



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN**

Desarrollo y caracterización de un parche
transdérmico acoplado a microagujas
poliméricas biodegradables cargadas con
alendronato de sodio para el tratamiento de
osteoporosis

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
LICENCIADA EN FARMACIA

PRESENTA:

VICTORINO ZUÑIGA JESSICA AGLAE

ASESOR: Dr. José Juan Escobar Chávez

Cuautitlán Izcalli, Estado de México, 2019



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
SECRETARÍA GENERAL
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

U.N.A.M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN
ASUNTO: VOTO APROBATORIO



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

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

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

Desarrollo y caracterización de un parche transdérmico acoplado a microagujas poliméricas biodegradables cargadas con alendronato de sodio para el tratamiento de osteoporosis

Que presenta la pasante: **Jessica Aglae Victorino Zuñiga**

Con número de cuenta: **415089324** 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 13 de junio de 2019.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	I.Q. Rafael Sampere Morales	
VOCAL	M.F.C. María Eugenia R. Posada Galarza	
SECRETARIO	Dr. José Juan Escobar Chávez	
1er. SUPLENTE	Dr. Roberto Díaz Torres	
2do. SUPLENTE	Q.F.B. Patricia Jeane Domínguez Quiñones	

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

Dedicatoria:

Dedico mi trabajo de tesis a mis padres Alejandro Victorino Martínez y Teresa Zuñiga Ortiz por haberme apoyado en cada etapa de mi carrera, y a mi hermano Abner Yael Victorino Zuñiga por haberme animado siempre.



AGRADECIMIENTOS



A Dios.

A la Universidad Nacional Autónoma de México por haberme brindado un lugar y una educación de calidad.

Al Doctor José Juan Escobar Chávez por haberme brindado la confianza, el apoyo y la oportunidad de desarrollar este proyecto.

A mi familia: Mis padres Alejandro y Teresa, por todo su amor, cariño y apoyo total en cada etapa de mi vida y mi formación profesional, y a mi hermano Abner por apoyarme y animarme siempre. ¡Gracias por todo familia! Siempre les estaré muy agradecida.

A Carlos Ernesto Cuenca Galván por apoyarme incondicionalmente en todo momento, por su colaboración, por sus grandes consejos, su grata compañía y por ser esa persona que me motiva a ser cada día mejor. ¡Muchas gracias Carlitos! Siempre te estaré muy agradecida por todo.

A todos mis amigos de carrera.

A la beca de titulación mediante elaboración de tesis/examen profesional, otorgada por el proyecto PAPIIT IT 200218: “Desarrollo y caracterización de lentillas poliméricas cargadas con sustancias de interés terapéutico para el tratamiento de afecciones oculares”.

A los proyectos:

PAPIIT IT 200218 “Desarrollo y caracterización de lentillas poliméricas cargadas con sustancias de interés terapéutico para el tratamiento de afecciones oculares”.

PIAPI 1817 “Diseño, desarrollo y caracterización de sistemas de administración de fármacos por vía oftálmica para uso humano y veterinario”

PIAPIME 2.12.27.19 “Manual de prácticas para la asignatura de instancia de investigación III de la licenciatura en tecnología en el área de tecnología farmacéutica (vías de administración de fármacos no convencionales”.



Contenido

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	10
ÍNDICE DE TABLAS	11
ÍNDICE DE GRÁFICOS	12
RESUMEN.....	13
1. INTRODUCCIÓN	14
2. MARCO TEÓRICO.....	15
2.1 Anatomía y Fisiología de la piel	15
2.1.1 Anatomía	15
2.1.1.2 Epidermis.....	16
2.1.1.3 Dermis	17
2.1.1.4 Hipodermis.....	18
2.2 Funciones de la piel.....	19
2.3 Estructuras anexas a la piel.....	19
2.3.1 Pelo.....	20
2.3.2 Uñas.....	20
2.4 Glándulas de la piel.....	21
2.4.1 Glándulas sudoríparas	21
2.4.2 Glándulas sebáceas.....	21
2.4.3 Glándulas ceruminosas.....	21
2.5 Absorción cutánea.....	21
2.6 Absorción percutánea.....	21
2.7 Vías de absorción percutánea	22
2.7.1 Vías transapendiculares (Ilustración 5):	22
2.7.2 Vías transepidermicas.....	23
2.8 Administración transdérmica.....	23
2.9 Factores implicados en la absorción transdérmica.....	24
2.10 Parche transdérmico	26
2.10.1 Tipos de parche transdérmico	27
2.10.1.1 Tipo Reservorio (controlados por membrana)	27
2.10.1.2 Tipo Matricial (controlados por matriz)	27
2.10.1.3 Tipo mixto (microreservorio).....	28
2.10.1.4 Tipo matricial adhesivo	28
2.11 Promotores de la absorción.....	28

2.11.1 Promotores químicos	29
2.11.2 Promotores físicos de la penetración	30
2.11.2.1 Ultrasonido.....	30
2.11.2.2 Iontoforesis	30
2.11.2.3 Electropermeabilización	31
2.11.2.4 Microagujas transdérmicas	32
2.11.2.4.1 Aplicaciones actuales de las microagujas transdérmicas	35
2.11.2.4.2 Métodos de manufactura.....	36
2.11.2.4.2.1 Litografía y grabado (Ilustración 17).....	36
2.11.2.4.2.2 Fabricación de microagujas de silicón.....	37
2.11.2.4.2.3 Fabricación de microagujas metálicas y de cristal.....	37
2.11.2.4.2.4 Fabricación de microagujas de cerámica	37
2.11.2.4.2.5 Fabricación de microagujas poliméricas	38
2.12 Ensayos de permeabilidad <i>In Vitro</i>	39
2.13 Modelos matemáticos aplicados a la absorción transdérmica.....	39
2.13.1 Difusión pasiva	39
2.13.2 Leyes de Fick	40
2.13.3 Segunda ley de Fick	42
2.14 Osteoporosis en México	43
2.15 Definición de osteoporosis	43
2.16.1 Clasificación de la osteoporosis	44
2.16.1.1 Osteoporosis primaria.....	44
2.16.1.2 Osteoporosis secundaria	45
2.16.2 Sintomatología	47
2.16.3 Factores de riesgo.....	47
2.16.3.1 Factores de riesgo de baja masa ósea patológica.....	47
2.16.3.2 Factores de riesgo de fractura osteoporótica.....	48
2.16.3.3 Factores de riesgo de caídas	48
2.16.4 Tratamiento farmacológico	49
2.16.4.1 Calcio y vitamina D.....	49
2.16.4.2 Bifosfonatos	49
2.16.4.3 Fármacos moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERM).....	50
2.16.4.4 Calcitonina	50
2.16.4.5 Terapia hormonal sustitutiva	50
2.17 Propiedades fisicoquímicas del alendronato de sodio	51

3.17.1 Mecanismo de acción	51
2.17.2 Farmacocinética	52
2.17.3 Reacciones adversas	53
2.17.4 Presentaciones de alendronato de sodio para administración oral disponibles en el mercado actual.....	53
3. JUSTIFICACIÓN	53
4. OBJETIVOS.....	54
4.1 OBJETIVO GENERAL	54
4.2 OBJETIVOS PARTICULARES.....	54
5. HIPÓTESIS	54
6. METODOLOGÍA	54
6.1 Material	56
6.2 Preparación de la solución de alendronato de sodio.....	57
6.3 Caracterización de la solución de alendronato de sodio.....	58
6.3.1 Medición del pH.....	58
6.3.2 Medición de la viscosidad	58
6.3.3 Determinación de la gravedad específica	59
6.3.4 Determinación de contenido químico.....	59
6.4.1 La preparación de la película correspondiente a la formulación 1 se explica en el punto No. 7.7.2 Preparación de la película adhesiva.....	61
6.4.2 Preparación de la película correspondiente a la formulación 2.....	61
6.4.3 Preparación de la película correspondiente a la formulación 3.....	61
6.5 Preparación de las películas adhesivas	61
6.5.1 Preparación de la película correspondiente a la formulación 1.....	61
6.5.2 La preparación de la película correspondiente a la formulación 2 se explica en el punto No. 7.7.2 Preparación de la película adhesiva.....	62
6.5.3 Preparación de la película correspondiente a la formulación 3.....	62
6.6 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA BASE DEL PARCHE TRANSDÉRMICO UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI.....	62
6.6.1 Diseño de experimentos.....	62
6.6.2 Preparación de la base del parche transdérmico.....	62
6.6.3 Prueba de resistencia a la ruptura.....	63
6.6.4 Resultados esperados para la prueba de resistencia a la ruptura	64
6.7 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA PELÍCULA ADHESIVA DEL PARCHE UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI.....	64
6.7.1 Diseño de experimentos.....	64

6.7.2 Preparación de la película adhesiva.....	64
6.7.3 Prueba de bioadhesión.....	65
6.7.4 Prueba de bioadhesión posthumectación.....	65
6.7.5 Resultados esperados para la prueba de bioadhesión.....	66
6.8 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LAS MICROAGUJAS POLIMÉRICAS BIODEGRADABLES UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI.....	66
6.8.1 Diseño de experimentos.....	66
6.8.2 Preparación de las microagujas poliméricas biodegradables.....	66
6.8.3 Propuesta del molde para microagujas.....	67
6.8.4 Prueba de dureza.....	68
6.8.5 Resultados esperados para la prueba de dureza.....	68
6.9 Estudio de la liberación del fármaco.....	69
6.10 Estudio <i>in vitro</i> de absorción percutánea.....	69
6.10.1 Tratamiento de la piel.....	69
6.10.2 Estudio <i>in vitro</i> mediante el uso de celdas de difusión verticales tipo Franz.....	70
6.10.3 Calculo de las constantes biofarmacéuticas.....	70
6.11 Micrografías de las microagujas.....	70
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	72
7.1 Resultados obtenidos para las pruebas de caracterización de la solución reservorio.....	72
7.2 Resultados obtenidos para cada una de las formulaciones para las películas del parche transdérmico.....	73
7.3 Análisis de optimización de la formulación para la base del parche transdérmico por el programa Statgraphics Centurion XVI.....	74
7.4 Análisis de optimización de la formulación para película adhesiva por el programa Statgraphics Centurion XVI.....	78
7.5 Análisis de optimización de la formulación para las microagujas por el programa Statgraphics Centurion XVI.....	85
7.6 Ensamblado de la forma farmacéutica final.....	89
7.7 Resultados obtenidos en el estudio de liberación <i>in vitro</i> de alendronato de sodio en el parche tipo reservorio.....	90
7.8 Resultados obtenidos en el estudio <i>in vitro</i> de absorción percutánea.....	91
8. CONCLUSIONES.....	94
9. PERSPECTIVAS.....	95
10. REFERENCIAS.....	95
11. ANEXOS.....	100
11.1 ANEXO 1. PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALENDRONATO DE SODIO POR VALORACIÓN ÁCIDO BASE..	100

11.1.1 Procedimiento	100
11.1.1.2 Condiciones del análisis.....	100
11.1.1.3 Estandarización de la solución valorante de hidróxido de sodio.....	100
11.1.1.4 Valoración de la solución blanco del sistema	100
11.1.1.5 Valoración de la solución blanco del placebo	101
11.1.1.6 Valoración de la solución de placebo cargado con alendronato de sodio.....	101
11.1.1.7 Cálculos para la corrección del volumen	101
11.1.1.8 Cálculo para la cuantificación de alendronato de sodio.....	101
11.1.1.9 Preparación de la curva de calibración de alendronato de sodio.....	101
11.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	102
11.2.1 Linealidad del sistema	102
11.2.2 Precisión del sistema	102
11.2.3 Linealidad del método	102
11.2.4 Precisión del método	102
11.2.5 Exactitud y repetibilidad del método.....	103
11.2.6 Criterios de aceptación	103
11.3 RESULTADOS DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LA SOLUCIÓN VALORANTE DE HIDRÓXIDO DE SODIO.....	103
11.4 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE VALORACIÓN DE BLANCOS	104
11.5 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	104
11.5.1 Linealidad del sistema	104
11.5.2 Precisión del sistema	106
11.5.3 Linealidad del método	106
11.5.4 Precisión del método	108
11.5.5 Exactitud del método.....	108
11.6 ANEXO 2. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ANALÍTICAS	109
11.6.1 Preparación de la solución de hidróxido de sodio 0.01M.....	109
11.6.2 Preparación de la solución de fenolftaleína 1% en etanol	109
11.6.3 Preparación de la solución buffer de fosfatos pH 7.4.....	109
11.6.3.1 Dilución del buffer para la eliminación de interferencias	109

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Estructura del tejido cutáneo y subcutáneo (Saladin, 2012).	15
Ilustración 2. Estratos y tipos de células de la epidermis (Saladin, 2012).	17
Ilustración 3. Epidermis y dermis de la piel (Standring, 2008).	18
Ilustración 4. Estructura de la uña (Elaine, 2008).	20
Ilustración 5. Vías de penetración de los fármacos a través de la piel: a) Transudorípara. B) Transepidérmica y c) Transfolicular (Ariza, 2004).	22
Ilustración 6. Vías de absorción transepidérmicas (Araiza, 2004).	23
Ilustración 7. Estructura del parche transdérmico (Allevato, 2007).	26
Ilustración 8. Parche tipo reservorio (Allevato, 2007).	27
Ilustración 9. Parche tipo matricial (Allevato, 2007).	27
Ilustración 10. Parche tipo microreservorio (Allevato, 2007).	28
Ilustración 11. Parche tipo adhesivo (Allevato, 2007).	28
Ilustración 12. a) Proceso de ultrasonido, b) Penetración de moléculas grandes mediante ultrasonido (Allevato, 2007).	30
Ilustración 13. Esquema del proceso de iontoforesis (Vega, 2016).	31
Ilustración 14. Proceso de electropermeabilización (Risk, Fernández & Marshall, 2013).	31
Ilustración 15. Clasificación de las microagujas en función de su mecanismo de liberación (Rojas, 2017).	33
Ilustración 16. Clasificación de las microagujas en función del material de fabricación (Rojas, 2017).	34
Ilustración 17. Manufactura de microagujas por el método de litografía (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016).	37
Ilustración 18. Técnicas de manufactura de microagujas poliméricas (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016).	38
Ilustración 19. Ensamblado de celda de difusión tipo Franz para estudios de permeabilidad (Clarí, 2004).	39
Ilustración 20. Perfil representativo de las cantidades acumuladas (Clarí, 2004).	42
Ilustración 21. Estructura química del alendronato de sodio.	51
Ilustración 22. Mecanismo de acción del alendronato de sodio. (Carretero, 2002)	52
Ilustración 23. Equipo de medición de pH 10 HI 2210 pH Meter HANNA Instruments.	58
Ilustración 24. Viscosímetro DV-E Brookfield.	58
Ilustración 25 a) Partes del picnómetro, b) Picnómetro ensamblado.	59
Ilustración 26. Corte realizado al parche transdérmico.	63
Ilustración 27. Prueba de resistencia a la ruptura.	63
Ilustración 28. Películas del parche cortadas en círculos y recubiertas con la solución adhesiva para la formación de la película adhesiva.	65
Ilustración 29. Prueba de bioadhesión en voluntario.	65
Ilustración 30. Esquema del proceso de manufactura utilizado para la manufactura de las microagujas poliméricas huecas.	67
Ilustración 31. Prueba de dureza de las microagujas.	68
Ilustración 32. Sistema propuesto para el estudio de liberación.	69
Ilustración 33. Equipo DESK V DENTONVACUUM.	71
Ilustración 34. Microscopio electrónico de barrido JMS-6010LA InToucheScope.	71
Ilustración 35. Película óptima para la base del parche.	78

Ilustración 36. Microagujas poliméricas biodegradables huecas, a) vista frontal. b) vista superior.	88
Ilustración 37. Presentación de la forma farmacéutica final a) Vista superior, b) Vista frontal, c) Vista inferior. (Grosor: 1.11mm, Área:12.56 <i>cm</i> ²).....	90
Ilustración 38. Apariencia del parche transdérmico posterior al estudio de permeación in vitro....	93
Ilustración 39. Mecanismo de separación y disolución de la microaguja mediada por el hinchamiento del hidrogel (Hong, Wei, Wu, Wu, Chen, Liu & Yuan, 2013).	94

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica.	24
Tabla 2. Clasificación de los promotores químicos de la absorción en función de su naturaleza química.....	29
Tabla 3 Ventajas y desventajas de las microagujas transdérmicas.	35
Tabla 4. Aspectos relacionados con la osteoporosis primaria.	45
Tabla 5. Causas de osteoporosis secundaria.	46
Tabla 6. Composición de la solución reservorio de alendronato de sodio.	57
Tabla 7. Formulación establecida para la película base del parche transdérmico.....	60
Tabla 8. Formulaciones establecidas para la película impermeable.	60
Tabla 9. Formulaciones establecidas para la película adhesiva.	61
Tabla 10. Formulación establecida para las microagujas poliméricas biodegradables.	62
Tabla 11. Caracterización del reservorio: solución de alendronato de sodio.....	72
Tabla 12. Datos obtenidos para el cálculo de la gravedad específica.....	72
Tabla 13 Resultados obtenidos en la prueba de contenido químico.....	72
Tabla 14. Formulaciones establecidas para la película impermeable y observaciones (Resultados).	73
Tabla 15. Formulaciones establecidas para la película adhesiva y observaciones (Resultados).	73
Tabla 16. Resultados de la caracterización de resistencia a la ruptura para cada una de las formulaciones del diseño de experimentos.....	74
Tabla 17. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la base del parche..	76
Tabla 18. Formulación óptima para la base del parche.	77
Tabla 19. Caracterización de la película de la base del parche óptima.	77
Tabla 20. Resultados obtenidos para la prueba de bioadhesión y bioadhesión posthumectación de la película adhesiva.....	78
Tabla 21. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la película adhesiva (bioadhesión).	80
Tabla 22. Formulación óptima de la película adhesiva de la base del parche (Bioadhesión).....	81
Tabla 23. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la película adhesiva (bioadhesión posthumectación).	82
Tabla 24. Formulación óptima de la película adhesiva de la base del parche (Bioadhesión posthumectación).	83
Tabla 25. Caracterización de la película de la película adhesiva óptima.	84
Tabla 26. Prueba de bioadhesión en voluntarios.	84
Tabla 27. Resultados obtenidos para la prueba de dureza.	85
Tabla 28. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de las microagujas.	87
Tabla 29. Formulación óptima para las microagujas.	88
Tabla 30. Caracterización de las microagujas poliméricas (formulación óptima).	88

Tabla 31. Caracterización morfológica de las microagujas por la técnica de microscopía electrónica de barrido.....	89
Tabla 32. Resultados de los estudios <i>in vitro</i> de absorción percutánea.	91
Tabla 33. Valores obtenidos para las constantes biofarmacéuticas.....	92
Tabla 34. Resultados de la estandarización.....	103
Tabla 35. Resultados de la valoración.....	104
Tabla 36. Linealidad del sistema.	104
Tabla 37. Precisión del sistema.....	106
Tabla 38. Linealidad del método.	107
Tabla 39. Precisión del método.....	108
Tabla 40. Exactitud del método.	108

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Resistencia a la ruptura de la base del parche transdérmico: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (seg).....	64
Gráfico 2. Bioadhesión del parche: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (s).....	66
Gráfico 3. Dureza: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (s).	68
Gráfico 4. Perfil de liberación: % de Alendronato de sodio vs Tiempo (min).	90
Gráfico 5. Perfil de permeación Cantidad acumulada de alendronato de sodio por área de piel expuesta ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) vs Tiempo (horas).....	92
Gráfico 6. Curva de calibración 1. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].	105
Gráfico 7. Curva de calibración 2. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].	105
Gráfico 8. Curva de calibración 3. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].	105
Gráfico 9. Cantidad recuperada (mg) vs cantidad adicionada (mg) de alendronato de sodio para la determinación de la linealidad del método.	107

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el objetivo de desarrollar y caracterizar un parche transdérmico acoplado a microagujas poliméricas biodegradables con la finalidad de mejorar la biodisponibilidad del alendronato de sodio fármaco utilizado para el tratamiento de osteoporosis, debido a que este en su presentación oral solo muestra un 1% de biodisponibilidad haciendo mención de que su administración por vía oral genera reacciones adversas, por lo tanto la administración alternativa de este fármaco genera un aumento en su biodisponibilidad y una posible disminución de reacciones adversas.

Resultados

En primera instancia se realizó la formulación del reservorio del parche, este se compone de Pluronic.F-127 como vehículo, propilenglicol como conservador y promotor químico de la permeación y por alendronato de sodio. La solución reservorio preparada fue caracterizada: se obtuvieron valores de pH de 5.11 en promedio, 23.4 cP de viscosidad y un valor promedio de gravedad específica de 1.02648. Por otra parte, se llevó a cabo el desarrollo de la forma farmacéutica. Se formuló una base para el parche la cual fue optimizada en dos de sus componentes: glicerina y alginato de sodio al ser estos dos los principales factores que impactan sobre la resistencia a la ruptura, los niveles óptimos de estos componentes fueron 15% de glicerina y 1.5% de alginato de sodio, se obtuvo un valor promedio de resistencia de 807.6 g.f (pico de carga). Posteriormente se formuló una película adhesiva para el parche la cual se compone de Eudragit RS100 como polímero adhesivo y Triacetina como plastificante, se realizó su optimización evaluando dos respuestas: bioadhesión y bioadhesión posthumectación, estas pruebas fueron realizadas en el antebrazo de un voluntario sano y se determinó que las cantidades óptimas que ofrecen una máxima adhesión del parche a la piel son: 12% de Eudragit RS100 y 9% de Triacetina, el valor promedio obtenido para bioadhesión fue de 108.7 g.f (pico de carga) y para bioadhesión posthumectación 91.1 g.f (pico de carga), posteriormente se realizó la evaluación de la bioadhesión en voluntarios sanos por un periodo de 24 horas en donde se determinó la eficiencia de la película. Para el desarrollo de la microagujas poliméricas huecas biodegradables se optimizaron los componentes de la formulación: grenetina Bloom 280 y alcohol polivinílico, la respuesta evaluada fue la dureza de la microaguja, la formulación óptima determinada fue la siguiente: alcohol polivinílico 0.45% y grenetina Bloom 280 6%, se obtuvo un valor promedio de dureza de 3454.9 g.f (pico de carga), las dimensiones promedio de las microagujas varían de entre 2 y 3 mm de longitud y fueron vistas al microscopio electrónico de barrido para definir de mejor manera su morfología. Se propuso el desarrollo de una película impermeable protectora de la base del parche. Una vez obtenidas las formulaciones óptimas para cada uno de los componentes del parche se llevó a cabo su ensamblado final, el área definida para el parche fue de 12.56cm^2 con un grosor de 1.11 mm, posteriormente, se realizó la caracterización de su perfil de liberación el cual tiene un comportamiento de liberación proporcional con respecto al tiempo, por lo que se puede decir que el comportamiento observado se asemeja a una liberación de orden cero. Se determinaron los valores de las constantes biofarmacéuticas mediante el estudio de permeabilidad *in vitro*, obteniéndose un tiempo de latencia de 9.75 horas, un flujo de $11.7\ \mu\text{g}/\text{cm}^2 * \text{h}$ y el valor de la constante de permeabilidad (Kp) fue de $1.6478 \times 10^{-3}\text{cm}^2 * \text{h}$. Por lo que este dispositivo de acuerdo al valor de flujo obtenido, entregaría una cantidad aproximada de 10.11 mg de alendronato de sodio en 24 horas con un arreglo de microagujas y parche reservorio de un área de 6 cm X 6 cm a través de la piel. Es importante resaltar que este sistema, puede ser cargado con un volumen mayor de solución farmacéutica de alendronato para prolongar su liberación durante varios días y evitar tomas de alendronato por vía oral que generan severos problemas a nivel esofágico.

Palabras clave. Alendronato de sodio, microagujas poliméricas biodegradables huecas, parche transdérmico, parche tipo reservorio, osteoporosis.

1. INTRODUCCIÓN

La vía cutánea provee una alternativa para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administrados por otras vías, para terapias prolongadas y de reemplazo. Los fármacos aplicados sobre la piel, sobre un sitio bien definido, le permiten difundir desde el estrato córneo hasta la hipodermis e ingresar al torrente sanguíneo produciendo un efecto sistémico. El desarrollo de los sistemas transdérmicos ha incursionado en las áreas de la terapéutica, cosmeceútica, productos de venta libre y cuidado personal. Ahora no sólo se emplean para terapias sistémicas sino también para liberar productos en la piel o justo por debajo de ella, extraer fluidos para diagnóstico, realizar tratamientos cosméticos odontológicos y aplicarse en superficies mucosas. Los Sistemas Terapéuticos Transdérmicos (STT) propiamente dichos son sistemas de liberación sostenida y por tanto su objetivo es el de suministrar el fármaco a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante. (Allevato, 2007). Una de las alternativas más novedosas la constituye la tecnología de las microagujas, con tamaños del orden de unos cientos de μm , pensadas para usarse tanto solas (como sustitutas indoloras de la aguja hipodérmica) como dispuestas en un parche que, tras su colocación sobre la piel, creen microporos que aumenten la permeabilidad y en consecuencia faciliten la penetración del fármaco, por esta razón son consideradas como promotores físicos de la permeación. Las microagujas son un recurso tecnológico conocido dentro de la tecnología farmacéutica como mínimamente invasivo, son agujas que adjuntas mediante diferentes formas a un polímero flexible, penetran en las capas superficiales de la piel usando una vía intradérmica. (Rojas, 2017). El uso de estas nuevas alternativas de administración transdérmica permite mejorar la biodisponibilidad de fármacos que pasan por el proceso del primer paso hepático, disminuir la probabilidad de la aparición de reacciones adversas, facilitar y hacer más cómodo el tratamiento, disminuir la frecuencia de tomas y con ello evitar problemas con respecto al olvido de tomas principalmente en pacientes geriátricos.

El envejecimiento de la población esperado para 2050, indudablemente conllevará un aumento en el porcentaje de personas con diagnóstico de osteoporosis y por consiguiente el incremento de fracturas por fragilidad ósea, estimándose de acuerdo con la Fundación Internacional para la Osteoporosis que una de cada 12 mujeres y uno de cada 20 hombres al año sufrirán fractura de cadera, lo que significa un total de 155,874 personas con dicha afección. Hay que remarcar que estos individuos tienen un 50% de probabilidades de sufrir una segunda fractura en su vida futura. La osteoporosis y las fracturas por fragilidad se perfilan como una de las causas de carga por enfermedad de mayor impacto en el Sector Salud, que afectarán negativamente la calidad de vida de las personas que las sufren, provocando una situación de dependencia y un riesgo incrementado de muerte. La osteoporosis, es una enfermedad indolora, asintomática y que tiene como consecuencia la fragilidad del hueso con lo que el riesgo de fracturas se incrementa. (Diario Oficial de la Federación, 2017).

El presente trabajo tiene como objetivo desarrollar un parche transdérmico tipo reservorio acoplado a microagujas huecas poliméricas biodegradables cargado con alendronato de sodio, fármaco empleado para el tratamiento de osteoporosis, con la finalidad de proponer una nueva alternativa que mejore la terapia en pacientes con osteoporosis en términos de biodisponibilidad, disminución de la probabilidad de aparición de reacciones adversas y comodidad.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Anatomía y Fisiología de la piel

2.1.1 Anatomía

La piel es el órgano más grande y pesado del cuerpo. En adultos, cubre un área de 1.5 a 2.0 m² y representa casi 15% del peso del cuerpo. Consta de dos capas: un epitelio escamoso estratificado al que se denomina epidermis y una capa de tejido conjuntivo más profundo, la dermis (ver Ilustración 1). Debajo de la dermis se encuentra otra capa de tejido conjuntivo, la hipodermis, que no es parte de la piel pero que se suele estudiar junto con ella. Casi toda la piel mide de 1 a 2 mm de grueso, pero va de 0.5 mm en los párpados a 6 mm entre las escápulas. La diferencia se debe sobre todo a la variación en el grosor de la dermis, aunque la piel se clasifica como gruesa o delgada con base en el espesor relativo de la epidermis sola. La piel gruesa cubre palmas, plantas y las superficies correspondientes de los dedos de manos y pies. Su sola epidermis mide casi 0.5 mm de grueso, a causa de una capa superficial muy gruesa de células muertas: el estrato córneo. La piel gruesa tiene glándulas sudoríparas, pero carece de folículos pilosos o glándulas sebáceas. El resto del cuerpo está cubierto por piel delgada, que tiene una epidermis de casi 0.1 mm de grueso, y un estrato córneo delgado. Posee folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas. (Saladin, 2012)

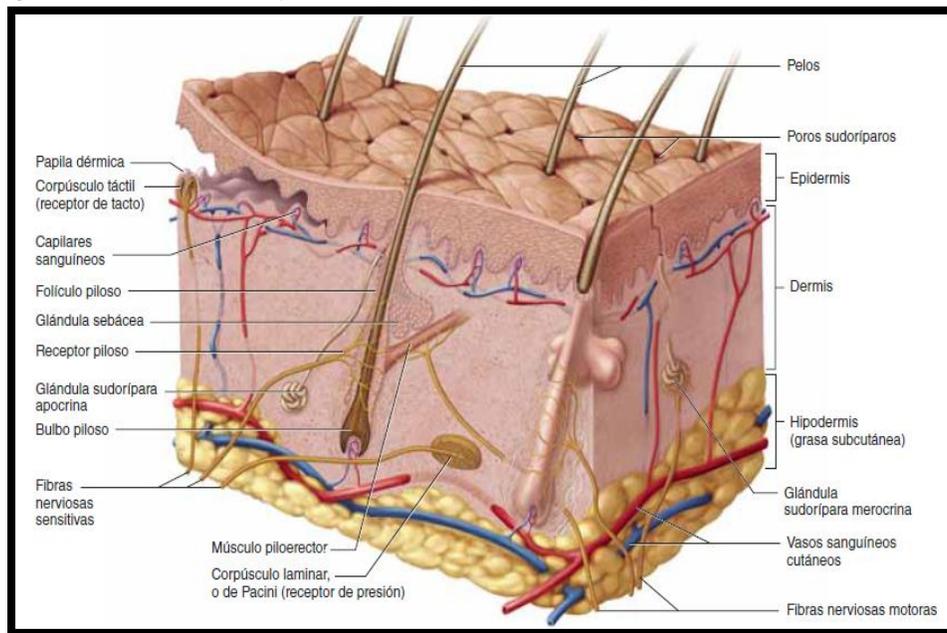


Ilustración 1. Estructura del tejido cutáneo y subcutáneo (Saladin, 2012).

Hay dos capas importantes en la piel: la dermis y la epidermis. La capa más externa, la epidermis, tiene un grosor aproximado de 100 a 150 µm, no tiene flujo sanguíneo e incluye una capa en su interior conocida como estrato córneo. Debajo de la epidermis, la dermis contiene el sistema de capilares que transportan la sangre por todo el cuerpo. Si el fármaco puede penetrar el estrato córneo, puede entrar en el torrente sanguíneo y el proceso se conoce como difusión pasiva.

2.1.1.2 Epidermis

La epidermis es un epitelio escamoso estratificado queratinizado, su superficie consta de células muertas empaquetadas con una proteína dura, la queratina. Al igual que otros epitelios, la epidermis carece de vasos sanguíneos y depende de la difusión de nutrientes a partir del tejido conjuntivo subyacente. Tiene pocas terminaciones nerviosas para el tacto y el dolor, pero la mayoría de las sensaciones de la piel se perciben en las terminaciones de la dermis (ver Ilustración 2).

Capas de la epidermis

- **Estrato basal**

Consta, sobre todo, de una sola capa de citoblastos cúbicos a cilíndricos cortos y de queratinocitos que descansan sobre la membrana basal. Dispersas entre éstos se encuentran melanocitos, células táctiles y citoblastos.

A medida que estos últimos se dividen, dan lugar a queratinocitos que migran hacia la superficie de la piel y reemplazan a las células epidérmicas perdidas. La vida de estas células se describe en la siguiente sección.

- **Estrato espinoso**

Consta de varias capas de queratinocitos. En casi toda la piel es el estrato de mayor espesor, pero en la piel gruesa suele ser más abundante el estrato córneo. Los queratinocitos epidérmicos también están vinculados entre sí mediante uniones intercelulares herméticas, cuya presencia es esencial para la retención de agua en la piel. Este fenómeno se analiza con mayor detenimiento en la siguiente sección. El estrato espinoso recibe su nombre por el aspecto artificial (*artefacto*) creado por la fijación histológica de las muestras de tejido. Los queratinocitos están unidos con firmeza entre sí por cuantiosos desmosomas, que son responsables, en parte, de la dureza de la epidermis.

- **Estrato granuloso**

Consta de tres a cinco capas de queratinocitos planos (hay más en la piel gruesa que en la delgada). Tales queratinocitos contienen *gránulos de queratohialina* burda, teñida de oscuro, que le dan su nombre a la capa. La importancia funcional de estos gránulos se explica más adelante.

- **Estrato lúcido**

Es una zona delgada en la superficie del estrato granuloso, que sólo se ve en la piel gruesa. Aquí, los queratinocitos están empaquetados de manera densa con una proteína clara llamada *eleidina*. Las células no tienen núcleos ni otros organelos. Esta zona tiene aspecto pálido, sin características definidas y con límites celulares imprecisos.

- **Estrato córneo**

Consta de hasta 30 capas de células queratinizadas muertas, escamosas, que forman una estructura superficial que resulta muy resistente a la abrasión, la penetración y la pérdida de agua. (Saladin, 2012). El estrato córneo es efectivamente una matriz de 10-15 μm de espesor los queratinocitos deshidratados y muertos se encuentran incrustados en una matriz lipídica.

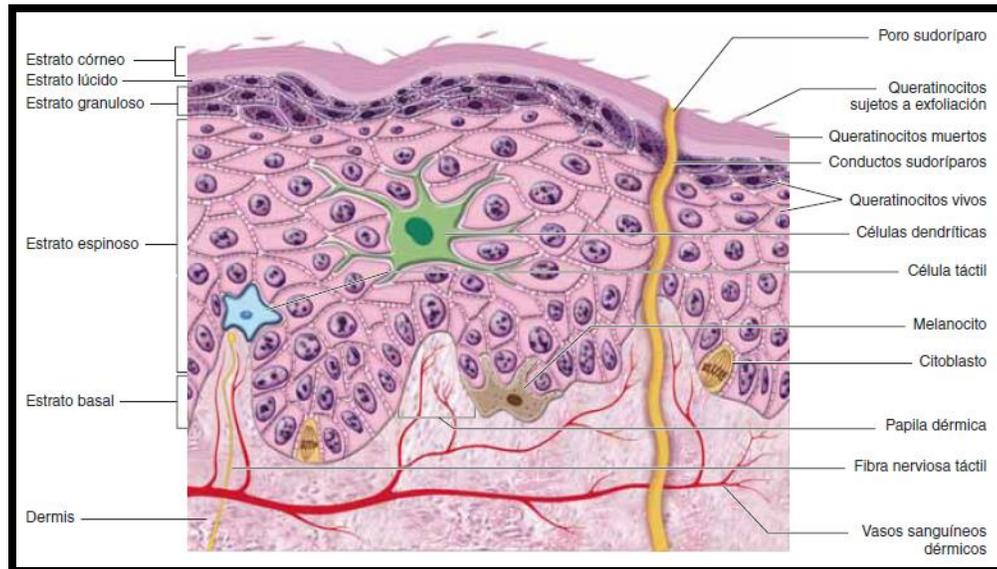


Ilustración 2. Estratos y tipos de células de la epidermis (Saladin, 2012).

2.1.1.3 Dermis

Es una capa de tejido conjuntivo que se encuentra debajo de la epidermis. El grosor de la dermis va de 0.2 mm en los párpados a casi 4 mm en las palmas y las plantas. Está compuesta sobre todo por colágeno, pero también contiene fibras elásticas y reticulares, fibroblastos y otras células típicas del tejido conjuntivo fibroso. Tiene un suministro amplio de vasos sanguíneos, glándulas cutáneas y terminaciones nerviosas. Los folículos pilosos y las raíces de las uñas están incrustadas en esta capa.

La dermis tiene dos zonas: las capas papilar y reticular.

- **Capa papilar**

Es una zona delgada de tejido areolar que se encuentra en las papilas dérmicas y cerca de ellas. La organización laxa de este tejido permite la movilidad de los leucocitos y otras defensas contra los microorganismos patógenos que entran por roturas de la epidermis. Esta capa tiene abundancia de pequeños vasos sanguíneos. (Saladin, 2012). Dentro de la capa papilar se encuentran los fibroblastos, una pequeña cantidad de células grasas (adipocitos) y una abundancia de pequeños vasos sanguíneos. Además, la capa papilar contiene fagocitos, células defensivas que ayudan a combatir las bacterias u otras infecciones que han afectado la piel. Esta capa también contiene capilares linfáticos, fibras nerviosas y receptores táctiles llamados los corpúsculos de Meissner. (OpenStax, 2013).

- **Capa reticular**

Es más profunda y mucho más gruesa. Consta de tejido conjuntivo denso irregular. El límite entre las capas papilar y reticular suele ser impreciso. En la capa reticular, el colágeno forma haces más gruesos con menos espacio para la sustancia fundamental y suele haber pequeños grupos de adipocitos. (Saladin, 2012).

En el interior de la capa papilar se encuentra la capa reticular. Esta capa está bien vascularizada y tiene un rico suministro de nervios sensorial y simpático. La capa reticular aparece reticulada (en forma de red) debido a una estrecha malla de fibras. Las fibras de elastina proporcionan cierta elasticidad a la piel, permitiendo el movimiento. Las fibras de colágeno proporcionan estructura y resistencia a la tracción, con hebras de colágeno que se extienden tanto en la capa papilar como

en la hipodermis. Además, el colágeno se une al agua para mantener la piel hidratada. (OpenStax, 2013).

La dermis puede considerarse el "núcleo" del sistema tegumentario a diferencia de la epidermis y la hipodermis. Contiene vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y otras estructuras, como folículos pilosos y glándulas sudoríparas. La dermis está formada por dos capas de tejido conectivo que forman una malla interconectada de elastina y fibras de colágeno, producidas por fibroblastos (ver Ilustración 3).

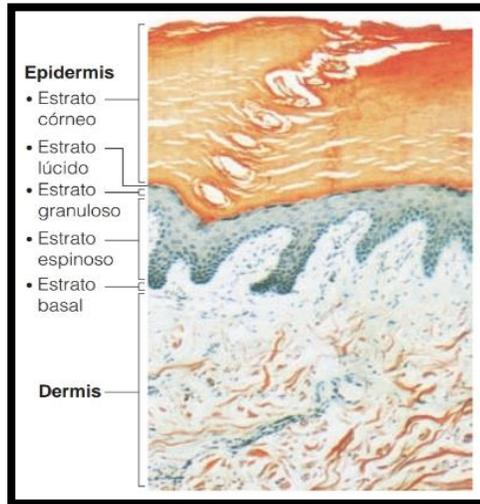


Ilustración 3. Epidermis y dermis de la piel (Standring, 2008).

2.1.1.4 Hipodermis

Debajo de la piel se encuentra una capa llamada hipodermis o tejido subcutáneo (ver Ilustración 1). El límite entre la dermis y la hipodermis es indistinguible, pero la hipodermis suele tener más tejido areolar y adiposo. La hipodermis une la piel con los tejidos subyacentes. Los fármacos se introducen en esta capa mediante inyección, porque el tejido subcutáneo es muy vascular y los absorbe con rapidez. La grasa subcutánea es hipodermis compuesta de manera predominante por tejido adiposo. Sirve como depósito de energía y aislamiento térmico. No está distribuida con uniformidad; por ejemplo, se encuentra casi ausente en el cuero cabelludo, pero es abundante en mamas, abdomen, cadera y muslos. El grosor de la grasa subcutánea es, en promedio, 8% mayor en mujeres que en hombres, y varía con la edad. Los lactantes y las personas de edad avanzada tienen menos grasa subcutánea que el resto y, por tanto, son más sensibles al frío. (Saladin, 2012).

La hipodermis es una capa directamente debajo de la dermis y sirve para conectar la piel a la fascia subyacente (tejido fibroso) de los huesos y músculos. No es estrictamente una parte de la piel, aunque el borde entre la hipodermis y la dermis puede ser difícil de distinguir. La hipodermis consiste en tejido conjuntivo areolar y bien vascularizado que funciona como un modo de almacenamiento de grasa y proporciona aislamiento y amortiguación para el tegumento. (OpenStax, 2013).

2.2 Funciones de la piel

La piel tiene varias funciones importantes que van más allá de su aspecto, entre sus funciones se tienen las siguientes:

1. Resistencia a traumatismos e infecciones. La piel sufre la mayoría de las lesiones físicas del cuerpo, pero resiste y se recupera de los traumatismos mejor que otros órganos. Las células epidérmicas están empaquetadas con una proteína dura, la queratina, y unidas por desmosomas fuertes que son responsables de la durabilidad de su epitelio. Pocos microorganismos infecciosos pueden penetrar la piel intacta. Las bacterias y los hongos colonizan la superficie, pero sus poblaciones se mantienen controladas por la sequedad relativa de la piel, su ligera acidez (pH de 4 a 6) y ciertos péptidos antimicrobianos defensivos: dermicidina y defensinas. La película ácida protectora es el manto ácido.

2. Otras funciones de barrera. La piel es importante como barrera ante el agua, pues evita que el cuerpo la absorba en exceso cuando se está nadando o bañando; sin embargo, es más importante aún el hecho de que evita que el cuerpo pierda agua en exceso. La epidermis también es una barrera ante los rayos ultravioleta (UV), pues bloquea mucha de esta radiación que causa cáncer y evita que la misma alcance capas de tejido más profundas; también es una barrera ante muchas sustancias químicas que podrían ser dañinas. Sin embargo, es permeable a varios fármacos y sustancias tóxicas.

3. Síntesis de vitamina D. En la piel ocurre el primer paso en la síntesis de vitamina D, sustancia necesaria para el desarrollo y el mantenimiento de los huesos. El hígado y los riñones completan el proceso.

4. Sensación. La piel es el órgano sensitivo más extenso. Contiene terminaciones nerviosas diversas que reaccionan al calor, el frío, el tacto, la textura, la presión, la vibración y las lesiones históricas. Estos receptores sensitivos abundan de manera especial en cara, palmas, dedos, plantas y órganos genitales. Hay pocos en la espalda y en la piel que se encuentra sobre las articulaciones como la rodilla y el codo.

5. Termorregulación. Las terminaciones nerviosas cutáneas, denominadas termorreceptores, regulan la temperatura superficial del cuerpo. Como respuesta a los escalofríos, el cuerpo retiene el calor al contraer los vasos sanguíneos de la dermis (*vasoconstricción cutánea*), conservando la sangre con mayor cantidad de calor en partes más profundas del cuerpo. Como respuesta al exceso de calor, éste se libera al dilatar dichos vasos (*vasodilatación cutánea*), lo que permite que fluya más sangre cerca de la superficie y se pierda calor a través de la piel. Si esto no basta para normalizar la temperatura, las glándulas sudoríparas secretan sudor. La evaporación de este líquido puede tener un efecto enfriador poderoso. Por tanto, la piel desarrolla diversas funciones en el calentamiento y enfriamiento del cuerpo. (Saladin, 2012).

2.3 Estructuras anexas a la piel

El pelo, las uñas y las glándulas cutáneas son los órganos accesorios (anejos cutáneos) de la piel. El pelo y las uñas están compuestos sobre todo por células muertas queratinizadas.

El estrato córneo de la piel está hecho de queratina suave, pero el pelo y las uñas están compuestos, sobre todo, por queratina dura. (Saladin, 2012).

2.3.1 Pelo

El término pelo suele definir lo que se conoce como cabello (el pelo del cuero cabelludo) y como vello (en general, el pelo del cuerpo). Se trata de un filamento delgado de células queratinizadas que crece a partir de un tubo oblicuo en la piel: el folículo piloso. (Saladin, 2012).

- **Tallo piloso**
Es la porción de pelo que se proyecta sobre la superficie de la piel.
- **Raíz**
Es la parte profunda del pelo que penetra dentro de la dermis y algunas veces hasta el tejido subcutáneo. Tanto el tallo como la raíz cuentan con tres tipos de células: médula, corteza y cutícula.
- **Folículo piloso**
Rodeando la raíz del pelo se encuentra el folículo piloso formado por la vaina radicular externa e interna llamadas en conjunto vaina radicular epitelial. (Tortora, 2006)

2.3.2 Uñas

Las uñas son placas de células epidérmicas queratinizadas muertas, densamente agrupadas que forman una cubierta sólida y transparente sobre la superficie dorsal de las porciones distales de los dedos. (Tortora, 2006). Cada uña consiste en un cuerpo, un borde libre y una raíz. (Elaine, 2008)

- **Cuerpo**
El cuerpo de la uña es la porción visible de esta. Por debajo del cuerpo de la uña hay un epitelio y más profundamente una capa dérmica. La mayor parte del cuerpo de la uña aparece rosado por el flujo sanguíneo que atraviesa los capilares de la dermis subyacente. (Tortora, 2006)
- **Borde libre**
Es la parte que puede extenderse más allá de los dedos. Los bordes de la uña tienen pliegues cutáneos superpuestos denominados pliegues ungueales. El pliegue ungueal proximal grueso suele denominarse cutícula. El estrato basa el de la epidermis se extiende por debajo de la uña como el hecho ungueal, su engrosada zona proximal denominada matriz ungueal es la responsable del crecimiento de la uña. (Elaine, 2008).
- **Raíz**
Es la porción que esta oculta en el pliegue de la piel, en la ilustración 4 se muestra el esquema de la estructura de la uña. (Tortora, 2006)

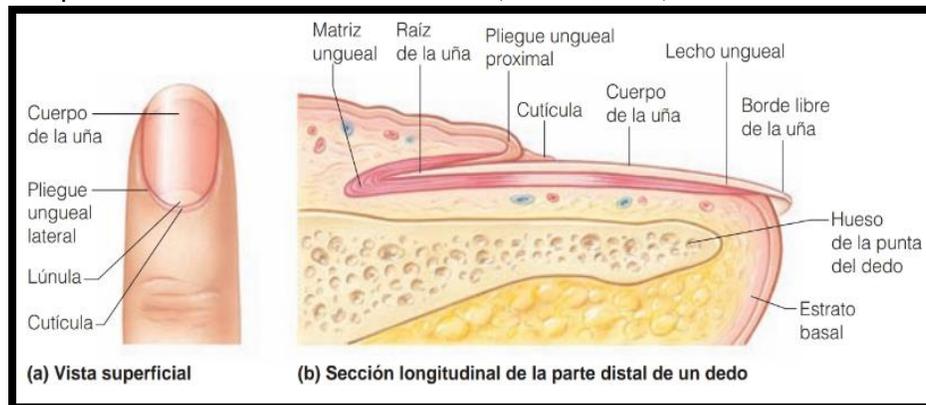


Ilustración 4. Estructura de la uña (Elaine, 2008).

2.4 Glándulas de la piel

2.4.1 Glándulas sudoríparas

Las células de estas glándulas liberan sudor hacia los folículos pilosos o sobre la superficie de la piel a través de poros. Estas glándulas se dividen en dos tipos:

Glándulas sudoríparas apocrinas: Se hallan en la ingle, la región anal, las axilas, las areolas y, en varones maduros, en el área de la barba. (Saladin, 2012). La porción secretora de estas glándulas se localiza casi siempre en el tejido subcutáneo y el conducto excretor se abre en los folículos pilosos. (Tortora, 2006)

Glándulas sudoríparas merocrinas: Son glándulas tubulares simples enrolladas. Están distribuidas en la piel de casi todo el cuerpo especialmente en la frente, palmas y plantas. La porción secretora de estas glándulas se localiza casi siempre en la dermis profunda (en ocasiones en la región externa del tejido subcutáneo). (Tortora, 2006). Su función primaria consiste en enfriar el cuerpo, pero también excretan parte de los mismos desechos que los riñones. (Saladin, 2012).

2.4.2 Glándulas sebáceas

Son glándulas acinosas ramificadas simples. La mayoría se conectan a los folículos pilosos. La porción secretora se encuentra en la dermis y generalmente se abre en el cuello de un folículo. Las glándulas sebáceas secretan una sustancia oleosa llamada sebo, mezcla de triglicéridos, colesterol, proteínas y sales inorgánicas. (Tortora, 2006). El sebo evita que la piel y el pelo se vuelvan secos, frágiles y quebradizos. (Saladin, 2012).

2.4.3 Glándulas ceruminosas

Las glándulas ceruminosas sólo se encuentran en el conducto auditivo externo, donde su secreción se combina con sebo y células epidérmicas muertas para formar cerilla, o cerumen. Se trata de glándulas simples, enrolladas, tubulares, con conductos que llevan a la superficie de la piel. El cerumen mantiene flexible el tímpano, vuelve impermeable el canal, mata bacterias y cubre los pelos de guardia del oído, haciéndolos pegajosos y más eficaces para detener el paso de partículas del exterior al conducto auditivo. (Saladin, 2012).

2.5 Absorción cutánea

La absorción de sustancias solubles en agua a través de la piel es insignificante, pero ciertas sustancias liposolubles atraviesan la piel, como vitaminas A, D, E y K, ciertos fármacos y los gases oxígeno y dióxido de carbono. (Tortora, 2006).

2.6 Absorción percutánea

Absorción percutánea es el término que se usa con más frecuencia en referencia al paso de medicamentos a través de la piel. La absorción cutánea implica la absorción de ciertos fármacos contenidos en sistemas de administración transdérmica, estos aplicados en la piel en donde el fármaco atraviesa la epidermis hasta llegar a los vasos sanguíneos de la dermis una vez que la circulación sistémica se distribuye hasta llegar a su sitio de acción.

El paso de fármacos administrados de forma tópica a la circulación general consta de tres etapas claramente diferenciadas:

- **Liberación desde el vehículo**
El principio activo debe disolverse en el excipiente y difundir hasta contactar con la superficie de la piel.
- **Penetración y permeabilización en la epidermis**
Una vez que el principio activo llega a la interfase vehículo/piel puede ocurrir que se disuelva en el sebo y difunda a través del folículo piloso y glándulas sebáceas y sudoríparas (Vía transapendicular) o bien penetre en la capa córnea (Vía transepidérmica). El estrato córneo representa el principal obstáculo de la piel a la penetración de fármacos debido a su alta proporción en queratina, lípidos intercelulares y al bajo contenido de agua, considerándose el factor limitante en la velocidad de absorción. (Santos & Guerrero, 1994).
- **Paso a través de la dermis con acceso a la microcirculación sistémica**
Se pueden distinguir varias vías de acceso a través de la piel:
 - 1) **Vía transapendicular:** A través de glándulas sebáceas, sudoríparas y folículo piloso.
 - 2) **Vía transepidérmica:** A través de las células del estrato córneo (Vía intracelular o transcelular) o bien a través de los espacios intercelulares (Vía intercelular). (Santos & Guerrero, 1994).

2.7 Vías de absorción percutánea

2.7.1 Vías transapendiculares (Ilustración 5):

- **Transfolicular:** Las moléculas difunden a través de la secreción lipófila de los folículos pilosos y a través de los poros sebáceos. La vía transfolicular es utilizada por moléculas cuya difusión a través del estrato córneo es muy baja, debido a su tendencia a formar enlaces con puntos activos de la queratina, reduciendo su velocidad de transporte. (Clarí, 2004)
- **Transsudorípara:** Los compuestos hidrófilos, con bajo peso molecular y algunos electrolitos tienden a difundir en el seno del líquido acuoso que contiene los conductos sudoríparos y alcanzan la base de la glándula que se encuentra en contacto con numerosos vasos sanguíneos (dermis). (Clarí, 2004)

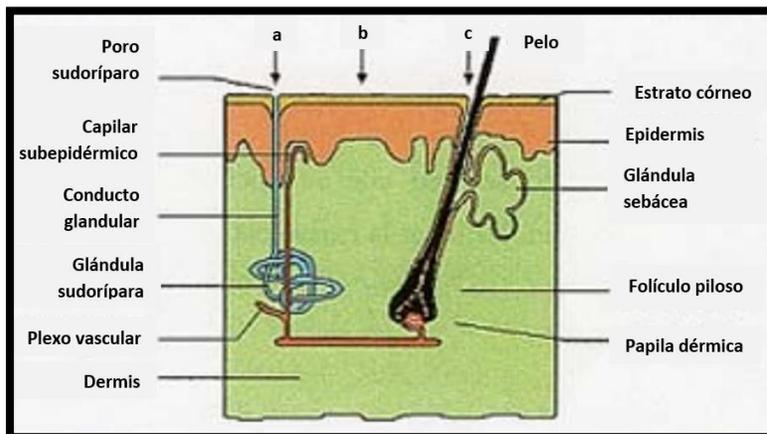


Ilustración 5. Vías de penetración de los fármacos a través de la piel: a) Transsudorípara. B) Transepidérmica y c) Transfolicular (Ariza, 2004).

2.7.2 Vías transepidérmicas

Las moléculas polares y no polares difunden a través del estrato córneo por diferentes mecanismos (ver Ilustración 6). (Ariza, 2004)

- **Transcelular:** La sustancia atraviesa los queratinocitos de las distintas capas del estrato córneo, alternando estructuras hidrófilas y lipófilas. Las sustancias atraviesan varias veces los lípidos intercelulares, las bicapas lipídicas y los corneocitos. (Calatayud, 2013).
- **Intercelular:** La sustancia difunde a través de los espacios intercelulares del estrato corneo. La sustancia permeante atraviesa el estrato corneo a través de los lípidos de la matriz intercelular. (Calatayud, 2013).

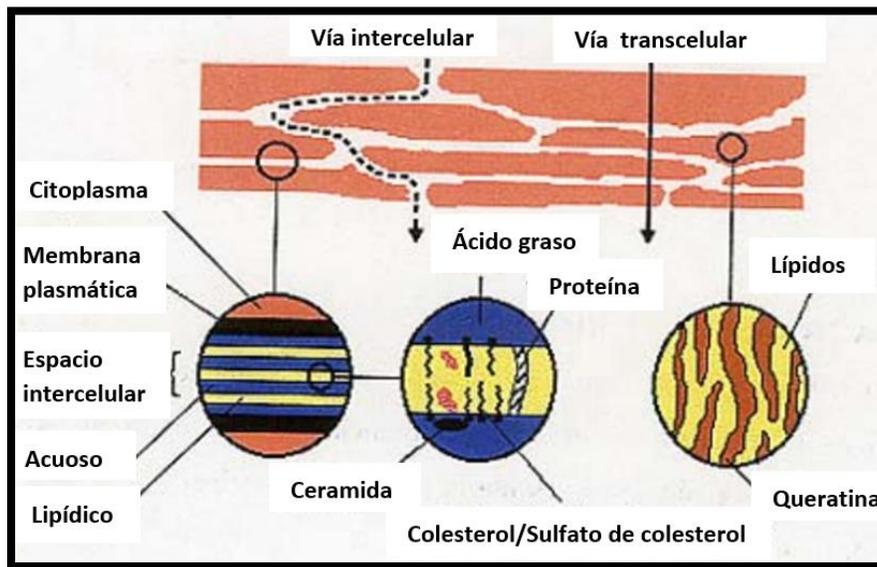


Ilustración 6. Vías de absorción transepidérmicas (Araiza, 2004).

2.8 Administración transdérmica

La administración de fármacos a través de la piel tiene la finalidad de obtener un efecto tanto local como sistémico y ha conducido al desarrollo de unas formas farmacéuticas conocidas con la denominación de sistemas transdérmicos o TTS (“Transdermal Therapeutic Systems”). Estos sistemas permiten el control posológico y la liberación constante, sostenida y controlada del fármaco, definiéndose como un sistema destinado a su aplicación sobre una zona determinada de la piel, que sirve de soporte o vehículo para uno o varios principios activos destinados a ejercer el efecto después de su liberación y paso a través de la piel. (Suñé, 2002)

Los sistemas transdérmicos son formas de dosificación con cesión continua de una o más sustancias ideados para el aporte percutáneo de fármacos a una velocidad programada o para un determinado periodo de tiempo. (Santos & Guerrero, 1994). Existen tres formas de administrar fármacos a través de la piel; sistemas de administración transdermal (parches), fármacos aplicados como spot-on y pour-on y la aplicación epicutánea de fármacos a través de cremas y geles. (Villarino & Landoni, 2006). En la Tabla 1, se indican cuáles son las principales ventajas y desventajas de la administración transdérmica:

Tabla 1. Ventajas y desventajas de la administración transdérmica.

Ventajas	Desventajas
Administración no invasiva y de fácil aplicación.	Costos elevados de producción
Obtención de niveles plasmáticos constantes y sostenidos.	Se puede generar una posible irritación en el lugar de aplicación, así como eritema, prurito y edema local que pueden deberse al fármaco, adhesivo o excipientes.
Se evita la inactivación parcial del fármaco por el efecto del primer paso hepático aumentando la biodisponibilidad de los fármacos.	Existen fármacos que no pueden ser administrados por esta vía debido a que algunos presentan una baja permeabilidad cutánea
Disminución de las reacciones adversas	-
Reducción de la frecuencia y magnitud de dosis	-
Se evitan factores que afectan a la absorción de los fármacos en el tracto gastrointestinal, como el pH, la actividad enzimática y las interacciones con los alimentos	-
Permite la administración de fármacos a pacientes que tienen inconvenientes por la vía oral, ya sea por náuseas o que inclusive se encuentren inconscientes.	-
Posibilita el término del tratamiento en cualquier momento, por remoción de la forma farmacéutica	-

(Pires 2013, Santos & Guerrero, 1994)

2.9 Factores implicados en la absorción transdérmica

Los factores que determinan la penetración de los fármacos a través de la piel pueden ser divididos de acuerdo con su determinante primario en: a) dependientes del paciente, b) dependientes del fármaco y c) dependientes de la formulación.

a) Dependientes del paciente

- La penetrabilidad de los fármacos a través del estrato córneo varía dependiendo de la especie y edad. El pH de la piel (determinante fundamental del estado de ionización de las moléculas), la temperatura medioambiental (como determinante del grado de hidratación cutánea) (Akomeah & Nazir, 2004) y el estado de hidratación general son factores que pueden alterar la magnitud del proceso de penetración de los fármacos aplicados epicutáneamente. (Ramachandran & Fleisher, 2000)
- Los vellos alteran la penetración de los fármacos actuando como barrera física, limitando el contacto necesario entre el fármaco y el epitelio para la posterior penetración. Algunos autores consideran que existe una correlación negativa entre la densidad pilosa y la penetración (Riviere & Papich, 2001), mientras que otros consideran que la alta densidad de folículos pilosos mejora la penetración de los fármacos debido a que las invaginaciones del epitelio en los folículos pilosos

incrementarían el área total de contacto formulación/piel. (Magnusson, Walters & Roberts, 2001)

- Otro factor importante para considerar es el metabolismo epidermal de los fármacos (Magnusson, Walters & Roberts, 2001). La epidermis tiene la capacidad de metabolizar los fármacos antes de que sean absorbidos a la circulación sistémica (efecto de 1º paso cutáneo), habiendo sido reportada la presencia de enzimas que catalizan reacciones metabólicas tanto de fase 1 como de fase 2 (Ramachandran & Fleisher, 2000). Esta actividad metabólica de la piel podría ser de utilidad para activar profármacos los cuales pueden ser formulados para maximizar la penetración transdermal (Hotchkiss, 1998).
- Las secreciones de las glándulas sebáceas y sudoríparas constituyen otra importante variable en el pasaje de los fármacos a través de la piel. (Riviere & Papich, 2001).
- La zona anatómica de aplicación es otro factor importante en la penetración transepitelial de los fármacos (Riviere & Papich, 2001). En este contexto, existen importantes diferencias en el grosor y contenido lipídico de la piel entre las diversas zonas anatómicas con características de zonas de aplicación. Un factor aunado a esto es el flujo sanguíneo local, cuya modificación determina cambios en los patrones de penetración de fármacos (Caron, Queille-Roussel, Shah & Schaefer, 1990).

b) Dependientes de fármaco

En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende de a) peso molecular (< 400), b) tamaño molecular, c) grado de ionización y d) solubilidad. Con respecto a las propiedades fisicoquímicas de los fármacos, la capacidad intrínseca de penetración de las moléculas está determinada por el adecuado equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad. Siendo el coeficiente de partición lípido/agua uno de los factores determinantes de la magnitud de las concentraciones iniciales de droga en la capa más superficial del estrato córneo. Otro factor relacionado con el principio activo es su grado de ionización. En este punto es importante tener en cuenta que el grado de ionización del principio activo para aplicaciones epicutáneas estará determinado no sólo por el pH de la piel, sino también por el pH de la formulación. (Villarino & Landoni, 2006).

Las limitantes para que un fármaco sea incorporado en un sistema transdérmico son:

- Moléculas de mayor peso molecular (>500 Da) no logran penetrar el estrato córneo.
- Los fármacos con un coeficiente de partición muy bajo o alto no alcanzan la circulación sistémica.
- Fármacos de alto punto de fusión, debido a su baja solubilidad tanto en agua como en grasa.

c) Dependientes de la formulación

La más simple de las formulaciones para la administración transdérmica de fármacos consiste en un vehículo semisólido (ungüentos o cremas), conteniendo una suspensión de la droga homogéneamente distribuida. La primera etapa del

proceso de penetración está representada por la liberación del fármaco, la cual es controlada por la formulación, siendo éste el primer paso limitante del proceso (Kalia & Guy, 2001). Una vez liberado desde la formulación el principio activo difunde hasta alcanzar la interfase formulación-piel, sitio en el que alcanza un equilibrio (estado estacionario). La penetración de un principio activo desde la formulación aplicada epicutáneamente hasta la circulación sistémica o tejidos locales involucra múltiples procesos;

- 1) Disolución y liberación dentro y desde la formulación
- 2) Partición dentro del estrato córneo
- 3) Difusión a través del estrato córneo
- 4) Partición desde el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis
- 5) Difusión a través de la dermis
- 6) Acceso a la circulación sistémica y/o tejidos circundantes

Por otra parte, el uso de promotores de la penetración y la utilización de ciertos vehículos también se consideran un factor importante implicado en la absorción transdérmica ya que estos tienden a incrementarla. (Villarino & Landoni, 2006)

2.10 Parche transdérmico

Un parche transdérmico o parche para la piel es un parche adhesivo medicado que se coloca en la piel para administrar una dosis específica de fármaco a través de la piel y al torrente sanguíneo. A menudo, esto promueve la curación de un área lesionada del cuerpo. Los sistemas transdérmicos, conocidos como parches, tienen como objetivo proporcionar una liberación prolongada del fármaco para mantener concentraciones plasmáticas constantes a lo largo del tiempo. (Gupta, Yadav, Dwivedi & Gupta, 2011).

Los parches transdérmicos son formas farmacéuticas complejas, integradas básicamente por una capa externa de recubrimiento impermeable que protege la formulación; un reservorio o matriz de principio activo y sustancias promotoras facilitadoras de la absorción del fármaco, incluidas en un entorno que facilite y controle su liberación; una lámina adhesiva que permita su fijación a la piel y otra capa protectora desprendible que deba retirarse antes de su aplicación (ver Ilustración 7). (Bonet & Garrote, 2015)

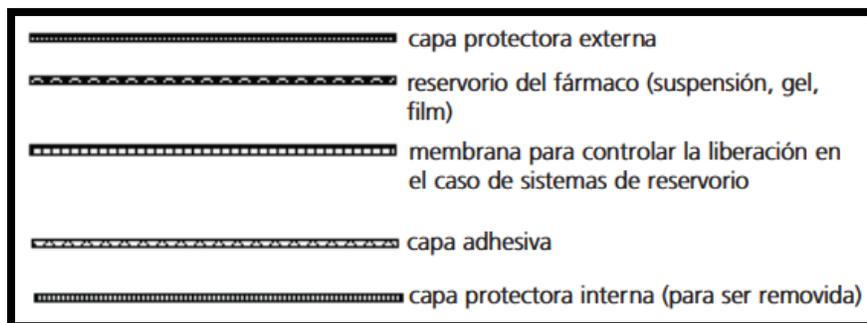


Ilustración 7. Estructura del parche transdérmico (Allevato, 2007).

2.10.1 Tipos de parche transdérmico

2.10.1.1 Tipo Reservorio (controlados por membrana)

En el sistema reservorio, el fármaco se encuentra disperso en una matriz polimérica inerte o suspendido en un medio líquido viscoso, así como los excipientes en estado líquido. Uno de los excipientes normalmente utilizado es un promotor de la permeación, para aumentar la permeabilidad de la piel al fármaco. A envolver el depósito existe una membrana impermeable y una membrana polimérica responsable del control de la velocidad de liberación del fármaco. (Ver Ilustración 8). Esta puede ser de naturaleza microporosa o no porosa, siendo elegida de acuerdo con el fármaco en cuestión. (Pires, 2013).

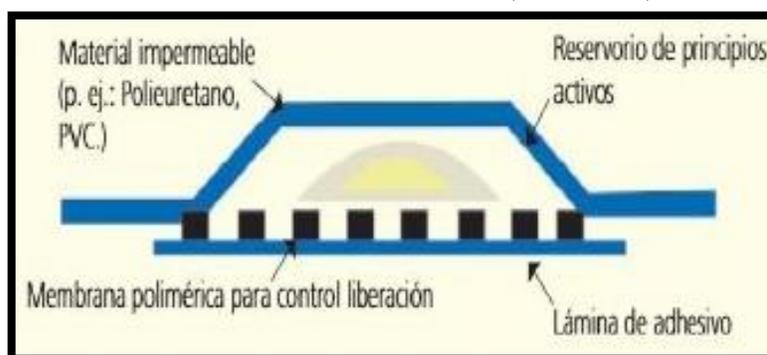


Ilustración 8. Parche tipo reservorio (Allevato, 2007).

2.10.1.2 Tipo Matricial (controlados por matriz)

En este sistema, el fármaco se disuelve o se dispersa homogéneamente en una matriz polimérica inerte de carácter hidrofílico o lipofílico, según el tipo de fármaco utilizado. La matriz se incorpora en un disco con un área y un espesor definidos, que se pega sobre una placa de soporte oclusiva. El adhesivo se separa a lo largo del disco, formando una capa independiente subyacente al depósito del fármaco. (ver Ilustración 9). (Pires, 2013).

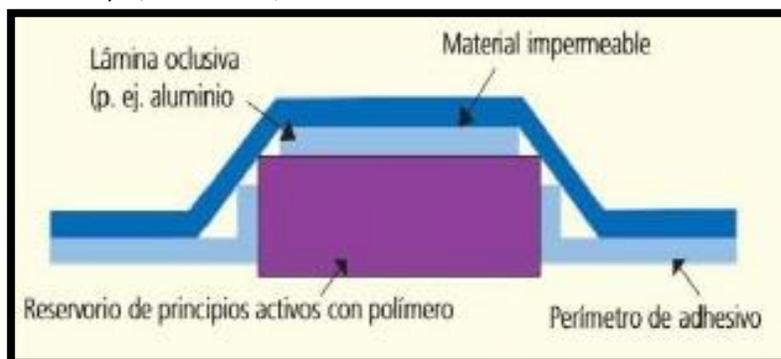


Ilustración 9. Parche tipo matricial (Allevato, 2007).

2.10.1.3 Tipo mixto (microreservorio)

Están provistos de múltiples reservorios incluidos en un polímero que permite su difusión. Por otra parte, también están los parches de microreservorio de liberación controlada, este sistema está constituido por una multitud de microcompartimentos hidrofílicos (de tamaño entre 10 y 40 μm) dispersados en una matriz polimérica hidrófoba. (ver Ilustración 10). El proceso de liberación del principio activo es más complejo que en los sistemas anteriores, ya que inicialmente debe difundir del compartimento acuoso a la matriz polimérica y de esta a la piel. (Moreno, 2012).

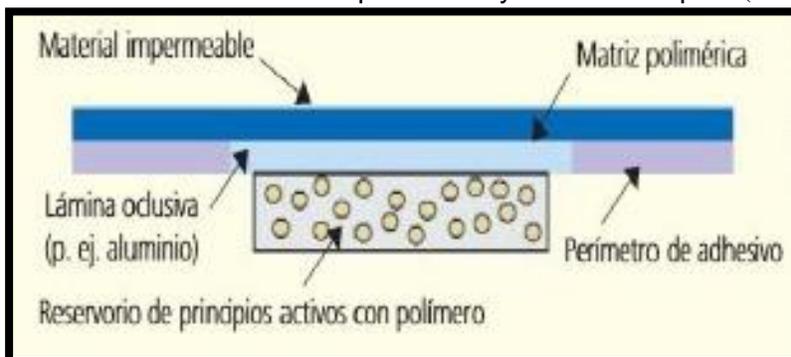


Ilustración 10. Parche tipo microreservorio (Allevato, 2007).

2.10.1.4 Tipo matricial adhesivo

La tendencia actual en el desarrollo de un sistema de administración transdérmica es la búsqueda de diseños sencillos, que sean además más finos y por ello menos llamativos (más aceptable desde el punto de vista estético). El resultado es un desplazamiento hacia el parche con matriz adhesiva que lleva incorporada el fármaco. (ver Ilustración 11). (Moreno, 2012).

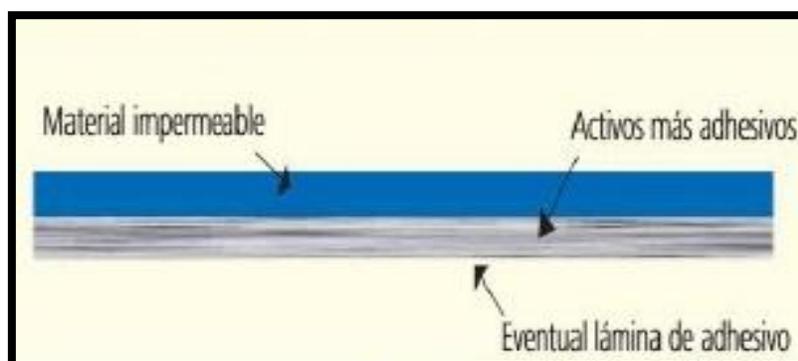


Ilustración 11. Parche tipo adhesivo (Allevato, 2007).

2.11 Promotores de la absorción

Los promotores de la permeación tienen como principal objetivo reducir la resistencia difusional de la piel. Su naturaleza y características será variable y estará en función de la naturaleza del principio activo que ayudan a penetrar (lipofilia y grado de ionización). (Bonet & Garrote, 2015). Tienen la finalidad de disminuir la resistencia del estrato córneo y consecuentemente mejorar el transporte de fármacos a través de la piel. Estos son

compuestos que promueven la permeabilidad de la piel al alterarla como barrera al flujo de un penetrante deseado. (Gupta, Yadav, Dwivedi & Gupta, 2011)

2.11.1 Promotores químicos

Los promotores químicos de la permeación se incorporan a las formulaciones transdérmicas, que pueden ejercer su acción a través de uno o más de los tres mecanismos, que se mencionan a continuación. (Pathan & Setty, 2009)

- ❖ Perturbación de la estructura lipídica del estrato córneo
- ❖ Interacción con las proteínas intercelulares
- ❖ Mejora en la partición del fármaco y / o excipientes para el estrato córneo

Los promotores químicos deben presentar la mayoría de las siguientes propiedades (Murthy, & Shivakumar, 2010):

- ❖ Farmacológicamente inertes, atóxicos, no alérgicos y no irritantes
- ❖ Compatibilidad con los excipientes y demás componentes del sistema
- ❖ Acción inmediata y reversible
- ❖ Deben permitir que los fármacos penetren en la piel, pero al mismo tiempo evitar la pérdida de fluidos corporales, electrolitos y otras sustancias endógenas.

En la Tabla 2, se presenta la clasificación general de los promotores químicos.

Tabla 2. Clasificación de los promotores químicos de la absorción en función de su naturaleza química.

Clasificación química	Componente
Agua	Agua
Sulfóxidos y similares	Dimetilsulfóxido, Dodecilmetilsulfóxido
Ureas	Urea
Pirrolidonas y derivados	N-metil-2pirrolidona, 2-pirrolidona
Azone® y derivados	Azone® (1-dodecilazacicloheptan-2-ona)
Derivados del dioxolano	SEPA®
Tensioactivos Aniónicos Catiónicos No iónicos Zwiteriónicos	Lauril sulfato sódico, Bromuro de cetiltrimetil amonio, Monolaurato de sorbitan, Polisorbato 80, Sulfato de dodecilmetilamoniopropano
Terpenos	Mentol, Limoneno
Alcoholes Alcanoles Alcoholes grasos Glicoles	Etanol, Alcohol caprílico, Propilenglicol
Ácidos grasos	Ácido oleico, Ácido undecanoico, Ácido decenoico

(Calatayud, 2013)

2.11.2 Promotores físicos de la penetración

Los métodos físicos que mejoran la penetración de fármacos a través de la piel son numerosos. Sin embargo, la mayoría se basa en la aplicación de corrientes y/o campos eléctricos. (Villarino & Landoni, 2006)

Estas técnicas se aplican con los siguientes objetivos:

- Promover la penetración de fármacos que normalmente no atraviesan la barrera cutánea (fármacos de alto peso molecular como pueden ser hormonas)
- Aumentar la penetración de aquellos fármacos que penetran en concentraciones subterapéuticas
- Reducir los períodos de latencia de aquellos productos aplicados tópicamente.

2.11.2.1 Ultrasonido

El ultrasonido mejora la penetración transdermal de fármacos alterando la estructura del estrato córneo. El principal cambio estructural observado en la piel tras la aplicación de ondas de sonido de baja frecuencia es la aparición de cavidades (cavitación) (ver Ilustración 12). Ha sido demostrado que la utilización de ondas de baja frecuencia (16- 20 kHz) mejora más de 1000 veces la penetración de ciertos fármacos, entre ellos insulina, eritropoyetina e interferón. (Villarino & Landoni, 2006)

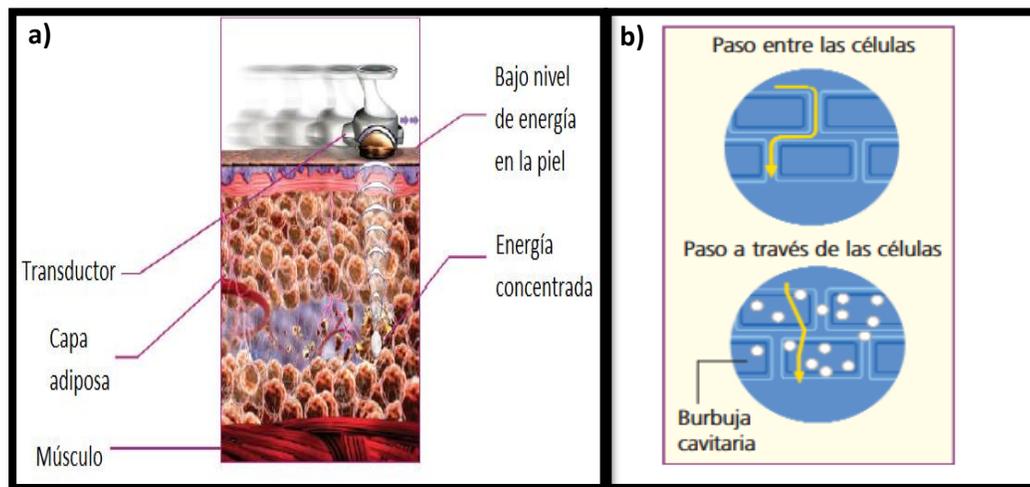


Ilustración 12. a) Proceso de ultrasonido, b) Penetración de moléculas grandes mediante ultrasonido (Allevato, 2007).

2.11.2.2 Iontoforesis

La iontoforesis es una técnica no invasiva de promoción de la permeación de fármacos a través de la piel que ha sido empleada principalmente para la administración de iones cargados y macromoléculas, ya que el transporte de fármacos se da esencialmente a través de los anexos cutáneos, como los folículos pilosos y glándulas sudoríparas. (Pires, 2013).

La iontoforesis consiste en la aplicación de pequeñas corrientes eléctricas ($\sim 0.5 \text{ mA/cm}^2$) a través de electrodos. La corriente eléctrica actúa como un transportador de fármacos a través de las estructuras de la piel (ver Ilustración 13). Los mecanismos principales que

conducen al incremento de la penetración son (i) repulsión de iones, (ii) disminución de la resistencia de la piel aumentando la permeabilidad y (iii) electroósmosis. La eficiencia de la iontoforesis depende, básicamente, de las propiedades fisicoquímicas de las moléculas (polaridad, valencia) y de la interacción principio activo/formulación. La efectividad clínica de la iontoforesis ha sido reportada especialmente para formulados de anestésicos locales y drogas antiinflamatorias. (Villarino & Landoni, 2006).

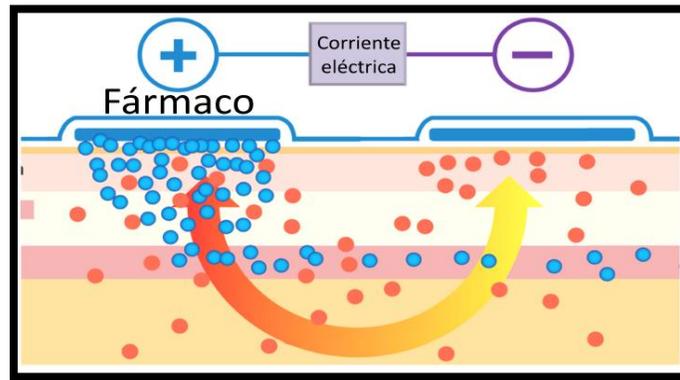


Ilustración 13. Esquema del proceso de iontoforesis (Vega, 2016).

2.11.2.3 Electropermeabilización

La electropermeabilización consiste en aplicar pulsos de corriente eléctrica (~100-1000V/cm) sobre la piel por períodos cortos (micro o milisegundos). La corriente aplicada induce la formación reversible de poros acuosos en el estrato córneo los cuales conforman una nueva ruta para la penetración de fármacos (ver Ilustración 14). (Villarino & Landoni, 2006)

A nivel del estrato córneo, la electropermeabilización perturba reversiblemente las bicapas lipídicas, verificándose una disminución de la resistencia de la piel y un aumento de la hidratación y del flujo sanguíneo a nivel cutáneo. (Pires, 2013)

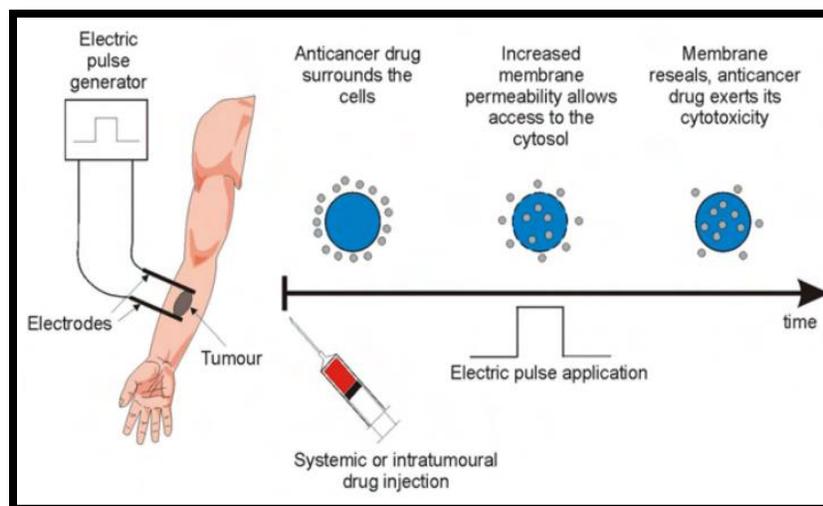


Ilustración 14. Proceso de electropermeabilización (Risk, Fernández & Marshall, 2013).

2.11.2.4 Microagujas transdérmicas

Son agujas que adjuntas mediante diferentes formas a un polímero flexible, penetran en las capas superficiales de la piel, usando una vía intradérmica. Suelen tener una longitud de 100-1000 μm y un diámetro de 200-300 μm , siendo adecuadas para penetrar el estrato córneo, que es la capa responsable de la acción barrera de la piel. Deben de ser robustas, rígidas y puntiagudas, mientras que el sustrato que las sostiene (el parche) debe ser flexible para adaptarse a la piel y reducir el riesgo de desprendimiento. (Rojas, 2017). Existen diferentes tipos en función de su mecanismo de liberación y estructura: microagujas sólidas, microagujas huecas, microagujas recubiertas y microagujas que se disuelven (ver Ilustración 15).

- ❖ **Microagujas sólidas:** penetran en la piel para crear huecos por los que difunda el fármaco, buscando tanto efecto local como sistémico. Se pueden encontrar montadas en un parche con el fármaco cargado como en cualquier parche convencional o para formulaciones tópicas (crema, gel, loción...etc.).
- ❖ **Microagujas huecas:** (poke and flow): son agujas que proveen un conducto definido para la liberación del fármaco a través de la piel o cualquier otro tejido. El flujo de liberación se produce por presión, que puede ser modulado a través de esta para provocar una liberación en bolo, una infusión lenta o liberación variable a lo largo del tiempo. Con formulaciones líquidas podría sustituirse el uso de formulaciones inyectables, aunque también se pierde la probabilidad de administrar fármacos que sean estables en estado seco y no tienen requerimiento de la reconstitución. También se usan como conducto para la difusión del fármaco desde un reservorio sin presión.
- ❖ **Microagujas recubiertas:** (coat and poke): agujas sólidas que se usan como vehículos para depositar el fármaco dentro de la piel, además de presentar una función perforadora. La formulación del fármaco recubre la aguja, y posteriormente difunde a través de las capas de la piel (no la aguja). La administración es rápida pero limitada en cuanto a dosis, que suele ser de 1 mg de fármaco. El fármaco se puede añadir por inmersión de la aguja en la solución del fármaco y otros componentes, así como por pulverización.
- ❖ **Microagujas que se disuelven** (poke and release): agujas de polímero o azúcares desarrolladas para disolverse en la piel sin dejar rastro de componentes después de su uso. Se suelen usar como pre-tratamiento de la piel para aumentar su permeabilidad o para transportar un fármaco estando este encapsulado en el interior de las agujas. (Rojas, 2017)

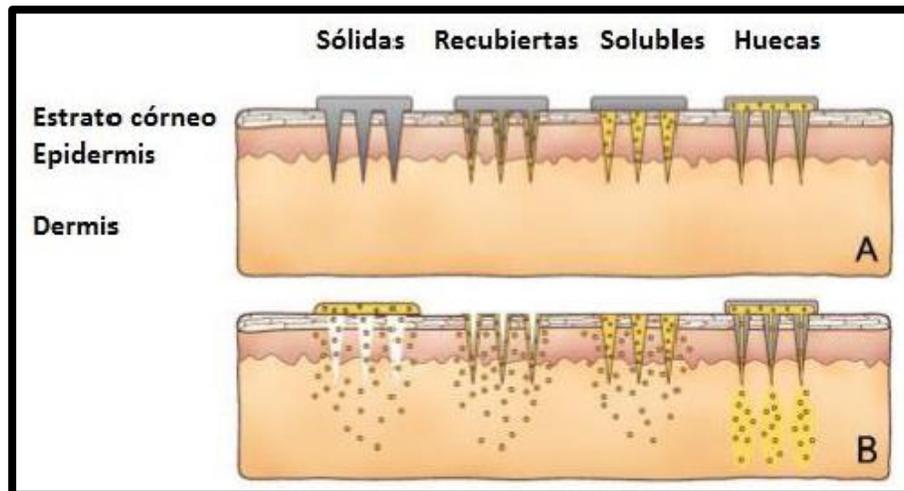


Ilustración 15. Clasificación de las microagujas en función de su mecanismo de liberación (Rojas, 2017).

Las microagujas transdérmicas también son clasificadas en función del material del que están formadas (ver ilustración 16).

- **Microagujas de silicona:** El silicón ha demostrado ser muy útil en la fabricación de microestructuras y sistemas microelectromecánicos. Su principal ventaja es que tiene mucha flexibilidad, lo que significa que las microestructuras pueden ser obtenidas fácilmente en una variedad de formas y tamaños deseables. Su considerable resistencia mecánica permite que las microagujas penetren con éxito en la piel, facilitando la administración transdérmica de los fármacos. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016).
- **Microagujas metálicas:** Los principales metales utilizados en las producciones de microagujas son de acero inoxidable, titanio, paladio, cobalto y níquel, además de su buena biocompatibilidad, tales metales poseen buenas propiedades mecánicas. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)
- **Microagujas de cerámica:** El principal tipo de cerámica utilizada para producir microagujas ha sido la alúmina. Este material presenta algunas ventajas, principalmente la resistencia química. La alúmina es uno de los óxidos más estables, debido a los enlaces iónicos y covalentes de alta energía entre los átomos de aluminio y oxígeno. Estos enlaces fuertes dejan la cerámica afectada por la corrosión y por condiciones ambientales adversas. Bajo compresión, la alúmina tiene buena resistencia, pero bajo tensión de tracción se muestra frágil.
- **Microagujas de vidrio de sílice:** Las microagujas de vidrio se pueden producir rápidamente en diversas geometrías para uso en laboratorios a pequeña escala. Este material es fisiológicamente inerte y permite una fácil visualización del flujo de fluidos. Sin embargo, el vidrio de sílice es un material frágil, el vidrio de silicio y sílice presentan una resistencia a la fractura similar. La fabricación de microagujas de vidrio no es eficiente en cuestión de tiempo ya que normalmente se realizan a manualmente. Las microagujas de vidrio todavía se usan en la actualidad, pero

solo con fines experimentales y no son viables para uso comercial en la administración de fármacos.

- **Microagujas de carbohidratos:** Este tipo de microagujas deben disolverse en la inserción de la piel para liberar el fármaco cargado. Los carbohidratos son una buena alternativa a los materiales descritos anteriormente, ya que son baratos y demás son seguros para la salud humana. Este tipo de microagujas tiene la suficiente fuerza para perforar la piel y entregar el fármaco sin embargo en algunos estudios se reportaron problemas inherentes al procesamiento, almacenamiento y uso de microagujas preparadas a partir de azúcares.
- **Microagujas poliméricas:** Los materiales poliméricos son alternativas prometedoras a los materiales descritos anteriormente para la producción de microagujas. Algunos polímeros y polisacáridos están atrayendo cada vez más atenciones debido a su excelente biocompatibilidad, biodegradabilidad, baja toxicidad, resistencia / tenacidad y bajo costo. En general, los polímeros presentan menor resistencia que el silicio, metales, cerámica y vidrio, pero mejor resistencia que el vidrio y la cerámica. Una amplia variedad de materiales macromoleculares se ha utilizado de manera eficiente para fabricar microagujas, por ejemplo: poli (metacrilato de metilo), PLA, PGA, PLGA, poli (carbonato), copolímero de olefina cíclica, poli (vinilpirrolidona), poli (alcohol vinílico) PVA, poliestireno, poli (metil vinil éter-co-maleico) anhídrido, poli (metil vinil éter-co ácido maleico), fotoprotector SU-8 y polisacáridos. Los polímeros se utilizan principalmente en la producción de matrices de microagujas de disolución biodegradables y formadoras de hidrogel. Sin embargo, hasta cierto punto, hay algunos estudios que utilizan polímeros para la producción de matrices de microagujas sólidas, huecas y recubiertas. (Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

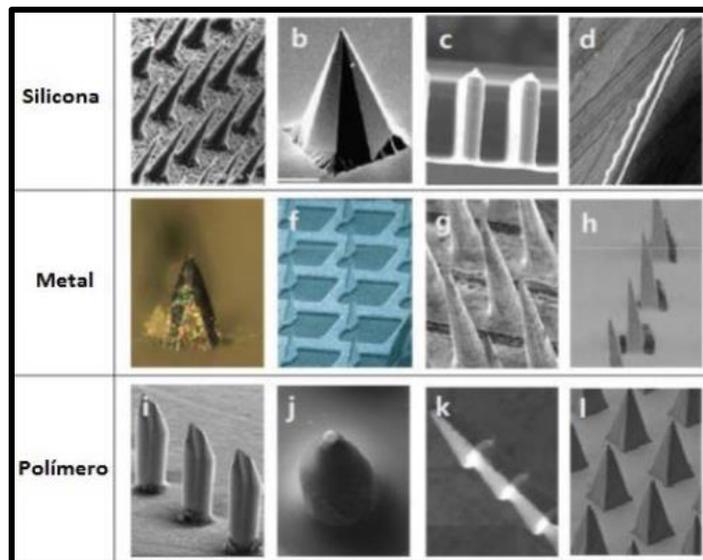


Ilustración 16. Clasificación de las microagujas en función del material de fabricación (Rojas, 2017).

2.11.2.4.1 Aplicaciones actuales de las microagujas transdérmicas

Las microagujas son utilizadas para facilitar el paso de moléculas de bajo peso molecular, con el pre-tratamiento de la piel se ha comprobado que se genera una buena y rápida liberación para estas moléculas. Se han probado compuestos como calceína, galantamina, naltrexona, docetaxel, ácido aminolevulínico, fenilefrina o lidocaína.

Las microagujas también son empleadas para la administración de moléculas de alto peso molecular o para aquellas que presenten problemas de biodisponibilidad por vía oral. Como las dosis de estos fármacos suelen ser bajas (del orden de mcg o mg), se pueden formular en microagujas recubiertas o que se disuelvan teniendo el fármaco en su interior. Como ejemplo de este tipo de fármacos está la insulina y oligonucleótidos.

Las microagujas podrían facilitar la administración de vacunas, aumentar la confianza del paciente y permitir la orientación hacia la piel, lo que supone una mejora, porque la piel presenta ventajas a nivel inmunológico, pues tiene en su estructura más células presentadoras de antígenos. Dentro de los sistemas de microagujas investigados para su aplicación en vacunas, las que mejor resultados ha dado son las microagujas recubiertas.

Extracción de fluidos intersticiales y sangre: las microagujas podrían servir como herramientas de diagnóstico para facilitar la toma de muestras. También podrían fabricarse con un sensor incorporado a la microaguja para detectar *in situ* en la piel, del tipo de los biomarcadores o tecnológicos. La cantidad de muestra a tomar del fluido intersticial o, sangre sería del orden de microlitros. Ya se han probado sistemas para medir, por ejemplo, los niveles de glucosa en sangre, aunque otros posibles analitos podrían ser el peróxido de hidrógeno, lactato, oxígeno disuelto o glutamato. (Rojas, 2017)

A continuación, en la Tabla 3 se muestran las principales ventajas e inconvenientes que presentan las microagujas:

Tabla 3 Ventajas y desventajas de las microagujas transdérmicas.

Ventajas	Desventajas
Son una técnica mínimamente invasiva para la administración transdérmica de fármacos.	Las microagujas solo se pueden insertar en la piel si tienen la forma correcta y las propiedades físicas adecuadas.
Son muy pequeñas (longitud de 50 a 900 μm).	Deben aplicarse con la fuerza necesaria para evitar que se rompan o se doblen antes de la inserción.
Evitan el efecto de primer paso.	Las microagujas hechas de metal, acero inoxidable o silicio tienen riesgos de fractura. Pueden dejar fragmentos en la piel.
Pueden penetrar el estrato corneo sin la estimulación de los nervios.	Pueden causar irritación de la piel y en algunos casos alergia.
Con una tasa constante y un período prolongado, se puede administrar el medicamento, permitiendo la dosis correcta de los fármacos.	Las microagujas necesitan micro-herramientas y microelectrónica para ser producidas a granel.
Hay una reducción de las reacciones adversas.	-
Son fáciles y seguras de usar.	-

Se pueden producir con alta precisión y bajo costo.	-
Las agujas huecas se pueden usar con parches y bombas temporizadas para administrar fármacos en momentos precisos.	-
Las microagujas huecas ofrecen una infusión continua a través de la piel.	-
Pequeñas microagujas podrían dirigir medicamentos a cada célula.	-
Son biológicamente no tóxicos.	-
Las microagujas tienen menos penetración microbiana que las agujas convencionales.	-
Las microagujas pueden eliminarse inmediatamente si se producen reacciones adversas.	-

(Serrano, Escobar-Chávez, Rodríguez, Melgoza y Martínez, 2018)

2.11.2.4.2 Métodos de manufactura

Para producir microagujas los investigadores han utilizado una gran cantidad de métodos de fabricación, incluidos el grabado químico isotrópico, moldeo por inyección, grabado reactivo de iones, micromaquinado de superficie / volumen, micromoldeo de polisilicona, electroformación-replicación por litografía, perforación con láser y polimerización de dos fotones.

2.11.2.4.2.1 Litografía y grabado (Ilustración 17)

Esta técnica se utiliza para transferir un patrón maestro a la superficie de un sustrato (por ejemplo, oblea de silicio). Para este propósito, esta superficie está recubierta previamente con un material fotosensible por exposición selectiva a una fuente de radiación (por ejemplo, luz UV). De hecho, el tipo de litografía más utilizado es la fotolitografía. En general, los pasos subsiguientes están involucrados en la transferencia de la máscara al sustrato recubierto fotosensible. El primer paso, utilizando una oblea de silicio como sustrato, es formar una capa delgada de óxido calentando entre 900 y 1150 C en presencia de vapor u oxígeno humidificado. Posteriormente, se recubre una capa delgada de un polímero orgánico sensible a la radiación UV, conocido como material fotosensible / fotorresistente o resistente, sobre la superficie de óxido de la oblea de silicio mediante un proceso de recubrimiento por rotación (centrifugado entre 1500 y 8000 rpm) para obtener una resistencia de espesor definido. Después de la etapa de recubrimiento por centrifugación, el disolvente presente en la capa resistente se elimina calentando entre 75 y 100 ° C durante 10 minutos. Además de la evaporación del solvente, este proceso promueve la adherencia de la capa resistente a la oblea. Una vez que se elimina el solvente, las láminas con recubrimiento resistente se exponen a la iluminación a través de una máscara (normalmente radiación UV entre 150 y 500 nm). Este procedimiento permite una transferencia casi perfecta de la imagen de la máscara a las obleas recubiertas. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

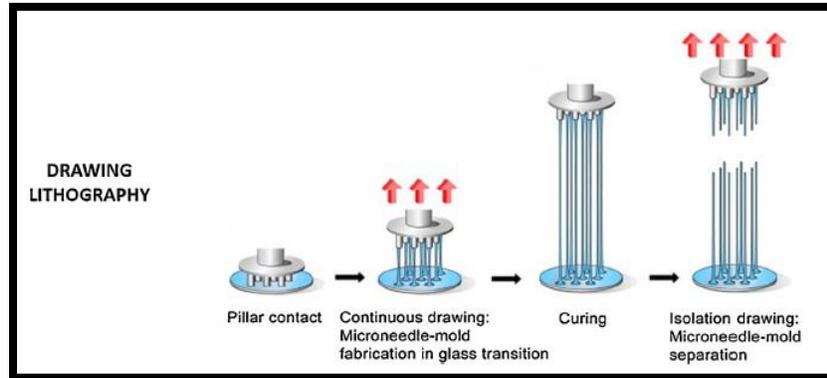


Ilustración 17. Manufactura de microagujas por el método de litografía (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016).

2.11.2.4.2.2 Fabricación de microagujas de silicón

Diferentes grupos de investigación han utilizado técnicas de grabado en seco o en húmedo para fabricar microagujas sólidas de formas, alturas y densidades variables a partir de silicón. En la fabricación de microagujas sólidas se utiliza un proceso de grabado en húmedo, se deposita una oblea de silicio estándar (tipo P) con una capa de óxido (300 Å) y una capa de nitruro (1000 Å) utilizando un proceso estándar de LPCVD. (Donnelly, Raj & Woolfson, 2010)

2.11.2.4.2.3 Fabricación de microagujas metálicas y de cristal

El método más sencillo para obtener microagujas metálicas es mediante el ensamblaje de agujas hipodérmicas de acero inoxidable convencionales o alambres de acero inoxidable que producen microagujas de forma hueca o sólida. Actualmente, las agujas hipodérmicas utilizadas más pequeñas son 30 G para jeringas convencionales (305 mm de diámetro exterior) y 31 G para inyectores de insulina (254 mm de diámetro exterior). Estas agujas hipodérmicas se han utilizado para producir microagujas mediante la exposición de longitudes definidas de un material de soporte. Este proceso de ensamblaje normalmente se realiza manualmente. Como alternativa a las microagujas metálicas, se pueden producir microagujas huecas de vidrio. Este tipo de microagujas puede prepararse extrayendo pipetas de vidrio pulido con un extractor. Finalmente, la microaguja de punta roma resultante puede ser biselada (en un ángulo de 35–388) y limpiarse con diferentes soluciones. Normalmente estas microagujas se unen a jeringas y se usan para administrar infusiones. La producción de microagujas de metal y vidrio mediante un proceso manual no es eficiente en tiempo y claramente no es factible para fines industriales. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

2.11.2.4.2.4 Fabricación de microagujas de cerámica

Las microagujas cerámicas son producidas por técnicas de micromoldeo. Una lechada de cerámica se moldea dentro de un molde seguido de un proceso de sinterización.

El micromoldeo implica la replicación de una estructura maestra utilizando moldes. Hasta la fecha, la mayoría de los moldes están hechos de polidimetilsiloxano, las razones

principales para la selección de este material son su flexibilidad y reproducibilidad precisa de las estructuras. Para preparar moldes, las estructuras se pueden producir utilizando diferentes materiales (por ejemplo, silicio o metal) y se pueden usar como plantillas. Este tipo de proceso permite la producción de dispositivos a bajo costo, ya que esta tecnología se puede ampliar fácilmente. Esta técnica también es utilizada para la fabricación de microagujas poliméricas y microagujas a base de carbohidratos. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

2.11.2.4.2.5 Fabricación de microagujas poliméricas

Las matrices de microagujas poliméricas y de carbohidratos ofrecen ventajas considerables sobre sus contrapartes de metal y silicio en su facilidad y economía de preparación y la posibilidad de fabricarse a partir de materiales biocompatibles.

Las microagujas poliméricas ahora están ganando importancia, debido a una variedad de propiedades, tales como la biocompatibilidad, la biodegradabilidad, la resistencia, la tenacidad y la claridad óptica. Además, la fabricación y reproducibilidad de las microagujas poliméricas es considerablemente más rentable en comparación con la de los procesos típicos de sistemas microelectromecánicos. Para producir con precisión las dimensiones a microescala de las microagujas poliméricas se han investigado una variedad de técnicas basadas en moldes, moldeo por calentamiento, moldeo por inyección (ver Ilustración 18) y moldeo por inversión. Otras técnicas que son empleadas para la manufactura de este tipo de microagujas son: fundición, litografía de dibujo, micromaquinado por láser y métodos de rayos X. Los materiales poliméricos que se han fabricado de manera eficiente en microagujas incluyen: poli metilmetacrilato (PMMA), ácido poli-L-láctico (PLA), ácido poli-glicólico (PGA) y ácido poli-láctico-co-glicólico (PLGA), copolímero cíclico-olefina, polivinilpirrolidona, y carboximetilcelulosa de sodio. Los azúcares también se han utilizado para fabricar microagujas, como galactosa, maltosa y dextrina. (Donnelly, Raj, Woolfson, 2010).

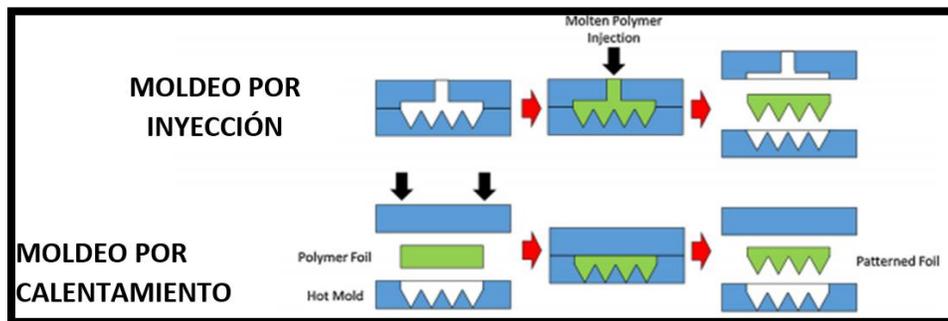


Ilustración 18. Técnicas de manufactura de microagujas poliméricas (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016).

2.12 Ensayos de permeabilidad *In Vitro* Celdas de difusión tipo Franz

Para los ensayos de permeabilidad se utilizan celdas de difusión (celda tipo Franz) las cuales son de vidrio neutro y transparente, lo que permite detectar la posible formación de cámaras de aire, adosadas a la membrana (piel humana), que reducirían la superficie útil de difusión y en consecuencia deben evitarse. Las celdas constan de dos compartimentos: el compartimento dador (A) en donde se dispone la forma farmacéutica transdérmica y el compartimento receptor (B) que contiene la solución receptora. La capacidad aproximada de ambos compartimentos es de 2 y 6 ml, respectivamente. El compartimento receptor posee una tubuladura (C) para realizar la toma de muestra y la reposición del volumen del líquido extraído en cada muestreo. Durante los ensayos la agitación se mantiene constante y uniforme en el compartimento receptor (ver Ilustración 19)

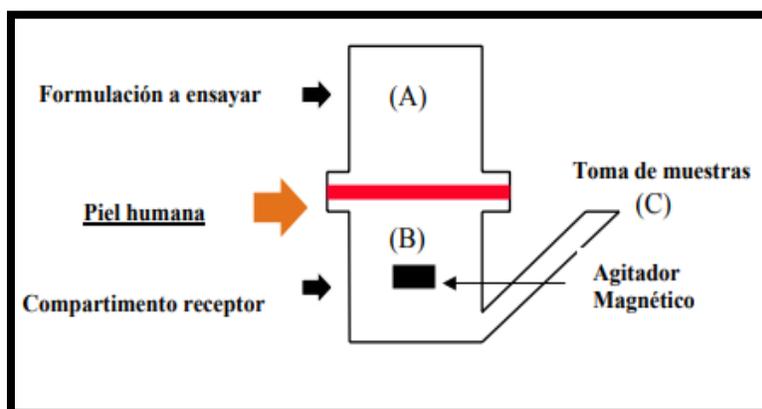


Ilustración 19. Ensamblado de celda de difusión tipo Franz para estudios de permeabilidad (Clarí, 2004).

Entre ambos compartimentos se coloca la membrana, en posición horizontal, de manera que el estrato córneo quede orientado hacia el compartimento dador. El conjunto de elementos se fija con la ayuda de una pinza para evitar pérdidas de solución. La superficie útil de difusión es de 0.79 cm^2 . Una vez ensamblada la celda se procede a llenar el compartimento receptor con la solución. La operación se realiza inclinando convenientemente la célula para evitar la formación de una cámara de aire en la vecindad de la membrana. Por último, se coloca la forma farmacéutica en estudio en el compartimento dador. Las celdas se colocan en el baño a $37 \text{ }^\circ\text{C}$ que se encuentra sobre un multiagitador magnético. A partir de este momento se comienza a contabilizar el tiempo de ensayo. (Clarí, 2004).

2.13 Modelos matemáticos aplicados a la absorción transdérmica

2.13.1 Difusión pasiva

La penetración de fármacos a través de los dominios lipídicos del estrato córneo es un proceso lento, seguido de una rápida difusión a través de la epidermis viable y la dermis papilar (Ramachandran & Fleisher, 2000). Ambos procesos se llevan a cabo por difusión pasiva. La velocidad y la magnitud de este transporte están gobernadas por la ley de Fick,

según la cual la velocidad de difusión es directamente proporcional al coeficiente de difusión y al de partición del principio activo y a la solubilidad del mismo en el medio acuoso que rodea la membrana, siendo inversamente proporcional al grosor de la membrana a ser atravesada. (Villarino & Landoni, 2006).

El sistema más utilizado por los fármacos para atravesar las membranas biológicas es la difusión pasiva directa por disolución en la bicapa lipídica. Este proceso está condicionado por la lipofilia de las sustancias, que puede expresarse por su coeficiente de partición lípido/agua. Está también condicionado por el coeficiente de difusión, que es una medida de la movilidad de las moléculas en los lípidos, pero este factor influye menos. (Aleixandre & Puerro, 2005)

2.13.2 Leyes de Fick

La velocidad de difusión, que es la cantidad de sustancia que difunde en la unidad de tiempo, sigue una cinética de primer orden, en los procesos pasivos, que se rige por la primera ley de Fick. Su ecuación es la siguiente.

$$-dc/dt = K (C - C') \cong K C \text{ Ecuación 1}$$

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 ($C - C'$) es progresivamente menor a medida que el fármaco pasa del compartimiento donde se encuentra más concentrado al compartimiento donde está menos concentrado. Puede desprejarse la concentración de fármaco en este segundo compartimiento (C'), puesto que es muy pequeña en relación con la concentración en el compartimiento de partida (C). Se establece así una relación lineal entre la velocidad de difusión y la concentración del fármaco. La constante K de difusión es una constante de proporcionalidad que engloba características de la membrana y de la molécula, como su tamaño y liposolubilidad. (Aleixandre & Puerro, 2005)

La difusión de compuestos apolares a través de una membrana o cualquier barrera homogénea se describe mediante la primera y segunda Ley de Fick. La primera ley, (Ecuación 2) indica que el flujo de un compuesto, J , por unidad de longitud recorrida, x , es proporcional al gradiente de concentración, ΔC y al coeficiente de difusión, D .

$$J = -D \left(\frac{\Delta C}{\Delta x} \right) \text{ Ecuación 2}$$

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

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

las interfases membrana/solución. Este reparto preferencial puede ser analizado aplicando la primera ley de Fick (Ecuación 3) y se puede expresar del siguiente modo:

$$J = D \cdot (C_{m1}/C_{m2})/h \quad \text{Ecuación 3}$$

En los ensayos difusionales, los valores que generalmente se determinan son C1 y C2, es decir, las concentraciones de las soluciones existentes en contacto con la membrana en los compartimentos dador y receptor, en lugar de Cm1 y Cm2, que corresponden a las concentraciones de soluto existentes en las capas más superficiales de la membrana. (Clarí, 2004)

Por otra parte, en la mayoría de los casos, las capas superficiales de la membrana se equilibran rápidamente con las fases adyacentes. Este equilibrio puede expresarse en términos de distribución o de coeficiente de reparto, cuando las fases adyacentes son líquidas, semisólidas o sólidas mediante las siguientes relaciones de concentraciones : (Ecuaciones 4 y 4.1)

$$C_{m1} = C1P1 \quad \text{Ecuación 4}$$

$$C_{m2} = C2P2 \quad \text{Ecuación 4.1}$$

En las que P1 y P2 son los coeficientes de reparto del soluto entre la membrana y las soluciones que la bañan. Sustituyendo en la ecuación 5, se obtiene:

$$J = D * \left(\frac{C1 * P1 - C2 * P2}{h} \right) \quad \text{Ecuación 5}$$

Los experimentos difusionales deben plantearse de modo que el fluido receptor permita que se cumplan las condiciones de “gradiente máximo” para el permeante. Con fines prácticos se acepta que cuando la concentración del soluto en el compartimento receptor no alcanza el 10% de su solubilidad en el medio líquido de dicho compartimento, el estado estacionario de la difusión no sufre modificaciones apreciables (Barry, BW, 1983). Si se cumple esta condición C2 puede considerarse despreciable, y la ecuación anterior, puede expresarse como:

$$J = \left(\frac{D * P * C}{h} \right) \quad \text{Ecuación 6}$$

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

Si se considera que se ha alcanzado el *estado de equilibrio estacionario*, la cantidad de soluto que atraviesa la membrana por unidad de tiempo es constante, lo que equivale a considerar que el fenómeno de la difusión se desarrolla de acuerdo con un proceso de orden cero.

El período de tiempo necesario para que se alcance el estado estacionario del proceso de difusión se relaciona con el tiempo de latencia, t0, (ver Ilustración 20)

El tiempo de latencia se puede determinar gráficamente mediante extrapolación al eje de las abscisas del tramo recto de la curva que representa las cantidades acumuladas en el compartimento receptor en función del tiempo. (Clarí, 2004)

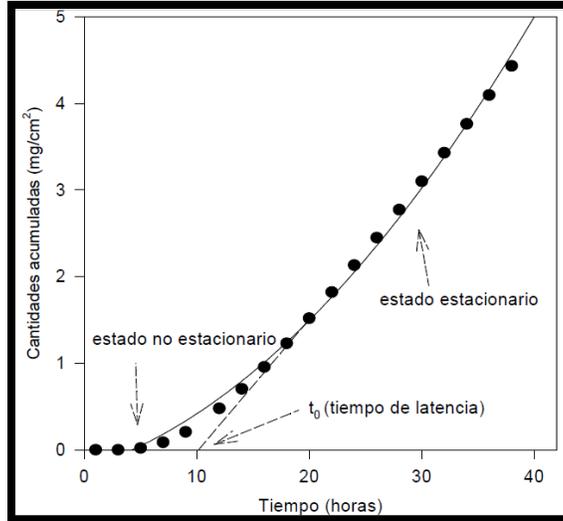


Ilustración 20. Perfil representativo de las cantidades acumuladas (Clarí, 2004).

2.13.3 Segunda ley de Fick

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

$$\text{Ecuación 7} \quad Q(t) = A \cdot P \cdot h \cdot C \cdot \left[D \cdot \frac{t}{h^2} - \frac{1}{6} - \frac{2}{\pi^2} \sum_{n=1}^{\infty} \frac{(-1)^n}{n^2} \cdot \exp\left(\frac{-D \cdot n^2 \cdot \pi^2 \cdot t}{h^2}\right) \right]$$

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

Los términos $P \cdot h$ y D/h^2 son sustituidos en la ecuación 7 por **P1** y **P2**, respectivamente y calculados utilizando un programa no lineal por el método de mínimos cuadrados. El uso de la ecuación 7 mediante la regresión no lineal de las cantidades de soluto que difunden en función del tiempo, proporciona una visión global del proceso, desde el tiempo cero hasta el último punto experimental. El coeficiente de permeabilidad (K_p) puede ser determinado mediante la siguiente expresión:

$$K_p = P_1 \cdot P_2 \quad \text{Ecuación 8}$$

En la ecuación 7 cuando $t \rightarrow \infty$, se obtiene una expresión que define una línea recta, correspondiente al estado estacionario de la difusión.

$$Q(t) = A \cdot P \cdot h \cdot C \cdot \left[D \cdot \frac{t}{h^2} - \frac{1}{6} \right] \quad \text{Ecuación 7.1}$$

Por otra parte, a partir de la ecuación anterior (Ecuación 7.1), es posible determinar el periodo de latencia cuando Q es igual a cero. (Clarí, 2004)

$$t_0 = \frac{h^2}{6 \cdot D} \quad \text{Ecuación 9}$$

2.14 Osteoporosis en México

La expectativa de vida promedio de México será de 82 años. Dado que las fracturas osteoporóticas y por fragilidad son enfermedades asociadas con el envejecimiento, se espera que su incidencia crezca de forma importante por lo que se considera un problema de salud actual. El envejecimiento de la población esperado para 2050, indudablemente conllevará un aumento en el porcentaje de personas con diagnóstico de osteoporosis y por consiguiente el incremento de fracturas por fragilidad ósea, estimándose de acuerdo a la Fundación Internacional para la Osteoporosis que una de cada 12 mujeres y uno de cada 20 hombres al año sufrirán fractura de cadera, lo que significa un total de 155,874 personas con dicha afección. Hay que remarcar que estos individuos tienen un 50% de probabilidades de sufrir una segunda fractura en su vida futura. La osteoporosis y las fracturas por fragilidad se perfilan como una de las causas de carga por enfermedad de mayor impacto en el Sector Salud, que afectarán negativamente la calidad de vida de las personas que las sufren, provocando una situación de dependencia y un riesgo incrementado de muerte. La osteoporosis, es una enfermedad indolora, asintomática y que tiene como consecuencia la fragilidad del hueso con lo que el riesgo de fracturas se incrementa. (Diario Oficial de la Federación, 2017).

Todas las fracturas osteoporóticas aumentan la morbilidad de los pacientes; sin embargo, las fracturas de cadera y vertebrales también están asociadas con una mayor mortalidad. Estas fracturas por fragilidad también son una carga considerable para el sistema de salud y tienen un gran impacto económico. La osteoporosis es un problema de salud pública en México, y su desarrollo es la causa del 20 por ciento de los casos de fractura de cadera en mujeres, advirtió la directora de la Unidad Clínica de Epidemiología del Hospital Infantil de México, Patricia Clark, durante los trabajos del Biotech Summit 2018.

2.15 Definición de osteoporosis

La osteoporosis es una enfermedad metabólica del hueso caracterizada por baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura (ver Ilustración 21), cuya consecuencia es una mayor fragilidad ósea y un aumento del riesgo de fracturas. Según la OMS, la osteoporosis se define como una enfermedad que se caracteriza por la disminución de la masa ósea, cuyo valor de densidad ósea (DO) es menor a 2.5, razón por la cual incrementa la fragilidad del hueso, y lo vuelve más susceptible a sufrir una fractura. La fortaleza ósea implica la integridad de dos elementos: densidad y calidad óseas. La densidad ósea se expresa en gramos de mineral por área o por volumen y está determinada por el pico de masa ósea alcanzado y por el balance entre ganancia y pérdida producida posteriormente. La calidad está determinada por la arquitectura, el recambio, la acumulación de daño por ejemplo microfractura y la mineralización. (Schurman, bagur, Claus-Hermberg, Messina, Negri & Sánchez, 2007)

La osteoporosis consiste en la disminución de la masa ósea junto con una alteración de la microarquitectura del hueso, lo que induce un aumento de la fragilidad y un mayor riesgo de fracturas. Se trata de un factor de riesgo que se incrementa con la edad,

especialmente en mujeres postmenopáusicas en las que se observa una aceleración de la disminución de masa ósea. La osteoporosis y las caídas en los ancianos predisponen a la aparición de fracturas vertebrales, de antebrazo distal y de cadera. (Erviti, 2003).

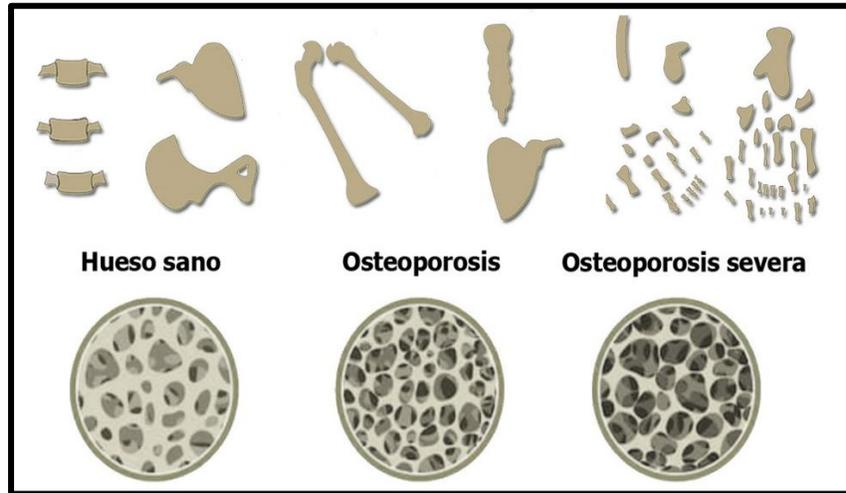


Ilustración 21. Osteoporosis. (Dueñas, 2018).

2.16.1 Clasificación de la osteoporosis

2.16.1.1 Osteoporosis primaria: Constituye el grupo más amplio e incluye los casos de osteoporosis en los que no se identifica ninguna enfermedad que la justifique directamente.

Dentro de esta clasificación se pueden distinguir los siguientes tipos:

- ❖ *Osteoporosis idiopática juvenil*
La osteoporosis idiopática juvenil es un trastorno raro, que se inicia generalmente entre los 8 y los 14 años. Se manifiesta por la aparición brusca de dolor óseo y de fracturas por traumatismos mínimos. El trastorno remite por sí solo en muchos casos y la recuperación ocurre de forma espontánea en un plazo de 4 o 5 años.
- ❖ *Osteoporosis idiopática del adulto joven*
La osteoporosis idiopática del adulto joven se presenta en hombres jóvenes y mujeres premenopáusicas en los que no se objetiva ningún factor etiológico. El comienzo del trastorno en algunas mujeres aparece en el embarazo o poco después. Estas mujeres presentan una disminución de la densidad mineral ósea (DMO) del hueso trabecular que puede permanecer baja durante muchos años. Los estrógenos no son eficaces en este tipo de osteoporosis. La evolución es variable y a pesar de que son episodios de fracturas recidivantes son característicos, no se produce un deterioro progresivo en todos los enfermos.
- ❖ *Osteoporosis postmenopáusica tipo I*
La falta de estrógenos, que produce la menopausia, causa una disminución de la absorción de calcio, así como la disminución de la PTH. (Dueñas, 2018). Ocurre en mujeres postmenopáusicas mayores de 41 años y se caracteriza por una pérdida acelerada y desproporcionada del hueso trabecular (alta remodelación ósea). Las fracturas de los cuerpos

vertebrales y de la porción distal del radio son complicaciones frecuentes. Se observa una disminución de la paratohormona para compensar el aumento de la resorción ósea.

❖ *Osteoporosis senil tipo II*

Se detecta en algunas mujeres y hombres de más de 70 años como consecuencia de un déficit de la función de los osteoblastos (bajo remodelado óseo). Otros factores etiopatogénicos son:

- Sedentarismo/inmovilización
- Déficit en la absorción de calcio a nivel gastrointestinal
- Trastornos nutricionales (déficit de vitamina D).
- Hiperparatiroidismo secundario.

Se asocia con fracturas de cuello femoral, porción próxima del humero y pelvis, por la afectación del hueso cortical como el trabecular. (Hermoso de Mendoza, 2003).

Los aspectos principales relacionados con la osteoporosis primaria se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Aspectos relacionados con la osteoporosis primaria.

<i>Aspecto en relación</i>	<i>Tipo I</i>	<i>Tipo II</i>
	Postmenopausia	Senilidad
Edad	50-70 años	>70 años
Sexo (Mujer/Hombre)	6/1	2/1
Afectación ósea	Trabecular	Trabecular y cortical
Velocidad de pérdida	Acelerada	No acelerada
Localización de fracturas	Vértebra y radio	Vértebra y cadera
Niveles de paratohormona	Disminuidos	Aumentados
Absorción de calcio	Disminuida	Disminuida
Síntesis de 1,25-Vitamina D	Reducida (secundaria)	Reducida (primaria)
Etiología	Déficit estrogénico (menopausia)	Pérdida ósea senil

(Abizanda, Carbonell y Trigueros, 2004).

2.16.1.2 Osteoporosis secundaria: Se denomina osteoporosis secundaria a aquella que es causada por patologías o medicaciones, distintas a la pérdida ósea explicable por la etapa postmenopáusica o envejecimiento. Las causas de osteoporosis secundaria son múltiples: endocrinológicas, gastrointestinales, genéticas, hematológicas, reumáticas, post-transplante, farmacológicas y nutricionales (ver Tabla 5).

Tabla 5. Causas de osteoporosis secundaria.

<p><i>Enfermedades endocrinológicas</i></p> <p>a) Estados hipogonadales</p> <ul style="list-style-type: none"> Insensibilidad a los andrógenos Trastornos de la conducta alimentaria Amenorrea de las atletas Hiperprolactinemia Panhipopituitarismo Menopausia precoz Síndromes de Turner o Klinefelter <p>b) Patologías endócrinas</p> <ul style="list-style-type: none"> Acromegalia Insuficiencia suprarrenal Enfermedad de Cushing Diabetes mellitus tipo 1 Hiperparatiroidismo primario y secundario Secreción tumoral de paratohormona Hipertiroidismo Déficit nutricional (calcio, vitamina D, magnesio etc.)
<p><i>Enfermedades gastrointestinales</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Enfermedad celiaca Gastrectomía Mala absorción Enfermedad inflamatoria intestinal Cirrosis biliar primaria Enfermedad hepática grave Insuficiencia pancreática exógena
<p><i>Trastornos genéticos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Hemocromatosis Hipofosfatasa Osteogénesis imperfecta Síndrome de Ehlers-Danlos Síndrome de Marfan Síndrome de Menkes Síndrome de Riley-Day Porfirias Enfermedades de depósito
<p><i>Trastornos hematológicos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Mieloma múltiple Leucemias y linfomas Mastocitosis sistémica Anemia perniciosa
<p><i>Enfermedades reumáticas</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Artritis reumatoide Espondilitis anquilosante
<p><i>Transplante de órganos</i></p> <ul style="list-style-type: none"> Transplante de médula Trasplante de riñón, corazón, hígado o pulmón

<p>Fármacos</p> <ul style="list-style-type: none"> Anticoagulantes: heparina y cumarínicos Anticomilales Ciclosporina y Tacrolimus Citotóxicos Glucocorticoides y hormona adrenocorticotropa Agonistas de la hormona liberadora de gonadotropinas Metotrexato
<p>Miscelánea</p> <ul style="list-style-type: none"> Alcoholismo Amiloidosis Sarcoidosis Fibrosis quística Insuficiencia cardiaca congestiva Enfisema Enfermedad renal pulmonar Hipercalciuria idiopática Esclerosis múltiple Nutrición parenteral

(Lafita, Pineda, Fuentes, & Martínez, 2003)

2.16.2 Sintomatología

La osteoporosis es la enfermedad metabólica ósea más frecuente, sin embargo, su incidencia real es difícil de establecer, ya que es una enfermedad asintomática hasta la aparición de complicaciones lo que, unido a sus múltiples etiologías hace difícil la identificación de las personas que presentan la enfermedad. (Lozano, 2003)

2.16.3 Factores de riesgo

Diversos estudios epidemiológicos a gran escala han permitido identificar los principales factores de riesgo involucrados en el desarrollo de osteoporosis. (Woolf & Akesson, 2003). A continuación, se describen los siguientes:

2.16.3.1 Factores de riesgo de baja masa ósea patológica

Factores de riesgo elevado

- ❖ Edad avanzada (mayor de 65 años).
- ❖ Déficit de estrógenos:
 - Menopausia por debajo de los 45 años
 - Menopausia quirúrgica antes de los 45 años
 - Amenorrea primaria o secundaria superior al año (anorexia, deportistas).
- ❖ Otras circunstancias:
 - Fractura osteoporótica previa o fractura por trauma mínimo
 - Disminución de la altura vertebral
 - Tratamiento con corticoides (5mg/día de prednisona o equivalente)
 - Hipertiroidismo e hiperparatiroidismo
 - Hipogonadismo en el hombre.

Factores de riesgo moderado

- ❖ Menopausia fisiológica
- ❖ Antecedentes familiares de fractura osteoporótica de primer grado
- ❖ Baja ingesta de calcio (< 500 u 800mg al día) en periodos de tiempo prolongados
- ❖ Bajo peso (< 57.7 Kg o IMC 19 Kg/m²)
- ❖ Tabaquismo (> 20 cigarros al día)
- ❖ Enfermedades:
 - Gastrointestinales:* gastrectomía, resección intestinal, enfermedad inflamatoria, síndromes de mala absorción.
 - Tiroidectomía*
 - Diabetes mellitus tipo I*
 - Hepatopatía crónica*
 - Enfermedad pulmonar obstructiva crónica*
 - Artritis reumatoide*
 - Trasplantes*
 - Alcoholismo*
 - Insuficiencia renal crónica*
- ❖ Ingesta de fármacos
 - Litio
 - Anticonvulsivos
 - Tiroxina a altas dosis
 - Heparina
 - Inmunosupresores

2.16.3.2 Factores de riesgo de fractura osteoporótica

- ❖ Baja masa ósea patológica
- ❖ Edad: mayor de 65 años
- ❖ Fractura osteoporótica previa
- ❖ Antecedente familiar de osteoporosis de primer grado
- ❖ Bajo peso
- ❖ Riesgo aumentado de caídas

2.16.3.3 Factores de riesgo de caídas

Factores intrínsecos

- ❖ Tener más de 65 años en mujeres
- ❖ Deterioro relacionado con el envejecimiento
 - Pobre control postural
 - Propiocepción defectuosa
 - Debilidad
- ❖ Trastornos de la marcha, equilibrio y la movilidad secundarios a enfermedades
- ❖ Déficit visual
- ❖ Déficit cognitivo o depresión
- ❖ Pérdida de conocimiento súbita

Factores extrínsecos

- ❖ Riesgos personalizados
 - Calzado inapropiado
 - Vestido inapropiado
- ❖ Multiterapia
 - Sedantes
 - Antihipertensivos

Factores ambientales

- ❖ Riesgos en el interior del hogar
 - Iluminación
 - Desniveles
 - Suelos
 - Cables
- ❖ Riesgos exteriores
 - Clima
 - Tráfico y transporte público
 - Obstáculos urbanos

2.16.4 Tratamiento farmacológico

Para el tratamiento de la osteoporosis son utilizados los siguientes fármacos:

2.16.4.1 Calcio y vitamina D: La vitamina D favorece la absorción de calcio a nivel intestinal. Los niveles bajos de 25-hidroxivitamina D son comunes en la población que envejece. En los pacientes con un bajo riesgo de es suficiente la prevención de caídas y mantener una ingesta adecuada de calcio y vitamina D, siempre que no exista algún factor de riesgo que implique una pérdida rápida de DMO (Densidad Mineral Ósea). (Álvarez, Mendoza, Torre, Callejo & Arizaga, 2014). La acción de la vitamina D se produce en gran medida a través del metabolito activo producido en una segunda etapa por un proceso de hidroxilación que se realiza en los riñones y que es estrechamente regulada por la paratohormona, el calcio y el factor de crecimiento de fibroblastos en hueso. (Aquino, Ojeda, Colman, Yinde, Acosta, Acosta & Duarte, 2013).

2.16.4.2 Bifosfonatos: Son fármacos análogos de los pirofosfatos naturales, su mecanismo de acción es inhibir la resorción ósea mediante la disminución de la actividad de los osteoclastos y estimular su apoptosis. Los bifosfonatos actúan inhibiendo la resorción osteoclástica del hueso mediante un mecanismo de acción distinto al de otros antirresortivos. Cuando empieza la resorción del hueso que está impregnado de bifosfonato, éste es liberado y captado por el osteoclasto, deteriorando su capacidad de formar el borde, de adherirse a la superficie del hueso y producir los protones y enzimas lisosómicas necesarios para continuar la resorción ósea. (Carretero, 2011). Son los más utilizados en el tratamiento de la osteoporosis, en los algoritmos de decisión clínica se recomiendan como primera línea de elección. La biodisponibilidad oral de los bifosfonatos es baja, entre 1 y 3 % de la dosis ingerida; además su absorción se altera con la comida, calcio, café o

zum de naranja. Se han descrito casos de estomatitis, esofagitis, úlceras esofágicas, perforaciones y sangrado intestinal. (Álvarez, Mendoza, Torre, Callejo & Arizaga, 2014)

2.16.4.3 Fármacos moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERM): Los moduladores selectivos de los receptores de estrógenos (SERM) constituyen un grupo de fármacos con una estructura química que les confiere afinidad para unirse a los receptores estrogénicos y que, dependiendo del tejido diana donde se realiza esta unión, inducen efectos agonistas estrogénicos (tejido óseo, sistema cardiovascular, hígado, etc.) (Pérez, 2004). El Raloxifeno tiene afinidad por los receptores estrogénicos, similar al estradiol y con actividad estrogénica manifiesta en la regeneración del hueso en varios pasos del metabolismo de los lípidos séricos, lipoproteínas y fibrinógeno, pero con efectos antagonistas en los tejido endometrial y mamario. (Terán & Teppa, 2005)

2.16.4.4 Calcitonina: La calcitonina es una hormona endógena que inhibe la reabsorción ósea. La administración es subcutánea o por vía nasal, presentando esta un 25-50 % de biodisponibilidad respecto a la subcutánea. La calcitonina incrementa la DMO (Densidad Mineral Ósea) a nivel lumbar y en el antebrazo. Reduce el riesgo de fractura vertebral y no presenta efectos sobre las fracturas no vertebrales. (Álvarez, Mendoza, Torre, Callejo & Arizaga, 2014). La calcitonina es una hormona que retrasa la desmineralización, interviniendo en el metabolismo óseo del calcio e inhibiendo los osteoclastos. (Carretero, 2011)

2.16.4.5 Terapia hormonal sustitutiva: La terapia estrogénica es eficaz en la prevención de la pérdida ósea y fracturas osteoporóticas en mujeres posmenopáusicas. Sin embargo, los riesgos asociados son relevantes; se asocia a un aumento del riesgo de enfermedad coronaria, de cáncer de mama y accidentes cerebrovasculares, con un balance riesgo beneficio desfavorable. Por tanto, la terapia estrogénica no se recomienda para el manejar a largo plazo de condiciones crónicas como la osteoporosis posmenopáusica donde existen otras opciones terapéuticas. (Álvarez, Mendoza, Torre, Callejo & Arizaga, 2014)

Dentro del grupo de los bifosfonatos se encuentra el alendronato de sodio. El alendronato de sodio es un fármaco utilizado para este padecimiento, es administrado por vía oral y se ha demostrado que solamente el 1% de la dosis administrada es absorbida y que la presencia de alimentos retrasa aún más la velocidad de absorción, las reacciones adversas reportadas para esta vía de administración son: dolor abdominal, úlcera esofágica, disfagia, distensión abdominal inclusive puede producir irritación local de la mucosa de la parte superior del aparato digestivo por lo que la vía transdérmica es una alternativa ya que puede lograr la reducción de estas reacciones adversas y se puede potencializar la absorción hasta un 8% con respecto a la vía oral. Representa una ventaja con respecto a la vía intramuscular, ya que el dolor y la probabilidad de infección que esta vía puede provocar se pueden reducir con esta alternativa en conjunto con microagujas que no provocan dolor, irritación e inclusive ni sensibilidad cutánea.

2.17 Propiedades fisicoquímicas del alendronato de sodio

- Alendronato de Sodio: Nombre Químico: (4- amino-1 hidroxibutilidene) difosfonato trihidrato. En la Ilustración 21 se muestra la estructura química del alendronato.
- Fórmula molecular: $C_4H_{12}NNaO_7P_2 \cdot 3H_2O$.
- Peso molecular: 325.1 g/mol.
- Características físicas: Polvo fino blanco, soluble en agua, insoluble en diclorometano, muy poco soluble en alcohol metílico. Una solución al 1% en agua tiene un pH de 4-5. (Valdés, 2006)

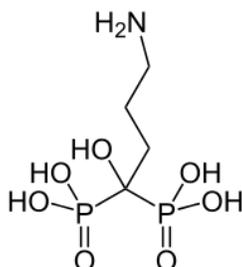


Ilustración 21. Estructura química del alendronato de sodio.

3.17.1 Mecanismo de acción

El alendronato de sodio inhibe la actividad de los osteoclastos y la resorción ósea, se une a las sales de calcio bloqueando así la transformación de fosfato cálcico a hidroxiapatita y por lo tanto, inhibe la formación, agregación y disolución de cristales de esta última sustancia en el hueso. Mientras que la inhibición de los cristales de hidroxiapatita puede explicar los efectos del fármaco sobre la inhibición de la mineralización ósea observada en dosis altas, no explica sus efectos sobre la resorción ósea. (Valdés, 2006). Este fármaco se localiza preferentemente en los sitios donde hay resorción activa, sin embargo, no interfiere con el reclutamiento y fijación de los osteoclastos. El alendronato es internalizado por los osteoclastos causando la rotura del citoesqueleto de los mismos inhibiendo su actividad, con pérdida del borde plegado lo que podría conducir a una pérdida de la capacidad de reabsorber el hueso, se ha demostrado que el alendronato produce una disminución en los osteoclastos y de su ciclo de vida.

El alendronato inhibe la resorción ósea a nivel tisular, modificando su índice hacia la formación y aumentando la masa ósea. (ver Ilustración 22). El hueso formado durante la terapia con alendronato es de calidad normal, al aumentar la masa ósea, disminuye el riesgo de fracturas osteoporóticas. Administrado una vez al día, ha demostrado su eficacia en evitar fracturas en sitios clínicamente claves, incluyendo la cadera, y ha establecido un estándar de comparación de los tratamientos osteoporóticos. (Carretero, 2002).

Se han propuesto tres mecanismos celulares como la base de estos efectos:

- **Disminución en la actividad osteoclástica.**

Diversos estudios han demostrado que el alendronato se une preferentemente a sitios de resorción ósea activa, es decir, debajo de los osteoclastos. Cuando los osteoclastos acidifican la interfase ósea al comienzo de la resorción, el alendronato es liberado en el

espacio de resorción e interfiere con la formación del borde rugoso debajo de los osteoclastos. De esta forma, el alendronato inactiva los osteoclastos e inhibe la resorción

- **Disminución en la formación de osteoclastos.**

Se ha observado en diversos estudios que el alendronato disminuye la formación de osteoclastos sin que se haya establecido aún la importancia clínica de este efecto.

- **Disminución en el ciclo de vida de los osteoclastos.**

Se ha observado, asimismo, una disminución en el ciclo de vida de los osteoclastos como resultado de la apoptosis. La capacidad del alendronato de interrumpir la formación del borde rugoso osteoclástico puede deberse a la inhibición de un paso limitante en la vía metabólica del colesterol, que es esencial para la función y supervivencia de los osteoclastos. (Carretero, 2002).

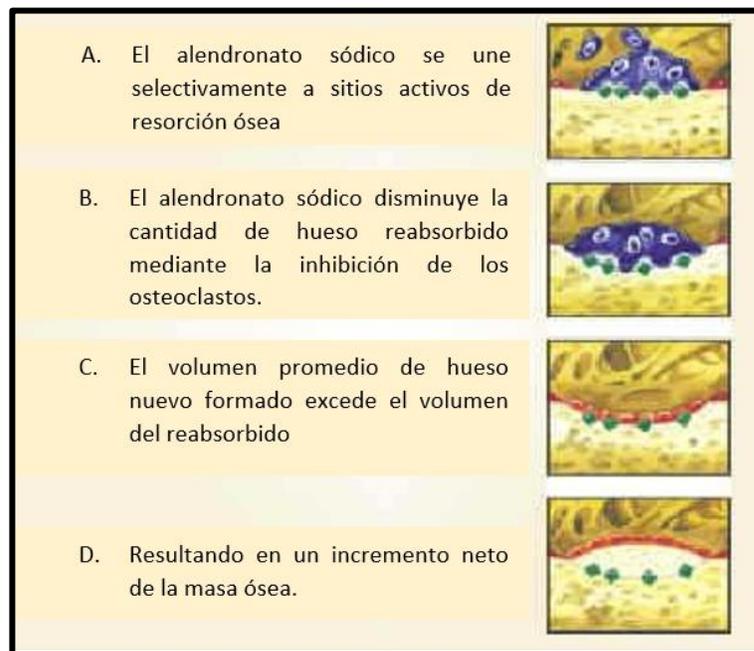


Ilustración 22. Mecanismo de acción del alendronato de sodio. (Carretero, 2002)

2.17.2 Farmacocinética

El alendronato se administra por vía oral. La absorción es muy baja, menos de 1% y es despreciable si se administra el fármaco menos de dos horas antes del desayuno, la ingesta de iones como el calcio y el magnesio también reduce la biodisponibilidad. La parte de alendronato que se absorbe se distribuye en los tejidos blandos, y en el hueso, eliminándose seguidamente por vía urinaria y se une en un 78% a proteínas plasmáticas. (Valdés, 2006).

Se estima que después de 10 años de tratamiento con dosis de alendronato de 10 mg la cantidad diaria que se libera del esqueleto es aproximadamente el 25% de la dosis absorbida por el tracto digestivo. La inhibición de la resorción ósea disminuye después de completarse un tratamiento, lo que sugiere que no todo el alendronato fijado al hueso es biológicamente activo. La resorción ósea continúa aproximadamente durante dos

semanas por lo que, debido a la larga semi-vida del alendronato en el hueso una administración semanal puede inhibir este efecto y beneficiar la masa ósea y la fortaleza de esta de manera similar a una administración diaria.

2.17.3 Reacciones adversas

El alendronato de sodio produce irritación gástrica y esofágica, distensión y dolor abdominal, úlceras, esofagitis, irritación de la mucosa gástrica, cefaleas, dispepsia, dolor musculoesquelético e inclusive estreñimiento.

2.17.4 Presentaciones de alendronato de sodio para administración oral disponibles en el mercado actual

- aurax® ácido alendrónico 70mg
- FOSAMAX® alendronato de sodio en tabletas de 10mg
- FOSAMAX® Plus alendronato de sodio en tabletas 70mg (Farmacias San Pablo, 2019)

3. JUSTIFICACIÓN

Al igual que las tendencias en otras regiones del mundo, la dinámica demográfica de México cambió y su población está envejeciendo. Si bien el proceso de envejecimiento ocurrió en un lapso de dos siglos en países industrializados y desarrollados, esto está sucediendo muy rápido en México. La expectativa de vida al nacimiento aumentó casi 39 años en promedio en las últimas siete décadas (de 36,2 a 75 años). La población del segmento etario de 60 años y más, que actualmente asciende a 10,7 millones, aumentará a 36,4 millones en 2050. En ese momento, la expectativa de vida promedio de México será de 82 años. Dado que las fracturas osteoporóticas y por fragilidad son enfermedades asociadas con el envejecimiento, se espera que su incidencia crezca de manera acorde. Se calcula que la población actual de México es de 113 millones de habitantes. De los cuales, el 18% (20 millones) está representado por personas de 50 años o más y el 4,3% (5 millones) por personas de 70 años o más. Para el año 2050, se estima que el 37% (55 millones) de la población superará los 50 años y el 14% (20 millones) tendrá 70 años o más, mientras que la población total alcanzará 148 millones. (U.S. Census Bureau, International Database, 2011).

Entre los fármacos utilizados para el tratamiento de osteoporosis se encuentra el alendronato de sodio, el cual es catalogado como un fármaco de gran potencia terapéutica, sin embargo, este genera reacciones adversas a nivel gastrointestinal y esofágicas muy severas tras su administración por vía oral. Como se describió anteriormente la incidencia de osteoporosis en poblaciones jóvenes y mayores va en aumento, por lo que se han desarrollado sistemas transdérmicos para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos y reducir la incidencia de reacciones adversas.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un parche transdérmico tipo reservorio acoplado a microagujas poliméricas biodegradables huecas cargado con alendronato de sodio mediante el uso de polímeros biodegradables para eficientar el proceso de absorción del alendronato de sodio a través de la piel y reducir la posible aparición de reacciones adversas mediante la generación de una nueva forma farmacéutica para vía transdérmica.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Desarrollar microagujas poliméricas biodegradables mediante la selección de polímeros que presenten mejores propiedades, para posteriormente evaluar sus propiedades mecánicas de dureza, liberación y permeación del fármaco a través de la piel.
- ❖ Desarrollar un parche transdérmico biodegradable tipo reservorio mediante la investigación bibliográfica y la selección de los mejores polímeros para poder caracterizarlo en lo que respecta a su resistencia elástica, obteniendo una base óptima para el acoplamiento de las microagujas.
- ❖ Desarrollar una solución que será el vehículo que contenga el alendronato de sodio para su utilización como medio reservorio del parche transdérmico.
- ❖ Realizar pruebas biofarmacéuticas a la forma farmacéutica mediante pruebas de permeación a través de celdas verticales tipo Franz para garantizar la liberación y paso del alendronato de sodio a través de la piel.
- ❖ Desarrollar y caracterizar mediante pruebas de bioadhesión y bioadhesión posthumectación, una película adhesiva mediante el uso de polímeros que posean propiedades adhesivas importantes.

5. HIPÓTESIS

Si las características del parche (resistencia a la ruptura y bioadhesión) y microagujas (dureza) son óptimas, entonces el sistema transdérmico será evaluado biofarmaceuticamente realizando las pruebas de liberación y permeación empleando piel humana para garantizar la liberación del alendronato de sodio y con ello obtener un medicamento innovador para el tratamiento de osteoporosis.

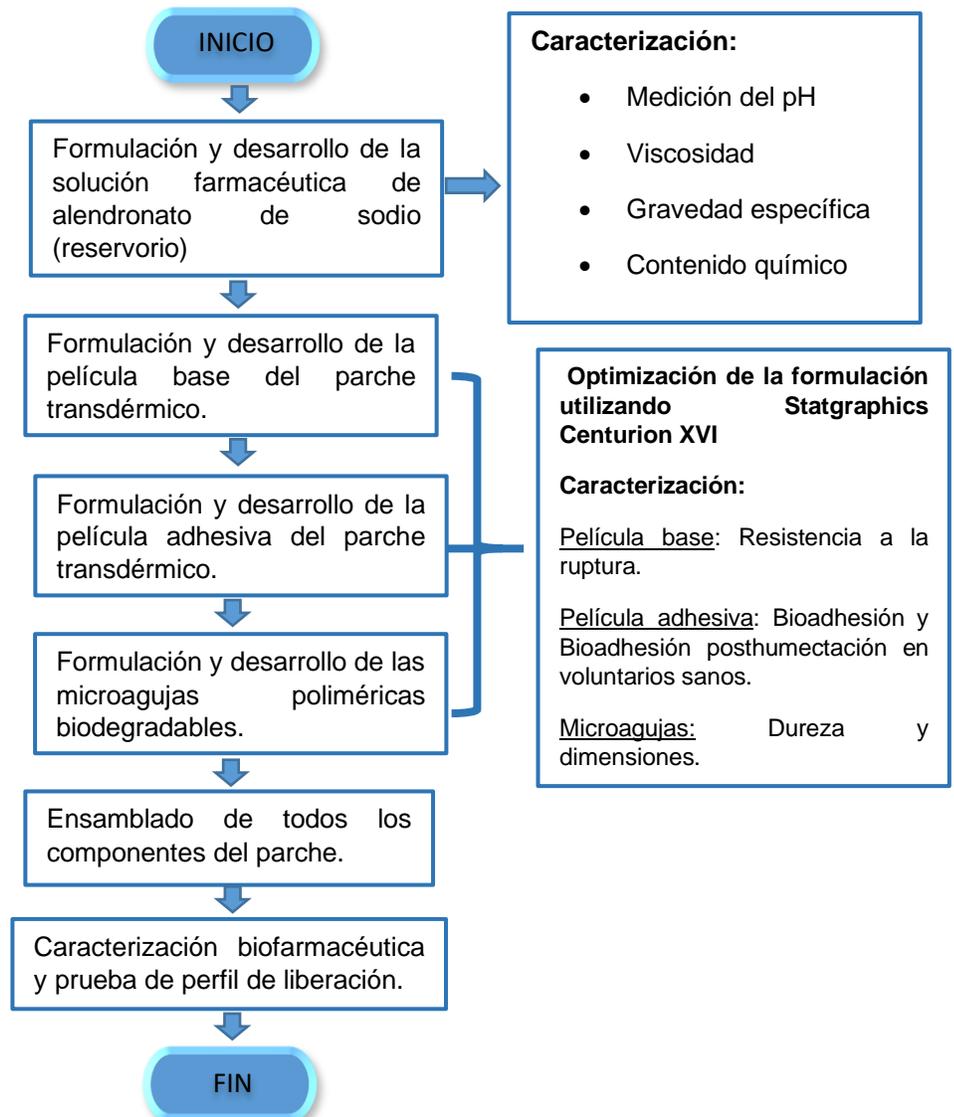
6. METODOLOGÍA

De forma general se describe la metodología seguida para el desarrollo de la forma farmacéutica.

1. **Estudios de preformulación (Investigación):** se seleccionaron los componentes adecuados para cada elemento de la forma farmacéutica y se establecieron las concentraciones de cada uno de ellos, estos fueron seleccionados en base a su función y compatibilidad con el fármaco.
2. **Formulación de la solución reservorio de alendronato de sodio:** una vez seleccionados los excipientes la solución fue caracterizada en lo que respecta: valor de pH, viscosidad, gravedad específica y contenido químico.

3. **Optimización de la formulación:** una vez seleccionados todos los componentes de la formulación se llevó a cabo su optimización por medio de un diseño de experimentos, trabajado en el programa Statgraphics Centurion XVI, esto se aplicó para la base del parche transdérmico, la película adhesiva y las microagujas poliméricas biodegradables.
4. **Caracterización física de la forma farmacéutica óptima:**
 - Base del parche transdérmico: Resistencia a la ruptura.
 - Película adhesiva: Bioadhesión y Bioadhesión posthumectación.
 - Microagujas poliméricas biodegradables: Dureza.
5. **Caracterización biofarmacéutica:** Pruebas de liberación, cinética de liberación, estudios de permeación.
6. **Validación del método analítico:** precisión del sistema, linealidad del sistema, linealidad del método, precisión del método, exactitud del método.

En el diagrama de flujo que se presenta a continuación se describe la metodología planteada para el desarrollo de cada uno de los componentes del parche transdérmico tipo reservorio acoplado a microagujas.



6.1 Material

El desarrollo de proyecto se llevó a cabo en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Unidad de Investigación Multidisciplinaria Laboratorio 12 “Sistemas transdérmicos y materiales nanoestructurados”

Se utilizaron reactivos y polímeros de grado analítico:

- Alcohol polivinílico (Sigma-Aldrich)
- Glicerina (Droguería Cosmopolita)
- Grenetina Bloom 280 (Droguería Cosmopolita)
- Alginato de sodio (Droguería Cosmopolita)
- Tween 80 (Droguería Cosmopolita)
- Eudragit RS100
- Triacetina (Sigma-Aldrich)
- Dibutil ftalato (Sigma-Aldrich)
- Quitosán
- Ácido acético
- Etanol (MEYERS)
- Etilcelulosa (Sigma-Aldrich)
- Hidróxido de sodio (J.T Baker)
- Ácido clorhídrico
- Agua desionizada
- Fosfato monobásico de potasio (J.T Baker)
- Alendronato de sodio (donación)
- Fenolftaleína (Sigma-Aldrich)
- Bifalato de potasio
- Agua destilada calidad Mili-Q (Milipore Inc.)
- Propilenglicol (Droguería Cosmopolita)
- Pluronic F-127

Material de medición

- Vasos de precipitados de 150mL
- Vasos de precipitados de 50mL
- Vasos de precipitados de 20mL
- Vidrio de reloj
- Probeta de 100mL
- Matraces volumétricos (100mL, 500mL, 2L, 1L)
- Bureta de 25mL
- Pipetas graduadas de 10mL
- Propipetas
- Celdas de difusión tipo Franz
- Termómetro
- Jeringas Plastipack de 5mL
- Micropipeta (200µL-1000µL)

Material de uso general

- Tubos de ensaye
- Frascos ámbar
- Termoagitador
- Multiparrilla
- Barra magnética
- Moldes de teflón
- Gradilla metálica
- Puntas para micropipeta
- Soporte universal
- Cuentagotas
- Pinzas para soporte universal
- Piseta con agua destilada
- Picnómetro metálico
- Molde metálico para microagujas
- Moldes metálicos de sujeción de celdas tipo Franz
- Estuche de disección.

Equipo de pesado

- Balanza analítica

Equipo de secado

- Horno Riussa E-33 NOM

Equipo de medición

- Texturómetro Brookfield CT3
- Calibrador Vernier Truper (CALDI-GM)
- Viscosímetro Brookfield
- Ph metro (HI 2210 pH Meter HANNA Instruments)
- Desk V (DENTONVACUUM)
- Microscopio electrónico de barrido (JSM-6010LA In ToucheScope)

Material biológico

- Piel abdominal humana (donada del Hospital Ángeles Inn Chapultepec)

FORMULACIÓN ESTABLECIDA PARA LA SOLUCIÓN DE ALENDRONATO DE SODIO

En la Tabla 6, se presenta la formulación establecida para el reservorio del parche.

Tabla 6. Composición de la solución reservorio de alendronato de sodio.

Componente	Porcentaje p/v	Función
Pluronic F127	10%	Vehículo
Propilenglicol	20%	Promotor químico de la permeación/Conservador
Alendronato de sodio	7mg	Fármaco

6.2 Preparación de la solución de alendronato de sodio

1. Se pesaron 425 mg de alendronato de sodio en un vaso de precipitados de 100ml.
2. Se agregaron 50mL de agua destilada para disolverlo.
3. Se pesaron 5 g de Pluronic F-127 y se añadieron al vaso de precipitados y se continuó la disolución hasta obtener una solución homogénea.
4. Finalmente fueron agregados 10 ml de propilenglicol y se continuó con la disolución por 5 minutos más.
5. Se procedió a realizar las siguientes pruebas a la solución:
 - pH
 - Gravedad específica
 - Viscosidad
 - Contenido químico

6.3 Caracterización de la solución de alendronato de sodio

6.3.1 Medición del pH

El pH fue calibrado previamente empleando las soluciones de referencia: sol. pH 4, 7 y 10. Se colocaron 20mL de la solución de alendronato de sodio en un vaso de precipitados de 50mL, el electrodo previamente enjuagado con agua destilada fue sumergido en la solución y se registró la lectura del equipo. La medición del pH se llevó a cabo con el equipo que se muestra en la Ilustración 23.

La medición del pH se la solución de alendronato de sodio se llevó a cabo por triplicado.



Ilustración 23. Equipo de medición de pH 10 HI 2210 pH Meter HANNA Instruments.

6.3.2 Medición de la viscosidad

La medición de la viscosidad se llevó a cabo con el viscosímetro Brookfield (Ilustración 24), las condiciones para la medición fueron las siguientes:

- Número de aguja: 62
- Temperatura: temperatura ambiente
- Velocidad: 20rpm

Previamente el viscosímetro fue calibrado mediante la nivelación de la burbuja. Se colocaron 40mL de la solución de alendronato de sodio en una probeta de 25mL, se sumergió la aguja hasta cubrir la muesca de la aguja, se ajustaron la velocidad y el número de aguja con la cual se llevaría a cabo la medición, se tomó tiempo de 1 minuto y se registró el valor obtenido en cP. El procedimiento anterior se llevó a cabo por triplicado.



Ilustración 24. Viscosímetro DV-E Brookfield

6.3.3 Determinación de la gravedad específica

1. Se ensambló el picnómetro metálico como se observa en la Ilustración 25.
2. El picnómetro fue pesado en la balanza analítica.
3. Se registró el peso del picnómetro vacío y se registró el peso.
4. Posteriormente el picnómetro se llenó con agua destilada, se ensambló nuevamente y se pesó en la balanza, el peso fue registrado.
5. Finalmente se vació el picnómetro, se secó y se llenó con la solución de alendronato de sodio, posteriormente se pesó y registro el peso.

La gravedad específica se calculó con la siguiente formula:

$$G.E = \left(\frac{\text{peso del picnómetro con muestra} - \text{peso del picnómetro vacío}}{\text{peso del picnómetro con agua} - \text{peso del picnómetro vacío}} \right)$$

El procedimiento anterior se llevó acabo por triplicado



Ilustración 25. a) Partes del picnómetro, b) Picnómetro ensamblado.

6.3.4 Determinación de contenido químico

Para la determinación de contenido químico de la solución de alendronato de sodio se empleó un método analítico validado (ver ANEXO 1) el cuál consistió en lo siguiente:

1. Se midieron 10 muestras de la solución de alendronato de sodio de 1ml cada una, los volúmenes fueron colocados en vasos de precipitados de 20mL.
2. Se añadió a cada vaso 5mL de agua desionizada y se procedió a incorporar perfectamente la solución bajo agitación mecánica.
3. Se montó una bureta de 25mL en un soporte universal, posteriormente esta se llenó con una solución de hidróxido de sodio previamente estandarizada (Ver ANEXO 1 punto 1. Estandarización de la solución valorante de hidróxido de sodio)
4. Una vez llena se procedió a eliminar la burbuja de aire que queda en la punta para evitar errores en la medición.
5. Primeramente, se procedió a valorar un sistema blanco el cual fue preparado de la siguiente manera:
 - Se midió 1mL de solución placebo y se colocó el volumen en un vaso de precipitados de 20mL.
 - Se añadieron 5mL de agua desionizada y se dejó incorporar perfectamente bajo agitación mecánica.
 - Se añadieron al sistema 4 gotas de fenolftaleína al 1% en etanol.
 - Se procedió a realizar la valoración. (La valoración finaliza cuando la solución se torna de color rosa).
 - Se registró el volumen de punto de equivalencia.

6. Posteriormente se procedió a valorar cada una de las diez muestras, a cada muestra se le añadieron 4 gotas de fenolftaleína al 1% en etanol.
7. Se procedió a realizar la valoración. (La valoración finaliza cuando la solución se torna de color rosa).
8. Se registró el volumen de punto de equivalencia.
9. Se procedió a realizar el cálculo de cuantificación empleando los siguientes cálculos:

Cálculo para la corrección del volumen de punto de equivalencia:

$$\begin{aligned} & \text{Corrección del volumen de punto de equivalencia} \\ & = \text{Volumen de la muestra} - \text{Volumen del blanco} \end{aligned}$$

Cálculo para la cuantificación de alendronato de sodio en la solución:

$$\frac{\text{volumen coregido (mL)} \times \text{Molaridad del hidróxido de sodio}}{1000} \times \left(\frac{271.09g}{1 \text{ mol}} \right) (1000)$$

$$= \text{mg de alendronato en la solución}$$

$$\% \text{ Obtenido} = \frac{\text{miligramos obtenidos experimentalmente}}{\text{miligramos adicionados}} (100)$$

FORMULACIONES ESTABLECIDAS PARA EL DESARROLLO DE LAS PELICULAS DEL PARCHES TRANSDERMICO

A continuación, en las Tablas 7 y 8 se muestran las formulaciones para la película base del parche y la película impermeable.

Tabla 7. Formulación establecida para la película base del parche transdérmico.

Componente	Porcentaje (p/v)	Función
Alcohol polivinílico	0.5%	Polímero formador de película
Glicerina	20%	Plastificante
Grenetina Bloom 280	5%	Polímero formador de película
Alginato de sodio	1%	Polímero formador de película
Tween 80	1%	Plastificante
El volumen de la película fue de 25mL		

Tabla 8. Formulaciones establecidas para la película impermeable.

Formulación 1	F 1	F2	F3	Formulación 2	F1	F2	F3	Formulación 3	F1	F2	F3
Triacetina (plastificante)	2%	4%	6%	Quitósán 5% (formador de película)	2.5%	3.5%	4.5%	Etilcelulosa (formador de película)	4%	4%	4%
Eudragit 100 SR (polímero que impone las propiedades adhesivas)	4%	6%	8%	Ácido acético 50ml (disolvente)	2%	2%	2%	Dibutil ftalato (plastificante)	4%	6%	8%
Etanol (disolvente)	25 ml	25 ml	25ml					Etanol (disolvente)	25mL	25mL	25mL

6.4 Preparación de las películas impermeables

6.4.1 La preparación de la película correspondiente a la formulación 1 se explica en el punto No. 7.7.2 Preparación de la película adhesiva

6.4.2 Preparación de la película correspondiente a la formulación 2

1. Se pesó en un vaso de precipitados de 100mL la cantidad correspondiente de quitosán para cada nivel de concentración.
2. Se añadieron 50mL de una solución de ácido acético al 2%.
3. Se dejó disolver en una parrilla calentando la solución.
4. Una vez obtenida una solución traslúcida y homogénea se vertió a moldes circulares y se dejó secar a temperatura ambiente por aproximadamente una semana.

6.4.3 Preparación de la película correspondiente a la formulación 3

1. Se pesó 1 g de etilcelulosa en un vaso de precipitados de 100mL.
2. Se añadió al vaso el volumen correspondiente a cada concentración de dibutil ftalato.
3. Finalmente, se añadieron 25mL de etanol, se dejó disolver bajo agitación mecánica a una temperatura de 70°C.
4. Una vez obtenida una solución translúcida y homogénea esta solución fue vertida en un molde de teflón y se dejó secar por un día a temperatura ambiente.

A continuación, en la Tabla 9 se muestran las formulaciones establecidas para la película adhesiva.

Tabla 9. Formulaciones establecidas para la película adhesiva.

Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Alginato de sodio 0.2% (polímero formador de película)	Triacetina 4% (plastificante)	Grenetina Bloom 280 15g (formador de película)
Triacetina 2% v/v (plastificante)	Eudragit 100 SR 6% (polímero que impone las propiedades adhesivas)	Ácido acético 30mL al 3% (disolvente, cuando es combinado con la grenetina impone propiedades de bioadhesión)
Agua 25ml (disolvente)	Etanol 25ml (disolvente)	-

6.5 Preparación de las películas adhesivas

6.5.1 Preparación de la película correspondiente a la formulación 1

1. Se pesaron 0.05g de alginato de sodio en un vaso de precipitados de 50mL.
2. Se añadieron al vaso 25mL de agua destilada y se dejó homogenizar a una temperatura de 75°C hasta la obtención de una solución homogénea.
3. Finalmente se añadieron 0.5mL de Triacetina y se dejó incorporar por 7 minutos.

- Una vez incorporada la mezcla, esta fue vertida sobre un molde de teflón y se dejó secar a temperatura ambiente por 3 días.

6.5.2 La preparación de la película correspondiente a la formulación 2 se explica en el punto No. 6.7.2 Preparación de la película adhesiva

6.5.3 Preparación de la película correspondiente a la formulación 3

- Se preparó la solución de ácido acético al 3%, se midió el volumen correspondiente de ácido acético con una pipeta graduada, el volumen se colocó en un matraz volumétrico de 100 ml el cual contenía 50ml de agua destilada, la adición se llevó a cabo en la campana y de forma lenta.
- Se llevó a volumen con agua desionizada y se homogenizó.
- Se pesaron 15 g de grenetina Bloom 280 en un vaso de precipitados de 150mL.
- Se añadieron al mismo vaso 30 mL de la solución de ácido acético, se homogenizó a una temperatura de 60°C en agitación mecánica hasta la obtención de una mezcla translúcida y homogénea.

En la Tabla 10, se presenta la formulación establecida para la manufactura de las microagujas.

Tabla 10. Formulación establecida para las microagujas poliméricas biodegradables.

Componente	Porcentaje (p/v)	Función	
Alcohol polivinílico	0.5%	Formador de matriz	Componentes formadores de microagujas biodegradables
Grenetina Bloom 280	4%	Formador de película (impone propiedades de dureza)	

6.6 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA BASE DEL PARCHE TRANSDÉRMICO UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI

6.6.1 Diseño de experimentos

Para la optimización de la formulación se estableció un diseño de experimentos multifactorial, en donde se establecieron dos factores a tres niveles, Factor 1: Porcentaje de glicerina, niveles: 15%, 20% y 25%. Factor 2: Porcentaje de Alginato de sodio, niveles: 0.5%, 1% y 1.5%, los demás componentes de la formulación permanecieron en cantidades constantes. Se obtuvieron 27 formulaciones dentro del diseño y se evaluó la resistencia a la ruptura de cada una de ellas para llevar a cabo la optimización del parche transdérmico.

6.6.2 Preparación de la base del parche transdérmico

- Se pesó cada uno de los componentes en una balanza analítica adecuada.
- Se añadieron 15mL de agua destilada al vaso de precipitados donde se pesaron los 0.125 g de alcohol polivinílico (PVA) y se solubilizó hasta llegar a una T de 95°C aproximadamente hasta obtener una solución homogénea libre de precipitados. (Solución A)

3. Se añadieron 10 mL de agua destilada al vaso de precipitados en donde se pesó 1 g de grenetina Bloom 280, se solubilizó con barra magnética y calentamiento hasta su completa disolución. (Solución B)
4. La solución B se añadió al vaso de precipitados que contenía la cantidad correspondiente de glicerina y 0.25g de tween 80 y se mantuvo en agitación constante y calentamiento a 90°C. (Solución C)
5. Posteriormente se añadió a la solución C la solución A (en agitación y calentamiento constantes).
6. Finalmente se añadió a la mezcla anterior la cantidad correspondiente de alginato de sodio.
7. Se continuó la agitación a una T de 90 ° C hasta la obtención de una mezcla homogénea.
8. Se dejó enfriar hasta llegar a una temperatura de entre 25 y 35°C.
9. Se vertió la solución en un molde de teflón y se dejó enfriar a temperatura ambiente por 2 días.

6.6.3 Prueba de resistencia a la ruptura

1. Se realizó un corte de área del parche para poder realizar el análisis en el texturómetro, como se indica en la Ilustración 26.
 2. El parche se colocó y ajustó en las pinzas, sólo los extremos del parche.
 3. Posteriormente se ajustó la altura para tensar un poco el parche, como se muestra en la ilustración 27.
 4. Finalmente se inició la prueba, se obtuvo el gráfico y se registró el resultado.
- Condiciones de la prueba:
Valor meta: 100 mm
Carga de activación: 6.8 g
Velocidad del test: 0.50 mm/seg



Ilustración 26. Corte realizado al parche transdérmico.



Ilustración 27. Prueba de resistencia a la ruptura.

6.6.4 Resultados esperados para la prueba de resistencia a la ruptura

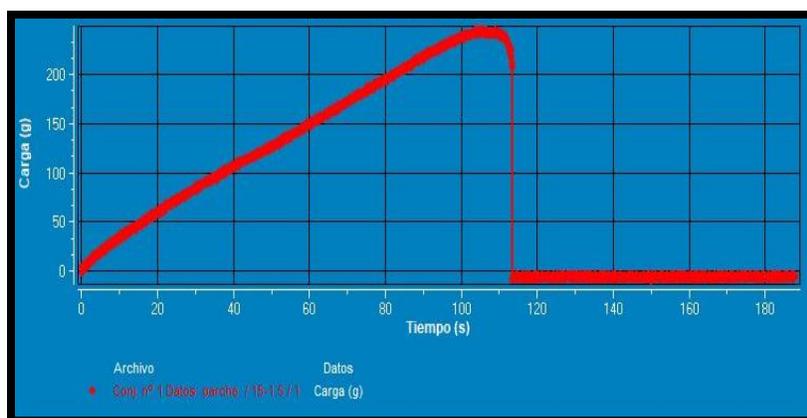


Gráfico 1. Resistencia a la ruptura de la base del parche transdérmico: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (seg).

El Gráfico 1 indica el punto máximo de resistencia de la base del parche, la prueba consiste en el registro de la fuerza del parche conforme este es estirado por dos pinzas que lo sujetan, cuando el parche se rompe el valor de resistencia baja hasta cero, por lo que el punto máximo alcanzado en el gráfico es el valor más alto de la resistencia a la ruptura del parche.

6.7 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LA PELÍCULA ADHESIVA DEL PARCHÉ UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI

6.7.1 Diseño de experimentos

Para la optimización de la formulación se estableció un diseño de experimentos multifactorial, en donde se establecieron dos factores a tres niveles, Factor 1: Porcentaje de Eudragit RS 100, niveles: 4%, 8% y 12%. Factor 2: Porcentaje de Triacetina, niveles: 3%, 6% y 9%. Se obtuvieron 27 formulaciones dentro del diseño y se evaluó la respuesta bioadhesión y bioadhesión posthumectación de cada una de ellas para llevar a cabo la optimización.

6.7.2 Preparación de la película adhesiva

1. Se pesaron en una balanza analítica adecuada las cantidades correspondientes de Eudragit RS 100 en un vaso de precipitados de 100mL.
2. Se midió el volumen correspondiente de Triacetina empleando una pipeta graduada de 10mL y se agregó al vaso de precipitados.
3. Posteriormente se añadió al mismo vaso 25mL de etanol, se cubrió el vaso y se dejó disolver bajo agitación mecánica a una temperatura de 70°C.
4. Dejar enfriar la solución por 7 minutos.
5. La solución fue colocada sobre el parche transdérmico óptimo mediante el uso de un gotero hasta cubrir completamente la superficie del parche.
6. Finalmente se dejó secar el parche por un día.

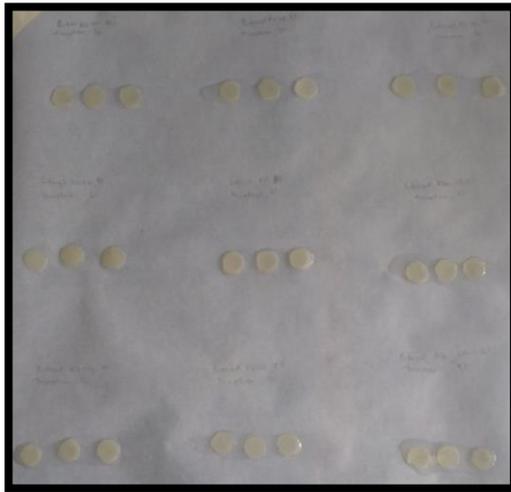


Ilustración 28. Películas del parche cortadas en círculos y recubiertas con la solución adhesiva para la formación de la película adhesiva.

6.7.3 Prueba de bioadhesión

1. Se cortó un círculo del parche de la medida del cilindro utilizado para el ensayo (ver Ilustración 28).
2. Se ajusta el cilindro en el equipo y se le coloca en la base de este una cinta adhesiva.
3. El parche se coloca sobre el antebrazo del voluntario (ver Ilustración 29).
4. Se inició la prueba, se obtuvo el grafico y se registró el resultado. Condiciones de la prueba:
 Valor meta: 4 mm
 Carga de activación: 6.8 g
 Velocidad del test: 1.50 mm/seg

6.7.4 Prueba de bioadhesión posthumectación

1. Se cortó un círculo del parche de la medida del cilindro utilizado para el ensayo.
2. Se ajusta el cilindro en el equipo y se le coloca en la base de este una cinta adhesiva.
3. El parche se coloca sobre el antebrazo del voluntario como se observa en la Ilustración 29, previamente humectado con agua.
4. Finalmente se inició la prueba. Condiciones de la prueba:
 Valor meta: 4 mm
 Carga de activación: 6.8 g
 Velocidad del test: 1.50 mm/seg



Ilustración 29. Prueba de bioadhesión en voluntario.

Formulación, pruebas y optimización realizadas en colaboración con el tesista Carlos Ernesto Cuenca Galván.

6.7.5 Resultados esperados para la prueba de bioadhesión

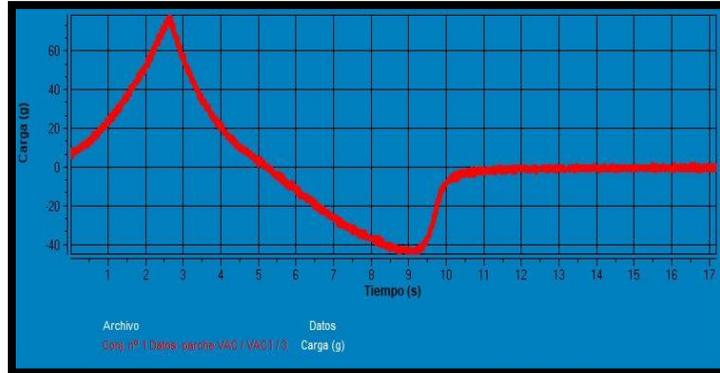


Gráfico 2. Bioadhesión del parche: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (s).

En el Gráfico 2, se representa el comportamiento de la fuerza de adhesión del parche, esta es identificada por la formación de una curva negativa en el gráfico, la prueba consiste en colocar una cinta adhesiva en el aditamento, cuando este hace el primer contacto con el parche colocado en la piel, se forma el primer pico de la curva, una vez alcanzada la distancia máxima de descenso el cilindro vuelve a subir, la base del parche queda adherida al cilindro y la cara inferior adherida a la piel, por lo tanto cuando sube el cilindro y el parche aún no se desprende de la piel se genera una contrafuerza (fuerza de adhesión) la cual es representada por la curva negativa.

6.8 PREPARACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DE LAS MICROAGUJAS POLIMÉRICAS BIODEGRADABLES UTILIZANDO STATGRAPHICS CENTURION XVI

6.8.1 Diseño de experimentos

Para la optimización de la formulación se estableció un diseño de experimentos multifactorial, en donde se establecieron dos factores a tres niveles, Factor 1: Porcentaje de Gnetina Bloom 280, niveles: 2%,4% y 6%. Factor 2: Porcentaje de Alcohol polivinílico, niveles: 0.1%, 0.55% y 1%. Se obtuvieron 27 formulaciones dentro del diseño y se evaluó la dureza de cada una de ellas para llevar a cabo la optimización.

6.8.2 Preparación de las microagujas poliméricas biodegradables

1. Se pesó la cantidad correspondiente de Alcohol polivinílico en un vaso de precipitados.
2. Se agregaron 25mL de agua destilada y se disolvió por agitación mecánica a una temperatura de 90°C tapando el vaso con un vidrio de reloj para evitar la evaporación del agua.
3. Una vez disuelto el Alcohol polivinílico se agregó la cantidad correspondiente de Gnetina Bloom 280 a la solución.

4. Se añadieron 10mL de agua destilada a y se mantuvo en agitación mecánica a la misma temperatura.
5. Una vez formada la solución traslúcida esta fue colocada en un molde de teflón y fue colocado en un refrigerador a una temperatura de 4°C por un tiempo de 35 minutos.
6. Posteriormente se retiró la capa solidificada con una espátula y se cortó un cuadrado de 5cmX5cm
7. Se colocó la película encima del molde para microagujas, en la Ilustración 30 se muestra proceso de manufactura de las microagujas.



Ilustración 30. Esquema del proceso de manufactura utilizado para la manufactura de las microagujas poliméricas huecas.

8. Una vez seco el arreglo de microagujas este fue desmoldado.
9. Finalmente se procedió a recortar el molde, obteniendo una medida final de 3cm por cada lado.

6.8.3 Propuesta del molde para microagujas

El desarrollo del molde para microagujas se realizó en colaboración con el tesista Carlos Ernesto Cuenca Galván. Se propuso desarrollar este molde debido a que los moldes de plástico no son funcionales para la formación de las microagujas huecas, la formulación tiende a adherirse en este tipo de moldes provocando que al momento del desmoldado el arreglo polimérico se quiebre, por otra parte los moldes de plástico flexible no fueron funcionales debido a que debido a la viscosidad de la solución polimérica estos no se llenan completamente, por lo que el resultado de esto es la obtención de arreglos con película polimérica muy delgada y microagujas incompletas. Al utilizar microagujas metálicas desmoldables, papel encerado y base de aluminio se evita que la formulación se adhiera evitando su quebrantamiento, por otra parte, el desmoldado evita que las microagujas puedan romperse y salir incompletas.

6.8.4 Prueba de dureza

- Se cortó del arreglo una microaguja y esta fue colocada sobre la base.
- Se colocó el cilindro metálico para la prueba en el equipo como se muestra en la Ilustración 31.
- Se inició la prueba, se obtuvo el grafico y se registró el resultado. Condiciones de la prueba:
Valor meta: 1 mm
Carga de activación: 5 g
Velocidad del test: 1.50 mm/seg



Ilustración 31. Prueba de dureza de las microagujas.

6.8.5 Resultados esperados para la prueba de dureza

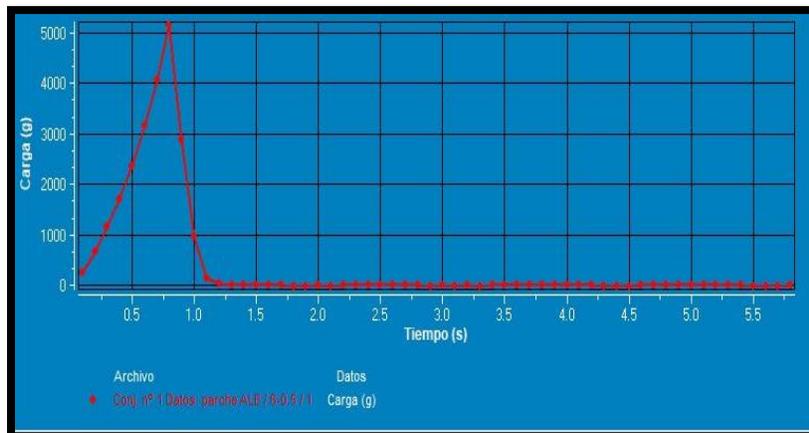


Gráfico 3. Dureza: Pico de carga (g.f) vs Tiempo (s).

En el Gráfico 3, se representa la dureza de una microaguja, el punto máximo alcanzado en el gráfico es el valor de dureza máximo. El aditamento baja hasta hacer contacto con la microaguja, cuando el aditamento baja hasta quebrar la punta de la microaguja se registra el punto máximo, una vez detectada esa fuerza de quebrantamiento el aditamento sube y la fuerza decae hasta llegar a cero.

6.9 Estudio de la liberación del fármaco

1. Utilizando el compartimento dador de la celda de difusión, se adhirió a la base de este el arreglo de microagujas poliméricas huecas, esto utilizando pegamento de secado instantáneo y silicón. Se dejó secar por un día completo antes de realizar la prueba.
2. Una vez seco, se colocó una capa de parafilm en los bordes para evitar la posible filtración del reservorio.
3. Con ayuda de ligas, se sostuvo el compartimento en vasos de precipitados de 50mL, para evitar que el arreglo tocará la barra magnética durante el estudio. Se montaron 5 sistemas (1 blanco y 4 muestras) y fueron colocados en una parrilla.
4. Una vez logrado el ensamblado se colocó una barra magnética en el vaso y 10mL de buffer de fosfatos (pH 7.4 a 37°C). Posteriormente se colocó en el compartimento dador con 1mL de reservorio (solución de alendronato de sodio) y se cubrió la parte superior del compartimento con parafilm. (ver Ilustración 32)
5. Se sumergió el compartimento en el buffer cuidando de no tocar la barra magnética, se programó la parrilla a 50rpm y 37°C.
6. La cuantificación se llevó a cabo por valoración ácido base realizando la corrección de volúmenes entre blanco y muestra (ver ANEXO 1). Se tomó todo el volumen del sistema (los 10mL) y se valoró, el volumen se tomó en intervalos de 10 minutos y se llevó a cabo la reposición de este adicionando 10mL de buffer.
7. Se graficó la cantidad de fármaco liberada en función del tiempo.

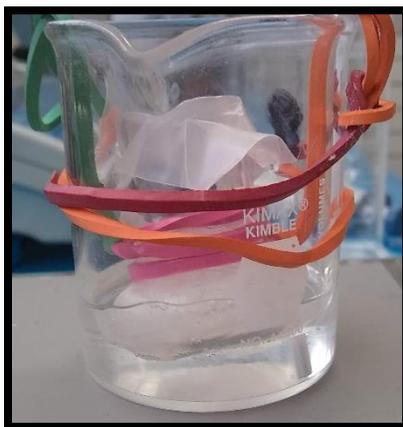


Ilustración 32. Sistema propuesto para el estudio de liberación.

6.10 Estudio *in vitro* de absorción percutánea

6.10.1 Tratamiento de la piel

1. Se cortaron trozos cuadrados de 16cm² de piel abdominal humana previamente limpia.
2. Se almacenaron a -20°C para su posterior uso.

6.10.2 Estudio *in vitro* mediante el uso de celdas de difusión verticales tipo Franz

1. En el interior de la celda del compartimento receptor se colocó una barra magnética y sobre este compartimento se colocó la piel.
2. Posteriormente se colocó el parche sobre la piel y se acopló el compartimento donador.
3. Ambos compartimentos fueron ajustados empleando moldes metálicos para unir ambos compartimentos.
4. Se procedió a llenar el compartimento receptor con buffer de fosfatos pH 7.43 a 37°C mediante el uso de una jeringa de 5mL.
5. El procedimiento anterior se llevó a cabo para seis sistemas y un blanco, el tiempo de estudio se inició cuando todos los sistemas se colocaron en agitación simultánea a una velocidad de 50 rpm empleando una multiparrilla.
6. Para cada muestreo se tomó todo el volumen de la celda en intervalos de dos horas durante 32 horas, el volumen fue recuperado con buffer a la misma temperatura.
7. Se cuantificó alendronato de sodio para cada una de las muestras mediante valoración ácido base realizando la corrección de volúmenes entre blanco y muestra (ver ANEXO 1).
8. Las muestras y el blanco fueron muestreados y la valoración se llevó a cabo para ambos en los tiempos de muestreo correspondientes.
9. Las cantidades acumuladas de fármaco por centímetro cuadrado de piel se graficaron en función del tiempo para obtener los perfiles y los parámetros correspondientes al estudio de difusión.

6.10.3 Calculo de las constantes biofarmacéuticas

- Tiempo de latencia

El cálculo de este parámetro se llevó a cabo mediante la obtención de la ecuación de la línea recta utilizando los últimos seis puntos del perfil de permeación en piel. Se despejó "X" y se sustituyó como cero en la propiedad "Y" de esa manera se obtiene el valor del tiempo de latencia en horas.

- Flujo J

El valor de esta constante fue obtenido de la misma manera, mediante la ecuación de la línea recta, donde "m" es el valor de la pendiente de la recta y esta representa el flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 * \text{h}$)

- Constante de permeabilidad

Este parámetro se obtuvo mediante la división del flujo J entre la cantidad de fármaco contenida en el parche transdérmico.

6.11 Micrografías de las microagujas

1. Se cortó del arreglo de microagujas 1 de las 16 microagujas (muestra).
2. Se colocó la muestra en un recipiente y se colocó en el quipo DESK V DENTONVACUUM (ver Ilustración 33) para la su preparación, esto consiste en el recubrimiento por pulverización por bombeo molecular turbo, este proceso está

diseñado para muestras de microscopía de alta resolución. Las condiciones del proceso fueron las siguientes:

- Punto de ajuste para la pulverización (0-100 mAmps): 7 mAmps
 - Tiempo del proceso: 300 segundos.
3. Una vez terminado el proceso de recubrimiento por pulverización, la muestra fue colocada sobre un porta muestras cilíndrico y fue colocada en los compartimentos del microscopio.
 4. Se visualizaron las muestras en el microscopio electrónico de barrido JMS-6010LA InToucheScope (ver Ilustración 34)
 5. Se tomaron dos micrografías de la muestra a diferentes aumentos: 50X y 100X



Ilustración 33. Equipo DESK V DENTONVACUUM.



Ilustración 34. Microscopio electrónico de barrido JMS-6010LA InToucheScope.

7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

7.1 Resultados obtenidos para las pruebas de caracterización de la solución reservorio

Tabla 11. Caracterización del reservorio: solución de alendronato de sodio.

Número de muestra	pH	Viscosidad	Gravedad específica
1	5.11	24cP	1.0246
2	5.12	24cP	1.0254
3	5.11	22cP	1.0291
4	5.10	22cP	1.0247
5	5.11	25cP	1.0286
Promedio	5.11	23.4cP	1.02648

Tabla 12. Datos obtenidos para el cálculo de la gravedad específica.

Peso del picnómetro vacío	50.5405g				
Peso del picnómetro con agua destilada	62.1580g				
Peso del picnómetro con muestra	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5
	62.4448g	62.4536g	62.4965g	62.4454g	62.4913g

En primera instancia se realizó la formulación del reservorio del parche, este se compone de Pluronic F-127 como vehículo, propilenglicol como conservador y promotor químico de la permeación y por alendronato de sodio. El valor de pH promedio obtenido (ver tabla 11) es óptimo debido a que el valor se encuentra dentro del rango de pH cutáneo, el cual varía entre 4.5 y 5.9 en la superficie y depende en gran parte del contenido de ácido láctico y ácido urocánico provenientes del sudor, aminoácidos dicarboxílicos (glutámico-aspartico) y ácidos grasos libres de bajo peso molecular (propiónico, butírico y pentanoico); estos últimos son sólo un pequeño factor ya que son muy poco solubles en agua. Se encuentran diferentes niveles de pH según la zona medida, pero en promedio, se considera 4.85 para los hombres y 5 para las mujeres. (Orlandi, 2004), por lo tanto, al tener un pH ligeramente ácido la solución al contacto con la piel no produciría irritación dérmica.

Tabla 13 Resultados obtenidos en la prueba de contenido químico.

Número de prueba	Volumen de valorante gastado en la valoración	Volumen corregido	Porcentaje recuperado de Alendronato de sodio.
1	2.9mL	2.7mL	98.17%
2	3mL	2.8mL	101.87%
3	2.9mL	2.7mL	98.17%
4	2.95mL	2.75mL	99.88%
5	2.9mL	2.7mL	98.17%
6	3mL	2.8mL	101.87%
7	2.7mL	2.5mL	89.63%
8	2.7mL	2.5mL	89.63%

9	2.8mL	2.6mL	93.21%
10	2.7mL	2.5mL	89.63%
Promedio			96.023%

Volumen del blanco: 0.2mL

En la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos se especifica que el contenido químico para parches transdérmicos debe ubicarse entre el 85 y 115% de contenido químico, esto aplica tanto a sistemas matriciales como a sistemas tipo reservorio. Esto es importante debido a que en la uniformidad de contenido debe asegurarse que los lotes producidos contengan la cantidad de fármaco indicada en la especificación.

7.2 Resultados obtenidos para cada una de las formulaciones para las películas del parche transdérmico.

Tabla 14. Formulaciones establecidas para la película impermeable y observaciones (Resultados).

Formulación 1	F 1	F2	F3	Formulación n 2	F 1	F 2	F 3	Formulación 3	F1	F2	F3
Triacetina	2%	4%	6%	Quitosa 5%	2.5%	3.5%	4.5%	Etilcelulosa	4%	4%	4%
Eudragit 100 SR	4%	6%	8%	Ácido acético 50ml	2%	2%	2%	Dibutil ftalato	4%	6%	8%
Etanol	25 ml	25 ml	25 ml	Observaciones: Buenas propiedades mecánicas			Etanol	25mL	25mL	25mL	
Observaciones: Muy buenas propiedades de bioadhesión							Observaciones: Buenas propiedades de resistencia.				

Tabla 15. Formulaciones establecidas para la película adhesiva y observaciones (Resultados).

Formulación 1	Formulación 2	Formulación 3
Alginato de sodio 0.2% p/v	Triacetina 4% v/v	Grenetina bloom 280 15g
Triacetina 2% v/v	Eudragit 100 SR 6% p/v	Ácido acético 30mL al 3%
Agua 25ml	Etanol 25ml	Observaciones:
Observaciones: Malas propiedades de bioadhesión.	Observaciones: Buenas propiedades de bioadhesión y resistencia. La película conserva sus propiedades de bioadhesión cuando se deja a temperatura ambiente por un día sin el uso de un protector.	Buenas propiedades de bioadhesión. La película pierde las propiedades de bioadhesión cuando se deja expuesta a temperatura ambiente provocando que esta se plastifique.

Como puede verse en la Tabla 14, la película que mostró mejores propiedades fue la correspondiente a la formulación 1, debido a que tiene buenas propiedades de

resistencia, impermeabilidad y adhesión, esto se observó en cada uno de los niveles de la formulación, sin embargo, gracias a sus propiedades de adhesión esta fue considerada para la formulación de la película adhesiva del parche (ver Tabla 15). Por otra parte, la formulación 2 tuvo buenas propiedades de resistencia sin embargo esta producía dificultades para adherirse a la base del parche, finalmente la película de la formulación 3 mostró buenas propiedades de resistencia y adhesión a la base del parche al igual que por su flexibilidad esta podría cubrir la base del parche sin dificultad alguna.

Con respecto a las películas desarrolladas para la formación de la capa adhesiva, en la Tabla 15, se indica que la formulación con mejores propiedades de bioadhesión fue la formulación 2 es por ello que esta película fue considerada para optimización por medio de un diseño de experimentos multifactorial empleando como programa Statgraphics Centurion XVI.

7.3 Análisis de optimización de la formulación para la base del parche transdérmico por el programa Statgraphics Centurion XVI

Se obtuvieron los resultados de cada una de las formulaciones establecidas en el diseño de experimento para la evaluación de la resistencia a la ruptura del parche transdérmico (ver Tabla 16).

Tabla 16. Resultados de la caracterización de resistencia a la ruptura para cada una de las formulaciones del diseño de experimentos.

Formulación	Porcentaje (p/v) de Glicerina	Porcentaje (p/v) de Alginato de sodio	Resistencia a la ruptura pico de carga (g.f)	Formulación	Porcentaje (p/v) de Glicerina	Porcentaje (p/v) de Alginato de sodio	Resistencia a la ruptura pico de carga (g.f)
1	15	0.5	105	15	25	1	93.5
2	20	0.5	197	16	15	1.5	386.5
3	25	0.5	105	17	20	1.5	147
4	15	1	360	18	25	1.5	107
5	20	1	150.5	19	15	0.5	219.5
6	25	1	114.5	20	20	0.5	143
7	15	1.5	246	21	25	0.5	118
8	20	1.5	95.5	22	15	1	241.5
9	25	1.5	153	23	20	1	119.5
10	15	0.5	225	24	25	1	129.5
11	20	0.5	126	25	15	1.5	285
12	25	0.5	74	26	20	1.5	120
13	15	1	304.5	27	25	1.5	124.5
14	20	1	150.5	-	-	-	-

Análisis de Varianza para Resistencia a la ruptura

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Porcentaje de glicerina	101851.	1	101851.	38.74	0.0000
B: Porcentaje de alginato de sodio	6883.56	1	6883.56	2.62	0.1221

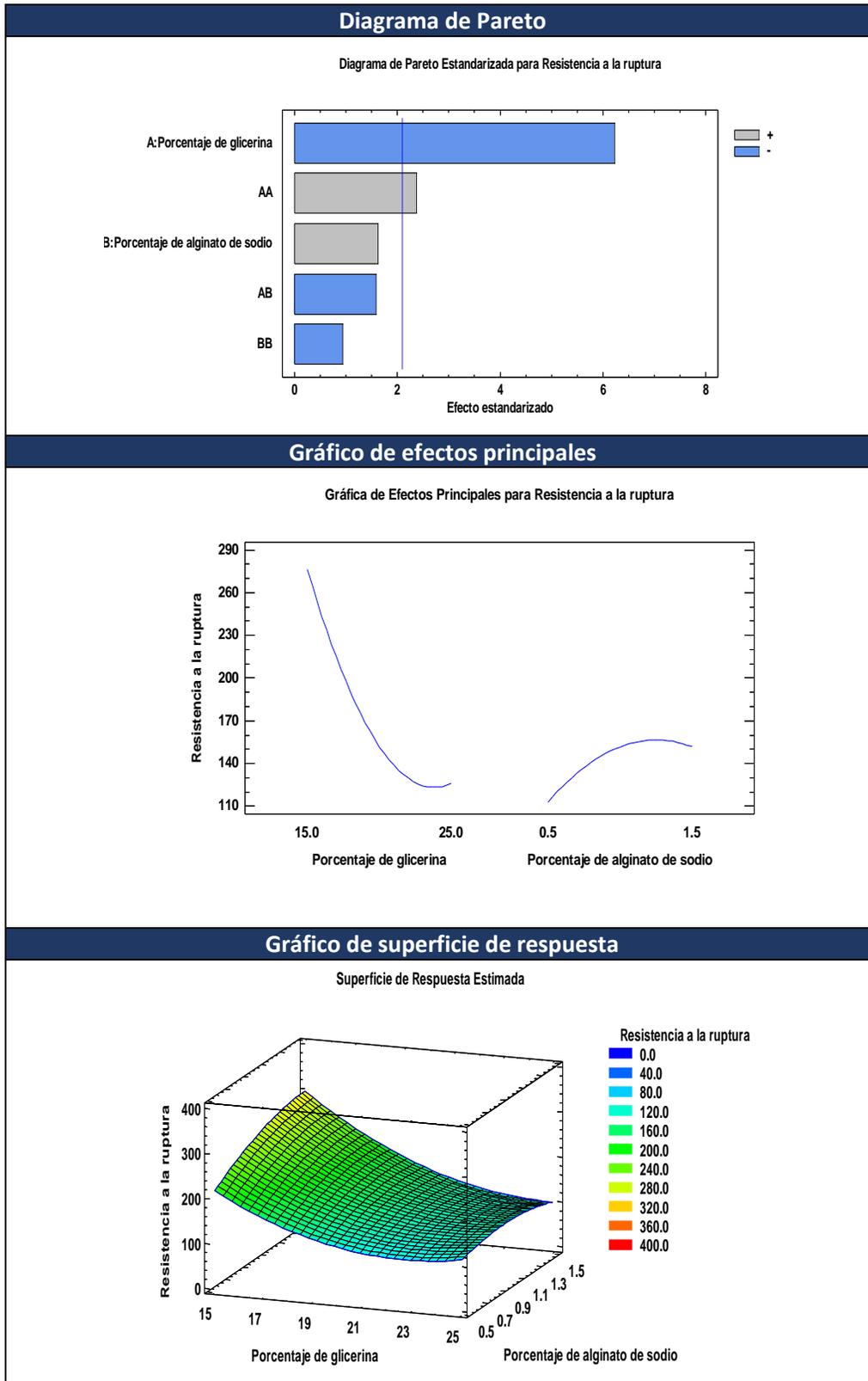
AA	14800.7	1	14800.7	5.63	0.0284
AB	6556.69	1	6556.69	2.49	0.1308
BB	2281.5	1	2281.5	0.87	0.3632
bloques	785.722	2	392.861	0.15	0.8622
Error total	49950.6	19	2628.98		
Total (corr.)	183110.	26			

R-cuadrada = 72.7209 por ciento
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 62.6707 por ciento
Error estándar del est. = 51.2736
Error absoluto medio = 31.6852
Estadístico Durbin-Watson = 2.30584 (P=0.5602)
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.274602

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Resistencia a la ruptura en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 72.7209% de la variabilidad en Resistencia a la ruptura. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 62.6707%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 51.2736. El error medio absoluto (MAE) de 31.6852 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 17. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la base del parche.



En la Tabla 17, se muestran los gráficos y diagramas obtenidos en la optimización. En el diagrama de Pareto se puede observar el comportamiento de los componentes evaluados, la glicerina tiene un efecto negativo sobre la respuesta (resistencia a la ruptura) es decir, cuando esta aumenta en proporción tiende a disminuir el valor de la respuesta y como puede observarse en el diagrama, sobrepasa la línea de criticidad por lo tanto el efecto de la disminución en la resistencia a la ruptura es significativo. Por otra parte el alginato de sodio tiene un impacto positivo, y tiende a aumentar el valor de la respuesta. En el diagrama de efectos principales se puede observar que la glicerina en una concentración de 15% p/p aumenta el valor de respuesta en conjunto con el alginato de sodio a una concentración de 1.5%. En el diagrama de superficie de respuesta se puede observar que en proporciones de 15% para glicerina y 1.5% de alginato de sodio la resistencia a la ruptura es mayor, basándose este análisis en las áreas definidas a los valores de respuesta estimada. El alginato de sodio forma películas solubles en agua, estas películas son impermeables a la grasa y ceras, pero permiten que el vapor de agua pase a través de ellas, son quebradizas cuando están secas, pero pueden ser plastificadas con glicerina (Avendaño, López & Palou, 2013), la glicerina al ser una molécula hidrofílica favorece la adsorción-desorción de las moléculas de agua (Rodríguez, 2006) y mejora en gran medida la flexibilidad y elasticidad de películas. (Dutta, Tripathi, Mehrotra & Dutta, 2009). Es por ello que estos fueron los factores seleccionados por relacionarse en mayor parte en lo que refiere a la resistencia del parche, entre mayor sea la resistencia del parche, mayor es su durabilidad en el tiempo de uso.

Tabla 18. Formulación óptima para la base del parche.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Porcentaje de glicerina	15.0	25.0	15.0
Porcentaje de alginato de sodio	0.5	1.5	1.5

En la Tabla 18, se muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Resistencia a la ruptura sobre la región indicada en el gráfico de superficie de respuesta. En la Tabla 19, se presentan los valores finales de resistencia a la ruptura del parche óptimo y en la Ilustración 35 se muestra la apariencia final de la película óptima de la base del parche.

Tabla 19. Caracterización de la película de la base del parche óptima.

Número de muestra	Valor de resistencia pico de carga (g)
1	790
2	738.5
3	846
4	848.5
5	815
Promedio	807.6



Ilustración 35. Película óptima para la base del parche.

7.4 Análisis de optimización de la formulación para película adhesiva por el programa Statgraphics Centurion XVI

Tabla 20. Resultados obtenidos para la prueba de bioadhesión y bioadhesión posthumectación de la película adhesiva.

Formulación	Porcentaje (p/v) de Eudragit RS100	Porcentaje (v/v) de Triacetina	Bioadhesión pico de carga (g.f)	Bioadhesión posthumectación pico de carga (g.f)	Formulación	Porcentaje (p/v) de Eudragit RS100	Porcentaje (v/v) de Triacetina	Bioadhesión pico de carga (g.f)	Bioadhesión posthumectación pico de carga (g.f)
1	4	3	66.5	19.5	15	12	6	32.5	14.5
2	8	3	13	23.5	16	4	9	10	22
3	12	3	12	12.5	17	8	9	45	26.5
4	4	6	30	40	18	12	9	60	45
5	8	6	54.5	25	19	4	3	29.5	21
6	12	6	24.5	19	20	8	3	9.5	12.5
7	4	9	18.5	20.5	21	12	3	8.5	0
8	8	9	52	43.5	22	4	6	25	30.5
9	12	9	59	59.5	23	8	6	58.5	20.5
10	4	3	37	25	24	12	6	29	31
11	8	3	9.5	11.5	25	4	9	14	22.5
12	12	3	12.5	4	26	8	9	31	46
13	4	6	23.5	33.5	27	12	9	45	32
14	8	6	59.5	30.5	-				

Análisis de varianza para bioadhesión

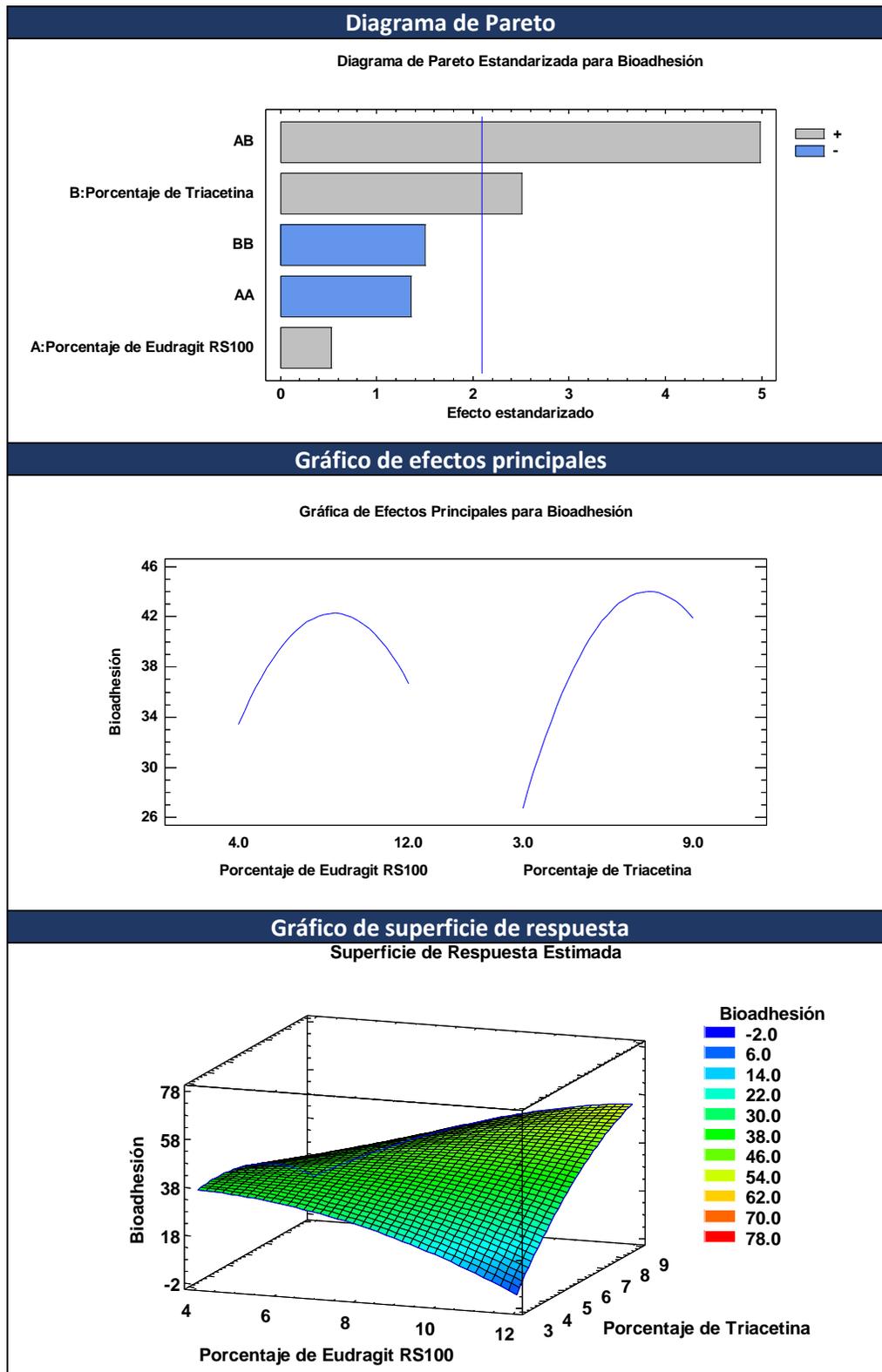
Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Porcentaje de Eudragit RS100	46.7222	1	46.7222	0.28	0.6002
B: Porcentaje de Triacetina	1035.12	1	1035.12	6.30	0.0213
AA	303.407	1	303.407	1.85	0.1902
AB	4088.52	1	4088.52	24.87	0.0001
BB	370.782	1	370.782	2.26	0.1496
bloques	355.574	2	177.787	1.08	0.3591
Error total	3124.0	19	164.421		
Total (corr.)	9324.13	26			

R-cuadrada = 66.4956 por ciento
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 58.5183 por ciento
Error estándar del est. = 12.8227
Error absoluto medio = 8.47016
Estadístico Durbin-Watson = 2.79163 (P=0.9180)
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.505117

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Bioadhesión en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 66.4956% de la variabilidad en Bioadhesión. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 58.5183%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 12.8227. El error medio absoluto (MAE) de 8.47016 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 21. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la película adhesiva (bioadhesión).



En la Tabla 21, en el diagrama de Pareto se observa que la interacción entre Triacetina y Eudragit RS100 tiene un impacto significativo que aumenta el valor de la respuesta, el comportamiento de la Triacetina también maximiza su valor de forma significativa. En el gráfico de efectos principales se observa que el valor de la respuesta es mayor cuando se emplean porcentajes de 12% y 9% de Eudragit RS100 y Triacetina respectivamente, el comportamiento de la formulación sobre el valor de la respuesta fue determinado por los diagramas de superficie de respuesta, en donde finalmente se concluye que los niveles mencionados anteriormente son los óptimos para la formulación.

Tabla 22. Formulación óptima de la película adhesiva de la base del parche (Bioadhesión).

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Porcentaje de Eudragit RS100	4.0	12.0	12.0
Porcentaje de Triacetina	3.0	9.0	9.0

En la Tabla 22, se muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Bioadhesión sobre la región indicada en el gráfico de superficie de respuesta.

Análisis de varianza para bioadhesión posthumectación

Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Porcentaje de Eudragit RS100	11.5802	1	11.5802	0.17	0.6823
B: Porcentaje de Triacetina	1772.9	1	1772.9	26.49	0.0001
AA+bloque	11.2887	1	11.2887	0.17	0.6861
AB	1039.16	1	1039.16	15.53	0.0010
BB+bloque	28.8686	1	28.8686	0.43	0.5196
bloques	167.741	2	83.8704	1.25	0.3093
Error total	1204.61	18	66.9227		
Total (corr.)	3938.51	25			

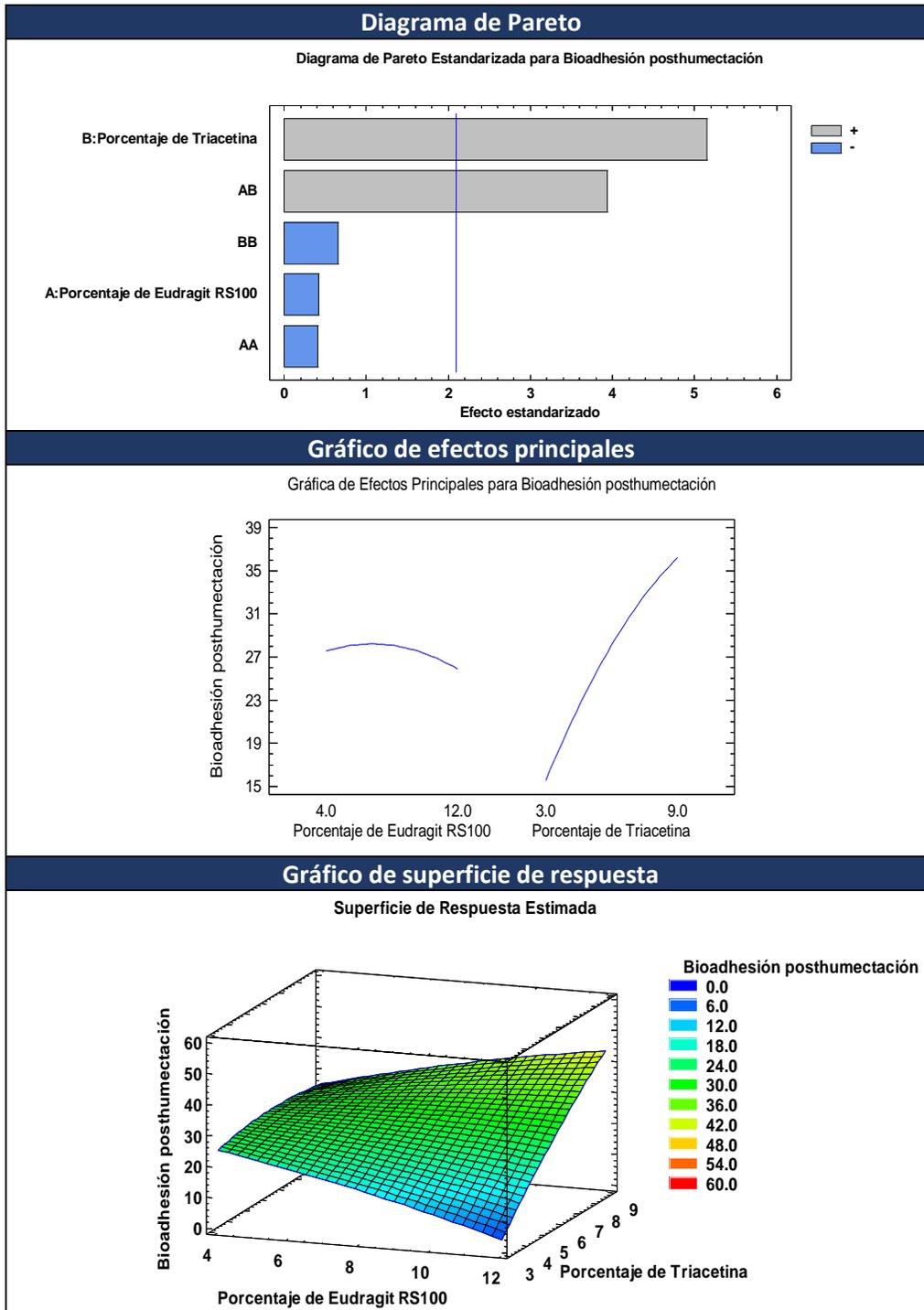
R-cuadrada = 69.4146 por ciento
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 61.7683 por ciento
Error estándar del est. = 8.18063
Error absoluto medio = 5.97051
Estadístico Durbin-Watson = 1.91486 (P=0.1229)
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.0350905

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Bioadhesión posthumectación en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 69.4146% de la variabilidad en Bioadhesión posthumectación. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 61.7683%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 8.18063. El error medio absoluto (MAE) de 5.97051 es el valor promedio de

los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 23. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de la película adhesiva (bioadhesión posthumectación).



En la Tabla 23, se muestran los gráficos y diagramas obtenidos en la optimización. La prueba de bioadhesión posthumectación tiene como objetivo evaluar la fuerza de bioadhesión del parche simulando una condición fisiológica de la piel, en este caso se simula el sudor o humedad, debido a que la piel transpira es necesario determinar los niveles óptimos para asegurar que el parche mantenga valores de bioadhesión altos frente a esta condición. En el diagrama de Pareto se observa que la interacción entre Triacetina y Eudragit RS100 tiene un impacto significativo que aumenta el valor de la respuesta, el comportamiento de la Triacetina también tiene un impacto significativo positivo. En el gráfico de efectos principales la respuesta se ve maximizada en los niveles de 12% y 9% de Eudragit RS100 y Triacetina respectivamente. En los gráficos de superficie de respuesta se muestra el comportamiento de la bioadhesión posthumectación en función de los niveles de ambos factores y sus combinaciones, se observa que los valores de la respuesta aumentan en las regiones donde se ubican los valores de los niveles anteriormente mencionados por lo tanto estos son considerados como óptimos para la formulación.

El Eudragit RS100 es un copolímero de acrilato de etilo y metacrilato de metilo, estos componentes son empleados para la preparación de películas adhesivas sensibles a la presión, la combinación de este componente con la Triacetina (plastificante) forma una película uniforme, resistente y bioadhesiva. Los adhesivos sensibles a la presión diseñados para los sistemas transdérmicos deben proveer fuerza cohesiva, compatibilidad con el fármaco, tolerancia a los potenciadores de permeación, potenciación de la liberación de la fármaco, estabilidad y seguridad durante el tiempo de aplicación apropiado (horas a semanas), adaptación a las condiciones de la piel (humedad, temperatura, estiramiento mecánico), formato estético (tamaño y forma). (Allevato, 2007)

Los plastificantes producen un aumento del volumen libre de la estructura polimérica y de la movilidad molecular de los polímeros, disminuyendo la razón entre la región cristalina y la región amorfa, y disminuyendo la temperatura de transición vítrea. Estos cambios llevan a disminuir la fragilidad de las películas, a incrementar la flexibilidad, la dureza y la resistencia al impacto, y a prevenir la aparición de grietas durante el embalaje y el transporte (Palma, 2016), por lo que su uso en la fabricación de parches transdérmicos es primordial, ya que proporciona propiedades de resistencia y flexibilidad a las películas poliméricas.

Tabla 24. Formulación óptima de la película adhesiva de la base del parche (Bioadhesión posthumectación).

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Porcentaje de Eudragit RS100	4.0	12.0	12.0
Porcentaje de Triacetina	3.0	9.0	9.0

En la Tabla 24, se muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Bioadhesión posthumectación sobre la región indicada en el gráfico de superficie de respuesta. En la Tabla 25, se presentan los valores finales de bioadhesión y bioadhesión posthumectación para la formulación óptima de la película adhesiva.

Tabla 25. Caracterización de la película de la película adhesiva óptima.

Número de muestra	Valor de bioadhesión pico de carga (g)	Valor de bioadhesión posthumectación pico de carga (g)
1	144.5	92.5
2	115.5	79.5
3	124.5	102
4	81	89
5	78	92.5
Promedio	108.7	91.1

Como parte de la caracterización se realizó la medición del valor de pH de la solución para la formación de la película adhesiva el cual tiene un valor de 5 por lo que se espera que la película adhesiva al contacto con la piel no genere ningún tipo de irritación, debido a que se encuentra dentro del intervalo de variación que va de 4.5 y 5.9

Tabla 26. Prueba de bioadhesión en voluntarios.

Parche	Persona	Imagen obtenida al inicio de la prueba	Calf a las 0 horas Nivel	Calf a las 6 horas	Calf a las 12 horas	Calf a las 24 horas	Imagen obtenida al final de la prueba	Imagen de la piel expuesta al final de la prueba
1	Sujeto 1		0	0	0	0		
2	Sujeto 1		0	0	0	0		
3	Sujeto 1		0	0	0	0		
4	Sujeto 2		0	0	2	2		
5	Sujeto 2		0	0	1	1		
6	Sujeto 2		0	0	0	0		
7	Sujeto 3		0	0	0	0		
8	Sujeto 3		0	1	1	2		
9	Sujeto 3		0	1	1	1		
10	Sujeto 4		0	0	1	1		
11	Sujeto 4		0	1	1	1		
12	Sujeto 4		0	1	1	1		

EVALUACIÓN POR NIVELES:

- 0: > o igual al 90% de adherencia
- 1: > o igual al 75% < de 90% de adherencia
- 2: > o igual a 50% a < de 75% de adherencia
- 3: > o igual a 0 a < de 50% de adherencia
- 4: Parche completamente despegado

Con base en los resultados obtenidos podemos decir que al término de 24 horas el parche sigue conservando sus propiedades de bioadhesión ya que en ninguno de los voluntarios se desprendió durante el tiempo de estudio (ver Tabla 26), por otra parte ningún voluntario mostró tener irritación al final de la prueba, esta prueba indicada en la Guía de estudios: *Intercambiabilidad de medicamentos genéricos en presentación de parches transdérmicos de acción sistémica* es importante debido a que el parche es evaluado bajo las actividades diarias del voluntario, con el fin de determinar si sus propiedades de bioadhesión son las adecuadas bajo estas condiciones y con ello asegurar que la administración sea continua.

7.5 Análisis de optimización de la formulación para las microagujas por el programa Statgraphics Centurion XVI

En la Tabla 27, se presentan los valores de dureza obtenidos en la optimización.

Tabla 27. Resultados obtenidos para la prueba de dureza.

Formulación	Porcentaje (p/v) de Alcohol Polivinílico	Porcentaje (p/v) de Grenetina bloom 280	Dureza pico de carga (g.f)	Formulación	Porcentaje (p/v) de Alcohol Polivinílico	Porcentaje (p/v) de Grenetina bloom 280	Dureza pico de carga (g.f)
1	0.1	2	362.5	15	1	4	298
2	0.55	2	448.5	16	0.1	6	1190
3	1	2	1425	17	0.55	6	4069
4	0.1	4	956	18	1	6	585
5	0.55	4	590	19	0.1	2	97.5
6	1	4	488	20	0.55	2	462.5
7	0.1	6	596	21	1	2	654
8	0.55	6	2750	22	0.1	4	837
9	1	6	343	23	0.55	4	238.5
10	0.1	2	47.5	24	1	4	172.5
11	0.55	2	450	25	0.1	6	972
12	1	2	279	26	0.55	6	3605
13	0.1	4	875	27	1	6	191
14	0.55	4	299	-	-	-	-

Análisis de Varianza para Dureza

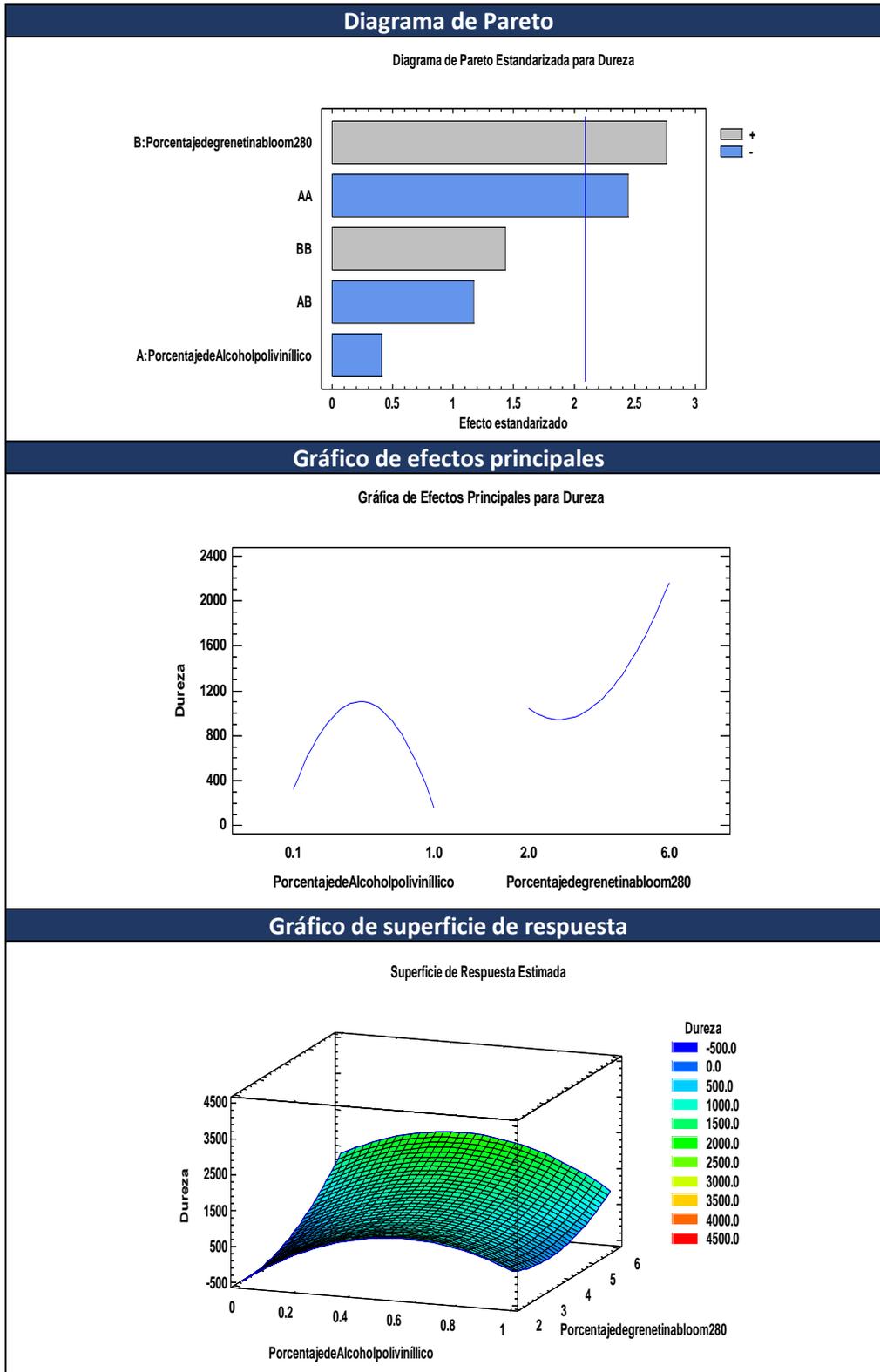
Fuente	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A: Porcentaje de Alcohol polivinílico	124667.	1	124667.	0.17	0.6857
B: Porcentaje de gres en tinta m280	5.63864E6	1	5.63864E6	7.64	0.0124
AA	4.42385E6	1	4.42385E6	5.99	0.0242
AB	1.01472E6	1	1.01472E6	1.37	0.2555
BB	1.50651E6	1	1.50651E6	2.04	0.1693
bloques	47895.2	2	23947.6	0.03	0.9681
Error total	1.40245E7	19	738130.		
Total (corr.)	2.67807E7	26			

R-cuadrada = 47.6323 por ciento
R-cuadrada (ajustada por g.l.) = 28.3389 por ciento
Error estándar del est. = 859.145
Error absoluto medio = 594.68
Estadístico Durbin-Watson = 2.95803 (P=0.9684)
Autocorrelación residual de Lag 1 = -0.500185

La tabla ANOVA particiona la variabilidad de Dureza en piezas separadas para cada uno de los efectos, entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen un valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 47.6323% de la variabilidad en Dureza. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 28.3389%. El error estándar del estimado muestra que la desviación estándar de los residuos es 859.145. El error medio absoluto (MAE) de 594.68 es el valor promedio de los residuos. El estadístico de Durbin-Watson (DW) prueba los residuos para determinar si hay alguna correlación significativa basada en el orden en que se presentan los datos en el archivo. Puesto que el valor-P es mayor que 5.0%, no hay indicación de autocorrelación serial en los residuos con un nivel de significancia del 5.0%.

Tabla 28. Diagramas y gráficos obtenidos para el análisis de optimización de las microagujas.



En la Tabla 28, se muestran los gráficos y diagramas obtenidos en la optimización. En el diagrama de Pareto se observa que la grenetina Bloom 280 tiene un impacto significativo sobre el valor de la dureza de las microagujas debido a que si aumenta el porcentaje aumenta el valor de la dureza, por otra parte, el efecto del alcohol polivinílico también es significativo, sin embargo el aumento de su porcentaje provoca una disminución en el valor de la dureza de las microagujas. En el gráfico de efectos principales se observa que en un porcentaje de 0.45% de alcohol polivinílico se alcanza un valor de dureza máximo, mientras que para la grenetina, empleando un porcentaje del 6% se alcanza el valor de dureza máximo, esto también se observa en el gráfico de superficie de respuesta, debido a que las áreas de maximización de dureza engloban los porcentajes anteriormente mencionados, por lo tanto se concluye que los valores óptimos para la formulación de microagujas son los mencionados anteriormente. Las dimensiones promedio de las microagujas varían de entre 2 y 3mm. El valor de dureza para las microagujas debe ser lo más alto posible para asegurar su capacidad para atravesar el estrato córneo.

Tabla 29. Formulación óptima para las microagujas.

<i>Factor</i>	<i>Bajo</i>	<i>Alto</i>	<i>Óptimo</i>
Porcentaje de Alcohol polivinílico	0.1	1.0	0.450377
Porcentaje de grenetina bloom 280	2.0	6.0	6.0

En la Tabla 29 se muestra la combinación de los niveles de los factores, la cual maximiza Dureza sobre la región indicada en el gráfico de superficie de respuesta. En la Tabla 30 se muestran los valores finales de dureza obtenidos para la formulación óptima.

Tabla 30. Caracterización de las microagujas poliméricas (formulación óptima).

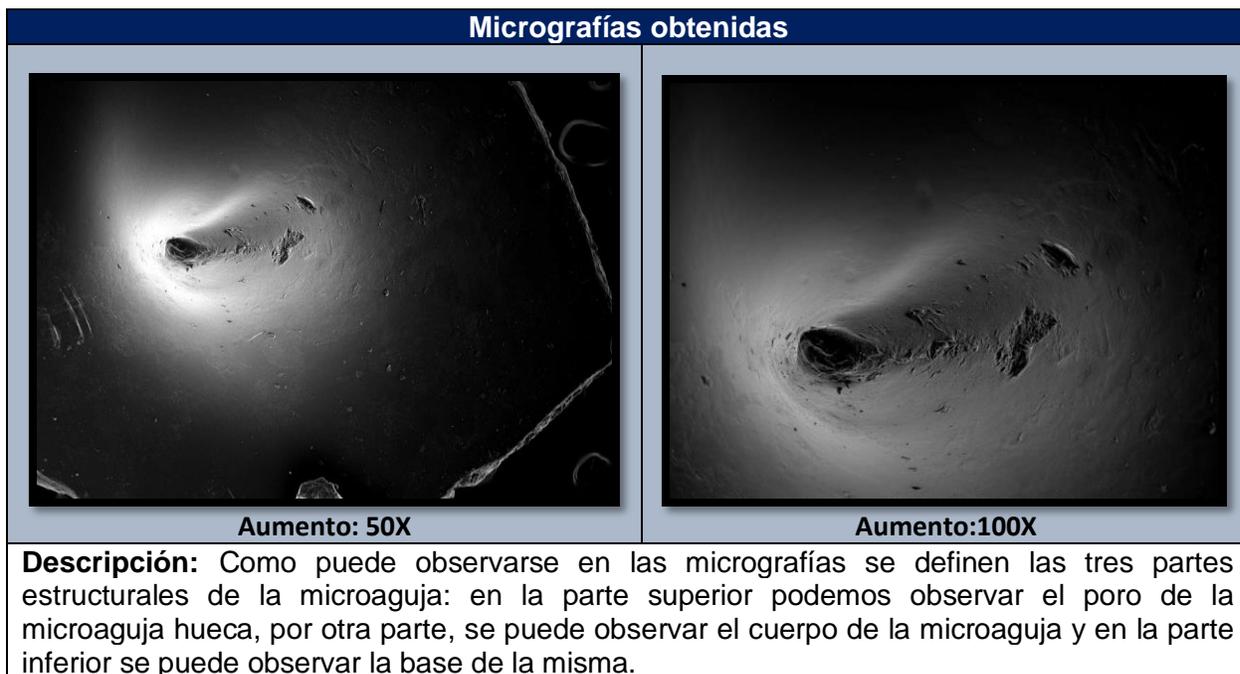
Número de muestra	Valor de dureza pico de carga (g.f)	Dimensiones (longitud en mm)
1	3002	2mm
2	3594.5	2mm
3	3659.5	2mm
4	3165.5	3mm
5	3853	3mm
Promedio	3454.9	2.4mm

En la Ilustración 36 podemos observar la apariencia del arreglo de microagujas y en la tabla 31 se presenta la descripción morfológica de las microagujas vistas al microscopio electrónico de barrido.



Ilustración 36. Microagujas poliméricas biodegradables huecas, a) vista frontal. b) vista superior.

Tabla 31. Caracterización morfológica de las microagujas por la técnica de microscopía electrónica de barrido.



7.6 Ensamblado de la forma farmacéutica final

El ensamblado final de la forma farmacéutica se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Se colocó la película impermeable sobre ambos lados del parche transdérmico de tal forma que lo cubra completamente, su adhesión se llevó a cabo con silicón frío.
2. Posteriormente el arreglo de microagujas de 3cm se colocó en el centro del parche, se colocó silicón frío para ensamblar solamente 3 lados del arreglo.
3. Finalmente se colocaron gotas de la solución adhesiva hasta cubrir el área libre del arreglo de microagujas hasta cubrirla en su totalidad.
4. Se dejó secar el parche por aproximadamente 1 día.
5. Una vez seco el parche se colocó 1mL de la solución farmacéutica de alendronato de sodio por la parte abierta del arreglo de microagujas.
6. Una vez incorporada la solución de alendronato de sodio se procedió a sellar el último lado del arreglo con silicón frío y se dejó secar por 1 hora. (ver Ilustración 37)

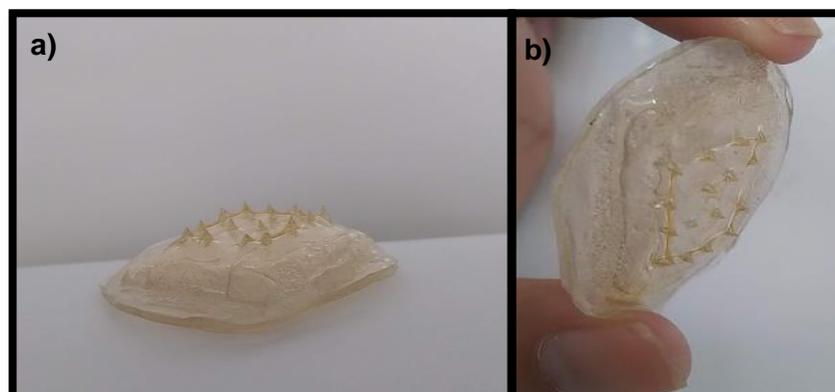




Ilustración 37. Presentación de la forma farmacéutica final a) Vista superior, b) Vista frontal, c) Vista inferior. (Grosor: 1.11mm, Área:12.56 cm^2)

7.7 Resultados obtenidos en el estudio de liberación *in vitro* de alendronato de sodio en el parche tipo reservorio

Los estudios de liberación se realizan a los medicamentos con la finalidad de describir el comportamiento de la forma farmacéutica mediante la determinación de la cantidad de fármaco que llega al medio de disolución, esto evaluado por intervalos de tiempo, es de suma importancia evaluar la liberación puesto que la absorción del fármaco depende en gran parte de su disolución en el medio, en este caso el fármaco ya se encuentra disuelto en el vehículo, lo cual representa una gran ventaja en comparación a las formas farmacéuticas sólidas en donde el fármaco no se encuentra disuelto, sin embargo la liberación está relacionada en gran parte a la naturaleza de la matriz polimérica de las microagujas, en el Gráfico 4 se observa el perfil de liberación obtenido en este estudio.

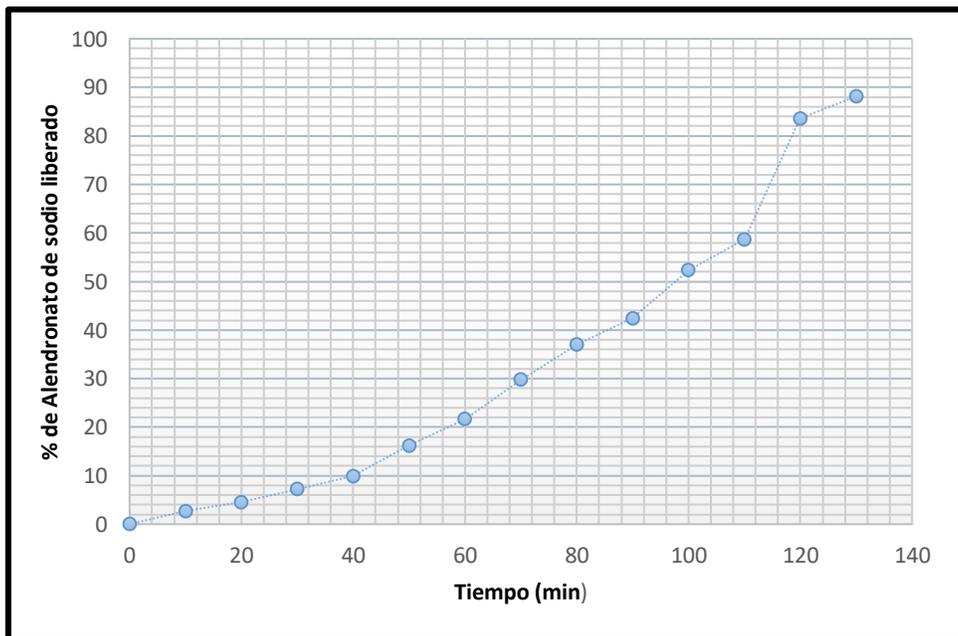


Gráfico 4. Perfil de liberación: % de Alendronato de sodio vs Tiempo (min).

El perfil de liberación fue evaluado hasta la liberación del 88.14% en un tiempo de 130 minutos de la liberación del fármaco debido a que la membrana de las microagujas se degrada con forme pasa el tiempo, por lo que en este caso no es posible llevar a cabo el

ajuste para los modelos de liberación, debido a que en el estudio solamente se pudo determinar el 88.14% de la liberación del fármaco. Sin embargo, como puede observarse en el gráfico 4, la relación entre tiempo y porcentaje de liberación es directamente proporcional. Por lo general, en los dispositivos tipo reservorio la liberación depende en gran medida del espesor y el área de la membrana, así como de la permeabilidad del agente activo a través del polímero. Cuando el reservorio interno contiene una solución saturada del agente activo el equilibrio que se establece en la interfase de la membrana hace que el gradiente de concentración (ΔC) sea constante y, por lo que la liberación podría explicarse como un fenómeno de orden cero. Por lo general, estos dispositivos contienen la solución saturada y un exceso de agente activo en estado sólido para mantener la saturación por un mayor tiempo. (Ishizawa & Nakamatsu, 2002)

7.8 Resultados obtenidos en el estudio *in vitro* de absorción percutánea

Tabla 32. Resultados de los estudios *in vitro* de absorción percutánea.

Tiempo (hrs)	Cantidad acumulada (μg)	Cantidad acumulada por área de piel expuesta ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
2	10.4	4.58
4	33.4	14.71
6	123.3	54.32
24	397.3	175.03
25	414.1	182.43
26	445.4	196.22
27	468.4	206.36
28	483.1	212.83
29	497.3	219.09
30	520.3	229.22
31	568.4	250.41
32	598.1	263.50

Como puede verse en la Tabla 32 a un tiempo de 24 horas se absorben 397 μg correspondientes a 0.397mg de alendronato de sodio, esto representa una mejora en la biodisponibilidad debido a que por vía oral se absorbe menos del 1% de la dosis, lo que corresponde aproximadamente a menos de 0.1mg de alendronato. Con esta alternativa se puede aumentar la biodisponibilidad en un 3.9% con respecto a la vía oral. Este fármaco al ser clasificado como fármaco de gran potencia terapéutica requiere de dosis pequeñas para llevar a cabo el efecto farmacológico. Para el cálculo de la cantidad acumulada por cm^2 de piel expuesta, se calculó el área de exposición de la piel en función del área de contacto determinada por el diámetro de la celda de difusión, el cual tuvo un valor de 1.7cm, este valor se dividió entre 2 para obtener el valor del radio, posteriormente para obtener el área, el valor del radio se elevó al cuadrado y se multiplicó por π , el área obtenida fue de 2.2698 cm^2 , finalmente se dividió el valor de μg acumulados entre el valor del área de exposición. Se graficaron los datos de la Tabla 32 correspondientes a la cantidad acumulada por área de piel expuesta y al tiempo en horas para obtener el perfil de permeación (ver Gráfico 5). Los puntos azules del gráfico representan el estado no estacionario explicado por la segunda ley de Fick y los puntos rojos son explicados por la primera ley de Fick que hace referencia al estado estacionario de difusión.

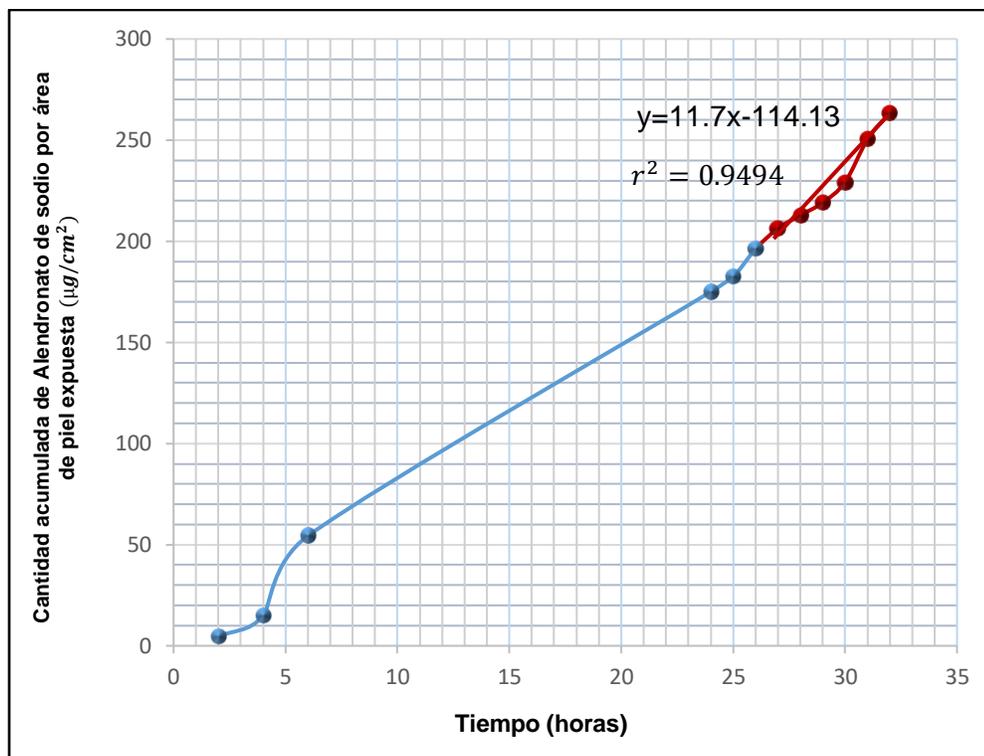


Gráfico 5. Perfil de permeación Cantidad acumulada de alendronato de sodio por área de piel expuesta ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) vs Tiempo (horas).

Tabla. 33 Valores obtenidos para las constantes biofarmacéuticas.

Tiempo de latencia (h)	Flujo ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 * \text{h}$)	Constante de permeabilidad ($\text{cm}^2 * \text{h}$)
9.75	11.7	1.6478×10^{-3}

El tiempo de latencia esta relacionado con el tiempo necesario para que la distribución por difusión del fármaco desde las capas mas externas hacia las más internas de la piel sea invariable, alcanzando el equilibrio y el estado estacionario en el cual la relación concentración y tiempo se mantiene constante. El flujo de fármaco que atraviesa la piel indica la cantidad de fármaco que atraviesa por unidad de superficie de piel y tiempo. (Soler, 2006).

De acuerdo al valor de flujo obtenido, se entregaría una cantidad aproximada de 10.11 mg de alendronato de sodio en 24 horas con un arreglo de microagujas y parche reservorio de un área de 6 cm X 6 cm (área total de 36cm^2) a través de la piel. Este sistema, puede ser cargado con un volumen mayor de solución farmacéutica de alendronato de sodio para prolongar su liberación durante varios días y evitar tomas de alendronato por vía oral que generan severos problemas a nivel esofágico.

Calculo de para la determinación de las dimensiones del parche:

$$0.0117\text{mg}/\text{cm}^2 * \text{h} (24\text{hrs}) = 0.2808\text{mg}/\text{cm}^2 \text{ de alendronato de sodio son entregados en 24 horas}$$

$$0.2808\text{mg}/\text{cm}^2 * (36\text{cm}^2) = 10.11\text{mg de alendronato son entregados en 24 horas con este valor de área}$$



Ilustración 38. Apariencia del parche transdérmico posterior al estudio de permeación in vitro.

En la Ilustración 38 puede observarse la parte central expuesta a la piel durante el estudio de permeación, la estructura de la membrana de microagujas se fue degradando durante el tiempo de estudio, los polímeros biodegradables ofrecen esta ventaja ya que la primer función de las microagujas es perforar el estrato córneo para permitir el paso del vehículo con el fármaco, una vez perforado el estrato córneo, las microagujas se van disolviendo, este fenómeno está relacionado con la cantidad de agua presente en la piel, la temperatura corporal (37°C), las propiedades hidrofílicas del vehículo y con la naturaleza de los polímeros biodegradables, algunas estructuras a base de hidrogel son capaces de regular la liberación de fármacos en respuesta a estímulos externos de naturaleza física, química y biológica (Escalona & Quintanar, 2014), se ha reportado que el alcohol polivinílico (polímero sintético) y la grenetina (polímero natural) son utilizados para preparar matrices de microagujas formadoras de hidrogel. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

En este caso, la reticulación para la formación de la matriz formadora de hidrogel se lleva a cabo entre estos dos polímeros. Los hidrogeles son redes tridimensionales reticuladas producidas por una reacción de uno o más monómeros o mediante la asociación de polímeros a través de puentes de hidrógeno o por interacciones electrostáticas. Los polímeros formadores de hidrogeles típicamente contienen grupos hidrofílicos tales como: -OH, -COOH, NH₂, -CONH₂, -CONH-, -SO₃H. (Escalona & Quintanar, 2014)

Se ha demostrado que la separación de la microaguja en la piel esta mediada por el hinchamiento del hidrogel en respuesta al contacto con el fluido corporal después de que las agujas son insertadas en la piel. Las partículas de hidrogel absorben el agua rápidamente, lo que provoca su agrietamiento debido a la diferencia en la expansión del volumen entre el polímero de matriz de la microaguja y las partículas de hidrogel (ver Ilustración 39).

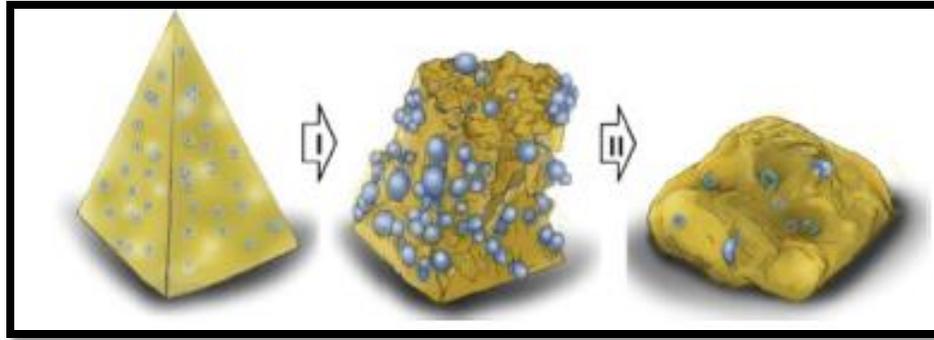


Ilustración 39. Mecanismo de separación y disolución de la microaguja mediada por el hinchamiento del hidrogel (Hong, Wei, Wu, Wu, Chen, Liu & Yuan, 2013).

Un estudio previo demostró la posibilidad de uso de estas microagujas biodegradables como un sustituto fácil para el paciente con respecto a los métodos convencionales de liberación sostenida. Sin embargo, estas microagujas deben insertarse y permanecer en la piel durante varios días para utilizar la propiedad de degradación del polímero biodegradable con eficacia. (Hong, Wei, Wu, Wu, Chen, Liu & Yuan, 2013)

Las matrices de microagujas formadoras de hidrogel se han utilizado para administrar dosis clínicamente relevantes de una sustancia farmacológica de alta potencia y dosis bajas.

Los estudios realizados con matrices de microagujas formadoras de hidrogel muestran su capacidad para mejorar el suministro percutáneo de una amplia variedad de moléculas, como los pequeños fármacos hidrófilos, tal es el caso del alendronato de sodio al ser una molécula de bajo peso molecular y alta solubilidad. (Larrañeta, Lutton, Woolfson & Donnelly, 2016)

8. CONCLUSIONES

- Se desarrolló un parche transdérmico tipo reservorio acoplado a microagujas huecas poliméricas biodegradables cargadas con una solución reservorio de alendronato de sodio para crear un medicamento innovador para el tratamiento de osteoporosis.
- Se formuló la solución reservorio del parche la cual fue caracterizada, obteniendo un valor de pH de 5.11, 2.4cP de viscosidad y 1.02648 de gravedad específica.
- Por otra parte, cada uno de los componentes del parche fueron optimizados, obteniendo valores promedio de resistencia a la ruptura de 807.6 g.f (pico de carga), valores de bioadhesión 108.7 g.f (pico de carga) y bioadhesión posthumectación 91.1 g.f (pico de carga). Las microagujas obtuvieron un valor de dureza promedio de 3454.9 g.f (pico de carga).
- Se formularon películas impermeables para la base del parche, con la finalidad de seleccionar la que posea mejores propiedades de resistencia.
- Se realizó un estudio de liberación en donde se liberó el 88.14% del fármaco en 130 minutos, se determinó un comportamiento directamente proporcional, por lo tanto, este fenómeno puede ser explicado por un modelo de orden cero, el cual es aplicable a sistemas reservorios.

- Se determinó el valor de cada constante biofarmacéutica obteniendo los siguientes valores: tiempo de latencia: 9.75 horas, flujo: $11.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2 * \text{h}$ y un valor de constante de permeabilidad (Kp) de $1.6478 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 * \text{h}$.
- Se establece que el área del arreglo de microagujas y el parche reservorio sea de 6cm X 6cm (área de 36cm^2) debido a que bajo estas dimensiones y con base al valor del flujo obtenido, el parche entregaría aproximadamente 10.11mg de alendronato de sodio en 24 horas al ser cargado con un volumen mayor de solución farmacéutica de alendronato de sodio, prolongando su liberación y evitando tomas de alendronato por vía oral que generan severos problemas a nivel esofágico.

9. PERSPECTIVAS

- Estandarizar la técnica de fabricación de microagujas propuesta.
- Aumentar la solubilidad del alendronato de sodio en la solución farmacéutica para aumentar la capacidad de carga en el reservorio.
- Realizar estudios de estabilidad de la solución farmacéutica de alendronato de sodio a diferentes condiciones de temperatura, humedad e iluminación para evaluar su tiempo de vida.
- Desarrollar una formulación que controle la velocidad de degradación del arreglo de microagujas y de esta manera aumentar el tiempo de vida del parche transdérmico.
- Realizar estudios *in vivo* en ratas Wistar para evaluar la eficacia del medicamento y realizar una comparación entre la vía oral y esta alternativa con el fin de evaluar la biodisponibilidad *in vivo* y las reacciones adversas, por otra parte, también se propone realizar pruebas clínicas en seres humanos para beneficio de la salud de la población.

10. REFERENCIAS

- 1) Abizanda, M., Carbonell, C. y Trigueros, J. (2004). Guía de buena práctica clínica en osteoporosis. Organización Médica Colegial de España. Editorial International Marketing & Communications, S.A.
- 2) Akomeah F. and Nazir T. Effect of heat on the percutaneous absorption and skin retention of three model penetrants. Eur J Pharm Sci. 2004; 21: 337-345.
- 3) Aleixandre, A. & Puerro, M. (2005). Capítulo 1 Absorción y Distribución de los Fármacos, Farmacología edición 17. Médica Panamericana.
- 4) Allevato, M. (2007). Sistemas terapéuticos transdérmicos. Act Terap Dermatol 2007
- 5) Álvarez, R., Mendoza, F., Torre, F., Callejo, A. & Arizaga, A. (2014). Actualización en el tratamiento de la osteoporosis. Manejo desde una unidad del dolor (1.ª parte). Rev Soc Esp Dolor 2014; 21(6): 328-337.
- 6) Aquino, A., Ojeda, A., Colman, N., Yinde, Y., Acosta, M.E., Acosta Colmán, I. & Duarte, M. (2013). Déficit de vitamina D en pacientes post-menopáusicas y su relación con el metabolismo fosfocálcico y la osteoporosis. Departamento de Reumatología, Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción. Paraguay. Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud, Vol. 9(1) Junio 2013: 39-44.

- 7) Ariza, A. (2004). Sistemas transdérmicos: influencia del tipo de membrana en la transferencia del ácido salicílico a través de la piel. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- 8) Avendaño, G.C., López, A. & Palou, E. (2013). Propiedades del alginato y aplicaciones en alimentos. Temas selectos de ingeniería e alimentos. Departamento de ingeniería química, Alimentos y Ambiental. Universidad de la Américas Puebla.
- 9) Barry, B.W. (1983). *Methods for studying percutaneous absorption*. Dermatological Formulations. Barry, BW. (Ed.). Marcel Dekker, New York, pp. 234-295 (1983).
- 10) Bonet, R. & Garrote, A. (2015). Farmacia abierta, parches medicamentosos. Farmacia profesional Vol. 29, Núm. 5, septiembre-octubre 2015.
- 11) Calatayud, M. A. (2013). Tesis Doctoral Estudio de la absorción transdérmica de fármacos para la migraña. Universidad Cardenal Herrera.pdf.
- 12) Clarí, A. (2004). Tesis Doctoral Estudios "in vitro" e "in vivo" de la absorción percutánea de la bemiparina: métodos de valoración. Universidad de Valencia. Pdf.
- 13) Caron D, Queille-Roussel C, Shah VP, Schaefer H. Correlation between the drug penetration and the blanching effect of topically applied hydrocortisone creams in human beings. J Am Acad of Dermatol. 1990; 23: 458-462.
- 14) Carretero, M. (2002). Alendronato sódico. Offarm Elsevier. Vol. 21. Núm. 11. páginas 138-140
- 15) Carretero, M. (2011). Tratamiento de la osteoporosis. Offarm Elsevier. Vol. 30. Núm. 6. páginas 7-80.
- 16) Diario Oficial de la Federación, proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-049-SSA2-2017, Para la prevención, detección, diagnóstico, tratamiento, control y vigilancia epidemiológica de la osteoporosis. (2017) recuperado de http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5496348&fecha=06/09/2017 el 15 de abril del 2019.
- 17) Donnelly, R., Raj, T. & Woolfson, D. (2010). Microneedle-based drug delivery systems: Microfabrication, drug delivery, and safety. Europe PMC Funders Group Drug Deliv. 2010 May.
- 18) Dueñas, A. (2018). Qué es la osteoporosis (síntomas, diagnóstico y tratamiento): el mayor enemigo de tus huesos. Elsevier.
- 19) Dutta, P., Tripathi, S., Mehrotra, G. & Dutta, J. (2009) Food chemistry Elsevier
- 20) Elaine N. Marieb.2008. Anatomía y fisiología humana 9th edición. Pearson Addison Wesley
- 21) Erviti, J. (2003). Utilización de fármacos para la osteoporosis. Anales Sis San Navarra vol.26 supl.3 Pamplona 2003. Scielo pdf.
- 22) Escalona, O. & Quintanar, D. (2014). Nanogeles poliméricos: una nueva alternativa para la administración de fármacos. Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol 45. Num 3.
- 23) Farmacias San Pablo. (2019). Recuperado el 5 de febrero del 2019.
- 24) FEUM. (2017). Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos recuperado el 11 de mayo del 2019 de <http://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/416.pdf>

- 25) Guía de estudios: Intercambiabilidad de medicamentos genéricos en presentación de parches transdérmicos de acción sistémica. (2015). Consejo de salubridad general.pdf
- 26) Guía de Validación de Métodos Analíticos. (2002). Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C.
- 27) Gupta, V., Yadav, S. K, Dwivedi, A.K. & Gupta, N. (2011). Transdermal drug delivery: Past, present, future trends. International journal of pharmacy & life sciences. v
- 28) Hermoso de Mendoza, M. T. (2003). Clasificación de la osteoporosis. Factores de riesgo. Clínica y diagnóstico diferencial. An. Sist. Saint. Navar. 2003. Vol 26. (Supl 3.) 29-52.
- 29) Hong, X., Wei, L., Wu, F., Wu, Z., Chen, L., Liu, Z. & Yuan, W. (2013). Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine. Drug Design, Development and Therapy 2013:7 945–952
- 30) Hotchkiss SA. Dermal Metabolism, Ed. Marcel Dekker (New York), 1998; p. 43-101.
- 31) Ishizawa, C. & Nakamatsu, J. (2002). Matrices poliméricas para liberación controlada de sustancias activas. Departamento de Ciencias, Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima 32, Perú. Revista de química.
- 32) Kalia YN, Guy RH. Modeling transdermal drug release. Adv Drug Deliv Rev. 2001; 48 (2-3): 159-72.
- 33) Lafita, J., Pineda, J., Fuentes, C. y Martínez, J. (2003). Osteoporosis secundarias. Anales Sis San Navarra vol.26 supl.3 Pamplona 2003. Scielo
- 34) Larrañeta, E., Lutton, Woolfson, D. & Donnelly, R. (2016). Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development. Materials Science and Engineering R 104 (2016) 1–32. ELSEVIER
- 35) Lozano, J. (2003). Osteoporosis. Prevención y Tratamiento. OFFARM. Volumen 22 Num 26 Junio 2003
- 36) Magnusson BM, Walters KA, Roberts, MS. Veterinary drug delivery: potential for skin penetration enhancement. Adv Drug Deliv Rev 2001; 50 (3): 205-227.
- 37) Moreno, J.L. (2012). Innovaciones farmacéuticas para la administración de medicamentos. Tesis Real academia de medicina de la comunidad valenciana.
- 38) Murthy, S., Shivakumar, H. (2010). Topical and Transdermal Drug Delivery. Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems. 1ª. Elsevier, 2010, 1, pp. 1-36.
- 39) OpenStax. (2013). Anatomy and Physiology chapter 5 layers of the skin. Obtenido el 13 de Marzo de 2019 de <https://opentextbc.ca/anatomyandphysiology/>
- 40) Orlandi, M. (2004). Piel sana y manto ácido. Dermatología Cosmética. Folia dermatol. Perú 2004
- 41) Palma, F.J. (2016). Estudio de la interacción entre plastificantes y polímeros formadores de una película comestible mediante la correlación entre sus parámetros espectroscópicos y mecánicos. Pontificia Universidad Católica De Chile. Tesis doctoral.

- 42) Pathan, I. B. & Setty, M. (2009). Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*. 2009, pp. 173-179.
- 43) Pérez, L. (2004). Moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERM). *Revista Española de Reumatología*. Elsevier. Vol. 31. Núm. 1. páginas 1-65
- 44) Pires, A.R. (2013). Sistemas transdérmicos. Universidad De Lusófona De Humanidades Y Tecnologías. Lisboa. tesis de maestría pdf.
- 45) Rabah, E. (2007). Opioides: Nueva ruta de administración transdérmica. Universidad Católica del Norte Coquimbo Chile. Revisiones bibliográficas. *Boletín ACHED* 47 (p:30-34)
- 46) Ramachandran, C. & Fleisher, D. (2000). Transdermal delivery of drugs for the treatment of bone diseases. *Adv. Drug Deliv. Rev.* 2000; 42 (3): 197-223.
- 47) Risk, M., Fernández, M.L. & Marshall, G. (2013). Electropermeabilización de membranas celulares. Depto. de Computación, FCEyN UBA, Instituto Tecnológico de Buenos Aires y CONICET
- 48) Riviere J, Papich M. (2001). Potential and problems of developing transdermal patches for veterinary applications. *Adv Drug Deliv Rev.* 2001; 50: 175-203.
- 49) Rodríguez, M., Osés, J., Ziani, K. & Maté, J. (2006). Combined effect of plasticizers and surfactants on the physical properties of starch based edible films. *Food research international* 2006 v.39 no.8.
- 50) Rojas, A.A. (2017). Avances en tecnología farmacéutica: parches transdérmicos de microagujas. Facultad de farmacia universidad complutense. Madrid. Pdf
- 51) Saladin, K. (2012). Anatomía y Fisiología 6ta edición. Mc Graw Hill Education.
- 52) Santos, B. & Guerrero, M.D. (1994). Administración de medicamentos: teoría y práctica Ediciones Díaz de Santos.
- 53) Schurman, L., Bagur, A., Claus-Hermberg, H., Messina, O.D., Negri, A. & Sánchez, A. (2007). Guías para diagnóstico, prevención y tratamiento de la osteoporosis. *Revista Argentina de Osteología*. Volumen 6. Número 3.
- 54) Serrano, P., Escobar-Chávez, J.J., Rodríguez, I., Melgoza, L. & Martínez, J. (2018). Microneedles as Enhancer of Drug Absorption Through the Skin and Applications in Medicine and Cosmetology. *J Pharm Pharm Sci* (www.cspCanada.org) 21, 73 – 93.
- 55) Sheskey, J., Rowe, R. & Owen, S. (2006). Handbook pharmaceutical excipients. Pharmaceutical press.
- 56) Soler, L. (2006). Desarrollo y evaluación biofarmacéutica de un sistema de administración transdérmica de alprazolam. Universidad de Barcelona.
- 57) Standing, S. (2008). *Gray's Anatomy* 4th edition. Churchill Livingstone. Elsevier
- 58) Suñé, J.M. (2002). Nuevas aportaciones galénicas a las formas de administración. Universidad de Barcelona. Sanired.pdf
- 59) Terán, J. & Teppa, A.D. (2005). Moduladores selectivos de los receptores estrogénicos (SERMs): bioquímica, farmacología y aplicación clínica en ginecología. Artículo de revisión. *Ginecol Obstet Mex* 2005; 73:424-35. *Mediagraphic* Volumen 73, Núm. 8,

- 60) Tortora, G. & Derrickson, B. (2006). Principios de anatomía y fisiología 11va edición. Editorial Médica Panamericana.
- 61) U.S. Census Bureau, International Database. (2011). Recuperado de https://www.iofbonehealth.org/sites/default/files/media/PDFs/Regional%20Audits/2012-Latin_America_Audit-Mexico-ES_0_0.pdf el 19 de febrero del 2019.
- 62) Valdés, M. (2006). Comparación del método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y el método de titulación potenciométrica ácido-base para la cuantificación de alendronato utilizados en el laboratorio nacional de salud. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.
- 63) Vega, A. (2016). Administración de sustancias activas por vía tópica ocular: Principales problemas y cómo la tecnología farmacéutica logra solventarlos. Universidad Complutense Madrid.
- 64) Villarino, N.F. & Landoni, M.F. (2006). Administración transdérmica de fármacos: una alternativa terapéutica. Cátedra de Farmacología. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Plata. La Plata, Buenos Aires, Argentina.pdf
- 65) Woolf, A. & Akesson, A. (2003). Preventing fractures in elderly people. *BMJ* 2003;327(7406):89-95

11. ANEXOS

11.1 ANEXO 1. PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ALENDRONATO DE SODIO POR VALORACIÓN ÁCIDO BASE.

Este protocolo fue realizado de acuerdo a la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.2002.

11.1.1 Procedimiento

11.1.1.2 Condiciones del análisis

El análisis se realizó a temperatura ambiente, la solución valorante de hidróxido de sodio fue previamente estandarizada.

11.1.1.3 Estandarización de la solución valorante de hidróxido de sodio

1. Pesar aproximadamente 0.04g de biftalato de potasio en un matraz Erlenmeyer de 125mL. (esto evita la pérdida de biftalato en el momento del trasvase).
2. Agregar al matraz 25mL de agua desionizada y disolver el biftalato mediante agitación mecánica.
3. Llenar la bureta con la solución valorante de hidróxido de sodio, asegurarse de que no queden burbujas de aire en la punta de esta.
4. Agregar 3 gotas de fenolftaleína al 1% en etanol y realizar la valoración, el punto final de la valoración sucede cuando la solución del matraz se torna de color rosa y esta se mantiene.
5. Registrar el volumen de punto de equivalencia y realizar el cálculo de la molaridad de la solución de hidróxido de la siguiente manera:

$$\text{Molaridad del biftalato} = \frac{\text{g pesados de biftalato}}{25\text{mL de agua desionizada}} \left(\frac{1000\text{mL}}{1\text{L}} \right) \left(\frac{1\text{mol}}{204.23\text{g}} \right) \left(\frac{99.9}{100} \right)$$

$$\begin{aligned} \text{Molaridad de la sol. de hidróxido} \\ = \left(\frac{\text{Molaridad del biftalato} \times \text{Volumen de alícuota}}{\text{Volumen de sol. de hidróxido de sodio gastado}} \right) \end{aligned}$$

El procedimiento anterior se debe realizar por triplicado.

11.1.1.4 Valoración de la solución blanco del sistema

1. Colocar la solución valorante de hidróxido de sodio 0.01M en una bureta de 25mL y verificar que el aire salga por completo para eliminar las burbujas.
2. Medir 5ml de agua desionizada y colocar el volumen a un matraz Erlenmeyer de 125mL.
3. Agregar a la solución del matraz 4 gotas de fenolftaleína al 1%.
4. Mantener en agitación la solución y realizar la valoración, la valoración se detiene hasta que la solución el matraz se torne color rosa.
5. Registrar el volumen de punto de equivalencia.

11.1.1.5 Valoración de la solución blanco del placebo

1. Colocar la solución valorante de hidróxido de sodio 0.01M en una bureta de 25mL y verificar que el aire salga por completo para eliminar las burbujas.
2. Colocar en un matraz Erlenmeyer 1ml del gel.
3. Medir 5ml de agua desionizada y colocar el volumen al matraz.
4. Dejar homogenizar en agitación mecánica por 7 minutos.
5. Agregar a la solución del matraz 3 gotas de fenolftaleína al 1%.
6. Mantener en agitación la solución y realizar la valoración, la valoración se detiene hasta que la solución el matraz se torne color rosa.
7. Registrar el volumen de punto de equivalencia.

11.1.1.6 Valoración de la solución de placebo cargado con alendronato de sodio

1. Colocar la solución valorante de hidróxido de sodio 0.01M en una bureta de 25mL y verificar que el aire salga por completo para eliminar las burbujas.
2. Pesar en un matraz Erlenmeyer 7mg de alendronato de sodio aproximadamente bien conocidos.
3. Colocar en el matraz 1ml de gel y un arreglo de microagujas.
4. Medir 5ml de agua desionizada y colocar el volumen al matraz.
5. Dejar homogenizar en agitación mecánica por 7 minutos.
6. Agregar a la solución del matraz 3 gotas de fenolftaleína al 1%.
7. Mantener en agitación la solución y realizar la valoración, la valoración se detiene hasta que la solución el matraz se torne color rosa.
8. Registrar el volumen de punto de equivalencia.

11.1.1.7 Cálculos para la corrección del volumen

Volumen correspondiente al fármaco = (volumen de la muestra – volumen del placebo)

11.1.1.8 Cálculo para la cuantificación de alendronato de sodio:

$$\frac{\text{volumen coregido (mL)} \times \text{Molaridad del hidróxido de sodio}}{1000} \times \left(\frac{271.09g}{1 \text{ mol}}\right) (1000)$$
$$= \text{mg de alendronato en la solución}$$
$$\% \text{ Obtenido} = \frac{\text{miligramos obtenidos experimentalmente}}{\text{miligramos adicionados}} (100)$$

11.1.1.9 Preparación de la curva de calibración de alendronato de sodio

1. Pesar por separado las siguientes cantidades de alendronato de sodio: 3mg, 5mg, 7mg, 9mg y 11mg, pesar en matraces volumétricos de 125mL.
2. Añadir a cada matraz 5mL de agua desionizada y solubilizar con agitación mecánica.
3. Colocar en cada matraz 4 gotas de fenolftaleína al 1% y realizar la valoración con hidróxido de sodio 0.01M, la valoración de cada solución se detiene cuando la solución se torne de un color rosa.
4. Registrar el volumen de punto de equivalencia.

En este caso se aplicará la siguiente fórmula para la corrección del volumen de punto de equivalencia.

$$\begin{aligned} & \text{Volumen correspondiente al fármaco} \\ & = (\text{volumen de la muestra} - \text{volumen del blanco del sistema}) \end{aligned}$$

- **Componentes de la solución de la muestra:** Alendronato de sodio y agua desionizada.
- **Componentes de la solución blanco:** Agua desionizada.

11.2 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

11.2.1 Linealidad del sistema

Preparar la curva de calibración por triplicado y realizar la valoración bajo las mismas condiciones indicadas en el punto 12.1.1.2.

Determinar el valor de la pendiente (b_1), la ordenada al origen (b_0), el coeficiente de determinación r^2 , y el intervalo de confianza para la pendiente $IC(\beta_1)$.

11.2.2 Precisión del sistema

Pesar 7mg de alendronato de sodio, solubilizar en 5ml de agua desionizada, se añade a la solución 4 gotas de fenolftaleína al 1%, se procede a realizar la valoración con una solución de hidróxido de sodio 0.01M, la valoración se detiene cuando la solución se torne de un color rosa. Registrar el volumen de punto de equivalencia. Realizar el procedimiento anterior por sextuplicado.

Determinar el valor de S y CV% de la respuesta analítica.

11.2.3 Linealidad del método

Preparar por triplicado un placebo cargado equivalente al 100% de la cantidad de analito presente en la muestra, es decir, se añadirá a cada placebo 7mg de alendronato de sodio, solubilizar esta cantidad en 5mL de agua desionizada, finalmente agregar 4 gotas de fenolftaleína al 1% y valorar con una solución de hidróxido de sodio 0.01M, la valoración se detiene cuando la solución se torne de un color rosa. Preparar placebos equivalentes al 80% (5.6mg de alendronato de sodio) y 120% (8.4mg de alendronato de sodio), de igual manera estos se prepararán y analizarán por triplicado.

Determinar el valor de S, r^2 , CV%, $IC(\beta_1)$ e $IC(\mu)$.

11.2.4 Precisión del método

Analizar por triplicado una muestra homogénea del arreglo de microagujas, que tenga un nivel cercano o igual al 100%, es decir que contenga 7mg de alendronato de sodio, la muestra será colocada en un matraz Erlenmeyer, se adicionaran 5mL de agua desionizada, se añadirán posteriormente 4 gotas de fenolftaleína al 1% y se realizará la valoración con una solución de hidróxido 0.01M, la valoración se detiene cuando la solución se torne de un color rosa. Registrar el volumen de punto de equivalencia. Este análisis será realizado por dos analistas en dos días diferentes.

Determinar el valor de Y, S y CV%.

11.2.5 Exactitud y repetibilidad del método

Preparar 6 placebos cargados a los cuales se les añadirán 7mg de alendronato de sodio a cada uno (equivalente al 100% de la cantidad de analito en la muestra). Se añadirán 5mL de agua desionizada para solubilizar, se añaden 4 gotas de fenolftaleína al 1% y se procede a realizar la valoración con hidróxido de sodio 0.01M, la valoración se detiene cuando la solución se torne de un color rosa. Los placebos adicionados deben ser analizados por un mismo analista bajo las mismas condiciones. Registrar el volumen de punto de equivalencia y realizar la corrección correspondiente.

Determinar el valor de Y, S, CV% e IC (μ).

11.2.6 Criterios de aceptación

Linealidad del sistema: El valor del coeficiente de determinación debe ser ≥ 0.98 , IC (β_1) no debe incluir el cero,

Precisión del sistema: CV% de la respuesta analítica $\leq 1.5\%$

Linealidad del método: $r^2 \geq 0.98$, IC(β_1) debe incluir la unidad, IC(β_0) debe incluir el cero, CV% del porcentaje de recobro $>2\%$, porcentaje de recobro del 98 al 102%.

Precisión de método CV% $\leq 2\%$

Exactitud del método y repetibilidad del método: El porcentaje de recobro debe estar dentro del intervalo 98-102%, CV% $\leq 2\%$

11.3 RESULTADOS DE LA ESTANDARIZACIÓN DE LA SOLUCIÓN VALORANTE DE HIDRÓXIDO DE SODIO

Tabla. 34 Resultados de la estandarización.

Gramos pesados de biftalato de potasio	Volumen de solución valorante de hidróxido de sodio gastados en la valoración
0.0398g	19.85mL
0.0405g	20.8mL
0.0396g	21.3mL
Promedio=0.0399g	Promedio= 20.65mL

Molaridad del biftalato de potasio en solución= $7.8069 \times 10^{-3}M$

Molaridad de la solución valorante de hidróxido de sodio= $0.0094M$

11.4 RESULTADOS DE LA PRUEBA DE VALORACIÓN DE BLANCOS

Tabla. 35 Resultados de la valoración.

Valoración	Blanco del sistema (5mL de agua destilada)	Blanco del placebo (1ml de solución placebo y 5mL de agua destilada)
1	0.1mL	0.2ml
2	0.1mL	0.2mL
3	0.1mL	0.2mL
Promedio	0.1ml	0.2mL

11.5 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

11.5.1 Linealidad del sistema

Se preparó una curva de calibración con cinco niveles de concentración por triplicado, los resultados se observan en la Tabla 36.

Tabla. 36 Linealidad del sistema.

Número de sistema	Curva de calibración 1		Curva de calibración 2		Curva de calibración 3	
	Volumen de punto de equivalencia	Miligramos obtenidos	Volumen de punto de equivalencia	Miligramos obtenidos	Volumen de punto de equivalencia	Miligramos obtenidos
Sistema 1	1.1ml	2.8mg	1.1ml	2.8mg	1.1ml	2.8mg
Sistema 2	1.9ml	4.84mg	1.9ml	4.84mg	2.3ml	5.83mg
Sistema 3	2.7ml	6.88mg	2.7ml	6.88mg	2.8ml	7.13mg
Sistema 4	3.5ml	8.91mg	3.4ml	8.66mg	3.7ml	9.42mg
Sistema 5	4.3ml	10.95mg	4.3ml	10.95mg	4.4ml	11.21mg
r^2	0.9999		0.9989		0.9999	
b_1	0.3927		0.3926		0.3921	
b_0	-4.3987×10^{-4}		-1.9241×10^{-4}		6.0919×10^{-3}	
$IC\beta_1$	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior	Límite superior	Límite inferior
	0.3946	0.3907	0.4396	0.3455	0.3949	0.3892

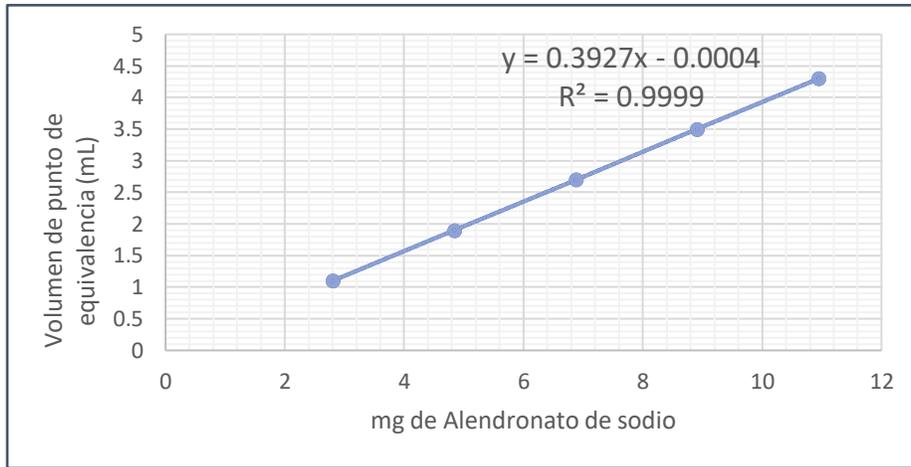


Gráfico 6. Curva de calibración 1. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].

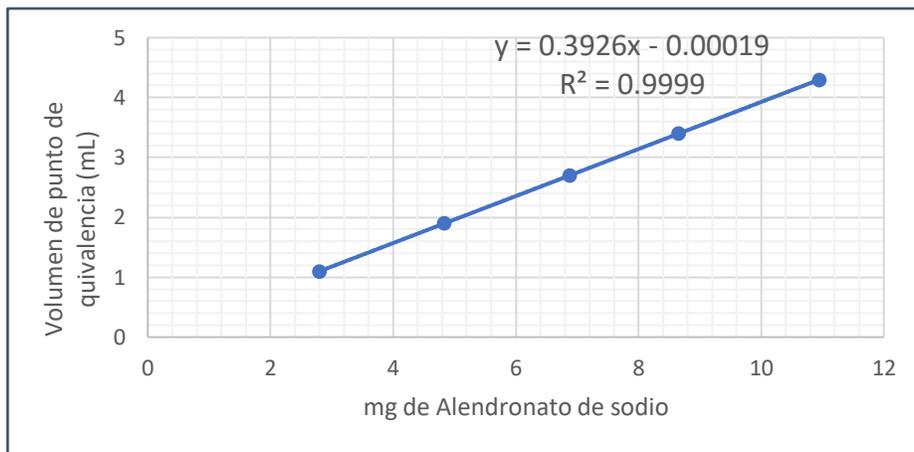


Gráfico 7. Curva de calibración 2. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].

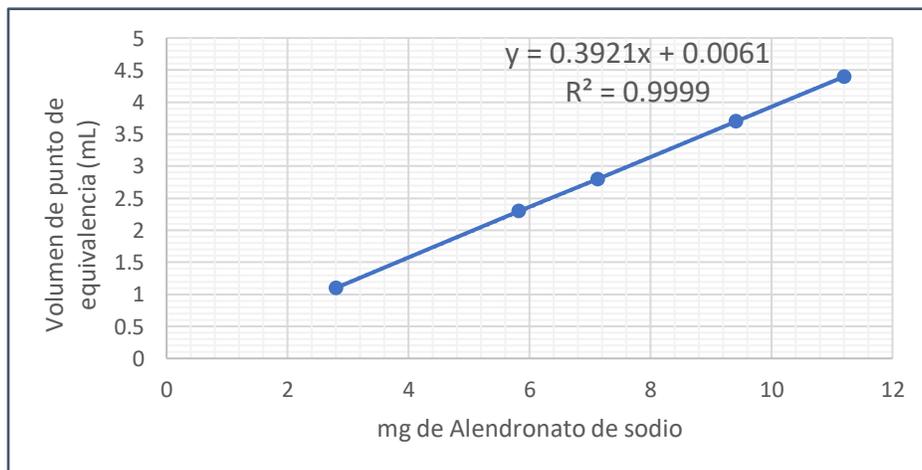


Gráfico 8. Curva de calibración 3. Volumen= [mg de Alendronato de sodio].

Como puede observarse tanto en los gráficos anteriores como en Tabla 36, los valores del coeficiente de determinación son cercanos a 1, lo que indica que hay una relación directamente proporcional entre el volumen de punto de equivalencia y la cantidad de Alendronato de sodio, el método por volumetría es un método de cuantificación directa, son embargo en la validación se debe demostrar que dentro del rango de cuantificación de la muestra el método es lineal, por otra parte también indica que el error del analista y la dispersión de los datos es menor.

11.5.2 Precisión del sistema

Se analizaron 6 muestras preparadas a partir de pesadas independientes, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 37.

Tabla 37. Precisión del sistema.

Número de sistema	Volumen de punto de equivalencia (mL)	Miligramos pesados (mg)	Miligramos obtenidos (mg)	Porcentaje de Alendronato de sodio obtenido %
Sistema 1	2.65mL	7.08mg	6.75mg	95.33%
Sistema 2	2.6mL	6.99mg	6.62mg	94.70%
Sistema 3	2.7mL	7.08mg	6.88mg	97.17%
Sistema 4	2.65mL	7.08mg	6.75mg	95.33%
Sistema 5	2.7mL	7.08mg	6.88mg	97.17%
Sistema 6	2.7mL	7.08mg	6.88mg	97.17%
Desviación estándar S				1.1461
Promedio X				96.145
CV%				1.1921%
				Cumple

Como puede observarse el CV% es menor a 1.5% por lo que la dispersión de los resultados con respecto a la media es baja y por lo tanto los resultados son confiables.

11.5.3 Linealidad del método

Se realizó por triplicado una curva de concentraciones de la solución reservorio placebo adicionado al 80, 100 y 120% de Alendronato de sodio, los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 38. En el Gráfico 9 se observa la relación que existe entre la cantidad recuperada y la cantidad adicionada.

Tabla. 38 Linealidad del método.

Nivel %	Numero de muestra	Volumen de punto de equivalencia	Cantidad adicionada (mg)	Cantidad recuperada (mg)	Porcentaje de recobro %
80%	1	2.2mL	5.56mg	5.60mg	100.71%
	2	2.2mL	5.56mg	5.60mg	100.71%
	3	2.2mL	5.56mg	5.60mg	100.71%
100%	4	2.85mL	6.99mg	7.26mg	103.86%
	5	2.9mL	7.08mg	7.39mg	104.37%
	6	2.85mL	6.99mg	7.26mg	103.86%
120%	7	3.4mL	8.39mg	8.66mg	103.21%
	8	3.4mL	8.39mg	8.66mg	103.21%
	9	3.3mL	8.39mg	8.40mg	100.11%
Promedio					102.30%
S					1.7025
CV%					1.6641%
r²					0.9956
IC(β)				Límite superior	Límite inferior
				1.2714	0.8285
IC(μ)				103.41	101.18

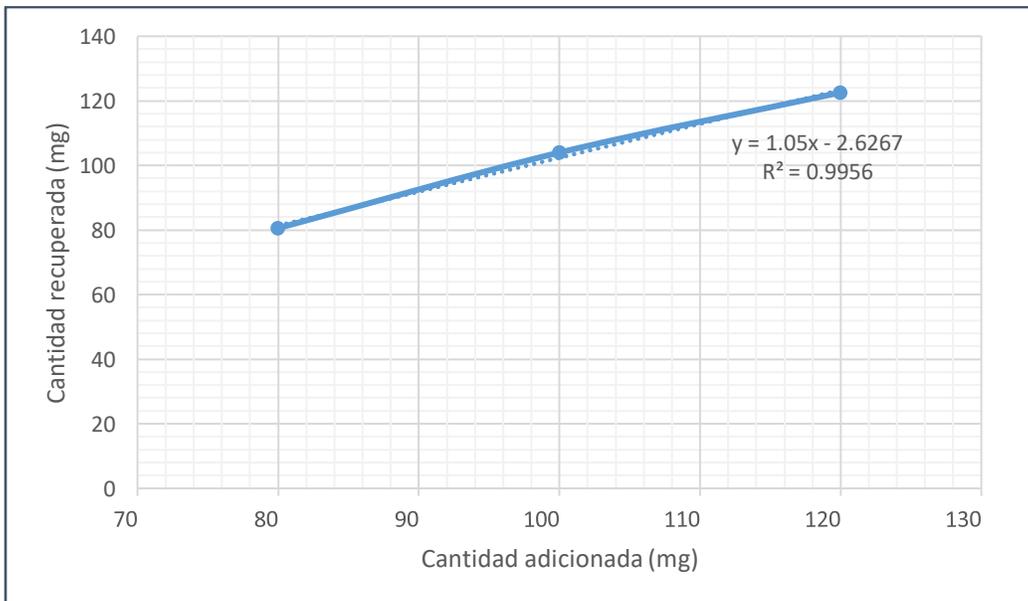


Gráfico 9. Cantidad recuperada (mg) vs cantidad adicionada (mg) de alendronato de sodio para la determinación de la linealidad del método.

11.5.4 Precisión del método

Se determinó el contenido químico a 3 muestras de la solución reservorio (Pluronic-F127 y propilenglicol) cagadas con Alendronato de sodio 7mg en dos días diferentes por dos analistas, los resultados se observan en la Tabla 39.

Tabla 39. Precisión del método.

	Analista 1				Analista 2			
	Volumen de punto de equivalencia (mL)	Miligramos pesados (mg)	Miligramos obtenidos (mg)	Porcentaje de recuperación %	Volumen de punto de equivalencia (mL)	Miligramos pesados (mg)	Miligramos obtenidos (mg)	Porcentaje de recuperación %
Día 1	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%	2.7mL	7.08mg	6.88mg	97.18%
	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%
	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%
Día 2	2.75mL	7.08mg	7.00mg	98.87%	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%
	2.65mL	7.08mg	6.75mg	95.34%	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%
	2.75mL	7.08mg	7.00mg	98.87%	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.85%
Desviación estándar				1.8409				
Promedio Y				99.755				
CV%				1.8455%	Cumple			

11.5.5 Exactitud del método

Se determinaron los porcentajes de recobro de 6 placebos de la solución reservorio cargados con el 100% de la dosis de Alendronato de sodio, los resultados obtenidos se observan en la Tabla 40.

Tabla 40. Exactitud del método.

Placebo cargado al 100%	Volumen de punto de equivalencia (mL)	Miligramos pesados(mg)	Miligramos obtenidos (mg)	Porcentaje de recuperación obtenido %	
1	2.85mL	7.08mg	7.26mg	102.54%	
2	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.84%	
3	2.75mL	7.08mg	7.00mg	98.87%	
4	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.84%	
5	2.8mL	7.08mg	7.14mg	100.84%	
6	2.85mL	7.08mg	7.26mg	102.54%	
Promedio Y				101.07%	Cumple
Desviación estándar S				1.3652	
CV%				1.3507%	Cumple
IC(μ)				102.16	99.97

11.6 ANEXO 2. PREPARACIÓN DE SOLUCIONES ANALÍTICAS

11.6.1 Preparación de la solución de hidróxido de sodio 0.01M

1. Pesar aproximadamente 0.4123g de hidróxido de sodio en un vaso de precipitados de 250ml.
2. Agregar 150ml de agua desionizada y homogenizar mediante agitación mecánica.
3. Trasvasar la solución a un matraz volumétrico de 1 litro.
4. Realizar 5 enjuagues de 5mL de agua desionizada cada uno y colocar el volumen en el matraz volumétrico.
5. Llevar a volumen con agua destilada y homogenizar.

11.6.2 Preparación de la solución de fenolftaleína 1% en etanol

1. Pesar 1g de fenolftaleína en un vaso de precipitados.
2. Añadir al vaso 50mL de etanol y disolver mediante agitación mecánica.
3. Trasvasar la solución a un matraz volumétrico de 100mL.
4. Realizar 3 enjuagues al vaso de precipitados con 5ml de etanol y colocar el volumen en el matraz volumétrico.
5. Llevar a volumen con etanol y homogenizar.

11.6.3 Preparación de la solución buffer de fosfatos pH 7.4

a) Preparación de una solución de fosfato monobásico de potasio 0.2 M

1. Disolver 27.22 g de fosfato monobásico de potasio en agua y diluir con agua a 1 litro.

b) Preparación de una solución de hidróxido de sodio 0.2 M

1. Pesar 1.6g de hojuelas de hidróxido de sodio en un vaso de precipitados de 150mL.
2. Agregar 50ml de agua destilada y disolver en agitación mecánica.
3. Trasvasar la mezcla a un matraz volumétrico de 200ml.
4. Realizar 3 enjuagues del vaso de precipitados con 5ml cada uno y trasvasarlos al matraz volumétrico.
5. Llevar a volumen con agua destilada y homogenizar.

c) Preparación de Buffer de fosfatos pH 7.4

1. Transferir 50ml de la solución de fosfato monobásico de potasio a un matraz volumétrico de 200mL.
2. Agregar 39.1ml de la solución de hidróxido de sodio.
3. Llevar a volumen con agua destilada.
4. Medir pH con pHmetro.
5. Etiquetar como: Buffer fosfatos pH 7.4

11.6.3.1 Dilución del buffer para la eliminación de interferencias

1. Se midieron 100mL de buffer de fosfatos y se colocaron en un matraz volumétrico de 500mL.
2. Se realizaron 3 enjuagues al vaso que contenía buffer, de 10mL cada uno.
3. Finalmente se llevó a volumen con agua destilada y se homogenizó.
4. Se midió el pH para corroborar que el valor de pH se mantuviera en 7.4