

16
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"CUAUTITLÁN"

"Determinación de las Propiedades Superficiales de las Soluciones Acuosas del Etilenglicol, Propilenglicol y Glicerina y su Relación con la Irritación Provocada en Musculo de Conejo".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :
JORGE GALVAN CHAVEZ

DIRECTOR DE TESIS
M. en F. Ma. de Jesús Martínez G.

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México

1990





Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	vi
SIMBOLOGIA	viii
I. INTRODUCCION	1
II. GENERALIDADES	4
II.1. Agentes irritantes	8
II.2. Fenómenos de superficie	11
II.3. Ecuación de adsorción de Gibbs	13
II.4. Ecuaciones de estado no ideal.	15
III. MATERIALES Y METODOS	20
III.1. Preparación de las soluciones acuosas de los alcoholes	20
III.2. Prueba de irritación intramus- cular	21
III.3. Evaluación macroscópica de la irritación	24
III.4. Evaluación histopatológica de la irritación	27
III.5. Tensión superficial de las solu- ciones Alcohol-Agua	31

IV.	RESULTADOS Y DISCUSION	33
IV.1.	Relación de la concentración de las soluciones respecto a la irritación intramuscular producida	33
IV.2.	Tratamiento de la irritación como un fenómeno de superficie	44
IV.3.	Ecuación de Gibbs	48
IV.4.	Ecuación de Cassel y Formatecher ...	51
IV.5.	Ecuación de Temkin	54
IV.6.	Ecuación de von Szysskowski	55
	CONCLUSIONES	67
	BIBLIOGRAFIA	69

LISTA DE TABLAS.

1.	Reacción inflamatoria observada en algunas formulaciones	10
2.	Concentraciones utilizadas en la de terminación de la irritación	21
3.	Evaluación macroscópica de la irri tación	26
4.	Evaluación histopatológica de la i rritación	30
5.	Valores de tensión superficial para soluciones acuosas de Etilenglicol, Propilenglicol y Glicerina	32
6.	Resultados de la prueba de irrita ción intramuscular para las solucio nes de Etilenglicol en la evaluación macroscópica	34
7.	Resultados de la prueba de irrita ción intramuscular para las solucio nes de Propilenglicol en la evalua ción macroscópica	35
8.	Resultados de la prueba de irrita ción intramuscular para las solucio nes de Glicerina en la evaluación macroscópica	36

9.	Evaluación histopatológica de las lesiones ocasionadas por las soluciones de Etilenglicol	39
10.	Evaluación histopatológica de las lesiones ocasionadas por las soluciones de Propilenglicol	40
11.	Evaluación histopatológica de las lesiones ocasionadas por las soluciones de Glicerina	41
12.	Concentración umbral de irritación de los alcoholes trabajados	43
13.	Parámetros fisicoquímicos para las soluciones de Etilenglicol	45
14.	Parámetros fisicoquímicos para las soluciones de Propilenglicol	46
15.	Parámetros fisicoquímicos para las soluciones de Glicerina	47
16.	Parámetros fisicoquímicos de superficie para las soluciones acuosas de los alcoholes trabajados	58
17.	Propiedades superficiales del sistema Etilenglicol-Agua	60

18.	Propiedades superficiales del sistema <u>Propilenglicol-Agua</u>	61
19.	Propiedades superficiales del sistema <u>Glicerina-Agua</u>	62
20.	Relación de los parámetros fisicoquímicos con la irritación	66

LISTA DE FIGURAS.

1. Administración intramuscular de ampicilina sódica en varios diluyentes al mismo conejo	2
2. Esquema de la migración de las moléculas del fármaco hacia la membrana	5
3. Esquema de la membrana celular al aumentar la presión superficial en esta	5
4. Gráfica del modelo de Fenkin	17
5. Gráfica del modelo de van Slysskowski ..	19
6. Gráfica del grado de irritación vs % w/v de las soluciones trabajadas	33
7. Gráfica para la determinación del G° por el modelo de Gibbs	48
8. Diagrama de Asagat para los sistemas Etilenglicol-Agua, Propilenglicol-Agua y Glicerina -Agua	50
9. Gráfica para la determinación del G° por el modelo de Cassel	52
10. Gráfica para la determinación del G° por el modelo de Fenkin	54

11.	Gráfica para la determinación del G^* por el modelo de von Ssyskowski	56
12.	Gráfica de fracción ocupada vs % w/w de las soluciones de los alcoholes trabajados, mostrando las zonas de irritación.	64
13.	Gráfica de concentración en exceso en la interfase vs % w/w de las soluciones acuosas, mostrando las zonas de irritación	65

SIMBOLOGIA.

A	- Constante de capilaridad.
C_2	- Concentración molar en el seno de la solución.
E	- Constante de equilibrio de Temkin.
EG	- Etilenglicol.
ΔG°	- Energía libre de Gibbs.
GL	- Glicerina.
ΔH°	- Entalpía.
I	- Constante de integración de Cassel.
k	- Constante de Boltzman.
N	- Número de Avogadro.
PG	- Propilenglicol.
P.M.	- Peso molecular.
R	- Constante de los gases ideales.
ΔS°	- Entropía.
S.S.F.	- Solución salina fisiológica.
T	- Temperatura.
X_2	- Fracción mol del soluto.
γ	- Tensión superficial.
β	- Coeficiente.
σ	- Área molecular.
π	- Presión superficial.
\bar{c}_2	- Concentración en exceso en la interfase.
\bar{c}_3	- Concentración en exceso en el estado de saturación.
θ	- Fracción ocupada.

I.- INTRODUCCION.

El impulso que reciben las soluciones parenterales en la industria farmacéutica es debido a que, supuestamente, presentan ventajas en la biodisponibilidad del principio activo con respecto a los fármacos administrados por otra vía. Estas ventajas pueden verse disminuidas por la aparición de fenómenos inflamatorios en el sitio del depósito, ocasionados principalmente, por los disolventes no acuosos utilizados en las formulaciones, como antecedentes de este estudio se tienen los siguientes trabajos:

Bozler (1961) "La administración intramuscular de no electrolitos como la glicerina y la urea, dañan severamente el músculo, debido al paso de éstos a través de las membranas, las cuales son generalmente destruidas".

Domínguez (1971) inyectó a ratas 0.5 ml de soluciones acuosas al 30% de 1,3-Butanodiol, Glicerina y Propilenglicol por vía intramuscular y encontró por medio de un examen histopatológico en el músculo del depósito que estas sustancias producen irritación con infiltración de fagocitos.

Kobayashi (1977) observó que la absorción por vía intramuscular disminuye progresivamente al aumentar el contenido de etanol en la formulación.

Martínez (1980) relaciona la biodisponibilidad de la ampíci

lina sódica con respecto al grado de irritación local, para lo cual modifica la concentración del disolvente (PG al 20%, 30%, 50% y S.S.F.), alterando el poder irritante del inyectable, como se observa en la Figura No. 1.

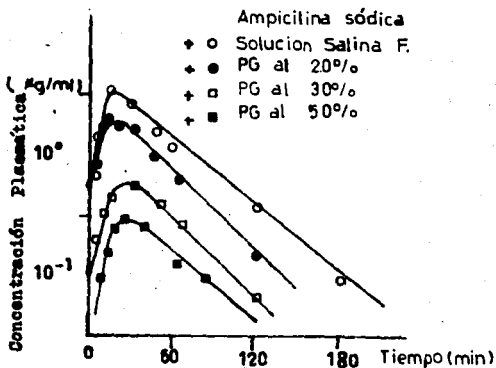


Figura No. 1. Administración intramuscular de ampicilina sódica en varios diluyentes (los cuales provocan diferentes grados de irritación), al mismo conejo.

Los objetivos de este estudio son los siguientes:

- 1.- Obtener un parámetro que correlacione el grado de irritación ocasionado en el músculo con los fenómenos superficiales que presentan las soluciones acuosas de Propilenglicol, Etilenglicol y Glicerina.
- 2.- Determinar el modelo matemático que mejor se ajuste para cada alcohol trabajado, con respecto a las ecuaciones de estado no ideal.
- 3.- Observar el desarrollo de la irritación provocada por vía intramuscular de los principales polialcoholes utilizados como disolventes no acuosos en los productos parenterales.
- 4.- En base al punto anterior se pretende obtener la concentración umbral de irritación para cada alcohol trabajado, la cual no afecte el sitio del depósito del principio activo.

Este estudio tiene como finalidad hacer notar la importancia que existe entre las propiedades superficiales y los fenómenos de irritación ocasionados por algunos disolventes no acuosos utilizados en los inyectables, debido a esto se observa la necesidad de estudiar la magnitud con que influye la concentración de estos en

el grado de irritación en el tejido, ya que se puede propiciar el aislamiento del principio activo ocasionado por los fenómenos inflamatorios desencadenados por el daño producido por los agentes irritantes.

II.- GENERALIDADES.

Al administrarse un medicamento, debe considerarse que se pretende obtener un efecto terapéutico específico, por lo que, debe eliminarse todo proceso que afecte la biodisponibilidad del fármaco, una de las principales causas que afectan modificando el sitio del depósito son los disolventes no acuosos utilizados en los inyectables.

Al depositar el fármaco o moléculas de un agente agresivo en los tejidos, estos tienden a difundirse en esta zona, cuando están en contacto con la membrana las sustancias externas adquieren un mayor estado energético, por lo que presentan propiedades termodinámicas en exceso en comparación a las del seno de la solución. Como consecuencia de esto hay una adsorción de moléculas en la membrana, lo que desemboca en un aumento de la presión superficial (σ), como se observa en la Figura No. 2.

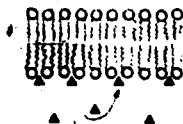


Figura No. 2 Esquema de la migración de las moléculas del fármaco hacia la superficie de la membrana. (▲) Moléculas del fármaco.

La espontaneidad con que las moléculas del soluto migran hacia la interfase, adsorbiéndose hasta formar una o varias capas de soluto, esta determinada por la energía libre de adsorción (ΔG^{ads}).

Si las moléculas siguen trasladándose a la membrana, sin poderla penetrar, hay un incremento de la cantidad de éstas en contacto con la célula, ocasionando un aumento en la fracción ocupada por molécula, lo que produce que la membrana coalesca como consecuencia de este fenómeno superficial, Figura No. 3.

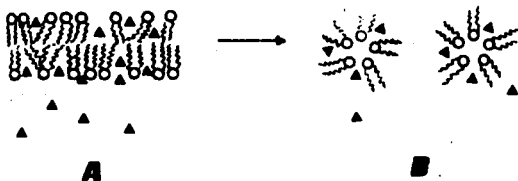


Figura No. 3 (A) Las moléculas del fármaco (▲) provocan un aumento de la presión superficial sobre la membrana. (B) La membrana celular coalesce.

La coalescencia de la membrana celular libera sustancias tales como la histamina y la serotonina, así como también la síntesis y liberación de prostaglandinas, además interviene el factor XIII de coagulación que se activa al contacto de superficies extrañas, lo que ocasiona la formación de bradiquinina, calidina y quininas, las que tienen una potente acción vasodilatadora que incrementa la permeabilidad capilar. Debido a las lesiones celulares y a la existencia de edema por la exudación plasmática, se presentan alteraciones funcionales a consecuencia de la lesión, la sangre capilar se concentra y su corriente se hace lenta, los leucocitos se disponen sobre las paredes y luego las atraviesan (diapédesis) para llegar al foco inflamatorio y ejercer una función fagocitaria sobre los agentes irritantes, la formación de edema crea una corriente en contra de la difusión del fármaco en el organismo.

Si el fenómeno inflamatorio produce necrosis en el sitio del depósito, el organismo pone en marcha un proceso de protección que tiende a impedir la diseminación de las sustancias irritantes por todo el organismo, a esta acción localizadora se le designa como mecanismo de fijación, que consiste primordialmente en el bloqueo de las vías sanguíneas y linfáticas por la formación de una red de fibrina, que impide la difusión del tóxico o agente irritante. Este aislamiento de la zona también afecta la difusión del principio activo hacia el organismo lo que ocasiona una pobre biodisponibilidad.

La curación o restitución del tejido se produce cuando desaparece la causa de la inflamación (por la reabsorción de las sustancias irritantes), en el proceso de restitución se lleva a cabo la lisis de la fibrina debido al inicio de factores fibrinolíticos, como la activación del plasminógeno en plasmina, producida por el factor Hageman; en esta forma se aumenta la permeabilidad vascular, que había disminuído debido a la fibrina, lo que permite la reabsorción del exudado. Por otra parte se produce una proliferación de fibroblastos y capilares neoformados, que lleva a la restitución del tejido lesionado.

Esta restitución puede terminar como una regeneración total, con la cicatrización epitelial y del tejido conectivo o como una regeneración incompleta.

La importancia de eliminar el fenómeno inflamatorio cuando se administra un medicamento por vía parenteral, se puede reducir en:

- a) Que al aparecer el proceso inflamatorio hay una disminución de las constantes de velocidad de absorción, en parte por el flujo contrario de los líquidos orgánicos, los cuales diluyen el fármaco y complican el proceso de difusión del mismo.
- b) A la formación de un depósito donde se puede encontrar el fármaco precipitado y cuya liberación puede preceder a muy largo tiempo o se provoque la formación de un absceso aséptico que se resuelve posteriormente al exterior, dejando una cavidad en el tejido, pudiendo existir en el organismo una reacción a cuerpo extraño debida al fármaco.

- c) Las zonas de fibrosis que se provocan en los enfermos que tienen la necesidad de recibir una terapia muy prolongada por vía parenteral, no tienen circulación sanguínea capaz de remover los depósitos del fármaco, por lo que la absorción del principio activo disminuye.

II.1. AGENTES IRRITANTES.

La irritación es un fenómeno que afecta significativamente la bio disponibilidad del principio activo, generalmente se busca que la función del fármaco, no este acompañada de modificaciones anatómicas que produzcan alteraciones en la nutrición, crecimiento y morfología de las células, que lleven a producir reacciones inflamatorias las cuales ocasionen una excesiva destrucción celular, denominada necrosis.

Los agentes irritantes son todas aquellas sustancias o fármacos extraños al organismo, que causan alteración en la membrana produciendo lisis celular en el tejido, uno de los factores que condicionan la irritación y la absorción de fármacos son los disolventes no acuosos, el uso de estos se justifica debido a la falta de solubilidad de muchos fármacos en medio acuoso, con lo que surge la necesidad de utilizar estos disolventes. (Yalkowski, 1983 ; Der Yu, 1982).

Los disolventes no acuosos tienen como función principal formar una solución con el fármaco, ya que esto produce un incremento en la solubilidad de varios órdenes de magnitud para muchos fármacos insolubles, este proceso no es suficiente para lograr el efecto terapéutico esperado, ya que algunos fármacos al ser inyectados y estar en contacto con los fluidos acuosos llegan a precipitar en el sitio del depósito, lo cual tiene como consecuencia la disminución en la biodisponibilidad del fármaco. (Yalkowski, 1977 ; Schroeder, 1974)

Yalkowski (1985) sugiere que el método más efectivo para aumentar la solubilidad del fármaco es contar con un vehículo que tenga una polaridad lo más cercana al fármaco.

Ballard (1968) hace un listado de fármacos los cuales son relacionados frecuentemente con complicaciones severas en el sitio de inyección, el cual se muestra en la Tabla No. 1.

En esta Tabla se observa que dentro de estas formulaciones se encuentran presentes vehículos no acuosos en grandes proporciones, los que posiblemente sean los responsables de los fenómenos inflamatorios.

TABLA No. 1

Reacción Inflamatoria Observada en Algunas
Formulaciones. (Ballard, 1968).

INGREDIENTE ACTIVO	VEHICULO	REACCION SECUNDARIA
p-amino benzoato de butilo 5%, procaina 1% y HCl 0.25%.	PG al 78 % en agua.	Reacción inflamatoria local.
Pentobarbital sódico.	Alcohol ben- cilico 2% y PG al 60% en agua.	Dolor y nodulos en la zona.
Urato de sodio monohidratado.	Glicerina al 50% en agua.	Reacción inflamatoria local.
Urato de sodio	Glicerina al 50% en agua	Reacción inflamatoria local

II.2 FENOMENOS DE SUPERFICIE.

En fármacia los fenómenos de superficie tienen un papel relevante debido a que estos condicionan la liberación del principio activo de su forma farmacéutica, su adsorción, la penetración de las moléculas a través de las membranas biológicas, su absorción a la circulación general.

En los inyectables, al penetrar el líquido al organismo, existen dos fases en contacto, entre las cuales se extiende a ambos lados una superficie, interfase, entre ellas. El número de moléculas por unidad de área en esta fase superficial es diferente en comparación a la encontrada al hacer un corte transversal en el interior, seno, de la fase que aporta este material, por lo tanto la interfase tendrá propiedades diferentes a las existentes en el seno de la misma solución. El estudio de la interfase y los fenómenos propios de ésta constituyen el campo de la fisicoquímica de superficies.

Cuando en el tejido está presente un componente externo, este adquiere un estado energético mayor, por lo cual presenta propiedades termodinámicas en exceso en comparación a las del seno de la solución, lo que provoca una distorsión de la membrana, que puede conducir a la lisis celular.

Actualmente se acepta el hecho de que las moléculas se orientan en la interfase líquido-vapor o líquido-líquido, ordenándose de tal manera que presentan su porción no polar hacia la fase no polar, y la parte polar hacia la fase polar, adoptando una con-

formación lo más extendida posible, de manera que exista la mayor interacción entre las moléculas que conforman la interfase.

Gibbs fue el primero en estudiar cuantitativamente la adsorción, desarrollando una ecuación que relaciona la concentración en exceso (Γ_2), con la tensión superficial (γ) y la concentración en el seno de la solución (C_2):

$$\Gamma_2 = - \frac{C_2}{RT} \left(\frac{\partial \gamma}{\partial C_2} \right)_T \quad \text{--- (1)}$$

La concentración en exceso en la superficie, permite el cálculo del área ocupada por cada molécula en la interfase, la cual dependerá de la cantidad de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos que componen la molécula.

Si la superficie se toma como una área limitada y constante, donde las moléculas están bien distribuidas, cuando la concentración del soluto es muy baja el área por molécula es relativamente grande; cuando la concentración aumenta la adsorción en la interfase es mayor, reduciendo el área molecular progresivamente, hasta que llega el momento en que ya se encuentran las moléculas tan apretadas, que las interacciones entre ellas son tan fuertes que predominan las fuerzas de repulsión, lo que provoca que cada molécula tenga una área superficial mínima, que no solo sea el área obtenida por proyección vertical de la molécula, sino que además existe una superficie de exclusión provocada por las fuerzas de repulsión;

con lo que se obtiene una concentración en exceso máxima o de saturación (Γ^s).

Esta Γ^s proporciona el área mínima ocupada por la molécula en el estado de saturación de la interfase, si se considera como una monocapa, se denomina al área mínima como coárea (β).

II.3. ECUACION DE ADSORCION DE GIBBS.

Todo sistema tiende a alcanzar un estado de equilibrio energético, entre estos se encuentra la difusión del soluto a través del disolvente, lo cual es un proceso espontáneo y tiene lugar en una sola dirección, es decir que por sí mismo no se invierte este proceso.

Cuando en un sistema la variación de la energía libre, G , es negativa, el proceso es espontáneo o natural, pero si esta es positiva, el proceso no es espontáneo. La espontaneidad con que el soluto puede formar una interfase y adsorverse esta determinada por sus propiedades termodinámicas, en este caso las de superficie.

Cuando la concentración del soluto en la interfase es pequeña, las interacciones soluto-soluto son insignificativas; en estas condiciones, la presión superficial aumenta en forma lineal con respecto a la fracción mol, lo que se describe en la Ecuación No. 2 (Ross, 1965).

$$\gamma = m X_2 \quad - - - \quad (2)$$

Donde m es la pendiente de la recta γ vs X_2 .

La ecuación que describe el cambio de la Energía Libre de Gibbs estandar, (ΔG°), es :

$$\Delta G^\circ = - RT \ln (m / \gamma^\circ) \quad - - - \quad (3)$$

Boer definió el valor de la presión superficial estandar, γ° , igual a 0.338 dinas/cm.

II. 4. ECUACIONES DE ESTADO NO IDEAL.

El modelo de Gibbs, se obtiene en un estado de idealidad, las concentraciones a las que se puede alcanzar este son muy bajas y, por esta razón, es importante el estudio de las llamadas ecuaciones de estado no ideal, las que describen el comportamiento de las soluciones en los siguientes casos:

- a) Cuando a bajos valores de presión superficial existe atracción intermolecular.
- b) A valores altos de presión superficial, donde hay una área molecular mínima.
- c) Estas ecuaciones describen el comportamiento de las soluciones a cualquier concentración del soluto.

El método para conocer si las soluciones siguen un estado ideal es elaborar un diagrama de Amagat, el cual muestra las desviaciones de la idealidad del sistema al graficar $\pi \sigma / kT$ vs π .

La ecuación que mejor se adapta al diagrama de Amagat fue descrita por Schofield y Rideal:

$$\pi (\sigma - \beta) = i kT \quad - - - (4)$$

Donde i esta relacionada a las fuerzas de interacción molecular en la monocapa, y k es la constante de Boltzman.

Cassel y Formstecher (1932), obtuvieron una ecuación para explicar el comportamiento de las soluciones no ideales:

$$\ln (X_2 / \pi) = (\beta \pi / \kappa T) + I \quad - - - (5)$$

Donde β = Coárea (área mínima ocupada por las moléculas en el estado de saturación en la interfase).

I = El intercepto a la ordenada.

Al graficar $\ln (X_2 / \pi)$ vs π , se obtiene una recta de pendiente positiva que es igual a:

$$m = \beta / \kappa T \quad - - - (6)$$

Por medio de la Ecuación N.º 6 se obtiene el valor de la coárea la cual está relacionada con la concentración en exceso en el estado de saturación a través de la ecuación:

$$\Gamma_s = \frac{1}{\beta N} \quad - - - (7)$$

Por medio de la Ecuación No. 8 se obtiene el valor de la energía libre de adsorción, relacionando este parámetro con el intercepto de la Ecuación No. 5.

$$\Delta G^\circ = - R T (\ln \pi^\circ - I) \quad - - - (8)$$

Si este modelo describe adecuadamente el comportamiento del sistema, se obtiene una línea recta de pendiente positiva. Esta ecuación (5), predice la adsorción de los vapores de benceno, tolueno y n-heptano en mercurio. (Kemball, 1946)

Si se asume que la capa superficial es homogénea y existen fuerzas de repulsión entre las moléculas de esta capa, el comportamiento del sistema puede describirse por la isoterma de Temkin (Walligora, 1973), por medio de la ecuación:

$$\ln X_2 = -\frac{B\sqrt{p}}{\kappa T} - E \quad \text{--- (9)}$$

Donde κ = Constante de Boltzman.

B = Es un parámetro que describe la interacción entre las moléculas que se encuentran en la capa de adsorción.

E = Es una constante de equilibrio.

Si el sistema se comporta conforme a esta ecuación, la relación entre el logaritmo de la fracción mol del soluto y la raíz cuadrada de la presión superficial, debiera ser lineal. (Figura No. 4)

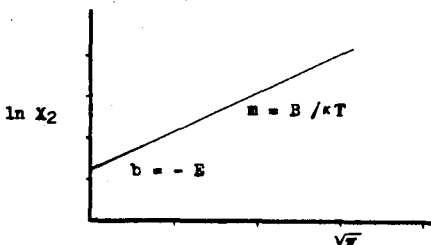


Figura No. 4. Gráfica de $\ln X_2$ vs \sqrt{p} ,
(Modelo de Temkin).

La energía de adsorción se relaciona con la ecuación 9, por medio del valor de E, que se obtiene de la ordenada al origen de la Figura No. 4, por la ecuación:

$$\Delta G^\circ = - RT \ln E \quad \text{--- (10)}$$

Otro camino para obtener áreas moleculares es por medio de la saturación asintótica de la superficie según predice Langmuir, para este propósito se utiliza con buenos resultados la ecuación empírica de von Syszkowski (1908):

$$\pi = RT\Gamma^\infty \ln (1 + C_2 A) \quad \text{--- (11)}$$

Donde Γ^∞ = Concentración en exceso en el estado de saturación.

C_2 = Concentración en el seno de la solución.

A = Constante de capilaridad.

Reordenando la ecuación anterior para obtener la forma de una recta, resulta:

$$\exp (\pi / RT\Gamma^\infty) = C_2 A + 1 \quad \text{--- (12)}$$

De acuerdo a la Figura No. 5, si el sistema sigue esta ecuación de estado, se encuentra una línea recta de pendiente positiva e intercepto igual a uno.

El cálculo de la concentración en exceso en la interfase, se obtiene a través de la ecuación:

$$\Gamma_2 = (C_2 A \Gamma^\infty) / (1 + C_2 A) \quad \text{--- (13)}$$

Por medio de la ecuación No. 14 se obtiene el valor de la fracción ocupada en la interfase (Θ).

$$\Theta = \Gamma_2 / \Gamma^s \quad \text{--- (14)}$$

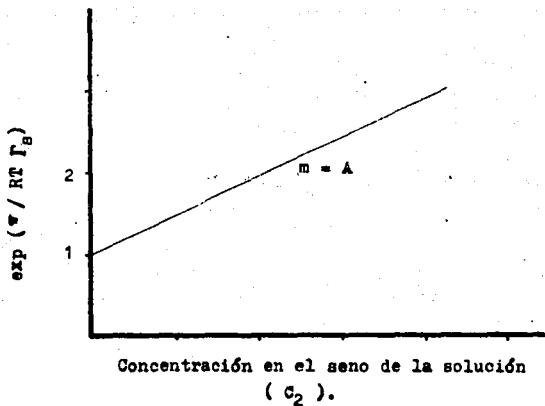


Figura No. 5. Gráfica resultante de el modelo de von Syzkowski.

III. - MATERIAL Y METODOS.

III. 1.- Preparación de las Soluciones Acuosas de los Alcoholes.

1.1.- MATERIAL.

- a) Balanza granataria.
- b) Matraces volumetricos de 100 ml.
- c) Pipetas graduadas de 5 y 10 ml.
- d) Vasos de precipitados.

1.2.- PRODUCTOS QUIMICOS.

- a) Etilenglicol.
- b) Propilenglicol.
- c) Glicerina.
- d) Agua destilada.

M E T O D O.

El soluto se pesó en un matraz volumétrico de 100 ml, previamente tarado, utilizando una balanza granataria; se adicionó - agua destilada hasta la marca y se homogenizó la solución, pesando posteriormente el matraz. El porcentaje peso/peso (w/w), de las soluciones acuosas se muestra en la Tabla No. 2.

Tabla No. 2. Concentraciones elaboradas para la determinación de la irritación provocada por soluciones alcohol-agua.

DISOLVENTE	P. M.	G.E.	CONCENTRACION (% w/w)					
			20	24	28	32	36	40
ETILENGLICOL	62	1.113	20	24	28	32	36	40
PROPILENGLICOL	76	1.036	16	20	24	28	32	36
GLICERINA	92	1.248	24	28	30	32	36	40

III. 2.- Pruebas de Irritación Intramuscular.

2.1.- MATERIAL.

- a) Tijeras de acero inoxidable.
- b) Marcador de aceite color negro.
- c) Jeringas desechables de 1, 3, 5 y 10 ml.
- d) Navajas de rasurar.
- e) Agujas de acero inoxidable del No. 21 largas.
- f) Mangos y hojas de bisturi.
- g) Filtros Millipore desechables esteriles Millex-65, 0.22 μ m.
- h) Pinzas de disección con y sin dientes.

- i) Probetas de 50 ml graduadas en décimas.
- j) Balanza granataria.
- k) Frascos de vidrio grandes.
- l) Torundas de algodón con solución jabonosa.
- m) Tela adhesiva.

2.2.- PRODUCTOS QUIMICOS.

- a) Alcohol etílico de 96°.
- b) Azul de Evans.
- c) Agua destilada, libre de pirógenos.
- d) Propilenglicol.
- e) Etilenglicol.
- f) Glicerina.
- g) Formol al 10% w/w.

2.3.- SOLUCIONES PREPARADAS.

- a) Solución de azul de Evans al 1% w/v en agua libre de pirógenos, en viales de 10 ml en condiciones esteriles.
- b) Soluciones acuosas de Propilenglicol al 16, 20, 24, 28, 32 y 36 w/w, envasadas en viales de 10 ml, en condiciones esteriles.
- c) Soluciones acuosas de Etilenglicol al 20, 24, 28, 32, 36 y 40 % w/w, envasadas en viales de 10 ml,

en condiciones esteriles.

- d) Soluciones acuosas de Glicerina al 24, 28, 30, 32, 36 y 40 w/w, envasadas en condiciones esteriles, en viales de 10 ml.

2.4.- MATERIAL BIOLÓGICO.

- a) Conejos albinos Nueva zelanda, con peso superior a 1.500 Kg, sin distinción de sexo.

M E T O D O .

- a) El conejo se fija y se le inyecta por vía intravenosa, 2.0 ml de la solución de azul de Evans al 1 % por Kg de peso, utilizando la vena marginal de la oreja.
- b) Se razuran dos áreas de aproximadamente 2 X 12 cm, en el lomo del conejo a ambos lados de la columna sobre el músculo L. dorsis, comenzando en el termino de las costillas y finalizando en la cresta ilíaca.
- c) A 3 cm de la columna y 2 cm abajo de las costillas, se tatúa con tinta, la zona de aplicación; de abajo hacia arriba a partir de la cresta ilíaca se tatúa otro punto a 4 cm y un tercero entre estos dos. Lo mismo se hace en el músculo que se encuentra del otro lado de la columna.
- d) A la aguja del No. 21 con la que se va a introducir el inyectable, se le pone un tope de tela adhesiva a 1 cm de la punta.

- e) Después de transcurrir 4 horas de la inyección intravenosa, se administra en cada uno de los puntos una solución problema a razón de 0.5 ml. La aguja se introduce perpendicularmente a la columna, formando un ángulo de 90° con la piel, hasta llegar al tope de la aguja y se descarga en un solo pulso.
- f) Pasado un plazo de 72 horas a partir de la aplicación se sacrifica al animal por contusión craneal y, por medio de un corte en la yugular, se deja desangrar completamente.
- g) Se coloca el animal en posición decúbito supino y con el bisturí se abre la piel y se retira el tejido subcutáneo, hasta dejar al descubierto los músculos L. dorsis; éstos se seccionan a lo largo paralelamente a la columna dejando al descubierto las posibles lesiones, las cuales se distinguen perfectamente del músculo sano.

III. 3.- Evaluación Macroscópica de la Irritación.

M E T O D O.

Este método fue ideado por Hoppe (1950) y adaptado por Martínez y Gómez en 1976. Se basa en teñir "in vivo" al conejo por medio de la inyección intravenosa de una solución de azul de Evans, la cual al circular en la sangre, se une a la albumina, distribuyéndose a los tejidos después de dos horas (en conejos), a partir de entonces el músculo del animal se encuentra teñido de azul, al administrarse las soluciones irritantes, en esta zona hay extra

vasación de plasma sanguíneo, la cual no permite que el azul de Evans sea removido del tejido completamente, mientras el daño persista, en casos que el agente es muy agresivo, se produce una zona de isquemia (precursora de la necrosis), en la cual no hay circulación sanguínea; por lo tanto, esta zona quedara fuertemente teñida de azul, además del consecuente daño al tejido.

- a) Del músculo L. dorsis se disectan los tejidos dañados eliminando el músculo sano que se encuentra alrededor de la lesión, el cual se distingue con la ayuda del azul de Evans.
- b) El tejido dañado se pesa en una balanza granataria.
- c) Para determinar el volumen del tejido, en una probeta de 100 ml se le adiciona agua hasta la marca de 30 ml, posteriormente se sumerge completamente el tejido, el volumen ocupado por este sera la diferencia entre el volumen inicial (30 ml) y el resultante al sumergir el tejido.
- d) Se determina la densidad del tejido por medio de la ecuación:

$$\rho \text{ del tejido} = \text{masa del tejido} / \text{volumen del tejido} \quad -- (15)$$

- e) La relación entre la densidad del tejido dañado y la del sano se determinan con la siguiente ecuación:

$$Y = \rho \text{ del tejido dañado} / \rho \text{ del tejido normal} \quad (16)$$

- f) Al tejido dañado se le hace un corte a la mitad, a lo largo del músculo, las lesiones se distinguen puesto que quedan teñidas de azul, sobre el primer corte se efectuan otros dos cortes transversales y de esta forma queda expuesta completa

mente la lesión.

- g) Se efectúan las lecturas de la irritación de acuerdo a la Tabla No. 3.
- h) Posteriormente las muestras del tejido se fijan en formol al 10%, para su posterior evaluación histopatológica.

EVALUACION MACROSCOPICA DE LA IRRITACION.

GRADO	DESCRIPCION
0	Músculo normal, sin ninguna reacción discernible del músculo circundante.
1	Irritación leve, músculo teñido ligeramente por el azul de Evans.
2	Irritación moderada, músculo teñido de azul, focalmente, sin límites definidos.
3	Irritación severa, zona teñida de azul intenso, lesión difusa, con una parte central endurecida.
4	Necrosis focal, Zona decolorada, localizada, rodeada por tejido teñido de azul; diametro aproximado de la zona de necrosis: 10 mm.
5	Necrosis extensa; zona decolorada difusa, endurecida, rodeada de una zona teñida de azul; diametro de la lesión: mayor a 10 mm.

TABLA No. 3. Evaluación Macroscopica de la Irritación (Martínez, 1980).

III. 4.- Evaluación Histopatologica de la Irritación.

4.1.- MATERIAL

- a) Microtomo.
- b) Porta y Cubreobjetos.
- c) Vasos de precipitados de 100 ml.
- d) Placa de inclusión.
- e) Bisturi.
- f) Marcador de punta de diamante.
- g) Microscopio.
- h) Baño de flotación.
- i) Estufa de inclusión.
- j) Cajas de Petri.
- k) Frascos gotero.
- l) Ganchos de vidrio.

4.2.- PRODUCTOS QUIMICOS.

- a) Alcohol etílico al 50,60,70, 80 y 96%.
- b) Alcohol absoluto.
- c) Tolueno absoluto.
- d) Glicerina-Tolueno (1:1).
- e) Parafina-Tolueno (1:1).
- f) Parafina con puntos de fusión entre 30 - 40°C,
40 - 50°C y 50 - 60°C.

- g) Xilol.
- h) Carbol-Xilol-Greasota.
- i) Hematoxilina de Harris.
- j) Alcohol ácido.
- k) Agua amoniacal.
- l) Agua destilada.
- m) Eosina.
- n) Resina sintética.

M E T O D O.

- 1) Las muestras se identifican, colocandose en una gasa y se ponen al chorro del agua durante una hora.
- 2) Posteriormente se colocan una hora en alcohol al 50%.
- 3) Se pasan a alcohol al 60% durante una hora.
- 4) Se colocan en alcohol al 70% 12 horas.
- 5) Se pasan a alcohol al 80 % una hora.
- 6) Se colocan en alcohol al 96% 12 horas.
- 7) Se pasan a alcohol absoluto 12 horas.
- 8) Se colocan en tolueno absoluto 12 horas.
- 9) Se colocan en una mezcla glicerina-tolueno 12 horas.
- 10) Se pasan a una mezcla glicerina-parafina y se introducen a la estufa durante 12 horas.
- 11) Se colocan las muestras durante dos horas en parafina con punto de fusión entre 30 y 40°C.

- 12) Se pasan posteriormente a parafina con punto de fusión 40 - 50°C durante dos horas.
- 13) Se pasan a parafina con punto de fusión de 50 - 60°C durante dos horas.
- 14) Se hace la inclusión del tejido con parafina con punto de fusión entre 50 y 60°C, dejándose enfriar posteriormente.
- 15) Ya formados los bloques de parafina con el tejido se colocan en el microtomo y se hacen cortes de 3 micras de espesor, y se fijan en un portaobjetos, obteniendo 20 muestras por cada tejido.
- 16) Los portaobjetos se colocan en una rejilla y se sumergen en xilol durante 10 minutos.
- 17) Se sumergen posteriormente en una solución de carbol-xilol-creasota, durante 10 minutos.
- 18) Se pasan posteriormente a alcohol al 96% durante 10 minutos.
- 19) Se colocan en alcohol al 70% durante 10 minutos.
- 20) Se sumergen en agua durante 10 minutos.
- 21) Se colocan durante un minuto en Hematoxilina de Harris.
- 22) Se lavan con agua de la llave.
- 23) Se sumergen en alcohol ácido rápidamente (de uno a dos segundos).
- 24) Se lavan con agua de la llave.
- 25) Se sumergen en agua amoniacaal durante 5 segundos.
- 26) Se sumergen en agua destilada tres veces durante un minuto.
- 27) Se pasan a eosina durante tres minutos.

- 28) Se pasan a alcohol de 96° durante un minuto, tres veces.
- 29) Se sumergen tres veces en carbol-xilol-creasota durante un minuto cada vez.
- 30) Se pasan a xilol durante tres minutos.
- 31) Se montan en resina sintética.
- 32) Se hace la lectura con el objetivo seco fuerte, de acuerdo a la Tabla No. 4.

EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE LA IRRITACION.

GRADO	DESCRIPCION
0	Músculo sano sin alteraciones.
1	Area edematosa con escasa presencia de elementos formes; IRRITACION LEVE.
2	Músculo esquelético con inflamación crónica no específica y abundante presencia de polimorfonucleares; macrofagos. IRRITACION SEVERA.
3	Músculo esquelético con proceso inflamatorio agudo, zonas de hemorragia y pequeñas zonas de calcificación. NECROSIS ZONAL.
4	Extensa área de necrosis, coagulación y congestión periférica. NECROSIS EXTENSA.

TABLA No. 4. Evaluación histopatológica de la irritación en músculo de conejo. (Martínez, 1980).

III. 5.- Tensión Superficial de las Soluciones Alcohol-Agua.

Los valores de la tensión superficial a diferentes concentraciones, se recopilarán de los trabajos experimentales reportados por Martínez (1980). El método utilizado para la determinación de la tensión superficial fue el del anillo, el cual se basa en trabajos realizados por Freud y Freud; Harkins y Jordan y Fox.

Los datos recopilados se muestran en la Tabla No. 5.

El valor de la tensión superficial se relaciona con la presión superficial por la ecuación:

$$\pi = (\gamma_0 - \gamma) \quad - - - (17)$$

Donde γ_0 es la tensión superficial del líquido puro y γ es la tensión superficial de las sustancias que forman la película.

Suponiendo la formación de una monocapa en la superficie del líquido es posible calcular el área molecular (σ), que ocupa el soluto en la interfase con la ecuación:

$$\sigma = 1/N_2 \quad - - - (18)$$

Donde N es el número de Avogadro.

TABLA No. 5 Datos de tensión superficial para soluciones de etilenglicol, propilenglicol y glicerina a diferentes concentraciones. (Martínez, 1980)

ETILENGLICOL		PROPILENGLICOL		GLICERINA	
X_2	γ	X_2	γ	X_2	γ
1.000	45.58	1.000	36.93	0.105	58.74
0.482	51.95	0.185	44.68	0.088	54.33
0.367	53.99	0.150	46.14	0.049	58.70
0.241	56.58	0.105	49.05	0.029	62.71
0.176	58.89	0.079	57.17	0.011	67.35
0.159	58.33	0.046	56.39	0.005	70.80
0.132	59.54	0.017	63.64	0.001	71.06
0.096	61.96	0.008	67.01	0.000	71.97
0.074	62.85	0.003	69.80		
0.043	66.26	0.002	70.73		
0.034	67.67	0.001	71.79		
0.017	69.58	0.000	71.97		
0.008	70.50				
0.002	70.85				
0.000	71.97				

γ = Tensión superficial (dinas/cm)

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION.

IV. 1.- Relación de la concentración de las soluciones acuosas de etilenglicol, propilenglicol y glicerina con la irritación intramuscular producida en el sitio de depósito.

Las lecturas de las pruebas de irritación por el método macroscópico provocadas por las diluciones de los alcoholes trabajados se muestran en las Tablas 6, 7 y 8, para etilenglicol, propilenglicol y glicerina respectivamente. Estas pruebas se realizarán por triplicado en conejos diferentes.

En la Figura No. 6 se gráfico el grado de irritación ocasionado por las soluciones acuosas de los alcoholes contra el % w/w de las soluciones.

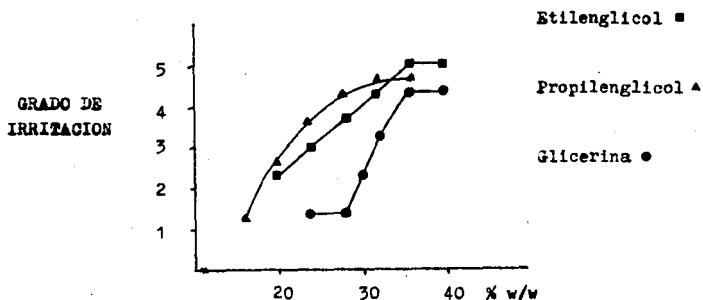


FIGURA No. 6. Gráfica del grado de irritación de las soluciones de Etilenglicol (■), Propilenglicol (▲) y Glicerina (●) contra el % w/w de las soluciones trabajadas.

A w/w	X	\bar{X}	D.E.	Vol (ml)	W (g)	ρ	Y
20	2.0	2.33	0.471	2.0	2.1	1.07	1.19
	3.0			2.0	2.1		
	2.0			2.0	2.1		
24	3.0	3.00	0.000	1.0	1.1	1.13	1.26
	3.0			1.5	1.8		
	3.0			1.3	1.4		
28	3.0	3.66	0.471	2.1	2.1	0.94	1.05
	4.0			2.5	2.2		
	4.0			2.2	2.1		
32	5.0	4.33	0.471	3.0	3.0	0.96	1.07
	4.0			1.8	1.6		
	4.0			2.1	2.0		
36	5.0	5.00	0.000	1.5	1.7	0.93	1.04
	5.0			1.0	0.7		
	5.0			2.8	2.7		
40	5.0	5.00	0.000	1.8	1.5	0.89	0.90
	3.0			1.0	0.9		
	5.0			2.3	2.2		

TABLA No. 6. Resultados de la prueba de irritación intramuscular, realizada en músculo de conejo con soluciones acuosas de Etilenglicol. (Evaluación macroscópica)

% w/w = Porcentaje peso-peso del alcohol.

X = Grado de irritación obtenido con respecto a la evaluación macroscópica.

\bar{X} = Promedio de los valores obtenidos por X.

D.E. = Desviación estandar de los valores de irritación obtenidos para cada concentración trabajada.

Vol = Volumen del tejido dañado.

W = Peso del tejido dañado.

ρ = Densidad promedio del tejido dañado.

Y = Relación entre la densidad del tejido dañado y la del tejido normal (0.8969).

X_w/w	X	\bar{X}	D. E.	Vol(ml)	\bar{w} (g)	P	Y
16	1.0	1.33	0.471	2.6	2.7	1.01	1.13
	1.0			4.0	4.0		
	2.0			6.4	6.5		
20	2.0	2.66	0.471	2.1	2.2	0.97	1.09
	3.0			1.5	1.5		
	3.0			2.8	2.5		
24	3.0	3.66	0.471	2.1	2.1	1.00	1.12
	4.0			3.0	3.2		
	4.0			2.0	1.9		
28	5.0	4.37	0.471	4.5	4.5	0.95	1.06
	4.0			2.6	2.6		
	4.0			1.5	1.3		
32	5.0	4.66	0.471	3.8	3.5	1.03	1.15
	4.0			1.7	1.8		
	5.0			3.5	3.9		
36	4.0	4.66	0.471	2.5	2.4	0.99	1.10
	5.0			1.8	1.8		
	5.0			3.5	3.5		

TABLE No. 7. Resultados de la prueba de irritación intramuscular, realizada en músculo de conejo con soluciones acuosas de Propilenglicol.

% w/w	X	\bar{X}	D. E.	Vol (ml)	W (g)	P	Y
24	1.0	1.33	0.471	0.5	0.5	0.85	0.95
	2.0			1.5	1.2		
	1.0			0.6	0.5		
28	1.0	1.33	0.471	0.6	0.5	0.88	0.98
	2.0			0.8	0.7		
	1.0			0.6	0.5		
30	3.0	2.33	0.943	1.1	1.0	0.90	0.99
	1.0			0.8	0.8		
	3.0			1.0	0.8		
32	4.0	3.33	0.943	1.8	1.5	0.91	1.01
	4.0			4.5	4.2		
	2.0			2.2	2.0		
36	4.0	4.33	0.471	1.5	1.2	0.99	1.10
	4.0			2.2	2.0		
	5.0			3.4	3.2		
40	5.0	4.33	0.471	3.9	3.7	0.95	1.04
	4.0			2.5	2.2		
	4.0			3.2	3.1		

TABLA No. 8 . Resultados de la prueba de irritación intramuscular, realizada en músculo de conejo con eg luciones acuosas de Glicerina.

En general los datos de irritación obtenidos de las diluciones EG-agua, muestran valores muy similares para cada concentración trabajada, en las cuales va aumentando progresivamente el grado de irritación entre las concentraciones del 20 % w/w hasta el 36 % w/w, entre estos valores se encuentra el punto que presenta el valor máximo para Y, el cual posteriormente disminuye aproximándose a la unidad.

Para el propilenglicol sus datos siguen características muy similares a los del etilenglicol, con la diferencia que el valor de Y no sigue un comportamiento definido, pero son más constantes que los del alcohol anterior.

La glicerina muestra mayor variación en sus lecturas de la irritación que la que muestran el EG. y el PG. ya que este en dos lecturas el valor de la desviación estandar es de 0.943 es decir el doble del que se obtuvo como máximo en los alcoholes anteriores.

En la Figura No. 6 se observa que al graficar el grado de irritación vs % w/w de los alcoholes, existe una zona que tiende a ser lineal en todos los casos, esta característica no se observa en todo el rango de concentraciones, lo que puede ayudar a obtener una ecuación de la recta para cada alcohol en la zona de interés, debido a que a concentraciones menores se obtiene una recta que presenta la característica de inocuidad en el tejido, y a concentraciones mayores de las que se presentan en la zona lineal solo se observa gran daño en el tejido, por lo que la zona que nos puede ayudar a predecir el máximo tolerable pa

ra evitar daño considerable en el tejido que posiblemente pueda disminuir la biodisponibilidad del fármaco en el organismo.

- Evaluación Histopatológica de la irritación en el musculo de conejo.

Los resultados de la evaluación histopatológica se aprecian en las Tablas 9, 10 y 11 para el Etilenglicol, Propilenglicol y Glicerina respectivamente.

En las tablas se hace una breve descripción del daño ocasionado por las soluciones de los alcoholes, además se indica el grado de irritación determinado por patólogos de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas del IPN., Tomando como referencia la Tabla No. 4.

CONCENTRACION (% w/w)	EVALUACION DE LA LESION
20	Músculo esquelético con presencia de macrófagos y eritrocitos, estructura normal del tejido. GRADO: 1
24	En el músculo esquelético empieza la degeneración de las fibras musculares, presencia de células plasmáticas y de polimorfonucleares. GRADO: 2
28	En algunas fibras musculares empieza a producirse necrosis, hay gran cantidad de macrófagos y la presencia de polimorfonucleares, observándose algunos eosinófilos. GRADO: 2
32	Presencia en el músculo una reacción inflamatoria intensa, con formación de fibrosis y destrucción de vasos ocasionando la presencia de eritrocitos, macrófagos y polimorfonucleares. GRADO: 3
36	Se observa necrosis extensa del músculo y del exudado, presencia de polimorfonucleares principalmente de eosinófilos, congestión ocasionada por la ruptura de vasos. GRADO: 4
40	Zona de necrosis extensa, presencia de macrófagos y polimorfonucleares, formación de edema en el músculo. GRADO: 4

TABLA No. 9. EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE ETILENGLICOL.

CONCENTRACION (% w/w)	EVALUACION DE LA LESION
16	Se identifica una ligera perdida de la organización de la estructura muscular, presencia de polimorfonucleares y macrófagos. GRADO: 1
20	Se observa una reacción inflamatoria con predominio de polimorfonucleares, principalmente eosinófilos, se observa necrosis en algunas fibras musculares y desorganización del tejido conjuntivo. GRADO: 2
24	Existe una gran desorganización de las fibras musculares con la presencia de polimorfonucleares, se observa intensa congestión y necrosis del tejido muscular. GRADO: 3
28	Se observa hemorragia con la ruptura de los vasos sanguíneos, presencia de eosinófilos y gran cantidad de macrófagos, ligera necrosis celular. GRADO: 3
32	Zona con predominio de necrosis del tejido muscular, se pierde la estructura de las fibras musculares, gran cantidad de polimorfonucleares y macrófagos. GRADO: 4
36	El músculo esquelético presenta una amplia zona afectada por la necrosis, con un proceso inflamatorio muy marcado. GRADO: 4

TABLE No. 10. EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE PROPYLENGLICOL.

CONCENTRACION (% w/w)	EVALUACION DE LA LESION
24	En el músculo esquelético existe intensa reacción inflamatoria, principalmente macrófagos, polimorfonucleares y la presencia de algunos mononucleares. GRADO: 2
28	Fuerte reacción inflamatoria infiltrativa, las células musculares presentan necrosis, en la zona destruida se observa el tejido de reparación (vasos de neoformación, colágeno, fibroblastos y linfocitos). GRADO: 3
30	Algunas fibras musculares son sustituidas por tejido granulomatoso, intensa reacción inflamatoria. GRADO: 4
32	Gran daño del tejido muscular, presencia de eosinófilos y tejido de reparación. GRADO: 4
36	El músculo esquelético presenta necrosis incluyendo el exudado inflamatorio, persiste la sustitución de las fibras musculares por tejido en reparación. GRADO: 4
40	Gran parte del tejido está sustituido por un proceso granulomatoso, observándose eosinófilos, macrófagos y la presencia de eritrocitos. GRADO: 4

TABLA No. 11. EVALUACION HISTOPATOLOGICA DE SOLUCIONES ACUOSAS DE GLICERINA.

Al analizar las muestras se observa que en todos los alcoholes existe un daño progresivo en el tejido, el cual va desde la presencia de células plasmáticas conservándose la estructura normal del tejido, hasta la formación de una zona en la que predomina la necrosis celular.

El daño ocasionado por las soluciones de EG, se observa principalmente en la infiltración de células sanguíneas en el tejido, predominando las polimorfonucleares, a partir de la concentración del 28% w/w hay presencia de eosinófilos los cuales aumentan ligeramente a concentraciones mayores.

Para el PG, las lecturas muestran una mayor presencia de eosinófilos, lo que pudiera ser el inicio de una reacción a cuerpo extraño, originada por la presencia de este alcohol en el tejido, a concentraciones similares entre el EG y el PG el daño ocasionado por el primero es mayor. Al comparar las lecturas macroscópicas y las histopatológicas para estos dos alcoholes se observa similitud entre ellas, sin embargo en el caso de la glicerina las evaluaciones presentan grandes variaciones entre una y otra, debido a que el daño tisular observado por la lectura macroscópica es mucho menor que obtenida por la microscópica principalmente en las primeras diluciones, con esto nos referimos a que, desde la dilución al 24% w/w se observa al microscopio irritación severa en el tejido, y a partir del 28% w/w necrosis en cuya zona predomina poco a poco el tejido de reparación, este daño es tan importante que a concentraciones mayores no solo las fibras musculares muestran necrosis, sino

también el tejido en reparación se ve afectado, lo que indica que el daño producido por la GL es más grave que el de los alcoholes anteriores.

Estos resultados pueden explicarse por un desarrollo de la irritación muy lenta al inyectar las soluciones de GL, por lo cual no se puede detectar la lesión por la lectura macroscópica, ya que el azul de Evans (colorante que se utiliza para delimitar las zonas del tejido dañado) utilizado se remueve del músculo antes de completar el fenómeno inflamatorio.

Con los resultados anteriores se puede determinar la concentración umbral de irritación para los alcoholes trabajados, lo que se muestra en la Tabla No. 12.

TABLA No. 12. Concentración umbral de irritación determinada para las soluciones acuosas de Etilen glicol, propilenglicol y glicerina.

ALCOHOL	CONCENTRACION UMBRAL DE IRRITACION
ETILENGLICOL	28 % w/w
PROPILENGLICOL	20 % w/w
GLICERINA	24 % w/w

Los resultados de la Tabla No. 12 se obtuvieron a partir del estudio histopatológico del tejido dañado. Esta concentración umbral es de gran importancia en la formulación de productos parenterales para determinar el grado de irritación que pueden presentar al ser inyectados al tejido. Estas pruebas de irritación ayudan a efectuar un control sobre materia prima, producto en proceso y producto terminado, pudiendo utilizarse con fines de farmacovigilancia de los productos que se encuentran en el mercado, para ayudar o prevenir daños en el musculo que disminuyan la biodisponibilidad del fármaco.

IV.2- Tratamiento de la Irritación como un Fenómeno de Superficie.

Las propiedades superficiales son fundamentales en la determinación de la Energía libre de adsorción del sistema, es decir, la espontaneidad con que las moléculas del soluto migran hacia la interfase.

Los resultados de la presión superficial para las soluciones acuosas de etilenglicol, propilenglicol y glicerina se muestran en las Tablas 13, 14 y 15 respectivamente.

Para la determinación de los valores del ΔG° se efectuarón los siguientes tratamientos:

**TABLA No. 13. PARAMETROS FISICOQUIMICOS
PARA SOLUCIONES ACUOSAS DE ETILENGLICOL.**

CONCENTRACION			γ	π
% w/w	C_2	I_2		
100.0	1.80	1.000	45.58	26.39
76.2	1.34	0.482	51.95	20.02
66.7	1.08	0.367	53.99	17.98
55.3	0.95	0.241	56.58	15.39
42.3	0.72	0.176	58.89	13.08
39.4	0.67	0.159	58.33	13.64
34.4	0.58	0.132	59.54	12.43
26.7	0.45	0.096	61.96	10.01
21.5	0.36	0.074	62.85	9.12
13.6	0.22	0.043	66.26	5.71
10.9	0.18	0.034	67.67	4.30
5.5	0.09	0.017	69.58	2.39
2.7	0.05	0.008	70.50	1.47
0.6	0.01	0.002	70.85	1.12
0.0	0.00	0.000	71.97	0.00

$C_2 \times 10^2$ = Concentración (mol/c.c.).

I_2 = Fracción molar del soluto.

γ = Tensión superficial (dinas/cm).

π = Presión superficial (dinas/cm).

**TABLA No. 14. PARAMETROS FISICOQUIMICOS
PARA SOLUCIONES ACUOSAS DE PROPILENOGLICOL.**

CONCENTRACION			γ	π
% w/w	C_2	X_2		
100.0	1.365	1.000	36.93	35.041
49.0	0.670	0.185	44.68	27.29
42.6	0.580	0.150	46.14	25.83
33.0	0.446	0.105	49.05	22.92
26.5	0.357	0.079	57.17	19.80
16.8	0.224	0.046	56.39	15.58
6.8	0.069	0.017	63.84	8.13
3.4	0.045	0.008	67.01	4.96
1.4	0.018	0.003	69.80	2.17
0.7	0.009	0.002	70.73	1.24
0.4	0.005	0.001	71.79	0.18
0.0	0.000	0.000	71.97	0.00

**TABLA No. 15. PARAMETROS FISICOQUIMICOS
 PARA SOLUCIONES ACUOSAS DE GLICERINA.**

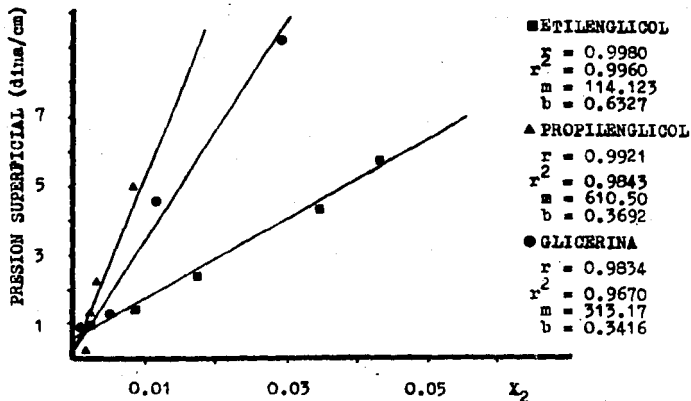
CONCENTRACION			γ	π
X w/w	C ₂	X ₂		
37.57	0.447	0.1053	58.74	13.23
32.90	0.387	0.0875	54.33	17.64
20.83	0.238	0.0490	58.70	13.27
13.27	0.149	0.0290	62.71	9.26
5.42	0.060	0.0110	67.35	4.62
2.68	0.029	0.0054	70.80	1.17
0.59	0.001	0.0012	71.06	0.91
0.00	0.000	0.0000	71.97	0.00

IV.3. - Ecuación de Gibbs.

Este método se basa en graficar la presión superficial contra la fracción mol del alcohol en el seno de la solución.

Como se trató anteriormente, las soluciones siguen un comportamiento ideal a bajas concentraciones preferentemente, por lo cual se graficaron solo los primeros puntos para la determinación de la pendiente inicial. (Figura No. 7).

FIGURA No. 7. Grafica de presión superficial vs fracción mol de etilenglicol (■), propilenglicol (▲) y glicerina (●), para la determinación del ΔG° por el modelo de Gibbs.



Como se observa en la Figura No. 7, el EG tiene un comportamiento lineal hasta fracciones mol cercanas a 0.04, lo que corresponde a cinco puntos trabajados en la grafica, teniendo una correlación de 0.9980.

El propilenglicol también sigue un comportamiento lineal a fracciones mol menores al 0.01, en este rango se encuentran 4 puntos que presentan una correlación de 0.9921.

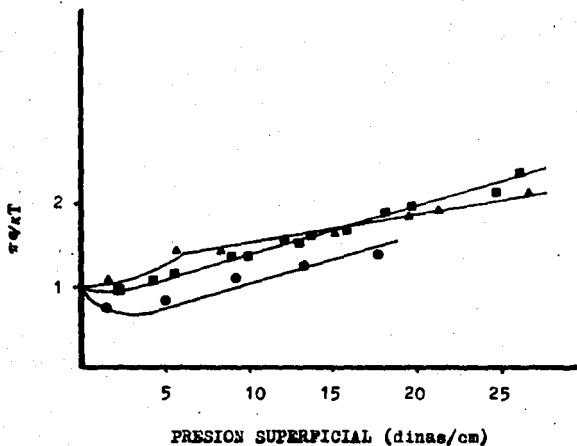
La glicerina presenta una zona de idealidad a fracciones mol menores al 0.03, teniendo esta recta una correlación de 0.9834 en cuatro puntos trabajados.

Al sustituir los resultados de la pendiente inicial de la grafica de presión superficial vs fracción mol, en la ecuación 3, se obtiene el valor del ΔG° para cada alcohol trabajado, los resultados se muestran en la tabla No. 16.

En la Figura No. 7 se observa que una zona lineal para cada alcohol, a fracciones mol muy bajas, debido a esto es necesario trabajar con ecuaciones de estado no ideal, para la obtención de un modelo que pueda predecir el comportamiento de cada alcohol en todo el rango de concentración del soluto.

El diagrama de Amagat, es la base para verificar la no idealidad del sistema soluto-agua, en la Figura No. 8, se observa el tratamiento de los alcoholes estudiados con la ecuación de Amagat, en la cual se muestra la no idealidad del sistema. En estos casos es posible determinar la energía de adsorción por medio de ecuaciones de estado no ideal, las cuales además deben predecir el comportamiento de estas soluciones a cualquier concentración.

FIGURA No. 8. Diagrama de Amagat para los sistemas etilenglicol-agua (\blacksquare), propilenglicol-agua (\blacktriangle) y glicerina-agua (\bullet).



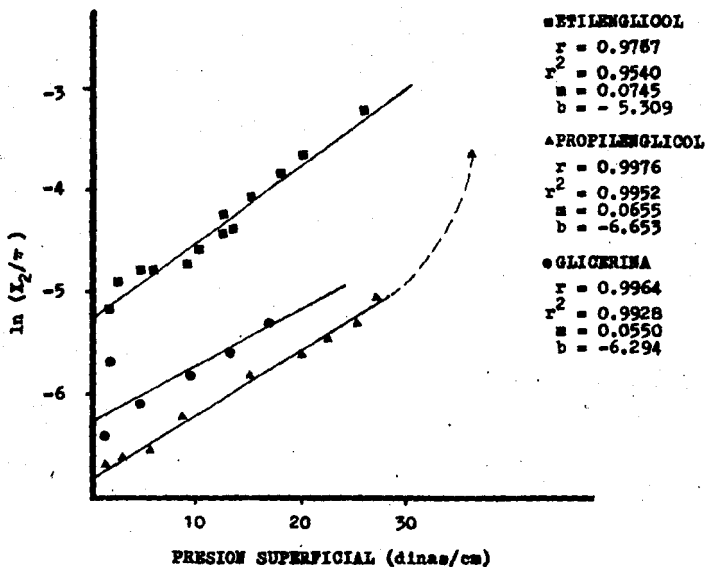
En la Figura No. 8 observamos que los tres alcoholes presentan una zona de idealidad muy reducida, sobre todo a valores altos de presión superficial, que corresponden a concentraciones altas del soluto, por lo cual trataremos estos sistemas alcohol-agua con ecuaciones de estado no ideal.

ECUACIONES DE ESTADO NO IDEAL.

IV.4. - Ecuación de Cassel y Forstecher.

Al graficar los valores de $\ln (L_2/\pi)$ vs π se obtiene una recta de pendiente positiva para cada alcohol, como se observa en la Figura No. 9, y una ordenada al origen (I), que al sustituirse en la Ecuación No. 8 nos determina el valor de ΔG° para este modelo.

FIGURA No. 9. Gráfica de $\ln (I_2/w)$ vs π , para los sistemas etilenglicol-agua (\blacksquare), propilenglicol-agua (\blacktriangle) y glicerina-agua (\bullet), para la determinación del ΔG° por el modelo de Cassel y Formstecher.



El EG sigue en todo el range de concentraciones una tendencia lineal con una correlación de 0.9767, este valor indica que el alcohol no se adapta perfectamente a las características de esta ecuación, observando que existen ligeras variaciones, aunque este modelo describe mucho mejor el sistema EG-agua comparado con el modelo de Gibbs.

El PG sigue un comportamiento lineal solo a concentraciones menores al 49% w/w, posteriormente a este valor se pierde la tendencia lineal esperada, es decir este modelo no describe el comportamiento del sistema PG-agua en todo el range de concentraciones, sin embargo su parte lineal presenta una correlación de 0.9976.

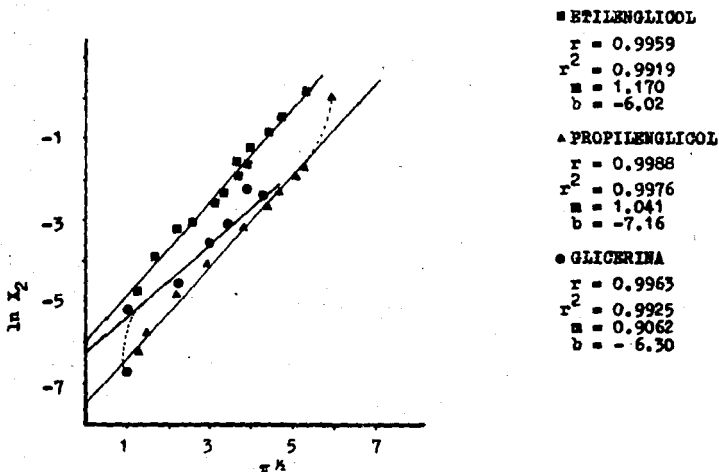
Para la GL se observa que solo sigue esta ecuación a valores que se encuentran entre el 5% w/w y el 33% w/w, es decir este modelo sufre desviaciones tanto a concentraciones altas como a concentraciones bajas, siguiendo la linealidad solamente en un pequeño range de concentraciones.

Los valores de los parámetros obtenidos por el modelo de Cassel se muestran en la Tabla No. 16.

IV.5 - Ecuación de Temkin.

Para este modelo se graficarán los valores de $\ln X_2$ vs π^k , obteniéndose rectas de pendiente positiva y cuyo intercepto al sustituirse en la Ecuación No. 10 se obtiene el valor de ΔG° , las graficas se muestran en la Figura No. 10.

FIGURA No. 10. Gráfica de $\ln X_2$ vs π^k para los sistemas etilenglicel-agua (\blacksquare), propilenglicel-agua (\blacktriangle) y glicerina-agua (\bullet) para el modelo de Temkin.



Para el sistema EG-agua se obtiene una recta de correlación 0.9959, en la cual todos los puntos se encuentran sobre la recta, por lo que se observa que este modelo describe el comportamiento de este sistema a cualquier rango de concentración.

En el caso del sistema PG-agua, se puede observar que en gran parte de la grafica se sigue la linealidad de los puntos, este comportamiento se encuentra a concentraciones menores al 49 % w/w, posteriormente esta tendencia lineal se pierde.

En el sistema GL-agua, existe un comportamiento lineal entre el 2% w/w y el 33% w/w, fuera de este rango surgen desviaciones de la recta, la cual en su rango lineal presenta una correlación de 0.9963.

La energía libre de adsorción obtenida por este modelo se observa en la Tabla No. 16 .

IV.6.- Ecuación de van Snyeskowski.

En este modelo se graficarán los datos de $c^{\sqrt{RTD}}$ vs la concentración del solute en el seno de la solución, obteniéndose en cada alcohol una recta con pendiente positiva y ordenada al origen muy cercana a uno, como se observa en la Figura No. 11 .

El valor del ΔG° es determinado para este modelo por la ecuación:

$$\Delta G^{\circ} = -R T \ln \frac{m}{c^{\sqrt{RTD}}} \quad - - - (19)$$

Donde m es la pendiente de la grafica No. 11 .

FIGURA No. 11. Gráfica de $e^{(\pi/RT_3)}$ vs C_2 para los sistemas etilenglicol-agua (\blacksquare), propilenglicol-agua (\blacktriangle) y glicerina-agua (\bullet) para el modelo de van Szyeskowski.

■ ETILENGLICOL

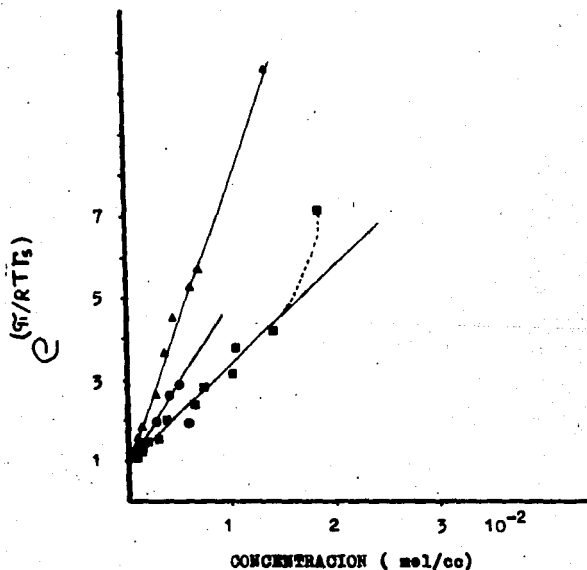
$r = 0.9973$
 $r^2 = 0.9946$
 $a = 248.9$
 $b = 0.9987$

▲ PROPILENGLICOL

$r = 0.9975$
 $r^2 = 0.9952$
 $a = 477.2$
 $b = 1.060$

● GLICERINA

$r = 0.9978$
 $r^2 = 0.9957$
 $a = 428.4$
 $b = 1.009$



El sistema EG-agua sigue el modelo de von Szyzkowski, con una correlación de 0.9973, pero solamente a concentraciones menores al 75 % w/w, posteriormente la línea sufre una desviación, lo que implica que este sistema no sigue este modelo en todo el rango de concentración, el intercepto al origen en la gráfica es de 0.9987, existiendo una diferencia de $1.3 \cdot 10^{-3}$ con respecto al valor teórico que es de 1.0.

Para el prenilenglicol, este modelo se adapta perfectamente en todo el rango de concentraciones, la correlación a la recta obtenida es de 0.9975 y la desviación del intercepto al origen con respecto a uno es de $7 \cdot 10^{-2}$.

En el sistema glicerina-agua se pudieran linearizar siete puntos, los que corresponden a concentraciones inferiores al 33 % w/w, por arriba de este valor el modelo pierde linealidad. El intercepto al origen tiene una desviación de $9 \cdot 10^{-3}$ con respecto al valor teórico.

Entre los modelos de las ecuaciones de estado no ideal propuestos se observa que generalmente hay una zona lineal, principalmente a concentraciones bajas, pero que en los tres casos trabajados el comportamiento de los sistemas alcohol-agua se describen en un mayor rango por las ecuaciones de estado no ideal comparadas con la de Gibbs, pero es necesario proponer para cada alcohol la ecuación que mejor se adapte al comportamiento de cada sistema en el rango de concentración trabajada.

ALCOHOL	ΔG°	\bar{c}_s	β	A
ETILENGLICOL	-3,446.7 (1)	5.42 10^{-10}	30.63	248.9
	-3,785.7 (2)			
	-3,566.4 (3)			
	-3,909.1 (4)			
PROPILENGLICOL	-4,295.5 (1)	7.14 10^{-10}	23.27	708.4
	-4,584.0 (2)			
	-4,241.7 (3)			
	-4,294.4 (4)			
GLICERINA	-4,045.1 (1)	7.34 10^{-10}	22.61	428.4
	-4,369.1 (2)			
	-3,732.0 (3)			
	-4,230.6 (4)			

TABLA No. 16. Parámetros fisicoquímicos de los sistemas alcohol-agua, siendo estos:

ΔG° Energía libre de adsorción (cal/mol), Modelo de Gibbs (1), Modelo de Cassel (2), Modelo de Temkin (3) y Modelo de von Szysskowski (4).

\bar{c}_s Concentración en exceso en el estado de saturación (mol/cm²).

β Coárea (Å²/molécula)

A Constante de capilaridad.

El etilenglicol se ajusta muy bien a la ecuación de Temkin en la que se obtiene una $r^2 = 0.9919$, dentro de todo el rango de concentración, la isoterma de Cassel muestra ligeras desviaciones en la recta, no solo a concentraciones altas del soluto sino también en las bajas, aunque todos los puntos siguen la tendencia de este modelo. Este alcohol sigue la ecuación de von Szyszkowski solamente a concentraciones menores al 76.2% w/w. Per lo tanto la ecuación que mejor describe al comportamiento de este sistema es la de Temkin.

El propilenglicol sigue el modelo de von Szyszkowski muy bien obteniendose una $r^2 = 0.9998$, mientras que per los modelos de Cassel y Temkin se observan desviaciones a concentraciones superiores al 49% w/w.

La ecuación de von Szyszkowski es la que mejor describe el comportamiento de la glicerina, ya que sigue este modelo hasta una concentración del 35% w/w y posteriormente pierde linealidad. Los modelos de Temkin y Cassel no solo muestran desviaciones a valores altos de concentración sino que también a las bajas.

El calculo de la Γ se realiza con la ecuación 13, con este resultado y a través de las ecuaciones 14 y 18, se efectuan los calculos para la determinación de la fracción ocupada (Θ) y del área molecular (σ), respectivamente. Los resultados de estos parámetros se observan en las Tablas No. 17, 18 y 19 para el etilenglicol, propilenglicol y glicerina respectivamente.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

$C_2 \times 10^2$	γ	τ	Γ_2	Θ	σ
1.80	45.58	26.39	4.43	0.817	38.70
1.34	51.95	20.02	4.17	0.770	39.78
1.08	53.99	17.98	3.95	0.729	42.03
0.95	56.58	15.59	3.81	0.703	43.54
0.72	58.89	13.08	3.48	0.642	47.72
0.67	58.39	13.64	3.39	0.625	49.03
0.58	59.54	12.43	3.20	0.591	51.85
0.45	61.95	10.01	2.85	0.526	58.24
0.36	62.85	9.12	2.55	0.470	65.11
0.22	66.26	5.71	1.94	0.357	85.80
0.18	67.27	4.30	1.66	0.307	99.78
0.09	69.58	2.39	0.98	0.181	168.90
0.05	70.50	1.47	0.53	0.100	310.34
0.00	71.97	0.00	0.00	0.000	- - -

TABLA No. 17. Propiedades superficiales del sistema Etilenglicol-Agua.

C_2 = Concentración molar (mol/cc)

γ = Tensión superficial (dinas/cm)

τ = Presión superficial (dinas/cm)

Θ = Fracción ocupada.

σ = Área molecular. ($\text{\AA}^2/\text{molécula}$)

Γ_2 = Concentración en exceso en la interfase (mol/cm²)

$C_2 \times 10^2$	γ	π	Γ_2	θ	σ
1.364	36.93	35.04	5.57	0.906	29.81
0.670	44.68	27.29	5.08	0.826	32.68
0.580	46.14	25.83	4.94	0.804	33.58
0.446	49.05	22.92	4.68	0.761	35.48
0.357	52.17	19.80	4.42	0.718	37.61
0.224	56.39	15.58	3.77	0.613	44.05
0.089	63.84	8.13	2.39	0.389	69.44
0.045	67.01	4.96	1.48	0.241	111.88
0.018	69.80	2.17	0.70	0.113	238.92
0.009	70.73	1.24	0.41	0.066	408.94
0.005	71.79	0.18	0.21	0.034	790.62
0.000	71.97	0.00	0.00	0.000	- - -

TABLA No. 18. PROPIEDADES SUPERFICIALES DEL SISTEMA PROPILENGLICOL-AGUA.

$C_2 \times 10^2$	γ	μ	Γ_2	θ	σ
0.447	58.74	15.23	5.27	0.718	31.53
0.387	54.33	17.64	5.05	0.687	32.90
0.238	58.70	13.27	4.22	0.575	39.35
0.149	62.70	9.26	3.37	0.459	49.33
0.060	67.35	4.62	1.87	0.254	88.94
0.029	70.80	1.17	1.04	0.142	159.82
0.001	71.06	0.91	0.04	0.006	405.01
0.000	71.97	0.00	0.00	0.000	- - -

TABLA No. 19. Propiedades superficiales del sistema Glicerina-Agua.

Al revisar las Tablas anteriores se observa que en ningún caso la fracción ocupada es igual a uno, siendo el valor más aproximado el obtenido para el PG con una fracción ocupada de 0.906, este fenómeno puede deberse a los siguientes factores:

- 1.- No necesariamente los alcoholes forman una monocapa como presuponen los modelos.
- 2.- No solo el soluto se encuentra en la capa superficial; aunque este tiene preferencia, también se encuentran moléculas del disolvente (en este caso agua), lo que hace que aumente la coárea neta ocupada por el soluto y disminuya la concentración en exceso en la superficie en el supuesto estado de saturación.
- 3.- Los grupos polares de las moléculas de los alcoholes, pueden presentar fuerzas de repulsión entre ellas, lo que impide que se empaquen totalmente, este también ocasiona un aumento en la coárea del alcohol.

- Relación de las Propiedades Fisicoquímicas con el Grado de Irritación provocado en el Músculo.

En la Figura No. 12 se observa la grafica de fracción ocupada vs X_w/w del soluto, para los alcoholes trabajados, en esta misma se delimitan las zonas correspondientes a inecuidad en el músculo, irritación leve, irritación severa y necrosis.

En la Figura No. 13 se encuentran las graficas de Γ_2 vs X_w/w , determinandose además el área molecular en la cual se empieza a producir irritación severa.

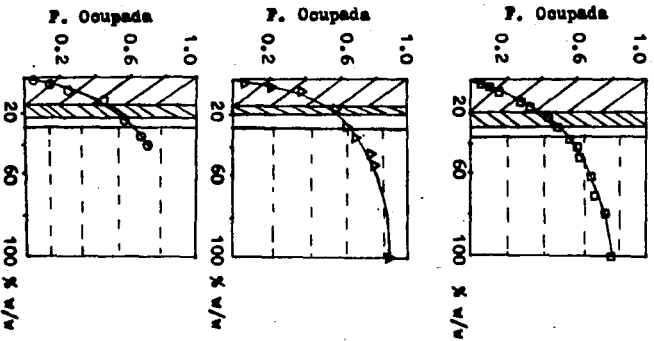
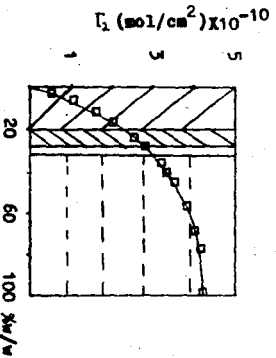
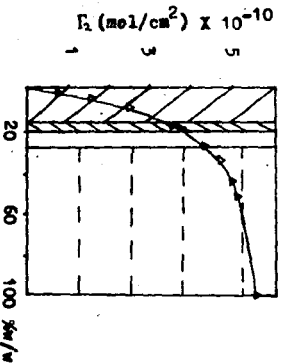


FIGURA No. 12. Gráficas de fracción ocupada vs X w/w de las soluciones acuosas de etilenglicol (□), propilenglicol (Δ) y glicerina (○), más tarde además las zonas de irritación.

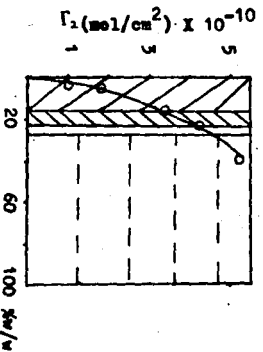




$\sigma^* = 58.24 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$
 σ^* = Área molecular al
 empazar a producir irri-
 tación severa.



$\sigma^* = 44.0 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$



$\sigma^* = 39.35 \text{ \AA}^2/\text{molécula}$

FIGURA No. 13 Gradientes de Γ_2 vs $\mu\text{m/w}$ de las soluciones acu-
 sas de etilenglicol (□), prenilenglicol (Δ) y Glicerina (○),
 mostrando las zonas de irritación.

TABLA No. 20. Parámetros fisicoquímicos en los cuales se empieza a producir irritación severa.

Alcohol	$\Gamma \cdot 10^{10}$ (mol/cm ²)	σ (Å ² /molécula)	Fracción ocupada
ETILENGLICOL	2.8	58.24	0.53
PROPILENGLICOL	4.0	44.0	0.61
GLICERINA	4.5	39.35	0.57

Al observar la Tabla No. 20 se aprecia que el parámetro que tiene menor desviación en sus resultados es la fracción ocupada, debido posiblemente a que en esta serie importa que tan saturada se encuentra la interfase, sin importar si hay muchas o pocas moléculas en esta, y si estas son grandes o pequeñas. En cambio los otros dos parámetros se pueden ver modificados si se trabaja con alcoholes e sustancias, ramificadas e lineales, dependiendo además del tamaño de la molécula y de sus radicales.

Al observar los resultados de la fracción ocupada se puede predecir un valor tentativo, en el cual para sustancias paracidas a las trabajadas en este estudio, se empieza a producir irritación severa, este valor tendrá que ser cercano a 0.57.

CONCLUSIONES.

- 1) La actividad superficial que presenta cada fármaco está ampliamente ligada a los daños en el sitio de depósito, ocasionados principalmente por los disolventes utilizados.
- 2) La fracción ocupada del soluto en la interfase, presenta un valor específico, el cual se relaciona a la concentración umbral de irritación, para el tipo de alcoholes trabajados en este estudio.
- 3) Las ecuaciones de estado no ideal, describen en un rango muy amplio el comportamiento de los sistemas alcohol-agua, existiendo modelos que describen este a cualquier concentración.
- 4) Los sistemas alcohol-agua trabajados, presentan distintos grados de irritación en el músculo, obteniéndose una concentración umbral para cada sistema, este deberá comprobarse en el futuro, con estudios de biodisponibilidad "in vivo", teniendo los fármacos como disolventes este tipo de alcoholes.

- 1) Este trabajo muestra que el abuso de los disolventes puede causar absorción incompleta del principio activo. Por esto hay que tener en cuenta no solo que egte se encuentre en solución, sino que además no cause daño en el tejido.

BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Adamson, Arthur,
Physical Chemistry of Surfaces,
4a. edición, Ed. Wiley & Sons, Cap. III,
Canada, 1982.
- 2.- Ballard, H. E.,
Biopharmaceutical Considerations in Subcutaneous
and Intramuscular Drug Administration,
J. Pharm. Sci., 27 (3) : 357-78, (1968).
- 3.- Benisek, R. & Karam, R.,
Adsorption of Alcohols at an Air-Solution Inter-
face: A Pseudoregular Monolayer Model,
J. of Colloid and Interface Sci., 81 (2):
304-310, (1981).
- 4.- Benson, G. & Lam, V.,
Surface Tension of Binary liquid Systems II.
Mixtures of Alcohols,
J. of Colloid and interface Sci., 38 (2):
294-300, (1972).

- 5.- Boulter, E.
Distribution of non electrolytes in muscle,
Am. J. Physiol. 200 (4) : 651-55.
- 6.- Hudden, R., Kuhl, U. & Bahlsen, J.,
Experiments on the toxic, sedative and muscle relaxant
potency of various drug solvents in mice.
Pharm. Ther., 2 : 467-74, (1979).
- 7.- Carpenter, C. & Boyd, C.,
A Study of the Polyethylene Glycols as Vehicles
for Intramuscular and Subcutaneous Injection.
Am. Pharm. Ass., 41 (1) : 27-29, (1952).
- 8.- Clint, J., Corkill, Goodman y Tate,
Adsorption of n-Alkanol at the Air/Aqueous
Solution Interface,
J. of Colloid and Interface Science,
28 (3/4), Nov-Dec, (1968).
- 9.- Der, Y. & Kent, S.
Effect of Propylene Glycol on Subcutaneous
Absorption of a Benzimidazole Hydrochloride.
J. of Pharm. Sci., 71 (4) : 476-477, April (1982).

- 10.- Dominguez, P.,
Muscle toxicity of polyole, IV.
Farmaco Ed. Prat., 26 (9) : 535-43, (1971) .
- 11.- Eno, N., Mc. Elhanev, N.
The effect of alterations in the fluidity and
phase state of the membrane lipids on the passive
permeation and facilitated diffusion of glycerol
in Escherichia coli.
J. Gen. Microb. 124 : 299-307 (1981).
- 12.- Fox, H. & Chrusman, C.
The ring method of measuring surface tension for
liquids of high density and low surface tension.
J. Phys. Chem., 56 (284) : 284-287, (1952).
- 13.- Freud, B. & Freud, H.
A theory of the Ring method for the
determination of surface tension.
Chem. Soc., 52 : 1977, (1950).
- 14.- Ganong, William. F.
Fisiología Médica.
Ed. El Manual Moderno, p. 566-67,
México, 1984.

- 15.- Harkins, W. y Jordan, H.
A method for the determination on Surface and
Interfacial tension from the maximum pull on a Ring.
J. Am. Chem. Soc., 52 : 1751-72, (1930).
- 16.- Hoppe, J.
Use of the Trypan Blue and Rabbit Eye test
for Irritation.
J. Am. Pharm. Ass., 39 : 147-51, (1950)
- 17.- Jones, A.
Glycerol and Propylene glycol in pharmacy.
East Pharm., 26 (302) : 55-8, (1983)
- 18.- Kobayashi, H.
Mechanism of the Inhibitory Effect of Surfactants
on Intramuscular Absorption of drugs.
Chem. Pharm. Bull. 25 (7) : 1547-54 (1977).
- 19.- Kobayashi, H.
Effect of Ethanol on the Intramuscular Absorption
of water-Soluble Drugs in the rat.
Chem. Pharm. Bull. 25 (11): 2862-9 (1977).
- 20.- Kobayashi, H.
Effect of Various Alcohols on the Intramuscular
Absorption of Isonicotinamide in the rat.
Chem. Pharm. Bull. 25 (11): 3078-80, (1977).

- 21.- Lachman, L., Lieberman, H. y Kanig, J.,
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy.
2a. edición, Ed. Lea & Febiger, 54-100,
Philadelphia, 1976.
- 22.- Lehninger, Albert.
Bioquímica, Las bases moleculares de la estructura
y función celular. 2a. edición, Ed. Omega,
309-12, España, 1982.
- 23.- Litter, Manuel.
Farmacología experimental y clínica.
6a. edición, Ed. El Ateneo, 45-55,
Argentina 1980.
- 24.- Maggio, B. & Lucy, J.
Interactions of water-soluble fusogens with
phospholipids in monolayers.
Febs. Letters 94 (2): 301-3, (1978).
- 25.- Martin, Alfred.
Principios de Fisicoquímica para Farmacia y Biología.
Ed. Alhambra, 534-585, España, 1979.
- 26.- Mc. Gregor, M. & Barnes, G.
Equilibrium penetration of monolayers.
J. Pharm. Sci. 67 : 1054, (1978).

- 27.- Martínez, M.
Irritación Provocada por los Productos Parenterales,
Estudio Fisicoquímico de la misma y su relación con
la Biodisponibilidad del fármaco. Tesis, U.N.A.M.,
Div. Est. de Posgrado. Facultad de Química, 1981.
- 28.- Martínez, M. y Gomez, A.
Irritación Provocada por Disolventes y Aditivos
utilizados en Inyectables, Vía Intradérmica.
Tesis (Gomez, A.) Fac. Química, Uap. (1976).
- 29.- Moore, W.
Physical Chemistry.
5a. edición, Ed. Longman, p. 481
Londres, 1974.
- 30.- Motomura, K., Matubayasi, N.
Thermodynamic Studies on Adsorption at Interfaces.
J. Coll. and Interf. Sci., 64 (2) : 256-361,
April (1978).
- 31.- Wakanishi, K.
Surface tension of Aqueous Solutions of Some Glycols.
J. of Chem. and Eng. Data, 16 (1) : 44, (1971).
- 32.- Saunders, L.
Fisicoquímica para estudiantes de Biología,
Farmacia y Medicina.
Ed. El Manual Moderno, p. 85, México, 1978.

- 33.- Schroeder, H. & Luca, P.
Bull. Parenter. Drug. Assoc. 22 : 1, (1974).
- 34.- Shaw, Duncan J.
Introducción a la química de superficies y coloides.
Ed. Alhambra, 2a. Edición, p. 74,
España, 1977.
- 35.- Shintani, S.
A new method to Determine the irritation of drugs
after intramuscular injection in Rabbits.
Toxicology and Applied Pharmacology, 11 : 293, (1967).
- 36.- Sydney Ross, y Chen E.
Adsorption and Thermodynamics at the Liquid-Liquid
interface. Industrial and Engineering Chemistry,
52 (7) : 40-52, July (1965).
- 37.- Waligora, B. Grabowska, A.
Adsorption of Tricyclic Compounds of Dibenzazepine
and Dibenzacycloheptadiene type on the Water-Air
Interface.
J. Pharmacol. Pharm., 25 : 207-215, (1973).
- 38.- Williams, R. & Harris, D.
The distribution of Cryoprotective Agents into
Lipid Interfaces.
Cryobiology 14 : 670-80, (1977).

- 39.- Yalkowski, Samuel, Garret, E. y Hunt, J.
In vitro Method for Detecting Precipitation
of Parenteral Formulations After Injection.
J. Pharm. Sci., 72 (9) : 1014 , Sept (1983).
- 40.- Yalkowski, S. y Rubino, J.
Solubilization by cosolvents I. Organic Solutes
in Propylene Glycol-Water Mixtures.
J. of Pharm. Sci., 74 , (4) : 416-421, April (1985)
- 41.- Zaroslinaki, J., Browne, R. y Possley, L.
Propylene Glycol as a Drug Solvent in Pharmacologic
Studies.
Toxicol. Applied. Pharmacol. 19 : 573-8, (1971).