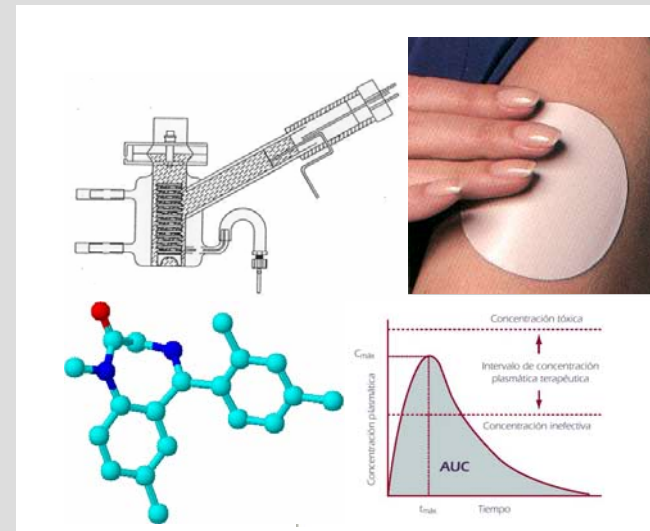




PERMEACIÓ TRANSDÈRMICA D'UNA SÈRIE DE BENZODIAZEPINES



Màrius Duran i Hortolà



Unitat de biofarmàcia i fàrmaco-cinètica
Facultat de farmàcia
Universitat de Barcelona

“Si tanques la porta als errors deixaràs fora la veritat”

Rabindranath Tagore

Diu el diccionari de la llengua catalana de l'IEC que agrair significa correspondre amb gratitud (a un benefici, un servei o un favor rebut) i defineix gratitud com un sentiment afectuós envers qui ens ha fet un bé, un servei o un favor.

Així, doncs, prenc al peu de la lletra les definicions anteriors.

Gràcies per l'ajut, el suport, les discussions, el rigor, la meticulositat, el parlar, l'escoltar en la realització d'un projecte. No ho escric per obligacions “tòpiques” de les introduccions de tesis, sinó perquè, certament, sense l'acompanyament i col·laboració de l'entorn (família, amics i companys) no es pot avançar. Potser sí que es podria fer sent un “super-home”, però aquest no és el cas.

En primer lloc gràcies a la família (la Maria Josep, el Marc, l'Àlex i la Mireia) que han suportat estoicament l'esforç, els ànims, desànims i neguits que m'ha comportat el desenvolupament d'un treball com aquest.

En segon lloc gràcies a la Unitat, aquest grup de gent tan diferent i polícroma a nivell personal, però absolutament professionals en el seu fer científic i metodològic. D'ells i amb ells he après moltes coses: farmacocinètica, biofarmàcia, analítica, informàtica, estadística... la llista seria llarga i laboriosa, es per aquest motiu que prefereixo no personalitzar el detall del nom de tots, probablement o segur que me'n deixaria algun. Ha estat per a mi difícil compatibilitzar la feina del dia a dia amb les ganes de realitzar un estudi rigorós i amb profunditat.

I en tercer lloc, encara que l'ordre no reflecteix, tal vegada, la importància amb què contribueixen els diferents factors a la realitat, gràcies a les persones de la Fundació Blanquerna que m'han facilitat el temps i la disponibilitat, que han fet possible aquest tram final de la tesi. Des d'els companys de treball més directes, que sens dubte són els qui han suportat el pes més dur de la quotidianitat de la feina, fins al Comitè Executiu de la Fundació que m'animava a finalitzar el treball.

De nou, gràcies a tots.

*Màrius Duran i Hortolà
Barcelona
Tardor 2002*



Abreviacions utilitzades en el present treball :

A :	Secció considerada (cm^2).
α, β :	Valors del potencial donador i formador de ponts d'hidrogen.
A/O :	Emulsió aquosa-oliosa (fase externa-fase interna).
AAPS :	American Association of Pharmaceutical Scientist
α :	Grau de dissociació.
AUFS :	Unitat de mesura de la sensibilitat de la resposta en el detector del cromatògraf.
BZD :	Benzodiazepines.
C_0 :	Solubilitat en solució reguladora de fosfats pH 7.4.
CLAE :	Cromatografia líquida d'alta eficàcia.
CME :	Concentració mínima eficaç, mínima concentració de fàrmac en sang que provoca efecte terapèutic.
CV :	Coefficient de variació.
D :	Coefficient de distribució (deduir del context).
D :	Coefficient de difusió del principi actiu a l'estrat corni ($\mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$).
DE :	Desviació estàndard
DHD :	Dosi diària per 1.000 habitants i dia.
DL :	Límit de detecció.
DMSO :	Dimetilsulfòxid.
$\Delta\Pi$:	Variació de tensió de la tensió superficial.
DPPC :	Dipalmitoïlfosfatidilcolina.
DSM-IV :	<i>Disease mental-IV</i> , forma de classificació americana de les malalties mentals.
ECETOC :	European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals.
ETSIM :	Escuela Técnica Superior de Ingenieros Industriales de Madrid.
EU :	Energia d'unió.
FDA :	Food and Drug Administration.
GABA-A :	Àcid gammaamminobutíric.
γ :	Tensió superficial (mN m^{-1}).
h :	Gruix de l'estrat corni (cm).
HPLC :	<i>High pressure liquid chromatography</i>
ICH :	International Conference Harmonization.
J :	Flux de principi actiu a través de la pell ($\mu\text{g cm}^{-2}\cdot\text{h}^{-1}$).
kD :	kiloDalton, unitat de mesura del pes molecular i/o atòmic.

K_{oct/w} :	Coeficient de repartiment octanol/aigua (adimensional).
k_p :	Coeficient de permeabilitat del fàrmac (cm h ⁻¹).
LQ :	Límit de quantificació.
MD :	Moment dipolar (Debyes).
MTT :	Temps mitjà de trànsit del fàrmac a través de la pell (h).
μ :	Potencial químic.
MW :	Pes molecular (Dalton).
O/A :	Emulsió oliosa-aquosa (fase externa-fase interna).
OECD :	Organisation for Economic Co-operation and Development. Organització intergovernamental que té com a objectiu harmonitzar polítiques, discutir resultats i treballar per donar resposta a problemàtiques científiques internacionals.
OMS :	Organització Mundial de la Salut.
P :	Coeficient de repartiment (Adimensional) (deduir del context).
P :	Probabilitat de l'error.
P₁ :	Paràmetre P1 d'Okamoto.
P₂ :	Paràmetre P2 d'Okamoto.
QN8 :	Càrrega suportada del nitrogen 8 de l'estructura química de les benzodiazepines.
QSAR :	Branca de la Química clínica que estudia les relacions existents entre l'estructura química i l'activitat farmacològica.
r :	Coeficient de correlació. Grau de correlació lineal entre y i x.
r² :	Coeficient de determinació. Fracció de la variació de la variable y explicada per l'equació considerada.
S :	Mols de benzodiazepina dissolta en un litre de solució.
S₀ :	Solubilitat en solució reguladora de fosfats pH 7.4.
SAT :	Sistema d'administració transdèrmica.
SM	Superfície molecular .
Γ :	Concentració superficial en excés present a la interfase (molècules cm ⁻²).
TEWL :	<i>Transepidermal water loss</i> . Tècnica que permet avaluar la integritat de la pell.
T_i :	Temps de latència (h).
t_{max} :	Temps en el qual s'aconsegueix la màxima concentració plasmàtica del fàrmac considerat.
t_r :	Temps de retenció cromatogràfic, temps en què apareix en el cromatograma el pic del fàrmac considerat (min).
UPM :	Universidad Politécnica de Madrid.
USP :	United States Pharmacopeia.
VM :	Volum molecular.



<u>ÍNDEX</u>	Pàg.
1. INTRODUCCIÓ	7
1.1. CARACTERÍSTIQUES DE LA SÈRIE BENZODIAZEPINES	10
1.1.1. Farmacològiques.....	10
1.1.2. Farmacocinètiques.....	13
1.1.3. Estructura de les benzodiazepines.....	15
1.2. PERMEABILITAT TRANSDÈRMICA	17
1.2.1. Característiques de la pell	17
1.2.1.1. La pell interfase terapèutica	17
1.2.1.1.1. Terminologia.....	18
1.2.1.1.2. Vies de penetració a la pell.....	19
1.2.1.1.2.1. <u>Penetració transepidèrmica</u>	20
1.2.1.1.2.2. <u>Penetració a través d'annexos cutanis</u>	22
1.2.1.1.2.3. <u>Permeació i metabolisme</u>	25
1.2.1.2. Fonamentació teòrica	25
1.2.1.2.1. Equacions generals de l'absorció cutània.....	25
1.3. FACTORS QUE INTERVENEN EN L'ABSORCIÓ PERCUTÀNIA	29
1.3.1. Factors biològics.....	29
1.3.1.1. Variabilitat anatòmica.....	30
1.3.1.2. Hidratació cutània i oclusió.....	31
1.3.1.3. Edat i patologia.....	32
1.3.2. Característiques d'alliberament dels sistemes transdèrmics.....	32

1.4.	VIES D'ADMINISTRACIÓ RELACIONADES: IONTOFORESI, SONOFORESI.....	36
1.5.	MODELS ARTIFICIALS DE MEMBRANA: MONOCAPES MOLECULARS.....	38
1.5.1.	Monocapes d'adsorció : activitat superficial.....	41
1.5.2.	Monocapes d'extensió.....	41
1.6.	CORRELACIONS NUMÈRIQUES : MODELS DE REGRESSIÓ.....	43
2.	OBJECTIUS.....	47
3.	PLA DE TREBALL.....	47
4.	MATERIAL I MÈTODES.....	49
4.1.	REACTIUS, DISSOLVENTS I SOLUCIONS UTILITZADES....	49
4.2.	PREPARACIÓ DE SOLUCIONS.....	49
4.2.1.	Preparació de solució reguladora pH 7.4.....	49
4.2.2.	Preparació de solució patró de fàrmac problema.....	50
4.2.3.	Preparació de la solució d'estàndard intern.....	50
4.2.4.	Preparació de fase mòbil per CLAE.....	51
4.3.	APARELLS AUXILIARS / UTILLATGE.....	51
4.4.	METÒDICA ANALÍTICA PER CLAE.....	52
4.4.1.	Resolució de la metòdica analítica per CLAE.....	53
4.4.2.	Preparació de les mostres de treball per a CLAE.....	53
4.4.3.	Validació de la metòdica analítica per CLAE.....	54
4.4.3.1.	<i>Selectivitat</i>	54
4.4.3.2.	<i>Precisió</i>	55
4.4.3.3.	<i>Exactitud</i>	56



4.4.3.4. Linealitat.....	56
4.4.3.4.1. <i>Regressió lineal per mínims quadrats.....</i>	<i>57</i>
4.4.3.4.2. <i>ANOVA: Anàlisi de la variància dels factors de resposta.....</i>	<i>58</i>
4.4.3.5. Límit de detecció i de quantificació.....	59
4.5. DETERMINACIÓ DE PARÀMETRES FÍSICO-QUÍMICS.....	59
4.5.1. Solubilitat a pH 7.4.....	59
4.5.2. Determinació del coeficient de repartiment	59
4.5.2.1. <i>Coeficient de distribució n-octanol / fosfats pH 7.4.....</i>	<i>63</i>
4.5.2.2. <i>Coeficient de repartiment teòric</i>	<i>64</i>
4.6. ESTUDIS DE PERMEACIÓ TRANSDÈRMICA.....	65
4.6.1. Cel·la de difusió.....	66
4.6.2. La membrana de difusió: pell humana.....	67
4.6.3. Preparació de la fase donadora.....	69
4.6.4. Preparació de la fase receptora.....	70
4.6.5. Sistema de mostratge automatitzat de les cel·les de difusió.....	71
4.6.5.1. <i>Descripció de l'equip de mostratge automàtic Microette®</i>	<i>71</i>
4.6.5.2. <i>Ajustament del sistema Microette®</i>	<i>72</i>
4.6.5.3. <i>Funcionament del sistema Microette®</i>	<i>73</i>
4.6.6. Disseny de l'estudi.....	74
4.6.6.1. <i>Presa de mostres.....</i>	<i>75</i>
4.6.6.2. <i>Determinació de la concentració de fàrmac en les mostres de treball.....</i>	<i>77</i>

4.6.6.3.	Càlcul dels paràmetres de permeació transdèrmica.....	79
4.6.6.4.	Càlcul teòric dels valors de la constant de permeabilitat (k_p)	84
4.7.	ESTUDI DE POSSIBLES CORRELACIONS ENTRE DESCRIPTORS FÍSICO-QUÍMICS I PARÀMETRES DE PERMEACIÓ TRANSDÈRMICA.....	85
4.7.1.	Tipus de correlacions assajades.....	87
4.8.	ESTUDI DE LA INTERACCIÓ ENTRE LES BENZODIAZEPINES SELECCIONADES I LES MONOCAPES ARTIFICIALS.....	88
4.8.1.	Determinació de l'activitat superficial.....	92
4.8.2.	Cinètiques de penetració del fàrmac a través de les monocapes en presència i absència de promotor.....	92
4.8.3.	Ajustament matemàtic de les dades experimentals.....	94
4.8.4.	Relació entre diferències de pressió i la constant de permeabilitat.....	94
4.9.	TRACTAMENT ESTADÍSTIC DELS RESULTATS.....	95
5.	RESULTATS.....	97
5.1.	VALIDACIÓ DE LA METÒDICA ANALÍTICA.....	97
5.1.1.	Selectivitat.....	99
5.1.2.	Exactitud.....	101
5.1.3.	Precisió.....	103
5.1.4.	Linealitat.....	106
5.1.5.	Límit de quantificació.....	114
5.2.	PARÀMETRES FÍSICO-QUÍMICS.....	114
5.2.1.	Solubilitat a pH 7.4.....	114
5.2.2.	Coeficient de repartiment	115



5.3. ESTUDI DE LA PERMEACIÓ TRANSDÈRMICA.....	117
5.3.1. Volum de les cel·les de Franz.....	117
5.3.2. Paràmetres transdèrmics.....	118
5.3.2.1. <i>Quantitats permeades.....</i>	<i>118</i>
5.3.2.2. <i>Paràmetres de permeació transdèrmica determinats experimentalment.....</i>	<i>118</i>
5.3.2.3. <i>Paràmetres de permeació transdèrmica determinats empíricament.....</i>	<i>137</i>
5.3.3. Tractament estadístic.....	138
5.4. ESTUDIS D'INTERFASE DE LES BENZODIAZEPINES.....	141
5.4.1. Estudis d'activitat superficial. Isotermes de saturació....	141
5.4.2. Cinètiques de penetració a àrea constant.....	144
5.5. CORRELACIONS SIGNIFICATIVES TROBADES.....	149
5.5.1. Correlacions entre paràmetres físico-químics.....	149
5.5.2. Correlacions entre paràmetres de permeació transdèrmica i físico-químics.....	150
5.5.3. Correlacions entre paràmetres de permeació transdèrmica i moleculars.....	155
6. DISCUSSIÓ.....	159
6.1. VALIDACIONS DE LES MÈTODIQUES ANALÍTIQUES I LA METODOLOGIA DE MOSTRATGE.....	159
6.2. PARÀMETRES FÍSICO-QUÍMICS DE LES BENZODIAZEPINES ESTUDIADADES.....	162
6.2.1. Coeficients de distribució i de repartiment.....	162
6.2.2. Solubilitat.....	162

6.3. ESTUDI DE LA PENETRACIÓ TRANSDÈRMICA DE LES BENZODIAZEPINES ESTUDIADES.....	166
6.3.1. Influència de la pell.....	166
6.3.2. Control de la integritat de la pell.....	167
6.3.3. Paràmetres de permeació.....	167
6.3.3.1. <i>La constant de permeabilitat (k_p).....</i>	<i>168</i>
6.3.3.2. <i>Període de latència.....</i>	<i>169</i>
6.3.3.3. <i>Flux (J).....</i>	<i>170</i>
6.3.3.4. <i>Temps mitjà de residència del fàrmac a la pell.....</i>	<i>171</i>
6.3.3.5. <i>Predicció de les concentracions plasmàtiques en equilibri estacionari.....</i>	<i>172</i>
6.4. ESTUDIS D'INTERFASE DE LES BENZODIAZEPINES.....	174
6.4.1. Estudis d'activitat superficial.....	174
6.4.2. Cinètiques de penetració a àrea constant.....	178
6.5. CORRELACIONS SIGNIFICATIVES ENTRE LA PERMEACIÓ TRANSDÈRMICA I PROPIETATS FÍSICO-QUÍMIQUES DE LES BENZODIAZEPINES	185
6.5.1. Correlacions entre paràmetres físico-químics.....	185
6.5.2. Correlacions entre paràmetres de permeació transdèrmica i físico-químics.....	186
6.5.3. Correlacions entre paràmetres de permeació transdèrmica i moleculars.....	186
6.5.4. Correlació no lineal entre la constant de permeabilitat i i el coeficient de repartiment.....	187
7. CONCLUSIONS.....	189
8. BIBLIOGRAFIA.....	193
9. ANNEX.....	211