la piel es un área muy importante que cubrir en nuestra sociedad, ya que generalmente al pensar en protectores solares nos viene a la mente periodos en los cuales estamos de vacaciones en un lugar soleado, por consiguiente, buscamos una forma extra de protegernos, sin embargo, no olvidemos el gran número de personas que laboran largas jornadas bajo el sol, por lo tanto, el uso de protectores solares ya no debería ser exclusivo de usarse solo en época vacacional. Debemos considerar que el uso de estos protectores solares varía de acuerdo con la situación particular de cada país, ya que el consumo de estos depende de la conciencia educativa de cada sociedad.

La eficacia de las formulaciones de protección solar depende directamente de la afinidad que los diferentes filtros solares tienen con la superficie de la piel, el EC. La AVB (1-(4-ter-butil-fenil)-3-(4-metoxifenil) propano-1,3-diona) es un filtro solar químico soluble en aceite, capaz de absorber la radiación a lo largo de todo el espectro de UVA. La eficacia de las formulaciones de protección solar también depende de la fotoestabilidad de los filtros orgánicos utilizados. Hasta hace poco este filtro solar se consideraba seguro, sin embargo, se ha reportado que la AVB sufre fotodegradación que resulta en la generación de radicales libres, lo que puede aumentar el riesgo de cáncer. Debido a lo expuesto anteriormente es necesario utilizar estrategias que limiten el paso de este filtro solar a través de la piel, para evitar el daño producido por los radicales libres generados, una de estas estrategias es empleando retardadores de la permeación (Reddy, 2002). Se ha reportado que algunos alquilgliceroles, entre estos el BA retardan la penetración transdérmica de algunos fármacos como Piroxicam, Diclofenaco y Naproxeno (Bernal *et al.*, 2017) por lo que en el presente trabajo se evalúa si el BA puede retardar la permeación transdérmica de la AVB.

5. HIPÓTESIS

Sí el batil-alcohol (BA) funciona como modulador de la permeación transdérmica con efecto retardante entonces la aplicación conjunta de este compuesto con avobenzona en la piel retardará la permeación transdérmica de este filtro solar, aumentando la seguridad de este y haciendo posible su aplicación en la formulación de protectores solares.

6. OBJETIVOS

6.1 Objetivo general

Realizar estudios de difusión *in vitro* a través de piel de oreja de cerdo, para evaluar el efecto modulador del BA sobre la permeación de AVB.

6.2 Objetivos particulares

- Evaluar la permeación *in vitro* de AVB en presencia y/o ausencia BA en celdas de difusión tipo Franz, utilizando como membrana biológica piel de oreja de cerdo
- Desarrollar métodos analíticos espectrofotométricos para la cuantificación de AVB.
- Determinar la profundidad de absorción transdérmica de AVB en el EC con la técnica de *Tape-Stripping*.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Reactivos, material y equipos

Reactivos

- Alcohol etílico, etanol (Reactivos Química Meyer, México).
- AVB (Escalol™ 517), (Ashland Specialty Ingredients, EUA).
- BA (Sigma-Aldrich, USA).
- Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4), (Macron fine Chemicals™, México).
- Hidróxido de Sodio (NaOH, Pellets), (Macron, Suecia).
- Polioxietilen 20 sorbitan monolaurato (Tween® 20), (Hysel de México S.A. de C.V.).
- Polioxietilen 80 sorbitan monolaurato, Polisorbato 80 (Tween® 80), (Hysel de México S.A. de C.V.).
- Transcutol® (2-(2-Etoxietoxi) etanol), (Sigma-Aldrich, USA).

Material

- Barras magnéticas
- Celdas de cuarzo
- Celdas de Franz
- Cinta adhesiva para empaque T-182 (Tuck®, México)
- Cuenta gotas
- Espátula
- Matraces volumétricos de 25, 50, 100, 200, 1000 mL
- Membranas de policarbonato, tamaño de poro 0.45 μm (Isoporo®, Milipore, Bedford, MA, EUA).
- Microespátula
- Ligas de goma
- Probetas de 10, 100, 500 mL
- Pipetas Pasteur
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 6 mL
- Tubos eppendorf
- Vasos de precipitados de 5, 10, 20, 50, 1000 mL

Material biológico

Piel de oreja de cerdo. Esta se obtuvo del rastro localizado en Cuautitlán Izcalli, Estado de México. Se desprendió la parte superior de la piel con ayuda de un bisturí y se cortó con un dermatoma para tener un espesor de 700 μm , una vez cortada se congeló a -20°C hasta su uso.

Equipos

- Agitador magnético multiplaza (Barnstead International, EUA).
- Dermatoma (Zimmer, Reino Unido).
- Balanza analítica (BBC 32, Boeco, Alemania).
- Baño de agua de acrílico
- Espectrofotómetro (UV-Vis HITACHI U-5100, Japón)
- Microcentrífuga (Hettich EBA 12, Alemania)
- Termostato (PolyScience, EUA)
- Microbalanza (E. Mettler, Suiza)

7.2 Metodología

7.2.1 Preparación de la solución amortiguadora de fosfatos (SAF) pH 7.4

La preparación de la SAF pH 7.4, se realizó de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos de América No. 22.

7.2.2 Determinación de la λ de máxima absorción de la AVB en etanol

Se midió una masa de 15.2 mg de AVB, se disolvió con etanol para después llevarlo a un matraz volumétrico de 100 mL, se efectuaron 3 lavados con etanol al contenedor para asegurar que la cantidad agregada de analito se encuentre en su totalidad. Se llevó a nivel de aforo con etanol. Se tomó una alícuota de 3 mL con pipeta volumétrica y se trasvasó a un matraz volumétrico de 25 mL, con etanol se llevó a volumen de aforo para obtener una concentración de 18.24 $\mu\text{g/mL}$.

Se determinó su espectro de absorción para obtener la longitud de onda de máxima absorción.

7.2.3 Prueba de solubilidad

La prueba de solubilidad se efectuó por triplicado, con los siguientes disolventes: Etanol, SAF pH 7.4, Tween[®] 20.

Se prepararon cinco sistemas:

- a) Etanol
- b) SAF pH= 7.4
- c) SAF pH=7.4 + 30 % de etanol
- d) SAF pH= 7.4 + Tween[®] 20 al 6%
- e) SAF pH= 7.4 + Tween[®] 20 al 2%.

En contenedores de vidrio con tapa se colocaron 5 mL de cada uno de los disolventes, se adicionó una cantidad de AVB capaz de sobresaturar los sistemas, se evitó la evaporación de los disolventes utilizados durante la prueba, sellando perfectamente el contenedor utilizado, se homogenizó durante 24 horas con ayuda

de un agitador magnético a temperatura ambiente, la prueba se realizó por triplicado.

Pasadas las 24 horas de agitación magnética se recuperaron los 5 mL de cada solución y se centrifugaron a 10000 rpm durante 10 minutos, se separó cuidadosamente el sobrenadante del precipitado con ayuda de una pipeta Pasteur transfiriendo los contenidos en tubos limpios, se tomó una alícuota de 2 mL y se trasvasaron a un matraz volumétrico de 10 mL, se llevó hasta la marca de aforo con etanol. Se leyó en un espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 357.5 nm para obtener su absorbancia.

Al obtener los resultados de cada solución se compararon para obtener una estimación de la cantidad disuelta de AVB con esto se eligió el medio para la realización del método analítico.

7.2.4 Preparación del medio para el método analítico para cuantificar la AVB que pasa a través de la piel

El modelo de piel utilizado en los estudios de permeación fue tejido cutáneo porcino. Por lo que el método analítico debía ser estructurado de forma que la piel usada fuese parte del medio para ser analizado. Se desarrolló un método que simulará el tiempo de experimentación y con ello el tiempo en que la piel estará en contacto con la solución receptora.

Se lavó la oreja con agua corriente durante un lapso adecuado para eliminar cualquier rastro de tierra u otras partículas, se retiró el tejido cutáneo suave de la oreja con ayuda de un bisturí, se eliminó el tejido graso en su totalidad con ayuda de un bisturí.

Se colocó en un vaso de precipitados de 1 litro la SAF pH=7.4 + 6% de Tween® 20, se situó la piel de cerdo de modo que la dermis este en contacto con la solución, con ayuda de un agitador magnético se agitó la solución durante un lapso de 24 horas. Pasado este tiempo de homogeneización se efectuó una prefiltración a gravedad para eliminar componentes de la piel extraídas por el movimiento de la solución. Para asegurar que las partículas de piel extraídas no influyeran en la lectura al espectrofotómetro se realizó una filtración con membranas de celulosa con un tamaño de poro de 0.45 μm .

Este medio fue el que se utilizó para desarrollar el método analítico para la cuantificación de la AVB que pasa a través de la piel.

7.2.5 Obtención de la λ (longitud de onda) de máxima absorción de AVB en SAF pH=7.4 + 6 % de Tween® 20 + piel.

Se midió una masa 15.3 mg de AVB en una balanza analítica, se disolvió con alcohol etílico posteriormente se trasvasaron a un matraz volumétrico de 100 mL para tener una concentración de 0.153 mg/mL (solución A).

Se tomó una alícuota de 3 mL de la solución A y se llevó a un matraz volumétrico de 25 mL, se llevó hasta la marca de aforo con la SAF pH= 7.4+ 6% de Tween® 20 + Piel para obtener una concentración final de 18.36 μ g/mL. Se determinaron los siguientes espectros de absorción usando como línea base SAF pH=7.4:

- 1.- SAF pH=7.4 + 6% de Tween® 20 + Piel.
- 2.- SAF pH=7.4 + 6% de Tween® 20 + Piel + AVB

7.2.6 Desarrollo del método analítico

7.2.6.1 Determinación de la linealidad del método.

En un vaso de precipitados se midió una masa de 15.3 mg de estándar de AVB en una balanza analítica, se solubilizó la AVB con etanol después se trasvasó a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó hasta la marca de aforo con etanol, se tomaron alícuotas de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL con una pipeta y se llevaron a matraces volumétricos de 25 mL, se llenaron hasta la marca de aforo con la solución de SAF + 6 % de Tween® 20 + Piel. Cada punto de la curva de calibración se efectuó por triplicado asegurando la aleatoriedad en la preparación de los sistemas.

Se leyó en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 360 nm, se registraron los datos obtenidos y se realizó el tratamiento de datos correspondiente.

7.2.6.2 Determinación de la precisión del método

Se midió una masa de 15.4 mg de estándar de AVB en una balanza analítica, se solubilizó la AVB con etanol se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL y se diluyó hasta la marca de aforo con alcohol etílico. Se tomaron alícuotas de 0.5, 2, 4 mL con una pipeta y se colocaron en matraces volumétricos de 25 mL, se llevaron hasta la marca de aforo con la SAF + 6 % de Tween® 20 + Piel. Cada punto se efectuó por sextuplicado, asegurando la aleatoriedad en la preparación de los sistemas, se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 360 nm.

Se registraron los datos obtenidos y se realizó el tratamiento de datos correspondiente

7.2.6.3 Determinación de la exactitud del método

Se midió una masa de 7.5 mg de estándar de AVB en una balanza analítica, se solubilizó la AVB con etanol. Se llevó a un matraz volumétrico de 25 mL y se llevó hasta la marca de aforo con etanol (solución A). Se tomó una alícuota de 1 mL con una pipeta volumétrica de la solución A y llevó a un matraz volumétrico de 25 mL (solución B). Se llevó hasta la marca de aforo con SAF + 6 % de Tween® 20 + Piel efectuando esta metodología por sextuplicado. Se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 360 nm.

7.2.6.4 Límite de detección y cuantificación del método

Se midió una masa de 10.6 mg de estándar de AVB en una balanza analítica, se solubilizó la AVB con etanol. Se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó hasta la marca de aforo con etanol (solución A).

Se tomó una alícuota de 12 mL con una micropipeta de la solución A y se colocó en un matraz volumétrico de 50 mL, se llevó hasta la marca de aforo con alcohol etílico (solución B). Se tomaron alícuotas de 0.5, 2, 3, 4, 5 mL con una pipeta y se colocó en un matraz volumétrico de 25 mL, se llevó hasta la marca de aforo con la SAF + 6 % de Tween® 20 + Piel.

Cada punto se efectuó por triplicado, asegurando la aleatoriedad en la preparación de los sistemas. Se leyó en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 360 nm.

7.2.6.5 Preparación de la curva de calibración para cuantificar la cantidad de AVB en las cintas adhesivas.

Se cortaron 25 cintas de 4 cm². Se efectuó el *Tape-Stripping*, retirando las cintas en direcciones contrarias cada vez, obteniendo EC, se cortaron y se colocaron en un vaso de precipitados, se adicionaron 500 mL de etanol. Se mantuvo bajo agitación constante durante 24 horas, para asegurar que las partículas de piel extraídas no influyeran en la lectura en el espectrofotómetro se realizó una filtración con membranas de celulosa con un tamaño de poro de 0.45 µm.

Se midió una masa de 15.6 mg de AVB, se solubilizó la AVB con etanol, se trasvasó a un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó hasta la marca de aforo con etanol. Se tomaron alícuotas de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5 mL con pipetas volumétricas y se llevaron

a matraces volumétricos de 25 mL, se llenó hasta la marca de aforo con el medio obtenido a partir del *Tape-Stripping*.

Cada punto de la curva de calibración se efectuó por triplicado, se aseguró la aleatoriedad en la preparación de los sistemas, se leyó en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 360 nm. Se registraron los datos obtenidos y se realizó el tratamiento de datos correspondiente

7.2.7 Evaluación de la permeación pasiva *in vitro* de AVB con/sin BA.

Como se mencionó anteriormente la técnica para el estudio del comportamiento de nuestro analito sobre la piel, fue con celdas de difusión tipo Franz, a continuación, describimos la metodología empleada.

Las celdas de difusión tipo Franz se colocaron en un baño de agua temperado a 37 °C.

Se midió una masa de 605.9 mg y 600.1 mg de AVB respectivamente en una balanza analítica, se disolvió con 10 mL Transcutol® para obtener una solución al 6% de AVB.

Se escogió una oreja de cerdo con color uniforme, sin manchas y sin daños en la piel, se removió el tejido cutáneo suave de la oreja con ayuda de un bisturí cuidando de retirar solamente la piel y no la grasa que pudiera contener, con ayuda de un Dermatoma, se cortó la piel para obtener el tejido cutáneo con un grosor de piel de aproximadamente 750 µm, los cortes de la piel obtenida se cortaron a su vez en círculos que tuvieran el área de las celdas de permeación, con un área total de 0.7854 cm².

Se realizó un sistema blanco que se etiquetó con el número 1 y otro sistema con AVB con 7 réplicas que se denominaron 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 respectivamente, se hidrató la piel con SAF + 6 % de Tween® 20 durante media hora a 37°C, colocando el medio tanto en la fase receptora como en la donadora. Posteriormente, se retiró el medio de hidratación y en la fase receptora se colocaron 2 mL de SAF pH 7.4 + 6% de Tween® 20.

A la cámara donadora del sistema 1 (blanco) se adicionó 1 mL Transcutol®. A los demás sistemas: 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 9 se adicionó 1 mL de la solución de AVB al 6% en Transcutol®. Se tomaron muestras cada 1.5 horas, durante 7.5 horas con reposición del medio y a las 24 horas, las muestras obtenidas se leyeron en un espectrofotómetro UV/VIS a 360 nm para determinar su absorbancia.

En los estudios de permeación con BA se siguió el mismo procedimiento descrito anteriormente, solo que se adicionó además de la AVB al 6%, el BA al 1%.

7.2.8 Determinación de la distancia de penetración de AVB mediante *Tape-Stripping*

Se cortaron y se determinó la masa de 20 cuadrados de cinta adhesiva con un área de 2.25 cm² por cada sistema montado. La piel utilizada en el estudio de permeación *in-vitro* fue removida de los sistemas para enjuagarla con la SAF pH=7.4 con suficiente cantidad para remover el exceso de analito y asegurar la evaporación del solvente, se dejó reposar la piel durante 3 horas, se colocó la cinta sobre el área de contacto de la piel con la AVB retirando cada cinta hacia un sentido diferente cada vez, para pegar las cintas al EC se hizo uso de una espátula con una masa de 20.3029 g, la cual se le aplicó una fuerza constante para cada cinta después se determinó la masa nuevamente a las cintas adhesivas para obtener la cantidad de EC removido mediante diferencia de masas.

Las cintas No. 1, 2, 3, 4, 5 se cortaron y se colocaron individualmente en un vial tipo ámbar, se adicionó 5 mL de etanol y se selló completamente para evitar la evaporación del disolvente, las cinta 6, 7 y 8 se cortaron y se colocaron en un vial tipo ámbar adicionado cada vez 5 mL de etanol y se selló completamente para evitar la evaporación del disolvente, se siguieron colocando tercias de cintas adhesivas cortadas hasta la cinta No. 20 pero en estos casos la cantidad de etanol adicionada fue de 3 mL se prosiguió a someter cada extracción a una agitación constante durante 24 horas, se leyó en el espectrofotómetro a 360 nm para determinar su absorbancia.

8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

8.1 Métodos analíticos

8.1.1 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de AVB en etanol

En la Figura 16 se muestra el espectro de absorción UV de la AVB en etanol, obteniéndose una longitud de onda de máxima absorción de 357.5 nm. Esta λ_{\max} se utilizó para evaluar la solubilidad de la AVB en los diferentes medios probados.

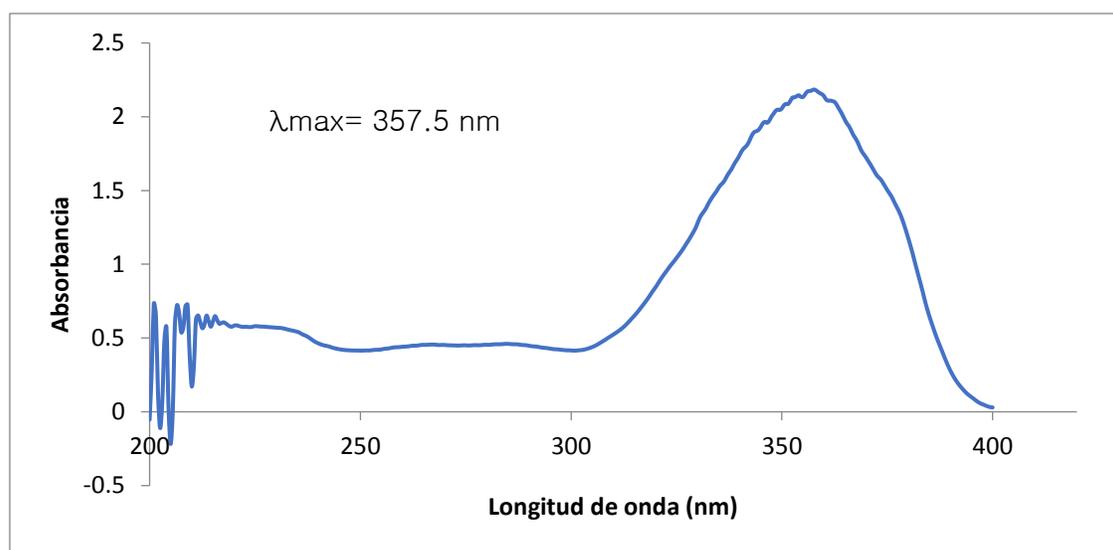


Figura 16. Espectro de absorción en la región ultravioleta de AVB en etanol como disolvente. λ_{\max} a 357.5 nm

8.1.2 Determinación de la solubilidad de la AVB

Con la finalidad de determinar el medio a utilizar en los estudios de permeación y mantener condiciones *sink* durante el experimento (saber si no se saturaría el medio receptor con la AVB durante las permeaciones) se determinó la solubilidad de la AVB en diferentes medios: SAF pH 7.4 (medio comúnmente utilizado), SAF adicionado con etanol, o Tween® 20 en dos proporciones diferentes (2 y 6 % p/v), esto debido a la escasa solubilidad acuosa de la AVB. La solubilidad de la AVB resultó ser mayor (1.5 mg/mL) en SAF pH 7.4 adicionada con 6% de Tween® 20. El uso de aditivos en el medio receptor es necesario en algunos casos para aumentar la solubilidad del fármaco, pero estos aditivos no deben comprometer la integridad

de la membrana o alterar la permeabilidad. De acuerdo con los resultados obtenidos en las pruebas de solubilidad se seleccionó como medio receptor la SAF adicionada con 6 % (m/v) de Tween® 20 para los estudios de permeación y que el medio no limitara la difusión del filtro solar a través de la piel. En el Anexo I se muestran los resultados con todos los medios probados.

Aunque es deseable emplear un medio receptor que sea similar a las condiciones fisiológicas de la piel, es así mismo importante asegurar la liberación del fármaco en el medio. El factor más importante para la selección del medio receptor es la solubilidad del activo, de tal manera que el medio receptor apropiado puede ser una solución amortiguadora para fármacos solubles en agua, un medio hidroalcohólico para fármacos moderadamente solubles en agua o se pueden utilizar también soluciones acuosas de surfactantes (Moser *et al.*, 2001). El Tween® 20 es un tensioactivo no iónico muy usado como emulsificante en formulaciones de uso tópico, tanto farmacéuticas como cosméticas. Se ha reportado el empleo de Tween® 20 y 80 para promover la solubilidad y mantener condiciones *sink* en la fase receptora.

Una vez que se determinó el medio receptor se procedió a desarrollar y validar el método analítico para cuantificar la AVB que difunde a través de la piel en los estudios de permeación.

8.1.3 Determinación de la longitud de onda de máxima absorción de AVB en SAF pH=7.4 adicionada con 6% de Tween® 20 en contacto con piel

En la Figura 17 se observa el espectro de absorción en la región ultravioleta en SAF adicionada con 6% de Tween® 20 en contacto con piel, obteniéndose una longitud de onda de máxima absorción de 360 nm.

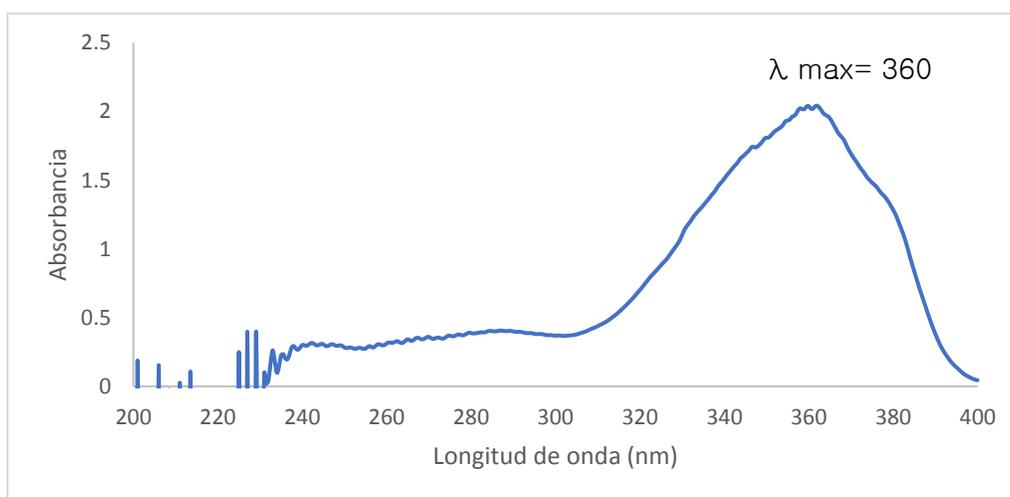


Figura 17. Determinación de la longitud de absorción máxima en SAF- 6% Tween®20- Piel.

8.1.4 Especificidad

Para determinar que el medio elegido para los estudios de permeación no interfiere en la cuantificación de la AVB se el espectro de absorción del medio (SAF pH= 7.4 adicionada con Tween® 20 en contacto con piel) con y sin AVB utilizando como blanco SAF pH= 7.4. En la Figura 18 se observa que el medio no interfiere en la determinación de AVB a una longitud de onda de 360 nm.

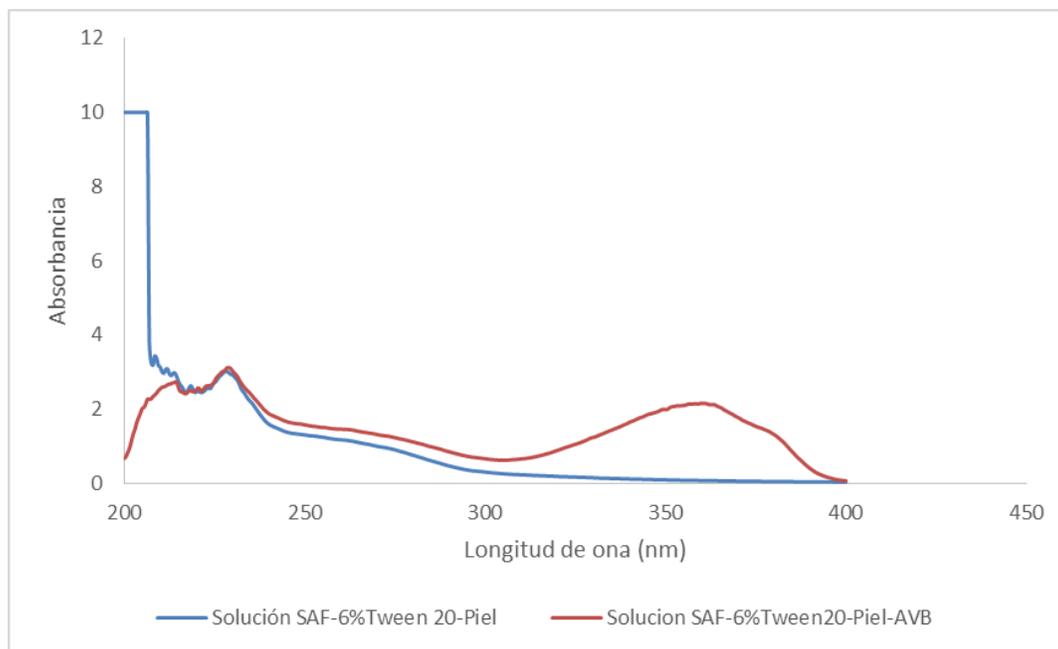


Figura 18. Espectros de absorción en la región ultravioleta de AVB en SAF pH= 7.4- Tween® 20- Piel y SAF pH=7.4-Tween® 20- Piel

8.1.5 Linealidad del sistema. Curva de calibración para cuantificar AVB en un medio biológico (SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20- Piel de cerdo)

La cuantificación de AVB en la solución receptora durante los estudios de permeación se realizó por espectrofotometría UV, mediante interpolación de las lecturas obtenidas en cada muestreo en una curva de calibración, a la cual se le determinaron los parámetros de linealidad y reproducibilidad.

La linealidad del sistema o método es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco muestras con estándar comprendiendo las

concentraciones mínimas y máximas esperadas en el estudio en que se aplicará. (Trujeque, A., 1998).

En la Figura 19 se muestra la curva de calibración obtenida, se puede observar que la curva es lineal, obteniéndose un valor de r^2 de 0.9992 con un coeficiente de variación de 1.8 %. El coeficiente de variación fue menor al 15 % por lo que el método cumple con el parámetro de linealidad, en la repetición de la curva el método es repetible ya que su porcentaje de coeficiente de variación es menor a 15 %, según la “Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry” (F.D.A., 2018). En el Anexo II se muestran los datos con los que se construyó la curva de calibración.

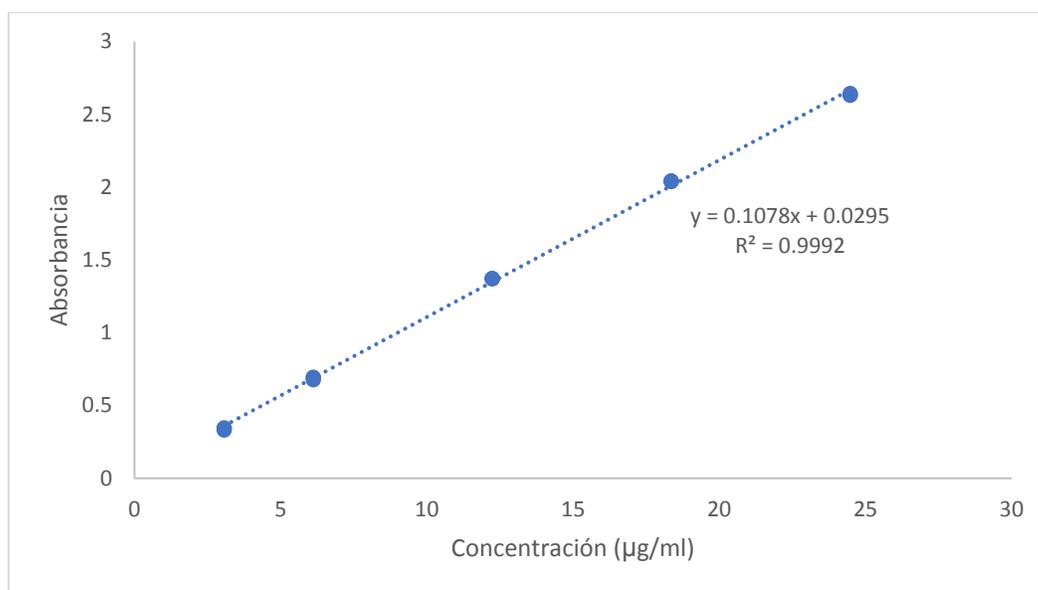


Figura 19. Curva de calibración de la AVB en SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20- Piel de cerdo

8.1.6 Precisión del sistema (Repetibilidad entre días)

La precisión está relacionada con la dispersión de las medidas individuales de un analito alrededor de su valor promedio y corresponde al grado de concordancia entre ensayos individuales cuando el método se aplica repetidamente a múltiples alícuotas de un solo volumen homogéneo de matriz biológica. La precisión se expresa matemáticamente como la desviación estándar relativa (DER) o coeficiente de variación (CV) La masa relativa del analito y la complejidad de la matriz es importante en el establecimiento de la precisión del método. La precisión debe medirse utilizando un mínimo de cinco determinaciones por concentración, se recomienda un mínimo de tres concentraciones en el rango de concentraciones esperadas. La repetibilidad entre días de un método analítico expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independiente realizadas bajo las

mismas condiciones (analista, tiempo, aparato, laboratorio) pero diferente día. La precisión determinada en cada nivel de concentración no debe exceder el 15% del (CV) (F.D.A., 2018; Trujeque, A., 1998).

Se prepararon soluciones por sextuplicado a tres concentraciones (3, 12 y 24 $\mu\text{g/mL}$), a partir de una solución stock de AVB de 152 $\mu\text{g/mL}$, ver Anexo III. En todos los casos el porcentaje de C.V. es de (1.8259% y 1.8734% respectivamente) menor del valor límite establecido para la aceptación de datos, por lo tanto, el sistema es preciso.

8.1.7 Exactitud

La exactitud de un método corresponde a la diferencia entre el valor obtenido (media) y el valor aceptado como referencia. La recuperación del analito se debe acercar al 100 %, para considerar que este sea exacto. La exactitud se determina mediante un análisis de réplicas que contienen cantidades conocidas del analito, debe ser medida utilizando seis determinaciones por concentración, se recomienda un mínimo de tres niveles de concentración (F.D.A., 2018; Trujeque, 1998).

Se prepararon 6 sistemas con masas independientes de estándar de AVB con una concentración de 12 $\mu\text{g/mL}$ a partir de una solución stock de 200 $\mu\text{g/mL}$. En el anexo IV se muestra los datos obtenidos. Se obtuvo un porcentaje de recuperación de (96.524 %).

Con la ayuda de la prueba de t que sirve para comparar dos media (media recuperada y la media adicionada) se determinó que el método analítico es exacto, esto se puede apreciar en el Anexo IV, en ella se observa que el valor de la $t_{\text{calculada}}$ (1.23251356) es menor al valor crítico de t_c (2.22813885) lo cual indica que no existe diferencia significativa entre la cantidad adicionada y la recuperada, es decir, que estadísticamente se puede considerar que todo lo que se adiciona se recupera al aplicar el método analítico, por lo que se considera que este es exacto.

8.1.8 Límite de detección y cuantificación

El límite de detección es la menor concentración de analito que puede detectarse en una muestra, pero no necesariamente cuantificarse, en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración (ppm, ppb. Etc) (Trujeque, 1998).

Se prepararon muestras con concentraciones de 0.5, 1, 2, 3, 4 $\mu\text{g/mL}$ de AVB en SAF pH=7.4 + 6% Tween® 20 + Piel de cerdo. Las concentraciones se analizaron por triplicado. En el Anexo V se observan los resultados obtenidos.

Se obtuvo que el límite de detección es de 0.5088 $\mu\text{g/mL}$ ya que el coeficiente de variación (%CV) se encuentra por arriba del 20 % lo que indica que no existe precisión.

El límite de cuantificación es la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud razonables en las condiciones establecidas y se expresa en unidades de concentración. El estándar más bajo en la curva de calibración debe aceptarse como el límite de cuantificación si se cumplen las siguientes condiciones: i) La respuesta del analito debe ser al menos 5 veces la respuesta en comparación con la respuesta en blanco; ii) El pico de analito (respuesta) debe ser identificable, discreto y reproducible con una precisión del 20% (F.D.A., 2018; Trujeque, 1998).

Se prepararon muestras con concentraciones de 0.5, 1, 2, 3, 4 $\mu\text{g/mL}$ de AVB en SAF pH=7.4 + 6% Tween® 20 + Piel de cerdo. Las concentraciones se analizaron por triplicado los resultados obtenidos se observan en el anexo V los resultados obtenidos.

Se obtuvo que el límite de detección es de 1.0176 $\mu\text{g/mL}$ ya que el coeficiente de variación es de (1.4404%), se encuentra por debajo de lo establecido anteriormente lo que indica que existe precisión.

8.1.9 Linealidad del sistema. Curva de calibración para cuantificar AVB en un medio biológico mediante *Tape-Stripping* (SAF pH= 7.4- 6% Tween® 20 - Piel de cerdo)

La cuantificación de AVB en la piel durante estudios de distancia de penetración por *Tape-Stripping* se realizó por espectrofotometría UV, mediante interpolación de las lecturas obtenidas en cada muestreo en una curva de calibración, a la cual se le determinaron los parámetros de linealidad y reproducibilidad.

La linealidad del sistema o método es su habilidad para asegurar que los resultados analíticos, los cuales pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo determinado. Para su determinación se prepara una serie de al menos cinco muestras con estándar comprendiendo las concentraciones mínimas y máximas esperadas en el estudio en que se aplicará (Trujeque, A., 1998).

En la Figura 20 se muestra la curva de calibración obtenida, se puede observar que la curva es lineal, obteniéndose un valor de r^2 de 0.9994 con un coeficiente de variación de 2.12 %. El coeficiente de variación fue menor al 15 % por lo que el método cumple con el parámetro de linealidad, en la repetición de la curva el método es repetible ya que su porcentaje de coeficiente de variación es menor a 15 %, según la “Bioanalytical Method Validation Guidance for Industry” (F.D.A., 2018). En el Anexo VI se muestran los datos con los que se construyó la curva de calibración.

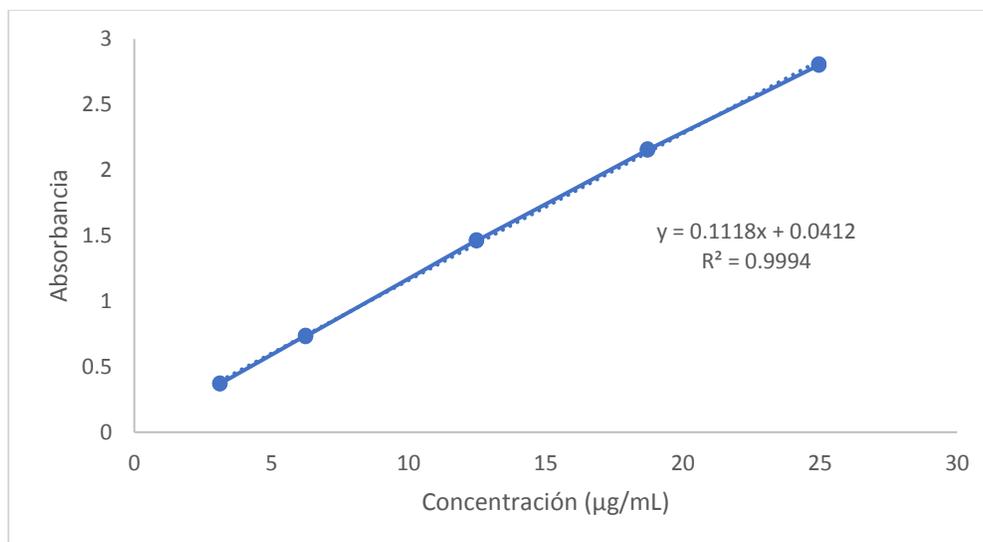


Figura 20. Curva de calibración para la técnica del *Tape-Stripping*.

8.2 Estudios de permeación

8.2.1 Permeación *in vitro* de AVB

En los productos de cuidado personal como los filtros solares idealmente se espera que sean retenidos en la piel con una mínima penetración en la misma y así evitar o minimizar la toxicidad sistémica y potenciar los efectos benéficos. Se ha reportado que hay compuestos que actúan como retardadores de la permeación. Idealmente, un retardador de la penetración debe ser química y farmacológicamente inerte, no tóxico, no irritante y no alergénico, compatible con los ingredientes de la formulación y cosméticamente aceptable (que no imparta olor y color al producto), además, su efecto debe ser rápido, reversible y potente a bajas concentraciones (Pellet, 1994).

En este estudio, se investigó el BA como potencial retardante de la penetración en un modelo de piel *in vitro* de oreja de cerdo. Se utilizó como vehículo el Transcutol[®], el cual es un promotor de absorción (Bernal *et al.*, 2017); este se utilizó con la finalidad de disolver el BA y la AVB

Un mínimo de seis muestras es recomendado para determinar la velocidad de liberación de un fármaco en un producto tópico. El tiempo de muestreo puede variar dependiendo de la formulación. Una alícuota del medio receptor es removida a cada intervalo del muestreo y remplazada por una alícuota del medio fresco, con el objeto de que la membrana permanezca en contacto con la fase receptora durante el periodo de tiempo experimental (Pérez, 2005). El tiempo de muestreo en este experimento se determinó realizando diversos estudios *in vitro*, obteniéndose que

un intervalo de 1.5 h entre cada muestreo era adecuado para detectar y cuantificar la AVB en la fase receptora.

La Figura 21 muestra los resultados obtenidos en la permeación *in vitro*, se puede observar que la AVB disuelta en Transcutol® es capaz de permear a través de la piel obteniéndose un flujo de $3.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}$, al adicionar el BA al 1% junto con la AVB en Transcutol® no se detectó AVB en la fase receptora, por lo que podemos decir que el BA actúa como retardante de la absorción de AVB.

El efecto retardante del BA en la penetración de AVB puede sugerir su posible aplicación en fotoprotectores tópicos, con una eficacia mejorada y efectos secundarios reducidos.

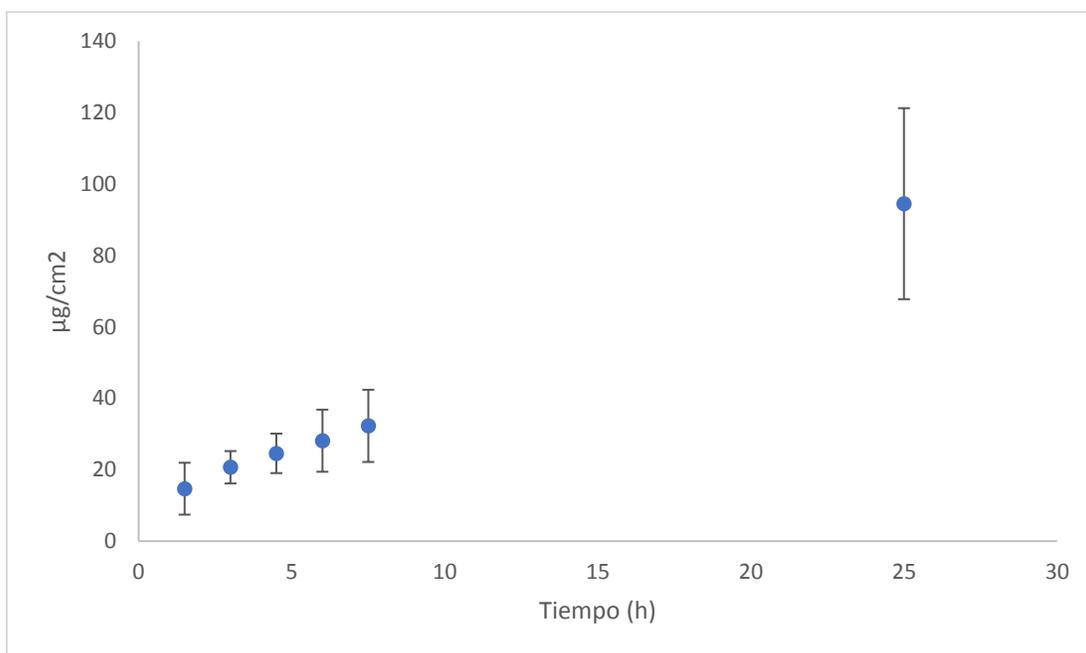


Figura 21. Permeación del filtro solar AVB en Transcutol® a través de piel de cerdo extirpada

En 1993, (Fernández *et al.*) estudiaron la capacidad de una mezcla de o-AG (longitudes de cadena que oscilan entre 16 y 18 carbonos) como potenciadores de la absorción para la vía oral, demostrando un efecto potenciador similar al obtenido con el ácido oleico y el ácido láurico. En 2017 (Bernal *et al.*) demostró que estos AG funcionan de manera diferente al ser aplicados a un epitelio diferente, como lo es el de la piel, evaluaron la permeación a través de la piel de tres analgésicos (diclofenaco, naproxeno y piroxicam) empleando como moduladores de la permeación estos AG y demostraron que estos moduladores de la absorción actúan como retardadores de la penetración.

En 1996, Hadgraft y colaboradores estudiaron los mecanismos de acción de Azone® y algunos análogos. Entre ellos, el compuesto identificado como N-0915 (3-dodecanoiloxazolidin-2-ona) que mostró tener propiedades de un retardador más que una capacidad potenciadora. El efecto retardante de N-0915 se atribuyó a interacciones entre grupos de cabeza polares, específicamente los dos grupos que contienen oxígeno de N-0915 que permiten la formación de enlaces de hidrógeno con grupos de cabeza de lípidos, con la posibilidad de interacción en ambos lados, luego condensan los lípidos del EC. Como los AG poseen una cadena de alquilo larga (16 y 18 carbonos), se espera que tengan un modo de acción similar al compuesto N-0915, ya que pueden insertarse fácilmente en la estructura de bicapa lipídica y permiten la unión en H de los dos grupos hidroxilo con lípidos de la cabeza polar adyacentes, que se ajustan y condensan la disposición de los lípidos de EC, lo que retrasa la penetración de los fármacos (Bernal, S., *et al.*, 2017). Este efecto con interacción de AG con los lípidos intercelulares del EC nos proporciona las bases suficientes para hacer uso de esta capacidad fisicoquímica para el desarrollo de nuevas aplicaciones como es la industria de fármacos destinados a efectos locales.

Bernal et al. demostraron que la cantidad de fármaco extraído de la piel al final de los experimentos de permeación confirmaron que la combinación de AG con Transcutol® reduce la cantidad de fármaco retenido en la piel, pero en este caso el BA redujo la cantidad de AVB retenida en la piel (Figura 22), sin embargo, no hay diferencia estadísticamente significativa al no emplear BA, ver Anexo VI por lo que es necesario realizar otras pruebas que determinen si la AVB es retenida en el EC o en capas más profundas de la epidermis.

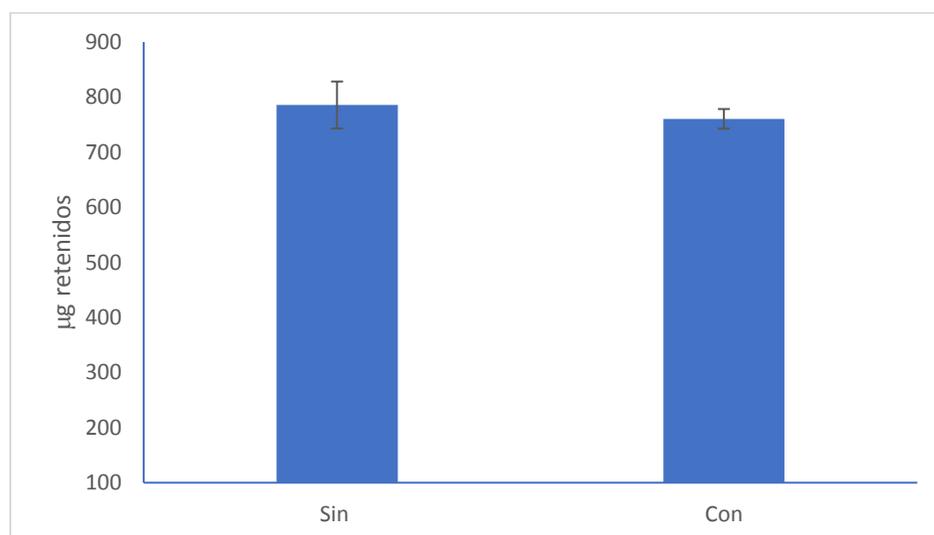


Figura 22. Cantidad de AVB retenida en la piel (µg) después de la permeación usando Transcutol® como disolvente y BA como modificador de la permeación (Sin = Sin BA; Con = Con BA)

8.2.2 Permeación *in vitro* de AVB mediante *Tape-Stripping*

Para dilucidar mejor la acción del BA se prosiguió a efectuar la permeación *in vitro* de AVB en la piel de oreja de cerdo, se estudió utilizando la técnica de *Tape-Stripping*, basada en la eliminación progresiva de las capas del EC mediante extracción secuencial con cintas adhesivas.

La extracción se ha hecho típicamente con la cinta adhesiva que se encuentra a primera vista y la más conveniente y accesible. Solo recientemente se ha observado que existen diferencias notables, experimentalmente relevantes, en las eficiencias de la técnica de *Tape-Stripping* y otras propiedades experimentalmente importantes de las cintas comúnmente disponibles. Las cintas adhesivas más utilizadas son de la empresa 3M, la cinta No. 810 de 3M y la cinta No. 850 de 3M (Scotch M Brand Magic Tape, 3M Co., Minneapolis, MN), sin embargo, ambas cintas tienen limitantes como la higroscopicidad y falta de adhesión.

Con base a lo anterior se hizo uso de una cinta de empaque No. T-182 de Tuck® que se caracteriza por ser de una película de Polipropileno bi-orientado, que son capas de polipropileno fabricadas de tal forma que una cara sea de impresión brillante y la otra opaca. Los films de polipropileno bi-orientado ofrecen ciertas propiedades que lo hacen ser una opción eficiente para el empaque y por ello se utiliza en cintas adhesivas, este material hace a la cinta resistente a los golpes e impermeables al vapor de agua lo que da una idea de su alta disposición al almacenaje y a la duración de su pegamento, por lo que la remoción de EC no debería verse afectada por higroscopicidad, se logró conocer la cantidad de EC removido por diferencia de masa. Lo cual nos indica que las propiedades de la cinta adhesiva son las idóneas para la aplicación de la técnica del *Tape-Stripping*.

La cantidad de sustancia transferida a las tiras de cinta individuales, después de la permeación, se cuantificó para proporcionar el perfil de penetración del EC, ver Figura 23.

Pasadas 24 horas de permeación se prosiguió con la eliminación de las fases donante y receptora, y después de completar los procedimientos de lavado, las celdas de difusión se desmontaron cuidadosamente, y la piel se cubrió con un trozo de papel aluminio. Las impresiones de las celdas de difusión marcaron claramente el área de difusión expuesta (0.7854 cm²). Se secó la piel con un pañuelo de papel y se cortaron trozos de cinta para que cubrieran el área difusa. Es una práctica normal descartar ésta primera cinta ya que se considera parte del procedimiento de limpieza. Sin embargo, esta cantidad es necesaria para calcular la concentración de sustancia recuperada dentro del EC en el caso de aplicar una dosis definida.

Se pueden eliminar diferentes cantidades de EC con las primeras cintas en estudios que comparan diferentes vehículos o tiempos de penetración. Este efecto puede ser

causado por diferencias en la cohesión (Lademan, 2009); En este caso solo se encontraba un vehículo que es fácilmente removible de la piel y con ello la utilización de la primera cinta. En la Figura 23 se observa el efecto del BA sobre la cantidad y distancia de penetración de la AVB, se puede ver que sin emplear BA la cantidad de EC que se puede remover es mayor, obteniéndose mayor cantidad de AVB y mayor distancia de penetración (curva azul), la presencia de BA disminuyó la masa de EC que se pudo remover (con el mismo número de cintas), de lo cual se puede inferir que el BA aumento la cohesión entre las células de las capas superiores de la piel y de esta manera ejerce su efecto modulador en la penetración de sustancias a través de la misma, además se obtuvo que el BA redujo la cantidad y distancia de penetración de la AVB.

La distancia de penetración de AVB no rebaso la longitud del EC, que de acuerdo a la literatura es de 15 μm (Kawakami *et al.*, 2015).

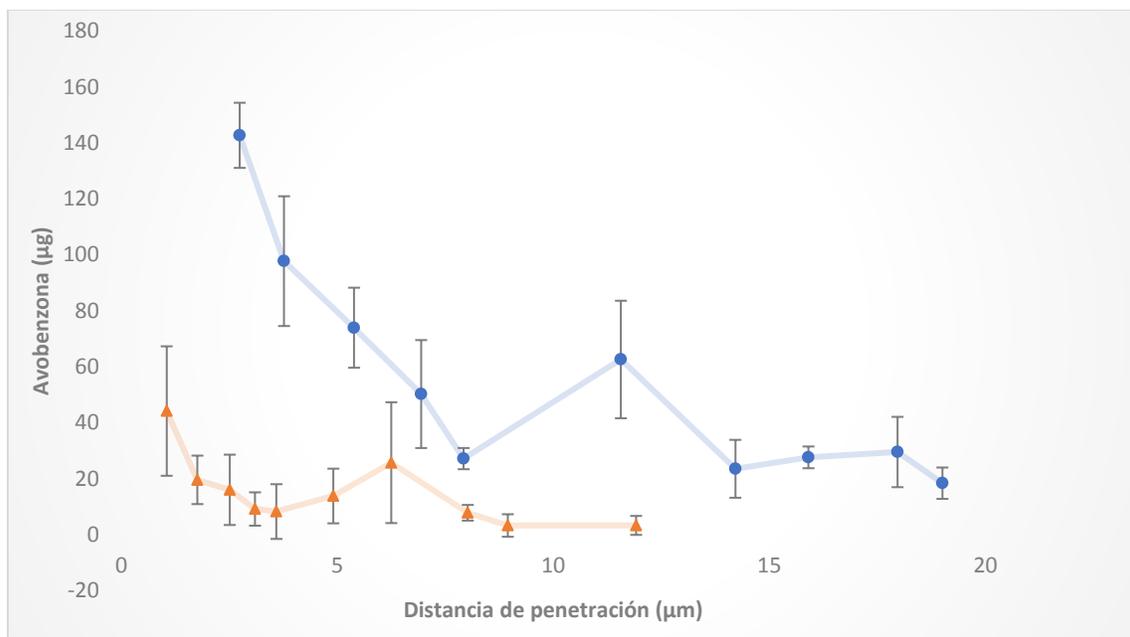


Figura 23. Distancia de penetración con/sin BA (● Sin batil-alcohol, ▲ con batil-alcohol) (n=6)

9. CONCLUSIONES

- Se determinó la velocidad de flujo transdérmico de la AVB en presencia y ausencia de BA, obteniéndose un flujo de $3.4 \mu\text{g}/\text{cm}^2\cdot\text{h}$ para el estudio sin BA, mientras que con BA se obtuvo un flujo nulo.
- Se desarrolló un método analítico espectrofotométrico UV/VIS para la cuantificación de AVB que pasa a través de la piel. El método fue específico, lineal, exacto y reproducible, además se determinó el límite de detección ($0.5088 \mu\text{g}/\text{mL}$) y cuantificación ($1.0176 \mu\text{g}/\text{mL}$).
- Por medio de la técnica de *Tape-Stripping* se demostró que el BA favorece la permanencia de la AVB en la piel
- Se demostró que el BA retrasa la permeación transdérmica de la AVB, lo cual sería muy útil para potenciar los efectos benéficos de éste filtro solar químico, disminuyendo su potencial de dañar la piel por la formación de radicales libres.

10. PERSPECTIVAS

- Se sugiere evaluar otros fotoprotectores orgánicos como es el caso de la Oxibenzona en concomitancia con el BA, el cual ha demostrado ser un modulador de la absorción de estos compuestos químicos.
- Se propone un trabajo de preformulación para el BA, como la investigación de las propiedades fisicoquímicas y biofarmacéuticas sólo o cuando se combina con excipientes, con el objetivo de generar información útil para la formulación en el desarrollo de una forma de dosificación estable y con ello presentar una propuesta de formulación tópica que sea evaluada para su aplicación.

11. REFERENCIAS

- 1.- Albery, W. J. & Hadgraft, J. (1979). Percutaneous absorption: in vivo experiments. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 31, 140-147.
- 2.- Altamirano, S., (2015). "Diseño y formulación de una crema con filtros de protección solar para ser utilizada en personas con psoriasis". (Tesis Profesional), Facultad de Ciencias Químicas., Ecuador.
- 3.- Anguiano, E., (2017). "Desarrollo, caracterización fisicoquímica y estudios de penetración in vitro a través de piel humana de Losartán potásico formulado en parche transdérmico usando microagujas como promotor físico". (Tesis Licenciatura). Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán., Edo. De México.
- 4.- Avril, M. (2004). "Sol y piel: beneficios, riesgos y prevención", Editorial Masson., España. Pp. 89-93.
- 5.- Bernal, S., *et al.* (2017). Alkylglycerol Derivates, a New Class of Skin Penetration Modulators. *Molecules*, 22 (185), 2-11.
- 6.- Bouzas, R. (2003). "Filtros solares, sus innovaciones y perspectivas económicas" (Tesis de licenciatura) Facultad de Química. México D.F.
- 7.- Cardelús, R., *et al.* (2013). Anatomofisiología y patología básica. España: Macmillan Profesional. Pp. 45, 46, 56-59.
- 8.- Coufalova, L., *et al.* (2013). New propanoyloxy derivatives of 5 β -cholan-24-oic acid as drug absorption modifiers. *Steroids*, 78, 435-453.
- 9.- Diez, S., & Domínguez, M. (1990). Permeabilidad cutánea, *Piel*, 5, 503-509.
- 10.- Escobar, J., *et al.* (2010). Conventional methods of cutaneous drug sampling. En *Dermatokinetics of therapeutic agents* pp. 81-132. México.
- 11.- (F.D.A., Mayo 2018). Guidance for industry Bioanalytical Methods Validation.
- 12.- Fernández, C. *et al.* (2000) LC analysis of benzophenone-3 in pigskin and in saline solution Application to determination of in vitro skin Penetration. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 22, 393-402.
- 13.- Flores, M. M., (2013) "Efecto del tipo de surfactante sobre la permeación transdérmica de diclofenaco en liposomas elásticos" (Tesis de licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Edo. México.

- 14.- Gabriel, R. A. (2014) "Liberación sonoforética en parches transdérmicos de Pavastatina sódica: Estudios de permeación IN VITRO". (Tesis de licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Edo. de México.
- 15.- Giokas, D., *et al.* (2007) UV filters_From sunscreens to human body and the environment. *Trends in Analytical Chemistry*, 26 (5), 360-372.
- 16.- Godwin, D., *et al.* (2002) Influence of Transcutol® CG on the skin accumulation and transdermal permeation of ultraviolet absorbers. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 53, 23-27.
- 17.- González, G. (2010). "Posibilidades de aplicación de la espectrofotometría UV al análisis cuantitativo de los filtros solares: Avobenzona, Octilmetoxicinamato y Oxibenzona en cremas faciales". (Tesis de licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Edo. de México.
- 18.- Hadgraft, J., *et al.* (1996) Mechanisms of action of skin penetration enhancersretarders Azone analogues. *International Journal of Pharmaceutics*, 141, 17-25.
- 19.- Hadgraft, J., *et al.* (1999). Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery. *International Journal of Pharmaceutics*, 184 (1), 17-25.
- 20.- Hernández, V., (1994). "Análisis de filtros solares". (Tesis de Licenciatura) Facultad de Química, México D.F.
- 21.- Inexperta (2012). Epidermal Re-Texturizing Micro-Dermoabrasion de Kiehí's. Recuperado el 20 de agosto de 2017, de <http://www.inexpertablog.com/2012/10/epidermal-re-texturizig-micro.html>
- 22.- Kawakami, C., *et al.* (2015). Mangiferin and naringenin affect the photostability and phototoxicity of sunscreens containing avobenzona. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 151, 239-247.
- 23.- Kingman, A., *et al.* (1984). Skin permeability: dermatologic aspects of transdermal drug delivery. *American Heart Journal*, 108 (1), 200-206.
- 24.- Lademan J., *et al.* (2009) The *Tape-Stripping* procedure – evaluation of some critical parameters. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 72, 317-323.
- 25.- Lane, M. (2013). Skin penetration enhancers. *International Journal of Pharmaceutics*, 447, 12-21.
- 26.- Leger, C. (s.f). Clinica Leger. Recuperado el 20 de agosto de 2017, de <http://www.clinicaleger.com.br/miradry.htm>

- 27.- Lionetti N., & Rigano L. (2017). The New Sunscreens among Formulation Strategy, Stability Issues, Changing Norms, Safety and Efficacy Evaluations. *Cosmetics*, 4, 15.
- 28.- Lionetti N., *et al.* (2010). Effect of 1, 4-cyclohexanediol on percutaneous absorption and penetration of azelaic acid. *International Journal of Pharmaceutics*, 387, 167–171.
- 29.- Lorenzo, P., *et al.* (2008). *Farmacología Básica y Clínica*. Medica Panamericana. España
- 30.- Marieb, E., (2008). *Anatomía y fisiología humana*. Pearson educación. España. pp. 76-89.
- 31.- Moser, *et al.* (2001). Passive skin penetration enhancement and its quantification *in vitro*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 52, 103-112.
- 32.- Naik, A., *et al.* (2000). Transdermal Drug Delivery: overcoming the skin's barrier function. *Pharmaceutical Science and Technology Today*, 3 (9), 318-326.
- 33.- Padilla, B., (2011). “Estudio de la penetración *in vitro/in vivo* mediante celdas de difusión de Franz y la técnica de Tape stripping de clorhidrato de sibutamina formulada en parches transdérmicos de quitosán” (Tesis de Licenciatura) Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán.
- 34.- Palastanga, N., *et al.* (2000). “Anatomía y movimiento humano: estructura y movimiento”, 3ª edición, Editorial Paidotribo, España. pp 101-123.
- 35.- Patzelt, A., & Lademann, J. (2015). The Increasing Importance of the Hair Follicle Route in Dermal and Transdermal Drug Delivery. En N. Dragiceviic, & H. Berlin Heidelberg: Springer-verlag
- 36.- Pellet, M. (1994). Effect of supersaturation on membrane transport: 2. Piroxicam. *International Journal of Pharmaceutics*, 111, 1-6.
- 37.- Pérez, P., M. (2005) “Desarrollo de sistemas tópicos. Evaluación de la liberación y permeación de un fármaco antiinflamatorio no esterooidal a través de la piel”. (Tesis de licenciatura). Facultad de Química. México, D.F.
- 38.- Rassner, G., (1997). “Manual y atlas de dermatología”, 5ª edición, Ediciones Harcourt, S. A., España. pp. 230 – 261
- 39.- Reddy, M., (2002). Determining dermal absorption. Parameters *in vivo* form tape strip data. *Pharmaceutical Research*, 19, 292-298.
- 40.- Ribera, M., & *et al.* (2003). “El sol y la piel”, 3ra. Edición, Medifarm, España. pp. 143-149.

- 41.- Roldán, R., (2017). Boletín UNAM-DGCS-237Ciudad Universitaria. Recuperado de http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2017_237.html el día 26 de agosto de 2017.
- 42.- Thews, G., (1983). “Anatomía, fisiología y patofisiología del hombre: manual para farmacéuticos y biólogos”, Editorial Reverté, España. pp. 730-731
- 43.- Trujeque, A. (1998) “Desarrollo de métodos analíticos y estudios de estabilidad para Sulfametazina sódica en materia prima y plasma: desarrollo y validación de un método analítico para la cuantificación de Sulfametazina en plasma de cabra por CLAR.” (Informe de Servicio Social), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Edo. De México.
- 44.- U.S. Pharmacopeia (USP XXII), National Formulation (NF XVII), 1990, pp. 1784-1785.
- 45.- Vázquez, O. (2004) “Análisis cuántico de promotores y/o retardadores de la absorción de principios activos” (Informe de Servicio Social), Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Edo. De México
- 46.- Wolff, K., *et al.* (2009). “Dermatología en medicina general”, 7ª edición, Editorial Medica Panamericana, Argentina. pp. 234, 238, 249-253.
- 47.- Zaid, A., *et al.* (2015). Transdermal drug Delivery: Innovate Pharmaceutical Developments Based on Disruption of the Barrier Propierties of the stratum corneum. *Pharmaceutics*, 7, 438-470.

12. ANEXOS

12.1 Anexo I

Tabla 11. Resultados de la prueba de solubilidad

Disolvente/ Mezcla	Absorbancia	Cantidad de AVB disuelta (mg/mL)	PROMEDIO (mg/mL)	DESV. STD.	% CV
Etanol	1.0590	0.5648	0.6449	0.0953	14.7823
	1.4069	0.7504			
	1.1617	0.6196			
SAF pH= 7.4	0.3924	0.2092	0.2070	0.0104	5.0482
	0.4053	0.2161			
	0.3668	0.1956			
SAF pH=7.4 + 2 % de Tween 20	1.5495	0.8264	0.8381	0.0130	1.5573
	1.5668	0.8357			
	1.5978	0.8522			
SAF pH=7.4 + 6 % de Tween 20	2.7508	1.4672	1.5052	0.0329	2.1922
	2.8623	1.5266			
	2.8530	1.5213			
SAF pH=7.4 + 30 % de Etanol	0.8713	0.4647	0.4554	0.0081	1.7851
	0.8475	0.4520			
	0.8429	0.4495			

12.2 Anexo II

Curva de Calibración de AVB en SAF pH 7.4 + 6% Tween® 20- Piel de oreja de cerdo.

Tabla 12. Datos de la curva de calibración en solución de PBS pH 7.4 – 6% Tween 20- Piel de cerdo

Concentración (C) (µg/mL)	Absorbancia (A)	A/C
3.06	0.3321	0.1085
3.06	0.34	0.1111
3.06	0.3458	0.1130
6.12	0.6768	0.1105
6.12	0.6896	0.1126
6.12	0.6947	0.1135
12.24	1.3706	0.1119
12.24	1.3706	0.1119
12.24	1.3714	0.1120
18.36	2.0422	0.1112
18.36	2.0402	0.1111
18.36	2.0367	0.1109
24.48	2.6437	0.1079
24.48	2.6335	0.1075
24.48	2.6304	0.1074

Tabla 13. Datos de Validación curva de calibración de PBS pH 7.4 – 6% Tween® 20- Piel de cerdo

Parámetros	
Promedio	0.1107
Desviación estándar.	0.0019
Porcentaje de coeficiente de variación	1.7915

12.3 Anexo III

Para evaluar si las respuestas del sistema dentro del intervalo de trabajo son precisas se analizaron por sextuplicado soluciones a diferentes concentraciones de AVB en diferentes días bajo las mismas condiciones de trabajo y se les trató estadísticamente (Tablas 14 y 15).

Tabla 14. Resultados obtenidos para determinar la precisión del sistema. Día 1

Tabla 14. Sistema	Alícuota (mL)	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	A/C
1	0.5	3.06	0.3566	0.1165
2	0.5	3.06	0.3527	0.1152
3	0.5	3.06	0.3532	0.1154
4	0.5	3.06	0.358	0.1169
5	0.5	3.06	0.3492	0.1141
6	0.5	3.06	0.3589	0.1172
7	2	12.24	1.4159	0.1156
8	2	12.24	1.3977	0.1141
9	2	12.24	1.4158	0.1156
10	2	12.24	1.4094	0.1151
11	2	12.24	1.4055	0.1148
12	2	12.24	1.4023	0.1145
13	4	24.48	2.7796	0.1135
14	4	24.48	2.7822	0.1136
15	4	24.48	2.7009	0.1103
16	4	24.48	2.6925	0.1099
17	4	24.48	2.7127	0.1108
18	4	24.48	2.6973	0.1101
			PROMEDIO	0.1141
			DESV. STD.	0.0023
			%CV	1.8259

Tabla 15. Resultados obtenidos para determinar la precisión del Sistema. Día 2

Sistema	Alícuota (mL)	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	A/C
1	0.5	3.08	0.3495	0.1134
2	0.5	3.08	0.3394	0.1101
3	0.5	3.08	0.3384	0.1098
4	0.5	3.08	0.3413	0.1108
5	0.5	3.08	0.3412	0.1107
6	0.5	3.08	0.3469	0.1126
7	2	12.32	1.3574	0.1101
8	2	12.32	1.3677	0.1110
9	2	12.32	1.324	0.1074
10	2	12.32	1.3617	0.1105
11	2	12.32	1.358	0.1102
12	2	12.32	1.3461	0.1092
13	4	24.64	2.6147	0.1061
14	4	24.64	2.6207	0.1063
15	4	24.64	2.6506	0.1075
16	4	24.64	2.6926	0.1092
17	4	24.64	2.6285	0.1066
18	4	24.64	2.682	0.1088
			PROMEDIO	0.1095
			DESV. STD.	0.0020
			%CV	1.8734

12.4 Anexo IV

Tabla 16. Resultados obtenidos para determinar la exactitud del sistema

Sistema	Peso de muestra (mg)	Absorbancia	Concentración estimada ($\mu\text{g/mL}$)	Cantidad recuperada (mg)	Cantidad recuperada (%)
1	7.5	1.3793	12.5213	7.8258	104.3444
2	7.6	1.277	11.5723	7.2327	95.1674
3	8.1	1.2394	11.2235	7.0147	86.6015
4	7.3	1.3497	12.2467	7.6542	104.8523
5	7.9	1.2662	11.4721	7.1701	90.7608
6	8.3	1.4241	12.9369	8.0855	97.4165
PROMEDIO	7.7833			7.4971	96.5238
DESV. STD.	0.3816			0.4215	7.2777
%CV	4.9035			5.6228	7.5398

Hipótesis:

$$H_0 = \bar{X}_{ADICIONADA} = \bar{X}_{RECUPERADA}$$

$$H_A = \bar{X}_{ADICIONADA} \neq \bar{X}_{RECUPERADA}$$

Tabla 17. Prueba t para dos muestras con varianzas iguales

Nivel de concentración	Parámetros	C Recuperada	C Adicionada
50 %	Promedio	7.49719774	7.7833333
	Varianza	0.177712172	0.14566667
	Observaciones	6	6
	Grados de libertad	10	
	Estadístico t (tcal)	1.23251356	
	P(T<= t) dos colas	0.24594825	
	Valor crítico de t (dos colas)	2.22813885	

12.5 Anexo V

Tabla 18. Resultados obtenidos para la determinación de Límite de detección y cuantificación del sistema

Sistema	Alícuota (mL)	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Abs	A/C	PROMEDIO	DESV. STD.	%CV
1	0.5	0.5088	0.0983	0.1931	0.1620	0.0417	25.7695
2	0.5	0.5088	0.0907	0.1782			
3	0.5	0.5088	0.0583	0.1145			
4	1	1.0176	0.1116	0.1096	0.1109	0.0015	1.4404
5	1	1.0176	0.1147	0.1127			
6	1	1.0176	0.1123	0.1103			
7	2	2.0352	0.2176	0.1069	0.1066	0.0002	0.2007
8	2	2.0352	0.2168	0.1065			
9	2	2.0352	0.2169	0.1065			
10	3	3.0528	0.326	0.1067	0.1064	0.0007	0.7499
11	3	3.0528	0.3223	0.1055			
12	3	3.0528	0.3269	0.1070			
13	4	4.0704	0.438	0.1076	0.1077	0.0002	0.1991
14	4	4.0704	0.4385	0.1077			
15	4	4.0704	0.4397	0.1080			

Tabla 19. Límites de Detección y Cuantificación para el sistema

Límite de detección (LD)	0.5088 $\mu\text{g/mL}$
Límite de cuantificación (LC)	1.0176 $\mu\text{g/mL}$

12.6 Anexo VI

Curva de Calibración de AVB en Etanol pH 7.4 + 6% Tween® 20- Piel de oreja de cerdo.

Tabla 20. . Datos de la curva de calibración para el Tape-Stripping

Sistema	Alícuota (mL)	Concentración (µg/mL)	Absorbancia	A/C
1	0.5	3.12	0.3742	0.1199
2	0.5	3.12	0.3712	0.1189
3	0.5	3.12	0.3691	0.1183
4	1	6.24	0.7364	0.1180
5	1	6.24	0.74	0.1185
6	1	6.24	0.7297	0.1169
7	2	12.48	1.4639	0.1172
8	2	12.48	1.4681	0.1176
9	2	12.48	1.4605	0.1170
10	3	18.72	2.1546	0.1150
11	3	18.72	2.1607	0.1154
12	3	18.72	2.1546	0.1150
13	4	24.96	2.8002	0.1121
14	4	24.96	2.8077	0.1124
15	4	24.96	2.8094	0.1125
			PROMEDIO	0.1163
			DESV.STD	0.0024
			%CV	2.1215

12.7 Anexo VII

Se efectuó una prueba de t para determinar si existe diferencia significativa entre usar o no el BA.

Tabla 21. Prueba t para dos muestras con varianzas diferentes. Comparación entre retención de AVB en la piel con y sin el uso de BA.

Parámetros	Con BA	Sin BA
Promedio	760.609926 mg	785.746173 mg
Varianza	315.545637	1815.18319
Observaciones	8	8
Grados de libertad	9	
Estadístico t (t_{cal})	1.540215	
P($T \leq t$) dos colas	0.15789462	
Valor crítico de t (dos colas)	2.26215716	