

## EFFECTO DE LA IONTOFORESIS EN LA ABSORCIÓN TRANSDÉRMICA DEL MIDAZOLAM

C. Balaguer- Fernández <sup>1</sup>, A. Femenía- Font <sup>1</sup>, V. Muedra <sup>3</sup>, A. López- Castellano <sup>1</sup>, V. Merino <sup>2</sup>.

<sup>1</sup> Departamento de Fisiología, Farmacología y Toxicología, Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud, Universidad Cardenal Herrera- CEU, Moncada, Valencia, España.

<sup>2</sup> Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Valencia, Burjassot, Valencia, España.

<sup>3</sup> Departamento de Anestesiología, Hospital de la Ribera, Alzira, Valencia, España.

### Resumen

El midazolam es un fármaco empleado como medicación preanestésica. Se trata de una sustancia lipófila cuya absorción a través de la piel es insuficiente para producir sedación, por ello es necesario buscar un promotor de absorción transdérmica que favorezca la absorción percutánea del fármaco. Una de las técnicas que permiten incrementar el paso de los fármacos a través de la piel es la iontoforesis. Este trabajo evalúa la eficacia de la iontoforesis para incrementar la penetración del midazolam a través de la piel a distintos pHs. Los resultados ponen de manifiesto que la aplicación de la iontoforesis incrementa el flujo de midazolam a través de la piel; este flujo presenta variaciones importantes en función del pH empleado en la solución de administración.

### Summary

Midazolam is a drug used in pre-anesthesia. Although it is a lipophilic substance, its absorption through the skin is not enough to induce sedation. Iontophoresis is one of the techniques that has important success in increasing transdermal absorption. The efficacy of iontophoresis in promoting transdermal absorption of midazolam at different pH values is evaluated. The results demonstrate that iontophoresis increases midazolam flux through

the skin. The flux of drug obtained is highly sensitive to the pH of the solution.

### Introducción

Las benzodiazepinas de corta duración se emplean para conseguir sedación como paso previo a la anestesia y para reducir la ansiedad asociada a este proceso. Dentro de este grupo, el midazolam es una de las más empleadas porque sus efectos se manifiestan de forma rápida. Este fármaco, además, es el de elección para conseguir sedación pre-anestésica en niños, puesto que produce mucha menos depresión respiratoria y cardiovascular que otras benzodiazepinas (1).

El midazolam se administra habitualmente por vía intramuscular o intravenosa, con lo que lleva asociadas situaciones de estrés para los niños. Se ha intentado emplear vías de administración alternativas como la rectal, nasal, sublingual y oral. Sin embargo, ninguna de ellas se presenta como solución totalmente adecuada para conseguir el efecto deseado. En el caso de la administración rectal la absorción es errática, la administración nasal y sublingual son difíciles de aceptar en niños, y por último cabe destacar la falta de participación del niño cuando se intenta administrar en forma de jarabes porque presentan sabor muy desagradable, que incluso puede llegar a inducir el vómito en algunos casos (2).

Siguiendo esta línea de búsqueda de una vía de administración adecuada, la administración de fármacos a través de la piel presenta ventajas importantes respecto a otras vías de administración como son la facilidad de aplicación de la formulación y retirada de la misma, la reducción de la variabilidad en la absorción y la consecución de niveles plasmáticos constantes, así como la aceptación por parte de los pacientes, especialmente niños.

El midazolam es una molécula con una lipofilia elevada, que es capaz de difundir a través de la piel, pero no en las cantidades adecuadas para que la concentración obtenida produzca sedación. Para intentar solucionar este inconveniente se pueden emplear distintas estrategias, entre ellas, la iontoforesis.

La iontoforesis es una técnica que consiste en la aplicación de un campo eléctrico de pequeña intensidad (máximo 0.5 mA/cm<sup>2</sup>) a través de la piel, con el fin de promover el paso de sustancias a su través. Por medio de esta técnica se favorece el paso especialmente de sustancias que presentan carga positiva, puesto que la piel se comporta como una membrana de carga negativa y por tanto atrae cationes.

El trabajo que se presenta tiene por objetivo estudiar la capacidad de la iontoforesis para promover el paso del midazolam a través de la piel. El fin último es la obtención de una formulación que pueda aplicarse sobre la piel, empleando esta tecnología, con el fin de producir en niños sedación, previa a la separación de los padres, cuando van a ser sometidos a anestesia, con el fin de evitar situaciones de estrés excesivo en los niños.

#### **Materiales y Métodos**

Para la realización de los ensayos de difusión transdérmica del fármaco se utilizó piel humana procedente de resección quirúrgica. Con el fin de obtener muestras lo más homogéneas posibles en relación a su espesor, se cortó a 500 µm de espesor, mediante un dermatomo eléctrico. La difusión del midazolam a través de la misma fue estudiada empleando células iontoforéticas de difusión estándar.

Se seleccionaron distintos valores de pH de las soluciones dadoras y receptoras.

Inicialmente, en un primer ensayo, la solución empleada fue de midazolam (1 mg/ml)/ NaCl 150 mM pH 5.5 en el compartimento anódico dador de las células de difusión, y tampón Hepes 20 mM/ NaCl 25 mM pH 7.4 en el compartimento catódico dador de las mismas. Por otra parte, se empleó una solución de tampón Hepes 20 mM/ NaCl 150 mM pH 7.4 en el compartimento receptor.

En un segundo experimento, se empleó una solución de midazolam (1mg/ml)/ NaCl 150 mM pH 5 para el compartimento anódico dador, y una solución de tampón Hepes 20 mM/ 25 NaCl mM pH 5 en el compartimento catódico dador. En el receptor se utilizó una solución de tampón Hepes 20 mM/ NaCl 150 mM pH 5.

El contenido del compartimento receptor fue sometido a agitación constante empleando un agitador magnético a 400 rpm.

Mediante un sistema generador de corriente (Kepco, BHK (0 - 2000 V) se aplicó corriente eléctrica (0.5 mA/ cm<sup>2</sup>) de manera constante. Se emplearon electrodos de Ag/ AgCl.

Paralelamente se llevaron a cabo ensayos de difusión pasiva de midazolam. La duración de todos los experimentos fue de 8 horas. Durante este periodo, cada hora, se tomaron muestras de 1mL del compartimento receptor.

Finalizados los experimentos de difusión, el midazolam retenido en piel, fue extraído de la misma. Para ello, las pieles se sumergieron en 3 mL de solución tamponada (pH 5 y pH 7.4 respectivamente) y se sometieron a agitación constante durante 12 horas.

La cantidad de midazolam presente en las muestras tomadas durante cada hora, así como la cantidad de midazolam extraída de las pieles, fue analizada y cuantificada mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) acoplada a un detector UV- visible.

El análisis cromatográfico de las muestras se realizó a temperatura ambiente con una columna de separación de fase reversa Kromasil® C<sub>18</sub> (250 mm x 4 mm, 5 µm). Como fase móvil se empleó una mezcla de cloruro amónico-metanol-acetonitrilo (40:20:40, v/v/v) a pH 5.5. Se mantuvo un flujo constante de 1 ml/min.

El análisis estadístico de los datos fue llevado a cabo mediante un análisis de varianza (ANOVA)

de una vía y posteriormente se realizó la prueba de comparación múltiple de Scheffé. El nivel de significación empleado fue  $p < 0.05$ .

### Resultados y Discusión

En la figura 1 se muestran las cantidades de midazolam acumuladas en el compartimento receptor ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) en función del tiempo (horas), obtenidas en los experimentos de absorción transdérmica con iontoforesis en las distintas condiciones de ensayo.

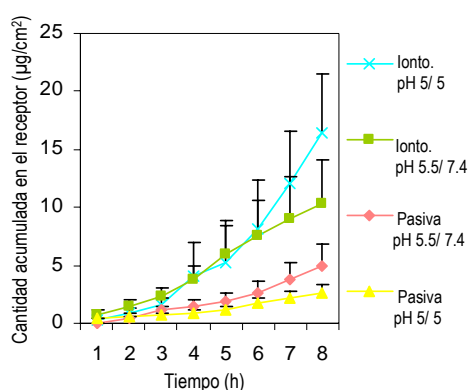


Figura 1. Cantidades acumuladas de midazolam en el compartimento receptor ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) vs. tiempo (h).

Los resultados obtenidos muestran que no existen diferencias significativas entre los distintos controles ( $p > 0.05$ ).

Si se consideran los ensayos realizados con iontoforesis, cuando se emplean los pHs 5.5/7.4, la iontoforesis no incrementa significativamente la cantidad de midazolam acumulada en el compartimento receptor respecto a ninguno de los controles ( $p > 0.05$ ). En cambio, un descenso del pH de las soluciones (pH 5/pH 5) hace que existan diferencias significativas entre los valores obtenidos tras la aplicación de iontoforesis y los obtenidos con el control ( $p < 0.05$ ).

El flujo de midazolam obtenido al aplicar la iontoforesis empleando pH 5/5 es superior al obtenido en el resto de los ensayos.

En cuanto a las cantidades acumuladas en piel, la tabla 1 muestra las cantidades de midazolam ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ) retenidas en piel tras las 8 horas de duración de los experimentos de difusión transdérmica.

Condición	Midazolam en piel (Media $\pm$ D.E.) [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ]	Número de ensayos (n)
Control, (pH 5.5/ 7.4)	7.780 $\pm$ 2.162	5
Iontoforesis, (pH 5.5/ 7.4)	19.280 $\pm$ 10.623	6
Control, (pH 5/ 5)	11.611 $\pm$ 2.450	5
Iontoforesis (pH 5/ 5)	17.472 $\pm$ 4.976	4

Tabla 1. Midazolam retenido en piel [ $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ] tras los experimentos de difusión transdérmica (Media  $\pm$  D.E.).

El análisis estadístico refleja que no existen diferencias significativas en las cantidades acumuladas en piel entre las distintas condiciones ensayadas ( $p > 0.05$ ).

El incremento en el flujo de una molécula a través de la piel cuando se aplica iontoforesis depende de las características físico-químicas de la molécula que difunde, así como de diversos factores relacionados con las condiciones de realización de los ensayos. En este sentido, el pH es un factor importante. El midazolam es una molécula que presenta un valor de pKa de 6.15. A pH 5 se encuentra ionizado, de forma positiva, en un 93%. La iontoforesis es una técnica que favorece el paso especialmente a sustancias que presentan carga positiva, puesto que la piel se comporta como una membrana de carga negativa y por tanto es permeoselectiva a cationes (3). Esto explica la obtención de valores de flujo superiores cuando la solución de fármaco presenta pH 5, a este valor de pH, la molécula de midazolam está más ionizada positivamente que a pH 5.5 (80% ionizada), lo que favorece su paso a través de la piel.

Llegar a obtener hasta un 99 % de ionización de la molécula no se consideró oportuno puesto que el punto isoeléctrico de la piel está próximo a

valores de pH de 4.5, y a este valor la piel no muestra afinidad clara por cationes (4).

Los resultados obtenidos en este trabajo demuestran la sensibilidad de la iontoforesis al grado de ionización de la molécula estudiada. No obstante, es una técnica que se ha mostrado mucho más eficaz para otros compuestos que para el midazolam.

Estudios realizados por Ota y col (5) han mostrado que los terpenos, especialmente el limoneno, aumentan la penetración transdérmica del midazolam. De ahí, que en un futuro, veamos necesario reproducir en nuestras condiciones, los ensayos con sustancias químicas que actúen como promotores químicos de absorción, con el fin de evaluar qué agentes se muestran más eficaces para promover la penetración transdérmica del midazolam, así como estudiar la posibilidad de combinar algún agente químico con la aplicación de la iontoforesis.

**Autor de contacto:**

*Cristina Balaguer Fernández*  
*cbalaguer@uch.ceu.es*  
*Facultad de Ciencias Experimentales y de la Salud,*  
*Universidad Cardenal Herrera-CEU*  
*Av. Seminario s/n*  
*Valencia, España*  
*Tel.: 96 136 90 00- 1135*  
*Fax: 96 139 52 72*

## Bibliografía

1. Kain ZN, Sevarino F, Pincus S, Alexander GM, Wang SM, Ayoub C, Kosarussavadi B. Attenuation of the preoperative stress response with midazolam: effects on postoperative outcomes. *Anesthesiology*. 93 (1), 141, (2000).
2. Kogan A, Katz J, Efrat R, Eidelman LA. Premedication with midazolam in young children: a comparison of four routes of administration. *Paediatr Anaesth.*, 12 (8), 685, (2002).
3. Merino V, López A, Kalia Y.N, Guy R.H, Electropulsion versus electroosmosis: effect of pH on the iontophoretic flux of 5-fluorouracil, *Pharmaceutical Research*, 16, 758, (1999).
4. Burnette R.R, Ongipattanukul B, Characterization of the permselective properties of excised human skin during iontophoresis, *J. Pharm. Sci.*, 76, 765, (1987).
5. Ota Y, Hamada A, Nakano M, Saito H, Evaluation of Percutaneous Absorption Of Midazolam by Terpenes, *Drug Metab. Pharmacokin.*, 18 (4), 261, (2003).

Con formato: Inglés (Reino Unido)