



Casa abierta al tiempo  
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA**  
**UNIDAD XOCHIMILCO**

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:  
DISEÑO Y PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS

**“LIBERACIÓN IONTOFORÉTICA DE LOSARTÁN FORMULADO EN UN PARCHE  
TRANSDÉRMICO”**

COMUNICACIÓN IDÓNEA DE RESULTADOS PARA OBTENER EL GRADO DE  
MAESTRA EN CIENCIAS FARMACÉUTICAS

PRESENTA  
QFB. ALMA LIDIA AGUIÑAGA MIRELES

**COMITÉ TUTORAL**

Tutor: Dr. José Juan Escobar Chávez  
Asesora: Dra. Luz María Melgoza Contreras  
Asesor: Dr. Roberto Díaz Torres

NOVIEMBRE, 2014.



LIBERACIÓN IONTOFORÉTICA DE LOSARTÁN FORMULADO EN UN PARCHÉ  
TRANSDÉRMICO

Vo. Bo. del Comité Tutorial

TUTOR

DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ

ASESORES

DRA. LUZ MARÍA MELGOZA CONTRERAS

DR. ROBERTO DÍAZ TORRES

ALUMNA

QFB. ALMA LIDIA AGUIÑAGA MIRELES  
MATRICULA 2123807645

LIBERACIÓN IONTOFORÉTICA DE LOSARTÁN FORMULADO EN UN PARCHÉ  
TRANSDÉRMICO

JURADO

PRESIDENTE

DRA. EVA MARÍA MOLINA TRINIDAD

VOCAL

DRA. ISABEL MARLEN RODRÍGUEZ CRUZ

SECRETARIO

DRA. LUZ MARÍA MELGOZA CONTRERAS

## RESUMEN

La hipertensión arterial es una patología muy importante debido a su capacidad para reducir la duración y la calidad de vida de quien la sufre afectando en su mayoría a personas mayores. Este padecimiento junto con otros asociados al síndrome metabólico se han visto incrementados debido a la transición demográfica que sufre nuestro país. Una de las opciones para su tratamiento son los antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> de la angiotensina II, siendo losartán potásico un fármaco de esta familia. Una de las principales razones de falla en el tratamiento de la hipertensión arterial es el número de medicamentos que el paciente tiene que tomar por día, lo que ocasiona que en algunos casos abandone la terapia.

Una opción para resolver este problema es el desarrollo de formas farmacéuticas alternativas como lo son los parches transdérmicos, mediante los cuales se puede administrar una serie de fármacos a través de la piel reduciendo los inconvenientes de las terapias orales. Debido a que un gran número de fármacos no tienen la capacidad intrínseca de atravesar la piel, se han desarrollado promotores de la permeación químicos (ej. surfactantes) y físicos (ej. iontoforesis) cuyo objetivo principal es disminuir la barrera difusional de la piel y permitir la permeación.

Durante el desarrollo del presente proyecto, se diseñaron 3 formulaciones de parches transdérmicos, de los cuales, uno de ellos estuvo libre de promotor químico (0% LSS) y los otros dos incluyeron 1 (1% LSS) y 2% (2% LSS) de lauril sulfato de sodio (LSS), como surfactante aniónico. Posteriormente, fueron sometidas a evaluación físico-química y estudios de permeación por medio de difusión pasiva e iontoforesis.

El diámetro de los parches fue de 25.93, 26.33 y 26.12 mm, con un grosor de 0.49, 0.43 y 0.48 mm para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS respectivamente. El pH de los parches fue de 7 sin desviación para las 3 formulaciones, el porcentaje de constricción a los 30 minutos fue de 1.18, 1.21 y 1.16%, respectivamente; y para la prueba realizada a los 90 días, la constricción fue de 0.53, 1.14 y 0.61% igualmente para 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS. Para todos los parámetros anteriormente mencionados, se realizó una prueba de ANOVA y no se encontraron diferencias estadísticamente

significativas ( $p > 0.05$ ) al comparar los resultados obtenidos entre las diferentes formulaciones.

Se determinó la bioadhesión pre y post humectación en un texturómetro, la fuerza necesaria para retirar el parche de la piel fue de 1.19 N y 1.61 N respectivamente para la formulación 0% LSS; al realizar una prueba T-Student, se encontró diferencia estadísticamente significativa, por lo que la bioadhesión post-humectación es significativamente mayor en comparación con los parches sin humectar. En la prueba de resistencia a la ruptura para la formulación de 0% LSS, se encontró que se requiere una fuerza de 6.84 N para lograr fragmentar los parches.

Se tomaron imágenes microscópicas de las 3 formulaciones a los 1, 30, 60 y 90 días posteriores de haber preparado los parches, no se mostraron cambios evidentes en la apariencia física.

La cuantificación de los parches se llevó a cabo por medio de espectrofotometría UV a 205 nm y los perfiles de disolución se realizaron en el aparato 5 de disolución. El porcentaje disuelto para la formulación 0% LSS y 2% LSS, fue mayor del 80% a los 30 minutos mientras que para la formulación 1% LSS fue a los 50 minutos. Los datos fueron ajustados a los modelos de orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer Peppas, siendo este último el modelo al cual se ajustaron mejor los datos, obteniendo valores de "n" de 0.968, 0.873 y 0.638 para 0%, 1% y 2% LSS, respectivamente. Dicho resultado nos indica que el mecanismo de liberación del fármaco es no fickiano, el cual está dominado por procesos de difusión y relajación de las cadenas poliméricas.

Las pruebas de permeación se realizaron en celdas de difusión vertical tipo Franz por medio de difusión pasiva y con iontoforesis, empleando para esta última electrodos de Ag/AgCl. Los tiempos de latencia observados a partir de la técnica de iontoforesis (< 3.3 h) fueron significativamente menores que con difusión pasiva (10.4 – 12.3 h), sin embargo, los flujos y constantes de permeabilidad se vieron principalmente favorecidos en la técnica de difusión pasiva. A partir de los parámetros de permeación obtenidos, se realizó el cálculo del tamaño de parche para alcanzar una  $C_{p_{máx}}$  comparable con la obtenida después de una administración oral de 50 mg. El resultado fue de 23.08 – 24.45

cm<sup>2</sup> si se aplica el parche por difusión pasiva, y de 71.64 – 110.81 cm<sup>2</sup> si se emplea la técnica de iontoforesis, siendo esta diferencia, estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ).

## **AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES**

A la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco por haberme permitido continuar con mis estudios de posgrado.

A la Maestría en Ciencias Farmacéuticas, comité y profesores de la misma por su enseñanza académica, profesional y de desarrollo personal.

Al CONACyT por haberme brindado una beca la cual me permitió dedicarme de tiempo completo a la maestría.

A los proyectos PAPIME 200414, PAPIIT IT 200115 y PIAPI 09.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, especialmente a la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 4 Laboratorio 12 de la Unidad Multidisciplinaria por permitirme realizar el proyecto de investigación para la comunicación idónea de resultados.

Al laboratorio de Bioquímica de alimentos en la FES Cuautitlán Campo 1, especialmente a la Bioquímica Norma Casas por su apoyo con el prestamos de equipos necesarios para la evaluación de los parches.

Al laboratorio 5 de la Unidad Multidisciplinaria de la FES Cuautitlán Campo 4, especialmente a la Dra. Raquel López por su apoyo y colaboración en el préstamo de equipo y material para hacer posible la presente investigación.

A la Dra. María José Bernard de la Facultad de Química de la UNAM por la cooperación con el análisis calorimétrico de los parches.

Al Dr. José Juan Escobar Chávez, por su voto de confianza y el permitirme desarrollar el proyecto bajo su tutela estando siempre pendiente de que el proyecto saliera lo mejor posible y dejando a mi alcance todos los elementos necesarios para la realización del mismo. Por todo lo anterior, estaré eternamente agradecida.

A mis asesores, la Dra. Luz María Melgoza Contreras y el Dr. Roberto Díaz Torres por su participación, orientación y apoyo incondicional para la realización de este proyecto.



## **AGRADECIMIENTOS PERSONALES**

A mis compañeros de laboratorio; Pablo, Johana, Rodrigo, Jess, Adriana, Clara, Ara, Carlos, Angie por su compañía durante el trabajo, pero especialmente a mi compañera y amiga Evelin por todo el apoyo para la realización de este proyecto.

A mis amigos y familia de la Maestría; Dra. Luz Ma, Zac, Maribel, Mary Tere, David, Adolfo, Balo, Soei, Iván, César, Luis, Fadia, Cindy, Luisa, Yadira y Daniel por su amistad y apoyo incondicional, no lo hubiera logrado sin ustedes.

A mi amiga y compañera de casa Betzy, uno de mis pilares, gracias por la amistad incondicional y por todo el apoyo que siempre me has brindado, sin duda no pude tener una mejor compañía hermanita.

A Ileana, Arlette y Mary por hacerme sentir siempre su compañía y apoyo moral a pesar de la distancia. Gracias por enseñarme que las verdaderas amistades se conservan por siempre.

A Fer, por escucharme día y noche siempre que me sentí triste por estar lejos de casa, por impulsarme a siempre dar lo mejor de mi y por todas las aportaciones al proyecto. Gracias por ayudarme en la realización de este gran sueño el cual comparto contigo.

A mis papás y hermano, por su apoyo incondicional y por motivarme día a día a seguir superándome, tanto personal como profesionalmente. Todo mi esfuerzo es para ustedes.

## ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS .....	14
ÍNDICE DE FIGURAS .....	15
ÍNDICE DE TABLAS .....	17
1. INTRODUCCIÓN.....	18
2. MARCO TEÓRICO.....	19
2.1. Hipertensión arterial .....	19
2.2. La piel.....	20
2.3. Administración transdérmica .....	22
2.3.1. Ventajas y desventajas.....	24
2.4. Parches transdérmicos.....	25
2.4.1. Clasificación (pasivos/activos).....	26
2.4.2. Estructura/diseño.....	26
2.4.3. Propiedades ideales de un PTD .....	29
2.4.4. Ventajas y desventajas.....	30
2.5. Promotores de la permeación .....	32
2.5.1. Físicos .....	33
3.1.1. Químicos .....	39
2.5.2. Otras técnicas.....	39
3.4. Selección de fármacos candidatos para administración transdérmica .....	40
3.5. Losartán .....	40
3.5.1. Nomenclatura y estructura química .....	41
3.5.2. Propiedades físicas y químicas: .....	42
3.5.3. Farmacología.....	42
3.5.4. Mecanismo de acción .....	42
3.5.5. Farmacocinética .....	43
3.5.6. Formas de dosificación disponibles en el mercado .....	44
3.5.7. Tratamiento .....	44
3.5.8. Pacientes.....	44
3.6. Componentes de los PTT diseñados .....	44
3.6.1. Principio activo (ver punto 3.5) .....	44

3.6.2.	Kollicoat IR® .....	44
3.6.3.	Polivinilpirrolidona (PVP) .....	45
3.6.4.	Propilenglicol .....	46
3.6.5.	Polietilenglicol 8000 .....	46
3.6.6.	Lauril sulfato de sodio.....	47
3.7.	Métodos para evaluar el paso de fármacos a través de la piel .....	48
3.7.1.	<i>In vitro</i> .....	48
3.7.2.	<i>In vivo</i> .....	49
4.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	50
5.	HIPÓTESIS .....	50
6.	OBJETIVOS .....	50
6.1.	Objetivo general.....	50
6.2.	Objetivos particulares.....	51
7.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	51
7.1.	Materiales.....	51
7.1.1.	Principio activo y excipientes.....	51
7.1.2.	Cristalería .....	52
7.1.3.	Reactivos y otros .....	52
7.1.4.	Equipos.....	52
7.1.5.	Análisis estadístico .....	52
7.2.	Formulación de PTD. ....	52
7.3.	Caracterización de excipientes y principio activo. ....	53
7.3.1.	Apariencia.....	53
7.3.2.	Determinación del punto de fusión .....	53
7.3.3.	Absorción UV-Vis .....	53
7.4.	Evaluación física de los PTD.....	55
7.4.1.	Dimensiones.....	55
7.4.3.	Determinación de pH superficial.....	55
7.4.4.	Determinación del porcentaje de constricción .....	55
7.4.5.	Determinación de bioadhesión de los PTD.....	55
7.4.6.	Determinación de bioadhesión post-humectación de los PTD .....	56

7.4.7.	Determinación de resistencia a la ruptura de los PTD.....	56
7.5.	Evaluación de la compatibilidad entre excipientes y fármaco en los PTD.....	56
7.5.1.	Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).....	56
7.5.2.	Análisis microscópico .....	56
7.6.	Cuantificación de losartán en los PTD .....	57
7.7.	Perfil de disolución de los PTD .....	57
7.8.	Permeación <i>in-vitro</i> de los PTD.....	59
7.8.1.	Tratamiento de la piel .....	59
7.8.2.	Preparación de electrodos Ag/AgCl.....	59
7.8.3.	Permeación <i>in-vitro</i> de los PTDs por difusión pasiva .....	60
7.8.4.	Permeación <i>in-vitro</i> de los PTDs con iontoforesis .....	61
8.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	61
8.1.	Formulación de PTD .....	61
8.2.	Caracterización de excipientes y principio activo .....	63
8.2.1.	Apariencia.....	63
8.2.2.	Punto de fusión.....	64
8.2.3.	Absorción UV-Vis .....	64
8.3.	Evaluación física de los PTD.....	68
8.3.1.	Dimensiones.....	68
8.3.2.	Determinación de pH superficial.....	68
8.3.3.	Determinación del porcentaje de constricción .....	69
8.3.4.	Determinación de bioadhesión pre y post humectación de los PTD.....	70
8.3.5.	Determinación de resistencia a la ruptura de los PTD.....	70
8.4.	Análisis de incompatibilidades entre excipientes y principio activo .....	71
8.4.1.	Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB).....	71
8.4.2.	Análisis microscópico .....	74
8.5.	Cuantificación de losartán en los PTD .....	77
8.6.	Perfil de disolución de los PTD .....	77
8.7.	Permeación de los PTD por difusión pasiva.....	81
8.8.	Permeación de los PTD empleando iontoforesis .....	82
8.9.	Parámetros de permeación .....	83

9. CONCLUSIONES .....	86
10. PERSPECTIVAS .....	87
11. REFERENCIAS .....	88
12. ANEXOS.....	95
ANEXO A. Determinación de humedad .....	95
ANEXO B. Protocolo de validación del método analítico .....	I

## LISTADO DE ABREVIATURAS

(ac)	Acuoso	LSS	Lauril sulfato de sodio
Ag	Plata	mg	Miligramo
AgCl	Cloruro de plata	mA	Miliamper
ANOV	Siglas en inglés de análisis de	mL	Mililitro
A	varianza	mM	Milimolar
ARA II	Antagonista de la angiotensina II	MSD	Merck, Sharp & Dohme
CAGE	Siglas en inglés de "Chymostatin-sensitive Ang II Generating Enzyme"	n	Exponente de liberación
$C_{p_{máx}}$	Concentración plasmática máxima	N	Newtons
C.V.	Coeficiente de variación	NaCl	Cloruro de sodio
DER	Desviación estándar relativa	ng/mL	Nanogramos/mililitro
$D_1$	Diámetro inicial	nm	Nanómetros
$D_2$	Diámetro final	o/w	Coeficiente de octanol/agua
DSC	Siglas en inglés de calorimetría diferencial de barrido	PA	Principio activo
ECA	Enzima convertidora de angiotensina	PEG	Polietilenglicol
ECV	Enfermedades cardiovasculares	$P_f$	Peso final
EUA	Estados Unidos de Norteamérica	$P_i$	Peso inicial
g	Gramo	$\%P_s$	Porcentaje de pérdida por secado
g/mol	Gramos/mol	$P_s$	Peso perdido durante el secado
h	Horas	PTD	Parche transdérmico
IR	Infrarrojo	PVP	Polivinilpirrolidona
J	Flujo	PVP/L	Relación de polivinilpirrolidona/Losartán
$K_0$	Constante de orden cero	OS	Losartán
$K_1$	Constante de primer orden	$r^2$	Coeficiente de correlación
KDa	Kilodaltons	rpm	Revoluciones/minuto
$K_H$	Constante de Higuchi	STT	Sistema terapéutico transdérmico
$K_k$	Constante de Korsmeyer-Peppas	$t_{1/2}$	Tiempo de vida media
$K_p$	Constante de permeabilidad	$T_L$	Tiempo de latencia
$K_s$	Constante de Hixson-Crowell	UV-Vis	Ultravioleta-Visible
		V	Volts
		vs	Versus
		$\mu\text{g}$	Microgramo

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Principales capas que conforman a la piel humana. ....	21
<b>Figura 2.</b> Rutas del transporte de moléculas a través de la piel. ....	24
<b>Figura 3.</b> PTD con sistema de micro reservorio o permeación controlada con membrana .....	27
<b>Figura 4.</b> PTD con sistema matricial.....	27
<b>Figura 5.</b> PTD con sistema de difusión controlada vía matriz.....	28
<b>Figura 6.</b> PTD con sistema de difusión controlada mediante micro reservorios. ....	28
<b>Figura 7.</b> Diagrama de un PTD iontoforético. ....	29
<b>Figura 8.</b> Permeación de moléculas grandes mediante ultrasonido. ....	38
<b>Figura 9.</b> Estructura química de losartán base. ....	41
<b>Figura 10.</b> Estructura química de la sal potásica de losartán. ....	41
<b>Figura 11.</b> Cascada del sistema renina angiotensina y posibles medidas para bloquearlo .....	43
<b>Figura 12.</b> Estructura química de Kollicoat IR® .....	45
<b>Figura 13.</b> Estructura química de la polivinilpirrolidona. ....	46
<b>Figura 14.</b> Estructura química del propilenglicol.....	46
<b>Figura 15.</b> Estructura química del polietilenglicol. ....	47
<b>Figura 16.</b> Estructura química del lauril sulfato de sodio. ....	47
<b>Figura 17.</b> Diseños básicos de celdas de difusión.....	49
<b>Figura 18.</b> Molde de acetato con dimensiones de 99 cm <sup>2</sup> (9 x 11 cm). ....	53
<b>Figura 19.</b> Circuito en serie para la preparación de los electrodos Ag/AgCl. El cableado negro corresponde a la corriente con carga negativa (cátodos) y el cableado rojo a positiva (ánodos).....	60
<b>Figura 20.</b> Imágenes microscópicas de losartán potásico a) 4x, b) 10x y c) 40x.....	63
<b>Figura 21.</b> Imágenes microscópicas de PVP Kollidon 30 a) 4x, b) 10x y c) 40x.....	63
<b>Figura 22.</b> Imágenes microscópicas de Kollicoat IR a) 4x, b) 10x y c) 40x.....	63
<b>Figura 23.</b> Imágenes microscópicas de PEG 8000 a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	64
<b>Figura 24.</b> Imágenes microscópicas de lauril sulfato de sodio a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	64
<b>Figura 25.</b> Espectro de absorción UV de losartán potásico en un rango de 190 a 400 nm. .....	65
<b>Figura 26.</b> Espectro de absorción UV de PVP Kollidon 30 en un rango de 190 a 400 nm. .....	66
<b>Figura 27.</b> Espectro de absorción UV de Kollicoat IR en un rango de 190 a 400 nm. ....	66
<b>Figura 28.</b> Espectro de absorción UV de propilenglicol en un rango de 190 a 400 nm. .	66
<b>Figura 29.</b> Espectro de absorción UV de PEG 800 en un rango de 190 a 400 nm. ....	67
<b>Figura 30.</b> Espectro de absorción UV de LSS en un rango de 190 a 400 nm. ....	67
<b>Figura 31.</b> Análisis de calorimetría diferencial de barrido a los excipientes, principio activo y formulaciones de los PTDs en un rango de -25 a 300 °C con una rampa de	

calentamiento de 10 °C/min. a) Losartán potásico, b) PVP Kollidon 30, c) Kollicoat IR, d) PEG 8000, e) Lauril sulfato de sodio, f) formulación 0% LSS y g) formulación 2% LSS. ....	73
<b>Figura 32.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	74
<b>Figura 33.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	74
<b>Figura 34.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	75
<b>Figura 35.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	75
<b>Figura 36.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	75
<b>Figura 37.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	75
<b>Figura 38.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	76
<b>Figura 39.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	76
<b>Figura 40.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	76
<b>Figura 41.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	76
<b>Figura 42.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	77
<b>Figura 43.</b> Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% LSS día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x. ....	77
<b>Figura 44.</b> Perfil de disolución formulación 0% LSS (n = 6).....	80
<b>Figura 45.</b> Perfil de disolución formulación 1% LSS (n = 6).....	80
<b>Figura 46.</b> Perfil de disolución formulación 2% LSS (n = 6).....	81
<b>Figura 47.</b> Perfil de permeación a través de piel humana por medio de difusión pasiva para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS (n = 3). ....	82
<b>Figura 48.</b> Perfil de permeación a través de piel humana empleando iontoforesis para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS (n = 3). ....	83



## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Cantidad unitaria de excipientes y principio activo por parche para la formulación.....	54
<b>Tabla 2.</b> Componentes por placa de PTD de la formulación 0% LSS.....	62
<b>Tabla 3.</b> Componentes por placa de PTD de la formulación 1% LSS.....	62
<b>Tabla 4.</b> Componentes por placa de PTD de la formulación 2% LSS.....	62
<b>Tabla 5.</b> Dimensiones de los PTD.....	68
<b>Tabla 6.</b> Resultados de prueba de constricción a 30 min y 90 días (n= 10) .....	69
<b>Tabla 7.</b> Cuantificación de Losartán en formulación 0% LSS .....	78
<b>Tabla 8.</b> Cuantificación de Losartán en formulación 1% LSS .....	79
<b>Tabla 9.</b> Cuantificación de Losartán en formulación 2% LSS .....	79
<b>Tabla 10.</b> Resultados de constantes, coeficientes de correlación y n, del ajuste de datos a los modelos cinéticos de liberación .....	81
<b>Tabla 11.</b> Parámetros de permeación para las formulaciones 0%, 1% y 2% por medio de difusión pasiva e iontoforesis. ....	84
<b>Tabla 12.</b> Significancias obtenidas en prueba de Mann-Whitney, comparación entre formulaciones y técnica de permeación para J, $K_p$ y $T_L$ .....	85
<b>Tabla 13.</b> Tamaño calculado para los parches de las diferentes formulaciones empleando difusión pasiva ó iontoforesis.....	85
<b>Tabla 14.</b> Significancias obtenidas en prueba de Mann-Whitney, comparación entre formulaciones y técnica de permeación para tamaño del PTD .....	86

## 1. INTRODUCCIÓN

La hipertensión arterial (HTA) es una patología muy importante por su capacidad para reducir sustancialmente la duración y calidad de vida de quien la sufre; así como de generar complicaciones de salud, principalmente cardíacas, renales y del sistema nervioso central al ser un factor de riesgo y de aceleración de la aterosclerosis (1) (2) (3). Una de las principales razones de falla en el tratamiento de la hipertensión arterial es el número de medicamentos que el paciente tiene que tomar por día, lo que ocasiona que en algunos casos abandone la terapia.

Una opción para resolver este problema es el desarrollo de formas farmacéuticas alternativas, como lo es el caso de los sistemas terapéuticos transdérmicos (STT), mediante los cuales se puede administrar una serie de fármacos de una forma más conveniente (4), empleando dosis terapéuticas de fármacos que permitan alcanzar el efecto óptimo y reducir al máximo sus efectos colaterales (3). Los STT proveen 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 en un sitio bien definido, permiten al fármaco difundir desde el estrato córneo hasta la hipodermis e ingresar al torrente sanguíneo produciendo un efecto sistémico (5). Propiamente, los STT son sistemas de liberación sostenida; y por tanto, su objetivo es el de suministrar el medicamento a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante (5). Las innovaciones en el diseño de estos STT han permitido incorporar una serie de métodos físicos y/o químicos con el fin de promover la permeación de fármacos a través de la piel como lo es la aplicación de corriente eléctrica (iontoforesis), calor, radiofrecuencia, campos magnéticos, ultrasonido, microagujas, y otros para el caso de métodos físicos, además de sustancias químicas capaces de disminuir la resistencia difusional característica de la piel (5).

En el presente trabajo se propuso diseñar un parche transdérmico (PTD) de losartán potásico para el tratamiento de la hipertensión arterial, con el fin de proponer una alternativa a la administración por vía oral, evaluando la permeación *in vitro* del fármaco mediante difusión pasiva y empleando la técnica de iontoforesis combinada con el uso de un surfactante como promotor químico.

## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Hipertensión arterial**

Como definición, la hipertensión arterial es la elevación continua y sostenida de las cifras tensionales diastólicas y/o sistólicas, es la resultante del aumento de las resistencias al libre tránsito de la sangre en las arterias periféricas. Según la Norma Oficial Mexicana para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial (6), se considera como hipertenso a una persona cuya presión arterial presente una elevación sostenida  $\geq$  140/90 mmHg. Dentro de las causas desencadenantes del trastorno que han favorecido el incremento de esta enfermedad, se encuentra la magnitud de la transición demográfica, donde el fenómeno de envejecimiento de la población se advierte claramente; los adultos mayores aumentaron de 4.1 millones en 1996, a 7.1 en el año 2000 y se incrementarán progresivamente estimándose que para el año 2050 existirán 32.4 millones de adultos mayores, representando al 25% de la población total (7).

La Organización Mundial de la Salud estimó desde 1995 que las enfermedades cardiovasculares (ECV) representaban la causa más frecuente de mortalidad en el ámbito mundial, rebasando a la mortalidad ocasionada por enfermedades infecciosas y parasitarias. Asimismo, reconoce que la epidemia de las ECV avanza rápidamente tanto en los países desarrollados como en los que se encuentran en vías de desarrollo (7). Hasta el 2010, las ECV son la principal causa de muerte en todo el mundo, cada año mueren más personas por ECV que por cualquier otra causa (8).

En América Latina y el Caribe, las enfermedades cardiovasculares representan el 31% del total de las defunciones. Se estima que ocurrirán 20.7 millones de defunciones por enfermedades cardiovasculares en esta región durante los próximos 10 años (7).

En México, este grupo de enfermedades constituye un problema de salud pública, y al igual que ocurre en otros países del mundo, es el resultado de esta escalada epidemiológica; las enfermedades del corazón constituyen la primera causa de muerte y anualmente ocurren cerca de 70,000 defunciones por este motivo y 26,000 por enfermedades cerebrovasculares. Se presentan 44 070 muertes por enfermedad isquémica del corazón siendo 24 102 hombres y 19 965 mujeres (7).

De 2006 a 2011, se incrementó la tasa de mortalidad observada por enfermedades hipertensivas en población de 15 años y más (pasó de 17.67 por cada 100 mil personas a 23.06) (9).

A nivel mundial, la OMS estima que la hipertensión arterial causa la muerte de 7.5 millones de personas y representan 12.8% del total de las muertes (10); además, señala que uno de cada tres adultos tiene la presión alta (11), lo que preocupa por las complicaciones que genera: insuficiencia cardíaca, enfermedad vascular periférica, insuficiencia renal, retinopatía y discapacidad visual.

En México, en los últimos 6 años, las defunciones por enfermedades hipertensivas tienen un comportamiento estable; en 2006, 33 de cada 100 personas hipertensas de 15 años y más murieron por enfermedad cardíaca hipertensiva, 31 por esencial, 30 por renal y sólo cinco por cardiorenal; mientras que durante 2011, de cada 100 personas con hipertensión fallecieron 34 por enfermedades renales, 33 por esenciales, 29 por cardíacas y cuatro por cardiorrenal (9).

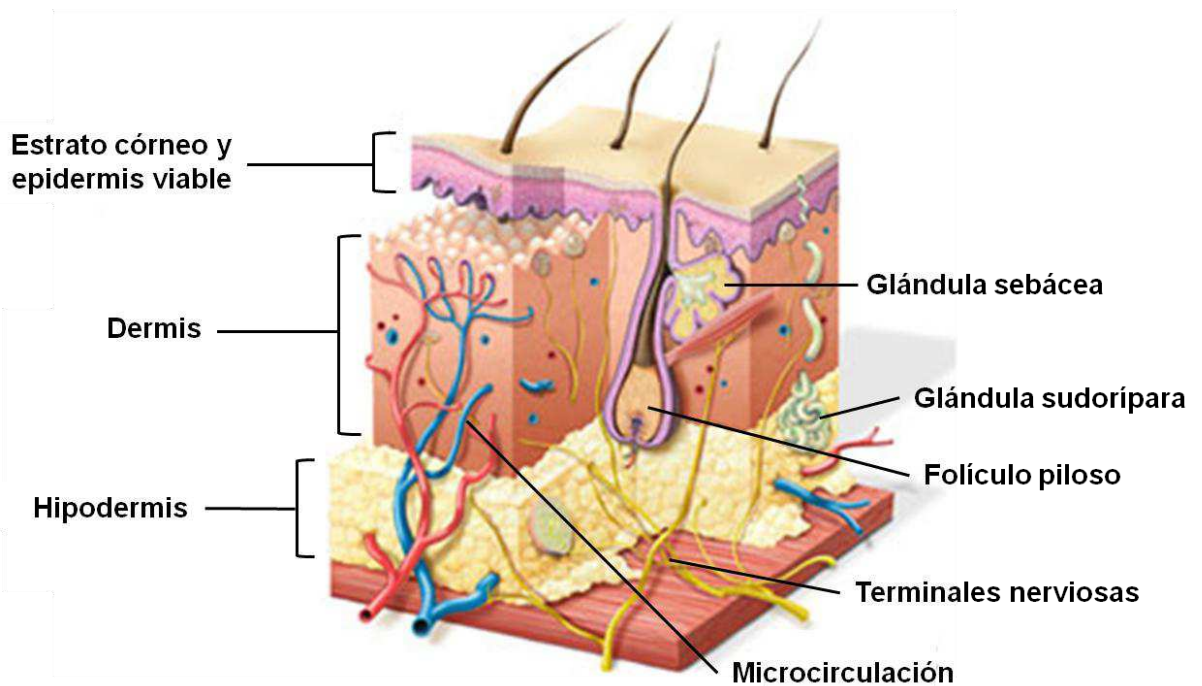
El tratamiento farmacológico de la hipertensión arterial reduce el riesgo de enfermedad cardiovascular y muerte (12). En la actualidad, se utilizan siete familias de fármacos para el control de la hipertensión: diuréticos, alfa-bloqueadores, beta-bloqueadores, bloqueadores de canales de calcio (BCC) ó calcio antagonistas, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> de la angiotensina II (ARA II) y bloqueadores directos de renina (3).

## **2.2. La piel**

La piel es el órgano de mayor área superficial del cuerpo humano cuya función principal es la de proteger al organismo contra agresiones externas como microorganismos, radiación y prevenir la pérdida de agua (13) (14). Es el mayor participante en la termorregulación, funciona como un órgano sensorial, participa en funciones endócrinas (síntesis de vitamina D, conversión periférica de prohormonas), entre otras (15). Es una estructura única, altamente organizada, compuesta por 4 principales capas (Figura 1): epidermis no viable ó estrato córneo, epidermis viable, dermis y tejido conectivo subcutáneo ó hipodermis (13), con al menos 5 diferentes tipos de células contribuyendo

en su estructura y algunas otras del sistema circulatorio e inmune, siendo estas últimas solo componentes transitorios de la piel (15).

La epidermis no viable ó estrato córneo funciona como una barrera altamente lipofílica, la cual evita la pérdida excesiva de agua y previene la penetración de moléculas. Los corneocitos queratinizados (queratinocitos completamente diferenciados) conforman una barrera que dificulta el pasaje de moléculas, independientemente de su tipo (5).



**Figura 1.** Principales capas que conforman a la piel humana.

Estas células están incrustadas en una compleja mezcla de lípidos, particularmente ceramidas, ácidos grasos, colesterol y colesterol sulfato organizadas en arreglos bicapa (13). Asimismo, los lípidos hidrofóbicos intercelulares la hacen impermeable a las sustancias hidrofílicas (5). Aproximadamente, 95% de esta capa de la piel está constituida por queratinocitos (los más inferiores están anclados a la membrana basal a través de hemidesmosomas), y el 5% restante son melanocitos, células de Langerhans y las células de Merkel (mecanorreceptores) (15). En la piel humana, el estrato córneo está conformado por 18 a 21 capas de células. Cada corneocito tiene entre 20 y 40  $\mu\text{m}$  de diámetro, los cuales difieren en su grosor, filamentos de queratina, etcétera, dependiendo del sitio en el cuerpo. Estos factores influyen en el grado de hidratación de la piel el cual puede variar de 10 al 30% de agua ligada (15).

La dermis es un componente crítico del cuerpo, no solo provee de nutrientes, inmunidad y otros soportes a la epidermis, también juega un rol importante en la temperatura, presión y regulación del dolor. Posee un grosor de aproximadamente 0.1 – 0.5 cm (16) y se compone de colágeno, elastina, glicosaminoglicanos, denominados matriz extracelular, así como de fibroblastos que elaboran esta matriz. También están presentes los melanocitos, que están involucrados en la producción de melanina (pigmento). La dermis es altamente vascular e incluye a las unidades pilocebáceas, glándulas sudoríparas, células adiposas dérmicas, células cebadas y leucocitos infiltrantes (15) (16).

La hipodermis es la capa más profunda de la piel y trabaja como aislante térmico, amortiguador y reserva de energía. Esta capa es una red de células grasas acomodadas en lóbulos y unidas a la dermis por fibras de colágeno y elastina. El resto de las células que componen a la hipodermis son los fibroblastos y macrófagos. Una de las principales funciones de dicha capa es el soporte del sistema vascular y neural de la piel, también ancla la piel al músculo subyacente (16).

Para aumentar la difusión a través de la piel se han ensayado técnicas de modificación de la estructura del estrato córneo, mediante la remoción de los lípidos aplicando solventes orgánicos, o remoción de corneocitos y lípidos, pero no son métodos efectivos dada la elevada tasa de recambio de esa capa cutánea. La mejor estrategia es la hidratación, ya que incrementa el espesor vertical de la capa celular reduciendo su densidad y disminuyendo la resistencia a la difusión. Los sistemas transdérmicos son oclusivos y como tales potencian la hidratación al reducir la evaporación de agua, además aumentan la temperatura de la piel a valores cercanos a los 37 °C, lo cual agrega un refuerzo termodinámico a la difusión (5).

Para la industria farmacéutica, la piel resulta un reto y una oportunidad para la administración de fármacos (15).

### **2.3. Administración transdérmica**

La piel es una membrana con permeabilidad selectiva a sustancias químicas que pueden ser absorbidas por esta vía hasta alcanzar la circulación sistémica. La absorción trans-epidérmica es una de sus principales funciones fisiológicas, la cual se aprovecha para la

administración de fármacos (5). Durante décadas, los científicos se han interesado en el uso de la piel como puerta de entrada hacia el organismo para una serie de fármacos, buscando un efecto sistémico y/o local de los mismos, por lo tanto, el estrato córneo se convierte en la barrera para la entrada de una amplia gama de moléculas (17) (18).

Uno de los principales mecanismos para la absorción transdérmica de fármacos es la difusión pasiva, la cual generalmente es dependiente de dos de las principales características de los fármacos: su coeficiente de partición y su solubilidad (17). Dicha difusión estará controlada por el estrato córneo, el cual puede ser manipulado con la aplicación de algunos promotores de la permeación (ver punto 2.5) (19).

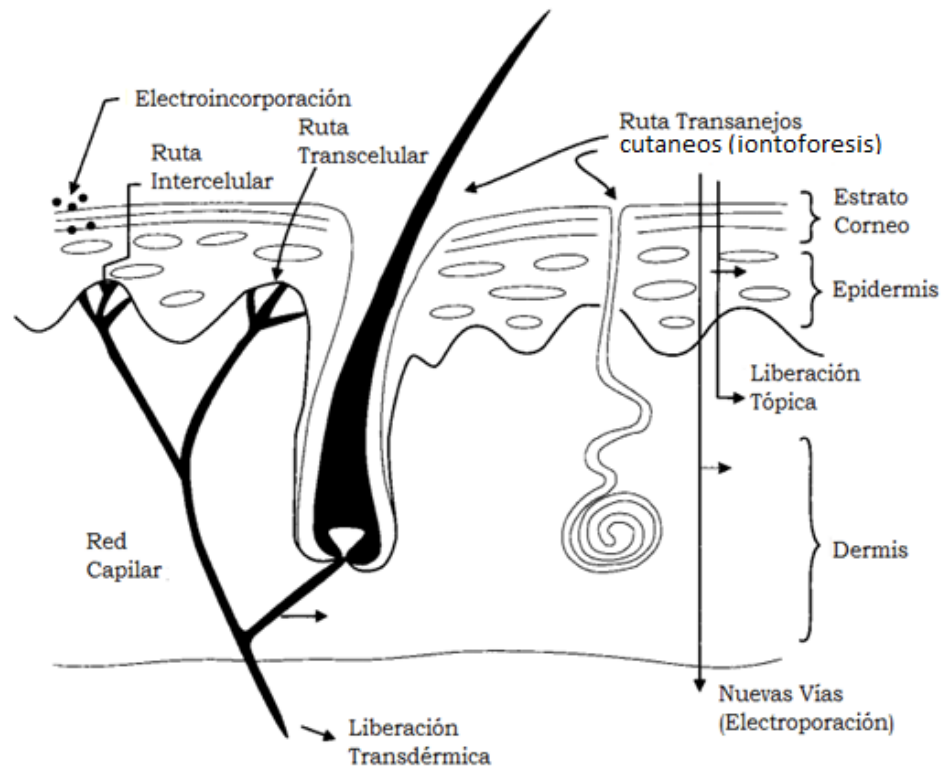
Se ha planteado que el éxito de todo sistema terapéutico transdérmico (STT) depende de la capacidad que tenga la sustancia de difundir a través de la piel en cantidades suficientes para lograr el efecto terapéutico deseado (20). Todos los sistemas de este tipo, que se encuentran actualmente en el mercado, contienen principios activos con un coeficiente de difusión dependiente de la naturaleza del polímero y del tamaño molecular del principio activo (5).

La penetración de un principio activo hasta la circulación sistémica o los tejidos circundantes involucra múltiples procesos: disolución y liberación del principio activo dentro y desde la formulación, partición dentro del estrato córneo, difusión a través del estrato córneo, partición desde el estrato córneo hacia la fase acuosa de la epidermis, difusión a través de la dermis y acceso a la circulación sistémica y/o tejidos circundantes (5) (21).

Algunas estrategias para incrementar la permeación de fármacos a través de la piel incluyen métodos pasivos y activos, o combinaciones de ambos. La permeación de las moléculas a través de esta barrera puede ocurrir mediante los anexos de la piel (folículos pilosos, glándulas sebáceas y sudoríparas) ó directamente cruzando por las células de forma transcelular o intercelular como se muestra en la Figura 2 (13).

En cualquier superficie cutánea, la penetración de fármacos cumple la ley de Fick que establece que el flujo es inversamente proporcional al espesor. Por lo tanto, es de gran utilidad conocer las zonas de la piel donde el estrato córneo es sumamente delgado. La piel del escroto es muy fina y casi tan permeable como la mucosa oral. En la cara y el

cuero cabelludo la permeabilidad también es elevada, debido a defectos en la estructura de la capa córnea y a la abundancia de folículos; en la cara la penetración es hasta 10 veces superior que en el tórax (5). Las glándulas sebáceas son más permeables que los corneocitos, por lo tanto constituyen una vía alternativa que permite que los fármacos alcancen la dermis evadiendo la impermeabilidad relativa del estrato córneo intacto (5).



**Figura 2.** Rutas del transporte de moléculas a través de la piel.

### 2.3.1. Ventajas y desventajas

Los fármacos aplicados sobre la piel, sobre un sitio bien definido, permiten al fármaco difundir desde el estrato córneo hasta la hipodermis e ingresar al torrente sanguíneo produciendo un efecto sistémico (5). En contraste con la ruta tradicional de administración de fármacos, mediante esta vía de administración se minimiza el efecto de primer paso, además de que se evita la degradación de algunos fármacos susceptibles al pH ácido del estómago, como los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), que pueden causar sangrado e irritación gastrointestinal (22). Por lo tanto, la vía



cutánea provee una alternativa para aquellos fármacos potencialmente tóxicos cuando son administrados por otras vías, para terapias prolongadas y de reemplazo (5).

La ruta transdérmica provee un método mejor controlado, no invasivo y con la ventaja de cesar la administración en caso de sobre-dosis o alguna reacción adversa medicamentosa. Sumado a esto, dicha vía permite disminuir la frecuencia de administración para medicamentos con un tiempo de vida corto y evitar las complicaciones de la administración parenteral (22). Lo anterior resulta en menores fluctuaciones en las concentraciones plasmáticas de los fármacos que son observadas en terapias orales (18).

Una de las principales desventajas de esta vía de administración, consiste en que no todos los fármacos poseen la capacidad de atravesar la piel. Una variedad de parámetros fisicoquímicos influyen en el proceso de difusión además que puede haber gran variación entre individuos y sumado a esto, las enfermedades de la piel afectan los parámetros de permeación.

Las enzimas de la piel también pueden representar un problema, ya que algunos fármacos son completamente metabolizados antes de llegar a la vasculatura cutánea. También algunos fármacos pueden ser degradados antes de atravesar el estrato córneo, por las bacterias que habitan en la superficie de la piel (22).

#### **2.4. Parches transdérmicos**

Los STT propiamente dichos son sistemas de liberación sostenida; y por tanto, su objetivo es el de suministrar el medicamento a la velocidad necesaria para conseguir y mantener una concentración plasmática constante (5).

Los parches adhesivos son la forma de presentación de los sistemas transdérmicos conocida desde hace 20 años para el tratamiento de enfermedades sistémicas (5).

El lugar de aplicación depende de la sensibilidad de la piel al fármaco y de la permeabilidad; es decir, siempre se busca la zona más permeable al medicamento y la más resistente (5).

### 2.4.1. Clasificación (pasivos/activos)

De forma práctica se abordará la clasificación de los parches en base a su método de transporte del fármaco hacia la piel. Por lo tanto, existen dos tipos de parches: activos y pasivos.

El transporte pasivo de medicamentos a través de la piel se efectúa mediante una difusión por los espacios intercelulares y en función de un gradiente de concentración.

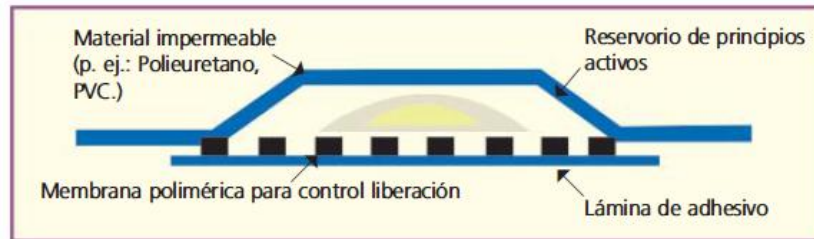
Los fármacos penetrarán por medio de difusión pasiva dependiendo de la interacción entre el fármaco, la piel y los otros excipientes. En este caso, el paso limitante de la absorción transdérmica es la transferencia del fármaco desde la superficie de la piel a través del estrato córneo. Este proceso ocurre bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión a través de las diferentes capas de la piel hasta llegar a la microcirculación. Dicha permeación está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas y la oposición que ofrece la micro-vasculatura a la liberación sistémica del fármaco. Otro factor que controla la velocidad de permeación es la densidad del medio de difusión (5).

Los parches activos acoplan a su sistema una serie de métodos, ya sean físicos o químicos (ver punto 2.5), para incrementar la permeación de fármacos a través de la piel, a la vez que permiten una liberación controlada.

### 2.4.2. Estructura/diseño

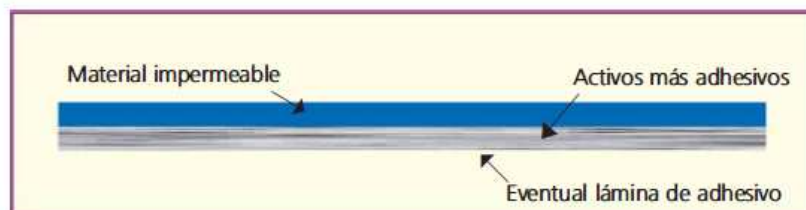
Un PTD es un sistema multicapa consistente en tres partes fundamentales: adhesivo, principio activo y potenciadores. Se reconocen varios sistemas de diseño, los principales se mencionan a continuación (5):

**Sistema de reservorio o permeación controlada con membrana:** El fármaco está contenido en un reservorio, el cual puede ser una matriz, y este se libera a través de una membrana polimérica porosa que permite el paso del fármaco de forma selectiva, creando un sistema de liberación controlada (Figura 3). La capa de polímero o lámina de adhesivo, asegura un buen contacto del parche con la piel evitando que este se desprenda parcial o totalmente (5) (23).



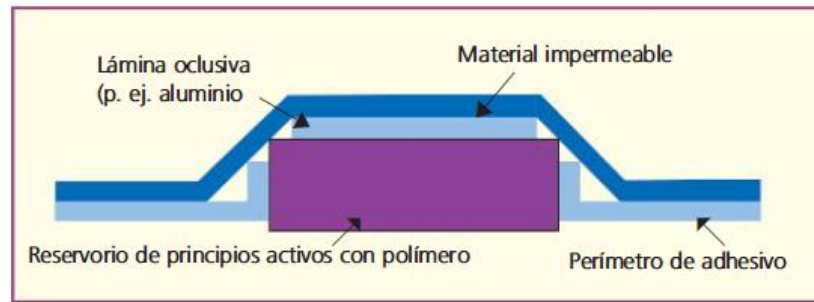
**Figura 3.** PTD con sistema de micro reservorio o permeación controlada con membrana (5).

**Sistema matricial:** Están constituidos por un disco polimérico hidrofílico o hidrofóbico (matriz), de grosor y área definidas, en el cual está uniformemente dispersado el fármaco (Figura 4). Esta matriz polimérica controla la liberación del fármaco de acuerdo a los excipientes involucrados en la formulación (5) (23). Dicha matriz se encuentra en contacto directo con la piel, por lo tanto, es importante que los excipientes que forman dicha matriz, presenten buena bioadhesión para evitar el desprendimiento del parche.



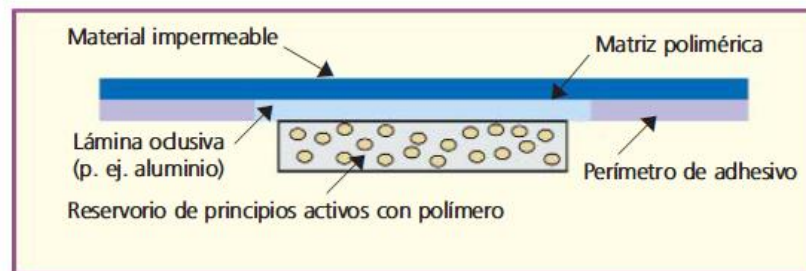
**Figura 4.** PTD con sistema matricial (5).

**Sistema de difusión controlada vía matriz:** Los principios activos están dispersos en la matriz de polímero y después situados bajo un disco de material impermeable y oclusivo (Figura 5), este último material evita el paso de aire hacia la matriz o reservorio del fármaco y, por lo tanto, hacia la piel. Dicha oclusividad provoca la apertura de los poros de la piel, y a su vez, facilita el paso del fármaco ya que disminuye la barrera difusional. La liberación de los principios activos es regulada por la matriz polimérica o reservorio (5).



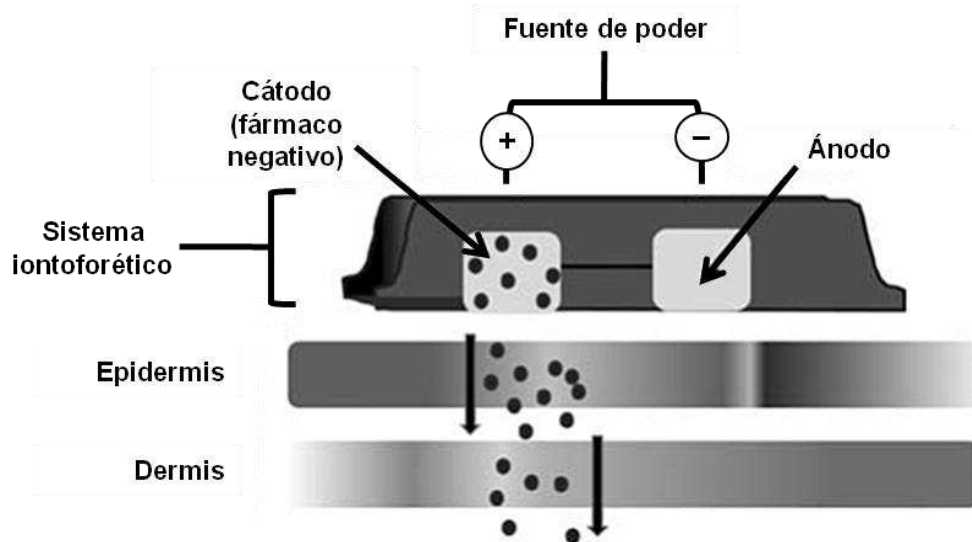
**Figura 5.** PTD con sistema de difusión controlada vía matriz (5).

**Sistema de difusión controlada mediante micro reservorios:** El fármaco está suspendido en una solución soluble en agua, la cual es homogenizada en un polímero lipofílico que forma microesferas. Dichas microesferas permiten que fármacos poco permeables pasen a través del estrato córneo. El reservorio que contiene al fármaco y los polímeros se aplica bajo una lámina oclusiva e impermeable la provoca la apertura de los poros de la piel, y a su vez, facilita el paso del fármaco ya que disminuye la barrera difusional. (Figura 6) (23).



**Figura 6.** PTD con sistema de difusión controlada mediante micro reservorios (5).

Para el caso de PTD donde se usan promotores de la permeación como lo es la iontoforesis, su diseño resulta más complejo (Figura 7). En este caso, el sistema reservorio del fármaco está diseñado sobre una matriz capaz de conducir la corriente eléctrica, ya sea de carga positiva o negativa, dependiendo de las características del fármaco, mientras que en otro extremo, se coloca otra matriz (sin fármaco) cuya función es recibir la carga contraria, con el fin de promover un flujo de corriente. De esta forma, en el momento en el que se aplica la corriente eléctrica, los iones de fármaco se repelen hacia la piel donde eventualmente son absorbidos a la circulación sistémica (24).



**Figura 7.** Diagrama de un PTD iontoforético.

En este tipo de sistemas, es importante el uso de humectantes para prevenir la pérdida de las propiedades de conductividad relacionadas con la pérdida de agua (25). También el uso de bioadhesivos resulta de relevancia; los adhesivos sensibles a la presión diseñados para los sistemas transdérmicos deben proveer fuerza cohesiva, compatibilidad con el fármaco, tolerancia a los promotores de la permeación, promoción de la liberación del fármaco, estabilidad y seguridad durante el tiempo de aplicación apropiado ya sean horas o semanas, adaptación a las condiciones de la piel (humedad, temperatura, estiramiento mecánico), formato estético (tamaño, forma). Las sustancias usualmente empleadas como adhesivos son; acrílicos, poliisobutileno y silicona, los cuales se incorporan a los parches como telas, láminas o películas (5).

Un PTD se define también por la cantidad de fármaco liberado por  $\text{cm}^2$  durante 24 h. Este parámetro permite comparar diferentes formulaciones con el fin de determinar cual formulación alcanzaría de manera efectiva la concentración plasmática de fármaco deseada. Todos los PTD comercializados hasta ahora proporcionan una mayor disposición del fármaco a medida que aumenta la superficie del parche (5).

### **2.4.3. Propiedades ideales de un PTD**

Un parche transdérmico que emplee iontoforesis deberá poseer una buena conductividad eléctrica, óptimas propiedades mecánicas, buena bioadhesión y condiciones viscoelásticas aceptables (25).

El término **bioadhesión** es empleado para describir la unión o adhesión entre un polímero sintético o natural a los tejidos. Una buena bioadhesión nos permitirá mantener la formulación en el lugar donde se aplicó inicialmente y promover el contacto íntimo de la formulación con la superficie de absorción, que en este caso es la piel. Se debe encontrar un equilibrio donde la bioadhesión permita mantener el tiempo necesario del PTD en la piel sin que sea molesta o incomoda la remoción del mismo. El mecanismo de bioadhesión sucede en tres principales etapas: humectación e hinchamiento del polímero, interpenetración entre las cadenas de polímero y las cadenas de la membrana, y por último, una formación de enlaces químicos (enlaces débiles, ya sean covalentes, por fuerzas de van der Waals y/o puentes de hidrógeno) entre las cadenas enredadas (26).

#### **2.4.4. Ventajas y desventajas**

La piel es el órgano de más fácil acceso del cuerpo humano y el uso de estos sistemas terapéuticos permiten una administración sencilla, indolora, de buena aceptación por el paciente lo cual optimiza la adherencia al tratamiento (5).

Representan una alternativa a la vía oral debido a que evitan el efecto de primer paso hepático, no se ven influenciados por cambios en tiempo de vaciado gástrico, cambios de pH, o presencia de alimento (13), además de que se obtienen niveles constantes de fármaco en plasma para lograr su efectividad terapéutica (27) (28).

Son muy útiles para sustancias con un  $t_{1/2}$  muy corta, generalmente menor de 6 a 8 h.

Permiten disminuir la frecuencia de administración y la dosis de principio activo (5).

El material impermeable y oclusivo aumenta la sudoración y evita la evaporación y la oxidación de los activos más delicados (5).

El uso de STT en pacientes con demencia proporciona otras ventajas comparado con tratamientos orales convencionales en términos de relación paciente-enfermero (18).

En la actualidad, se han desarrollado STT con la utilización de la iontoforesis de forma preprogramada, cronofarmacológica y biológicamente controlada, lo que ofrece como ventaja el controlar eficientemente el flujo de sustancias que atraviesan la piel y su adaptación a los ritmos biológicos: ritmo circadiano, ciclo menstrual (5).

Históricamente, el gran reto en el desarrollo de los STT se ha enfocado en atravesar la piel sin causar efectos dañinos, principalmente irritación local (13).

Entre sus desventajas, se encuentran las reacciones clásicas de irritación, claramente demarcadas y limitadas al área de colocación del parche. Este tipo de reacciones pueden estar acompañadas de una sensación de hormigueo, calor, y pueden o no provocar un eritema. Estos efectos se ven favorecidos por la acumulación de sudor causada por el efecto oclusivo del parche y por la proliferación de microorganismos favorecida por el incremento de la temperatura local. Algunas de las reacciones más comunes son: irritación clásica, dermatitis irritativa por contacto, dermatitis alérgica por contacto, vasodilatación con eritema, reacción alérgica generalizada y quemaduras (5).

Una forma de prevenir este tipo de reacciones adversas a los PTD, es mediante la rotación del sitio de aplicación, realizando un pre-tratamiento con corticoides tópicos y reduciendo el tiempo de permanencia del parche en la piel (5).

Las quemaduras son un riesgo cuando se emplean sistemas como la iontoforesis, para evitar este tipo de reacciones es importante alterar periódicamente la corriente unidireccional con pulsos breves de corriente en dirección opuesta (5).

A la fecha se ha reportado la eficacia terapéutica de los PTD para la administración de una serie de fármacos como: anestésicos locales, fármacos antiinflamatorios y se están ensayando insulina, factor liberador de la hormona de crecimiento, leuprorelina, hormona liberadora de la hormona luteinizante y vasopresina (5).

A continuación se enlistan algunos ejemplos de dispositivos y sistemas que emplean STT y que se encuentran en etapa de desarrollo (25):

- Sistema de administración “bajo-demanda” de fentanilo para el manejo del dolor agudo (Janssen Pharmaceutica, Belgica).
- Administración de insulina por electrotransporte (ALZA, EUA).
- Sistema de monitoreo de glucosa basado en iontoforesis reversa (Cygnus, EUA).
- Fuentes de poder reutilizables (Becton Dickinson, EUA).

- Sistema iontoforético de dexametasona sódica para el tratamiento de condiciones inflamatorias locales agudas (Iomed Inc, EUA).
- Hidromorfona para el manejo del dolor (Iomed Inc, EUA).
- Sistemas reutilizables y desechables para la administración de anti-eméticos y analgésicos (Elan Corporation, Irlanda).
- Administración local de antimicrobianos (Elan Corporation, Irlanda).

## **2.5. Promotores de la permeación**

Son numerosos los principios activos que no poseen la capacidad intrínseca de atravesar la piel de manera eficiente, por lo que ha sido necesaria la búsqueda de vías para modificar esta barrera difusional (5).

La difusión puede acelerarse empleando profármacos bioconvertibles o agregando promotores de la permeación. Los profármacos son moléculas que carecen de actividad terapéutica pero mediante bioconversión general al principio activo. Esta vía sólo es factible para aquellas sustancias que puedan mantener el equilibrio entre la forma no activa y la activa (5).

El uso de moduladores/potenciadores de la permeación es particularmente útil desde que se reportó que el incremento en la difusividad y/o solubilidad de los fármacos en la piel se puede lograr con una alteración reversible del acomodo de los lípidos del estrato córneo, con lo que se permite reducir la resistencia difusional (13).

Las innovaciones en el área de STT incluyen la incorporación de métodos físicos y /o químicos (29). Dentro de los métodos físicos podemos encontrar los que manejan corriente eléctrica, voltaje, calor, radiofrecuencia, campos magnéticos, ultrasonido y otros, para incrementar el flujo de fármacos a través de la piel, a la vez que permiten liberación a demanda o controlada y reducen las limitaciones relacionadas con peso y tamaño molecular, dosis, pH, etc. (5). Dentro de los promotores químicos se encuentran los ácidos grasos (ácido oleico, linoleico, laúrico), terpenos (mentol, limoneno), azonas, solventes aproticos, alcoholes (etanol), glicoles (propilenglicol) y surfactantes (lauril sulfato de sodio) (21). La mayoría de los estudios se concentran en el uso de promotores



que modifiquen la bicapa lipídica de la piel por uno o más mecanismos, resultando en un efecto aditivo o sinergismo (25).

El uso de promotores químicos con iontoforesis se considera como una de las mejores estrategias para incrementar la permeación de fármacos a través de la piel, combinando las ventajas de cada una de las técnicas (25) (13).

### 2.5.1. Físicos

**Iontoforesis:** Una forma de potenciar y controlar la permeación de la forma ionizada y no ionizada de principios activos es mediante el uso de la iontoforesis (24) (30). Este proceso es también conocido como iontoterapia, galvano-ionización, medicación iónica ó ionización médica (31), dicha técnica fue descrita por primera vez en 1774 por Veratti (32).

Es una técnica no invasiva basada en la aplicación de un nivel bajo de corriente eléctrica ( $<0.50 \text{ mA/cm}^2$ ) (17) (18) (30) (33) a partir de una pequeña batería la cual actuaría como un transportador de los fármacos ionizados a través de las estructuras de la piel (5) facilitando la penetración de moléculas ionizadas de elevado peso molecular (25) (13) (34).

Basándonos en el principio de que cargas iguales se repelen (Ley de Coulomb), la iontoforesis provoca una fuerza con la que moléculas de fármacos positivos se repelen del electrodo positivo (ánodo) por la piel hacia el electrodo negativo (cátodo) alcanzando la circulación sistémica mientras que los iones negativos migran en dirección opuesta, cerrando el circuito (13) (30). Por lo tanto, el electrodo donador usualmente tiene la misma polaridad del fármaco (30). Si colocamos el ánodo en el compartimiento donador (liberación de fármacos con carga positiva), estamos hablando de iontoforesis anodal, mientras que si colocamos el cátodo en el compartimiento donador, estamos hablando de una iontoforesis catodal (o inversa) la cual nos ayudaría en la liberación de fármacos con carga negativa (35) (23).

La eficiencia de la iontoforesis puede aumentarse reduciendo la existencia de iones ajenos al fármaco (30), y a su vez, la velocidad de liberación del sistema puede ser modificada variando la magnitud de la corriente aplicada, el área de aplicación y la

utilización de agentes vasoactivos y/o promotores de la permeación (5). Dicha técnica tiene dos mecanismos principales para promover el transporte molecular a través de la piel: electro-migración y electro-ósmosis (5) (18).

La electro-migración, también conocida como electro-repulsión, es la interacción directa entre el campo eléctrico y los iones presentes en la formulación con la piel (también conocida como electroforesis (36). En este mecanismo, el transporte de fármacos catiónicos desde el ánodo y fármacos negativamente cargados desde el cátodo se ven potenciados (17).

La eficiencia del transporte de fármacos, también llamada fracción de la carga total transportada por un fármaco (número de transporte  $t_d$ ) a través de la piel se puede determinar experimentalmente haciendo el cálculo de su flujo ( $J_d$ ) aplicando la siguiente fórmula:

$$J_d = I \cdot t_d / F \cdot Z_d$$

Donde  $I$  es el total del fármaco que pasó,  $F$  es la constante de Faraday y  $Z_d$  es la valencia del fármaco (17) (37).

La electro-ósmosis es posible porque la piel es una membrana cargada negativamente a pH fisiológico. Cuando un potencial eléctrico es aplicado a través de una membrana con carga, un volumen de la solución fluye en dirección de los iones en movimiento (25) (36) (38). Esto significa que para una piel cargada negativamente, el flujo electro-osmótico es en dirección del ánodo al cátodo. Este flujo de solventes transporta a través de la piel cualquier soluto disuelto, por lo tanto, promueve la liberación transdérmica de moléculas neutras ó polares. La contribución de la electro-ósmosis es mayor en el transporte de iones moleculares grandes (39) en competencia con moléculas menos grandes e iones más móviles como los electrolitos, por lo tanto, la carga electrolítica y la densidad de la corriente tendrán un gran impacto en la iontoforesis (17) (37) (38) (40).

Quizá como tercer mecanismo por el que la iontoforesis incrementa la permeación de los fármacos es la electroporación, con la cual se ve incrementada la porosidad de la piel debido al campo eléctrico (25) (36).

Guy y colaboradores sugieren que la carga de la piel, más que la carga del permeante nos indica si la electro-repulsión o electro-ósmosis es el mecanismo predominante de transporte. Por lo tanto, podría ser posible manipular dicho transporte realizando cambios en el pH de la formulación (25) (41).

Se ha demostrado que la iontoforesis aumenta el contenido de agua de la piel, y dicho incremento en la hidratación puede causar un incremento de los espacios acuosos en la bicapa lipídica, lo que resulta en una perturbación en la organización de los lípidos, de tal modo que una vez que el fármaco se introduce al estrato córneo, este puede dividirse en varias vías dependiendo de la resistencia de la membrana y la ruta del campo eléctrico. Si observamos tiempos *lag* cortos, podría indicar que la barrera limitante en la velocidad de la permeación puede ser la microcirculación de la dermis y no el estrato córneo (25).

El diseño y construcción de un sistema portable, eficiente y costo-efectivo es un área de investigación para la iontoforesis. Al momento hay algunos dispositivos en el mercado que incluyen generalmente un mecanismo de control de la corriente eléctrica, cronómetros, controlador de pulso y electrodos. Algunos diseños más novedosos permiten controlar automáticamente la administración de los fármacos con rampas de aumento de corriente en un tiempo calculado para administrar la dosis requerida de fármaco, y que además, son equipos reutilizables lo que favorece en el ámbito de los costos, lo cual es la mayor limitación en la comercialización de este tipo de dispositivos (25).

Los electrodos utilizados generalmente para la iontoforesis pueden ser clasificados como electrodos inertes (metales como acero inoxidable, platino, carbón o aluminio) ó electrodos reversibles (Ag/AgCl). Los electrodos inertes son llamados de ese modo ya que no participan en reacciones electroquímicas, las cuales son conocidas por provocar la electrólisis del agua, lo que conduce a cambios de pH. Lo anterior se ve manifestado en irritación de la piel, decremento en la permeación y estabilidad del fármaco, influencia en la dirección del flujo electro-osmótico, entre otras. Por otra parte, los electrodos reversibles superan este problema, son compatibles con la mayoría de los fármacos (25) y no provocan quemaduras en la piel (35).

Un uso interesante, es el uso de pulsos de alto voltaje por periodos cortos de tiempo (electroporación) seguidos de una iontoforesis convencional con corrientes menos fuertes, con lo que se crearían nuevas vías por electroporación haciendo más uniforme la distribución de la carga, y por lo tanto, reduciendo el potencial de irritación en la piel. Además, este enfoque puede ser útil para macromoléculas tales como la insulina que de otro modo sería difícil de administrar (25).

Generalmente se recomienda una corriente directa continua para el tratamiento de condiciones agudas y una corriente en pulsos para condiciones crónicas, lo que evita irritación en la piel. Se ha informado también que una corriente alterna causa menos quemaduras en la piel debido a la inversión de la polaridad, que genera alternativamente hidrógeno e iones hidroxilo neutralizando los iones generados en un ciclo. Lo anterior evita desviaciones en el pH, las cuales si se llegan a presentar pueden provocar irritación en la piel (25).

Es posible, aunque no cuantificable, que dicha corriente eléctrica provoque un efecto analgésico local. Esto produce un aumento de la circulación sanguínea local, tanto superficial como en el tejido celular subyacente, y también un efecto analgésico global generalmente causado por el ánodo (+), ya que este posee una acción hiperpolarizante sobre la membrana neuronal de las pequeñas fibras nociceptivas (42).

Con todo lo dicho anteriormente, la iontoforesis podría convertirse en la mejor técnica para la administración de fármacos con alto peso molecular (hasta 7 KDa, volviéndose ineficaz para pesos superiores a 24 KDa) (42) y/o a los pertenecientes al grupo III de la clasificación biofarmacéutica debido a su alta solubilidad (moléculas ionizadas) (25).

A manera de resumen, se enlista una serie de ventajas obtenidas con el uso de la iontoforesis (24):

- Liberación de fármacos ionizados y no ionizados.
- Programación para una liberación continua o pausada (dependiendo de la corriente aplicada).
- Fácil terminación de la administración del fármaco con la simple remoción del parche.

- Mejor control de la cantidad de fármaco administrada.
- Restablecimiento de la función de la piel como barrera sin producir irritación severa.
- Promoción de la liberación para moléculas polares así como de alto peso molecular.
- Uso como sistema de liberación local ó sistémica para fármacos.
- Reduce significativamente la variabilidad inter e intra individuo, ya que la permeación del fármaco es más dependiente de la corriente aplicada que de las características del estrato córneo.

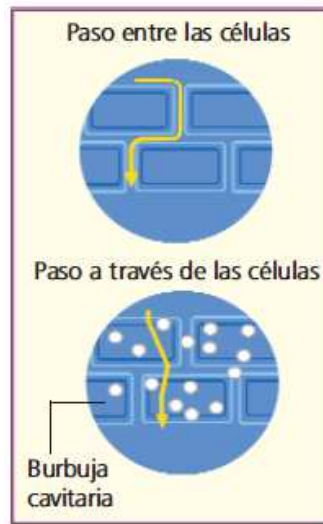
Algunos de los factores que afectan el transporte iontoforético son (35):

- a) pH: Por definición, la iontoforesis es el movimiento de iones bajo un campo eléctrico. Por lo tanto, el pH óptimo para dicha liberación es donde el fármaco se encuentre en su forma ionizada.
- b) Nivel de corriente: Se ha observado una relación lineal entre el flujo aparente y el nivel de corriente eléctrica aplicada.
- c) Competencia de iones: Las condiciones de electroneutralidad requieren que haya una cantidad similar de iones tanto negativos como positivos en un volumen dado.
- d) Concentración: Se ha observado que el flujo aparente en el estado estacionario aumenta conforme se aumenta la concentración del permeante.
- e) Corriente continua vs. pulsos: El uso de corriente continua puede resultar en la polarización de la piel, lo que reduce la eficiencia de la liberación iontoforética. Esto se puede resolver aplicando pulsos de corriente.

Actualmente ya se encuentran en el mercado algunos STT iontoforéticos, los cuales se mencionan a continuación (5):

- Lidocaína + tetracaina: Anestesia local para mini intervenciones.
- Lidocaína + epinefrina: Anestesia tópica para intervenciones mínimas.
- Fentanilo 40 µg en 10 minutos: Dolor postoperatorio agudo. Este sistema puede ser controlado por el paciente.

**Sonoforesis:** Se ha descubierto que el uso de ondas mecánicas acústicas de muy baja frecuencia (ultrasonido) permite la penetración a través de la piel de moléculas de gran tamaño. Los pulsos de ondas mecánicas de ultrasonido producen burbujas “cavitarias” (Figura 8) en las capas lipídicas, permeabilizando temporalmente la piel, facilitando el paso de grandes moléculas de fármacos, abriendo canales a través de la capa externa de las células cutáneas. Cuando cesa la acción de los pulsos de ultrasonido, los lípidos se reordenan rápidamente y la piel recobra su permeabilidad normal (5).



**Figura 8.** Permeación de moléculas grandes mediante ultrasonido.

**Microagujas:** En esta técnica se emplean micro estructuras con agujas microscópicas que crean microporos en el estrato córneo y permiten el paso de moléculas a través de estas micro-abrasiones, sin causar dolor ni sangrado. Las micro estructuras están hechas de cristales de silicona, titanio y polímeros especiales biocompatibles y biodegradables. Estos microporos disminuyen la resistencia del estrato córneo a la difusión (5). Dichas microagujas son de uso potencial como promotor en la liberación de fármacos con alto peso molecular (43).

**Radiofrecuencia:** Esta técnica es conocida como electropermeabilización, y consiste en aplicar pulsos de corriente eléctrica durante micro o mili segundos, lo cual induce la formación reversible de poros acuosos en el estrato córneo (5).

### **3.1.1. Químicos**

Su función es disminuir la resistencia difusional que ofrece la piel. Dentro de los principales compuestos empleados para este fin se encuentran: ácidos grasos, terpenos, azonas, solventes apróticos, alcoholes, glicoles y surfactantes, siendo estos últimos los más comunes (25).

Los surfactantes, también conocidos como agentes tensioactivos, comprenden una serie de compuestos con características anfífilas que cuando son aplicados sobre la piel, actúan sobre las moléculas lipídicas intercalándose en las bicapas de lípidos. Esto da lugar a defectos interfaciales formando caminos de difusión para las moléculas de fármacos (13). Los surfactantes aniónicos son útiles para promover un efecto aditivo con la iontoforesis, probablemente por la incorporación en la bicapa lipídica y/o por el incremento de la carga negativa de la piel. Es importante recalcar que el uso de promotores no siempre resulta en un efecto aditivo o sinérgico, de hecho, en algunas ocasiones reduce el flujo en comparación con el uso únicamente de la iontoforesis. Por lo tanto, el efecto combinado de los promotores químicos y la iontoforesis, dependerá de las propiedades fisicoquímicas del fármaco, polaridad de los electrodos, propiedades del promotor y su comportamiento bajo la influencia de un campo eléctrico. Además, los efectos secundarios de la combinación son generalmente provocados por el promotor químico más que por la iontoforesis (25).

Dependiendo de la estructura anfífila y la concentración empleada, se puede observar irritación local de la piel, sin embargo, los surfactantes no iónicos han sido reconocidos como los menos irritantes entre todas las clases de surfactantes (13).

Con estas nuevas tecnologías se amplía la lista de principios activos adaptables a la administración transdérmica y se reducen las limitaciones relacionadas con peso y tamaño molecular, dosis, pH, etc. (5).

### **2.5.2. Otras técnicas**

A la vez, se están innovando otras técnicas para la liberación transdérmica de fármacos donde se combinan las ventajas de algunas técnicas anteriormente mencionadas, por ejemplo: iontosonoforesis, en la cual se combina el uso de iontoforesis y sonoforesis.

También se ha utilizado una técnica en la cual se inicia con electroporación, seguido de una combinación de promotores químicos con iontoforesis o sonoforesis, creando de esta manera nuevas oportunidades para la liberación de fármacos (25).

Otros estudios reportan el uso de iontoforesis combinado con microagujas. Con dicha técnica, la penetración de fármacos con elevado peso molecular y/o alta solubilidad (como lo es el caso de péptidos como la insulina) se ve favorecida significativamente (43).

Es importante tener en cuenta que todo promotor de la permeación debe ser seguro, no tóxico, farmacológicamente inerte, no irritante, no alergénico y debe ser capaz de removerse fácilmente para la rápida recuperación de la función de barrera de la piel (5).

### **3.4. Selección de fármacos candidatos para administración transdérmica**

El primer requerimiento para que un compuesto penetre la piel es su habilidad para salir de la formulación y entrar al estrato córneo y estas características dependerán del coeficiente de partición del compuesto. Aparentemente, un coeficiente de partición o/w alto favorecerá el paso a través del estrato córneo, sin embargo, es una desventaja para su partición a nivel de epidermis viable, ya que esta región tiene un carácter mayormente hidrofílico (44).

En forma general, la capacidad de los fármacos de difundir a través de las membranas biológicas depende de su peso molecular (< 500 Daltons), del tamaño molecular, del grado de ionización y solubilidad; el equilibrio entre la liposolubilidad e hidrosolubilidad (coeficiente de octanol/agua entre 1 y 3), resistencia a la epidermis, elevada potencia farmacológica (dosis < 50 mg/día), ausencia de propiedades irritantes para la piel, estabilidad a temperatura ambiente y otros (5) (13).

### **3.5. Losartán**

Losartán es un fármaco antagonista de los receptores AT<sub>1</sub> de la angiotensina II, la cual está asociada con el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda siendo un fuerte factor de riesgo de morbilidad cardiovascular y muerte, por lo que el bloqueo de estos receptores es eficaz en la reversión de este padecimiento (45) (3).



Según el estudio LIFE (Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hipertensión), losartán redujo significativamente el riesgo de sufrir un infarto al miocardio, además de la aparición de nuevos casos de diabetes comparado con atenolol, siendo este último un fármaco beta-bloqueador de primera elección en el tratamiento de la hipertensión (45) (46) (3).

### 3.5.1. Nomenclatura y estructura química

La fórmula molecular de Losartán potásico es  $C_{22}H_{22}ClKN_6O$ . En la Figura 9 se observa la estructura química para la base y en la Figura 10 para la sal potásica.

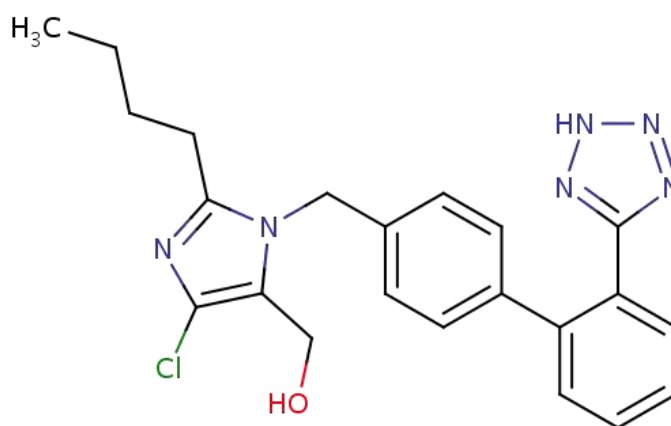


Figura 9: Estructura química de losartán base.

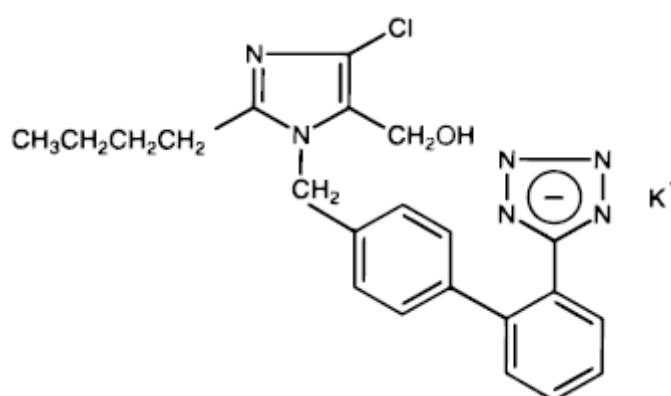


Figura 10: Estructura química de la sal potásica de losartán.

### **3.5.2. Propiedades físicas y químicas:**

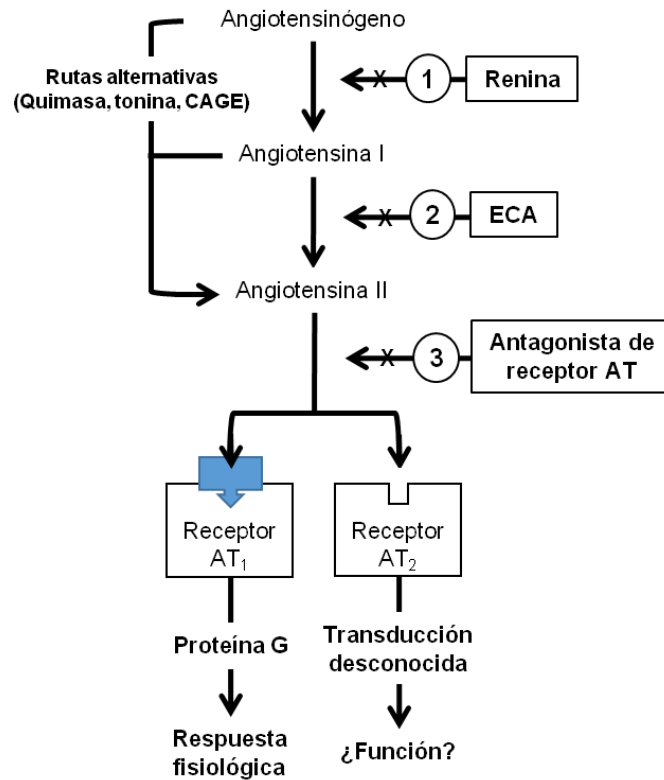
Losartán potásico es un fármaco en forma de polvo cristalino blanco a blanco opaco con un peso molecular de 461.04 g/mol para la sal monopotásica. Su punto de fusión para la base es de 183.5 -184.5 °C y de 260 – 270 °C para su forma cristalina como sal potásica. Tiene un pka de 5 – 6 y es libremente soluble en agua (3.3 mg/mL a pH 7.8), alcoholes y ligeramente soluble en solventes orgánicos comunes como acetonitrilo y metil-etil cetona. Su número de identificación CAS es el 124750-99-8 (47) (48).

### **3.5.3. Farmacología**

Los antagonistas o bloqueadores de los receptores AT<sub>1</sub> de la angiotensina II se han posicionado como terapia de primera línea tanto en monoterapia como en terapia combinada, debido a que han mostrado ser eficaces en el control y reducción de la presión arterial, con un buen perfil de seguridad y menor incidencia de efectos adversos, comodidad de posología y el respaldo científico que muestra beneficios en organoprotección y como coadyuvante en el control de factores de riesgo asociados (3). Losartán fue uno de los primeros fármacos de una nueva clase de antagonistas del receptor AT<sub>1</sub> de la angiotensina II para el tratamiento de la hipertensión (45) (49). Se considera dentro del grupo III de la clasificación biofarmacéutica debido a su alta solubilidad y baja permeabilidad (48) (50).

### **3.5.4. Mecanismo de acción**

Losartán se une con gran afinidad y especificidad al receptor AT<sub>1</sub> de la ARA II con un muy bajo índice de disociación, es 30,000 veces más selectivo para dicho receptor que para el receptor AT<sub>2</sub>. En la Figura 11 se muestra el diagrama del sistema renina-angiotensina y el punto donde actuaría un antagonista de los receptores de ARA II como lo es losartán.



**Figura 11.** Cascada del sistema renina angiotensina y posibles medidas para bloquearlo (51).

### 3.5.5. Farmacocinética

Losartán es bien absorbido y su biodisponibilidad no se ve afectada por presencia de alimento (51), tiene una biodisponibilidad baja de aproximadamente 33% ( $35.8 \pm 15.5$ ), se une a proteínas plasmáticas en un 98.7%, su tiempo de vida media oscila entre 1.5 y 2.5 h y tiene un volumen de distribución de  $0.45 \pm 0.24$  L/Kg (52) (48) (50). Sufre un metabolismo de primer paso hepático por medio del citocromo P450, donde 14% es convertido en el metabolito más activo EXP3174 (ácido 5-carboxílico) y el resto en metabolitos inactivos (52). EXP3174 es aproximadamente 10 veces más afín al receptor AT<sub>1</sub> que losartán. Después de la administración oral, las concentraciones plasmáticas máximas para losartán y su metabolito activo son de  $296 \pm 217$  ng/mL y  $249 \pm 74$  ng/mL, respectivamente, después de una dosis única de 50 mg por vía oral (tableta). Dichas concentraciones se observan en  $1.0 \pm 0.5$  para losartán y en  $4.1 \pm 1.6$  h para EXP3174 (52).

Losartán y EXP3174 son eliminados por excreción urinaria (12% apróx.) y biliar (52), no se ha detectado acumulación alguna después de 7 días de administración (51).

### **3.5.6. Formas de dosificación disponibles en el mercado**

Actualmente, losartán potásico se encuentra disponible en forma de sólidos orales, en dosis de 12.5, 50 y 100 mg (3). El laboratorio innovador (Merck, Sharp & Dohme) lo denominó en su forma comercial como Coozar®. Actualmente, otros laboratorios (Bioquimed, SBL Pharmaceuticals, Vanquish, entre otros) han liberado al mercado la forma genérica de losartán.

### **3.5.7. Tratamiento**

La dosis recomendada para losartán es de 25 a 100 mg/día en 1 ó 2 tomas (52).

### **3.5.8. Pacientes**

Losartán potásico (antagonista de la ARA II) está dirigido a pacientes con síndrome metabólico o diabetes mellitus, con proteinuria o daño renal, disfunción ventricular sistólica aún asintomática, hipertrofia ventricular izquierda (aunque todos los grupos farmacológicos han demostrado regresión de hipertrofia ventricular, los IECA y ARA II son los que tienen mayor grado de regresión en menor tiempo) (3).

## **3.6. Componentes de los PTT diseñados**

### **3.6.1. Losartán potásico (ver punto 3.5)**

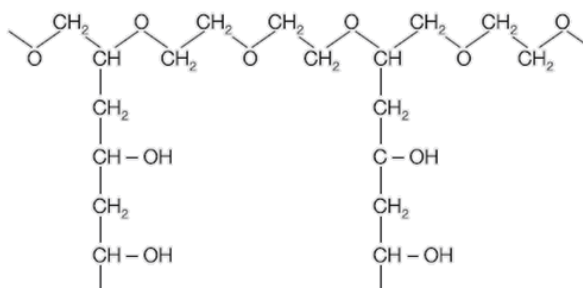
### **3.6.2. Kollicoat IR®**

Kollicoat IR® es un producto de la compañía BASF (Alemania). Es un producto utilizado por la industria farmacéutica para la producción de productos medicinales. Su prefijo IR hace referencia a "Instant Release" (liberación inmediata), es un polímero neutro utilizado principalmente en recubrimientos acuosos de tabletas y se presenta comercialmente en forma de polvo blanco (53).

Kollicoat IR® es un copolímero de polietilenglicol y alcohol polivinílico en una proporción de 25:75, respectivamente y es un coprocesado (optimización de un excipiente mediante la adición de 1 o más excipientes, que bajo ciertas condiciones de proceso mejoran sus características de reología, estabilidad físico-química, entre otras) con 0.3% de silica gel

con el fin de mejorar sus características de flujo. Su peso molecular es de 45,000 g/mol aproximadamente, su punto de fusión es cercano a los 209 °C y es soluble en agua hasta en concentraciones mayores al 50% P/V. En la Figura 12 se muestra su estructura química (53).

La flexibilidad y plasticidad de Kollicoat IR<sup>®</sup> es significativamente mayor en comparación con otros formadores de película como la hipromelosa (HPMC), lo cual es una ventaja al usarlo en la formulación de PTD (53).



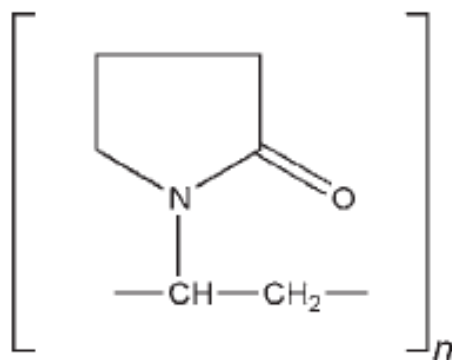
**Figura 12.** Estructura química de Kollicoat IR<sup>®</sup>.

En el presente trabajo, Kollicoat IR<sup>®</sup> fue utilizado como agente formador de película. Según la USP 37 (54), los agentes formadores de película usados como matriz de la formulación de los sistemas tópicos de liberación de fármacos o en conjunto dichos sistemas comprenden una película no pegajosa pero adherente, que se aplica a la superficie de la piel, completa o parcialmente.

### 3.6.3. Polivinilpirrolidona (PVP)

El PVP es un polímero sintético comercializado en la industria farmacéutica en diferentes grados de polimerización. En el presente trabajo, se usó el polímero PVP K-30, conocido comercialmente como Kollidon<sup>®</sup> 30, presentado en forma de polvo fino color blanco a ligeramente amarillo, inodoro e higroscópico. La funcionalidad del PVP en las formulaciones fue como agente formador de película al igual de Kollicoat IR<sup>®</sup>.

El PVP tiene un peso molecular aproximado de 50,000 g/mol y dentro de sus principales usos en la industria farmacéutica se encuentran el de disgregante, promotor de la disolución, agente de suspensión y aglutinante en tabletas. Su punto de fusión es cercano a los 150 °C y es libremente soluble en ácidos, cloroformo, etanol (95%), cetonas, metanol y agua. En la Figura 13 se muestra su estructura química (55).

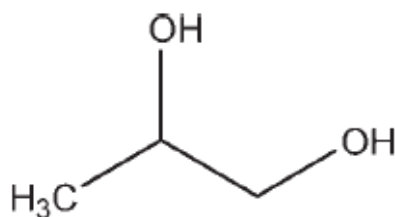


**Figura 13.** Estructura química de la polivinilpirrolidona.

#### 3.6.4. Propilenglicol

Las aplicaciones del propilenglicol son amplias en la industria farmacéutica. Sus principales aplicaciones son como conservador antimicrobiano, humectante, desinfectante, plastificante, solvente, agente estabilizante y cosolvente miscible en agua. Para el presente trabajo, la capacidad del propilenglicol como humectante fue su principal aportación.

El propilenglicol tiene un peso molecular de 76.09 g/mol y es un líquido claro, sin color, prácticamente inodoro, de apariencia similar a la glicerina. Es miscible en acetona, cloroformo, etanol (95%), glicerina y agua. En la Figura 14 se muestra su estructura química (56).



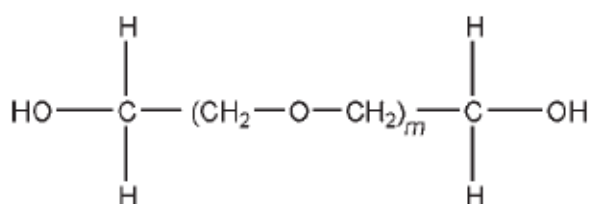
**Figura 14.** Estructura química del propilenglicol.

#### 3.6.5. Polietilenglicol 8000

El polietilenglicol es un polímero utilizado ampliamente en la industria farmacéutica como base de ungüentos, plastificante, solvente, base de supositorios y lubricante de cápsulas y tabletas. Se caracteriza por ser un polímero estable y no irritante con la piel, por lo que

es ampliamente usado en formulaciones tópicas, en este caso, como agente plastificante.

Comercialmente, hay una gran variedad de grados de este polímero. En el presente trabajo se utilizó el polietilenglicol 8000, es un sólido en forma de escamas de color blanco a blanco opaco y con un olor ligeramente dulce. Tiene un peso molecular de 7,000 a 9,000 g/mol, un punto de fusión de 60 a 63 °C y es libremente soluble en agua, acetona, diclorometano, etanol (95%) y metanol. En la Figura 15 se muestra su estructura química (57).

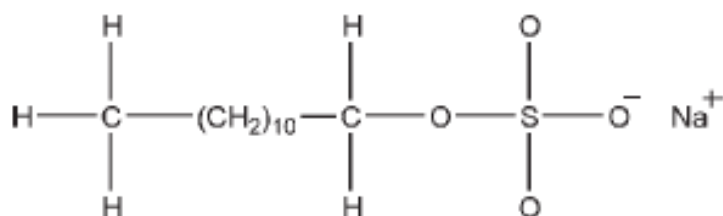


**Figura 15.** Estructura química del polietilenglicol.

### 3.6.6. Lauril sulfato de sodio

El lauril sulfato de sodio es utilizado en la industria farmacéutica principalmente como surfactante aniónico, también tiene usos como detergente, agente emulsificante, lubricante de cápsulas y tabletas, agente humectante y limpiador para la piel en aplicaciones tópicas. La principal aportación de este excipiente fue su acción como surfactante, además de su acción limpiadora al aplicarlo sobre la piel.

Es un polvo blanco a blanco-amarillento con sabor amargo y olor ligeramente a grasa. Tiene un peso molecular de 288.38 g/mol y un punto de fusión de 204 a 207 °C para la sustancia pura. Es libremente soluble en agua formando una solución opalescente, en la Figura 16 se muestra su estructura química (58).



**Figura 16.** Estructura química del lauril sulfato de sodio.

### 3.7. Métodos para evaluar el paso de fármacos a través de la piel

#### 3.7.1. *In vitro*

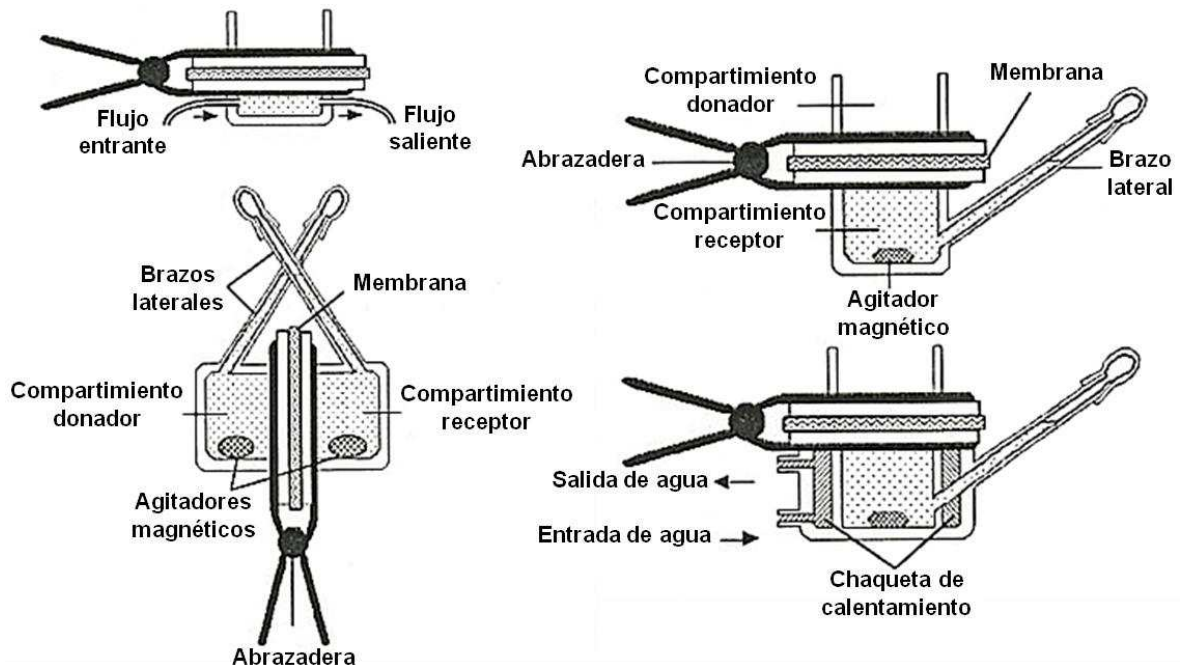
**Celdas de difusión:** Para la aplicación de esta técnica se debe asumir que el compartimiento receptor mantiene condiciones sink, la disminución en la concentración del compartimiento donador es insignificante y que la membrana es homogénea (59).

Se emplean generalmente 2 tipos de celdas de difusión, las cuales están compuestas por 2 compartimientos que pueden estar acomodados en forma vertical (tipo Franz) y horizontal. Dichas celdas pueden ser simples o enchaquetadas y deben ser de un material inerte como vidrio, teflón ó acero inoxidable. El volumen del compartimiento receptor va de entre 2 a 10 mL y el área de exposición a la membrana va de 0.2 a 2 cm<sup>2</sup>. El compartimiento donador puede estar bajo condición oclusiva o abierto dependiendo de los objetivos de cada estudio en particular. La piel (membrana) se debe colocar entre el compartimiento donador y receptor. Además, es importante que en el caso de que el acomodo de dichas celdas sea vertical, el compartimiento receptor debe mantenerse en agitación constante, y si se trata de un acomodo horizontal, ambos compartimientos deben mantenerse en agitación. Tomar la muestra correctamente, reponer el medio de forma precisa y evitar la formación de burbujas por debajo de la piel durante el muestreo son consideraciones de vital importancia (59).

En la Figura 17 podemos observar algunos diseños de las celdas de difusión anteriormente mencionadas.

**Otras técnicas *in vitro*:** Hay una variedad de técnicas utilizadas para evaluar la permeación *in vitro*, a continuación se mencionarán algunos ejemplos. La técnica conocida como “Skin-Stripping” y consiste en aplicar el permeante (fármaco o molécula de interés) sobre la piel por un periodo de tiempo determinado, posteriormente, se remueve de la superficie de la piel con un lavado y se retiran capas del estrato córneo con ayuda de una cinta adhesiva para finalmente cuantificar el permeante retenido en las cintas (59).





**Figura 17.** Diseños básicos de celdas de difusión (59).

Otra de las técnicas empleadas es la “Reflectancia total atenuada (ATR)-Transformada de Fourier en espectroscopia infrarroja (FTIR)”. Consiste básicamente en colocar la membrana sobre la superficie de un cristal de ATR, montado en un espectrómetro; se coloca una cubeta poco profunda en la parte superior de la membrana y se sella con vaselina. El haz de IR penetra en la membrana a una profundidad de 2 – 3  $\mu\text{m}$ , por lo tanto, conforme el permeante entra en la región interfacial, hay un aumento en las áreas de los picos de IR (59).

### 3.7.2. *In vivo*

La técnica más usada *in vivo* es mediante el análisis de excreción urinaria y fecal a través del tiempo. Es muy útil para evaluar la absorción total, es no invasiva y puede utilizarse en humanos (59).

Otra de las técnicas más comunes es la de “Skin Grafting”, que consiste en hacer injertos de piel humana (normal o cultivada) en roedores de laboratorio. En la zona de injerto se coloca el permeante y se evalúa su paso a través de la piel midiendo las concentraciones plasmáticas a diferentes tiempos (59).

La técnica de “Skin-Stripping”, mencionada anteriormente en las técnicas *in vitro*, también puede ser empleada en humanos o modelos animales (59).

Dentro de otras técnicas se encuentran: Análisis de residuos (mide la cantidad de permeante remanente en la piel), microdiálisis, medición farmacodinámica, evaluación clínica, entre otras (59).

#### **4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Uno de los factores etiológicos de las enfermedades cardiovasculares según el estudio de Framingham, es la edad, a medida que la población envejece la prevalencia de la HTA aumenta, a menos que se tomen medidas preventivas y tratamientos adecuados (60) (2) (61).

Hay una serie de medicamentos destinados al tratamiento de la hipertensión, sin embargo, estos fármacos son administrados por vía oral, la cual presenta algunas desventajas como: efecto de primer paso hepático, irritabilidad gastrointestinal, absorción irregular y biotransformación.

La administración de fármacos antihipertensivos a través de la piel, se puede favorecer con el uso de promotores de la permeación, debido a la ionización de los mismos al encontrarse en solución acuosa.

#### **5. HIPÓTESIS**

La forma ionizada de losartán aplicada vía transdérmica en parches formulados a base de polímeros hidrofílicos, empleando un promotor de permeación como lo es la iontoforesis, favorecerá la absorción percutánea del fármaco, representando una alternativa a la vía oral.

#### **6. OBJETIVOS**

##### **6.1. Objetivo general**

Desarrollar y caracterizar un parche transdérmico (PTD) que contenga losartán como principio activo y emplear como promotor físico de la permeación la iontoforesis, con el fin de determinar si la penetración percutánea del fármaco se ve favorecida significativamente.

## 6.2. Objetivos particulares

- Elaborar una formulación de losartán en parches transdérmicos que presenten buenas características fisicoquímicas, mediante la técnica de vaciado en placa.
- Realizar la caracterización fisicoquímica (calorimetría diferencial de barrido, microscopia de luz polarizada, estudios de bioadhesión pre y post humectación en voluntarios, pruebas de resistencia a la ruptura, pH superficial, constricción, dimensiones, peso promedio) de los parches transdérmicos de losartán formulados previamente.
- Diseñar y validar un método analítico adecuado para la cuantificación de losartán en los parches transdérmicos y durante las pruebas de disolución, uniformidad de contenido y permeación.
- Obtener los perfiles de disolución para evaluar el comportamiento de la liberación del fármaco en función del tiempo.
- Evaluar la permeación cutánea *in vitro* de los parches transdérmicos en celdas de difusión tipo Franz por difusión pasiva y aplicando la técnica de iontoforesis.
- Obtener los parámetros de coeficiente de permeabilidad ( $k_p$ ), flujo y tiempo de latencia mediante los perfiles de permeación en celdas de difusión tipo Franz (concentración de losartán en función del tiempo) del parche transdérmico formulado.

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

### 7.1. Materiales

#### 7.1.1. Principio activo y excipientes

Losartán Potásico USP (donación BRULUART), Kollicoat IR (BASF, Alemania), Propilenglicol, PEG 8000 (donación MSD), PVP Kollidon 30 (BASF, Alemania), Lauril Sulfato de Sodio (HYCEL, México).

### **7.1.2. Cristalería**

Vasos de precipitado de 150 mL, varillas de vidrio, naves para pesado, matraz volumétrico de 10, 25, 100 y 250 mL, pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 10 mL, pipetas Pasteur de 2 mL, celdas de difusión tipo Franz, viales de vidrio.

### **7.1.3. Reactivos y otros**

Hidróxido de Sodio en escamas (J.T. Baker, Mexico), Ácido Fosfórico (REASOL MR., México), Fosfato dibásico de Sodio (Fermont, México), Cloruro de Plata Reagent Plus® 99 (Sigma-Aldrich, EUA), Plata grado reactivo (donación), HEPES (SIGMA-Aldrich, EUA), Cloruro de Sodio (donación), tiras reactivas para pH rango 1-14 (FIORONI, Francia), película encerada para sellado de envases (PARAFILM, EUA), filtros maya de nylon 0.2 µm (WATERS, México).

### **7.1.4. Equipos**

Calibrador vernier (modelo CALDI-6MP Truper, México), agitador magnético multiplaza (modelo MS-H-S10, Science MED, EUA), dispersor mecánico (Extraturrex modelo Q252-28, QUIMIS, México), disolutor aparato 5 con 6 unidades (MAYASA, México), sonicador (modelo 8892, México), espectrofotómetro UV-Vis (modelo CARY 100, VARIAN, EUA), texturómetro (modelo T1-XT2, Texture Technologies, EUA), microscopio electrónico (modelo VE-B1, VELAB, México), balanza analítica (modelo VE-204, VELAB, México), potenciómetro (modelo SM-38W, Science MED, EUA), fusiómetro (modelo 2555, Fisher Scientific, EUA), calorímetro de barrido diferencial (METTLER TOLEDO, Suiza), fuente de poder (modelo 382203, EXTECH, EUA).

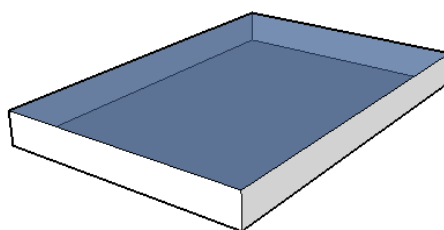
### **7.1.5. Análisis estadístico**

Todo el análisis estadístico se realizó en el programa SPSS v.17.

## **7.2. Formulación de PTD.**

La formulación de los PTD se llevó a cabo realizando una serie de combinaciones entre polímeros, agentes plastificantes, humectantes y otros con el fin de obtener una formulación con las mejores características físicas que nos permitieran seguir adelante con el resto de las pruebas.

La preparación de los parches se realizó conforme el siguiente procedimiento: excipientes y principio activo fueron pesados con la mayor precisión posible, posteriormente, los excipientes se disolvieron en agua destilada y una vez observada una mezcla homogénea, se incorporó el principio activo hasta disolver completamente. Una vez preparada esta solución, se sometió a un proceso de sonicado para disolver pequeñas partículas aglomeradas y eliminar la mayor cantidad de burbujas de aire formadas durante la agitación. Finalmente, dicha solución se vació en un molde de acetato con un área de 99 cm<sup>2</sup> (Figura 18) fabricado previamente (4). Los parches se dejaron secar por un tiempo aproximado de 2 días a temperatura ambiente y una vez secos fueron almacenados en un contenedor hermético para evitar la pérdida excesiva de humedad.



**Figura 18.** Molde de acetato con dimensiones de 99 cm<sup>2</sup> (9 x 11 cm).

### **7.3. Caracterización de excipientes y principio activo.**

#### **7.3.1. Apariencia**

Se observaron y describieron las características de cada uno de los componentes de los PTD, observadas a simple vista y en microscopio óptico.

#### **7.3.2. Determinación del punto de fusión**

Se determinó el punto de fusión en un fusiómetro para losartán potásico como prueba de identificación para el principio activo y como punto de referencia para la prueba de DSC.

#### **7.3.3. Absorción UV-Vis**

Se realizó un barrido en un espectrofotómetro UV-Vis en un rango de longitud de onda de 190 a 400 nm para cada uno de los componentes empleados en la formulación de los parches. Se prepararon las muestras de acuerdo a la concentración de cada

componente en un PTD (Tabla 1). Las diluciones se prepararon mediante el siguiente procedimiento:

Losartán potásico: Pesar 25 mg y aforar en un matraz volumétrico de 10 ml con agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 10 µg/ml.

Polivinilpirrolidona (PVP): Pesar 25 mg y aforar en un matraz volumétrico de 10 ml con agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 10 µg/ml.

Kollicoat IR: Pesar 18.75 mg y aforar en un matraz volumétrico de 10 ml con agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 7.5 µg/ml.

Propilenglicol: Pesar 25 mg y disolver en 40 ml de agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 2.5 µg/ml.

PEG 8000: Pesar 15 mg y disolver en 40 ml de agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 1.5 µg/ml.

Lauril Sulfato de Sodio: Pesar 12.7 mg y disolver en 80 ml de agua destilada, posteriormente, tomar una alícuota de 1 ml y aforar a 25 ml y finalmente, de esta última dilución, tomar 1 ml y aforar a 10 ml. Concentración final teórica: 0.64 µg/ml.

**Tabla 1: Cantidad unitaria de excipientes y principio activo por parche para la formulación**

Componente	Cantidad (mg)		
	0% LSS	1% LSS	2% LSS
Losartán	100	100	100
PVP Kollidon 30	100	100	100
Kollicoat IR	75	75	75
PG	25	25	25
PEG 8000	15	15	15
Lauril Sulfato de Sodio	--	3.2	6.4
Agua	15 ml	15 ml	15 ml
<b>Total</b>	<b>315 mg</b>	<b>318.2 mg</b>	<b>321.4 mg</b>

## **7.4. Evaluación física de los PTD**

### **7.4.1. Dimensiones**

De las placas obtenidas a partir de la elaboración de los PTD, se cortaron con una forma cilíndrica 10 PTD de cada formulación y se midió con un calibrador vernier su diámetro y grosor, tomando la medida de diferentes puntos con el fin de obtener una medición adecuada.

### **7.4.3. Determinación de pH superficial**

Se colocaron 250 µL de agua destilada sobre la superficie de los PTDs de cada formulación y se dejó transcurrir un tiempo de 2 minutos. Posteriormente, se midió el pH de la superficie de los parches con tiras reactivas para pH (n= 10).

### **7.4.4. Determinación del porcentaje de constricción**

Se midió el diámetro de los parches a tiempo inicial y a los 30 minutos de haberlos despegado de su base. También se midieron las dimensiones a tiempo 0, 15, 30, 60 y 90 días sin haberlos despegado de su base. En ambas situaciones, los parches se mantuvieron expuestos al medio ambiente. Posteriormente, se calculó el porcentaje correspondiente a la disminución en el diámetro de los parches, empleando la siguiente fórmula:

$$\% \text{Constricción} = (D_1 - D_2 / D_2) * 100$$

Donde,  $D_1$  es la medición inicial y  $D_2$  la medición final. El resultado obtenido corresponde al porcentaje de constricción (28).

### **7.4.5. Determinación de bioadhesión de los PTD**

Se realizó la prueba en el antebrazo de voluntarios sanos (n = 3) sin tratamiento farmacológico o cosmético previo de al menos 12 horas. Se cortaron parches circulares de 2.9 cm de diámetro y se colocaron en un émbolo cilíndrico (cilindro perplex) de un texturómetro. Los voluntarios colocaron el antebrazo en la parte baja del texturómetro para posteriormente iniciar el descenso del émbolo cilíndrico a una velocidad de 1 mm/s hasta entrar en contacto el parche adherido a la sonda cilíndrica con el antebrazo de los voluntarios, se aplicó una fuerza de compresión de 200 g por 10 s. Finalmente, el parche

se removió a una velocidad de 10 mm/s hasta obtener una distancia de separación de 10.5 cm. Se midió la fuerza necesaria que se requiere para remover el parche de la piel (n = 10) (62).

#### **7.4.6. Determinación de bioadhesión post-humectación de los PTD**

La prueba de bioadhesión post-humectación es similar a la prueba anteriormente mencionada para bioadhesión con la variante de humectar previamente los parches con agua destilada, empleando un atomizador de gota fina a 30 cm de distancia de la placa, 10 minutos antes de la prueba. Se midió la fuerza necesaria que se requiere para remover el parche de la piel (n= 10) (62).

#### **7.4.7. Determinación de resistencia a la ruptura de los PTD**

Se realizó la prueba de resistencia en el mismo equipo texturómetro empleado en las pruebas de bioadhesión, pero en esta ocasión se empleó un aditamento con forma de pinzas para sostener los extremos de una tira de parche con un área aproximada de 45 cm<sup>2</sup>. Las condiciones de análisis fueron 2.0 mm/s para la velocidad de pre-ensayo y 1.00 mm/s de velocidad de ensayo a una distancia de estiramiento de 150 mm con una fuerza de 100 g. Se determinó la fuerza necesaria a la cual el parche se rompe (n= 12) (62).

### **7.5. Evaluación de la compatibilidad entre excipientes y fármaco en los PTD**

#### **7.5.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB)**

Se realizó la prueba en un calorímetro diferencial de barrido a cada uno de los componentes de los PTD y posteriormente a las formulaciones con el fin de evaluar incompatibilidad entre excipientes y principio activo. Dicha prueba se realizó en un rango de temperatura de -25 °C a 300 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/minuto en atmósfera de nitrógeno empleando para la colocación de la muestra una charola de aluminio estándar.

#### **7.5.2. Análisis microscópico**

Se examinaron muestras circulares de cada uno de los parches por medio de un microscopio electrónico para verificar que no haya presencia de cristales. El análisis de las muestras se realizó a tiempo 0, 30, 60 y 90 días de haber preparado los PTD (4).



## **7.6. Cuantificación de losartán en los PTD**

Se tomaron muestras de PTD de masa correspondiente al peso de los parches individuales para cada una de las formulaciones, dichas masas están descritas en la Tabla 1. La masa de los parches tiene un alto contenido de agua, por lo que se debe hacer el cálculo del contenido de humedad para saber que masa debemos pesar con el fin de obtener en peso seco la masa correspondiente a cada parche según la formulación (ver ANEXO A). Una vez pesados los parches, se disolvieron individualmente en 40 ml de agua destilada con ayuda de un agitador magnético multiplaza, ya disueltas las muestras, se sometieron a sonicación por 5 minutos para eliminar las burbujas formadas durante la agitación. En seguida se tomó una alícuota de 1 ml y se aforó a 25 ml con agua destilada en un matraz volumétrico. Posteriormente, se tomó una nueva alícuota y se aforó a 10 ml. Se leyó la respuesta analítica haciendo uso del factor de corrección PVP/LOS (ver anexo B punto 8.4) y se calculó el contenido de losartán en cada parche empleando la ecuación de una curva de calibración preparada previamente (n = 10). Dicha curva de calibración se muestra en el anexo B, punto 8.5.2.

## **7.7. Perfil de disolución de los PTD**

Se realizaron los perfiles de disolución de los PTD en un disolutor aparato 5 para 6 unidades (paletas sobre disco). Los parches previamente cortados y pesados se colocaron en el fondo de un vaso de cristal para disolutor, adheridos a un aditamento de acero inoxidable recubierto con teflón (63) (54). Se colocaron 900 mL de solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4 (previamente desgasificada por medio de agitación vigorosa a 45 °C) como medio de disolución. La temperatura se mantuvo a 32 °C (54) y se programó el equipo a una agitación de 50 rpm (64) durante toda la duración del experimento. Se tomaron muestras de 3 mL a diferentes tiempos durante 3 horas, reemplazando el volumen tomado con la misma solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4. Una vez obtenidas las muestras se procedió a realizar diluciones de la siguiente manera: de las muestras tomadas durante los primeros 15 minutos se tomaron 2 mL y se aforaron en un matraz volumétrico de 10 mL con agua destilada. De las muestras tomadas después de los 16 minutos, se tomó 1 mL y se aforó igualmente en un matraz de 10 mL con agua destilada. Posteriormente, se midió la respuesta analítica en un

espectrofotómetro a 205 nm, haciendo uso del factor de corrección PVP/LOS (ver anexo B punto 8.4) y se graficó el porcentaje de fármaco disuelto en función del tiempo.

Con el fin de determinar la cinética de liberación del fármaco, los datos fueron ajustados a modelos de orden cero, primero orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer-Peppas mediante las siguientes ecuaciones (65) (66):

**Orden cero:**  $Q_t = Q_0 + K_0t$

Donde  $Q_t$  es la cantidad disuelta a tiempo  $t$ ,  $Q_0$  es la cantidad inicial en el medio de disolución (la mayoría de las veces,  $Q_0 = 0$ ) y  $K_0$  es la constante de liberación de orden cero expresada en unidades de concentración/tiempo.

**Primer orden:**  $\text{Log}\%C_t = \text{Log}\%C_0 - K_1t/2.303$

Donde  $\%C_t$  es el porcentaje no disuelto,  $\%C_0$  es el porcentaje inicial del fármaco,  $K_1$  es la constante de velocidad de liberación de primer orden y  $t$  es el tiempo.

**Higuchi:**  $Q_t = K_H \sqrt{t}$

Donde  $Q_t$  es la cantidad de fármaco liberada a tiempo  $t$  por área,  $K_H$  es la constante de disolución de Higuchi.

**Hixson-Crowell:**  $W_0^{1/3} - W_t^{1/3} = K_s t$

Donde,  $W_0$  es la cantidad inicial de fármaco en la forma farmacéutica,  $W_t$  es la cantidad remanente o fármaco no disuelto a tiempo  $t$  y  $K_s$  es la constante de liberación del modelo.

**Korsmeyer Peppas:**  $M_t/M_\infty = K_k t^n$

Donde  $M_t/M_\infty$  es la fracción de fármaco disuelto a tiempo  $t$ ,  $K$  es la constante de velocidad de liberación y  $n$  es el exponente de liberación. Valores de  $0.45 \leq n$  corresponden a un mecanismo de liberación Fickiano,  $0.45 < n < 0.89$  es un transporte no Fickiano,  $n = 0.89$  es un transporte caso II (relajacional), y  $n > 0.89$  corresponde a un transporte super caso II. En este modelo, se deben ajustar solo los datos que correspondan a no más del 60% de fármaco disuelto.

## **7.8. Permeación *in-vitro* de los PTD**

### **7.8.1. Tratamiento de la piel**

Para dicha prueba se utilizó piel abdominal humana obtenida de lipectomías, la cual fue donada por el Hospital San Angel Inn Chapultepec de la Ciudad de México. Una vez recibida la piel, se lavó con agua destilada y se procedió a retirar la mayor cantidad posible del tejido adiposo. Posteriormente, se cortó en piezas de aproximadamente 9 cm<sup>2</sup> y almacenó en un congelador a una temperatura de -40 °C por no más de 1 mes.

Antes de ser utilizada para cada una de las pruebas, se lavó cada pieza de piel únicamente por la parte interna (hipodermis) con alcohol isopropílico, después se hizo un lavado con agua destilada y posteriormente se sumergió en una solución amortiguadora de fosfatos pH 7.4 por 1 hora a temperatura ambiente para que alcanzara un equilibrio electrolítico (30) (67).

### **7.8.2. Preparación de electrodos Ag/AgCl**

Se cortaron 6 fragmentos de una varilla de Ag de una longitud de 8 cm aproximadamente y se sumergieron en un crisol con AgCl previamente fundido. Una vez cubierto por lo menos 1 cm de uno de los extremos de la varilla de plata, se retiró del crisol y se dejó secar 20 segundos. Se repitió el proceso 2 ó 3 veces hasta cubrir dicho extremo de la varilla con el AgCl (electrodos AgCl). Posteriormente, se cortaron otros 6 fragmentos de Ag (electrodos de Ag) con una longitud aproximada de 4 cm y se colocó cada uno de los electrodos de Ag y AgCl en un vial individual con una solución sobresaturada de NaCl conectados a una fuente de poder mediante un cableado que permitió la conducción de corriente eléctrica formando un circuito en serie. En los ánodos (+) se colocó un alambre de cobre de aproximadamente 5 cm y en los cátodos se colocaron los electrodos preparados de Ag y AgCl. Dichos viales se mantuvieron en agitación magnética por 24 horas ó hasta observar una capa blanca cristalina sobre la superficie de los electrodos de Ag y AgCl. El armado del circuito se puede observar en la Figura 19.



**Figura 19:** Circuito en serie para la preparación de los electrodos Ag/AgCl. El cableado negro corresponde a la corriente con carga negativa (cátodos) y el cableado rojo a positiva (ánodos).

### 7.8.3. Permeación *in-vitro* de los PTDs por difusión pasiva

Se realizaron los perfiles de permeación en celdas de difusión vertical tipo Franz con un área disponible para la difusión de  $2.16 \text{ cm}^2$  (promedio de 6 celdas) y con una capacidad de 6 mL para el compartimiento receptor. La piel fue colocada entre el compartimiento receptor y donador, completamente estirada con el estrato córneo hacia el compartimiento donador. El parche fue colocado sobre la piel y fue cubierto con una película oclusiva (PARAFILM), el compartimiento receptor fue llenado con 6 mL de solución amortiguadora HEPES 25 mM pH 7.4. Las celdas fueron colocadas en un agitador magnético multiplaza a 500 rpm (4) (54). La temperatura del medio fue ajustada a  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  con lo que la piel se mantuvo a una temperatura de  $32 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$  (54) (59) (68). Se tomaron muestras de 1 mL del compartimiento receptor con reposición de medio a los tiempos 2, 4, 6, 8, 10, 24, 26, 28, 30 y 32 hrs para posteriormente leer la respuesta analítica por espectrofotometría UV a una longitud de onda de 205 nm. Se realizó un gráfico (perfil de permeación) de la cantidad acumulada de fármaco que pasó a través de la piel por unidad de área contra tiempo de donde se obtuvieron los parámetros de flujo (pendiente), tiempo de latencia (intercepto en "X") y la constante de permeación (pendiente/cantidad teórica de fármaco disponible para difundir) de Losartán.

#### **7.8.4. Permeación *in-vitro* de los PTDs con iontoforesis**

Se realizaron los perfiles de permeación en celdas de difusión vertical tipo Franz con un área disponible para la difusión de 2.16 cm<sup>2</sup> (promedio de 6 celdas) y con una capacidad de 6 mL para el compartimiento receptor. La piel fue colocada entre el compartimiento receptor y donador, completamente estirada con el estrato córneo hacia el compartimiento donador. El parche fue colocado sobre la piel y fue cubierto con una doble capa de filtros malla de nylon (Waters) de 0.2 μm. El compartimiento receptor fue llenado con 6 mL de solución amortiguadora HEPES 25 mM pH 7.4 y en el compartimiento donador se colocaron 4 mL de una solución de NaCl al 0.16%. Todas las celdas fueron colocadas en un agitador magnético multiplaza a 500 rpm (4) (54) conectadas mediante un circuito en serie a una fuente de poder con una corriente de 0.5 mA. En el compartimiento donador se colocó el electrodo de AgCl conectado al cátodo, mientras que en el compartimiento receptor se colocó el electrodo de Ag conectado al ánodo de la fuente de poder (13) (18) (35) (69). La temperatura del medio fue ajustada a 37 °C, con lo que la piel se mantuvo a una temperatura de 32 ± 0.5 °C (54) (59) (68). Se tomaron muestras de 1 mL del compartimiento receptor con reposición de medio cada hora durante 10 hrs para posteriormente leer la respuesta analítica por espectrofotometría UV a una longitud de onda de 205 nm. Se realizó un gráfico (perfil de permeación) de la cantidad acumulada de fármaco que pasó a través de la piel por unidad de área contra tiempo de donde se obtuvieron los parámetros de flujo (pendiente), tiempo de latencia (intercepto en "X") y la constante de permeación (pendiente/cantidad teórica de fármaco disponible para difundir) de Losartán.

### **8. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **8.1. Formulación de PTD**

Se realizaron un total de 75 pruebas con diferentes combinaciones de excipientes y proporciones de los mismos hasta obtener una formulación con las siguientes características: apariencia aceptable (formación de una película de superficie homogénea), sin fracturas en la película, fácil remoción y buena adhesión de la película con la piel. De esta forma, se obtuvo la formulación potencial para ser utilizada en estudios posteriores a la cual se le denominó como 0% LSS (Tabla 2). A partir de la

formulación anterior, se optó por adicionar un promotor químico de permeación como lo es el lauril sulfato de sodio (surfactante aniónico), en concentraciones de 1% y 2%, con lo que se obtuvieron las formulaciones 1% LSS (Tabla 3) y 2% LSS (Tabla 4), respectivamente.

**Tabla 2: Componentes por placa de PTD de la formulación 0% LSS**

<b>Componente</b>	<b>Función</b>	<b>Proporción (%)</b>	<b>Cantidad (g)</b>
<b>Losartán</b>	Antihipertensivo	31.75	2
<b>PVP</b>	Formador de película	31.75	2
<b>Kollocoat IR</b>	Formador de película	23.81	1.5
<b>Propilenglicol</b>	Humectante/Plastificante	7.94	0.5
<b>PEG 8000</b>	Plastificante	4.76	0.3
<b>Agua</b>	Solvente	0	15 ml
<b>Total</b>		100	6.3

**Tabla 3: Componentes por placa de PTD de la formulación 1% LSS**

<b>Componente</b>	<b>Función</b>	<b>Proporción (%)</b>	<b>Cantidad (g)</b>
<b>Losartán</b>	Antihipertensivo	31.45	2
<b>PVP</b>	Formador de película	31.45	2
<b>Kollocoat IR</b>	Formador de película	23.58	1.5
<b>Propilenglicol</b>	Humectante/Plastificante	7.86	0.5
<b>PEG 8000</b>	Plastificante	4.72	0.3
<b>LSS</b>	Surfactante aniónico	0.94	0.06
<b>Agua</b>	Solvente	0	15 ml
<b>Total</b>		100	6.43

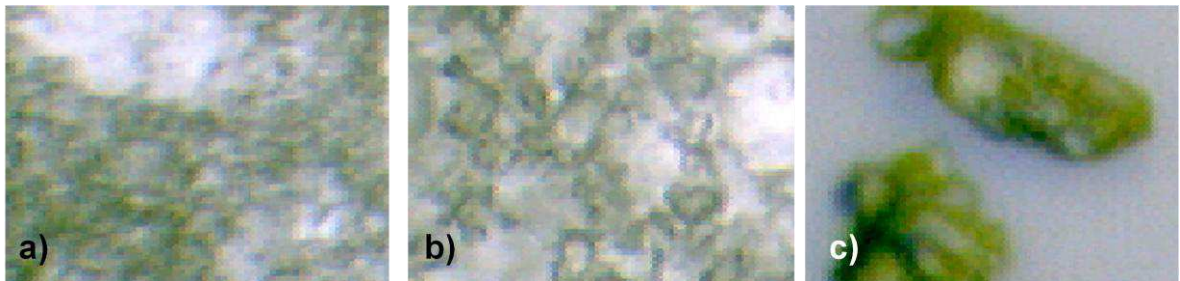
**Tabla 4: Componentes por placa de PTD de la formulación 2% LSS**

<b>Componente</b>	<b>Función</b>	<b>Proporción (%)</b>	<b>Cantidad (g)</b>
<b>Losartán</b>	Antihipertensivo	31.10	2
<b>PVP</b>	Formador de película	31.10	2
<b>Kollocoat IR</b>	Formador de película	23.33	1.5
<b>Propilenglicol</b>	Humectante/Plastificante	7.78	0.5
<b>PEG 8000</b>	Plastificante	4.67	0.3
<b>LSS</b>	Surfactante aniónico	2.02	0.13
<b>Agua</b>	Solvente	0	15 ml
<b>Total</b>		100	6.43

## 8.2. Caracterización de excipientes y principio activo

### 8.2.1. Apariencia

Losartán: Principio activo en forma de polvo blanco cristalino de olor amargo. En la Figura 20 se muestran algunas imágenes microscópicas.



**Figura 20:** Imágenes microscópicas de losartán potásico a) 4x, b) 10x y c) 40x.

PVP Kollidon 30: Polímero en forma de polvo blanco cristalino, con ligero olor a plástico. En la Figura 21 se muestran algunas imágenes microscópicas.



**Figura 21:** Imágenes microscópicas de PVP Kollidon 30 a) 4x, b) 10x y c) 40x.

Kollocoat IR: Copolímero de polietilenglicol y alcohol polivinílico en forma de polvo blanco cristalino. En la Figura 22 se muestran algunas imágenes microscópicas.



**Figura 22:** Imágenes microscópicas de Kollocoat IR a) 4x, b) 10x y c) 40x.



PEG 8000: Polímero en forma de cristales de color blanco opaco, transparentes. En la Figura 23 se muestran algunas imágenes microscópicas.



**Figura 23:** Imágenes microscópicas de PEG 8000 a) 4x, b) 10x y c) 40x.

Lauril sulfato de sodio: Polvo en forma de cristales de color blanco brillante. En la Figura 24 se muestran algunas imágenes microscópicas.



**Figura 24:** Imágenes microscópicas de lauril sulfato de sodio a) 4x, b) 10x y c) 40x.

Propilenglicol: Polímero en forma de líquido transparente, incoloro e inodoro de apariencia aceitosa.

### 8.2.2. Punto de fusión

El punto de fusión de losartán potásico obtenido mediante un fusiómetro fue de 268 – 270 °C, lo que corresponde con lo reportado en la bibliografía que es de 260 – 270°C (47).

### 8.2.3. Absorción UV-Vis

Se prepararon soluciones del fármaco y excipientes utilizados en las formulaciones de estudio, en la proporción a la que se encuentran en dichas formulaciones. A continuación se muestra la concentración de cada una de las muestras con su respectivo espectro de absorción de absorción UV-Vis.



**Losartán:** Se obtuvo una muestra de Losartán con una concentración de 11.712 µg/ml. En la Figura 25 se puede observar el espectro de absorción UV realizado al principio activo, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 205 nm.

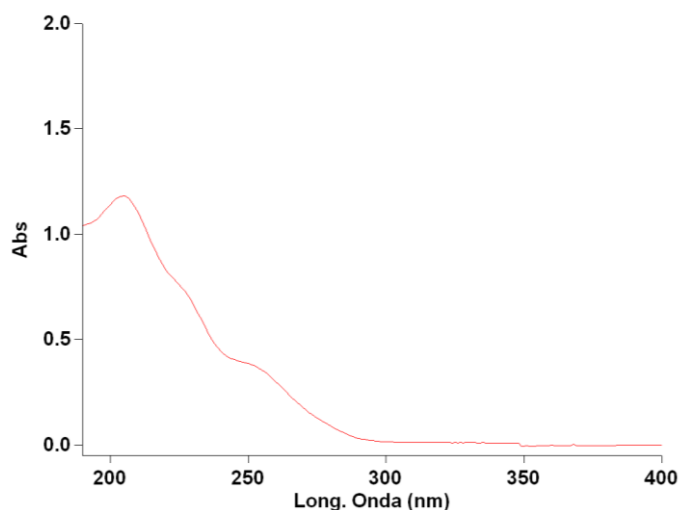
**PVP Kollidon 30:** Se obtuvo una muestra de PVP KOLLIDON 30 a una concentración de 10 µg/ml. En la Figura 26 se puede observar el espectro de absorción UV realizado al polímero, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 194 nm.

**Kollicoat IR:** Se obtuvo una muestra de Kollicoat IR a una concentración de 7.5 µg/ml. En la Figura 27 se puede observar el espectro de absorción UV realizado a dicho polímero, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 194 nm.

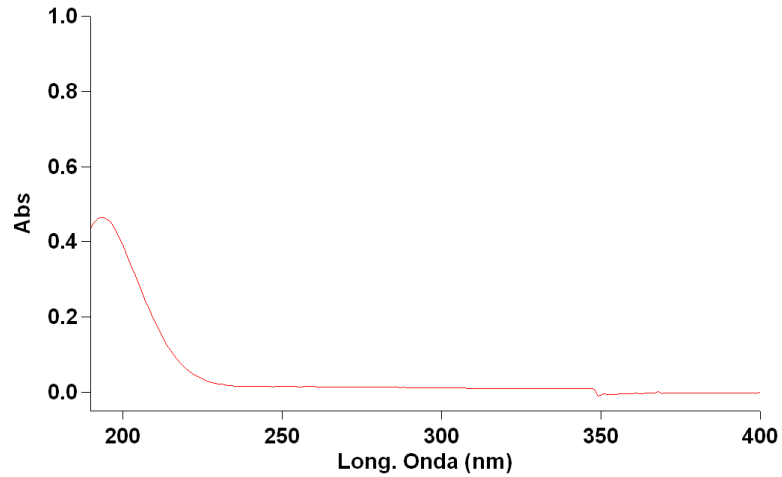
**Propilenglicol:** Se obtuvo una muestra de propilenglicol a una concentración de 2.5 µg/ml. En la Figura 28 se puede observar el espectro de absorción UV realizado a dicho polímero, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 196 nm.

**PEG 8000:** Se obtuvo una muestra de polietilenglicol 8000 a una concentración de 1.5 µg/ml. En la Figura 29 se puede observar el espectro de absorción UV realizado a dicho polímero, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 196 nm.

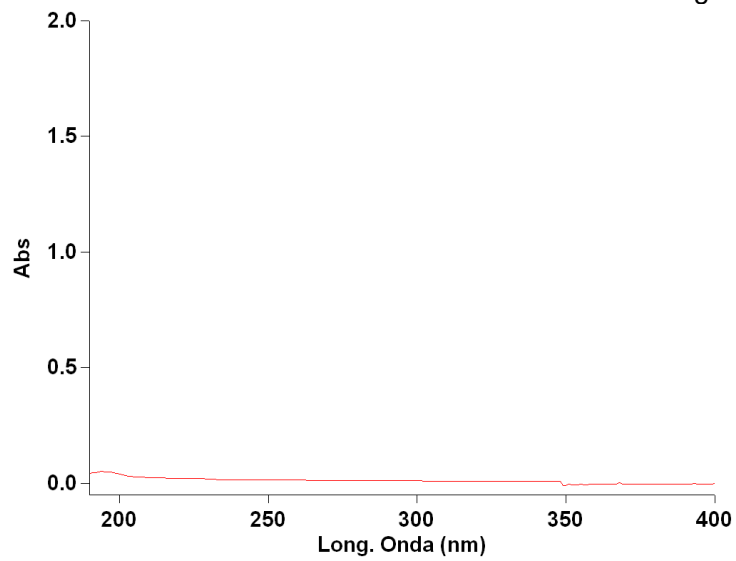
**Lauril sulfato de sodio:** Se obtuvo una muestra de lauril sulfato de sodio a una concentración de 0.64 µg/ml. En la Figura 30 se puede observar el espectro de absorción UV realizado a dicho polímero, encontrando un pico máximo de absorción a una longitud de onda de 194 nm.



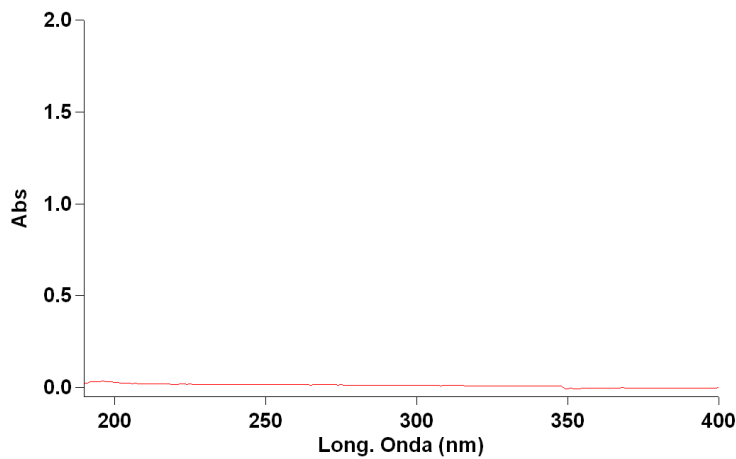
**Figura 25:** Espectro de absorción UV de losartán potásico en un rango de 190 a 400 nm.



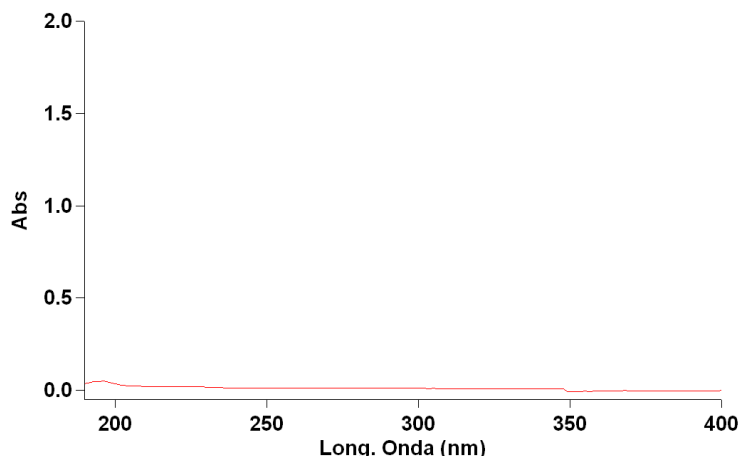
**Figura 26:** Espectro de absorción UV de PVP Kollidon 30 en un rango de 190 a 400 nm.



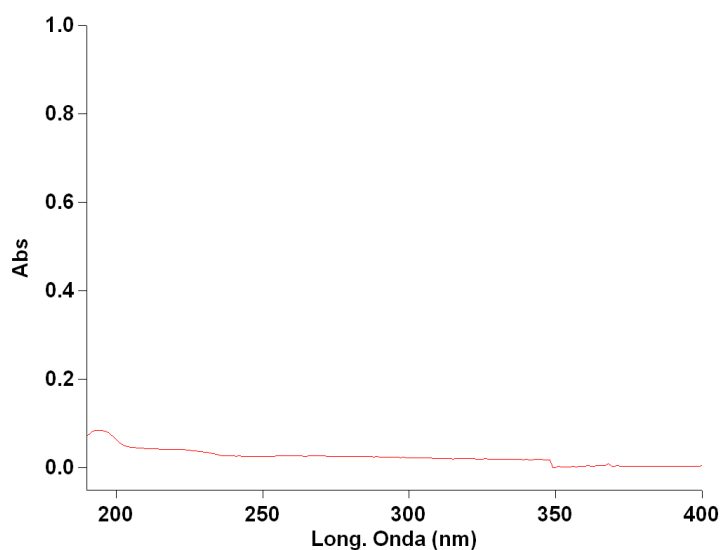
**Figura 27:** Espectro de absorción UV de Kollicoat IR en un rango de 190 a 400 nm.



**Figura 28:** Espectro de absorción UV de propilenglicol en un rango de 190 a 400 nm.



**Figura 29:** Espectro de absorción UV de PEG 800 en un rango de 190 a 400 nm.



**Figura 30:** Espectro de absorción UV de LSS en un rango de 190 a 400 nm.

Como se observa en la Figura 26, a pesar de que el pico de máxima absorción para PVP es diferente al de losartán, cierta porción de la curva de PVP se traslapa a la longitud de onda a la cual se realiza la cuantificación del fármaco. Debido a lo anterior, se realizó un factor de corrección a la absorbancia obtenida durante las cuantificaciones de las formulaciones, dicho factor se puede observar en el anexo B, punto 8.4.

El resto de los excipientes utilizados no presentan absorción UV a la concentración en la que se encuentran en la formulación, a la longitud de onda de cuantificación del fármaco. Por lo tanto, los excipientes (a excepción de PVP) no presentaron interferencia durante las cuantificaciones de losartán en las formulaciones.

### 8.3. Evaluación física de los PTD

#### 8.3.1. Dimensiones

Las dimensiones de los parches resultaron ser uniformes con una variación mínima entre las mismas, los resultados se observan en la Tabla 5. Se prefiere que el grosor de los parches sea el menor posible con el fin de que el trayecto del fármaco hacia la piel sea lo más corto posible, por lo que aparentemente la formulación 1% LSS nos arroja un mejor resultado. Para confirmar si esta diferencia es significativa, se hizo un análisis estadístico; los datos presentaron distribución normal, por lo que se optó por hacer una prueba de ANOVA y no se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.526$ ) al 95% de confianza ( $\alpha 0.05$ ), por lo tanto, el grosor de las 3 formulaciones es indistinto.

<b>Formulación</b>	<b>Diámetro (mm)</b>	<b>Grosor (mm)</b>
0% LSS	25.93 ± 0.34	0.49 ± 0.13
1% LSS	26.33 ± 0.44	0.43 ± 0.04
2% LSS	26.12 ± 0.38	0.48 ± 0.05

#### 8.3.2. Determinación de pH superficial

Una vez humectados los parches como se describió en la metodología, se procedió a medir el pH superficial para cada una de las 3 formulaciones con tiras reactivas de pH, se obtuvo un pH de 7 sin desviación aparente para todas las muestras ( $n = 10$ ).

También se midió el pH del agua con la que se humectaron los parches previamente, lo que arrojó un valor de pH de 6, cercano a la neutralidad y al pH superficial de los parches.

El valor de pH superficial es de vital importancia en las formulaciones transdérmicas, en este caso, donde se incluye losartán como principio activo, es un ácido débil el cual a pH mayores a su pKa (5-6) se encontrará en su forma ionizada. Si uno de los objetivos del presente proyecto es emplear iontoforesis como promotor químico, sabemos que se requiere preferentemente que la molécula de interés (losartán) se encuentre en su forma

ionizada. Por lo tanto, con el resultado de pH obtenido, sabemos que es posible la presencia de la forma ionizada del fármaco.

Otro punto importante en la determinación del pH de los parches hace referencia a la posible irritación que pudiera provocar el mismo si se coloca sobre la piel un PTD con pH bajo o muy elevado. El pH obtenido para las formulaciones está muy cercano a la neutralidad, con lo que se disminuye la posibilidad de presentar irritación o quemaduras en la zona de aplicación.

### 8.3.3. Determinación del porcentaje de constricción

Parches separados de la base, medición a 30 minutos: Los porcentajes de constricción para los parches fueron; 1.18% para 0% LSS, 1.21% para 1% LSS y 1.16% para 2% LSS (Tabla 6). El resultado ideal es obtener un 0% de constricción, lo que garantizaría que los PTD mantendrán una superficie lisa y uniforme una vez colocados sobre la piel (64), ya que el cambio en el tamaño del parche puede afectar la efectividad del mismo. La formulación 2% LSS obtuvo el mejor resultado, sin embargo, al realizar el análisis estadístico mediante una prueba de ANOVA (los datos presentaron distribución normal), no se encontró diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.996$ ) al 95% de confianza ( $\alpha 0.05$ ), por lo tanto, es indistinto el porcentaje de constricción a 30 minutos para las 3 formulaciones.

Parches no separados de la base, medición a 90 días: El % de constricción para la formulación 0% LSS fue de 0.53%, 1.14% para 1% LSS y 0.61% para 2% LSS (Tabla 6). En esta prueba, la formulación 0% LSS arrojó un mejor resultado, sin embargo, al realizar una prueba de ANOVA (los datos presentaron distribución normal), no se mostró significancia ( $p > 0.05$ ) al 95% de confianza, por lo tanto, no hay diferencia estadísticamente significativa entre las formulaciones respecto a su constricción a 90 días.

**Tabla 6. Resultados de prueba de constricción a 30 min y 90 días (n= 10)**

Formulación	% 30 min	% 90 días
0% LSS	1.18 ± 0.93	0.53 ± 0.36
1% LSS	1.21 ± 0.92	1.14 ± 0.78
2% LSS	1.16 ± 0.37	0.61 ± 0.58

#### **8.3.4. Determinación de bioadhesión pre y post humectación de los PTD**

Los resultados de bioadhesión pre humectación para la formulación 0% LSS son los siguientes: fuerza máxima para desprender el parche de la piel de 1.19 N, desplazamiento de 9.06 mm y un área de 0.74 N/s. Para la prueba de bioadhesión post humectación, la fuerza máxima requerida para desprender los parches de la piel se vio incrementada, arrojando un resultado de 1.61 N, 10.12 mm de desplazamiento y 1.11 N/s de área.

El parámetro de desplazamiento nos hace referencia a la distancia que recorre el émbolo cilíndrico que sostiene al parche desde que se empieza a ejercer una fuerza para desprenderlo, hasta que lo desprende por completo. Durante la prueba en voluntarios sanos, no reportaron sentir incomodidad durante la remoción del parche, si se hubiesen obtenido valores mayores a los obtenidos en el desplazamiento, pudiera resultar más incomodo para el paciente debido al estiramiento que se provocaría en la piel.

Para saber si la diferencia entre los resultados pre y post humectación es significativa, se realizó un análisis estadístico. Los resultados presentaron una distribución normal por lo que se procedió a realizar una prueba T-Student ya que sólo son 2 grupos a comparar (pre y post humectación). En este caso, se observó diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ) entre los grupos para los valores de fuerza y desplazamiento al 95% de confianza ( $\alpha 0.05$ ), lo que nos indica que los parches una vez humectados son más bioadhesivos significativamente. Dicho resultado es favorable, ya que bajo condiciones reales, el parche al ser oclusivo sobre la piel provocará una sudoración, lo que aumentará la adhesividad del mismo.

#### **8.3.5. Determinación de resistencia a la ruptura de los PTD**

Durante la realización de esta prueba, se logró retirar el parche de la placa sin ningún inconveniente, la película no se fracturó ni se modificó (moldeo) su estructura física. La fuerza máxima requerida para romper los parches de la formulación 0% LSS fue de 6.84 N ( $n = 10$ ).

Este parámetro resulta de vital importancia para la idónea manipulación del parche, ya sea durante su evaluación como durante la aplicación del mismo. Películas muy frágiles

podrían modificar su superficie fácilmente resultando en una ineffectividad terapéutica y/o complicando su manipulación.

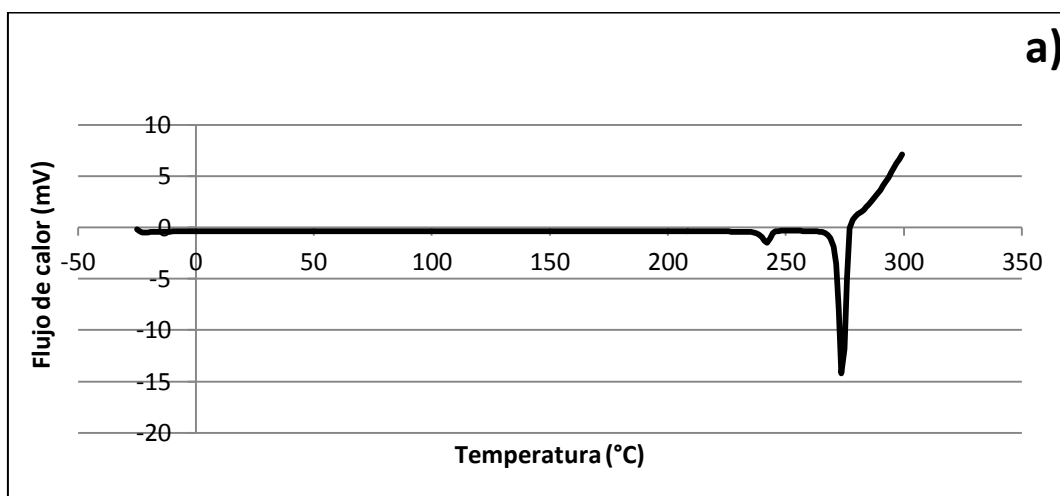
Debido a la poca diferencia física entre las 3 formulaciones (adición de 1 y 2% de surfactante), se optó por no realizar esta prueba para 1% LSS y 2% LSS.

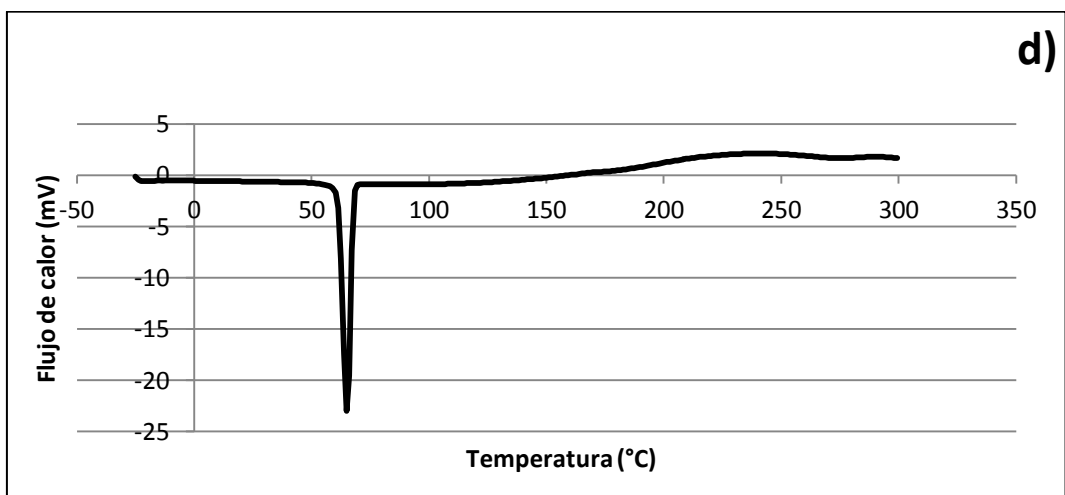
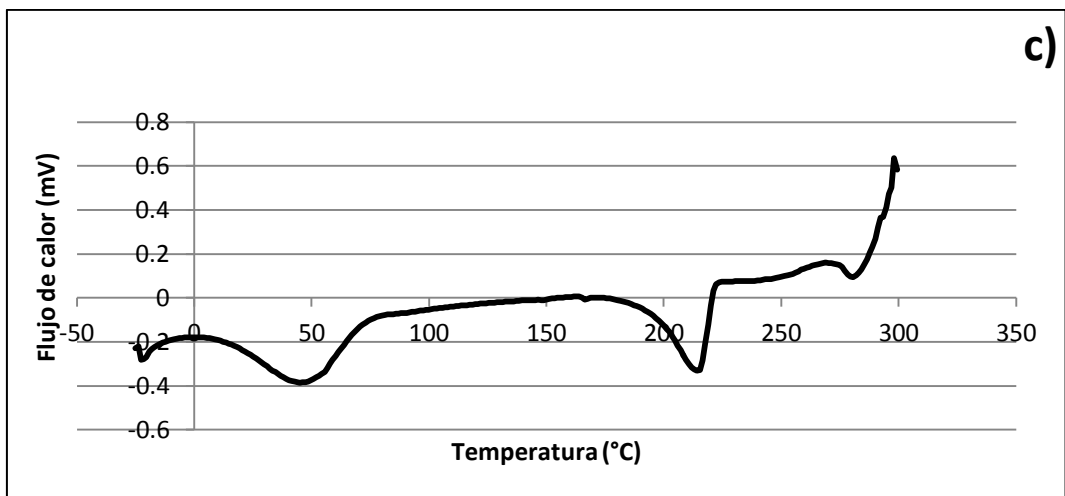
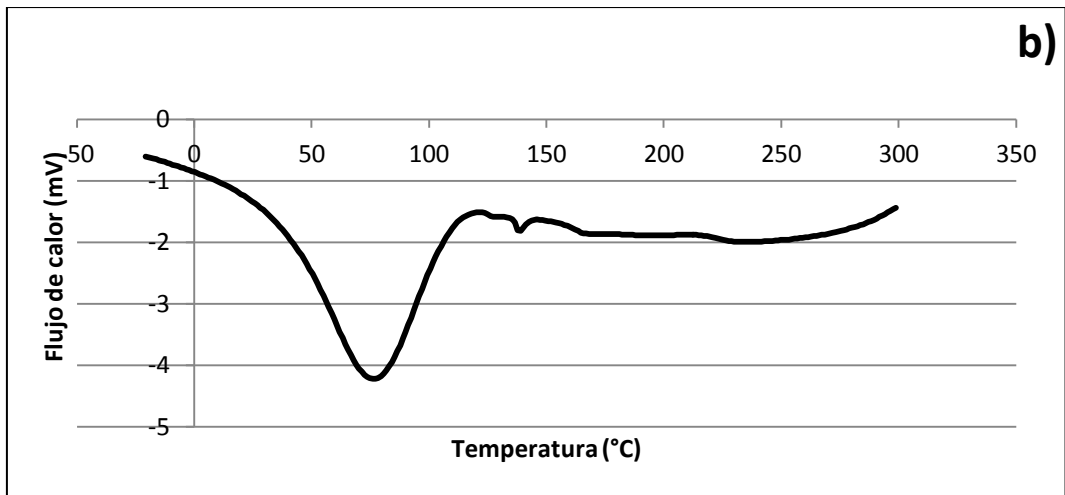
#### 8.4. Análisis de incompatibilidades entre excipientes y principio activo

##### 8.4.1. Calorimetría Diferencial de Barrido (CDB)

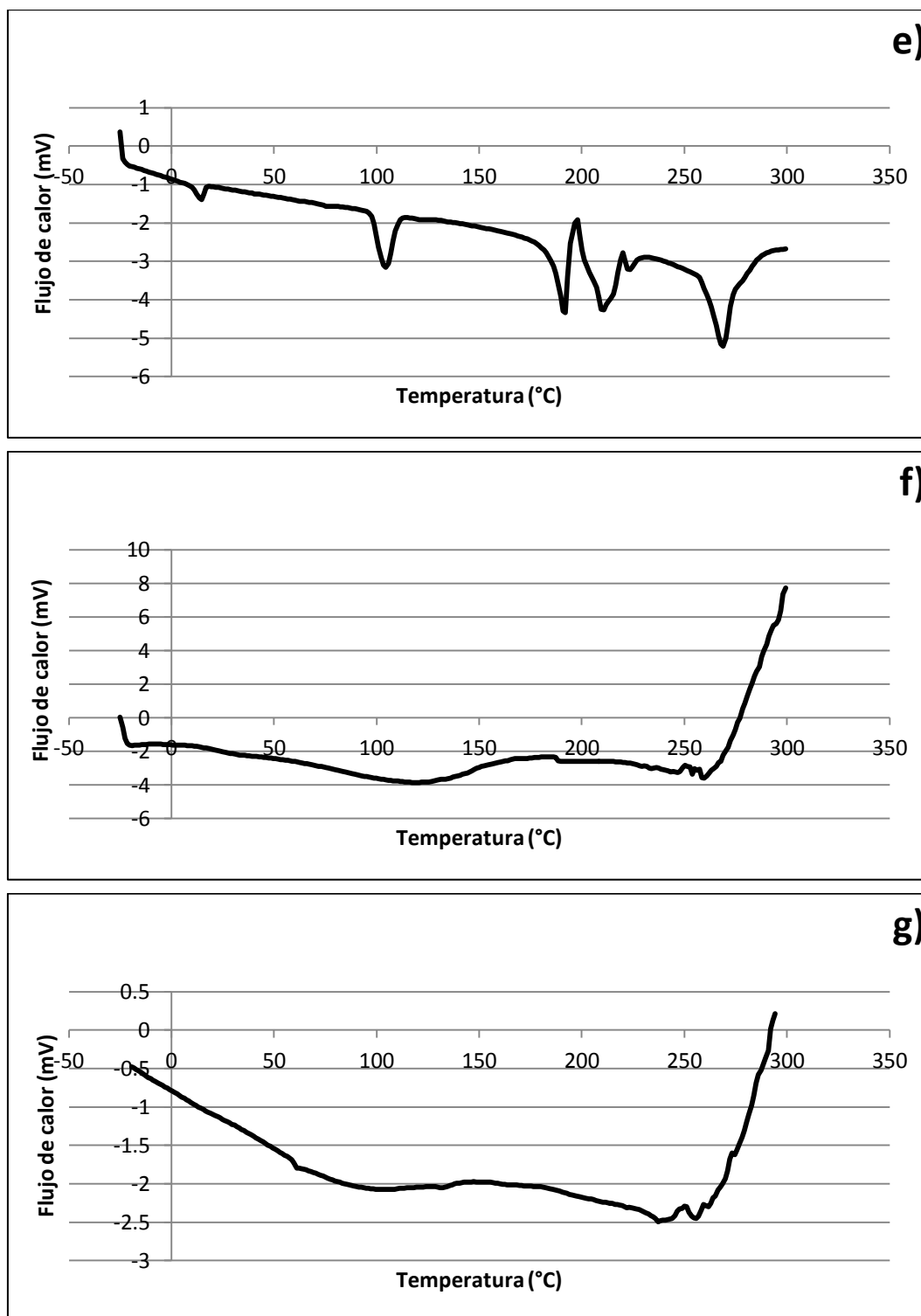
En la Figura 31 se observa el gráfico con los resultados de la calorimetría diferencial de barrido realizada a los excipientes y formulaciones 0% LSS y 2% LSS. Los resultados obtenidos no permiten determinar si losartán potásico es estable en presencia de los excipientes utilizados en las formulaciones, ya que si observamos el gráfico b) de la Figura 31 que corresponde al PVP, este forma una llanura en la zona de temperatura donde aparece la señal correspondiente a la temperatura de fusión del fármaco, sumando que al estar presentes todos los excipientes en los gráficos f) y g), la señal correspondiente a cada materia prima se verá con menor resolución, en comparación con los gráficos correspondientes a materias primas puras.

Es común observar transiciones complejas con eventos de superposición o traslape de señales, se recomienda realizar un nuevo análisis variando las rampas de calentamiento, cambiando los tamaños de muestra y ensayando con mezclas binarias de fármaco-excipientes para observar si de esta manera se puede determinar la estabilidad de losartán (70).





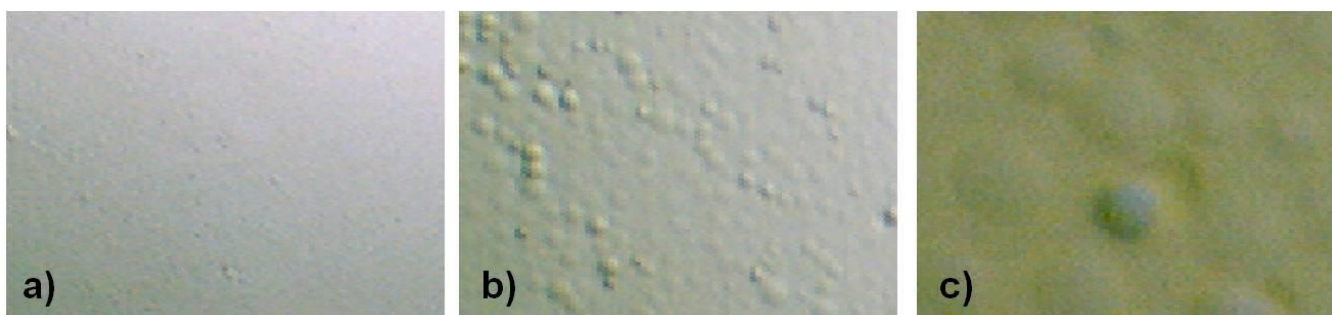




**Figura 31:** Análisis de calorimetría diferencial de barrido a los excipientes, principio activo y formulaciones de los PTDs en un rango de -25 a 300 °C con una rampa de calentamiento de 10 °C/min. a) Losartán potásico, b) PVP Kollidon 30, c) Kollicoat IR, d) PEG 8000, e) Lauril sulfato de sodio, f) formulación 0% LSS y g) formulación 2% LSS.

#### 8.4.2. Análisis microscópico

A continuación se muestran una serie de imágenes fotográficas tomadas en un microscopio electrónico a los días 1 (Figura 32, Figura 36 y Figura 40), 30 (Figura 33, Figura 37 y Figura 41), 60 (Figura 34, Figura 38 y Figura 42) y 90 (Figura 35, Figura 39 y Figura 43) para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS. En este análisis no se observó la presencia de cristales o material precipitado, no es una prueba determinante de estabilidad, sin embargo, nos da una pauta para indicar (en conjunto con otras pruebas) que las 3 formulaciones son estables a través de determinado tiempo bajo condiciones ambientales. En algunas microscopías se logran observar algunas arrugas propias de la superficie de cada parche, que conforme el paso del tiempo se vieron cada vez más presentes. Lo anterior es debido a la deshidratación de las películas, lo que es congruente tomando en cuenta que los parches no se conservaron bajo condiciones herméticas si no expuestos al medio ambiente. Una formulación de este tipo, durante su fabricación y venta se mantiene en empaques cerrados, protegidos de la luz, humedad y otras condiciones medioambientales, lo que le brinda mayor estabilidad a la forma farmacéutica.



**Figura 32:** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 33:** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 34:** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 35:** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 0% LSS día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x.

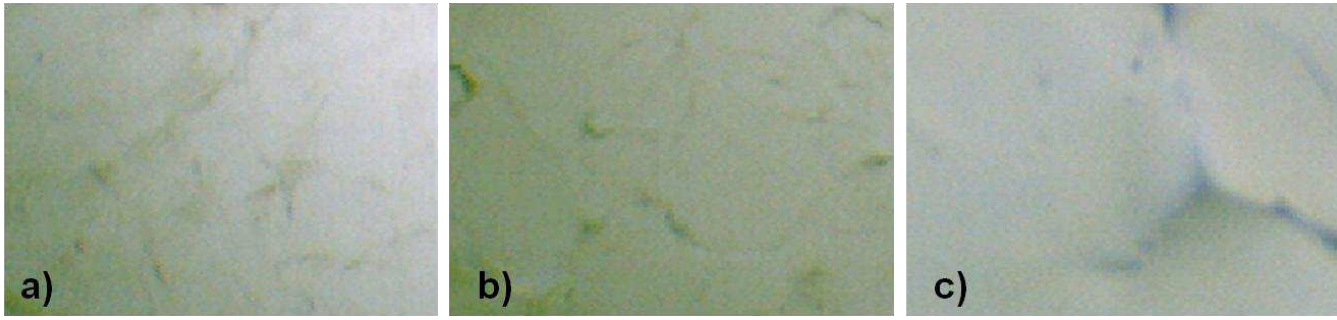


**Figura 36.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 37.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x.

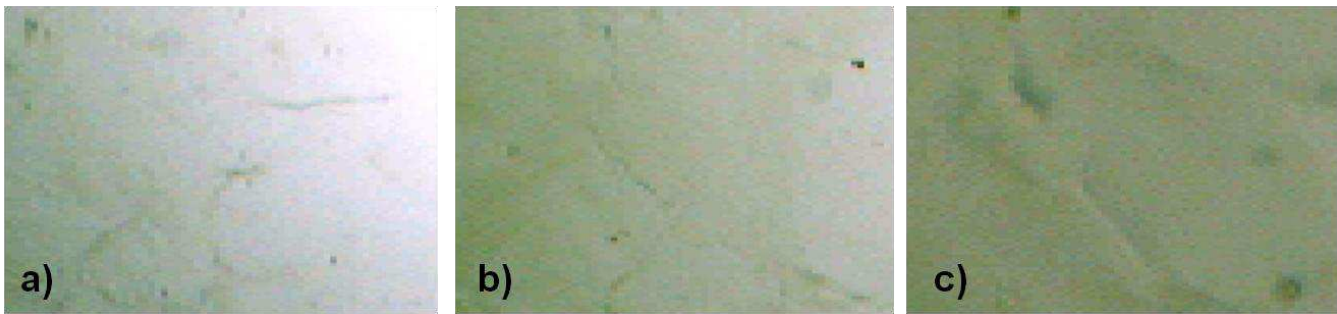




**Figura 38.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



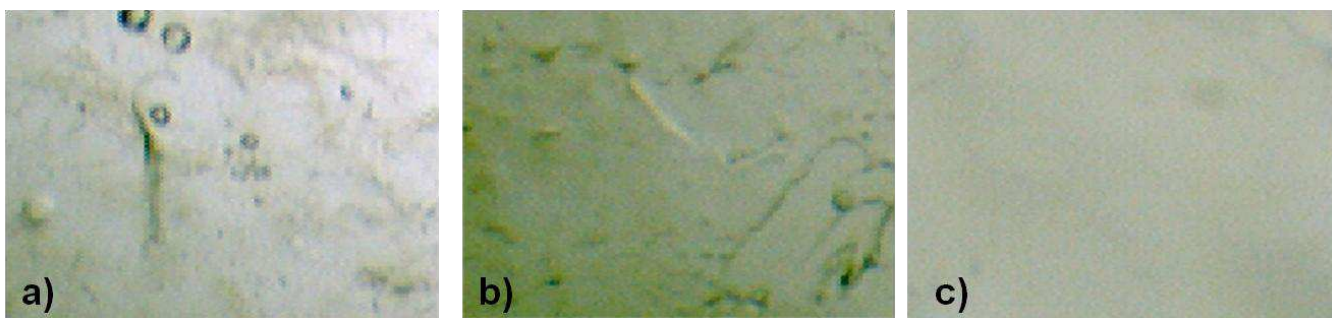
**Figura 39.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 1% LSS día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 40.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% LSS día 1. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 41.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% LSS día 30. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 42.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% LSS día 60. a) 4x, b) 10x y c) 40x.



**Figura 43.** Imágenes microscópicas de los PTD formulación 2% LSS día 90. a) 4x, b) 10x y c) 40x.

### 8.5. Cuantificación de losartán en los PTD

A continuación se muestran las tablas con los resultados obtenidos para la cuantificación de los PTD de las formulaciones 0% LSS (Tabla 7), 1% LSS (Tabla 8) y 2% LSS (Tabla 9). El porcentaje de recobro y contenido químico de todas las muestras para las 3 formulaciones se encuentra dentro del rango de 90 a 110% con una DER (%C.V.) menor al 6%, por lo que cumple con los criterios de aceptación. Lo anterior nos indica que el fármaco es recuperado de la formulación y, además, se encuentra homogéneamente distribuido. Estos parámetros resultan de vital importancia en general para todas las formas farmacéuticas, así se garantiza que el PTD contiene la dosis requerida para ejercer su efecto farmacológico.

### 8.6. Perfil de disolución de los PTD

Se realizó un perfil de disolución (6 vasos) para cada una de las formulaciones. Debido a que son formulaciones sin estudios de disolución previos, no hay una especificación para el % de fármaco disuelto en función del tiempo, sin embargo, es importante que el fármaco sea liberado en por lo menos 80% de la matriz con el fin de asegurar que una

vez colocado sobre la piel, el fármaco pueda salir desde la formulación hacia el estrato córneo.

Para el caso de las 3 formulaciones, los resultados fueron favorables; en la Figura 44 (0% LSS), más del 80% del fármaco fue liberado en los primeros 30 minutos. Para el caso de las formulaciones 1% LSS (Figura 45) y 2% LSS Figura 46), la liberación se vió ligeramente retardada, sin embargo, al cabo de 50 minutos, se liberó más del 80% de losartán.

Los resultados del ajuste de los datos a los modelos cinéticos de liberación; orden cero, primer orden, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer Peppas se observan en la Tabla 10. A partir de los valores de  $r^2$  se logró definir qué modelo se ajusta mejor a la liberación del fármaco en las 3 formulaciones de PTD. Se sabe que si los valores de  $n$  se encuentran entre 0 y 0.5, se produce una difusión Fickiana, y si se encuentran entre 0.5 y 1.0 el patrón de difusión es no Fickiano (65).

**Tabla 7. Cuantificación de Losartán en formulación 0% LSS**

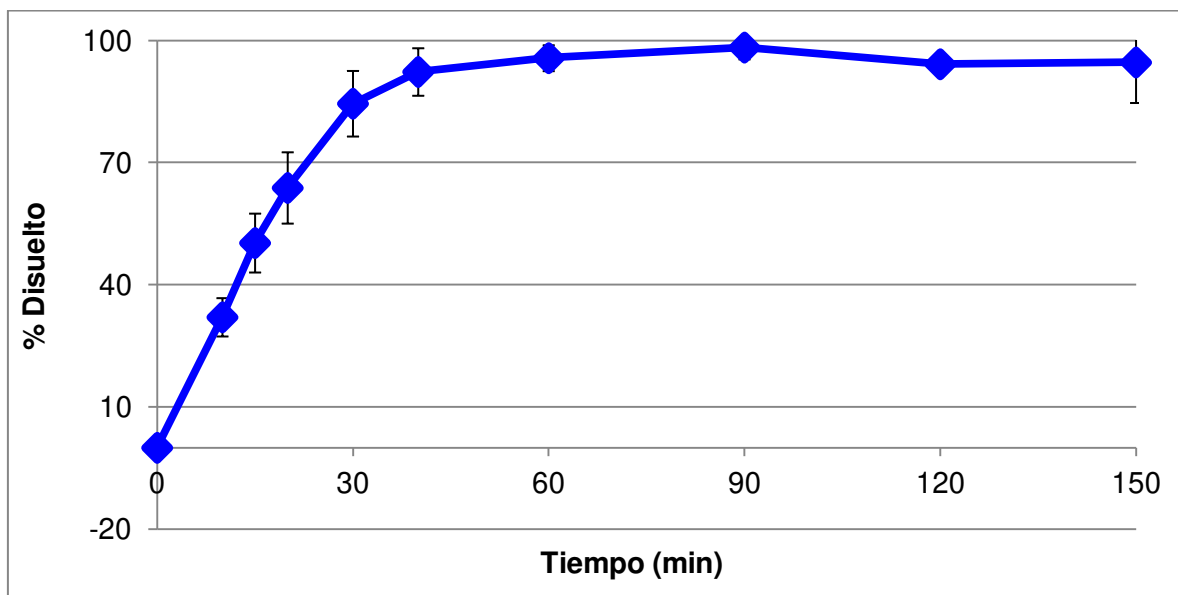
Muestra	Peso muestra húmeda (g)	Peso muestra seca (g)	Abs	Cant. teórica P.A. parche (mg)	Cant. real P.A. parche (mg)	% Recobro
1	0.3318	0.2897	0.9217	91.98	95.49	103.82
2	0.3301	0.2882	0.8670	91.51	89.60	97.92
3	0.3433	0.2997	0.8982	95.17	92.96	97.68
4	0.3102	0.2708	0.8131	85.99	83.80	97.46
5	0.3192	0.2787	0.8790	88.49	90.90	102.73
6	0.3614	0.3155	0.9319	100.18	96.59	96.41
7	0.3741	0.3266	0.9937	103.71	103.23	99.55
8	0.3226	0.2817	0.8572	89.43	88.55	99.02
9	0.3643	0.3181	0.9428	100.99	97.75	96.79
<b>Promedios</b>	0.3397	0.2966	0.9005	94.16	93.21	99.04
				<b>Desv. STD:</b>	5.77	2.60
<b>% Humedad muestras:</b>	12.69%			<b>% C.V.:</b>	6.19	2.63

**Tabla 8. Cuantificación de Losartán en formulación 1% LSS**

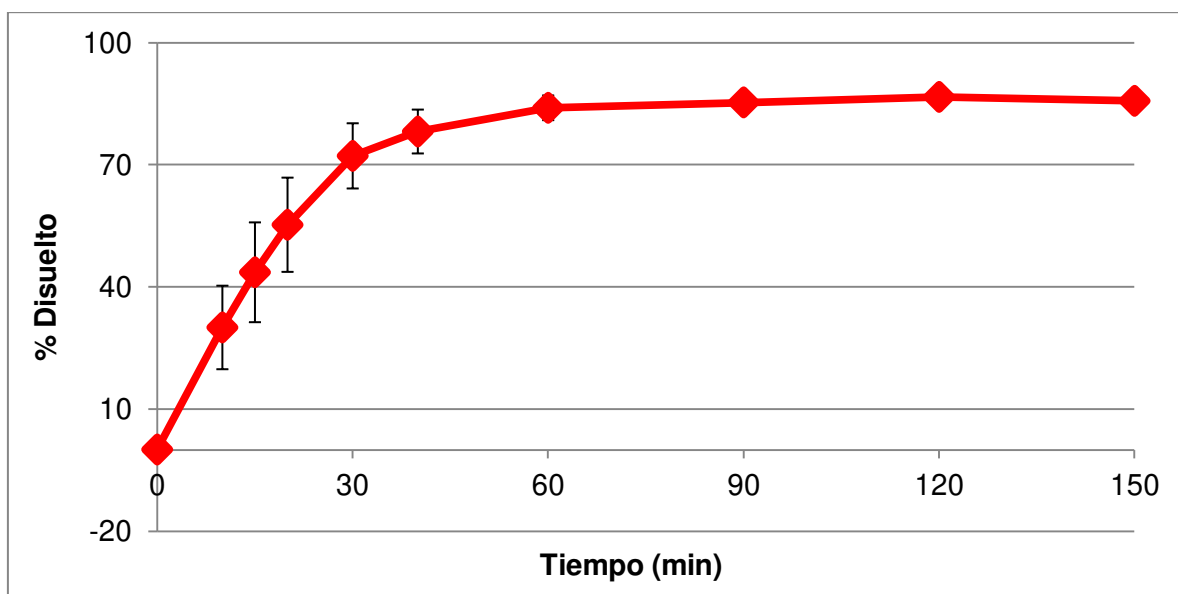
Muestra	Peso muestra húmeda (g)	Peso muestra seca (g)	Abs	Cant. teórica P.A. parche (mg)	Cant. real P.A. parche (mg)	% Recobro
1	0.3869	0.3062	0.9283	96.30	96.19	99.89
2	0.3896	0.3083	0.9081	96.97	94.03	96.97
3	0.3889	0.3078	0.9437	96.80	97.86	101.10
4	0.3864	0.3058	0.9316	96.17	96.55	100.39
5	0.3875	0.3067	0.8987	96.45	93.01	96.43
6	0.3884	0.3074	0.9847	96.67	102.26	105.78
7	0.3869	0.3062	0.9272	96.30	96.08	99.77
8	0.3868	0.3061	0.9288	96.27	96.25	99.97
9	0.3882	0.3072	0.9425	96.62	97.72	101.14
10	0.3895	0.3083	0.9445	96.94	97.94	101.03
<b>Promedios</b>	0.3879	0.3070	0.9326	96.55	96.66	100.16
				<b>Desv. STD:</b>	2.62	2.69
<b>% Humedad muestras:</b>	20.86%			<b>% C.V.:</b>	2.71	2.68

**Tabla 9. Cuantificación de Losartán en formulación 2% LSS**

Muestra	Peso muestra húmeda (g)	Peso muestra seca (g)	Abs	Cant. teórica P.A. parche (mg)	Cant. real P.A. parche (mg)	% Recobro
1	0.3738	0.3210	0.9103	99.83	94.26	94.42
2	0.3709	0.3185	0.8975	99.05	92.88	93.77
3	0.3781	0.3247	0.9188	100.97	95.17	94.25
4	0.3705	0.3181	0.9131	98.94	94.57	95.58
5	0.3740	0.3212	0.9240	99.88	95.74	95.85
6	0.3737	0.3209	0.9145	99.80	94.71	94.90
7	0.3747	0.3218	0.8586	100.07	88.70	88.64
8	0.3768	0.3236	0.9354	100.63	96.96	96.35
9	0.3720	0.3194	0.9199	99.34	95.29	95.92
<b>Promedios</b>	0.3738	0.3210	0.9090	99.83	94.12	94.22
				<b>Desv. STD:</b>	2.49	2.42
<b>% Humedad muestras:</b>	14.13%			<b>% C.V.:</b>	2.64	2.57

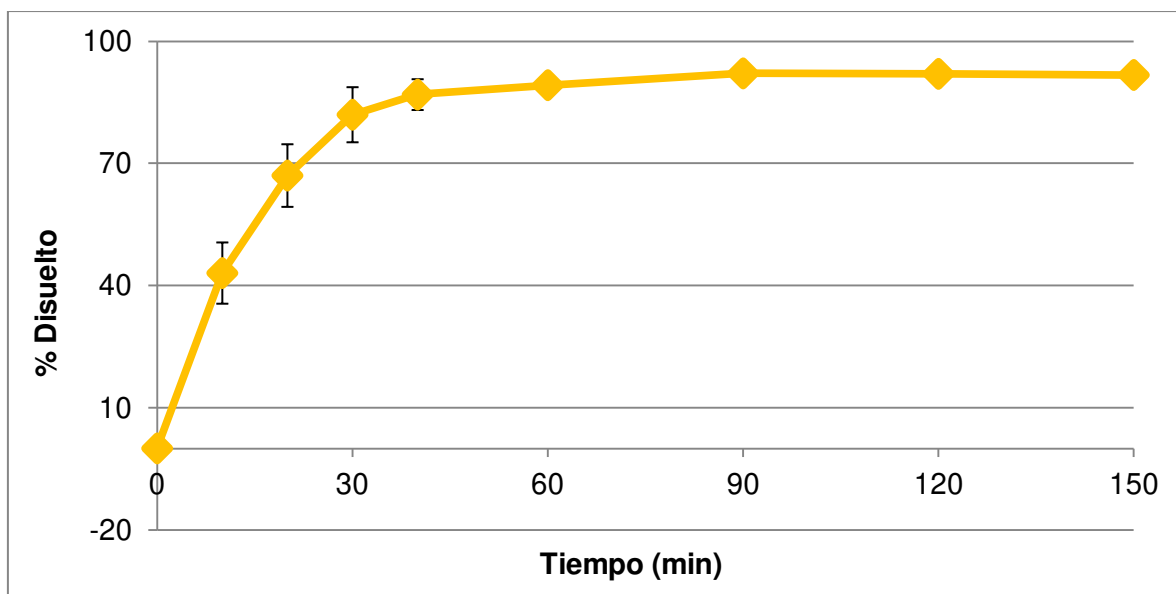


**Figura 44.** Perfil de disolución formulación 0% LSS (n = 6).



**Figura 45.** Perfil de disolución formulación 1% LSS (n = 6).





**Figura 46.** Perfil de disolución formulación 2% LSS (n = 6).

**Tabla 10. Resultados de constantes, coeficientes de correlación y n, del ajuste de datos a los modelos cinéticos de liberación**

Fórmula	Orden cero		Primer orden		Higuchi		Hixson-Crowell		Korsmeyer Peppas		
	$K_0$	$r^2$	$K_1$	$r^2$	$K_H$	$r^2$	$K_S$	$r^2$	$K_k$	$r^2$	n
<b>0% LSS</b>	2.416	0.982	0.062	0.968	22.549	0.997	0.072	0.993	3.551	0.996	0.968
<b>1% LSS</b>	1.936	0.987	0.043	0.995	18.233	0.999	0.054	1.000	4.047	1.000	0.873
<b>2% LSS</b>	1.945	0.982	0.057	1.000	16.874	0.997	0.067	0.995	9.912	0.999	0.638

Los resultados indican que los modelos que mejor se ajustan son: primer orden para las formulaciones 1% LSS y 2% LSS, Higuchi, Hixson-Crowell y Korsmeyer Peppas para las 3 formulaciones.

Las formulaciones se ajustan mejor al modelo de Korsmeyer Peppas, y tomando en cuenta los valores de n obtenidos ( $0.5 < n < 1$ ) podemos asumir que el mecanismo de difusión del fármaco es no Fickiano o anómalo, el cual está dominado por procesos de difusión y relajación de las cadenas poliméricas (71).

### 8.7. Permeación de los PTD por difusión pasiva

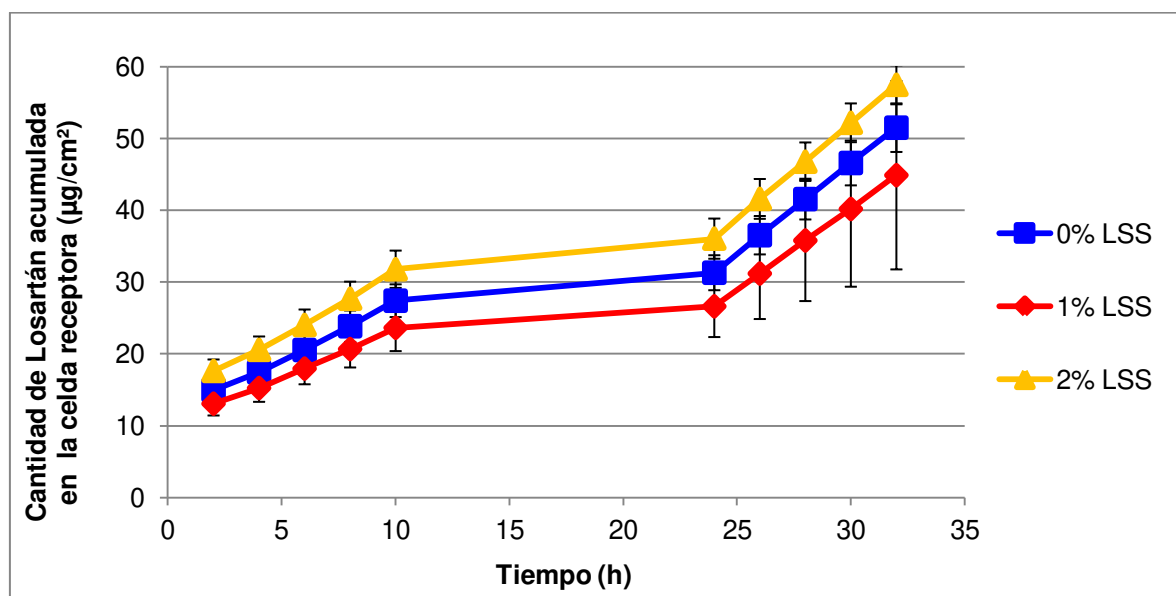
En la Figura 47 se observan los perfiles de permeación para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS por difusión pasiva, a partir de estos perfiles se logró determinar los

parámetros de permeación, los cuales se muestran en la Tabla 11. Aparentemente, la formulación 2% LSS presentó un mejor comportamiento tanto en el perfil de permeación, como en los parámetros de  $K_p$ ,  $T_L$  y  $J$ .

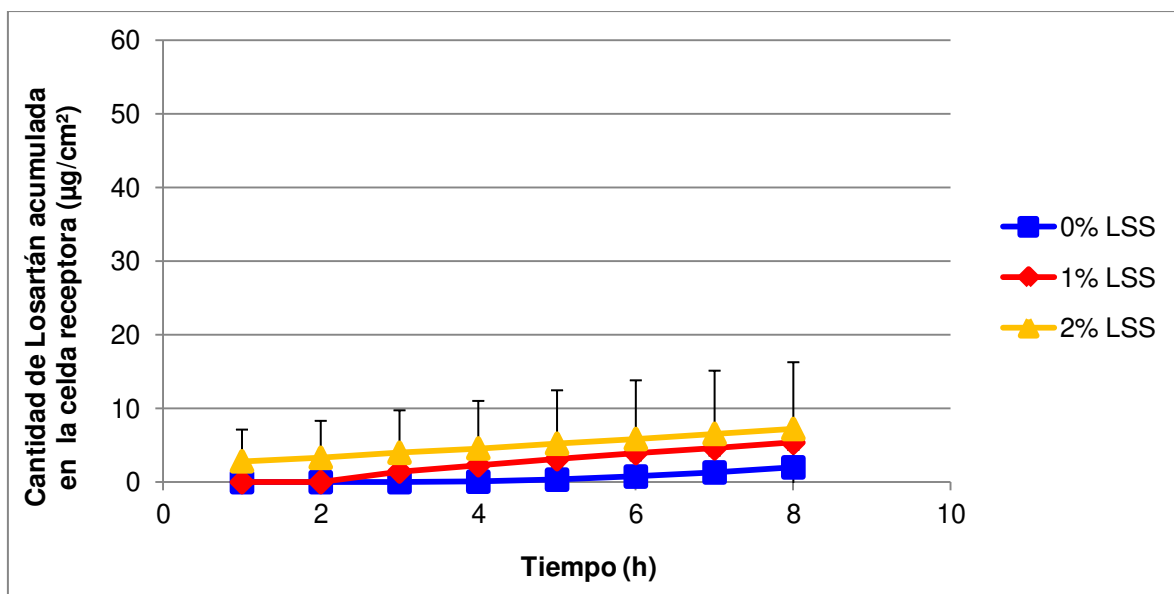
Para saber si esta diferencia es significativa, se realizó un análisis estadístico haciendo uso de la prueba H de Kruskal-Wallis (los datos no presentaron una distribución normal) y posteriormente se realizó la prueba de Mann-Whitney para identificar los grupos donde se presentaba dicha diferencia. Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 12, remarcados en negro los que representan una diferencia estadísticamente significativa. Hablando únicamente de la comparación entre las 3 formulaciones al emplear la técnica de difusión pasiva, solamente se encontró diferencia estadísticamente significativa para la  $K_p$  entre las formulaciones 0% LSS y 2% LSS.

### 8.8. Permeación de los PTD empleando iontoforesis

En la Figura 48 podemos observar el perfil de permeación de las 3 formulaciones empleando la técnica de iontoforesis, a partir de estos perfiles se logró determinar los parámetros de permeación para cada formulación, los cuales observamos en la Tabla 12.



**Figura 47.** Perfil de permeación a través de piel humana por medio de difusión pasiva para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS ( $n = 3$ ).



**Figura 48.** Perfil de permeación a través de piel humana empleando iontoforesis para las formulaciones 0% LSS, 1% LSS y 2% LSS (n = 3).

Al igual que con la técnica de difusión pasiva, la formulación 2% LSS logró que permeara mayor cantidad de fármaco. Para saber si esta diferencia es significativa, se realizó la prueba H de Kruskal-Wallis (los datos no presentaron una distribución normal) y posteriormente se realizó la prueba de Mann-Whitney para identificar los grupos donde se presentaba dicha diferencia. Los resultados igualmente los podemos observar en la Tabla 12, remarcados en negro los que representan diferencia significativa.

Según el análisis estadístico, las formulaciones no fueron diferentes significativamente empleando la técnica de iontoforesis, por lo tanto, es indistinto que formulación se elija si se va a emplear esta técnica.

### 8.9. Parámetros de permeación

En la Tabla 11 se muestran los resultados de los parámetros de permeación para las 3 formulaciones en las permeaciones por difusión pasiva y con iontoforesis. Como podemos observar, los  $T_L$  se ven reducidos considerablemente al emplear la técnica de iontoforesis, lo que nos indica que la barrera limitante en la velocidad de la permeación puede ser la microcirculación de la dermis y no tanto el estrato córneo (25), lo que nos confirma que la iontoforesis es altamente efectiva al disminuir la barrera difusional del estrato córneo.

**Tabla 11. Parámetros de permeación para las formulaciones 0%, 1% y 2% por medio de difusión pasiva e iontoforesis.**

	Formulación	$K_p$ (cm <sup>2</sup> /h)	$T_L$ (h)	J (µg/cm <sup>2</sup> h)
<b>Difusión pasiva</b>	0% LSS	3.933E-05	11.55	2.5224
	1% LSS	5.279E-05	12.30	2.2754
	2% LSS	4.956E-05	10.49	2.6722
<b>Iontoforesis</b>	0% LSS	1.500E-05	≈ 0	0.5565
	1% LSS	1.755E-05	≈ 0	0.8608
	2% LSS	1.007E-05	3.29	0.6339

$K_p$ : Constante de permeabilidad,  $T_L$ : Tiempo de latencia, J: Flujo

A pesar de los cortos  $T_L$  observados con la iontoforesis, los J y  $K_p$  fueron mayormente beneficiados en la técnica de difusión pasiva. Según el análisis estadístico (Tabla 12), la mayor diferencia se encuentra entre las 2 técnicas de permeación y no entre las formulaciones. Lo anterior nos hace pensar que la técnica de iontoforesis es altamente efectiva disminuyendo la barrera difusional del estrato córneo, probablemente el bajo flujo observado sea por una ineficacia en el planteamiento de la técnica, ya que como se mencionó durante la metodología, la propuesta para el armado del circuito en la iontoforesis catodal provocó un contra flujo (electro-ósmosis), es decir, un flujo en dirección del compartimiento receptor al compartimiento donador por el acomodo de los electrodos, dificultando la migración del fármaco hacia la piel.

A partir de los parámetros de permeación obtenidos, se calculó el tamaño que deberían tener los PTDs para que al ser colocados en la piel alcancen la concentración plasmática máxima observada en la terapia oral de losartán, la cual es de 0.296 µg/mL después de la administración oral de una tableta de 50 mg (52). En la Tabla 13 se observan los resultados obtenidos para los tamaños de los PTD.

Como se puede observar en dicha tabla, el tamaño de los parches es menor empleando la técnica de difusión pasiva. Para saber si esta diferencia es significativa, se realizó la prueba H de Kruskal-Wallis (los datos no presentaron una distribución normal) y posteriormente se realizó la prueba de Mann-Whitney para identificar los grupos donde se presentaba dicha diferencia. Los resultados estadísticos los podemos observar en la Tabla 14, remarcados en negro los que representan diferencia significativa. Igual que

para los parámetros J,  $K_p$  y  $T_L$ , la diferencia se encuentra entre las técnicas de permeación utilizadas y no entre las formulaciones.

Según lo reportado por Saroha y col. (21), el tamaño de los parches obtenidos para las 3 formulaciones empleando la técnica de difusión pasiva se encuentra dentro del límite ideal requerido para una cómoda y fácil aplicación, se recomienda un tamaño menor a  $40 \text{ cm}^2$ .

**Tabla 12. Significancias obtenidas en prueba de Mann-Whitney, comparación entre formulaciones y técnica de permeación para J,  $K_p$  y  $T_L$**

Formulación	Comparación	J	$K_p$	$T_L$
<b>0% LSS DP</b>	1% LSS DP	0.513	0.513	0.513
	2% LSS DP	0.275	<b>0.050</b>	0.275
	0% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.037</b>
	1% LSS Ionto	0.180	0.180	0.180
	2% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>
<b>1% LSS DP</b>	2% LSS DP	0.513	0.827	0.827
	0% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.037</b>
	1% LSS Ionto	0.180	0.180	0.180
	2% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>
<b>2% LSS DP</b>	0% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.037</b>
	1% LSS Ionto	0.180	0.180	0.180
	2% LSS Ionto	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>	<b>0.050</b>
<b>0% LSS Ionto</b>	1% LSS Ionto	0.180	0.655	1.000
	2% LSS Ionto	0.827	0.513	0.121
<b>1% LSS Ionto</b>	2% LSS Ionto	0.180	0.655	0.346

DP: Permeación por difusión pasiva, Ionto: Permeación por iontoforesis.  $\alpha$ : 0.05,  $p \leq 0.050$

**Tabla 13. Tamaño calculado para los parches de las diferentes formulaciones empleando difusión pasiva o iontoforesis**

Técnica	Fórmula	Área ( $\text{cm}^2$ )
<b>Difusión pasiva</b>	0% LSS	24.45
	1% LSS	27.10
	2% LSS	23.08
<b>Iontoforesis</b>	0% LSS	110.81
	1% LSS	71.64
	2% LSS	97.28

**Tabla 14. Significancias obtenidas en prueba de Mann-Whitney, comparación entre formulaciones y técnica de permeación para tamaño del PTD**

Formulación	Comparación	Tamaño parche
<b>0% LSS DP</b>	1% LSS DP	0.513
	2% LSS DP	0.275
	0% LSS lonto	<b>0.050</b>
	1% LSS lonto	0.180
	2% LSS lonto	<b>0.050</b>
<b>1% LSS DP</b>	2% LSS DP	0.513
	0% LSS lonto	<b>0.050</b>
	1% LSS lonto	0.180
	2% LSS lonto	<b>0.050</b>
<b>2% LSS DP</b>	0% LSS lonto	<b>0.050</b>
	1% LSS lonto	0.180
	2% LSS lonto	<b>0.050</b>
<b>0% LSS lonto</b>	1% LSS lonto	0.180
	2% LSS lonto	0.827
<b>1% LSS lonto</b>	2% LSS lonto	0.655

DP: Permeación por difusión pasiva, lonto: Permeación por iontoforesis.  $\alpha$ : 0.05,  $p \leq 0.050$

## 9. CONCLUSIONES

El uso de un surfactante mostró mejores parámetros de permeación ( $K_p$ ,  $T_L$  y  $J$ ) conforme se aumentó su concentración en las formulaciones, sin embargo, para el caso de flujo y tiempo de latencia, no se observó una diferencia estadísticamente significativa. Debido a las características de losartán, el cual posee una carga negativa, el surfactante no pudo promover la permeación aumentando la carga negativa de la piel (efecto perjudicial), por lo tanto, su principal mecanismo promotor fue por su incorporación en la bicapa lipídica formando caminos acuosos de difusión.

No se observó diferencia significativa en el flujo del fármaco a través de la piel con la aplicación de iontoforesis en comparación con la difusión pasiva durante las permeaciones, de acuerdo a los 3 mecanismos por los que actúa la técnica de iontoforesis se puede concluir:

- El proceso de electro-ósmosis resultó una desventaja al emplear iontoforesis inversa (catodal), ya que el flujo de solventes toma generalmente un flujo de ánodo

(+) a cátodo (-), complicando el pasó del fármaco del compartimiento donador al receptor.

- La electro-migración (electro-repulsión) no fue lo suficientemente fuerte como para repeler al fármaco hacia la piel en contra del flujo provocado por la electroósmosis, por lo tanto, la electro-migración no fue un mecanismo dominante.
- La presencia de  $\text{NaCl}_{(\text{ac})}$  en el compartimiento donador permitió la migración de losartán hacia arriba, siendo un proceso desfavorable con la presencia de la electroósmosis.

Guy y colaboradores (2000) sugieren que la carga de la piel, más que la carga del permeante nos indica si la electro-repulsión o electro-ósmosis es el mecanismo predominante de transporte. Por lo tanto, podría ser posible manipular dicho transporte realizando cambios en el pH de la formulación (25) (41) y de esta forma, disminuir el efecto no benéfico de la electro-ósmosis.

La formulación de losartán en PTD puede considerarse como una alternativa a la vía oral, disminuyendo las desventajas de esta última vía de administración.

Según los resultados obtenidos, se considera como mejor opción a la formulación 2% LSS por medio de difusión pasiva, esto debido a que durante las permeaciones con esta técnica, la formulación 2% LSS obtuvo un  $K_p$  significativamente mejor en comparación con las formulaciones 0% LSS y 1% LSS. No se descarta a futuras aplicaciones el uso de iontoforesis debido a los cortos tiempos de latencia observados con esta, lo que nos permite alcanzar una concentración constante en mucho menor tiempo.

## **10. PERSPECTIVAS**

Con el fin de mejorar los resultados obtenidos, se propone realizar nuevas formulaciones con diferentes polímeros que brinden a la formulación mejores características de bioadhesión y resistencia a la ruptura.

Incluir en las formulaciones nuevos surfactantes, preferentemente catiónicos o no iónicos debido a la carga negativa que posee losartán.

Optimizar la técnica de iontoforesis con el fin de que la electroósmosis no represente una desventaja al paso del fármaco a través de la piel.

## 11. REFERENCIAS

- (1) Ancona A, Lago A, Parada M, González M. Eficacia del besilato de amlodipino en pacientes hipertensos, mexicanos, manejados en condiciones de vida real. *Med Int Mex.* 2010; 26(6): p. 535 - 543.
- (2) GEHA Guía Española de Hipertensión Arterial. Capítulo II: Hipertensión arterial. Definición. *Epidemiología. Hipertensión.* 2005; 22(2): p. 3 - 8.
- (3) Hernández M, Lezama M, Oseguera J, Alcocer L, Rodríguez C, Fernández M, et al. Guía de tratamiento farmacológico para el control de la hipertensión arterial 2009. *Rev Mex Cardiol.* 2009; 20(2): p. 55 - 104.
- (4) Escobar-Chávez J, Merino V, Díez-Sales O, Náchter-Alonso A, Ganem-Quintanar A, Herráez M, et al. Transdermal nortriptyline hydrochloride patch formulated within a chitosan matrix intended to be used for smoking cessation. *Pharm Dev Tech.* 2010; 16(2): p. 162 - 169.
- (5) Allevato M. Sistemas terapéuticos transdérmicos. *Act Terap Dermatol.* 2007; 30: p. 154 - 166.
- (6) NOM-030-SSA2-1999, Para la prevención, tratamiento y control de la hipertensión arterial. Norma Oficial Mexicana. México: Secretaría de Salubridad y Asistencia; 1999.
- (7) SSA. Enfermedades cardiovasculares e hipertensión arterial. Programa de acción. México: Secretaría de Salud; 2001.
- (8) OMS. Organización Mundial de la Salud. [En línea].; 2010 [Revisado el 4 de Octubre del 2014]. Disponible en: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs317/es/>.
- (9) INEGI. Estadísticas a propósito del día mundial de la salud. México: Instituto Nacional de Estadística y Geografía; 2013.
- (10) OMS. Organización Mundial de la Salud. [En línea].; 2013 [Revisado el 10 de Mayo del 2013]. Disponible en: <http://www.who.int/es/>.
- (11) OMS. Organización Mundial de la Salud. [En línea].; 2012 [Revisado el 10 de Mayo del 2013]. Disponible en: <http://www.who.int/es/>.



- (12) SS. Guía de Práctica Clínica para el diagnóstico y tratamiento de la hipertensión arterial en el primer nivel de atención. Guía de Práctica Clínica. México: Secretaría de Salud; 2008.
- (13) Silva S, Hu L, Sousa J, Pais A, Michniak-Kohn B. A combination of nonionic surfactants and iontophoresis to enhance the transdermal drug delivery of ondansetron HCl and diltiazem HCl. *Eur J of Pharm and Biopharm.* 2012; 80: p. 663 - 673.
- (14) Chuong C, Nickoloff B, Elias P, Goldsmith L, Macher E, Maderson P, et al. What is the 'True' Function of the Skin? *Exp Dermatol.* 2002; 11: p. 159 - 187.
- (15) Menon K. New insights into skin structure: scratching the surface. *Adv Drug Del Rev.* 2002; 54(1): p. 3 - 17.
- (16) Walters K, Roberts M. The Structure and Function of Skin. In Walters k, editor. *Dermatological and Transdermal Formulations.* Primera ed.: Marcel Dekker, Inc.; 2002. p. 1-39.
- (17) Calatayud-Pascual M, Balaguer-Fernández C, Serna-Jiménez C, Rio-Sancho S, Fermenía-Font A, Merino V, et al. Effect of iontophoresis on in vitro transdermal absorption of almotriptan. *Int J of Pharm.* 2011; 416: p. 189 - 194.
- (18) Rio-Sancho S, Serna-Jiménez C, Calatayud-Pascual M, Balaguer-Fernández C, Femenia-Font A, Merino V, et al. Transdermal absorption of memantine - Effect of chemical enhancers, iontophoresis, and role of enhancer lipophilicity. *Eur J of Pharm and Biopharm.* 2012; 82: p. 164 -170.
- (19) Mills P, Cross S. The effects of equine skin preparation on transdermal drug penetration in vitro. *Can J Vet Res.* 2006; 70: p. 317-320.
- (20) Walters K. Drug Delivery: Topical and Transdermal Routes. In Swarbrick J, editor. *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology.* Tercera ed. USA: Informa Healthcare USA, Inc.; 2007. p. 1311-1323.
- (21) Saroha K, Yadav B, Benika S. Transdermal patch: A discret dosage form. *Int J Curr Pharm Res.* 2011; 3(3): p. 98-108.
- (22) Roberts M, Cross S. Skin transport. In Walters K, editor. *Dermatological and*

- Transdermal Formulations. Primera ed. USA: Marcel Dekker, Inc.; 2002. p. 89-195.
- (23) Gupta V, Yadav S, Kumar A, Gupta N. Transdermal drug delivery: Past, present, future trends. *Int J Pharm & Life Sci.* 2011; 2(9): p. 1096-1106.
- (24) Escobar-Chávez J, Merino V, López-Cervantes M, Rodríguez-Cruz I, Quintanar-Guerrero D, Ganem-Quintanar A. The use of iontophoresis in the administration of nicotine and new non-nicotine drugs through the skin for smoking cessation. *Curr Drug Discov Tech.* 2009; 6(3): p. 171 - 185.
- (25) Panchagnula R, Pillai O, Nair V, Ramarao P. Transdermal iontophoresis revisited. *Cur Op in Chem Biol.* 2000; 4: p. 468 - 473.
- (26) Suresh P, Manasa K, Satish S, Brahmaiah B, Khalilullah S, Nama S. Bioadhesive drug delivery system-a review. *Asian J Pharm Res.* 2013; 3(1): p. 30 - 37.
- (27) Panner R, Kumar A, Sivakumar T. Transdermal drug delivery systems for antihypertensive drugs - A review. *Int J Pharm Biomed Res.* 2010; 1(1): p. 1 - 8.
- (28) Madhulatha A, Naga R. Formulation and evaluation of ibuprofen transdermal patches. *Int J Res Pharma and Biom Sci.* 2013; 4(1): p. 351 - 362.
- (29) Jani R, Patel J. A review on delivery of antihypertensive drugs through transdermal systems. *Int J Pharma Chem Sci.* 2012; 1(4): p. 1461 - 1474.
- (30) Xin C, Li-Hong W, Yue Y, Yan-nan G, Qi-fang W, Yang Y, et al. A novel method to enhance the efficiency of drug transdermal iontophoresis delivery by using complexes of drug and ion-exchange fibers. *Int J of Pharm.* 2012; 428: p. 68 - 75.
- (31) Sloan J, Soltani K. Iontophoresis in dermatology. A Review. *J Am Acad Derm.* 1986; 15(4): p. 671-684.
- (32) Turrell W. The therapeutic action of constant current. *Proc R Soc Med.* 1921; 14: p. 41-52.
- (33) Djabri A, Guy R, Delgado-Charro M. Transdermal iontophoresis of ranitidine: An opportunity in paediatric drug therapy. *Int J of Pharm.* 2012; 435: p. 27 - 32.
- (34) Patel S, Zhong H, Sharma A, Kalia Y. In vitro and in vivo evaluation of the transdermal iontophoretic delivery of sumatriptan succinate. *Eur J Pharm Biopharm.* 2007; 66: p. 296 - 301.

- (35) Singh P, Liu P, Dinh S. Facilitated Transdermal Delivery by Iontophoresis. In Bronaugh R, Maibach H, editors. *Percutaneous Absorption*. Tercera ed. USA: Marcel Dekker, Inc.; 1999. p. 633-657.
- (36) Yan G, Li S, Higuchi W. Evaluation of constant current alternating current iontophoresis for transdermal drug delivery. *J of Cont Rel*. 2005; 110: p. 141 - 150.
- (37) Phipps J, Gyory J. Transdermal ion migration. *Adv Drug Del Rev*. 1992; 9: p. 137 - 176.
- (38) Pikal M. The role of electroosmotic flow in transdermal iontophoresis. *Adv Drug Del Rev*. 2001; 46: p. 281 - 305.
- (39) Guy R, Delgado-Charro M, Kalia Y. Iontophoretic transport across the skin. *Skin Pharmacol Appl Skin Physiol*. 2001; 14(1): p. 35 - 40.
- (40) Femenía-Font A, Balaguer-Fernández C, Merino V, López-Castellano A. Combination strategies for enhancing transdermal absorption of sumatriptan through skin. *Int J Pharm*. 2006; 323: p. 125 - 130.
- (41) Guy R, Kalia Y, Delgado-Charro M, Merino V, López A, Marro D. Iontophoresis: electrorepulsion and electroosmosis. *J Cont Rel*. 2000; 64: p. 129 - 132.
- (42) Vaquer L, Blasco L, Honrubia E, Bayona M, Villanueva V, Asensio J, et al. Iontoforesis en el abordaje del paciente con dolor crónico. *Rev Soc Esp Dolor*. 2009; 16(5): p. 275 - 278.
- (43) Chen H, Zhu H, Zheng J, Mou D, Wan J, Zhang J, et al. Iontophoresis-driven penetration of nanovesicles through microneedle-induced skin microchannels for enhancing transdermal delivery of insulin. *J of Cont Rel*. 2009; 139: p. 63 - 72.
- (44) Walters K, Brain K. *Dermatological Formulation and Transdermal Systems*. In Walters K, editor. *Dermatological and Transdermal Formulations*. Primera ed. USA: Marcel Dekker, Inc.; 2002. p. 319-399.
- (45) Borghi C, Ertek S. LIFE (losartan intervention for endpoint reduction in hypertension) study and its substudies. *Int C Ser*. 2007; 1303: p. 129 - 137.
- (46) Fossum E, Moan A, Kjeldsen S, Devereux R, Julius A, Snappin S, et al. The effect of losartan versus atenolol on cardiovascular morbidity and mortality in patients with

- hypertension taking aspirin. *JACC*. 2005; 46(5): p. 770 - 775.
- (47) O'Neil M. *The Merck Index- An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biologicals*. 13th ed. NJ: Merck and Co., Inc.; 2001.
- (48) Bonifilio R, Ferreira T, Ribeiro G, Benjamin M. Losartan potassium dissolution test for drug release evaluation in pharmaceutical capsules using HPLC and UV spectrophotometry. *Quim Nova*. 2010; 33(2): p. 377 - 383.
- (49) Alcázar R, Ruiz-Ortega M, Egido J. Angiotensina II: péptido clave en el daño vascular y renal. *Nefrol*. 2003; 23(4): p. 27-35.
- (50) Chopra S, Patil G, Motwani S. Release modulating hydrophilic matrix systems of losartan potassium: Optimization of formulation using statistical experimental design. *Eur J Pharma Biopharma*. 2007; 66: p. 73 - 82.
- (51) Johnston C. Angiotensin receptor antagonists: focus on losartan. *Lancet*. 1995; 346: p. 1403-1407.
- (52) Reilly R, Jackson E. Regulación de la función y el volumen vascular. In Brunton L, editor. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. Décimo segunda ed.: Mc Graw Hill; 2012. p. 736-739.
- (53) Bühler V. Kollicoat grades. *Functional polymers for the pharmaceutical industry* Alemania: BASF The Chemical Company; 2007.
- (54) The United States Pharmacopoeial Convention. *United States Pharmacopoeia*. 37th ed. USA; 2013.
- (55) Kibbe A. Povidone. In Rowe R, Sheskey P, Quinn M, editors. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sexta edición ed. UK-USA: Pharmaceutical Press & American Pharmacists Association; 2009. p. 581-585.
- (56) Weller P. Propylene Glycol. In Rowe R, Sheskey P, Quinn M, editors. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sexta edición ed. UK-USA: Pharmaceutical Press & American Pharmacists Association; 2009. p. 592-594.
- (57) Wallick D. Polyethylene Glycol. In Rowe R, Sheskey P, Quinn M, editors. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Sexta edición ed. UK-USA: Pharmaceutical Press & American Pharmacists Association; 2009. p. 517-522.

- (58) Plumb P. Sodium LAuryl Sulfate. In Rowe R, Sheskey P, Quinn M, editors. Handbook of Pharmaceutical Excipients. Sexta edición ed. UK-USA: Pharmaceutical Press & American Pharmacists Assosiation; 2009. p. 651-653.
- (59) Brain K, Walters K, Watkinson A. Methods for studing percutaneous absorpction. In Walters K, editor. Dermatological and Transdermal Formulations. Primera ed. USA: Marcel Dekker, Inc.; 2002. p. 197-269.
- (60) Fuenmayor P, Gómez J. Comparación de la combinación hidroclorotiazida/bisoprolol con enalapril/amlodipina en el manejo de la hipertensión arterial no controlada. Rev Fac Med. 2008; 31(1): p. 45 - 51.
- (61) Vasan R, Larson M, Leip E, Kannel W, Levy D. Assesment of frequency of progression to hypertension in non-hypertensive participants in the Framingham Heart Study: a cohort study. Lancet. 2001; 358: p. 1682 - 1686.
- (62) Serrano P. Uso de microagujas para hacer más eficiente el paso de clorhidrato de sibutramina a través de piel humana formulado en parches transdérmicos de una matriz polimérica de quitosan con transcutol. 2011. Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. Tesis de licenciatura.
- (63) Escobar-Chávez J, Bonilla D, Villegas M, Molina M. Microneedles: A valuable physical enhancer to increase transermal drug delivery. J Clin Pharmacol. 2011; 51: p. 964 - 977.
- (64) Pintu D, Jibitesh P, Sanjoy D, Subas D, Soumen R. Formulation, Physico-chemical characterization and release kinetic study of antihypertensive transdermal patches. Der Pharmacia Sinica. 2011; 2(5): p. 98 - 109.
- (65) Yedurkar P, Dhiman M, Sawant K. Comprimidos mucoadherentes bicapa para la administración bucal de carvedilol: Estudios in vitro e in vivo. Ars Pharm. 2007; 48(3): p. 259-274.
- (66) Dash S, Murthy P, Nath L, Chowdhury P. Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. Acta Pol Pharmac. 2010; 67(3): p. 217-223.
- (67) Fang J, Huang Y, Lin H, Tsai Y. Transdermal iontophoresis of sodium nonivamide

- acetate. IV. Effect of polymer formulations. *Int J of Pharm.* 1998; 173: p. 127 - 140.
- (68) Howes D, Guy R, Hadgraft J, Heylings J, Hoeck U, Kemper F, et al. Methods for assessing percutaneous absorption. *ATLA.* 1996; 24: p. 81 - 106.
- (69) Phipps J, Padmanabhan R, Lattin G. Transport of ionic species through skin. *Sol St Ion.* 1988; 28: p. 1778 - 1783.
- (70) Rabel S, Jona J, Maurin M. Applications of modulated differential scanning calorimetry in preformulation studies. *J Pharm and Biom Anal.* 1999; 21: p. 339 - 345.
- (71) Aragón J, González R, Fuentes G. Cinética de liberación de cefalexiana desde un biomaterial compuesto por HAP-200/POVIAC/CaCO<sub>3</sub>. *An R Acad Nac Farm.* 2009; 75(3): p. 345-363.

## 12. ANEXOS

### ANEXO A

#### “Determinación del contenido de humedad”

- I. Colocar en un pesafiltro de forma baja previamente desecado por 30 minutos y llevado a peso constante, 1 gramo de muestra previamente triturada en fragmentos de aproximadamente 2 mm.
- II. Colocar en una estufa dicho pesafiltro abierto a una temperatura de 100 °C durante el tiempo que sea necesario para obtener un peso constante.
- III. Al abrir la estufa se debe tapar el pesafiltro inmediatamente y colocar en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente antes de ser pesado.
- IV. Para calcular el %P<sub>s</sub> en la muestra se emplea la siguiente fórmula:  $P_i - P_f = P_s$ ,  $\%P_s = (P_s/P_i) * 100$ .
- V. El %P<sub>s</sub> es indicativo del contenido de humedad en la muestra.

## ANEXO B

### PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

## ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	II
1. Introducción	III
2. Objetivo	III
3. Alcance	III
4. Responsabilidades	III
5. Definiciones	III
6. Recursos a utilizar	
6.1. Equipos	VII
6.2. Material	VII
6.3. Reactivos	VIII
7. Estándar de referencia	VIII
8. Procedimiento	
8.1. Condiciones del análisis	VIII
8.2. Preparación de soluciones madres de Losartán Potásico	VIII
8.3. Preparación de soluciones estándares de Losartán Potásico	VIII
8.4. Factor de corrección de absorbancia	IX
8.5. Parámetros de desempeño	
8.5.1. Precisión del sistema	XI
8.5.2. Linealidad del sistema	XI
8.5.3. Linealidad del método	XI
8.5.4. Exactitud y repetibilidad del método	XII
8.5.5. Precisión del método	XIII
8.5.6. Estabilidad analítica de la muestra	XIII
9. Criterios de aceptación	XIII
10. Resultados y dictamen	XIV
11. Conclusión	XXII
12. Anexos	XXII



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

**Listado de abreviaturas**

$\beta_0$	Ordenada al origen	IC( $\mu$ )	Intervalo de confianza para la
$\beta_1$	Pendiente		media poblacional
$^{\circ}\text{C}$	Grados Celsius	mg	Miligramos
$C_1$	Concentración inicial	mL	Mililitros
$C_2$	Concentración final	$P_f$	Masa final
C.V.	Coeficiente de variación	$P_i$	Masa inicial
$CV_E$	Coeficiente de variación de la absortividad molar	$P_s$	Pérdida por secado
$CV_{Y/X}$	Coeficiente de variación de la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada	$r^2$	Coeficiente de determinación
di	Diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición de almacenaje respecto a la media aritmética del análisis inicial	$r^2_{Y/X}$	Coeficiente de determinación de la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada
E	Absortividad molar	S	Desviación estándar
g	Gramos	$\mu\text{g}$	Microgramos
HR	Humedad Relativa	$V_1$	Volumen inicial
IC( $\mu$ )	Intervalo de confianza para la media poblacional	$V_2$	Volumen final
IC( $\beta_0$ )	Intervalo de confianza para la ordenada al origen poblacional	Y	Media aritmética de y
IC( $\beta_1$ )	Intervalo de confianza para la pendiente poblacional	$Y_0$	Media aritmética del análisis inicial
		$Y_i$	Media aritmética de cada condición de almacenaje
		%	Porcentaje

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- 1. Introducción:** Losartán Potásico es un fármaco indicado para el tratamiento de la hipertensión arterial comercializado actualmente en forma de tabletas de 50 y 100 mg. Esta nueva forma farmacéutica en presentación de parches transdérmicos representa una alternativa a la administración de dicho fármaco. Se evaluarán los parámetros de desempeño (precisión del sistema, linealidad del sistema, exactitud y repetibilidad del método, linealidad del método, precisión del método y estabilidad analítica de la muestra) del presente método analítico por medio de espectrofotometría ultravioleta.
- 2. Objetivo:** Demostrar mediante datos experimentales que el método analítico para la cuantificación de Losartán Potásico parches transdérmicos de 100 mg cumple con los requerimientos: precisión del sistema, linealidad del sistema, exactitud y repetibilidad del método, linealidad del método, precisión del método y estabilidad analítica de la muestra y demostrar si dicho método proporciona resultados confiables dentro de los límites de aceptación establecidos por la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.
- 3. Alcance:** El presente protocolo será aplicado siempre que se evalúen los parámetros de desempeño para la cuantificación de Losartán Potásico parches transdérmicos de 100 mg por espectrofotometría UV.
- 4. Responsables:** La responsabilidad de la evaluación de los parámetros de desempeño del método corresponde al Responsable de Laboratorio, Coordinador de la evaluación de los parámetros y al analista que realizará los pasos establecidos en este protocolo; que son parte del Laboratorio 12.
- 5. Definiciones:**

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- 5.1. Analito: Componente específico de una muestra a medir.
- 5.2. Calibración: Conjunto de operaciones que determinan la relación entre los valores indicados por un instrumento de medición y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.
- 5.3. Especificaciones: Descripción del material que incluye la definición de sus propiedades y características, con las tolerancias de variación de los parámetros de calidad.
- 5.4. Especificidad: Capacidad de un método analítico para obtener una respuesta debida únicamente al analito de interés.
- 5.5. Exactitud: Concordancia entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.
- 5.6. Estabilidad analítica de la muestra: Propiedad de una muestra preparada, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración del analito, después de almacenarse por un tiempo y condiciones determinadas.
- 5.7. Intervalo: Concentraciones incluidas entre la concentración superior e inferior del analito (incluyendo éstas), para las cuales se ha demostrado que el método es preciso, exacto y lineal.
- 5.8. Límite de cuantificación: Concentración mínima del analito que se puede determinar con precisión y exactitud aceptables.
- 5.9. Límite de detección: Concentración mínima del analito que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada.
- 5.10. Linealidad: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por una transformación matemática, son proporcionales a la concentración del analito.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- 5.11. Método analítico: Descripción de la secuencia de actividades, materiales y parámetros que se deben cumplir para llevar a cabo el análisis de un componente específico de la muestra.
- 5.12. Método analítico indicativo de estabilidad: Método cuantitativo capaz de detectar variaciones en las propiedades del material evaluado, debido a las condiciones de almacenaje.
- 5.13. Muestra: Porción del material a evaluar.
- 5.14. Muestra analítica: Porción del material a evaluar de acuerdo al método analítico.
- 5.15. Muestra adicionada: Porción representativa del material a evaluar, a la que se le adicionan cantidades conocidas del analito.
- 5.16. Parámetros de desempeño: Parámetro específico a estudiar en un protocolo de validación.
- 5.17. Placebo analítico: Muestra que contiene todos los componentes de un producto a excepción del analito.
- 5.18. Placebo adicionado: Muestra e un placebo analítico al cual se le adiciona una cantidad conocida del analito.
- 5.19. Precisión: Grado de concordancia entre resultados analíticos individuales, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea.
- 5.20. Precisión intermedia: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia relativa obtenida entre determinaciones independientes realizadas en un mismo laboratorio, por diferentes analistas, en distintos días.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- 5.21. Proporcionalidad: Relación establecida por una ecuación matemática entre los resultados obtenidos por dos métodos analíticos.
- 5.22. Protocolo de validación: Descripción de pruebas específicas para demostrar que un proceso da resultados que cumplen con los criterios preestablecidos de manera consistente.
- 5.23. Recobro: Cantidad del analito determinada en el placebo adicionado, empleando el método analítico.
- 5.24. Repetibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.
- 5.25. Reproducibilidad: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia entre determinaciones independientes realizadas por diferentes laboratorios.
- 5.26. Revalidación: Comprobación de que el método analítico mantiene su desempeño cuando existen cambios en la composición del producto, en el método analítico.
- 5.27. Robustez: Capacidad del método analítico de mantener su desempeño al presentarse variaciones pequeñas pero deliberadas, en los parámetros normales de operación del método.
- 5.28. Sustancia de referencia: Sustancia de uniformidad reconocida destinada a utilizarse en comprobaciones analíticas físicas, químicas o microbiológicas en el transcurso de las cuales se comparan con la sustancia en evaluación.

## PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- 5.29. Sustancia de referencia primaria: Sustancia que es designada por tener la más alta calidad microbiológica, cuyas propiedades se aceptan sin referencia a otras sustancias.
- 5.30. Sustancia de referencia secundaria: Sustancia cuyas propiedades se asignan por comparación con una sustancia de referencia primaria, o bien, cuando es certificada mediante un procedimiento científicamente reconocido.
- 5.31. Tolerancia: Reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo diferentes condiciones normales de operación. La robustez y la tolerancia son conceptos diferentes, ya que el primero se refiere a la influencia de factores internos del método, mientras que la tolerancia se refiere a factores externos del método.
- 5.32. Validación del método analítico: Proceso por el cual se demuestra, por estudios de laboratorio, que la capacidad del método satisface los requisitos para la aplicación analítica deseada.

### 6. Recursos a utilizar:

#### 6.1. Equipos:

- Balanza analítica
- Agitador magnético multiplaza
- Espectrofotómetro UV-Vis CARY 100 VARIAN

#### 6.2. Material:

- Vasos de precipitado de 100 mL
- Pipetas de plástico
- Matraz volumétrico de 10, 25, 50 y 250 mL
- Pipeta volumétrica de 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 10 mL
- Naves de pesado

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

- Espátula

### 6.3. Reactivos

- Losartán potásico USP
- PVP Kollidon 30 USP
- Agua destilada

### 7. Estándar de referencia: Losartán potásico USP.

### 8. Procedimientos:

- 8.1. Condiciones del análisis: Analizar las muestras por espectrofotometría UV en un equipo CARY 100 VARIAN a una longitud de onda de 205 nm empleando como blanco agua desionizada en celdas de cuarzo de 1 cm<sup>2</sup>. Todas las muestras deberán ser analizadas a temperatura ambiente.
- 8.2. Preparación de soluciones madres de Losartán Potásico al 100%: Pesar una cantidad de Losartán Potásico de entre 12.2 a 13.1 mg y transferir a un matraz volumétrico de 250 mL. Hacer enjuagues a la nave de pesado con agua desionizada con el fin de transferir la totalidad de dicho fármaco al matraz. Posteriormente, llevar al aforo con agua desionizada y agitar hasta observar completamente disuelto el fármaco. Almacenar para uso posteriores en un recipiente de vidrio hermético.
- 8.3. Preparación de soluciones estándares de Losartán Potásico (Curva de calibración): Preparar una solución madre (ver punto 8.2.) y transferir de esta alícuotas de 3, 4, 5, 6, 8 y 10 mL a matraces volumétricos de 25 mL. Llevar a aforo con agua desionizada y agitar hasta homogenizar la solución. Dichas soluciones nos permitirán obtener una curva de calibración en un intervalo de 6 a 20 µg/mL.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

8.4. Factor de corrección de absorbancia: Debido a que uno de los excipientes empleados en la presente formulación (PVP Kollidon 30) absorbe a una longitud de onda cercana a la de Losartán potásico, se debe realizar la siguiente corrección a las absorbancias obtenidas con el fin de determinar que absorbancia corresponde a Losartán. Cabe mencionar que dentro de la formulación, la proporción de PVP KOLLIDON 30 – Losartán es 1:1 respectivamente.

8.4.1. Preparación de curva de calibración de PVP KOLLIDON 30– Losartán 100%: Pesar 13.1 mg de PVP KOLLIDON 30 y de Losartán y transferir a un matraz volumétrico de 250 mL. Hacer enjuagues a la nave de pesado con agua desionizada con el fin de transferir la totalidad del fármaco y PVP a cada uno de los matraces. Posteriormente, llevar al aforo con agua desionizada y agitar hasta disolver completamente. Tomar alícuotas de 3, 4, 5, 6, 8 y 10mL de cada una de las soluciones anteriormente preparadas y depositarlas en matraces volumétricos de 25 mL, llevar a aforo y agitar hasta homogenizar la solución. De esta forma, se preparará una curva de calibración para PVP y otra para Losartán en un intervalo de concentraciones de 6.2 a 20 µg/mL aproximadamente. Leer las respuestas analíticas de ambas curvas y calcular el promedio del cociente de la absorbancia de PVP entre la absorbancia de Losartán. Una vez obtenido dicho promedio, las absorbancias de las muestras analizadas cuyo contenido incluye PVP KOLLIDON 30– Losartán en proporción 1:1 deberán ser corregidas de la siguiente manera:

Absorbancia corregida = Absorbancia – (Absorbancia \* Promedio del cociente de absorbancia PVP/Losartán).



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

8.4.2. Preparación de curva de calibración de PVP KOLLIDON 30– Losartán 80%: Pesar 16.2 mg de PVP KOLLIDON 30 y 12.96 mg de Losartán, transferir a un matraz volumétrico de 250 mL. Hacer enjuagues a la nave de pesado con agua desionizada con el fin de transferir la totalidad del fármaco y PVP a cada uno de los matraces. Posteriormente, llevar al aforo con agua desionizada y agitar hasta disolver completamente. Tomar alícuotas de 3, 4, 5, 6, 8 y 10ml de cada una de las soluciones anteriormente preparadas y depositarlas en matraces volumétricos de 25 ml, llevar a aforo y agitar hasta homogenizar la solución. Leer las respuestas analíticas de ambas curvas y calcular el promedio del cociente de la absorbancia de PVP entre la absorbancia de Losartán. Una vez obtenido dicho promedio, las absorbancias de las muestras analizadas cuyo contenido incluye PVP KOLLIDON 30 – Losartán en proporción 1:0.8 deberán ser corregidas de la siguiente manera:  $Absorbancia\ corregida = Absorbancia - (Absorbancia * Promedio\ del\ cociente\ de\ absorbancia\ PVP/Losartán)$ .

8.4.3. Preparación de curva de calibración de PVP KOLLIDON 30 – Losartán 120%: Pesar 10.8 mg de PVP KOLLIDON 30 y 13.0 mg de Losartán y transferir a un matraz volumétrico de 250 mL. Hacer enjuagues a la nave de pesado con agua desionizada con el fin de transferir la totalidad del fármaco y PVP a cada uno de los matraces. Posteriormente, llevar al aforo con agua desionizada y agitar hasta disolver completamente. Tomar alícuotas de 3, 4, 5, 6, 8 y 10mL de cada una de las soluciones anteriormente preparadas y depositarlas en matraces volumétricos de 25 mL, llevar a aforo y agitar hasta homogenizar la solución. Leer las respuestas analíticas de ambas curvas y calcular el promedio

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

del cociente de la absorbancia de PVP entre la absorbancia de Losartán. Una vez obtenido dicho promedio, las absorbancias de las muestras analizadas cuyo contenido incluye PVP KOLLIDON 30 – Losartán en proporción 1:1.2 deberán ser corregidas de la siguiente manera: Absorbancia corregida = Absorbancia – (Absorbancia \* Promedio del cociente de absorbancia PVP/Losartán).

8.5. Parámetros de desempeño:

8.5.1. Precisión del sistema: Tomar una alícuota de 5 mL de una solución madre de Losartán al 100% (ver punto 8.2.) y aforar a un volumen de 25 mL con la finalidad de obtener una concentración final aproximada de 10 µg/mL, repetir el procedimiento hasta obtener un total de 6 muestras. Medir la respuesta analítica de las muestras (ver punto 8.1) y calcular S y %C.V. de dicha respuesta.

8.5.2. Linealidad del sistema: Preparar por triplicado lo señalado en el punto 8.3. y medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones (ver punto 8.1). Reportar la relación entre la concentración y la respuesta analítica obteniendo;  $\beta_0$ ,  $\beta_1$ ,  $r^2$  y el IC( $\beta_1$ ) a partir del gráfico.

8.5.3. Linealidad del método: Pesar 9 parches placebo de 215 mg masa seca. Para lo anterior será necesario hacer la determinación de humedad de dichos parches y hacer el cálculo de la masa que deben tener tomando en cuenta el contenido de humedad (ver anexo 1.1). Posteriormente, disolver dichos parches en 40 mL de agua destilada con ayuda de un agitador magnético multiplaza por 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez disueltos, tomar una alícuota de 1 mL y aforar a 25 mL con agua destilada. En seguida, tomar nuevamente una alícuota de 1 mL de la última dilución y colocarla en un matraz

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

volumétrico de 10 mL al cual se adicionará también la cantidad correspondiente al 80%, 100% ó 120% de una solución madre de Losartán (ver punto 8.2.) según corresponda (ver anexo 1.2). Obtener la respuesta analítica de las muestras y corregir como se indica en el punto 8.4. Reportar la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada y calcular  $\beta_1$ ,  $\beta_0$ ,  $r^2$ ,  $IC(\beta_1)$ ,  $IC(\beta_0)$  y  $\%CV_{y/x}$ . Calcular el porcentaje de recobro de cada placebo o muestra adicionada al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje. Calcular  $\bar{y}$ ,  $S$ ,  $\%CV$  e  $IC(\mu)$  del porcentaje de recobro.

8.5.4. Exactitud y repetibilidad del método: Pesar 6 parches placebo con un peso de 215 mg masa seca. Para lo anterior será necesario hacer la determinación de humedad de dichos parches y hacer el cálculo de la masa que deben tener tomando en cuenta el contenido de humedad (ver anexo 1.1). Posteriormente disolver dichos parches en 40 mL de agua destilada con ayuda de un agitador magnético multiplaza por 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez disueltos tomar una alícuota de 1 mL y aforar a 25 mL, en seguida, tomar nuevamente una alícuota de 1 mL y adicionarla a un matraz volumétrico de 10 mL. A este último matraz adicionar lo correspondiente al 100% de una solución madre de Losartán (ver punto 8.2.) y en seguida llevar al aforo. Obtener la respuesta analítica de las muestras y corregir como se indica en el punto 8.4.1. Calcular el porcentaje de recobro de cada muestra al obtener el cociente de la cantidad recuperada respecto a la cantidad adicionada. Calcular  $\hat{y}$ ,  $S$ ,  $\%CV$  e  $IC(\mu)$  del porcentaje de recobro.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

8.5.5. Precisión del método: Pesar 3 parches de 315 mg masa seca. Para lo anterior será necesario hacer la determinación de humedad de dichos parches y hacer el cálculo de la masa que deben tener tomando en cuenta el contenido de humedad (ver anexo 1.1). Posteriormente disolver dichos parches en 40 mL de agua destilada con ayuda de un agitador magnético multiplaza por 15 minutos a temperatura ambiente. Una vez disueltos tomar una alícuota de 1 mL y aforar a 25 mL, en seguida, tomar nuevamente una alícuota de 1 mL y aforarla a 10 mL. Leer la respuesta analítica bajo las mismas condiciones (ver punto 8.1) y corregir como se indica en el punto 8.4.1. para calcular el contenido químico de los parches. Repetir dicho procedimiento en un día diferente y con un mínimo de 2 analistas. Calcular  $\hat{y}$ , S, %CV del contenido químico.

8.5.6. Estabilidad analítica de la muestra: Tomar 3 muestras de la prueba de exactitud y repetibilidad y analizar a diferentes tiempos (0, 5, 13 y 19 días). Leer la respuesta analítica de las muestras (ver punto 8.1), corregir dicha respuesta como se indica en el punto 8.4.1. y reportar el contenido químico. Calcular  $y_0$ ,  $y_i$  y  $|d_i|$ .

## 9. Criterios de aceptación:

9.1. Factor de corrección de absorbancia: El  $r^2$  de la relación entre la concentración y la respuesta analítica para cada curva de calibración debe ser  $\geq 0.98$  y el  $IC(\beta_1)$  no debe incluir el cero.

9.2. Precisión del sistema: %C.V. de la respuesta analítica debe ser  $\leq 1.5\%$ .

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

9.3. Linealidad del sistema: El  $r^2$  de la relación entre la concentración y la respuesta analítica debe ser  $\geq 0.98$  y el  $IC(\beta_1)$  no debe incluir el cero.

9.4. Linealidad del método: Para el caso de cantidad adicionada vs cantidad recuperada el valor de  $r^2$  de la relación cantidad adicionada vs cantidad recuperada debe ser  $r^2_{Y/X} > 0.98$ , el  $IC(\beta_1)$  debe incluir la unidad, el  $IC(\beta_0)$  debe incluir el cero y el  $\%CV_{Y/X}$  no debe ser mayor a 3%. Según al porcentaje de recobro el  $IC(\mu)$  debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro debe incluirse en el intervalo 97-103% con un  $\%CV$  no mayor de 3%.

9.5. Exactitud y repetibilidad del método: El  $IC(\mu)$  debe incluir el 100% o el promedio aritmético del % de recobro se debe incluir en el intervalo de 97-103%. El  $\%CV$  del porcentaje de recobro no debe ser mayor de 3%.

9.6. Precisión del método: El  $\%CV$  del contenido químico no debe ser mayor al 3%.

9.7. Estabilidad analítica de la muestra: El valor de  $|d_i|$  no debe ser mayor del 3%.

## 10. Resultados y dictamen:

10.1. Factor de corrección de absorbancia:

10.1.1. PVP KOLLIDON 30 – Losartán 100%: Los resultados obtenidos para dicha curva se observan en la tabla 1. A partir de estos resultados, se obtiene un factor de corrección de 0.29671649 cuando la proporción entre dichas materias primas es 1:1.

10.1.2. PVP KOLLIDON 30 – Losartán 80%: Los resultados obtenidos para dicha curva se observan en la tabla 2. A partir de estos resultados, se obtiene

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

un factor de corrección de 0.35362589 cuando la proporción entre dichas materias primas es 1:0.8.

**Tabla 1. Resultados obtenidos de las curvas de calibración para Losartán potásico y PVP KOLLIDON 30 en relación 1:1**

Muestra	Vol. (mL)	[ ] µg/mL	Absorbancia		E		Relación PVP/LOS	
			Losartán	PVP	Losartán	PVP		
1	3	6.288	0.5998	0.1809	0.09538804	0.02876908	0.30160053	
2	4	8.384	0.8059	0.2356	0.09612357	0.02810115	0.29234396	
3	5	10.48	1.0423	0.3059	0.09945611	0.02918893	0.29348556	
4	6	12.576	1.2013	0.3553	0.09552322	0.02825223	0.29576292	
5	8	16.768	1.5998	0.4811	0.09540792	0.02869156	0.30072509	
6	10	20.96	1.9701	0.5839	0.09399332	0.02785782	0.29638089	
<b>Promedio</b>					0.09598203	0.02847679	<b>0.29671649</b>	
<b>S</b>					0.0018405	0.00049262	0.00375507	
<b>% C.V.</b>					1.91754309	1.72989201	1.2655397	<b>CUMPLE</b>
<b>r<sup>2</sup></b>			0.9986	0.9985	-	-	-	<b>CUMPLE</b>
<b>IC(β<sub>1</sub>)</b>			0.0882, 0.9978	0.0262, 0.0292	-	-	-	<b>CUMPLE</b>

10.1.3. PVP KOLLIDON 30 – Losartán 120%: Los resultados obtenidos para dicha curva se observan en la tabla 3. A partir de estos resultados, se obtiene un factor de corrección de 0.25694962 cuando la proporción entre dichas materias primas es 1:1.2.

10.2. Precisión del sistema: Se analizaron 6 muestras preparadas a partir de una solución madre de Losartán con concentración definida. En la tabla 4 se muestran los resultados obtenidos.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

**Tabla 2. Resultados obtenidos de las curvas de calibración para PVP KOLLIDON 30 y Losartán potásico en relación 1:0.8**

Muestra	Vol. (mL)	[ ] µg/mL		Absorbancia		E		Relación PVP/LOS	
		Losartán	PVP	Losartán	PVP	Losartán	PVP		
1	3	6.2208	7.776	0.6131	0.215	0.098556	0.02764918	0.350676	
2	4	8.2944	10.368	0.8067	0.2895	0.097258	0.02792245	0.358869	
3	5	10.368	12.96	1.0152	0.3535	0.097916	0.02727623	0.348207	
4	6	12.4416	15.552	1.2119	0.4297	0.097407	0.02762989	0.354567	
5	8	16.5888	20.736	1.6142	0.5754	0.097306	0.02774884	0.356461	
6	10	20.736	25.92	2.0248	0.7147	0.097646	0.0275733	0.352973	
<b>Promedio</b>						0.097681	0.02763332	<b>0.353625</b>	
<b>S</b>						0.000493	0.00021369	0.003870	
<b>% C.V.</b>						0.505048	0.7733091	1.094531	<b>CUMPLE</b>
<b>r<sup>2</sup></b>				0.9999	0.9998	-	-	-	<b>CUMPLE</b>
<b>IC(β<sub>1</sub>)</b>				0.0963, 0.0983	0.0270, 0.0282	-	-	-	<b>CUMPLE</b>

**Tabla 3. Resultados obtenidos de las curvas de calibración para PVP KOLLIDON 30 y Losartán potásico en relación 1:1.2**

Muestra	Vol. (mL)	[ ] µg/mL		Absorbancia		E		Relación PVP/LOS	
		Losartán	PVP	Losartán	PVP	Losartán	PVP		
1	4	8.32	6.912	0.8057	0.209	0.096838	0.030237	0.259401	
2	5	10.4	8.64	1.0169	0.2642	0.097778	0.030578	0.259809	
3	6	12.48	10.368	1.2229	0.3101	0.097988	0.029909	0.253577	
4	8	16.64	13.824	1.607	0.4183	0.096574	0.030258	0.260298	
5	10	20.8	17.28	2.017	0.5076	0.096971	0.029375	0.251660	
<b>Promedio</b>						0.097230	0.030071	<b>0.256949</b>	
<b>S</b>						0.000617	0.000455	0.004023	
<b>% C.V.</b>						0.635367	1.515952	1.565797	<b>CUMPLE</b>
<b>r<sup>2</sup></b>				0.9998	0.9987	-	-	-	<b>CUMPLE</b>
<b>IC(β<sub>1</sub>)</b>				0.0937, 0.0990	0.0270, 0.0308	-	-	-	<b>CUMPLE</b>

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

**Tabla 4. Resultados para evaluar precisión del sistema**

			Muestra	Abs
Peso exacto de P.A.	12.7	mg	1	1.0173
Volumen de aforo solución madre	250	mL	2	1.0097
Concentración de solución madre	0.0508	mg/mL	3	1.0247
Alícuota	5	mL	4	1.0147
Volumen de aforo muestra	25	mL	5	0.999
Concentración teórica de la muestra =	10.16	µg/mL	6	1.0208
			<b>Promedio</b>	1.01436667
			<b>S</b>	0.00910816
			<b>% C.V.</b>	0.89791642
				<b>CUMPLE</b>

10.3. Linealidad del sistema: Se preparó una curva de calibración con 6 puntos de concentración, por triplicado. Los resultados de la respuesta analítica de las muestras se observan en la tabla 5 y en la figura 1 se pueden observar los resultados representados en un gráfico.

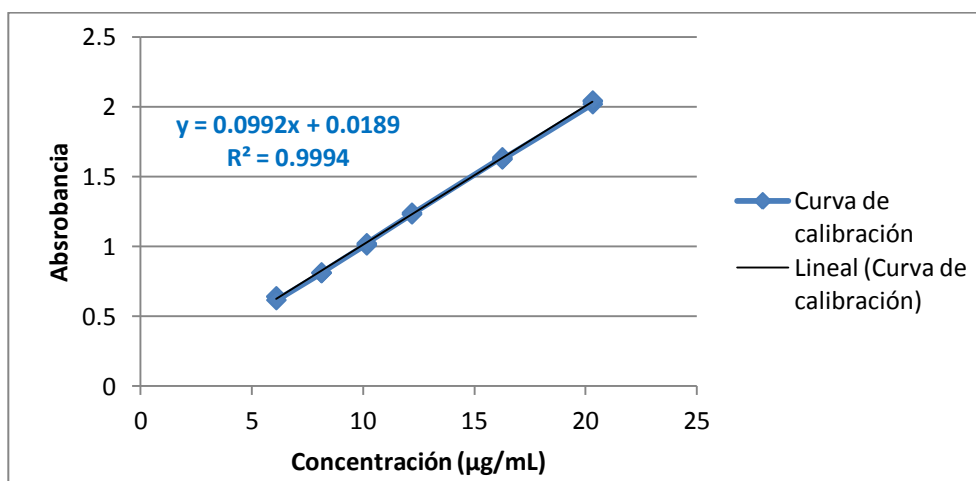
**Tabla 5. Respuesta analítica de las muestras para prueba de linealidad del sistema**

Concentración de solución madre		0.0508 mg/ml		Absorbancias			E		
Muestra	Vol. (ml)	[ ] µg/ml	Curva 1	Curva 2	Curva 3	Curva 1	Curva 2	Curva 3	
1	3	6.096	0.6427	0.6441	0.6182	0.1054	0.1057	0.1014	
2	4	8.128	0.8111	0.815	0.8143	0.0998	0.1003	0.1002	
3	5	10.16	1.0173	1.0097	1.0247	0.1001	0.0994	0.1009	
4	6	12.192	1.2331	1.243	1.2334	0.1011	0.1020	0.1012	
5	8	16.256	1.6396	1.6287	1.6249	0.1009	0.1002	0.1000	
6	10	20.32	2.0201	2.0383	2.0456	0.0994	0.1003	0.1007	
Aforo	25	$r^2$	0.999434976			-	-	-	<b>CUMPLE</b>
		$IC(\beta_1)$	0.0979228202, 0.100422304			-	-	-	<b>CUMPLE</b>
						$\%CV_E$	1.75		<b>CUMPLE</b>



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.



**Figura 1.** Gráfico de concentración contra absorbancia para el promedio de 3 curvas de calibración de Losartán potásico.

10.4. Linealidad del método: Se realizó una curva de concentraciones con parches placebo adicionados al 80%, 100% y 120% de Losartán potásico. Los resultados se observan en la tabla 6 y en la figura 2 se pueden observar los resultados obtenidos a partir de un gráfico de cantidad recuperada contra cantidad adicionada.

10.5. Exactitud y repetibilidad del método: Se evaluaron los % recobro de 6 placebos adicionados al 100% de Losartán potásico. Los resultados se observan en la tabla 7.

10.6. Precisión del método: Se determinó el contenido químico de 3 parches de Losartán potásico 100 mg en 2 días diferentes y por 2 analistas. Los resultados se observan en la tabla 8.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

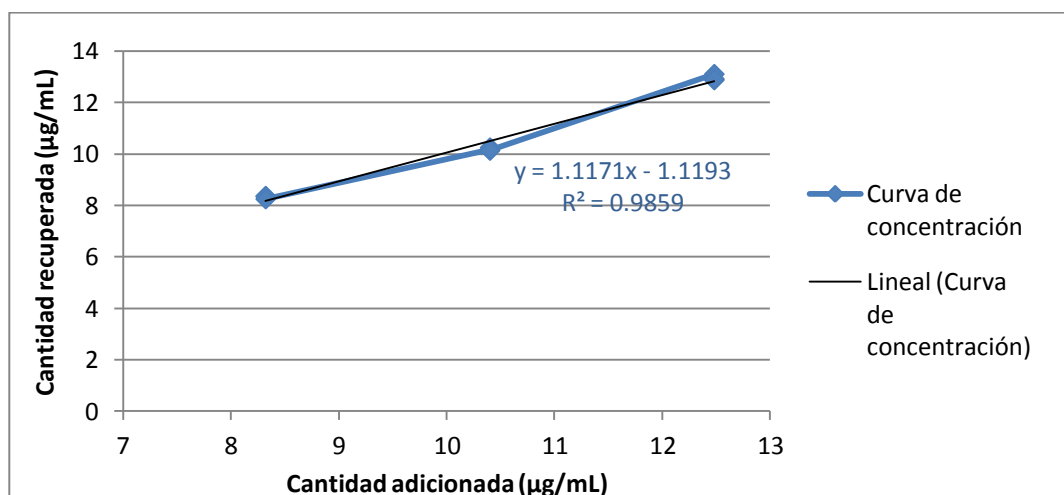
**Tabla 6. Resultados para linealidad del método**

Nivel de conc.	Muestra	Masa seca (g)	Abs corregida	Cantidad adicionada 3ª dilución (µg/mL) X	Cantidad recuperada 3ª dilución (µg/mL) Y	Concentración del parche (mg)	% Recobro	
80%	1	0.2146	0.8124	8.32	8.3727842	83.7278	100.63	
	2	0.2134	0.8106	8.32	8.3533204	83.5332	100.40	
	3	0.2144	0.8015	8.32	8.2560013	82.5600	99.23	
100%	4	0.2151	0.9804	10.4	10.180432	101.8043	97.89	
	5	0.2149	0.9875	10.4	10.256066	102.5607	98.62	
	6	0.2139	0.9770	10.4	10.143371	101.4337	97.53	
120%	7	0.2148	1.2532	12.48	13.11323	131.1323	105.07	
	8	0.2151	1.2318	12.48	12.883887	128.8389	103.24	
	9	0.2149	1.2358	12.48	12.926239	129.2624	103.58	
% HR:	9.89					<b>Promedio</b>	100.69	<b>CUMPLE</b>
						<b>S</b>	2.70	
						<b>% CV<sub>Y/X</sub></b>	2.68	<b>CUMPLE</b>
						<b>r<sup>2</sup><sub>Y/X</sub></b>	0.9859	<b>CUMPLE</b>
						<b>IC(β<sub>1</sub>)</b>	0.9977, 1.2365	<b>CUMPLE</b>
						<b>IC(β<sub>0</sub>)</b>	-2.3772, 0.1385	<b>CUMPLE</b>
						<b>IC(μ)</b>	102.7638, 98.6115	<b>CUMPLE</b>

10.7. Estabilidad analítica de la muestra: Se determinó la estabilidad analítica de la muestra a los tiempos 5, 13 y 19 días. Los resultados se observan en la tabla 9.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.



**Figura 2.** Gráfico del promedio de cantidad recuperada contra cantidad adicionada para prueba de linealidad del método en parches transdérmicos de Losartán potásico 100 mg.

**Tabla 7. Resultados para exactitud y repetibilidad del método**

Concentración de solución madre		0.052 mg/ml					
Muestra	Masa seca (g)	Abs corregida	Cantidad adicionada 3ª dilución (µg/mL)	Cantidad recuperada 3ª dilución (µg/mL)	Concentración del parche (mg)	% Recobro	
1	0.2148	0.9972	10.4	10.360441	103.6044	99.62	
2	0.2146	0.9846	10.4	10.225056	102.2506	98.32	
3	0.2152	0.9846	10.4	10.225056	102.2506	98.32	
4	0.2151	0.9804	10.4	10.180432	101.8043	97.89	
5	0.2149	0.9875	10.4	10.256066	102.5607	98.62	
6	0.2139	0.9770	10.4	10.143371	101.4337	97.53	
<b>% HR:</b>	9.89				<b>Promedio</b>	98.38	<b>CUMPLE</b>
					<b>S</b>	0.72	
					<b>% C.V.</b>	0.73	<b>CUMPLE</b>
					<b>IC(µ)</b>	99.1131,97.6311	<b>CUMPLE</b>

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

**Tabla 8. Resultados para precisión del método**

	Muestra	Masa seca (g)	Abs corregida	Concentración del parche (mg)	
Día 1	Analista 1	1	0.2860	84.6203	
		2	0.2869	86.3145	
		3	0.2852	86.9952	
	Analista 2	4	0.2790	0.8522	88.0087
		5	0.2789	0.8280	85.4069
		6	0.2781	0.8225	84.8169
Día 2	Analista 1	7	0.2741	87.9936	
		8	0.2736	0.8451	87.2448
		9	0.2736	0.8413	86.8439
	Analista 2	10	0.2736	0.8639	89.2718
		11	0.2739	0.8466	87.4112
		12	0.2735	0.8622	89.0903
% HR (1-3):	19.86		<b>Promedio</b>	87.0015	
% HR (4-6):	21.85		<b>S</b>	1.5143	
% HR (7-12):	17.38		<b>% C.V.</b>	1.7406 <b>CUMPLE</b>	

**Tabla 9. Resultados obtenidos para la prueba de estabilidad analítica de la muestra**

Muestra	Inicial	5 días	12 días	19 días
1	103.6044	102.3640	103.4531	104.0809
2	102.2506	101.9178	103.4758	103.5515
3	102.2506	101.3505	102.8178	102.6287
4	101.8043	101.8497	103.4078	103.2565
5	102.5607	102.3413	103.3321	103.3170
6	101.4337	102.0539	102.6892	102.7044
<b>Promedio</b>	102.3174	101.9795	103.1960	103.2565
	<b> di :</b>	0.3378314	1.216445	0.9391208
	<b>%  di :</b>	0.3301799	1.188894	0.9178508 <b>CUMPLE</b>

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

**11. Conclusión:** Según los resultados obtenidos, la técnica analítica para la cuantificación de Losartán potásico en parches transdérmicos de 100 mg según el método establecido en el laboratorio 12 donde se llevó a cabo la presente investigación, se determinan los parámetros de desempeño para garantizar la calidad química y para obtener resultados satisfactorios en las condiciones normales de trabajo de dicho laboratorio; con lo que se comprueba que el método analítico cumple con todos los parámetros de desempeño, de acuerdo a la Guía de Validación de Métodos Analíticos editada por el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, A.C.

**12. Anexos:**

**ANEXO 1.1**

**“Determinación del contenido de humedad”**

- I. Colocar en un pesafiltro de forma baja previamente desecado por 30 minutos y llevado a peso constante, 1 gramo de muestra previamente triturada en fragmentos de aproximadamente 2 mm.
- II. Colocar en una estufa dicho pesafiltro abierto a una temperatura de 100 °C durante el tiempo que sea necesario para obtener un peso constante.
- III. Al abrir la estufa se debe tapar el pesafiltro inmediatamente y colocar en un desecador hasta que alcance la temperatura ambiente antes de ser pesado.
- IV. Para calcular el %P<sub>s</sub> en la muestra se emplea la siguiente fórmula:  $P_i - P_f = P_s$ ,  
 $\%P_s = (P_s/P_i) * 100$ .

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTÁN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

V. El %P<sub>s</sub> es indicativo del contenido de humedad en la muestra.

### ANEXO 1.2

#### “Adición de analito a placebos analíticos”

- I. Preparar una solución madre de Losartán potásico con una concentración de 52 µg/mL (ver punto 8.2.).
- II. Para conocer la cantidad de fármaco que deben tener los parches al 80% y 120%, tomar como referencia la concentración al 100% de Losartán en la última dilución, la cual es 10.4 µg/mL. De tal forma:

$$100\% \text{ -- } 10.4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$100\% \text{ -- } 10.4 \text{ } \mu\text{g/mL}$$

$$80\% \text{ -- } X = \mathbf{8.32 \text{ } \mu\text{g/mL}}$$

$$120\% \text{ -- } X = \mathbf{12.48 \text{ } \mu\text{g/mL}}$$

- III. Finalmente, si la solución madre tiene una concentración de 52 µg/mL, para alcanzar la concentración deseada (120% = 12.48 µg/mL, 100% = 10.4 µg/mL y 80% = 8.32 µg/mL) emplear la fórmula:  $C_1V_1 = C_2V_2$  con el fin de conocer el volumen que debemos tomar de la solución madre de Losartán. De tal forma:

Losartán al 80%:

$$V_1 = C_2V_2 / C_1 \quad V_1 = (8.32 \text{ } \mu\text{g/mL})(10 \text{ mL}) / 52 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad V_1 = \mathbf{1.6 \text{ mL}}$$

Losartán al 100%:

$$V_1 = C_2V_2 / C_1 \quad V_1 = (10.4 \text{ } \mu\text{g/mL})(10 \text{ mL}) / 52 \text{ } \mu\text{g/mL} \quad V_1 = \mathbf{2.0 \text{ mL}}$$

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO PARA CUANTIFICACIÓN DE LOSARTAN PARCHES TRANSDÉRMICOS DE 100 mg POR ESPECTROFOTOMETRÍA UV-VIS

Fecha de emisión:	Fecha de revisión:	Fecha de aprobación:	Próxima revisión:
11-Feb-14	15-Feb-14	15-Feb-14	Feb-17
Elaboró:		Revisó:	Autorizó:
<u>Alma Aguiñaga</u> Analista 1	<u>Evelin Villegas</u> Analista 2	<u>Dra. Luz Ma. Melgoza</u> Asesora	<u>Dr. José J. Escobar</u> Responsable de lab.

Losartán al 120%:

$$V_1 = C_2V_2 / C_1 \quad V_1 = (12.48 \mu\text{g/mL})(10 \text{ mL}) / 52 \mu\text{g/mL} \quad V_1 = \mathbf{2.4 \text{ mL}}$$

- IV. Dichos volúmenes, deberán ser añadidos a la última dilución, antes de aforar a 10 mL.