



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

"ESTUDIO DEL EFECTO PROMOTOR DEL LAUREATO
DE SACAROSA SOBRE LA PERMEACION DE
FARMACOS A TRAVES DE LA PIEL".

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

MARINA GRISELDA TRUJILLO ROJAS

ASESOR: DRA, ADRIANA GANEM RONDERO



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES**

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS



DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
PRESENTE

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Estudio del efecto promotor del Laureato de Sacarosa sobre la
permeación de fármacos a través de la piel.

que presenta la pasante: Marina Griselda Trujillo Rojas
con número de cuenta: 9555692-1 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 29 de Octubre de 2003.

PRESIDENTE	<u>I.O. Guadalupe Franco Rodríguez</u>	
VOCAL	<u>MC. Eva Ma. Molina Trinidad</u>	
SECRETARIO	<u>Dra. Adriana Ganem Rondero</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MFC. Cecilia Hernández Barba</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFI. Guadalupe Koizumi Castro</u>	

DEDICATORIAS

A mi papá †

Decirte gracias no es suficiente por toda una vida dedicada a tus hijos, una vida en donde nos entregaste todo tu cariño y nos ayudaste a convertir los temores y desengaños en éxitos y esperanzas, una vida de superación y honestidad, que aunados a tu infinito valor ante la adversidad y a tu fortaleza son el mejor ejemplo en mi camino.

Para darme una formación profesional no importaron desvelos ni sacrificios, finalmente este trabajo representa el cumplimiento tal vez tardío de uno de tus mayores anhelos. Es solo una pequeña muestra de mi amor por todo lo que me diste. En él va la promesa de esforzarme siempre por seguir tus huellas y cada meta que logre será en tu memoria por que a pesar de tu ausencia siempre estarás en mi corazón.

A mi mamá.

A través de mi vida tú has sido para mi una madre maravillosa. De ti solo he recibido bondad, amor, comprensión, confianza, respeto y muchos bonitos recuerdos. Hoy con todo mi amor te dedico este trabajo y te doy las gracias por todo lo que me has dado.

A mis hermanas y hermanos por su cariñoso apoyo y su ayuda.

A mis amigas: Beatriz, Leticia, Angelica Hernández, Gaby, Martha y Angelica Rojas gracias por su amistad y sus palabras de aliento.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la oportunidad de vivir, por mi familia y mis amigos.

A la UNAM (FES Cuautitlán) por mi formación profesional.

Dra. Adriana Ganem Rondero le agradezco profundamente el haber aceptado ser mi asesora y el dedicarme su tiempo y experiencia, además por todas sus atenciones y el interés que ha tenido para la conclusión de esta tesis. Así también agradezco al Dr. David Quintanar Guerrero su ayuda y apoyo.

A mis sinodales: IQ. Guadalupe Franco Rodríguez, MC. Eva Molina Trinidad, MFC. Cecilia Hernández Barba, QFI. Guadalupe Koizumi Castro, y Q. Juan José Mendoza Flores por el tiempo dedicado y sus aportaciones para mejorar este trabajo.

A todos mis compañeros de laboratorio por que en muchas ocasiones aclararon mis dudas y en algunas otras con sus sugerencias y comentarios me orientaron en mi investigación gracias.

Gisela gracias por ayudarme con las muestras biológicas y por brindarme tu amistad.

INDICE GENERAL

página

ABREVIATURAS.....	i
INDICE DE FIGURAS.....	ii
INDICE DE TABLAS.....	iii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. GENERALIDADES	
2.1 La piel.....	2
2.2 Anatomía	2
2.3 Histología	3
2.3.1 Capas de la piel.....	3
2.3.2 Anexos de la piel.....	7
2.3.3 Componentes químicos.....	7
2.4 Fisiología de la piel.....	8
III. LA PIEL COMO BARRERA DE PROTECCIÓN	
3.1 Localización de la barrera.....	10
3.2 Estrato córneo como barrera de permeación.....	11
3.3 Producción del estrato córneo.....	15
IV. ASPECTOS GENERALES DE LA PERMEACIÓN	
4.1 Fundamentos de la permeación transdérmica.....	18
4.2 Absorción percutánea.....	19
4.3 Principios de la difusión.....	22
4.3.1 Ley de difusión de Fick.....	22
4.4 Métodos para estudiar la absorción percutánea.....	24
4.4.1 Estudios de permeación <i>in vitro</i>	25
4.4.2 Evaluación para estudios <i>in vitro</i>	26
V. RUTAS DE DIFUSIÓN A TRAVÉS DEL ESTRATO CÓRNEO	
5.1 Ruta transcelular.....	30
5.2 Ruta intercelular.....	31
5.3 Ruta por apéndices o anexos.....	33
VI. PROMOTORES O POTENCIADORES DE LA PERMEACIÓN	
6.1 Definición.....	35

6.2 Clasificación.....	36
6.3 Mecanismo de acción de los promotores.....	38
6.3.1 Mecanismos de acción de algunos de los promotores más estudiados e investigados.....	41
6.4 Surfactantes	
6.4.1 Características generales.....	44
6.4.2 Mecanismo de acción del Laureato de Sacarosa (surfactante no iónico).....	47
6.4.3 Mecanismo de acción del Transcutol.....	48
6.5 Técnicas para valorar el efecto de los agentes promotores.....	49
VII. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS Y PROMOTORES EMPLEADOS EN EL ESTUDIO	
7.1.Cafeína.....	50
7.2. 5-Fluorouracilo.....	51
7.3. Ibuprofeno.....	52
7.4. Transcutol.....	53
7.5. Sucroésteres (Laureato de Sacarosa).....	54
VIII.PARTE EXPERIMENTAL	
8.1 Objetivos.....	57
8.2 Material y reactivos.....	58
8.3 Metodología.....	59
IX. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	
9.1 Curvas de calibración para cada uno de los principios activos (Cafeína, 5- Fluorouracilo, Ibuprofeno) con y sin piel.....	64
9.2 Prueba de solubilidad de los tres principios activos.....	69
9.3 Cinéticas de permeación de los 3 principios activos s/prom con LS/T al 2 y 5%.....	70
9.3.1 Permeaciones de Cafeína s/prom, con LS/T 2 y 5%.....	72
9.3.2 Permeaciones de 5-Fluorouracilo s/prom, con LS/T 2 y 5%.....	73
9.3.3 Permeaciones de Ibuprofeno s/prom, con LS/T 2 y 5%.....	75
X. CONCLUSIONES.....	81
XI. PERSPECTIVAS DEL TRABAJO.....	81

XII. ANEXOS

ANEXO 1

a) Gráficas de los barridos obtenidos para Cafeína con y sin piel.....	83
b) Gráficas de los barridos obtenidos para 5-Fluorouracilo con y sin piel....	84
c) Gráficas de los barridos obtenidos para Ibuprofeno con y sin piel.....	85
d) Resultados de la regresión lineal de las curvas de calibración con y sin piel.....	86
e) Resultados de las pruebas estadísticas de las curvas de calibración de los 3 principios activos con y sin piel.....	89

ANEXO 2

a) Resultados de las permeaciones de los 3 principios activos s/prom, con LS/T al 2 y 5%.....	96
b) Evaluaciones estadísticas de las permeaciones para comparar:	
• Las cantidades de p.a acumulado en el receptor a las 8 hrs durante las permeaciones de los 3 p.a (s/prom, con LS/T al 2 y 5%).....	106
• Las cantidades de p.a retenido en la membrana al final de la permeación de los 3 p.a (s/prom. Con LS/T al 2 y 5%).....	111

XIII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	116
--------------------------------------	-----

ABREVIATURAS

A	Ångstrom
A	Area (cm ²)
ATR	Reflectancia total atenuada
Caf	Cafeína
C.V	Coefficiente de variación
C/PROM	Con promotor
CMC	Concentración micelar crítica
°C	Grados centígrados
cm³	Centímetros cúbicos
cm²	Centímetros cuadrados
Cs	Diferencia de concentración del soluto a través de la membrana.
d	Grosor efectivo de la membrana
D	Promedio del coeficiente de difusión a través de la membrana para el soluto
e	Espesor de la membrana
DMSO	Dimetilsulfóxido
DMF	Dimetilformamida
DCMS	Decilmetilsulfóxido
NMP	N-metil-2-pirrolidona
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
FTIR	Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier.
FP	Factor de promoción
HPLC	Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución
Ib	Ibuprofeno
IR	Espectroscopía de Infrarrojo
Js	Flujo del soluto en el estado de equilibrio
J	Flujo (µg/hr cm ²)
Kp	Coefficiente de permeabilidad

Kh	Gránulo de queratohialina
Km	Coeficiente de partición del soluto (piel/vehículo)
LS/T	Laureato de Sacarosa en Transcutol
Log P	Logaritmo del coeficiente de partición
µg	Microgramos
mg	Miligramos
mmHg	Milímetros de mercurio
µm	Micrómetros
nm	Nanómetros
N	Núcleo
p.a	Principio activo
rpm	Revoluciones por minuto
PG	Propilenglicol
pka	Logaritmo de la constante de áidez
SBIF	Solución buffer isotónica de fosfatos
S/P	Sin piel
s/prom	Sin promotor
TEWL	Pérdida transepidérmica de agua
t_L	Tiempo de latencia
UV	Espectroscopía ultravioleta
5-Flu	5-Fluorouracilo
λ	Longitud de onda
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación
WHO	Organización Mundial de la Salud

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1** Esquema de la piel representando las relaciones generales de sus apéndices, glándulas y capas que la forman.
- Figura 2** Estratos de la epidermis.
- Figura 3** Representación esquemática de un epitelio escamoso -estratificado - queratinizado por microscopía electrónica.
- Figura 4** Estructuras químicas de las ceramidas.
- Figura 5** Esquema de los hechos citológicos en la célula epidérmica durante el proceso de queratinización.
- Figura 6** Eventos que gobiernan la absorción percutánea.
- Figura 7** Perfil de absorción de una molécula a través de la piel humana.
- Figura 8** Celda de difusión (vertical) tipo Franz.
- Figura 9** Rutas de difusión a través del estrato córneo.
- Figura 10** Modelo estructural de las bicapas lipídicas en el espacio intercelular.
- Figura 11** Representación esquemática del modelo "Ladrillo-Mortero" del estrato córneo.
- Figura 12** Mecanismos de acción de algunos promotores ilustrando su actividad.
- Figura 13** Representación de una molécula de surfactante recalando la región hidrofóbica e hidrofílica.
- Figura 14** Estructura química de la Cafeína
- Figura 15** Estructura química del 5-Fluorouracilo
- Figura 16** Estructura química del Ibuprofeno
- Figura 17** Estructura química de los Sucroésteres
- Figura 18** Estructura química del Laureato de Sacarosa
- Figura 19** Curvas de calibración para Cafeína con y sin piel.
- Figura 20** Curvas de calibración para 5-Fluorouracilo con y sin piel
- Figura 21** Curvas de calibración para Ibuprofeno con y sin piel.
- Figura 22** Cinéticas de permeación de los 3 principios activos sin promotor.

- Figura 23** Cinéticas de permeación de Cafeína y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.
- Figura 24** Cinéticas de permeación de 5-Flu y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.
- Figura 25** Cinéticas de permeación de Ibuprofeno y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.
- Figura 26** Gráfica. Flujo Vs Formulación de principio activo (Caf, 5-Flu e Ib).
- Figura 27** Gráfica. Factor de promoción Vs Formulación de principio activo (Caf, 5-Flu e Ib).
- Figura 28** Gráfica. FP Vs Solubilidad del principio activo en SBIF pH=7.4
- Figura 29** Gráfica. Cantidad de principio activo acumulado en el compartimento receptor durante las 8 horas de permeación Vs Formulación.
- Figura 30** Gráfica. Cantidad de principio activo retenido en la membrana al final de la permeación. Extraídas durante 48 horas.

INDICE DE TABLAS

Tabla 1	Composición del estrato córneo humano.
Tabla 2	Composición lipídica del estrato córneo del cerdo y humano.
Tabla 3	Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de Cafeína.
Tabla 4	Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.
Tabla 5	Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de Ibuprofeno.
Tabla 6	Resultados de la prueba t realizada para el intercepto a todas las curvas de calibración con y sin piel.
Tabla 7	Resultados de la prueba t suponiendo varianzas iguales.
Tabla 8	Resultados de la prueba de solubilidad de los principios activos.

I. INTRODUCCIÓN

La piel, cubierta exterior que reviste todo el cuerpo es un órgano que a pesar de su extensión e importancia por la gran cantidad de funciones que desempeña y su compleja estructura todavía es mal comprendida, es por ello que en la actualidad se llevan a cabo muchas investigaciones en este campo.

Dentro de las muchas funciones de la piel está la de actuar como barrera evitando que sustancias químicas y otras sustancias nocivas penetren al cuerpo. Pero si bien, actúa como barrera, también puede servir como una vía para que penetren los medicamentos y otras sustancias con efectos terapéuticos, por lo cual deben poder franquear la barrera y así tener una acción local o llegar a circulación sistémica. A este proceso se le llama absorción percutánea, la cual puede ser estudiada por dos métodos diferentes: *in vivo* e *in vitro*. En el presente trabajo se hace uso de la técnica *in vitro*, esto con el objeto de estudiar el efecto promotor que tiene el laureato de sacarosa disuelto en Transcutol (solvente con acción promotora), sobre la acción de 3 fármacos con diferentes características de lipofilia (5-Fluorouracilo, Cafeína e Ibuprofeno).

Debido a que para la gran mayoría de las sustancias, la resistencia a la difusión a través del estrato córneo es muy elevada y representa el principal factor limitante a la absorción, es importante dilucidar la acción que tienen los promotores sobre él, ya que estos ofrecen un medio efectivo para favorecer la difusión sobre el estrato córneo.

El estudio de ésteres de sacarosa ha tenido prioridad sobre el de otras sustancias, esto debido a las características que presentan, principalmente por su baja irritabilidad y alta seguridad (no tóxicos) para ser incorporados en formulaciones tanto farmacéuticas, cosméticas y de alimentos. Y también por estudios previos hechos en el laboratorio, los cuales reportan una buena eficiencia de estas sustancias como agentes promotores de la permeación.

II.GENERALIDADES

2.1. LA PIEL

La piel es un órgano complejo dinámico, considerado uno de los más grandes y versátiles, que por su superficie recubre y protege la cara externa del cuerpo ⁽¹⁾.

Es un órgano de excepcional trascendencia biológica, anatómicamente importante, estructuralmente complejo (Figura 1), múltiple en su funcionalismo y estrechamente vinculado por sus constantes físicas y sus fenómenos vitales con la fisiología, patología general y la adaptación del organismo.

La piel no es una simple envoltura protectora del cuerpo, es una frontera activa que se interpone entre el organismo y el ambiente. Se puede decir que la piel tiene dos caras, la externa que nos separa del macrocosmos, y la interna, íntimamente unida al organismo. Está de tal modo, sujeta a agresiones, tanto del medio externo como del interno ^(2,3).

2.2. ANATOMIA

La extensión del órgano cutáneo es variable según la talla y la complexión del individuo. Un individuo de peso y estatura promedio está cubierto por 1.85 m² de piel, que pesa alrededor de 4 Kg, tiene un volumen de 4 000 cm³ y mide 2.2 mm de espesor; esto equivale a 6% del peso corporal. La piel presenta en su superficie más de 2.5 millones de orificios pilosebáceos y los llamados pliegues losángicos. Siendo el órgano más extenso y de mayor peso y volumen, recibe más o menos una tercera parte de toda la sangre que circula por el cuerpo .

La piel es lisa, continua, resistente, flexible, elástica, extensible, tersa, turgente y húmeda. Estas características varían mucho de una persona a otra y aún en la misma persona ^(2,4).

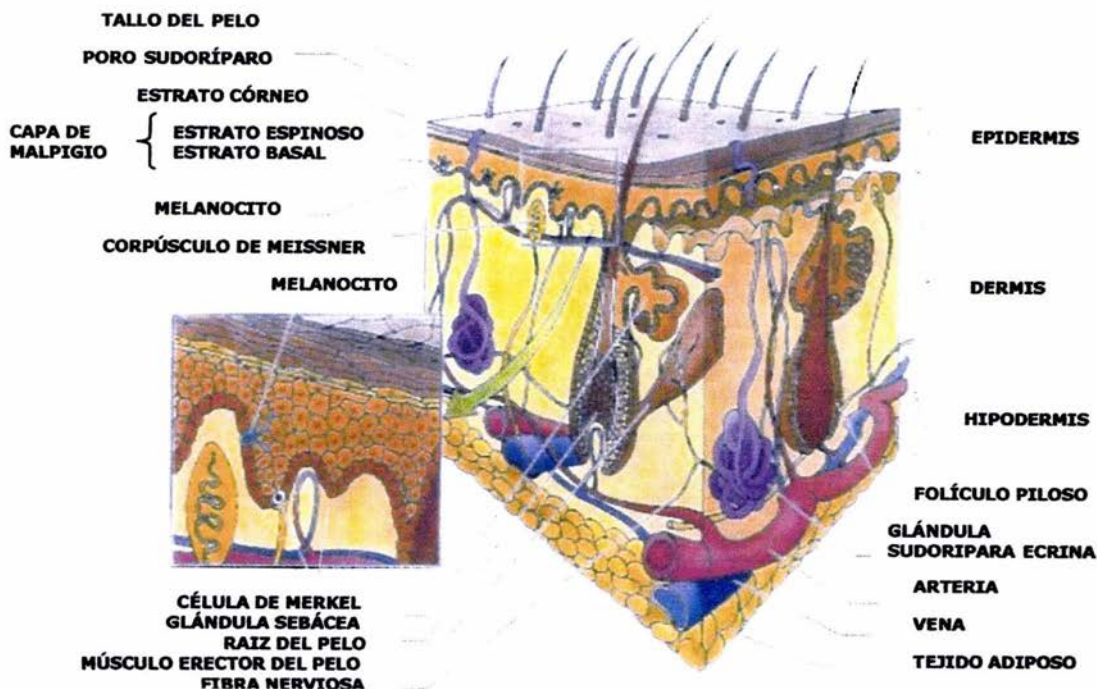


Figura 1: Esquema de la piel representando las relaciones generales de sus apéndices, glándulas y capas que la forman⁽⁶⁾.

2.3. HISTOLOGÍA

2.3.1. CAPAS DE LA PIEL

De forma general la piel humana se presenta como un órgano estratificado con 3 capas de tejidos diferentes: la epidermis, la dermis y la capa grasa subcutánea o hipodermis.

A) Epidermis: Es la capa más externa de la piel compuesta de un epitelio escamoso queratinizado estratificado. Formado por 4 tipos distintos de células: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans, y células de Merkel. Ésta a su vez se compone de cinco capas (Figura 2)^(6,7):

1. Estrato córneo. Capa más externa de la epidermis, se compone de numerosas capas de células planas cornificadas (células corneas) muertas llenas por completo de una proteína llamada queratina. El estrato córneo se compone de 20% de agua, las células aplanadas parecidas a escamas, funcionan como barrera protectora química y física, retardan la pérdida de agua desde los tejidos más profundos, minimizan la penetración de rayos UV y limitan la entrada de microorganismos, medicamentos y sustancias tóxicas del medio exterior.
2. Estrato lúcido. Situado inmediatamente abajo del estrato córneo (no se ve en la piel más delgada). Es una capa que tiene de una a cinco células de espesor, consta de células aplanadas transparentes, muertas o desvitalizadas y densamente agrupadas que por lo general han perdido su núcleo.
3. Estrato granuloso. De 2 a 5 capas de células aplanadas, rómbicas, sirve de transición dentro del estrato germinativo, los gránulos que se acumulan en las células dan a la capa su nombre. Se considera que el estrato granuloso es activo en la queratinización.
4. Estrato espinoso. Consta de varias hileras de células espinosas de forma poligonal, las células más externas tienen forma de espina. También es llamada capa de Malpighi.
5. Estrato germinativo. La capa más profunda y más importante de la piel, también llamada capa basal, se compone de una única capa de células cilíndricas o cúbicas altas. Contiene las únicas células de la piel capaces de efectuar división mitótica. En forma simultánea estas células dan origen a todas las capas externas de la epidermis. La epidermis se regenerará sólo mientras el estrato germinativo permanezca intacto.

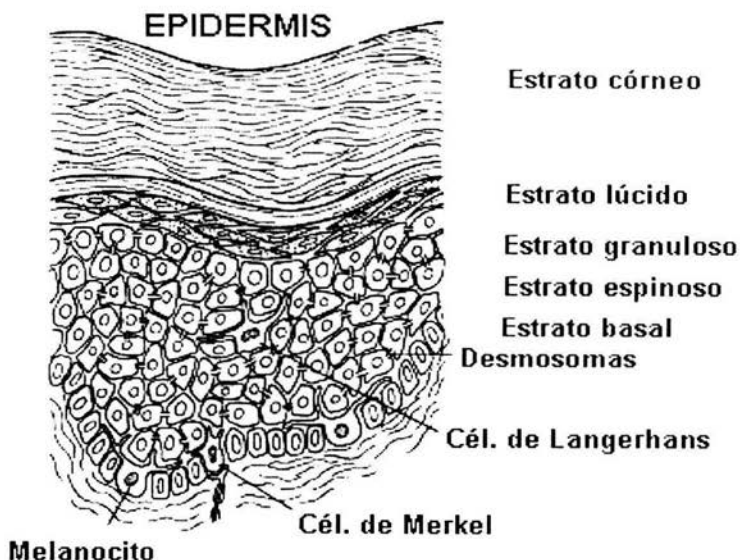


Figura 2: Estratos de la epidermis ⁽⁸⁾.

B) Dermis (Corión): Situada debajo de la epidermis, a menudo se le llama piel verdadera, se compone de tejido conectivo que contiene fibras elásticas amarillas y colágenas blancas. En esta capa se encuentran vasos sanguíneos, linfáticos, nervios, folículos pilosos y glándulas sudoríparas. Es la responsable de la resistencia mecánica de la piel y aporta el sistema nervioso y vascular.

Se divide a la dermis en dos zonas que de la superficie a la profunda son:

1. *Dermis papilar*. Corresponde a la porción más superficial de la dermis, es laxa y la presencia de vasos dentro de las papilas y la red subpapilar constituyen sus características anatomofisiológicas más importantes.
2. *Dermis reticular*. Está atravesada por vasos y nervios y se localizan en ellos las glándulas y folículos pilosos. Es el principal lecho fibroso de la dermis, consta de fibras colágenas, gruesas y entrelazadas.

C) Hipodermis: Situada bajo la dermis profunda, está constituida por células grasas o adipocitos, separados por tabiques de tejido conjuntivo que forman lóbulos. Su presencia es un importante factor de protección contra traumatismo y pérdida de calor, estéticamente da turgencia a la piel. Contiene plexos nerviosos y sanguíneos, algunos glomérulos sudorales y los folículos pilosos más profundos⁽⁴⁾.

En la Figura 3, se presenta un dibujo esquemático del aspecto al microscopio electrónico de un epitelio escamoso estratificado queratinizado.

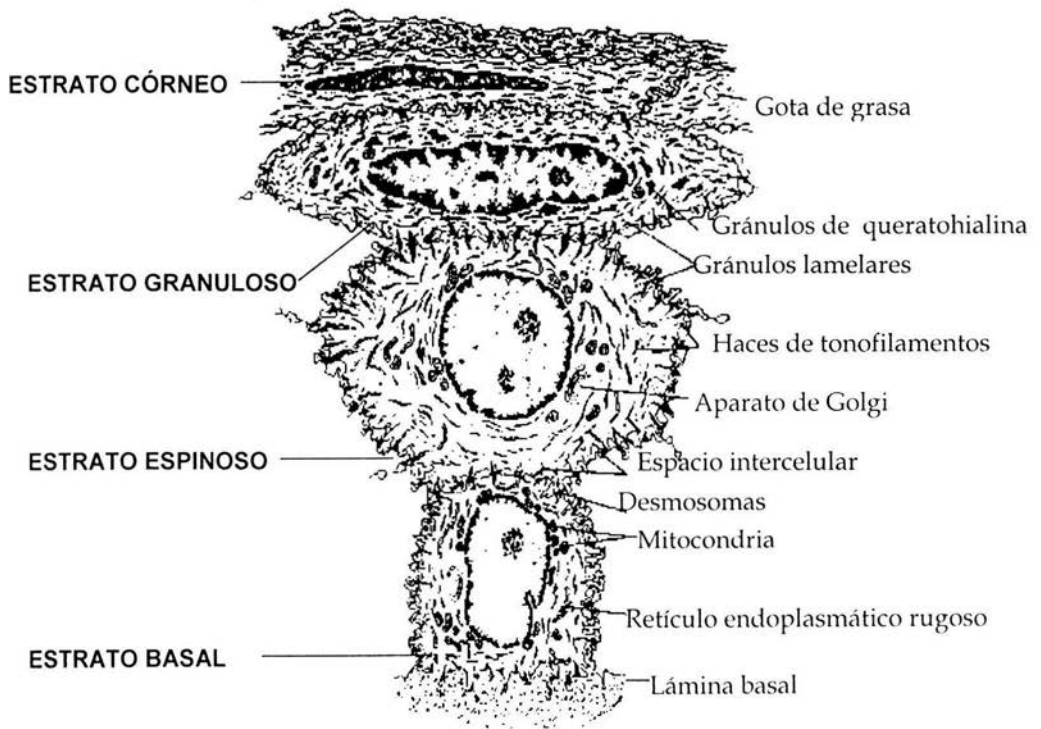


Figura 3: Representación esquemática de un epitelio escamoso estratificado queratinizado por microscopía electrónica ⁽⁷⁾.

2.3.2. ANEXOS DE LA PIEL

Consideramos como tales: a) complejo pilosebáceo, b) glándulas sudoríparas y c) uñas⁽²⁾.

- Complejo pilosébaceo. Está formado por el folículo piloso, el pelo, el músculo erector del pelo y la glándula sebácea. Los pelos son filamentos queratinizados elásticos, cubren todo el cuerpo excepto las palmas de las manos y planta de los pies. Las glándulas sebáceas están distribuidas por toda la superficie del cuerpo, son de diferentes tamaños y su secreción es holocrina.
- Glándulas Sudoríparas: Las hay de dos tipos las ecrinas y apócrinas, las primeras son las más numerosas, se abren directamente en la superficie de la piel. Se encuentran en palmas, plantas, pecho y frente. Las apócrinas son menos comunes se abren dentro del folículo piloso, están en axilas, anogenital, ombligo y pezones.
- Uñas: Se llaman uñas las láminas córneas duras, translúcidas y flexibles que ocupan la cara dorsal de la última falange de los dedos. Están formadas de queratina dura, son una modificación del estrato córneo.

2.3.3. COMPONENTES QUÍMICOS

El contenido de agua de la piel depende del estado general de cada persona o de los disturbios cutáneos, contiene de un 60 a 70 % en colocación Inter e intracelular. Los compuestos minerales se encuentran en gran cantidad en el corión. Estos mantienen la presión osmótica y la difusión, regulando así el cambio de los fluidos entre las células y los líquidos de los tejidos. También controlan el tono vasomotor y la conductividad del sistema nervioso. Están bajo la forma de sales. Los más importantes son los cloruros de sodio, potasio, calcio y magnesio. Asimismo existe azufre, fósforo, plomo, cobre, manganeso, cinc y hierro.

Los hidratos de carbono están bajo la forma de glicógeno, glucosa y glúcidos complejos. Los lípidos existen en 2 formas: Inter e intracelulares, son los menos abundantes pero los más importantes, sobre todo el colesterol libre, esterificado y los fosfolípidos. Las proteínas están constituidas por cadenas de aminoácidos (arginina, lisina, histidina, cistina, cisteína, metionina y triptófano) algunas de ellas son la queratina, melanina, albúmina, globulina, colágena, elastina, mucina, etc.

Entre las enzimas se encuentran la citocromo oxidasa, deshidrogenasa succínica, anhidrasa carbónica, fosfatasa ácida, monoaminooxidasa, aminopeptidasa, las proteinasas que sintetizan la queratina y otras más. La piel también contiene hormonas de las glándulas sexuales, así como vitaminas (riboflavina, niacina, tiamina, A, C, D) las cuales son cofactores enzimáticos ⁽²⁾.

2.4. FISIOLÓGÍA DE LA PIEL

La piel está muy lejos de ser una mera envoltura, un órgano inerte, tiene muchas e importantes funciones relacionadas con otros aparatos y sistemas. Son funciones de protección, regulación y comunicación dirigidas hacia el exterior o hacia el interior.

Las principales funciones de la piel son^(4,6):

1. Órgano de protección. La piel es una barrera que protege al individuo de las agresiones externas merced a sus cualidades, de integridad, cohesión, elasticidad. También por sus propiedades eléctricas. El manto ácido que la cubre impide el desarrollo de hongos y bacterias.
2. Órgano sensorial. Su profusa innervación la hace ser el órgano receptor de la sensibilidad por excelencia de todo tipo: tacto, dolor, temperatura, presión y por lo tanto punto de partida de reflejos que conducen también a la protección.

3. Termorregulación. De la piel parten a través de terminaciones termosensibles, reflejos rumbo al hipotálamo para el control de la temperatura. La piel responde al aumento de la temperatura ambiental con aumento de la sudoración o vasodilatación.
4. Metabolismo en general. La piel interviene en varios procesos metabólicos del organismo. Almacena agua y por lo tanto interviene en su regulación, igualmente la piel lleva acabo la regulación de electrolitos. Por la piel se elimina CO₂ y se absorbe oxígeno, pero en forma mínima se da una simple difusión de gases. También es un órgano de eliminación a través del sudor.
5. Función queratógena. Es parte de la protección al formar queratina, una proteína fibrosa formada por cadenas polipeptídicas paralelas y alargadas, de lo cual depende su extensibilidad y flexibilidad.
6. Función sebácea. El sebo, producto de las glándulas sebáceas interviene en la lubricación de la piel y formación del manto ácido.
7. Función sudorípara. Esta función está ligada a la termorregulación y al metabolismo hidrosalino.
8. Función melanógena. Reside en la formación de la melanina por parte de los melanocitos de la capa basal de la epidermis. La función de la melanina es fundamentalmente la protección de la piel y tejidos subyacentes contra las radiaciones ultravioletas.
9. Función inmunológica. La epidermis es un órgano inmunológico de primera línea puesto que contiene tres elementos básicos: las células de Langerhans (células receptoras, procesadoras y presentadoras de antígenos), queratinocitos (capaces de proliferar ante la presentación de antígeno) y el principal mediador es la interleucina 1(IL-1) (produce citocinas las cuales pueden desencadenar y ampliar la respuesta del organismo ante los antígenos).

III. LA PIEL COMO BARRERA DE PROTECCIÓN

3.1. LOCALIZACIÓN DE LA BARRERA

En 1944 fue establecido que la barrera al agua que protege a los vertebrados de la desecación, está localizada en el estrato córneo. Esto fue demostrado primero por Winsor y Burch⁽⁹⁾, luego fue corroborado por Blank⁽¹⁰⁾, concluyendo así que la barrera se localizaba en el fondo de la capa córnea .

Los primeros experimentos de extracción con solventes indican que los lípidos, especialmente lípidos polares juegan un papel importante en la barrera. Pero fue hasta que Breathnach y Colaboradores⁽¹¹⁾ aplicando la técnica de fractura por congelamiento demostraron que estos lípidos forman bicapas múltiples extensas rellenoando el espacio intercelular. Más recientemente fue demostrado que estas bicapas intercelulares están presentes en toda la capa cornea. Estas membranas intercelulares suministran la barrera al agua. Esto fue demostrado primeramente por Squier⁽¹²⁾, quien usó la peroxidasa del rábano picante como un indicador al movimiento del agua tanto en el epitelio queratinizado como en el epitelio no queratinizado, él demostró que solo penetraba en las capas más periféricas del estrato córneo, cuando era aplicada tópicamente. Cuando esta sustancia fue inyectada subepitelialmente se encontró que hay un movimiento libre hacia la epidermis viva, deteniéndose justo en el fondo del estrato córneo. Estos resultados posteriormente fueron confirmados por Elías y colaboradores⁽¹³⁾ usando sales de lactano como pequeños indicadores en densidad electrónica. Así las láminas lipídicas intercelulares van a proveer la barrera contra la pérdida de agua a través de la piel, además de limitar la penetración de agentes solubles en agua.

En 1951, se demostró que efectivamente la principal barrera a la permeación de agua se encuentra en la capa más externa de la epidermis, particularmente el estrato córneo, experimentos subsecuentes confirman este resultado y es aceptado totalmente que el estrato córneo es la barrera determinante de la velocidad en la absorción percutanea de muchos compuestos y en muchas condiciones^(14,15).

3.2. ESTRATO CÓRNEO COMO BARRERA DE PERMEACIÓN

La piel comprende diferentes capas que para facilitar su estudio se dividen en tres regiones mayores: epidermis viva, el estrato córneo, y la capa papilar de la dermis, juntas forman la barrera de la piel. Pero la resistencia mayor a la penetración y absorción en la piel para la mayoría de las sustancias es el estrato córneo⁽¹⁶⁾.

Son tres los principales componentes del estrato córneo: la queratina, la cubierta del corneocito, y las láminas intercelulares^(14,15) (Tabla 1).

A) QUERATINA

La queratina es una proteína cuya característica química más importante es la presencia del aminoácido sulfurado cisteína que da la gran resistencia a esta proteína. Pertenece a la familia de polipéptidos α -hélices con un intervalo de tamaño desde 40.000 a 70.000 daltons. Ellas son relativamente pobres en cistina y ricas en serina y glicina y contienen N-acetil-serina en la terminación amino. La queratina representa el componente principal del estrato córneo. Los agregados individuales de las moléculas de queratina forman las hélices. Esta agregación es facilitada por una proteína rica en histidina llamada filagrina que es un derivado de los gránulos de queratohialina. Los filamentos de queratina difundidos en el estrato córneo son de 7 a 10 nm de diámetro, ellos son estabilizados por la formación de puentes disulfuro y están cubiertos por una matriz amorfa de proteínas ricas en sulfuro, llenando así el espacio interior del corneocito. Ellos son probablemente los responsables del mantenimiento de la forma plana hexagonal de los corneocitos y puede contribuir a la rigidez y flexibilidad del estrato córneo.

B) CUBIERTA DEL CORNEOCITO

La envoltura proteica que cubre las células del estrato córneo presenta un diámetro aproximado de 10 nm. Los lípidos de la cubierta del corneocito

constituyen, aproximadamente un 2% del peso seco del estrato córneo y constan principalmente de N-(W-Hidroxiacil) esfingosinas. También se ha postulado que la cubierta lipídica del corneocito resiste el pasaje de agua y otras pequeñas moléculas polares dentro y fuera del corneocito, jugando un papel importante en la cohesión natural del estrato córneo y actúa como un patíbulo para la deposición de cuerpos lamelares derivados de las bicapas intercelulares. Recientemente se reportó que la membrana que cubre el corneocito contiene tres capas: una bastante delgada en su exterior, una intermedia y una capa interior con un grosor de 70-150 Å, esta capa interior fue aislada y estudiada resultando ser fundamentalmente elástica y altamente resistente a agentes químicos y solventes⁽¹⁷⁾.

C) LAMINA INTERCELULAR

La organización estructural de las bicapas lipídicas intercelulares fue postulada por Michaels⁽¹⁸⁾. Estudios hechos con microscopía electrónica y fractura por congelamiento en el estrato córneo han confirmado que los lípidos intercelulares están ordenados dentro de las bicapas. El paquete lipídico dentro de la lámina, con las cadenas hidrocarbonadas, se reflejan mutuamente y los grupos polares están disueltos en la capa acuosa. Las dos capas que forman cada unidad están unidas firmemente, posiblemente por la acción de moléculas tales como acilceramidas, las cuales actúan como fijadores moleculares. Estudios de rayos-X en el estrato córneo humano hidratado, muestran que los lípidos del estrato córneo forman una estructura de dos láminas con distancias repetidas de 65 y 134 Å. Este campo intercelular en el estrato córneo presenta un polimorfismo complejo y está compuesto por una mezcla cristalina de gel lamelar (L_{β}) y lamelas líquido cristalinas (L_{α}) en la fase lipídica. La lámina intercelular intacta está presente a todos niveles en el estrato corneo humano y su apariencia no difiere significativamente entre diferentes localizaciones anatómicas. El número de láminas intercelulares entre los corneocitos varía de lugar a lugar dentro de cada muestra de estrato córneo y en algunas regiones las láminas están ausentes,

permitiendo el contacto directo entre la envoltura lipídica del corneocito. Los lípidos que componen estas láminas no contienen fosfolípidos como en otras membranas biológicas, en su lugar ellos están compuestos en su mayoría por ceramidas (Figura 4), colesterol y ácidos grasos junto con pequeñas cantidades de sulfato de colesterol, ésteres, ceras, esteroides, triglicéridos, escualeno y n-alcános. Por la proporción relativamente alta de ceramidas en comparación con los otros componentes, se cree que estas ceramidas juegan un papel importante en la estructura lipídica y en la función de barrera^(15,19).

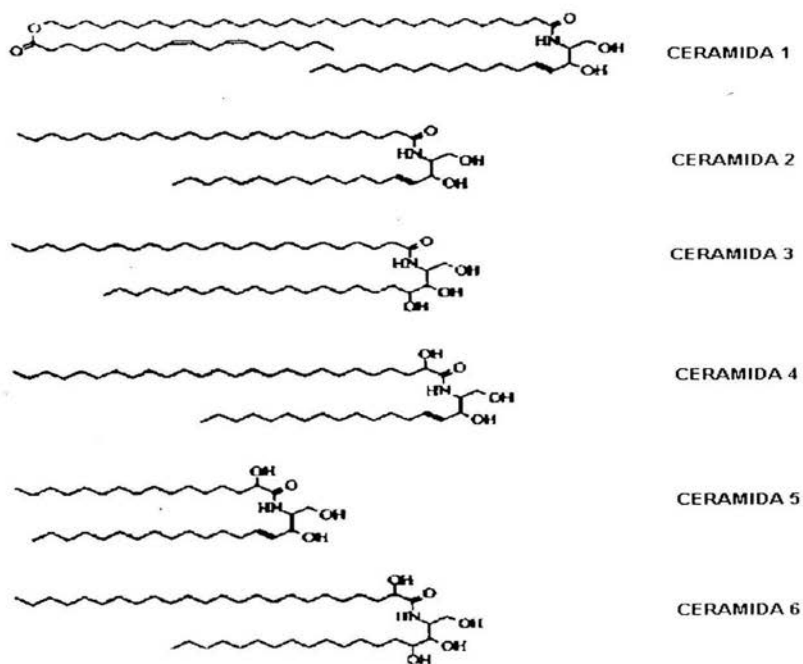


Figura 4: Estructuras químicas de las ceramidas ⁽¹⁵⁾

La forma molecular de los lípidos es poco importante para la función de la barrera, sin embargo el colesterol y los ácidos grasos son importantes puesto que la interacción entre ellos produce el ordenamiento estructural de las bicapas lipídicas que dan la impermeabilidad al estrato córneo, y así también las distintas formas de las moléculas de ceramidas previenen la separación entre estas fases lipídicas.

Tabla 1. Composición del estrato córneo humano ⁽²⁰⁾

COMPONENTES	PORCENTAJE	COMPOSICIÓN BIOQUIMICA
Membrana celular	5	Lípidos y proteínas no fibrosas
Contenido celular	85	Lípidos (20%) α-proteínas (50%) β-proteínas (20%) proteínas no fibrosas (10%)
Material intercelular	10	Lípidos y proteínas no fibrosas

Así el estrato córneo es una barrera con múltiples capas, estructura en la cual las células epidérmicas ricas en queratina (corneocito), son diferenciadas periódicamente, y están embebidas en una matriz intercelular rica en lípidos. La disposición de estos dos compartimentos es usualmente simplificada a un modelo llamado ladrillo-mortero. Los ladrillos son las células muertas aplanadas de la capa córnea llamadas corneocitos, donde su mayor componente estructural son agregados individuales de queratina ordenados como bloques filamentosos. Estas células se encuentran sobre una matriz amorfa compuesta principalmente de lípidos y proteína no fibrosa, dentro de la cual los filamentos de queratina (60-80Å) están distribuidos. Los corneocitos son poligonales, alargados y planos con un grosor de 0.2-1.5 μm y su diámetro varía desde 34 a 46 μm. El estrato córneo comprende de 15-20 capas de corneocitos y varía generalmente en el grosor desde 10-15 μm en estado seco, pero después de la hidratación, puede alcanzar

los 40 μm . Los corneocitos anucleados carecen de organelos e inclusiones, no se reconoce otra cosa que filamentos de queratina en una matriz amorfa.

En el humano el mortero es la matriz intercelular, la cual consiste en una estructura compuesta de varios grupos de lípidos (Tabla 2), este campo lipídico ha probado tener una importante capacidad al mantener la humedad del estrato córneo⁽¹⁴⁾.

Tabla 2. Composición lipídica del estrato córneo del cerdo y humano ⁽¹⁴⁾.

LIPIDOS	CERDO (% W/W)	HUMANO (% W/W)
Esteres de colesterol	1.7	10.0
Triglicéridos	2.8	0.0
Ácidos grasos	13.1	9.1
Colesterol	26.0	26.9
Ceramida 1	4.1	3.2
Ceramida 2	16.7	8.9
Ceramida 3	6.9	4.9
Ceramida 4	4.4	6.1
Ceramida 5	4.5	5.7
Ceramida 6	7.6	12.3
Glucosilceramidas	1.0	0.0
Sulfatos de colesterol	3.9	1.9
otros	5.7	11.1

3.3. PRODUCCIÓN DEL ESTRATO CÓRNEO

El estrato córneo es eliminado normalmente a una velocidad constante, correspondiente a la que se requiere para que las células se formen a partir de la parte viva más profunda del epitelio. Por ello las capas epidérmicas características son expresión de un proceso dinámico, la queratinización, proceso específico de diferenciación en el que se producen hechos morfológicos y bioquímicos en las células durante su desplazamiento simultáneo hacia la superficie (Figura 5).

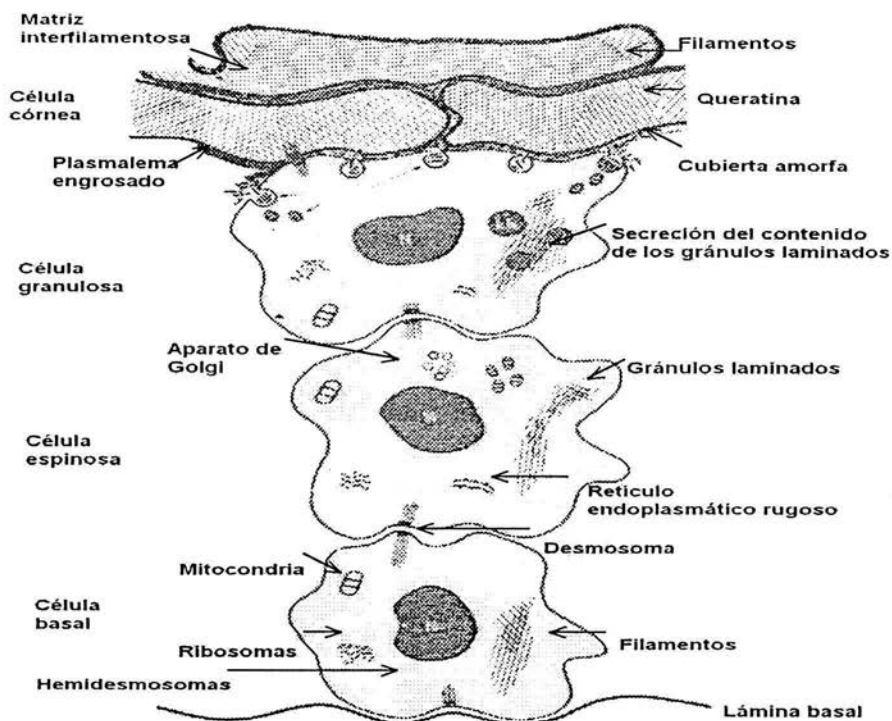


Figura 5: Esquema de los hechos citológicos en la célula epidérmica durante el proceso de queratinización. N, núcleo; Kh, gránulo de queratohialina ⁽⁷⁾.

La diferenciación es decir el proceso de queratinización, se compone de una fase de síntesis y un estadio de degradación. En la fase de síntesis las células producen gran cantidad de filamentos, gránulos queratohialinos y gránulos laminados, compuestos fundamentalmente por proteínas. El contenido de los gránulos laminados es secretado al espacio intercelular y se deposita como una cubierta amorfa en la parte exterior del grueso plasmalema de las células córneas. Luego las enzimas lisosomales degradan el núcleo, las mitocondrias, el retículo endoplasmático, el aparato de Golgi y los ribosomas, pero no los filamentos ni la parte queratohialina. Los componentes celulares degradados y grandes

cantidades de agua se pierden al espacio intercelular con un aplanamiento simultáneo de las células. Estas contienen por último, filamentos y masas queratohialinas rodeadas por una membrana celular engrosada. Los filamentos y la matriz interfilamentosa amorfa se componen de proteínas casi insolubles, ricas en azufre, y queratina es la denominación para este complejo de proteínas azufradas, que confieren a la capa córnea sus propiedades. Desde el punto de vista químico las membranas celulares engrosadas, que contienen proteínas azufradas son más resistentes. Debido a que estas membranas están en contacto directo con el medio y además rodean los demás componentes, son de importancia fundamental para todo el tejido.

El último paso de la diferenciación es llamado cornificación, el cual comprende 4 eventos celulares. Este proceso incluye la queratinización, la síntesis de las principales proteínas fibrosas del queratinocito; declaración de la queratohialina asociada con la síntesis de proteínas ricas en histidina, proteína básica del estrato córneo; formación de la cubierta periférica altamente insoluble enlazada a través del corneocito la cual está compuesta de 2 ó más proteínas precursoras; y la generación de campos intercelulares enriquecidos con lípidos neutros, resultado de la secreción de cuerpos lamelares con distintas estructuras (gránulos membranosos, cuerpos de Odland, queratinosomas, cementosomas). En la terminación de la diferenciación, los fosfolípidos son completamente catabolizados y las unidades de azúcares son removidas de las glucosilceramidas. Como resultado los lípidos principales presentes en el estrato córneo son las ceramidas, colesterol, ácidos grasos, esteroides y sulfato de colesterol.

Así el estrato córneo parece desarrollar un citoesqueleto con una estructura rígida para la célula cornificada, un patíbulo para la inserción de los filamentos de queratina y una barrera altamente resistente al ataque de químicos y sustancias externas^(7,14).

IV. ASPECTOS GENERALES DE LA PERMEACIÓN

4.1. FUNDAMENTOS DE LA ABSORCIÓN A TRAVÉS DE LA PIEL

Fue hasta el siglo XIX, cuando la piel fue considerada en la literatura científica como una barrera impermeable a todo, excepto posiblemente a gases. Pero a comienzos del siglo XX suficientes investigaciones sistemáticas llevaron a la conclusión de que las sustancias solubles en lípidos tenían una permeabilidad en la piel comparativamente más grande que las sustancias solubles en agua tales como electrolitos.

A mediados de 1853 se reconoció que las diferentes capas de la piel no son igualmente permeables, siendo la epidermis mucho menos permeable que la dermis. La aceptación de que el estrato córneo es la barrera a la permeación en la piel no fue inmediata y para los años 50's este concepto fue el foco de atención en muchos debates científicos. Estudios de permeación de agua aislando la epidermis y el estrato córneo llevados a cabo en 1951 eliminaron razonablemente todas las dudas. La mejor evidencia de que el estrato córneo es esencialmente una barrera a la permeación llega con estudios hechos en investigaciones isotópicas.

Así pues, se encontró que la epidermis está constituida por una doble barrera: una barrera específica identificada con la capa córnea o con uno de sus elementos y es la causa de la gran impermeabilidad en la piel, y una barrera subyacente, menos eficaz formada por la epidermis viva cuya permeabilidad es parecida a la de otras membranas biológicas. Sin embargo, si el estrato córneo es dañado o si son usados fármacos extremadamente lipofílicos, la epidermis viva puede actuar como un factor limitante de la velocidad en la absorción percutánea⁽²⁰⁾.

4.2. ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

La absorción percutánea es el proceso por el cual una sustancia pasa por la superficie de la piel a su sitio de acción o a la circulación sistémica y se puede explicar como la suma de dos fenómenos; 1) Su penetración desde el medio exterior hasta el seno de la piel entera y 2) Su absorción a través de las estructuras cutáneas por la circulación sanguínea o linfática. La sustancia absorbida puede ser un fármaco, un químico con fines terapéuticos o algún material extraño nocivo que entra en contacto con la piel .

El término percutánea indica que el paso se realiza a través de toda la epidermis y que la absorción puede tener lugar en los distintos niveles de la dermis, ya que el sistema intercelular linfático de la epidermis y la riqueza capilar de la dermis la comunican con el medio interno. Como consecuencia de ello las sustancias que puedan absorberse por esta vía difundirán por todo el organismo con una acción general^(1,21).

La secuencia de pasos en serie que sigue la absorción percutánea son⁽²²⁾ (Figura 6):

- Difusión o transporte del penetrante en la superficie de la piel
- Partición química dentro del estrato córneo
- Difusión a través de los lípidos intercelulares del estrato córneo
- Partición química del estrato córneo lipofílico hacia la epidermis viva acuosa.
- Difusión a través de la epidermis viva y epidermis superior
- Canal de penetración dentro de vasos sanguíneos cutáneos y entrada a circulación sistémica.

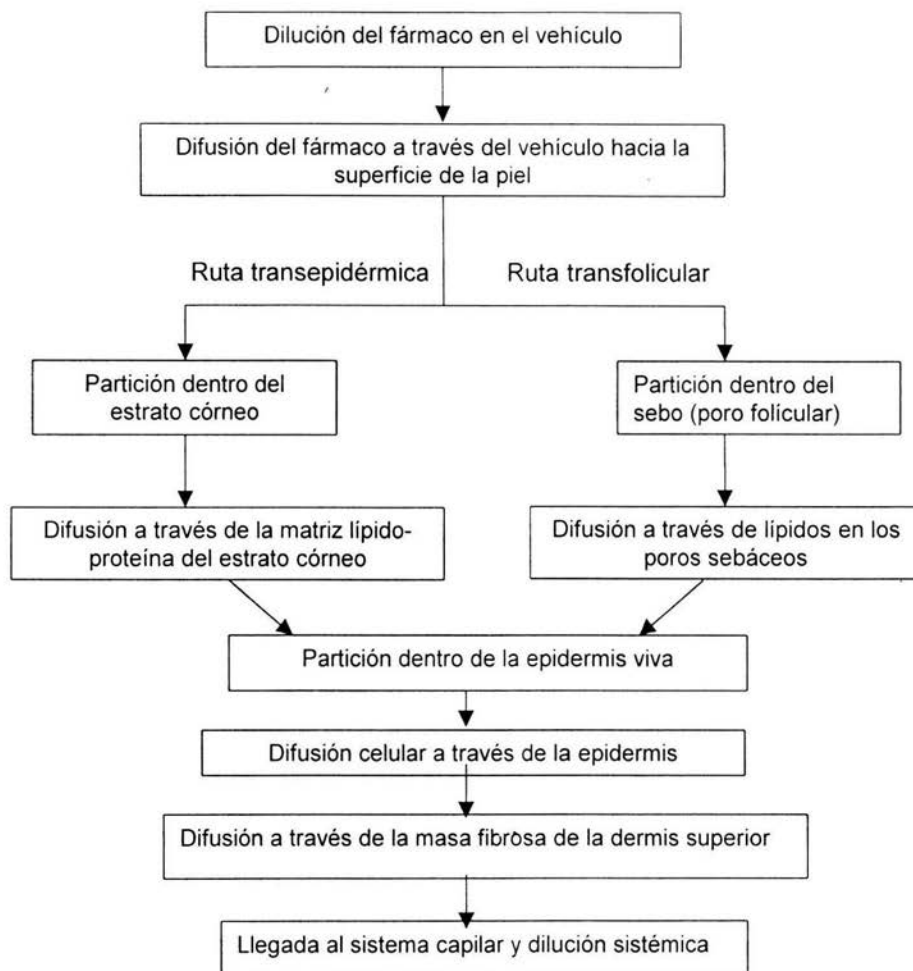


Figura 6: Eventos que gobiernan la absorción percutánea⁽¹⁷⁾.

El proceso de absorción percutánea puede describirse de la siguiente manera: Cuando el sistema farmacológico es aplicado tópicamente el fármaco difunde pasivamente transportado por el vehículo, y dependiendo en donde se localicen las moléculas, estas pueden encontrarse en el estrato córneo o bien en los ductos llenos de sebo de las glándulas pilosebáceas. La difusión hacia capas internas continúa desde estos sitios hacia la epidermis viva y los puntos de entrada de la

dermis. De manera que se establece un gradiente de concentración a través de la piel, hasta que se alcanza la microcirculación donde el fármaco es retirado por el flujo capilar y distribuido rápidamente por todo el cuerpo⁽¹⁷⁾.

Así la absorción percutánea está relacionada con la transferencia del principio activo desde la superficie de la piel a través del estrato córneo, bajo la influencia de un gradiente de concentración y su consecuente difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación. La penetración molecular a través de diferentes regiones de la piel está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas.

La absorción percutánea de los fármacos depende principalmente de sus características fisicoquímicas: constante de difusión, solubilidad, coeficiente de partición, y concentración del principio activo. Además también existen factores fisiológicos que pueden modificar la absorción, como el flujo sanguíneo, estado y edad de la piel, lugar de aplicación, hidratación y temperatura. Por lo tanto las sustancias difusibles de bajo peso molecular y lipófilas, pueden penetrar rápidamente en la capa córnea y en los lípidos contenidos en las glándulas sebáceas. La absorción se realiza a estos niveles con una intensidad que depende de la superficie relativa de estas dos estructuras. Las sustancias poco difusibles penetran más rápidamente a través del sebo que a través de la capa cornea. Al principio la vía transfolicular es mayoritaria, pero cuando se establece un gradiente de difusión en el estrato córneo, predomina la vía transepidérmica, o sea la que conduce a través de las células queratinizadas y de los estratos de pasaje hasta las células vivas. En ella se lleva a cabo una secuencia de particiones y difusiones en el estrato córneo, epidermis viva y capa papilar de la dermis^(15,17).

Como sabemos para la gran mayoría de los productos, la resistencia a la difusión a través del estrato córneo es muy elevada y representa el factor limitante de la absorción percutánea. Sin embargo la liberación de una molécula en la superficie de la piel depende además de los factores ya mencionados de una serie

de variables las cuales pueden ser controladas. Algunas de ellas pueden afectar el resultado final⁽²²⁾. Se pueden mencionar:

- Temperatura
- Grosor de la piel
- Presencia de microorganismos endógenos
- Vehículos en la formulación
- Diseño del compartimento donador y receptor (si se realizan estudios *in vitro*).

4.3. PRINCIPIOS DE LA DIFUSIÓN

4.3.1. LEY DE DIFUSIÓN DE FICK

Para establecer un modelo matemático es necesario considerar la fisiología de la epidermis y asociarla con los posibles pasos determinantes de la velocidad en los procesos de permeación. Desde los primeros trabajos cuantitativos de Threherne⁽²³⁾ ha sido demostrado que la mayoría de las moléculas se absorben a través de la piel por difusión pasiva, por lo tanto es posible aplicar la primera ley de difusión de Fick.

Para la determinación del flujo (cantidad de sustancia absorbida por unidad de tiempo) en estado de equilibrio y del coeficiente de permeabilidad, se utiliza la fórmula integrada de la primera ley de Fick^(17,24):

$$J_s = K_m \cdot D \cdot C_s / d \dots \dots \dots (1)$$

Donde:

J_s : Flujo del soluto en el estado de equilibrio

K_m : Coeficiente de partición del soluto (piel/vehículo)

C_s : Diferencia de concentración del soluto a través de la membrana

D: Promedio del coeficiente de difusión a través de la membrana para el soluto
d: Grosor efectivo de la membrana.

La velocidad de absorción a través del tegumento no es constante desde el inicio puesto que siempre se observa un periodo de latencia. Este periodo de latencia (Figura 7) representa el tiempo necesario para la penetración de la sustancia en el interior de las estructuras córneas y para el establecimiento de un gradiente de difusión uniforme que precede a la aparición del principio activo a velocidad constante en el medio receptor, este tiempo es variable de un compuesto a otro. El periodo de latencia se determina por extrapolación de la parte lineal de la curva sobre el eje de las abscisas (Tiempo).

La ecuación clásica que describe los procesos de transporte estacionarios de un soluto a través de una membrana homogénea en el periodo inicial es la siguiente⁽²¹⁾:

$$t_L = e^2/6D.....(2)$$

Donde:

t_L =Periodo de latencia.

e = Espesor de la membrana.

D = Constante de difusión de la molécula en las estructuras cutáneas.

La constante de permeabilidad (K_p) de una sustancia que difunde a través de todos los estratos de la piel es la resultante de varias constantes K_c , K_e , K_d que son las constantes de permeabilidad de la capa córnea, la epidermis de Malpighi y la dermis respectivamente. Esta constante caracteriza el poder de penetración de una sustancia a través de la membrana.

$$K_p = K_m * D/d.....(3)$$

Donde:

Kp: Coeficiente de permeabilidad

Km: coeficiente de partición del soluto (piel /vehículo)

D: promedio del coeficiente de difusión a través de la membrana para el soluto.

d: grosor de la membrana.

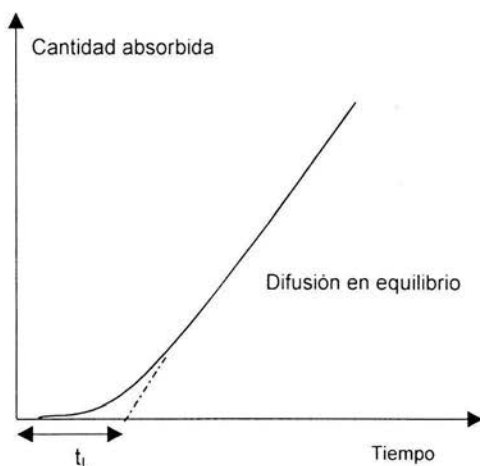


Figura 7: Perfil de absorción de una molécula a través de la piel humana⁽²¹⁾.

4.4. MÉTODOS PARA ESTUDIAR LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

Los dos medios básicos para cuantificar la absorción percutánea son el método de celdas de difusión *in vitro* y la determinación directa *in vivo*. La técnica *in vitro* es fácil de utilizar y proporciona resultados rápidos. Otros métodos para estimar la absorción percutánea son: radiografía y estudios de fluorescencia pero son más cualitativos que cuantitativos⁽¹⁾.

4.4.1. ESTUDIOS DE PERMEACIÓN IN VITRO

Los métodos *in vitro* son ampliamente usados para estudiar la absorción de compuestos que entran en contacto con la piel. La velocidad de liberación a partir del vehículo como la permeación en piel pueden ser estudiados bajo dos aspectos principales: la absorción sistémica y la localización de la sustancia en las estructuras cutáneas con la ayuda de los métodos *in vitro* e *in vivo* que permitan apreciar los modos de penetración, determinar las constantes de permeabilidad y comparar la eficiencia de diversos excipientes.

Los estudios *in vitro* pueden también ser usados para la medición del metabolismo de la piel, esto siempre y cuando sea obtenida la piel viva para el estudio y la viabilidad sea mantenida en las celdas de difusión, ya que el sistema *in vitro* por el aislamiento de la piel permite que el metabolismo del órgano cutáneo pueda ser distinguido del metabolismo sistémico.

El objetivo de una experimentación *in vitro* es comprender y/o predecir la liberación y penetración de una molécula desde la superficie de la piel hacia dentro del cuerpo de un animal vivo, y reproducir *in vitro*, un experimento diseñado para predecir exactamente la penetración de la molécula dentro del cuerpo humano.

Para el investigador el estudio experimental se describe en 3 etapas principales:

1. Liberación de la molécula en la superficie de la piel
2. Pasaje de la molécula a través de la piel
3. Liberación de la molécula dentro del cuerpo *in vivo*.

Así estos experimentos suministran una herramienta valiosa sirviendo de guía tanto para la liberación de fármacos transdérmicos *in vivo* como para las pruebas

de toxicidad y de compuestos dañinos. También pueden considerarse como buenos predictores para la absorción, siempre y cuando haya una buena correlación con los resultados *in vivo*.

En un futuro puede ser posible dispensar con experimentos *in vitro* y haciendo simulación por computadora. Sin embargo requiere de un buen conocimiento casi exacto de la velocidad de penetración del fármaco y cómo interactúa éste a nivel molecular con los componentes de la piel, también puede ser necesario una predicción de cómo actúan contra la barrera tanto el fármaco como los excipientes^(14,24).

4.4.2. EVALUACIÓN PARA ESTUDIOS IN VITRO

Las evaluaciones analizadas en los estudios *in vitro* deben ser seguras sobre todo en químicos que son tóxicos. Además los datos obtenidos de animales deben ser usados cautelosamente para la estimación de la absorción humana, esto debido a las diferencias en cuanto a las propiedades de barrera de la piel de los animales y humana⁽¹⁵⁾.

Las consideraciones importantes que se deben tomar en cuenta para estudios de absorción *in vitro* son las siguientes^(14,15,25):

- Tipo de celdas de difusión
- Origen de la piel
- Viabilidad de la piel
- Preparación de la piel
- Fluido receptor
- Recuperación del fármaco

CELDAS DE DIFUSIÓN

Generalmente los protocolos *in vitro* permiten el uso tanto de celdas de difusión estáticas o de flujo continuo, pero únicamente las celdas de flujo continuo permiten mantener la viabilidad de la piel, ya que suministran un reemplazo continuo del medio nutriente necesario para mantener las condiciones fisiológicas. Las celdas de difusión pueden ser fabricadas con un material que sea resistente e inerte al material en prueba, como el vidrio o teflón, y pueden ser diseñadas horizontal o verticalmente.

En la mayoría de publicaciones de estudios de transporte, particularmente para estudios de la permeación en piel se reporta el uso de celdas de difusión tipo-Franz (Figura 8). Estas consisten en 2 compartimentos donde la membrana en estudio es sujeta entre la cámara donadora y receptora⁽²⁶⁾.

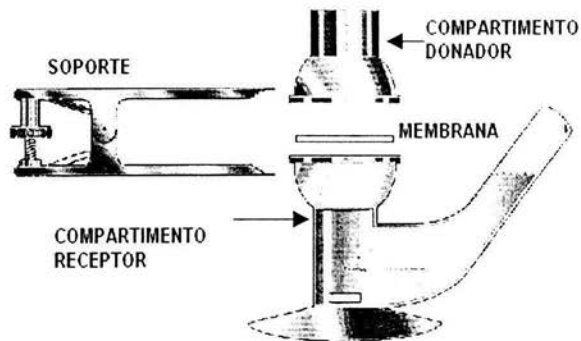


Figura 8: Celda de difusión (vertical) tipo Franz.

FUENTE U ORIGEN DE LA PIEL

La piel humana es generalmente recomendada sobre la piel de animal por obtener datos relevantes. Cuando la piel de humano no puede ser obtenida, la piel de animales es usada para estudios de absorción, permeación transdérmica y metabolismo cutáneo. La piel de animal es más permeable que la del humano. De

esta manera su uso resulta como una estimación moderada para una evaluación segura en la penetración de la piel humana. Para minimizar la variabilidad existente entre el origen de la piel se ha designado usar un máximo de 3 pieles con diferentes orígenes.

La inmensa mayoría de los experimentos son llevados a cabo con pieles de animales, en particular ratones lampiños, conejos y algunas partes del cerdo. En cualquier caso, siempre es preferible usar animales lampiños. Una tercera alternativa es usar membranas artificiales, que simulen las propiedades de la barrera de piel. Aunque la elección de la membrana es dictada por las propiedades fisicoquímicas de la permeación y fármacos a usar. En cualquier caso, los estudios de liberación transdérmica buscan encontrar una buena predicción de la correlación media entre la penetración de moléculas en la piel de los animales y la humana.

VIABILIDAD DE LA PIEL

La viabilidad de la piel es un factor muy importante en los estudios *in vitro*, puesto que al mantener la piel que es sometida al estudio bajo condiciones iguales a la de una piel viva, ésta simula las condiciones *in vivo* más acertadamente. El metabolismo de la piel puede también ser medido cuando es usada la piel viva en estudios de absorción. Hay que tomar en cuenta que la piel es capaz de llevar a cabo biotransformaciones que pueden activar o desactivar el compuesto absorbido⁽¹⁵⁾. La viabilidad de la piel puede ser medida convenientemente por el uso de glucosa en piel, por medición del lactato que aparece en el fluido receptor y esta puede ser evaluada durante todo el experimento⁽²⁷⁾.

PREPARACIÓN DE LA PIEL

Para los experimentos *in vitro* la membrana puede ser usada completa si el fármaco no tiene una naturaleza muy lipofílica. Para membranas más gruesas, que pueden presentar más dificultades, puesto que pueden encerrar el fármaco en sus diferentes componentes o en los tejidos, entonces puede ser usado un

dermatoma, cortando la membrana a un grosor aproximado de 200 μm . El uso de membranas con su espesor total debe ser justificado. Una sección obtenida con un dermatoma contiene la epidermis y la capa superior de la dermis papilar (200 μm), así más cercanamente simulan las capas de barrera de la piel. Aunque muchos de los experimentos *in vitro* difieren en las técnicas usadas para obtener la piel, lo importante de esta parte es la necesidad de contar con un estrato corneo intacto, puesto que es la barrera principal para la permeación.

Las técnicas usadas comúnmente para obtener las membranas son: separación en caliente, separación química y física. La preparación de una capa epidérmica por separación de la epidermis y dermis usando calentamiento es efectiva para quitar el vello de la piel pero destruye la viabilidad de esta.

Otro punto importante que debe de mencionarse son los métodos de almacenamiento de la piel. Usualmente existen dos, en frío ó por congelación. Aquí la velocidad de congelamiento es importante pero aún más importante es la velocidad de descongelamiento puesto que ésta no debe ser brusca, ya que se llega a dañar la estructura de la piel.

La piel tanto humana como de animales puede ser usada tan pronto como sea posible, obviamente fresca es mejor, sin embargo algunos estudios reportan que la piel congelada cambia las características de permeabilidad, aunque hay también numerosos estudios que constatan que la piel puede ser almacenada congelada sin que cambie sus propiedades de barrera.

FLUIDO RECEPTOR

Un buffer fisiológico es necesario para mantener la viabilidad de la piel por lo menos 24 horas. Algunos protocolos usan agentes solubilizantes en el fluido receptor de tal manera que la absorción por piel puede ser más fácilmente determinada por simple muestreo del fluido receptor. Sin embargo es necesario medir la habilidad del agente solubilizante, para que este sea el adecuado y no dañe las propiedades de barrera de la piel.

V. RUTAS DE DIFUSIÓN A TRAVÉS DEL ESTRATO CÓRNEO

En un principio son 3 las rutas para la difusión por el estrato córneo: a través de la matriz lipídica, a través del corneocito y difusión pilosébaea a lo largo de los poros sudorales y folículos pilosos (Figura 9). Estas rutas se definen como^(22,28):

1. Ruta transcelular
2. Ruta intercelular
3. Ruta por apéndices ó anexos.

SUPERFICIE DE LA PIEL

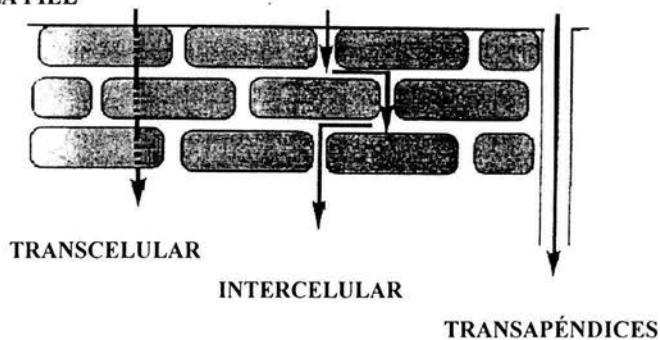


Figura 9: Rutas de difusión a través del estrato córneo ⁽²⁹⁾.

5.1. RUTA TRANSCELULAR

La ruta transcelular (a través de las células) es considerada polar debido a que soporta preferentemente el flujo de sustancias polares. Se cree que esta ruta puede ser a través de la matriz proteica intracelular atravesando la envoltura lipídica de las fibrillas por donde puede haber una interacción entre estas sustancias y las proteínas alterando la conformación de las hélices de queratina⁽²²⁾. Así se asume que las sustancias hidrosolubles atraviesan el estrato

córneo difundiendo dentro de la región acuosa localizada cerca o sobre la superficie de los filamentos de queratina. Como el material proteico intracelular es discontinuo, esta ruta requiere tanto del pasaje a través de las proteínas celulares como del lípido intercelular⁽²⁴⁾. Así se requiere de múltiples pasos de partición entre el corneocito y los lípidos intercelulares⁽²⁵⁾. De esta manera la queratina intracelular forma una estructura matricial filamentosa y presenta un mosaico con regiones polares y no polares, esta separación de regiones lipídicas y polares suministran caminos paralelos para la difusión y puesto que la partición dentro de ambas regiones es dividida, la difusión es independiente. Parece ser que la permeabilidad por esta ruta es baja debido a que la queratina en la diferenciación celular es completamente fibrosa y particularmente menos cristalina, la cual se encuentra entrelazada dentro de una envoltura compacta, cuya densidad del medio y la cristalinidad evitan un alto grado de solubilidad de las moléculas dentro de la matriz intracelular del corneocito⁽²⁹⁾.

5.2. RUTA INTERCELULAR

La otra ruta propuesta es a través de los lípidos intercelulares. También es llamada ruta no polar. Se determinó que el espacio intercelular en el estrato córneo comprende una porción minúscula en el volumen total del estrato córneo (máximo de un 5% en el tejido seco y menos del 5% en el tejido hidratado).

Aunque el volumen intercelular es pequeño, este suministra una importante ruta en teoría, puesto que el coeficiente de difusión por esta vía es bastante grande. Esta situación es comparada con la ruta por apéndices en el estrato córneo intacto donde el volumen fraccionario disponible es por lo menos 10 veces menor que el volumen fraccionario intercelular y aún así esta difusión puede ser significativa.

Como la fase intercelular es continua a través de la matriz de queratina esta ruta requiere sólo el paso a través de lípidos intercelulares⁽²⁴⁾. Aunque el medio

lipídico intercelular y el medio proteico intracelular puede formar rutas paralelas para la penetración, los promotores químicos se cree actúan principalmente en el espacio intercelular del estrato córneo, el cual es la principal ruta de difusión para compuestos lipofílicos. De acuerdo a varios estudios parece ser que para muchos compuestos la ruta intercelular predomina, de esta manera es considerada la ruta de transporte más probable.

De igual manera estudios realizados por espectroscopía de infrarrojo (IR), difracción de rayos-x y calorimetría diferencial de barrido indican que el camino lipídico intercelular suministra la primera barrera a la difusión pasiva de agua y moléculas liposolubles a través del estrato córneo⁽³⁰⁾.

Investigaciones con técnicas modernas han mostrado que muchos promotores pueden actuar vía una destrucción, alteración o interrupción en el orden estructural de la región lipídica intercelular del estrato córneo seguida por la inserción del promotor dentro de la estructura de la bicapa. Se cree que la presencia de estas sustancias químicas dentro de las bicapas lipídicas altera generalmente las ceramidas, esteroides, triglicéridos, ácidos grasos, y glicosfingolípidos. El parámetro fundamental aquí parece ser primeramente la viscosidad, el ordenamiento y la estructura lipídica de la bicapa (Figura 10).

La viscosidad de la capa es relativamente alta, algo así como gel la cual es reducida por la incorporación de promotores con cadenas alquílicas largas entre las moléculas lipídicas. Investigaciones posteriores hacen pensar que en algunos casos la asociación de la molécula del promotor puede formar campos separados dentro de la estructura de la bicapa, por lo cual se puede incrementar el flujo de fármacos en la membrana^(30,31).

De acuerdo a varios estudios también se ha observado que el agua incrementa la fluidez de los lípidos, aumentando así la permeación.

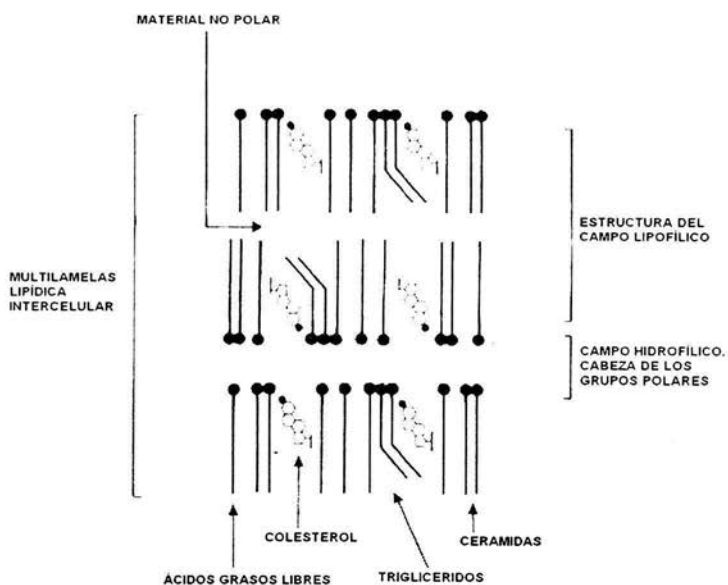


Figura 10: Modelo estructural de las bicapas lipídicas en el espacio intercelular ⁽²²⁾.

5.3. RUTA POR APÉNDICES O ANEXOS

En el humano el transporte por apéndices ó anexos el cual está relacionado con la magnitud de su superficie respecto a la de la epidermis no ha sido comprobada totalmente. Sin embargo se sabe que la difusión a través de folículos y conductos puede ser muy significativa durante la fase inicial antes de que la permeación se encuentre en un estado estable. El área difusional disponible de esta ruta es aproximadamente 0.1% del área total de la piel. A pesar de su pequeña área fraccional, los apéndices de la piel pueden suministrar la principal puerta de entrada dentro de las capas subepidérmicas de la piel para iones y moléculas polares.

Se argumenta que para no electrolitos pequeños, la ruta trans-apéndices es dominante únicamente en la fase transitoria (en un estado no estable) durante la absorción percutanea. En estado estable contribuye en el transporte de esteroides polares y no polares menos del 10%. Las conclusiones en cuanto a esta ruta no están todavía cerradas y se requiere de futuras investigaciones, ya que para determinar el papel que juegan estas estructuras es complicado por la falta de modelos animales adecuados y metodologías que puedan distinguir claramente el camino folicular y el del estrato córneo^(15,27).

Un modelo simple para examinar los efectos de los promotores en piel es considerar a la barrera constituida por dos caminos o rutas paralelas⁽²⁵⁾.

A) El camino polar puede ser a través de las proteínas hidratadas. Debido a que las proteínas son sensibles totalmente a cambios conformacionales inducidos por surfactantes, calor, etc. La acción que puedan ejercer los promotores estará relacionada con este tipo de efectos y sus propiedades fisicoquímicas.

B) Por el camino no polar el transporte es a través de los lípidos intercelulares. Esta ruta parece ser la más común para la mayoría de las sustancias. Este concepto es totalmente razonable cuando consideramos el proceso de difusión en un medio continuo. Definitivamente los promotores que alteren el orden de la bicapa lipídica o bien extraigan los lípidos, aumentarán el paso de sustancias por esta vía.

VI. PROMOTORES O POTENCIADORES DE LA PERMEACIÓN.

6.1. DEFINICIÓN

El problema principal encontrado en muchos de los estudios sobre la permeación de fármacos es la baja permeabilidad que estos presentan en la piel humana, más específicamente en el estrato córneo. Este problema puede ser reducido al incluir en la formulación un químico o químicos los cuales disminuyan las propiedades de barrera de la piel, permitiendo así la penetración de más fármaco dentro del tejido vivo y en la circulación sistémica⁽³²⁾.

Así las sustancias no tóxicas con las cuales disminuye temporalmente la impermeabilidad de la piel, son usadas en dermatología para aumentar la velocidad y penetración de fármacos. Nos referimos a estas sustancias como acelerantes de penetración tópica de fármacos, promotores de absorción ó potenciadores de la permeación. La definición también implica que el modo de acción es por un cambio reversible en la barrera específica y en las propiedades de la piel, además de que también aumenten significativamente la penetración de fármacos, pero sin irritar o dañar severamente la piel.

Este tipo de materiales presenta un incremento de la permeabilidad por reducción de la resistencia difusional en el estrato córneo, por daño reversible a este, o por alteración en su naturaleza fisicoquímica, con lo cual promueven la difusión del fármaco a través del estrato córneo y epidermis^(33,34).

Las propiedades ideales que debe tener un promotor son las siguientes:

1. Este debe ser farmacológicamente inerte
2. No debe ser tóxico, irritante o alergénico
3. Su acción debe ser reversible, y tener un tiempo de duración predecible

4. Tener un alto grado de potencia con actividad específica
5. Debe ser química y físicamente estable
6. Debe ser incoloro, inodoro e insípido
7. Debe ser un excelente solvente para el fármaco
8. Debe ser compatible con una gran variedad de fármacos y excipientes
9. Ser cosméticamente aceptable
10. Ser formulado en lociones, geles, cremas, ungüentos y sistemas adhesivos a la piel.
12. Ser económico y de fácil disposición.

6.2. CLASIFICACIÓN DE LOS PROMOTORES

Los agentes promotores pueden ser clasificados convenientemente según el tipo de sustancia activa que va a ser favorecida en su liberación durante la permeación a través del estrato córneo ^(14,25).

- A. Promotores de la permeación para moléculas ionizadas: agentes de superficie activa han sido usados como promotores en sustancias ionizadas. Ellos interactúan con el soluto, la membrana, o con ambos, e influyen en la permeabilidad de un soluto a través de membranas biológicas. Algunos ejemplos de ellos son: dodeciltrimetilamonio, cloruro de hexadeciltrimetilamonio, cloruro de benzalconio, y algunos lípidos polares.
- B. Promotores para moléculas lipofílicas: Los terpenoides como d-limoneno ha demostrado una eficiencia relevante en la penetración de gran cantidad de compuestos. Otros como laurocapram (Azone), oleato sódico, ácido oléico, dimetilsulfóxido, surfactantes catiónicos como el cloruro de benzalconio, aniónicos como el lauril sulfato de sodio y no iónicos como el Tween 80 y otros polisorbatos, algunos más como los ésteres del ácido láurico, mirístico y acetatos alifáticos ⁽³⁵⁾.

Otro modo de clasificarlos es de acuerdo a su naturaleza química ^(14,33).

1. Solventes

- a) Agua
- b) Alcoholes
- c) Alquil-metil -sulfóxidos
- d) Pirrolidonas
- e) Laurocapram
- f) Propilenglicol, tetrahidrofurfuril, y acetona.

2. Surfactantes

- a) Aniónicos
- b) Catiónicos
- c) No iónicos
- d) Acidos grasos
- e) Alcoholes

3. Químicos (varios)

- a) Urea
- b) Tioglicolato de calcio
- c) Agentes anticolinérgicos
- d) N-N-dietil-m-toluamida
- e) Otros (Eucaliptol, di-o-metil- β -ciclodextrina)

Pfister ⁽³⁶⁾ ha clasificado los promotores de permeación tanto en polares y no polares de acuerdo al parámetro de solubilidad de Hildebrand. Así una tercera clasificación se basa en la polaridad ⁽³⁷⁾.

1. No polares

- a) Azona
- b) Acido oleico

2. Baja polaridad
 - a) Dimetilsulfóxido
 - b) Dimetilformamida
 - c) Pirrolidonas

3. Polaridad media
 - a) Decilmetilsulfóxido

4. Alta polaridad
 - a) Propilenglicol

6.3. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LOS PROMOTORES

De acuerdo a varios estudios realizados sobre agentes promotores de la permeación, las conclusiones a las que han llegado algunos autores en cuanto al mecanismo de acción de estas sustancias están basadas sobre el modelo "ladrillo - mortero" del estrato córneo (Figura 11) ^(25,33).

Todos los promotores hasta hoy estudiados tienden ya sea a incrementar la fluidez de los lípidos, solubilizar su estructura o llevar acabo una interacción lipídica. Así, la movilidad del fármaco a través de un medio más fluido va a verse incrementada, favoreciendo la permeación de éste. Muchos de ellos también interactúan con las proteínas intracelulares desnaturalizando la α -queratina y abriendo canales acuosos como ha sido observado en estudios de calorimetría.

Materiales como la Azona son más efectivos cuando son usados con un cosolvente el cual interactúa con los componentes proteicos. Esta interacción es una solvatación de la estructura proteica desplazando su unión con el agua, expandiendo la estructura y compitiendo con el fármaco por el sitio de unión al hidrógeno.

Quizás otro posible mecanismo de acción puede ser la acción que presentan algunos promotores poco polares tales como DMSO (dimetilsulfóxido) y NMP(N-metil-2-pirrolidona), o cosolventes como PG (propilenglicol) ya que pueden acumularse tanto en regiones lipídicas como proteicas en el tejido, aumentando de esta manera la partición del fármaco. Esto va a producir flujos mayores⁽³⁰⁾.

En un estudio desarrollado para determinar la promoción *in vitro* del Verapamil, los autores señalan que la introducción de cadenas de ácidos grasos pequeños interrumpen o desarticulan el empaquetamiento cristalino de los lípidos y como resultado existe mayor fluidez y permeabilidad de la membrana⁽³⁵⁾.

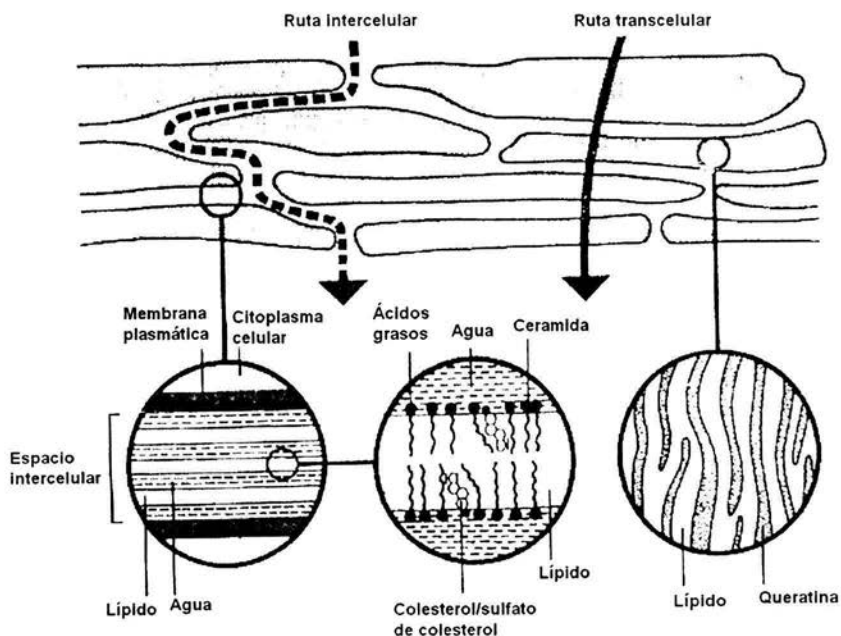


Figura 11: Representación esquemática del modelo "Ladrillo-Mortero" del estrato córneo. ⁽³⁸⁾.

Un promotor que puede incrementar la permeabilidad tanto en regiones lipídicas como proteicas es probablemente más efectivo. Además la incorporación de dos o más promotores proporciona un sinergismo en cuanto al favorecimiento de la permeación de la sustancia activa.

Una teoría general sobre la actividad de penetración de los promotores se basa en una serie de experimentos y estudios por calorimetría diferencial de barrido, por medio de los cuales se tiene la habilidad para deducir la actividad de los promotores sobre el estrato córneo. Estos estudios muestran que todos los compuestos interactúan con la bicapa lipídica dentro del espacio intercelular. Pequeñas moléculas polares incrementan la fluidez lipídica. Promotores no polares rompen o interrumpen la estructura lipídica, ambos efectos incrementan la permeabilidad en los tejidos. Algunos otros solvatan la queratina intracelular y de esta manera cambian la movilidad y flujo del fármaco. Ellos también promueven la permeación por incrementos del coeficiente de partición del fármaco piel/vehículo^(22,39).

De esta manera se puede decir que todos los promotores tienden a actuar por uno o varios mecanismos afectando en alguna medida: las rutas lipídicas, las proteínas y la partición en el estrato córneo. En base a esto, Barry y Colaboradores⁽⁴⁰⁾ propusieron que son 3 los mecanismos que explican la acción en piel de varios promotores de permeación.

1. Alteración de las propiedades de barrera de los lípidos del estrato córneo.
2. Interacción con las proteínas celulares.
3. Incremento de la partición del fármaco o solvente dentro del estrato córneo.

Esto debe ser entendido como la teoría del cambio en la permeación de la piel Lípido-Proteína-Partición^(41,42).

6.3.1. MECANISMOS DE ACCIÓN DE ALGUNOS DE LOS PROMOTORES MÁS ESTUDIADOS E INVESTIGADOS.

Los sulfóxidos como el DMSO (Dimetilsulfóxido) promueve la permeación en la piel, y tiene como resultado un número de mecanismos de acción que han sido postulados incluyendo la extracción de lípidos, lipoproteínas y estructuras nucleoproteicas en el estrato córneo, desnaturalización de la proteína estructural del estrato córneo y la delaminación. También fue reportado que el DMSO incrementa la fluidización lipídica por el rompimiento de las cadenas lipídicas empaquetadas, resultando en una interacción entre la cabeza de grupos polares de los lípidos vía enlaces de hidrógeno. Cooper⁽⁴³⁾ propuso que los cambios efectuados en la permeación por el DMSO ocurre como resultado de la interacción proteína-DMSO, cambiando la conformación proteica, de este modo crea un pasaje de canales acuosos.

Por otro lado los alcoholes incrementan la partición dentro de las células de la epidermis viva aumentando el flujo transdérmico, los alcoholes más hidrofílicos al ser aplicados en alguna parte de la piel pueden extraer lípidos del estrato córneo observándose la difusión a través de esta parte de la piel. Barry⁽⁴⁰⁾ reportó que el PG puede solvatar la α -queratina y ocupar los sitios de unión al hidrógeno, reduciendo de esta manera las uniones tejido-fármaco y así aumenta la permeación. La habilidad de ciertos ácidos grasos a incrementar la permeabilidad en piel, parece estar relacionada a un rompimiento o interrupción selectiva de las bicapas lipídicas intercelulares presentes en el estrato córneo.

Ciertos ésteres como el acetato de etilo que es polar, presenta enlaces de hidrógeno y tiene cierto grado de solubilidad en agua, puede actuar de manera similar a promotores poco polares tales como el DMSO y DMF (Dimetilformamida), estos químicos penetran en el estrato córneo y aumentan la fluidez de los lípidos por una solvatación alrededor de la cubierta en la cabeza del grupo polar, lo cual conduce a un rompimiento del empaquetamiento lipídico.

Scheuplein y Ross⁽⁴⁴⁾ proponen que los surfactantes aniónicos alteran la permeabilidad de la piel por actuar en las hélices de los filamentos en el estrato córneo y por medio de esto hay un desenrollamiento y extensión de los filamentos de α -queratina en el estrato córneo.

Quizás el promotor más estudiado en los últimos años ha sido la Azona ya que promueve eficientemente la absorción de ciertos fármacos y que en combinación con otros químicos da como resultado un sinergismo. Estudios por Calorimetría Diferencial de Barrido reportan que la Azona afecta dramáticamente la estructura lipídica del estrato córneo, siendo capaz de aumentar fácilmente la partición dentro del campo intercelular, además de fluidizar los lípidos.

Beastall⁽⁴⁵⁾ reportó que la incorporación de Azona dentro de las capas lipídicas disminuye la temperatura de transición dentro de las bicapas lipídicas, lo cual induce a la formación de una fase líquida y que da como resultado un aumento en la fluidez de la membrana.

En la Figura 12, se ilustran algunas de las teorías sobre la actividad de los promotores: dimetilsulfóxido, azona, ácido oleico, y decilmetilsulfóxido.

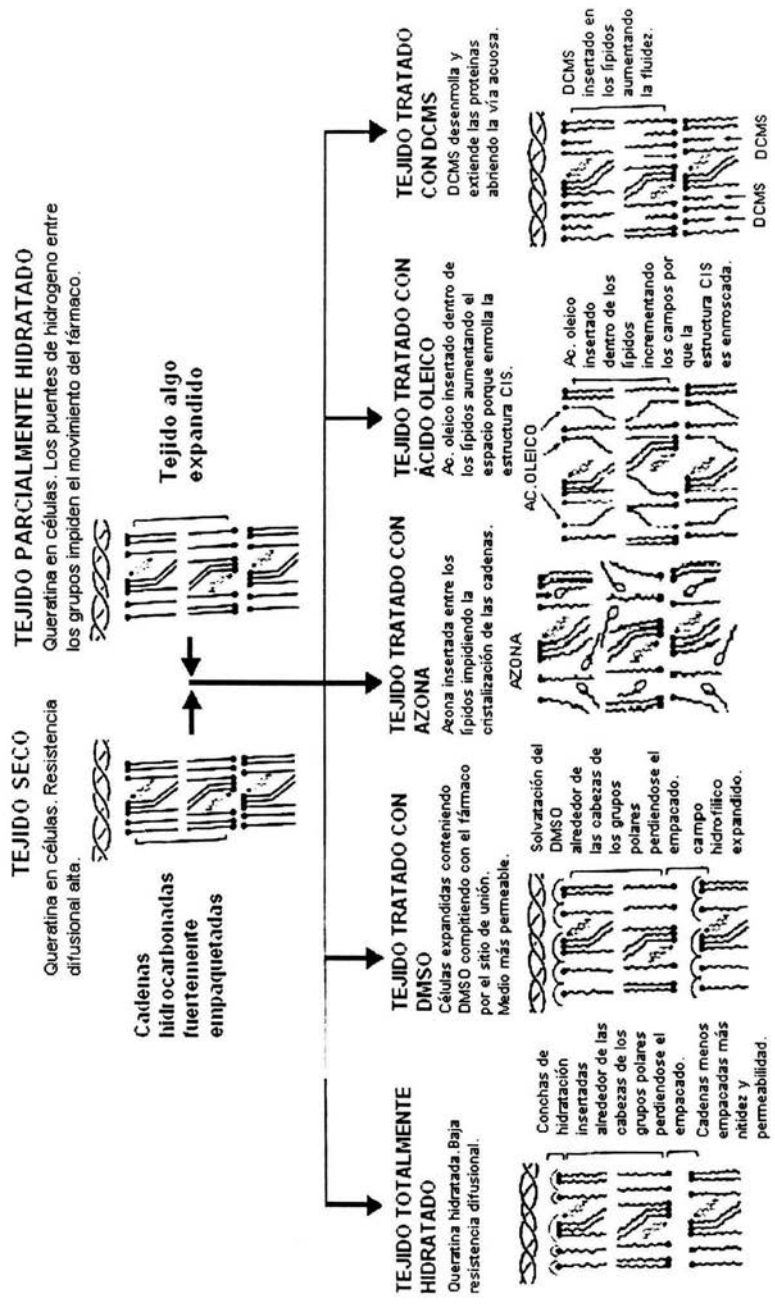


Figura 12: Mecanismos de acción de algunos promotores ilustrando su actividad (22)

6.4. SURFACTANTES

6.4.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES

Los surfactantes son uno de los componentes más comúnmente utilizados en el ámbito farmacéutico, cosmético y formulaciones de alimentos. Estas sustancias también llamadas agentes tensoactivos se caracterizan por la presencia tanto de grupos polares como no polares en la misma molécula, por lo cual son de naturaleza anfifílica⁽³³⁾ (Figura 13). La propiedad determinante de estas sustancias es su habilidad en la adsorción en interfases principalmente para una reducción en la tensión interfacial⁽⁴⁶⁾.

Por sus propiedades pueden ser usados generalmente en emulsiones y suspensiones como: estabilizantes, agentes humectantes, solubilizantes y detergentes.

La clasificación de estos compuestos está basada en la carga que presenta la cabeza del grupo hidrofílico, de este modo pueden ser aniónicos, catiónicos y no iónicos. En estos últimos el grupo polar es normalmente una cadena de polioxietileno y son los más reconocidos, puesto que presentan un menor potencial de irritación, y por lo tanto tienen una amplia aceptabilidad para su uso en productos tópicos, por lo cual muchas formulaciones farmacéuticas y productos cosméticos aplicados en la piel como antisépticos, shampoos, detergentes, lociones y cremas, contienen surfactantes. El papel del surfactante en la formulación de estos productos es el de dar la estabilidad física y apariencia cosmética a las dispersiones. Sin embargo estas sustancias también presentan una actividad biológica intrínseca por tener efectos en la permeabilidad de las membranas biológicas incluyendo la piel o pueden influir en la actividad de otras moléculas⁽²⁹⁾.

Así, debido a estas características que junto con su baja toxicidad e irritación hacen de estos compuestos buenos candidatos como promotores de la permeación principalmente para uso en sistemas con fármacos de liberación transdérmica.

El tema común de varias publicaciones sobre los efectos biológicos de los surfactantes es el de la existencia de una acción bifásica dependiente de la concentración, un aumento en el transporte de membrana a bajas concentraciones de surfactante y una disminución a concentraciones elevadas, generalmente cerca de la concentración micelar crítica del surfactante⁽⁴⁷⁾.

El aumento del flujo transmembranal a bajas concentraciones del surfactante es atribuido normalmente a la habilidad de la molécula de surfactante a penetrar la membrana e incrementar la permeabilidad. Reducir el transporte de un permeante en un sistema con surfactante, es atribuido a la habilidad del surfactante para formar micelas y es observado únicamente en caso de que ocurra una interacción entre la micela y el fármaco. Por lo tanto puede ser considerado, que el efecto total del surfactante es el resultado de la interacción de dos efectos opuestos, con la membrana y la del permeante con la micela⁽²⁹⁾.

El vehículo usado para liberar el fármaco y promotor a la superficie de la piel puede afectar la conducta de partición del promotor y posiblemente las características físicas de la piel. El grado de actividad del promotor es también fuertemente dependiente de la concentración y estructura del surfactante.

Estudios hechos por Kushla y Zatz⁽⁴⁸⁾ sobre los efectos de varios surfactantes catiónicos demostraron que los cambios máximos en el flujo ocurren con surfactantes que contienen cadenas alquílicas largas. Cooper y Berner⁽⁴⁹⁾ argumentaron que la longitud de la cadena óptima para deteriorar la función de la barrera y por consiguiente cambiar la penetración de fármacos puede ser atribuido a un cierto número de factores incluyendo la solubilidad del surfactante en el

6.4.2. MECANISMO DE ACCIÓN DEL LAUREATO DE SACAROSA (SURFACTANTE NO IÓNICO).

El efecto reportado en varios estudios sobre el modo de acción de los surfactantes no iónicos tales como el laureato de sacarosa (LS) puede ser explicado por fluidización, destrucción de la membrana lipídica y ocasionalmente posible solubilización y extracción de los componentes de membrana tales como proteínas. El modo de acción en la piel también está relacionado a su capacidad de partición dentro de la fase lipídica intercelular en el estrato córneo.

Otro modo de acción involucra la penetración del surfactante dentro de la matriz intracelular seguido por la interacción y unión con los filamentos de queratina. Este mecanismo parece ser óptimo para surfactantes con bases-dodecil.

Takahashi⁽⁵⁰⁾ observó una destrucción completa en el estrato córneo aislado en estudios con conejos, estos estudios atribuyen la fragmentación del enlace en la membrana a la disolución del cemento intercelular o a la destrucción de uniones intercorneocito. La fragmentación es proporcional a la concentración del surfactante y no es observado a concentraciones debajo de la CMC. Por lo tanto se cree que las micelas de los surfactantes solubilizan específicamente componentes dentro de la matriz lipídica intercelular.

Así la constante destrucción de la barrera observada en varios estudios por surfactantes se le atribuye a dos mecanismos de acción primarios: 1) La extracción de lípidos del estrato córneo, y 2) La penetración del surfactante dentro de la matriz lipídica intercelular de la capa cornificada. Ambos mecanismos dan como resultado un daño prolongado deteriorando la función de la barrera cutánea⁽³³⁾.

Estudios hechos por TEWL (pérdida transepidérmica de agua), y FTIR/ATR, muestran que el Laureato de Sacarosa en Transcutol (LS/T) al 2% (por debajo de

la CMC) parece ejercer su efecto fluidizando los lípidos del estrato córneo, de igual manera es observado un incremento en la pérdida transepidérmica de agua. Así también tratamientos en piel con oleato y LS/T al 2% (w/v) muestran una disminución significativa de la impermeabilidad ⁽⁵¹⁾.

6.4.3. MECANISMO DE ACCIÓN DEL TRANSCUTOL

El Transcutol es un poderoso agente solubilizante usado en varias formas de dosificación, es muy atractivo usado como promotor de permeación esto debido a que no es tóxico, a su biocompatibilidad con la piel, a su miscibilidad con solventes polares y no polares y a sus propiedades óptimas de solubilidad para un cierto número de fármacos como el Clonazepam⁽³²⁾.

Estudios recientes han demostrado que el Transcutol incrementa significativamente la permeación de varias sustancias activas, particularmente si es usado en combinación con un cosolvente como el PG, ya que al aplicarlos juntamente se observa una acción sinérgica, aunque estos estudios señalan que el efecto del Transcutol siempre es predominante al incrementar el flujo del fármaco. Evaluaciones hechas durante estudios de permeación observaron que el Transcutol es muy higroscópico y posee la capacidad de absorber el agua⁽⁵²⁾.

Se sabe que el Transcutol es capaz de atravesar ciertas barreras biológicas por si solo, además presenta un pasaje significativo cuando el estrato córneo esta ausente. De esta manera el mecanismo de acción por el cual actúa el Transcutol, parece estar relacionado a las propiedades que presenta como solubilizante, combinada esta con la habilidad de incrementar la retención cutánea del principio activo, ya que tiene un efecto potente de almacenamiento en la piel. Además también puede influenciar la partición de un fármaco porque está penetra dentro del tejido y así favorece la permeación del fármaco⁽⁵³⁾.

6.5. TÉCNICAS USADAS PARA VALORAR EL EFECTO DE LOS AGENTES PROMOTORES.

Uno de los métodos conocidos para valorar el efecto que tienen los promotores en la permeación de fármacos es la determinación de ceramidas, el cual se fundamenta en la medida de la concentración de esfingosina. Mediante esta técnica se ha demostrado que el laurocapram, n-octanol y d-limoneno (5%) desplazan de forma marcada las ceramidas en el tejido del estrato córneo.

Otra de las técnicas de más utilidad hoy en día es la resonancia spin electrónico, la cual permite conocer el reordenamiento lipídico al aplicar un campo magnético.

Algunas otras técnicas son el TEWL, el FTIR (Infrarrojo con Transformadas de Fourier), y la DSC (Calorimetría Diferencial de Barrido).

El TEWL es usada para evaluar los cambios en las propiedades de la barrera de la piel, cuando el estrato córneo es eliminado o removido, también es aplicado en pacientes con dermatitis o después de la aplicación de detergentes. Así esta técnica, puede ser un indicador sensible del daño de la piel y sus barreras⁽³³⁾. El FTIR es útil para evaluar los cambios conformacionales en lípidos y proteínas inducidos por los promotores. La DSC permite determinar cambios liotrópicos y termotrópicos.

Podemos decir que los resultados de estas, y de otras técnicas se complementan para tratar de elucidar el complicado mecanismo de acción de los promotores.

VII. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS EMPLEADOS EN EL ESTUDIO.

7.1. CAFEÍNA

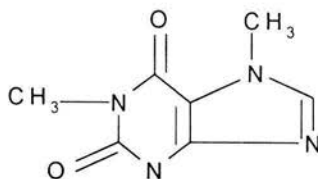


Figura 14. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LA CAFEÍNA

FORMULA QUÍMICA: $C_8H_{10}N_4O_2$

SINÓNIMOS: Cafeína anhidra, guaranina, metilteobromina, teína y cofeinum.

NOMBRE QUÍMICO: 7-metilteofilina, 1,3,7-trimetilxantina, metilteobromina, 1,3,7-trimetil-4,6-dioxopurina..

PESO MOLECULAR: 194.2 g/mol

CONSTANTES DE DISOCIACIÓN: pka: 0.8,14 (25°)

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: Log P(octanol/pH=7.4)=0.0, Log P(octanol/agua)=-0.07

IDENTIFICACIÓN: UV, (metanol 272, tricloroetileno 278, etanol 273, 0.1N HCL 272,275, 0.1N NaOH 275), Espectroscopia IR Y HPLC, Cromatografía de capa fina y gases, Espectroscopia de masas, Reacciones coloridas.

CARACTERÍSTICAS: Cristales blancos o polvo blanco cristalino, incoloro y de sabor amargo, es un alcaloide de té o café. Es usado como estimulante del SN.

SOLUBILIDAD: 1g de cafeína se disuelve en 50ml de agua, 6ml de agua a 80°C, 75ml de alcohol, 25ml de alcohol a 60°C, 6 ml de cloroformo o 600ml de éter. La solubilidad en agua aumenta en presencia de ácidos orgánicos o sus sales alcalinas, benzoatos, salicilatos, citratos, etc. ^(21,54,55).

7.2. 5-FLUOROURACILO

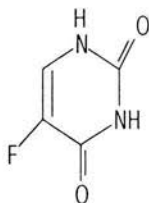


Figura 15. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL 5-FLUOROURACILO

FORMULA QUÍMICA: C₄H₃FN₂O₂

SINÓNIMOS: 5-Fluorouracilo

NOMBRE QUÍMICO: 5-Fluoropirimidina-2,4(1H, 3H)-diona

PESO MOLECULAR: 130.1 g/mol

CONSTANTES DE DISOCIACIÓN: pka 8.0, 13.0

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: Log P (octanol/pH 7.4)=-1.0, Log P (octanol/agua)= -0.95

IDENTIFICACIÓN: UV y espectroscopía IR (ácido acuoso-266nm)

CARACTERÍSTICAS: Polvo blanco cristalino que descompone cerca de 282°.

SOLUBILIDAD: Es poco soluble en agua. 1g se disuelve en 80ml de agua, 170ml de alcohol o 55 ml de metanol; prácticamente insoluble en cloroformo, éter o benceno.

PRECAUCIONES: Fluorouracil es irritante al contacto con la piel y membranas mucosales⁽⁵⁵⁾.

7.3. IBUPROFENO

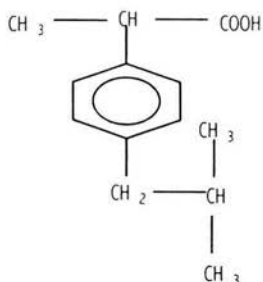


Figura 16. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL IBUPROFENO.

FORMULA QUÍMICA: C₁₃H₁₈O₂

SINÓNIMOS: 2-(4-Isobutilfenil) ácido propiónico.

PESO MOLECULAR: 206.3 g/mol

CONSTANTES DE DISOCIACIÓN: pka 4.4, 5.2

COEFICIENTE DE PARTICIÓN: Log P(octanol/agua)=3.51

IDENTIFICACIÓN: UV y Espectroscopía IR (álcali acuoso 265, 273, 221 nm), Cromatografía de capa fina y gases, HPLC, Espectroscopía de masas.

CARACTERÍSTICAS: Polvo blanco o cristales, punto de fusión de 75° a 78°.

SOLUBILIDAD: Prácticamente insoluble en agua, muy soluble en alcohol y otros solventes orgánicos como etanol, cloroformo y éter⁽⁵⁵⁾.

7.4. TRANSCUTOL

FORMULA QUÍMICA: $C_2H_5-O-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-OH$

EL TRANSCUTOL: Es un éter monoetílico del dietilenglicol, purificado por rectificación.

PESO MOLECULAR: 134.17 g/mol

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS: aspecto líquido límpido, olor débilmente a éter, es incoloro.

CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS:

- Solubilidad a 20 °C: soluble en agua, soluble en Etanol 96%, soluble en Hexilenglicol, soluble en Propilenglicol, parcialmente soluble en aceites vegetales, insoluble en aceites minerales.
- Densidad 0.985-0.989
- Índice de refracción 1.425-1.429
- Punto de ebullición (760 mmHg) 195°-202° C
- Viscosidad a 20°C aproximadamente 4.5 mPas
- Constante dieléctrica-aproximadamente 14
- Temperatura de congelación –aproximadamente –76°C
- Contenido de agua (Método Karl Fischer) < 10

APLICACIONES FARMACÉUTICAS: disolvente no tóxico para preparaciones farmacéuticas, tópicas, y transdérmicas. Compatible con Labrafil, aceites vegetales, disolvente de los esteroides, de trinitrina, de indometacina, de nifedipino, de hormonas.

APLICACIONES COSMÉTICAS: disolvente de cosméticos anfífilos, atóxico, para materiales activos, aceites, éteres, ceras, resinas, etc.

El Transcutol se utiliza dentro de las emulsiones, su uso es apropiado dentro de esmaltes para uñas, desodorantes, productos para bebé, bases para bronceadores, es ligeramente bactericida.

CONSERVACIÓN: Se conserva dentro de recipientes herméticamente cerrados, protegido de la luz, de la humedad. Se debe almacenar a una temperatura < 10°C. Los envases son cerrados para su almacenamiento bajo Nitrógeno. El transcitol debe ser estabilizado con antioxidantes como acetato de Tocoferol, BHA-BHT.

PRECAUCIONES: El Transcutol es inflamable, además debe tener una cuidadosa manipulación.

7.4. SUCROÉSTERES

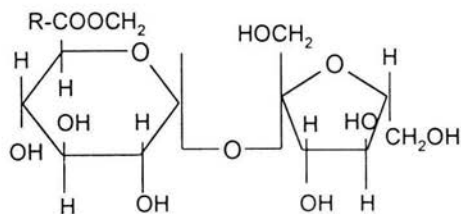


Figura 17. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS SUCROÉSTERES.

Los sucroésteres (Ryoto) es el nombre que se les da a los ésteres de ácidos grasos de sacarosa, manufacturados por Mitsubishi (Industria Química). Los sucroésteres son usados principalmente en la industria alimentaria como agentes emulsificantes, inhibidores de la cristalización y compuestos antibacterianos. Su uso en farmacia era desconocido pero fue Lerk⁽⁵⁶⁾ quien reportó el uso de laureato de sacarosa y palmitato en formulaciones farmacéuticas.

Los sucroésteres son mezclas de ésteres con varios grados de esterificación, son surfactantes no iónicos, aprobados por la FAO/WHO como aditivos alimenticios debido a su seguridad y biodegradabilidad ⁽⁵⁷⁾.

Los sucroésteres (Ryoto) son compuestos de sacarosa y ácidos grasos derivados de grasas y aceites combustibles. Como la sacarosa tiene un total de 8 grupos hidroxilo, se pueden obtener compuestos en un intervalo de uno a ocho ésteres de ácidos grasos.

Características generales de los ésteres de sacarosa⁽⁴⁶⁾.

- Son insípidos, inodoros y no tóxicos, son los mejores emulsificantes para alimentos.
- No son irritantes para los ojos o piel, ellos también son convenientes para cosméticos y medicamentos.
- Por su excelente biodegradabilidad, ellos no causan contaminación al medio ambiente.
- Puede ser obtenido un amplio intervalo de valores de HBL (Balance hidrofílico-lipofílico) en comparación con otros emulsificantes.

Así también los sucroésteres tienen una gran variedad de funciones y propiedades:

- Emulsificantes
- Estabilizantes
- Potenciadores o inhibidores de la cristalización
- Efecto antibacterial
- Formación de complejos con almidones
- Inhibición térmica.

7.5.1. LAUREATO DE SACAROSA

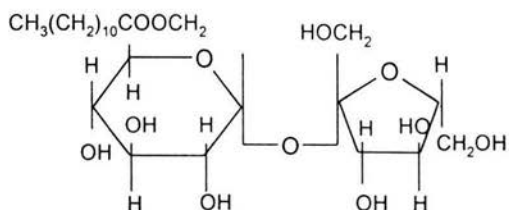


Figura 18. ESTRUCTURA QUÍMICA DEL LAUREATO DE SACAROSA

FORMULA QUÍMICA: $\text{C}_{12}\text{H}_{24}\text{O}_2$; $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$

TIPO L-1695

CADENA HIDROCARBONADA Ácido laúrico aprox. 95%

HLB Aproximado- 16

PUREZA 70% aproximadamente

COMPOSICIÓN DEL ESTER: Mono-éster aprox. 80%

Di, tri, poli éster aprox. 20%

FORMA Pellet

PROPIEDADES FÍSICAS: Solubilidad en propilenglicol (75°C), etanol, glicerina y agua. Tensión superficial 31.7 (dina/cm)⁽⁴⁶⁾.

VIII. PARTE EXPERIMENTAL

8.1 OBJETIVOS

GENERAL:

- Estudiar el efecto promotor que presenta el Laureato de Sacarosa sobre el transporte de fármacos con diferente grado de lipofilia, a través de piel *in vitro*.

PARTICULARES:

- Determinar mediante pruebas de difusión *in vitro*, el efecto del Laureato de Sacarosa sobre el flujo de tres fármacos con diferente grado de lipofilia (Cafeína, 5-Fluorouracilo, Ibuprofeno).
- Evaluar el efecto de la concentración de Laureato de Sacarosa sobre el flujo de los principios activos estudiados.

8.2. MATERIALES Y REACTIVOS

1. REACTIVOS

- Cloruro de sodio (Productos Químicos Monterrey, S.A. México)
- Fosfato de sodio dibásico hidratado (Merck de México)
- Fosfato de potasio monobásico (Productos. Químicos Monterrey, S.A. México Lote 105602)
- 5-Fluorouracilo (Fluka Chemie,USA)
- Cafeína anhidra (Sigma, USA)
- Ibuprofeno (Helm de México. Lote 1006028-D)
- Laureato de Sacarosa (Mitsubishi-Kagaku Foods Corporation, Tokio 104-Japón. Lote 6619A01)
- Transcutol (Gattetossé USA. Lote 0810901)
- Etanol (Productos Químicos Monterrey, S.A. México)
- Agua destilada (Grado Milli-Q)
- Hidróxido de sodio (J.T Baker NJ USA)
- Ácido clorhídrico (Productos Químicos Monterrey, S.A México)

2. MATERIAL Y EQUIPO

- Balanza analítica (Mod BBC32, BOECO Alemania)
- pH-metro (Mod 430-Mar –Corning, USA)
- Espectrofotómetro (Mod Varian Cary-50, Australia)
- Centrífuga (Mod EBA 12, Hettich D-78532, USA)
- Ultracentrífuga (Mod-LE-80K, Beckman California)
- Filtros de polipropileno (45 μ m Whatman, England) y filtros de nylon (Millipore TYPE HV- 45 μ m de diámetro).
- Estuche de disección

- Agitador magnético (Multi 15 stirrer, Velp Scientific)
- Celdas de difusión verticales tipo Franz (0.96 cm de diámetro, capacidad del receptor 1.5 ml)
- Celdas para espectro (Beckman, USA. Capacidad 2 y 0.5 ml)
- Recirculador (Erweka, Alemania)

8.3. METODOLOGÍA

1.Determinación de las condiciones experimentales. en base a las características fisicoquímicas de los principios activos (Cafeína, 5-Fluorouracilo e Ibuprofeno) y excipientes (Laureato de Sacarosa, Transcutol) que fueron empleados en el estudio.

2.Realización de los barridos para obtener los espectros de absorción de los principios activos (Cafeína, Ibuprofeno y 5-fluorouracilo), y así determinar la longitud de onda máxima a la cual absorben cada uno de ellos.

3.Obtención de las membranas

- Las membranas fueron aisladas de orejas de cerdo por disección. Las orejas de cerdo se obtuvieron del rastro, de animales recién sacrificados, evitando su paso por agua caliente.
- La piel aislada fue cortada en pedazos pequeños circulares con un diámetro aproximado de 1.1cm.
- Estas membranas se hidrataron en solución salina, mientras se les retiraba todo el tejido adiposo. Así, una vez limpias se envolvieron en papel aluminio y se congelaron hasta ser usadas.
- La piel de donde se obtuvieron las membranas se cortó de una parte en la cual el grosor fuera uniforme (región central de la parte externa de la oreja).

4. Realización de las curvas de calibración

A) Curvas de calibración sin piel

- Se prepararon las soluciones con SBIF pH=7.4 (solución buffer isotónica de fosfatos) a concentraciones de 10,15,20,30,40 y 50 $\mu\text{g/ml}$
- Estas soluciones fueron preparadas por triplicado para cada uno de los principios activos (Cafeína, 5-Fluorouracilo e Ibuprofeno) y fueron leídas a las longitudes de onda máximas para cada uno de los activos.

B) Curvas de calibración en contacto con piel

- Se puso la SBIF pH=7.4 en contacto con la piel completamente limpia de músculo y tejido adiposo, manteniendo la misma relación, área del tejido/volumen de SBIF, que en la celda de difusión.
- El tiempo de contacto fue de 1 hora, durante la cual se mantuvo con agitación constante.
- Una vez terminado el tiempo de contacto se procedió a centrifugar la solución a 2500 rpm durante 15 minutos, para posteriormente retirar la solución sobrenadante.
- Esta solución una vez filtrada, (Millipore TYPE HV-45 μg) fue empleada para preparar las soluciones a concentraciones de: 1.5, 3, 7.5, 15, 45, y 60 $\mu\text{g/ml}$, las cuales también fueron leídas a la longitud de onda máxima para cada uno de los activos.
- A los datos obtenidos para ambas curvas se les realizó la prueba de linealidad; (regresión lineal, análisis de varianza, prueba del intercepto, y prueba de la pendiente).

5. Prueba de solubilidad

Esta prueba se realizó por triplicado para cada uno de los principios activos, de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos USP (2000)⁽⁵⁸⁾.

- Se colocaron 3ml de SBIF pH=7.4 en viales junto con el principio activo en cantidad tal que se obtuviera una solución saturada.
- Los viales fueron colocados en baño de agua a 37°C durante 24 hrs con agitación constante.
- Una vez retiradas las soluciones del baño, éstas fueron centrifugadas a 2500 rpm durante 15 minutos.
- Se tomó la solución sobrenadante para hacer las diluciones adecuadas con SBIF pH=7.4, las cuales fueron leídas a la longitud de onda máxima para cada uno de los activos.

6. Permeaciones con y sin promotor

A) Permeaciones sin promotor

- Se descongelaron las membranas en solución salina.
- Posteriormente se montaron en las celdas de difusión tipo Franz por sextuplicado para cada una de las permeaciones.
- Se colocaron 2 ml de SBIF pH=7.4 en el compartimento donador y 1.5 ml de la misma solución en el compartimento receptor.
- Las celdas fueron colocadas en baño de agua a 37°C con agitación constante por 30 minutos, para hidratar las membranas.
- Una vez hidratadas se retiraron las celdas del baño para extraer la solución tanto del compartimento donador como del receptor y sustituirlas por 300 µl de una suspensión del principio activo en SBIF pH=7.4 en el compartimento donador y 1.5 ml de SBIF pH=7.4 en el compartimento receptor.

- Se dejó una celda como blanco a la cual se le pusieron 300 μ l de SBIF pH=7.4 y 1.5 ml de SBIF pH=7.4 en el compartimento donador y receptor respectivamente.
- Estas celdas permanecieron en el baño de agua con agitación constante a una temperatura de 37°C durante 8 horas, que fue el tiempo que duró la permeación.
- El muestreo se realizó a las 0.5,1,2,3,4,5,6,7 y 8 horas sustituyendo la solución del compartimento receptor por solución fresca.
- Las muestras fueron leídas a las longitudes de onda máximas de cada uno de los principios activos. Las lecturas se realizaron por espectrofotometría.
- Una vez pasadas las 8 horas de muestreo, las celdas fueron retiradas del baño, y se desmontaron las membranas.
- Estas membranas fueron lavadas, cortadas en trocitos y puestas en viales con 5 ml de etanol. Posteriormente se colocaron en baño de agua a 37°C y agitación constante durante 48 horas.
- La solución obtenida de cada vial, fue centrifugada a 2500 rpm durante 15 minutos, para posteriormente extraer la solución sobrenadante de la cual se tomaron 0.5 ml y se diluyeron en 5 ml de SBIF pH=7.4. A esta solución se le determinó su absorbancia para así cuantificar la cantidad de fármaco retenido en la membrana.

B) Permeaciones con promotor

- La metodología fue la misma que la empleada en las permeaciones sin promotor excepto, en el paso después de la hidratación de las membranas.
- Una vez hidratadas las membranas, se colocaron en el compartimento donador 300 μ l del promotor, Laureato de sacarosa en

Transcutol al 2 y 5% respectivamente, dejándose esta solución por 1 hora, después de la cual fue retirada con algodón y sustituida por 300 μ l de la suspensión del activo en SBIF pH=7.4.

7. Prueba del porcentaje de extracción

- Se colocó una cantidad conocida del principio activo en la mínima cantidad de etanol de forma tal que se obtuviera una solución.
- Esta solución se colocó en la membrana, hasta evaporación total del etanol.
- Se cortaron posteriormente las membranas en trocitos y se colocaron en viales con 5 ml de etanol, dejándose por 48 horas en baño de 37°C y agitación constante.
- La solución fue centrifugada a 2500 rpm durante 15 minutos y se obtuvo el sobrenadante con el cual se prepararon diluciones adecuadas y se leyeron a las longitudes de onda máximas para cada uno de los activos.
- Esta prueba se realizó por triplicado para cada uno de los principios activos.

IX. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.

9.1. RESULTADOS DE LA REGRESIÓN LINEAL PARA LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN CON Y SIN PIEL.

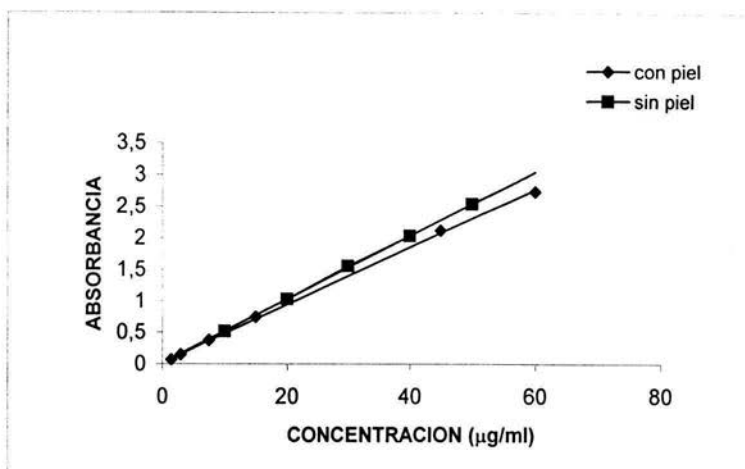


FIGURA 19: Curvas de calibración para cafeína con y sin piel
($\lambda=275$ nm)

TABLA 3. Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de Cafeína.

PARÁMETRO	SIN PIEL	EN CONTACTO CON PIEL
R	0.9998	0.9997
R2	0.9996	0.9993
Pendiente (m)	0.0505	0.0458
Ordenada al origen (b)	0.0208	0.0256
Desviación estándar (S)	5.4558E-04	1.9086E-03
Media (X)	0.0514	0.0481
Coef. de variación (C.V)%	1.06	3.96

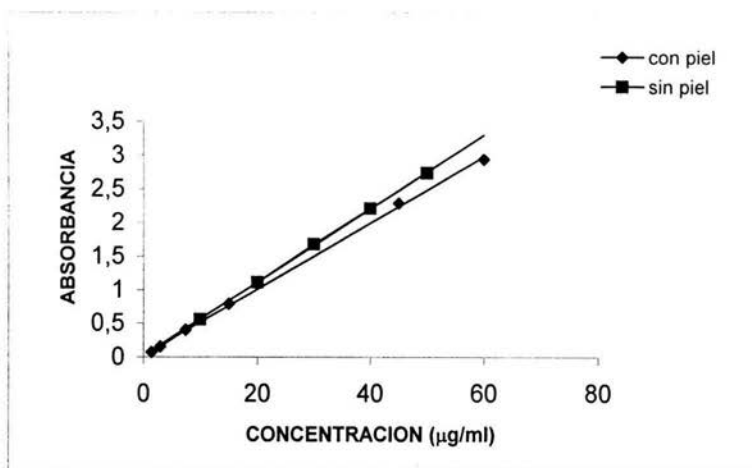


FIGURA 20: Curvas de calibración para 5-Fluorouracilo con y sin piel ($\lambda=265$ nm)

TABLA 4. Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de 5-Fluorouracilo.

PARÁMETRO	SIN PIEL	EN CONTACTO CON PIEL
R	0.9998	0.9996
R2	0.9996	0.9992
Pendiente (m)	0.0547	0.0493
Ordenada al origen (b)	0.02025	0.0255
Desviación estándar (S)	4.8157E-04	1.6946E-03
Media (X)	0.0555	0.0516
Coef. de variación(C.V)%	0.86	3.28

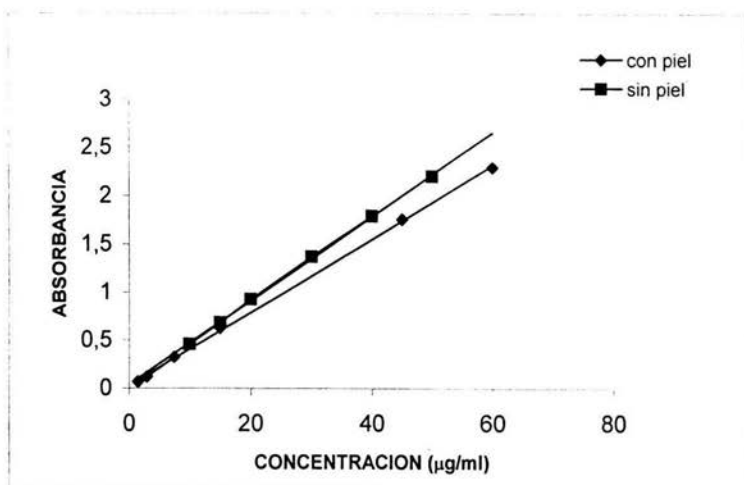


FIGURA 21: Curvas de calibración para Ibuprofeno con y sin piel ($\lambda=220$ nm)

TABLA 5. Resultados de la regresión lineal para las curvas de calibración de Ibuprofeno.

PARÁMETRO	SIN PIEL	EN CONTACTO CON PIEL
R	0.9995	0.9997
R2	0.9990	0.9994
Pendiente(m)	0.0436	0.0380
Ordenada al origen (b)	0.0395	0.0281
Desviación estándar (S)	9.1734E-04	2.8660E-03
Media (X)	0.0454	0.0414
Coef. de variación (C.V)%	2.02	6.91
C.V (%) Entre puntos		3.4,1.4,1.6,1.2,1.1,0.2

Las curvas de calibración para los 3 principios activos con los cuales se trabajó se muestran en las figuras 19,20 y 21. A todas estas curvas se les realizó un análisis de regresión lineal en donde de acuerdo a los gráficos mostrados y parámetros obtenidos (Tablas 3,4,5), estos muestran una buena relación entre las variables X y Y. Al comparar los resultados obtenidos en las curvas con y sin piel nos damos cuenta que en las curvas que fueron tratadas con piel existe una mayor variación debido probablemente a la presencia de los componentes de la membrana, puesto que se obtiene un coeficiente de variación (C.V) mayor a los obtenidos en las curvas sin piel.

Así también a todas las curvas de calibración se les realizaron las siguientes pruebas estadísticas:

PRUEBA t: La prueba t para el intercepto se realizó con la finalidad de demostrar que este no es diferente de cero. Los resultados obtenidos (anexo 1) permiten ver que en todas las curvas de calibración $t_{exp} < t_{teórica}$ (ver Tabla 6) , por lo cual se aceptó H_0 y se determina que no existe evidencia estadística que el intercepto sea diferente de cero.

TABLA 6. Resultados de la prueba t realizada para el intercepto a todas las curvas de calibración con y sin piel.

Curva de calibración		t experimental	t teórica
Caf	Sin piel	0.4236	< 3.18
	Con piel	0.5290	< 2.78
5-Flu	Sin piel	0.9797	< 3.18
	Con piel	0.9039	< 2.78
Ib	Sin piel	0.8959	< 2.78
	Con piel	0.8477	< 2.78

PRUEBA F: Esta Prueba se realizó para demostrar si hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel, para cada principio activo, encontrándose que para los 3 activos (Anexo 1) $F_{cal} < F_{critica}$, y por lo tanto las varianzas de las pendientes son iguales. De acuerdo a estas pruebas se optó por realizar la prueba t con el objeto de comparar las pendientes de las curvas considerando varianzas iguales.

Así se encontró que tanto para Cafeína como para 5-Fluorouracilo se rechaza H_0 , ya que con los dos niveles de significancia $t_{exp} > t_{critica}$ (Tabla 7). Por lo tanto se concluye que sí existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel. Para el caso del Ibuprofeno se tiene que con un $\alpha=0.05$ $t_{exp} > t_{critica}$ y por lo tanto si existe diferencia significativa entre las pendientes, pero con un $\alpha=0.01$, $t_{exp} < t_{critica}$, por lo cual no se rechaza H_0 y se acepta que no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas con y sin piel.

De acuerdo a estos resultados podemos corroborar que en las curvas tratadas con piel si existe interferencia por parte de los componentes de la membrana ya que en todas las curvas, excepto Ibuprofeno con un $\alpha=0.01$, se rechaza H_0 .

Tabla 7. Resultados de la prueba t suponiendo varianzas iguales.

P.A	Nivel de significancia	$t_{experimental}$		$t_{critica}$
Caf	$\alpha=0.01$	3.7649	>	3.2498
	$\alpha=0.05$	3.7649	>	2.2622
5-flu	$\alpha=0.01$	4.9368	>	3.2498
	$\alpha=0.05$	4.9368	>	2.2622
Ib	$\alpha=0.01$	3.1091	<	3.1693
	$\alpha=0.05$	3.1091	>	2.2281

9.2. PRUEBA DE SOLUBILIDAD

TABLA 8. Resultados de la prueba de solubilidad de los activos.

P.A	Medio de disolución	Solubilidad (mg/ml)
Caf	SBIF PH=7.4	24.4753±0.0869
5-Flu	SBIF pH=7.4	10.9162±0.0438
Ib	SBIF pH=7.4	2.1553±0.0087

La solubilidad de los 3 principios activos se determinó en solución buffer isotónica de fosfatos (SBIF) pH=7.4, debido a que esta solución fue usada para preparar las curvas de calibración. También se usó como vehículo y solución receptora en todas las permeaciones.

De acuerdo a los resultados (Tabla 8), se tiene que la Cafeína presenta la mayor solubilidad, seguida del 5-Fluorouracilo y finalmente el Ibuprofeno.

9.3. RESULTADOS DE LAS CINÉTICAS DE PERMEACIÓN DE LOS 3 PRINCIPIOS ACTIVOS CON Y SIN PROMOTOR.

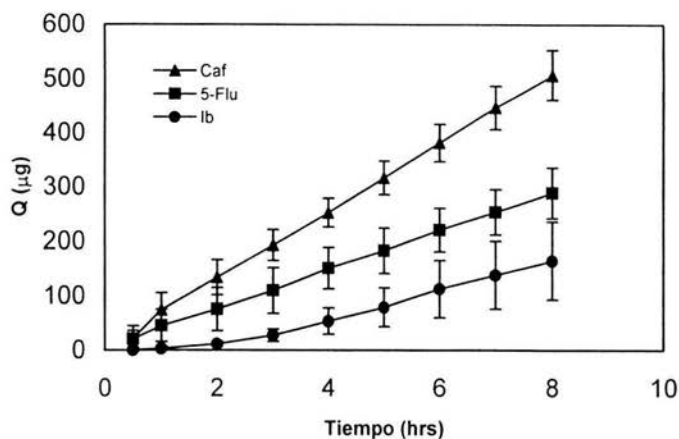


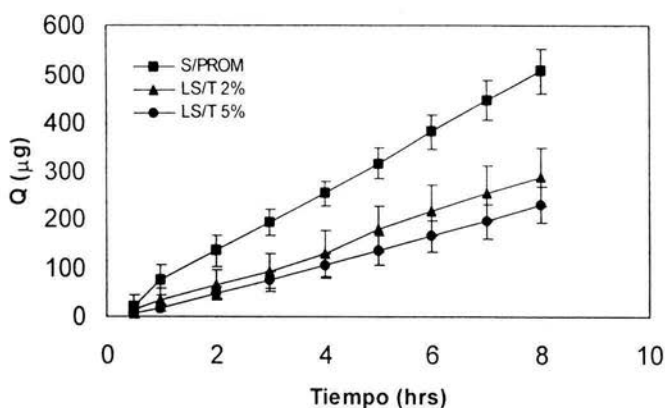
FIGURA 22. Cinéticas de permeación de los 3 principios activos sin promotor.

Los resultados de las cinéticas de permeación de los 3 activos sin promotor (Figura 22), muestran una relación entre hidrosolubilidad y los valores de flujo (ver Fig. 26). No obstante no hay una relación directa entre el coeficiente de partición (Log P), y el flujo (J). Así pues la Cafeína (fármaco más hidrosoluble) cuyo Log P (octanol/agua)= -0.07, y Log P (octanol/pH=7.4)=0.0, presenta el mayor flujo, a esta le sigue el 5-Fluorouracilo el cual presenta un Log P (octanol/agua)=-0.95, Log P (octanol/pH=7.4)=-1.0 y el Ibuprofeno (fármaco más hidrofóbico) Log P (octanol/agua)= 3.51^(37,55) presenta el menor flujo.

Respecto a esto se puede decir que evidentemente las propiedades fisicoquímicas de los activos son importantes en el proceso de liberación transdérmica y como los eventos predominantes que ocurren en ésta comprenden la partición y la difusión, el coeficiente de partición es considerado un parámetro

importante para predecir el valor del flujo transdérmico puesto que no influye únicamente en la permeación del fármaco a través de la membrana sino que puede reflejar la afinidad relativa de los principios activos por los componentes membranales.

Los fármacos con Log P altos tienden a penetrar con facilidad en la membrana existiendo una buena correlación entre el porcentaje del fármaco absorbido y el coeficiente de partición, esto siempre y cuando el fármaco esté en su forma no ionizada, puesto que en solución acuosa sólo la forma no ionizada es liposoluble y es la que puede atravesar más fácilmente la barrera del estrato córneo^(14,21), aunque también se sabe que los fármacos muy lipofílicos pueden presentar una alta afinidad por las membranas lipoideas de manera que el fármaco puede quedar retenido en la membrana y ser incapaz de continuar difundiendo con facilidad, por lo que disminuye su flujo. Así una liposolubilidad alta no necesariamente va a favorecer la permeación de un principio activo. En nuestro estudio este podría ser el caso del Ibuprofeno el cual presenta un Log P alto y además a pH=7.4 se encuentra en su forma ionizada ($pka=4.4, 5.2$)⁽⁵⁵⁾. Así este fármaco presenta un flujo menor al ser comparado con fármacos con un Log P más bajo tales como la cafeína y el 5-Fluorouracilo que además presenta una buena solubilidad acuosa lo que hace que activos como estos pasen rápidamente al receptor (solución acuosa).



FORMULACIÓN	J ($\mu\text{g}/\text{hrcm}^2$)	FP	Log (Kp)
S/PROM	97.8069 ± 13.4060	1	-2.2257
Con LS/T 2%	59.2776 ± 10.9241	0.6061	-2.4485
Con LS/T 5%	47.5227 ± 7.9485	0.4859	-2.5407

FIGURA 23. Cinéticas de permeación de Cafeína ($n=6\pm s$), y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.

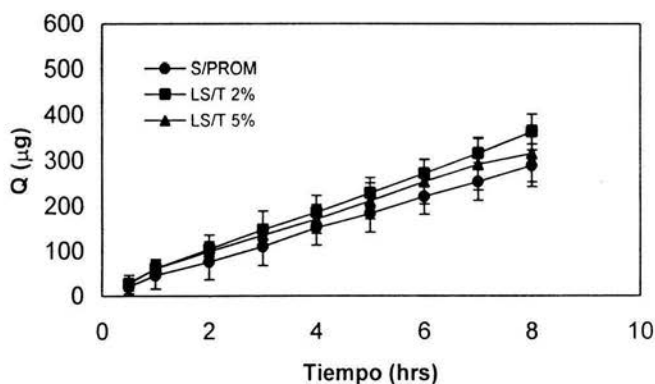
En la Figura 23 se muestran las cinéticas de permeación para Cafeína, en donde se observa que el sistema sin promotor presenta un flujo más alto que los obtenidos usando el promotor (Figura 26). Así en las cinéticas donde se usó el promotor se ve que el sistema con Laureato de Sacarosa al 2% presenta un flujo mayor que el del sistema con Laureato de Sacarosa al 5%. Esto también se puede verificar con los valores obtenidos en el factor de promoción (FP)(Figura27).

En cuanto a los coeficientes de permeabilidad experimentales (log Kp), la constante mayor le corresponde al sistema sin promotor (log Kp=-2.2257), seguido por el sistema con promotor al 2% (log Kp=-2.4485), y la constante menor la presenta el sistema con promotor al 5% (log Kp=-2.5407), aunque los 3 valores son muy semejantes. Estos resultados muestran que el Laureato de Sacarosa presenta un efecto retardador al disminuir el flujo de Cafeína a través de la piel.

Las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor durante las 8 horas de permeación (Figura 29), permiten ver que la Cafeína sigue

el orden obtenido en los parámetros anteriores (J, FP y Log Kp) y se demuestra estadísticamente que si existe diferencia significativa entre las cantidades acumuladas ($F_{cal}=58.2526$; $F_{tablas}=3.63$). Por medio de la prueba de Duncan (anexo 2) se tiene que dichas diferencias son significativas al comparar las permeaciones s/prom y con LS/T 2%, s/prom y con LS/T 5%.

Para la cantidad de Cafeína retenida en la membrana al final de la permeación se observa (Figura 30) que la Cafeína con laureato al 2% retiene mayor cantidad de activo. También se determina estadísticamente (anexo2) que si existe diferencia significativa entre las cantidades retenidas en la membrana ($F_{cal}=6.5144$; $F_{tablas}=3.63$). Sin embargo, al realizar la prueba de Duncan se tiene que todas las comparaciones de las medias en esta prueba no presentan diferencia significativa entre ellas.



FORMULACIÓN	J ($\mu\text{g}/\text{hrcm}^2$)	FP	Log (Kp)
S/PROM	55.7953 ± 7.1904	1	-2.1184
Con LS/T 2%	68.0924 ± 4.7337	1.2204	-2.0298
Con LS/T 5%	60.0399 ± 13.9887	1.0761	-2.0932

FIGURA 24. Cinéticas de permeación de 5-Flu ($n=6\pm s$) y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.

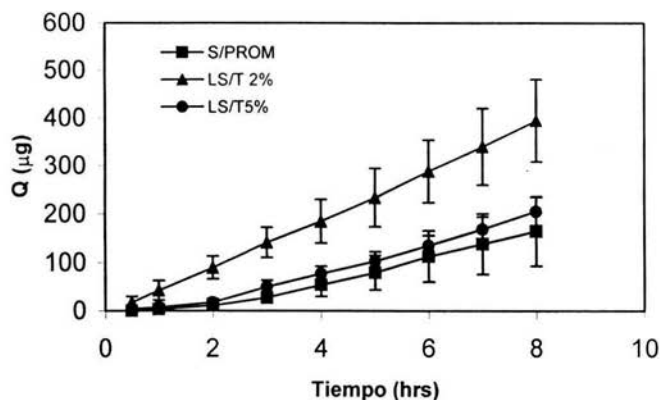
Para 5-Fluorouracilo (Figura 24), las tres cinéticas muestran una tendencia muy similar, pero se observa que el flujo si es incrementado ligeramente al usar el promotor, ya que para los sistemas con Laureato de Sacarosa al 2 y 5%, el flujo es mayor al obtenido en el sistema sin promotor.

El incremento del flujo (Figura 26) y por lo tanto del FP, se ve principalmente favorecido para el sistema con promotor en concentración del 2% mostrando un valor ligeramente mayor al obtenido con Laureato de Sacarosa al 5%.

Para los coeficientes de permeabilidad ($\log K_p$) obtenidos experimentalmente se tiene que estas siguen el mismo orden que el flujo y el factor de promoción, de manera que para 5-Fluorouracilo con promotor al 2% el coeficiente de permeabilidad ($\log K_p = -2.0298$), es mayor que para 5-Fluorouracilo con promotor al 5% ($\log K_p = -2.0932$) y este es mayor al sistema sin promotor ($\log K_p = -2.1184$).

En lo que respecta a las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas (Figura 29) se puede ver que el sistema que acumula mayor cantidad de principio activo es el sistema con promotor al 2%, aunque estadísticamente estas cantidades no presentan una diferencia significativa entre ellas ($F_{cal} = 3.5067$; $F_{tablas} = 3.63$) (anexo 2).

En la Figura 30, se presenta la gráfica de las cantidades acumuladas en la membrana donde el sistema con promotor al 2% presenta la mayor cantidad de activo acumulado en la membrana, pero al igual que en la prueba estadística anterior estas no presentan una diferencia significativa entre ellas ($F_{cal} = 1.9654$; $F_{tablas} = 3.63$) (anexo 2).



FORMULACIÓN	J ($\mu\text{g}/\text{hrcm}^2$)	FP	Log (Kp)
S/PROM	38.2400 ± 17.1915	1	-1.6131
Con LS/T 2%	78.6653 ± 17.8289	2.0571	-1.2723
Con LS/T 5%	45.2921 ± 6.4928	1.1844	-1.5051

FIGURA 25. Cinéticas de permeación para Ibuprofeno ($n=6\pm s$) y resultados de Flujo, Factor de promoción y Coef. de permeabilidad.

Las cinéticas de permeación que sigue el Ibuprofeno sin y con promotor se muestran en la Figura 25, en donde se observa que el flujo al igual que para 5-Fluorouracilo se ve favorecido usando el promotor, sobre todo usando el Laureato de Sacarosa en una concentración del 2%, ya que este sistema presenta un flujo notablemente mayor al obtenido con los otros 2 sistemas.

Aquí si podemos ver más claramente (Figura 26) el efecto que el Laureato de Sacarosa tiene sobre el flujo ya que este aumenta aproximadamente en un 40% al comparar el sistema sin promotor y con promotor en concentración del 2%.

Los valores de los coeficientes de permeabilidad muestran que el Ibuprofeno con promotor al 2% ($\log Kp=-1.2723$) presenta la constante mayor, seguida por el sistema con Laureato de Sacarosa al 5% ($\log Kp=-1.5051$) y la constante menor la presenta el sistema sin promotor ($\log Kp=-1.6131$).

Para las cantidades de Ibuprofeno acumulado en el receptor durante las 8 horas de permeación se observa (Figura 29) que el sistema al 2% acumula mayor cantidad de principio activo. Respecto a las cantidades retenidas en la membrana (ver figura 30): Aparentemente hay una disminución importante de la cantidad de p.a retenido en la membrana probablemente porque el surfactante favorece el paso hacia el receptor disminuyendo la afinidad del Ibuprofeno por los componentes lipídicos de la membrana, lo que por otra parte se ve reflejado en el incremento del flujo mencionado anteriormente.

Para ambas pruebas se determinó estadísticamente que las cantidades tanto acumuladas en el receptor ($F_{cal}=20.3720$; $F_{tablas}=3.68$), como retenidas en la membrana ($F_{cal}=26.7013$; $F_{tablas}=3.68$) si presentan una diferencia significativa entre ellas. En cuanto a la prueba de Duncan para las cantidades acumuladas en el receptor se encontró que solo existe diferencia significativa entre las medias de las permeaciones LS/T 2% -S/PROM. Para las cantidades retenidas en la membrana existe diferencia significativa entre los sistemas S/PROM-LS/T 2%, y S/PROM-LS/T 5%.

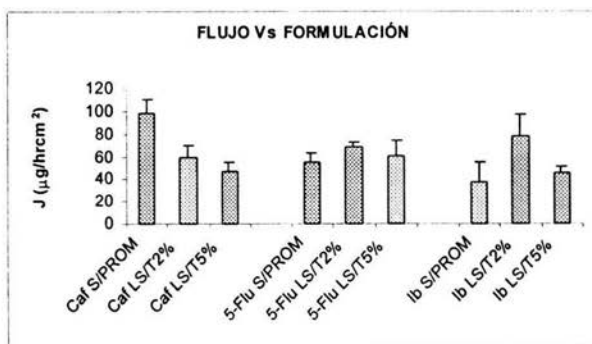


FIGURA 26. Flujo ($\mu\text{g/hr cm}^2$) Vs Formulación de principio activo (Caf, 5-Flu e Ib)

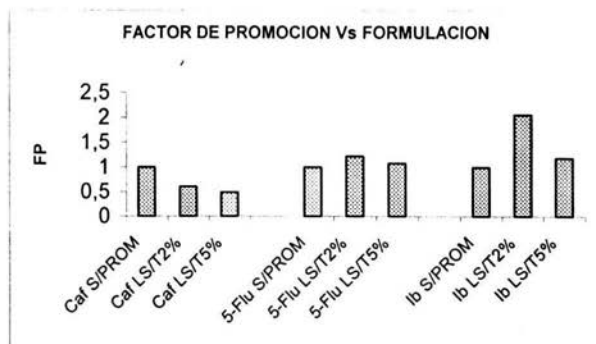


FIGURA 27. Factor de promoción Vs Formulación de principio activo (Caf, 5-Flu e Ib)

Como podemos darnos cuenta los resultados en general muestran que el laureato de sacarosa en Transcutol favorece solo la permeación de 2 de los principios activos estudiados (5-Fluorouracilo e Ibuprofeno), principalmente usando el promotor a una concentración del 2 % y en particular para el Ibuprofeno. Una consideración importante es que la concentración micelar crítica (CMC) del Laureato de Sacarosa en Transcutol es del 3%⁽⁵¹⁾ y se trabajó por debajo de esta concentración, puesto que el efecto que presentan los surfactantes en cuanto a la velocidad y cantidad de fármaco permeado a través de las membranas es altamente dependiente del estado físico del surfactante y su concentración, pero se sabe que los cambios de transporte en la membrana ocurren a bajas concentraciones del surfactante debido a que pueden insertarse más fácilmente entre las cadenas alquílicas de los lípidos cuando se encuentran como monómeros libres⁽²⁹⁾. Por arriba de la CMC el surfactante forma micelas y esto dificulta su inserción y por lo tanto, su interacción con los lípidos intercelulares.

El Laureato de Sacarosa tiene un HLB de 16 lo cual le da una buena lipofilia, así también la molécula de este surfactante presenta una cadena de 12 carbonos es decir una cadena alquílica larga la cual es óptima para la alteración transitoria de la barrera cutánea, de manera que el LS puede ejercer su efecto acelerante posiblemente por la inserción de la cadena hidrocarbonada en las bicapas lipídicas

intercelulares del estrato córneo, lo cual da como resultado un aumento en la fluidez de los lípidos, de modo que facilita el paso de sustancias no polares como el Ibuprofeno. Pero también se sabe que al insertarse entre las cadenas lipídicas, permite que el anillo de sacarosa interactúe con las cabezas polares de los lípidos, con ello este promotor va a crear canales acuosos por donde podrían pasar sustancias hidrofílicas aunque en menor grado que las lipofílicas. Así se explicaría por que el 5-Flu presenta un aumento en el flujo muy pobre a diferencia del Ibuprofeno. Esto también se puede observar en la Figura 28 ya que conforme la solubilidad del p.a aumenta el factor de promoción disminuye.

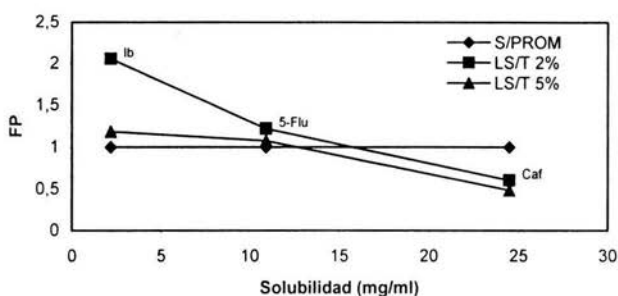


Figura 28. FP Vs Solubilidad del principio activo en SBIF pH=7.4

Es importante mencionar el efecto que presenta el Transcutol (anexo 1) al usarlo junto con el LS, puesto que se sabe que el Transcutol como promotor presenta un efecto potente en la permeación de ciertos fármacos como el Clonazapan⁽³²⁾, esto debido a las propiedades que presenta al aumentar la solubilidad de los activos y a su efecto potente de almacenamiento en la piel. Ayala-Bravo et al⁽⁵¹⁾, demostraron que el LS era efectivo al combinarse con el Transcutol al promover el transporte de 4-Cianofenol. El uso solo de Transcutol mostró un efecto promotor menor y el Laureato de Sacarosa en solución acuosa no tuvo efecto promotor. De manera que en nuestro estudio y de acuerdo con estos antecedentes al usarlo junto con el LS podría existir un efecto sinérgico

favoreciendo preferentemente la absorción del Ibuprofeno, ya que el flujo de este p.a se ve muy incrementado al usar el promotor, de manera que para el fármaco más lipofílico el cual se encuentra en un 99% ionizado a pH=7.4, el efecto del Laureato de Sacarosa es mejor que para los fármacos más hidrofílicos como el 5-Fluorouracilo el cual con un $pka=8.0$ podría estar ionizado en un 20% solamente. Estos resultados coinciden con lo encontrado por Cázares Delgadillo et al⁽⁵⁹⁾, en donde se constató que el LS ejerce un efecto retardador cuando el clorhidrato de lidocaína se encuentra no ionizado, mientras que su paso se incrementa al estar ionizado.

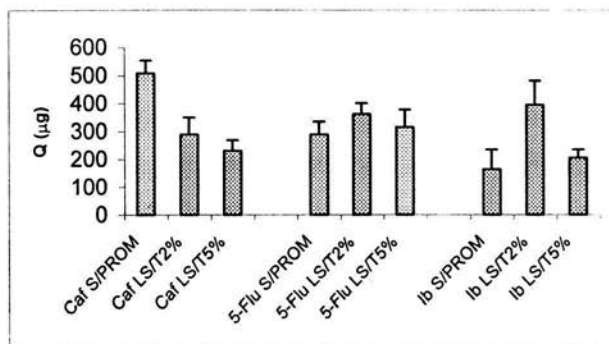


FIGURA 29. Cantidad de principio activo acumulado en el compartimento receptor durante las 8 horas de permeación Vs Formulación.

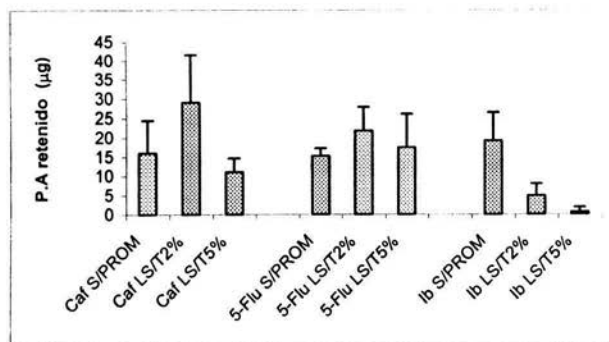


FIGURA 30. Cantidad de principio activo retenido en la membrana al final de la permeación. Extraídas durante 48 horas

En el caso de la Cafeína los resultados obtenidos en estas permeaciones muestran un efecto retardador al usar el promotor. Si consideramos que la Cafeína es hidrófila y a pH=7.4 se encuentra ionizada en un 99% (pka=14), se esperaría que atravesara la membrana en mayor cantidad que el 5-Fluorouracilo, esto debido a que tiene un coeficiente de partición más favorable, pero pudiera ser que el efecto potenciador del LS/T a través de la piel no esta en función solamente del grado de lipoficidad de las sustancias sino también de algunas otras propiedades fisicoquímicas del principio activo y del medio en el cual se encuentra (pH, pka, etc.). Además la Cafeína a diferencia del 5-Fluorouracilo e Ibuprofeno se comporta como una base por lo que podríamos pensar que el efecto que presenta el LS/T pueda posiblemente estar relacionado con la naturaleza química tanto del surfactante como del fármaco estudiado, ya que en un estudio realizado sobre los promotores para moléculas ionizadas se demostró que el tipo y magnitud del efecto de los tensoactivos están en función de la naturaleza química del agente superficialmente activo así como de los pares iónicos en la modificación del carácter hidrofóbico de los principios activos⁽³⁵⁾.

No obstante la Cafeína también puede llevar acabo una interacción con el LS y formar puentes de hidrógeno por lo cual su flujo va haberse afectado ya sea retardándolo o disminuyéndolo, ya que tal vez seria más afin al promotor que a la membrana. También creemos que el LS interactúa débilmente con la queratina y no favorece el paso de las moléculas polares con lo cual también se justificaría el efecto retardador del promotor hacia la Cafeína.

Como podemos darnos cuenta el mecanismo de acción por el cual actúan el LS/T a través de la piel parece ser complejo, ya que de acuerdo a lo reportado por trabajos previos y lo encontrado en este estudio nos damos cuenta que puede presentar un efecto potenciador para ciertos fármacos pero también puede tener una acción inversa al retardar el flujo de otras sustancias como en el caso de la Cafeína.

X. CONCLUSIONES

- De los 3 principios activos probados, el laureato de sacarosa en Transcutol al 2% incrementó el flujo del Ibuprofeno (fármaco más lipofílico).
- La solución al 2% (por debajo de la CMC), mostró ser más efectiva que la solución al 5%.
- El LS/T 2% promovió el transporte de Ibuprofeno (ionizado en un 99%), aparentemente no hubo promoción para el 5-Fluorouracilo (ionizado en un 20%), y se encontró un retardo en el paso de Cafeína (ionizada en un 99%).
- Se corroboró lo encontrado en un trabajo previo (Cázares et al., 2003)⁵³: El LS/T 2% promueve preferentemente el paso de fármacos en su forma ionizada.
- En este trabajo se encontró mayor efecto promotor a medida que la solubilidad acuosa de los activos disminuía, teniendo el siguiente orden para el factor de promoción: Ibuprofeno > 5-Fluorouracilo > Cafeína.

XI. PERSPECTIVAS DE TRABAJO:

- Realizar más estudios con este promotor sobre otros activos, sobre todo para verificar y tratar de explicar el efecto retardador que pudiera ejercer sobre alguno de ellos. En particular el efecto modulador y su relación con el pH del medio y el pka de los activos.
- La posible relación entre hidrosolubilidad y efectividad del laureato debe ser objeto de posteriores estudios.
- Como muchas formulaciones cosméticas, alimenticias y farmacéuticas contienen surfactantes, usados como emulsificantes, suspensores, solubilizantes, etc, bien podría ser incluido el Laureato de Sacarosa como promotor en formulaciones tópicas y transdérmicas debido no sólo a que presenta un efecto modulador en el flujo de ciertos activos, sino también a su baja toxicidad e irritabilidad en la piel.

ANEXO 1

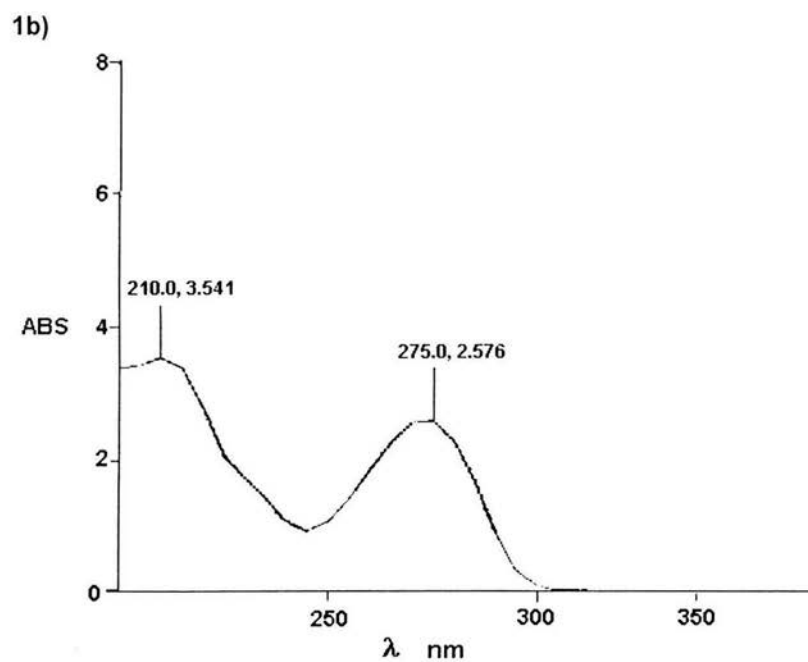
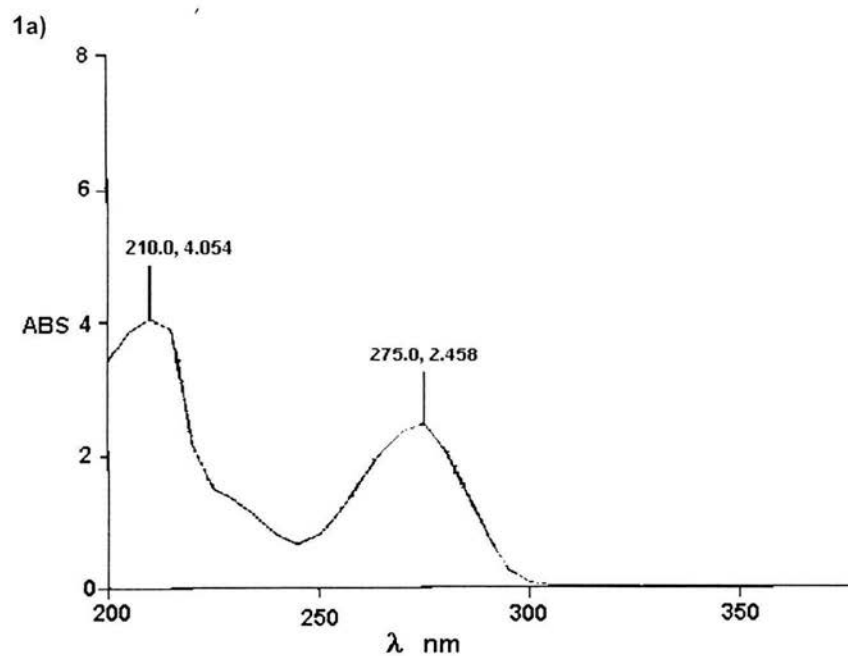
***RESULTADOS DE LOS BARRIDOS OBTENIDOS PARA CADA UNO DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS :**

1. CAFEÍNA (λ_{\max} =275 nm)
2. 5-FLUOROURACILO (λ_{\max} =265 nm)
3. IBUPROFENO (λ_{\max} =221nm)

***RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS 3 PRINCIPIOS ACTIVOS SIN PIEL Y TRATADAS CON PIEL.**

1. RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN (REGRESIÓN LINEAL DE C/U DE LOS P.A.)
2. PRUEBA t PARA EL INTERCEPTO
3. COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS DOS CURVAS DE CALIBRACIÓN (CON Y SIN PIEL): PRUEBA F Y PRUEBA t.

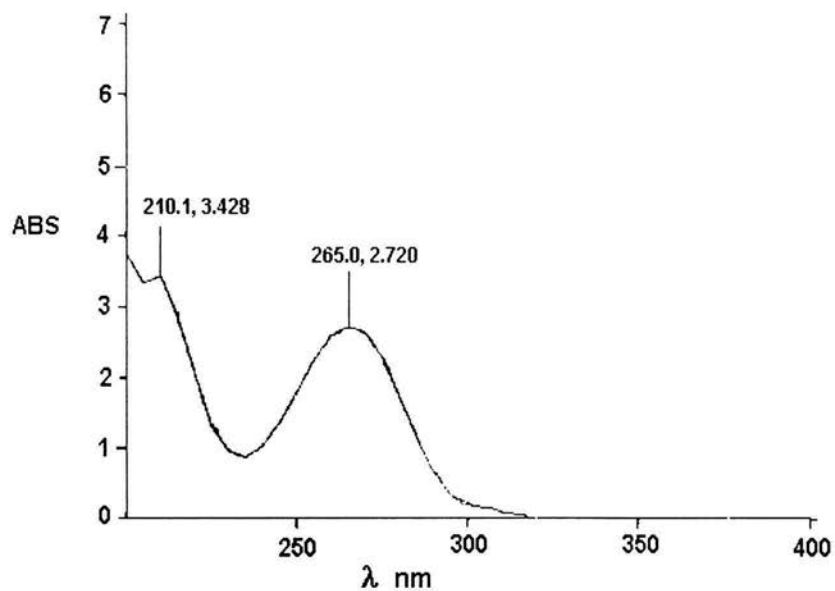
1. GRÁFICAS DE LOS BARRIDOS PARA CAFEÍNA CON Y SIN PIEL



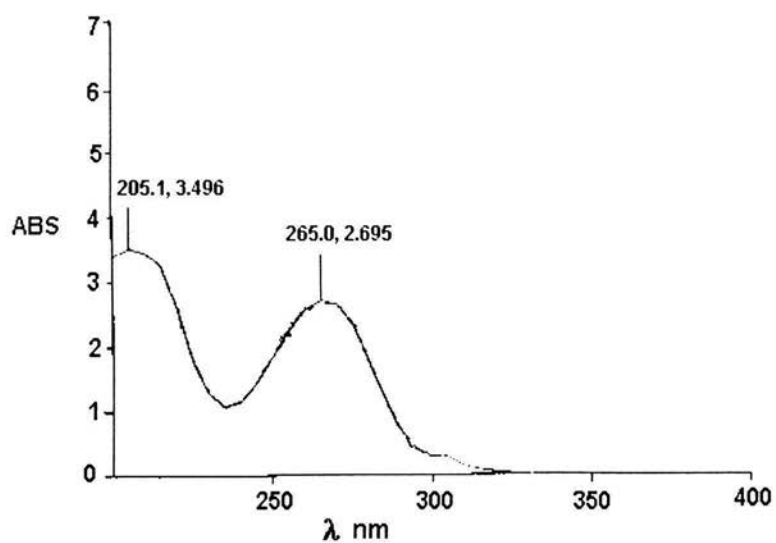
Barridos para Caf en SBIF pH=7.4, [50 μ g/ml]. 1a) sin piel, 1b) tratada con piel.

2. GRÁFICAS DE LOS BARRIDOS DE 5-FLUOROURACILO CON Y SIN PIEL.

2a)



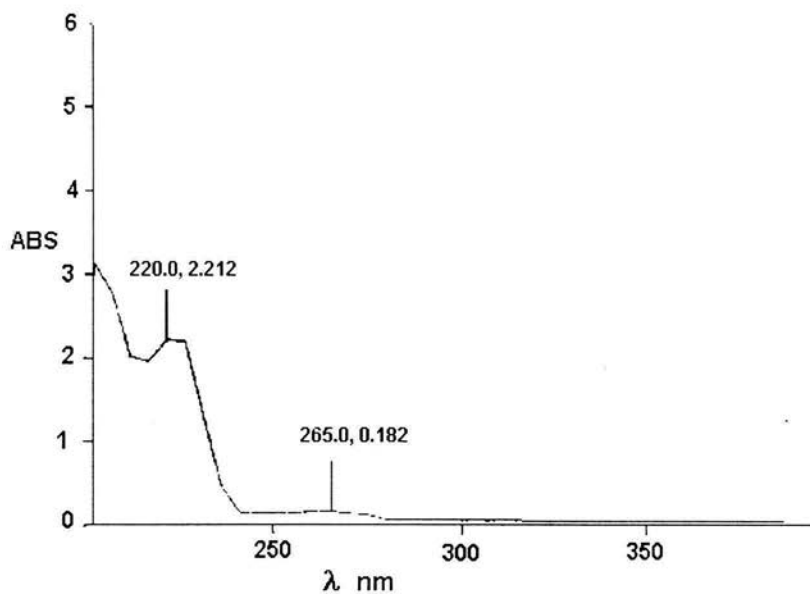
2b)



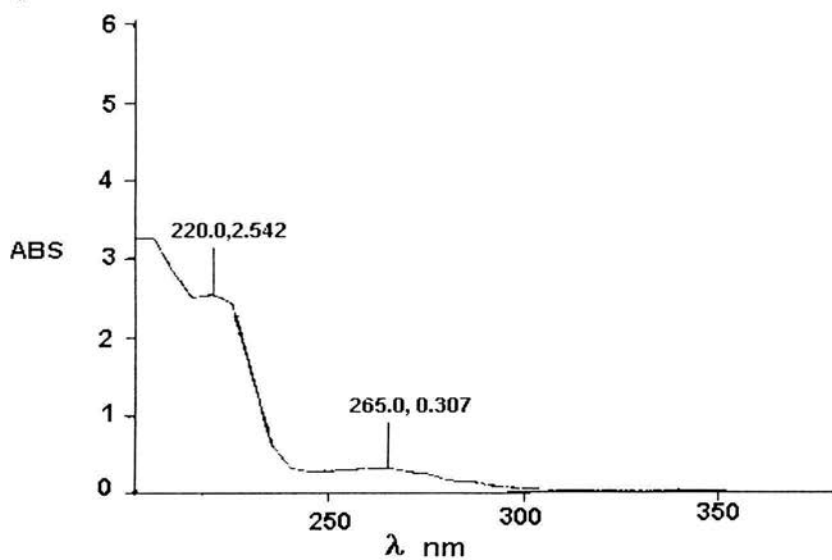
Barridos para 5-Flu en SBIF pH=7.4, [50 μ g/ml]. 2a) sin piel, 2b) tratada con piel.

3. GRÁFICAS DE LOS BARRIDOS DE IBUPROFENO CON Y SIN PIEL.

3a)



3b)



Barridos para Ib en SBIF pH=7.4, [50 μ g/ml]. 3a) sin piel, 3b) tratada con piel

RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN PARA CAFEÍNA

CAFEÍNA SIN PIEL

[$\mu\text{g/ml}$]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
10	0,5168	0,0517					
10	0,5188	0,0519					
10	0,5177	0,0518	0,0518	0,0001	0,1935		
20	1,0221	0,0511					
20	1,0341	0,0517					
20	1,0378	0,0519	0,0516	0,0004	0,7958	MEDIA	0,0514
30	1,5555	0,0518				S	5.4558E-
30	1,5608	0,0520				C.V %	1,0612
30	1,557	0,0519	0,0519	9,1064E-05	0,1754	R	0,9998
40	2,0075	0,0502				R²	0,9996
40	2,0551	0,0514				b	0,0208
40	2,0565	0,0514	0,0509	0,0007	1,3676	m	0,0505
50	2,5423	0,0508					
50	2,5462	0,0509					
50	2,5362	0,0507	0,0508	0,0001	0,1983		

CAFEÍNA EN CONTACTO CON PIEL

[$\mu\text{g/ml}$]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
1,5	0,0677	0,0451					
1,5	0,0686	0,0457					
1,5	0,0723	0,0482	0,0464	0,0016	3,5061		
3	0,1503	0,0501					
3	0,1449	0,0483					
3	0,1506	0,0502	0,0495	0,0011	2,1587		
7,5	0,3749	0,0499					
7,5	0,3759	0,0501					
7,5	0,3751	0,0500	0,0500	7,0553E-05	0,1409	MEDIA	0,0481
15	0,754	0,0503				S	1.9086E-3
15	0,7433	0,0496				C.V %	3,9668
15	0,743	0,0495	0,0498	0,0004	0,8391	R	0,9997
45	2,1366	0,0475				R²	0,9993
45	2,1167	0,0470				b	0,0256
45	2,1221	0,0472	0,0472	0,0002	0,4842	m	0,0458
60	2,7398	0,0457					
60	2,743	0,0457					
60	2,7533	0,0459	0,0458	0,0001	0,2569		

RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE 5-FLUOROURACILO

5-FLUOROURACILO SIN PIEL

[$\mu\text{g/ml}$]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
10	0,5597	0,0559					
10	0,5572	0,0557					
10	0,5534	0,0553	0,0557	0,0003	0,5698		
20	1,107	0,0554					
20	1,116	0,0558					
20	1,1162	0,0558	0,0556	0,0003	0,4721		
30	1,6812	0,0560					
30	1,6864	0,0562					
30	1,674	0,0558	0,0560	0,0002	0,3705	MEDIA	0,0555
40	2,2269	0,0557				S	4.8157E-4
40	2,2124	0,0553				C.V %	0,8675
40	2,2084	0,0552	0,0554	0,0002	0,4393	R	0,9998
50	2,7293	0,0546				R2	0,9996
50	2,7621	0,0552				b	0,02025
50	2,7302	0,0546	0,0548	0,0004	0,6817	m	0,0547

5-FLUOROURACILO EN CONTACTO CON PIEL

[$\mu\text{g/ml}$]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
1,5	0,0785	0,0523					
1,5	0,0749	0,0499					
1,5	0,0754	0,0503	0,0508	0,0013	2,5571		
3	0,1603	0,0534					
3	0,1544	0,0515					
3	0,1576	0,0525	0,0525	0,0009	1,8761		
7,5	0,4027	0,0537					
7,5	0,4065	0,0542					
7,5	0,4015	0,0535	0,0538	0,0003	0,6468	MEDIA	0,0516
15	0,7912	0,0527				S	1.6946E
15	0,7858	0,0524				C.V %	3,2821
15	0,7931	0,0529	0,0527	0,0002	0,4794	R	0,9996
45	2,2958	0,0510				R2	0,9992
45	2,2978	0,0511				b	0,0255
45	2,2859	0,0508	0,0509	0,0001	0,2779	m	0,0493
60	2,9318	0,0489					
60	2,9524	0,0492					
60	2,9422	0,0490	0,0490	0,0002	0,3501		

RESULTADOS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE IBUPROFENO

IBUPROFENO SIN PIEL

[µg/ml]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
10	0,4663	0,0466					
10	0,4553	0,0455					
10	0,4577	0,0458	0,0459	0,0006	1,2580		
15	0,68	0,0453					
15	0,677	0,0451					
15	0,6914	0,0461	0,0455	0,0005	1,1127		
20	0,9313	0,0466					
20	0,9147	0,0457					
20	0,9337	0,0467	0,0463	0,0005	1,1167	MEDIA	0,0454
30	1,3638	0,0455				S	9,1734E-4
30	1,3517	0,0451				C.V %	2,0220
30	1,394	0,0465	0,0457	0,0007	1,5904	R	0,9995
40	1,7944	0,0449				R2	0,9990
40	1,7713	0,0443				b	0,0395
40	1,8018	0,0450	0,0447	0,0004	0,8892	m	0,0436
50	2,2017	0,0440					
50	2,1871	0,0437					
50	2,21	0,0442	0,0439	0,0002	0,5270		

IBUPROFENO EN CONTACTO CON PIEL

[µg/ml]	ABS	Y/X	MEDIA	DESVEST	C.V%		
1,5	0,0712	0,0475					
1,5	0,0696	0,0464					
1,5	0,0665	0,0443	0,0461	0,0016	3,4581		
3	0,1211	0,0404					
3	0,1182	0,0394					
3	0,1213	0,0404	0,0401	0,0006	1,4434		
7,5	0,3323	0,0443					
7,5	0,323	0,0431					
7,5	0,3235	0,0431	0,0435	0,0007	1,6033		
15	0,6351	0,0423				MEDIA	0,0414
15	0,6265	0,0418				S	2,866E-3
15	0,6201	0,0413	0,0418	0,0005	1,2000	C.V %	6,9149
45	1,7777	0,0395				R	0,9997
45	1,7551	0,0390				R2	0,9994
45	1,738	0,0386	0,0390	0,0004	1,1334	b	0,0281
60	2,2988	0,0383				m	0,0380
60	2,2883	0,0381					
60	2,2869	0,0381	0,0382	0,0001	0,2839		

RESULTADO DE LAS PRUEBAS ESTADÍSTICAS DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN DE LOS 3 P.A CON Y SIN PIEL.

PRUEBA t PARA EL INTERCEPTO

Hipótesis planteada:

Ho: No hay evidencia estadística de que el intercepto sea diferente de cero $b=0$

Hi: Hay evidencia estadística de que el intercepto sea diferente de cero $b \neq 0$

No se rechaza Ho si $t_{\text{experimental}} < t_{\text{teórica}}$

CURVAS	CAFEÍNA SIN PIEL	CAFEÍNA CON PIEL	5-FLU. SIN PIEL	5- FLU. CON PIEL	IBUPROFENO SIN PIEL	IBUPROFENO CON PIEL
Intercepto(b)	0.0208	0.0256	0.02025	0.0255	0.0395	0.0281
n	5	6	5	6	6	6
Media	30	22	30	22	27.5	22
Σx	150	132	150	132	165	132
Σx^2	5500	5917.5	5500	5917.5	5725	5917.5
Σy	7.6881	6.2107	8.3068	6.6626	7.4277	5.1911
Σy^2	14.3783	12.7786	16.7938	14.7324	11.4519	8.8561
Sy^2	0.6392	1.2699	0.7483	1.4668	0.4513	0.8729
Sx^2	250	602.7	250	602.7	237.5	602.7
Sxy	0.0468	0.0846	0.0196	0.0493	0.0492	0.0579
t experimental	0.4236	0.5290	0.9797	0.9039	0.8959	0.8477
t teórica (0.05/2gl n-2)	3.18	2.78	3.18	2.78	2.78	2.78
Resultado	No se rechaza Ho	No se rechaza Ho	No se rechaza Ho	No se rechaza Ho	No se rechaza Ho	No se rechaza Ho

RESULTADO: Como no se rechaza Ho, debido a que $t_{\text{experimental}} < t_{\text{teórica}}$, se considera que el intercepto no es diferente de cero.

COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LAS CURVAS DE CALIBRACIÓN CON Y SIN PIEL.

- Prueba F para varianzas de dos muestras
- Prueba t para comparar las medias

CAFEÍNA SIN PIEL			CAFEÍNA CON PIEL		
X	Y	Y/X	X	Y	Y/X
10	0,5178	0,0518	1,5	0,0695	0,0464
20	1,0313	0,0516	3	0,1486	0,0495
30	1,5578	0,0519	7,5	0,3753	0,0500
40	2,0397	0,0509	15	0,7468	0,0498
50	2,5416	0,0508	45	2,1251	0,0472
			60	2,7454	0,0458

CAFEÍNA		
Prueba F para varianzas de dos muestras		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0514	0,0481
Varianza	2,334E-07	3,5912E-06
Observaciones	5	6
Grados de libertad	4	5
F	0,0649	
P(F<=f) una cola	0,0102	
Valor crítico para F (una cola)	0,1598	

Prueba F

Hipótesis

Ho: No hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

Hi: Hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de calibración con y sin membrana

No se rechaza Ho si $F_{calculada} < F_{critica}$.

RESULTADO: Como $0.06499 < 0.15984$ entonces no se rechaza H_0 y por lo tanto se considera que las varianzas son iguales.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

CAFEÍNA		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0514	0,0481
Varianza	2,334E-07	3,5912E-06
Observaciones	5	6
Varianza agrupada	2,0989E-06	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	9	
Estadístico t	3,7649	
P(T<=t) una cola	0,0022	
Valor crítico de t (una cola)	1,8331	
P(T<=t) dos colas	0,0045	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.05$	2,2622	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.01$	3,2498	

Hipótesis

H_0 : No hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

H_1 : Hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

No se rechaza H_0 si $t_{\text{experimental}} < t_{\text{teórica}}$

RESULTADO: Como $3.7649 > 2.2621$ con ($\alpha=0.05$) y $3.7649 > 3.2498$ con ($\alpha=0.01$), entonces se rechaza H_0 y se acepta que existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

5-FLUOROURACILO SIN PIEL

X	Y	Y/X
10	0,5568	0,0557
20	1,1131	0,0556
30	1,6805	0,0560
40	2,2159	0,0554
50	2,7405	0,0548

5-FLUOROURACILO CON PIEL

X	Y	Y/X
1,5	0,0763	0,0508
3	0,1574	0,0525
7,5	0,4036	0,0538
15	0,7900	0,0527
45	2,2932	0,0509
60	2,9421	0,0490

5-FLUOROURACILO		
Prueba F para varianzas de dos muestras		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0555	0,0516
Varianza	2,0197E-07	2,8687E-06
Observaciones	5	6
Grados de libertad	4	5
F	0,0704	
P(F<=f) una cola	0,0118	
Valor crítico para F (una cola)	0,1598	

Prueba F**Hipótesis**

Ho: No hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de con y sin piel.

Hi: Hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de con y sin piel.

No se rechaza Ho si $F_{calculada} < F_{critica}$

RESULTADO: Como $0.0704 < 0.15984$, entonces no se rechaza Ho, y por lo tanto se considera que las varianzas son iguales.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

5-FLUOROURACILO		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0555	0,0516
Varianza	2,0197E-07	2,8687E-06
Observaciones	5	6
Varianza agrupada	1,6835E-06	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	9	
Estadístico t	4,9368	
P(T<=t) una cola	0,0004	
Valor crítico de t (una cola)	1,8331	
P(T<=t) dos colas	0,0008	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.05$	2,2622	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.01$	3,2498	

Hipótesis

Ho: No hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

Hi: Hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

No se rechaza Ho si $t_{\text{experimental}} < t_{\text{critica}}$

RESULTADO: Como $4.9368 > 2.2621$ con $(\alpha=0.05)$ y $4.9368 > 3.2498$ con $(\alpha=0.01)$, entonces se rechaza Ho y se acepta que existe diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

IBUPROFENO SIN PIEL			IBUPROFENO CON PIEL		
X	Y	Y/X	X	Y	Y/X
10	0,4598	0,0459	1,5	0,0691	0,0461
15	0,6828	0,0455	3	0,1202	0,0401
20	0,9266	0,0463	7,5	0,3263	0,0435
30	1,3698	0,0457	15	0,6272	0,0418
40	1,7892	0,0447	45	1,7569	0,0390
50	2,1996	0,0439	60	2,2913	0,0382

IBUPROFENO		
Prueba F para varianzas de dos muestras		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0454	0,0414
Varianza	7,4064E-07	8,8002E-06
Observaciones	6	6
Grados de libertad	5	5
F	0,0842	
P(F<=f) una cola	0,0084	
Valor crítico para F (una cola)	0,1980	

Prueba F

Hipótesis

Ho: No hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de cafeína con y sin piel.

Hi: Hay diferencia significativa entre las varianzas de las pendientes de las curvas de cafeína con y sin piel.

No se rechaza Ho si F calculada $<$ F crítica

RESULTADO: Como $0.08825 < 0.19800$, entonces no se rechaza Ho, y por lo tanto se considera que las varianzas son iguales.

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales.

IBUPROFENO		
Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	SIN PIEL	CON PIEL
Media	0,0454	0,0414
Varianza	7,4064E-07	8,8002E-06
Observaciones	6	6
Varianza agrupada	4,7704E-06	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	10	
Estadístico t	3,1092	
P(T<=t) una cola	0,0055	
Valor crítico de t (una cola)	1,8125	
P(T<=t) dos colas	0,0111	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.05$	2,2281	
Valor crítico de t (dos colas) $\alpha=0.01$	3,1693	

Hipótesis

Ho: No hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

Hi: Hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

No se rechaza Ho si $t_{\text{experimental}} < t_{\text{crítica}}$

RESULTADO: Como $3.1091 > 2.2281$ con ($\alpha=0.05$), entonces se rechaza Ho y se acepta que hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración con y sin piel.

Pero como $3.1091 < 3.1693$ con ($\alpha=0.01$), entonces para este nivel de significancia se acepta Ho y por lo tanto no hay diferencia significativa entre las pendientes de las curvas de calibración.

ANEXO 2

RESULTADOS DE LAS PERMEACIONES DE LOS 3 PRINCIPIOS ACTIVOS.

- CAFEÍNA (S/PROM, CON LS/T 2%, CON LS/T 5%)
- 5-FLUOROURACILO (S/PROM, CON LS/T 2%, CON LS/T 5%)
- IBUPROFENO (S/PROM, CON LS/T 2%, CON LS/T 5%)

EVALUACIÓN ESTADÍSTICA PARA COMPARAR:

- LAS CANTIDADES DE PRINCIPIO ACTIVO ACUMULADO EN EL COMPARTIMIENTO RECEPTOR A LAS 8 HRS, DURANTE LAS PERMEACIONES DE LOS 3 P.A (S/PROM, CON LS/T 2 Y 5%).
- LAS CANTIDADES DE PRINCIPIO ACTIVO RETENIDO EN LA PIEL DURANTE LAS PERMEACIONES DE LOS 3 P.A (S/PROM, CON LS/T 2 Y 5%) Y EXTRAIDOS A LAS 48 HRS.
- DETERMINACIÓN DE LAS PRUEBAS DE DUNCAN PARA CAFEÍNA E IBUPROFENO.

PERMEACIÓN DE CAFEÍNA SIN PROMOTOR

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	MEDIA	DESVEST
0,5	23,7876	56,4935	5,2679	4,8301	52,9183	5,8922	2,8856	21,7250	23,6220
1	97,0033	118,7647	76,4902	49,0784	92,4379	27,5686	61,1438	74,6409	31,1409
2	161,3627	176,2026	138,0131	115,3987	145,6928	77,2745	126,9052	134,4071	32,3923
3	234,0065	210,0523	182,9248	189,0556	201,9837	141,8693	193,4542	193,3352	28,2367
4	292,5261	262,9804	235,3137	265,1307	252,2124	208,5098	252,3595	252,7189	26,1462
5	369,2549	316,4706	313,0882	341,6078	296,2581	273,4085	307,9935	316,8688	30,9923
6	432,9804	373,8824	390,6339	419,9608	345,5784	344,3595	364,8464	381,7488	34,6833
7	501,8333	457,1993	438,6895	498,6765	399,5425	414,5882	420,6667	447,3137	40,5087
8	567,3627	487,3595	497,7026	577,0229	455,9902	487,1536	482,0327	507,8035	45,8872

Membrana	21.4058	23.1787	27.1605	3.5324	8.1124	14.9851	13.9186	16.0419	8.4490
----------	---------	---------	---------	--------	--------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9997	0,9917	0,9954	0,9995	0,9991	0,9981	0,9989
b	28,3706	57,6786	8,0657	-34,8582	43,9471	-51,8745	9,1303
m ($\mu\text{g/hr}$)	67,4824	53,9301	61,3425	75,9666	51,0589	66,3813	59,3433
J ($\mu\text{g/hr cm}^2$)	106,0877	84,7824	96,4353	119,4255	80,2686	104,3568	93,2925

FLUJO PROMEDIO $J = 97.8069 \pm 13.4060$ ($\mu\text{g/hr cm}^2$)

El intervalo de horas usados para la regresión lineal fue de 1-8

$J = m/A$

b = ordenada al origen

m = pendiente

A = 0.6361 cm^2

PERMEACIÓN PARA CAFEÍNA CON LAUREATO DE SACAROSA EN
TRANSCUTOL AL 2%

Q(Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0.5	16,6536	2,6471	4,4379	37,5523	3,5621	18,0817	13,8224	13,4722
1	47,0556	15,1339	8,0817	64,4804	14,4837	53,6569	33,8154	24,0594
2	78,2712	55,4739	34,6895	98,2876	30,9935	94,2908	65,3344	29,3509
3	101,8169	62,8431	40,6830	137,5065	65,7222	131,2484	89,9700	39,6409
4	143,1046	97,8529	66,5098	180,1732	96,6993	184,7647	128,1841	48,6659
5	175,2124	174,2255	123,9967	228,9216	136,5817	239,4281	179,7277	46,9092
6	200,8203	224,3693	154,6471	266,6928	172,3922	288,8039	217,9542	52,5615
7	226,1242	280,6339	192,5261	309,2386	194,9314	318,5163	253,6618	56,5111
8	268,9477	321,0490	227,8137	353,2451	215,2647	351,0392	289,5599	60,9661

Membrana	30.1326	24.1207	42.6247	16.3575	45.0284	16.1599	29.0706	12.5881
----------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------

r^2	0,9964	0,9719	0,9723	0,9988	0,9915	0,9934
b	14,7248	-51,1321	-39,954	16,6531	-22,6012	7,8899
m ($\mu\text{g/hr}$)	31,2099	45,5733	32,4606	41,8145	30,7744	44,4064
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	49,0644	71,6449	51,0306	65,7357	48,3798	69,8103

FLUJO PROMEDIO $J=59.2776 \pm 10.9241$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usado para la regresión lineal fue de 1-8

PERMEACIÓN PARA CAFEÍNA CON LAUREATO DE SACAROSA EN TRANSCUTOL AL 5%

Q(Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hrs)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0.5	2,7516	6,9673	22,5948	8,2908	3,4706	3,1895	7,8775	7,5534
1	19,3856	16,4837	31,5980	12,7255	9,8954	11,8366	16,9875	7,9305
2	53,1013	45,9673	61,9641	54,4804	41,0556	25,8529	47,0703	12,6545
3	89,1993	70,6732	96,8366	79,3431	59,8203	50,0065	74,3132	17,7105
4	128,6732	103,6307	129,0294	111,4052	83,2484	71,0686	104,5093	23,6802
5	168,2222	136,8758	164,1765	144,8464	105,2679	94,3791	135,6279	30,2891
6	205,1895	166,7778	187,5098	174,8431	131,4118	124,5817	165,0523	31,5713
7	245,71567	194,9739	211,9281	205,5327	162,8366	149,5556	195,0904	34,8402
8	290,6111	230,3595	246,2843	238,1471	197,8954	180,7549	230,6754	38,6224

Membrana	6.3963	12.1267	8.7215	9.7663	13.1228	16.2736	11.0679	3.5062
-----------------	--------	---------	--------	--------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9989	0,9989	0,9969	0,9986	0,9925	0,9922
b	-24,0504	-16,6245	4,0342	-14,4678	-16,8764	-21,2086
m ($\mu\text{g/hr}$)	38,6806	30,5205	30,4737	31,5852	25,7345	24,3807
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	60,8089	47,9807	47,9071	49,6544	40,4567	38,3284

FLUJO PROMEDIO $J=47.5227 \pm 7.9485$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usado para la regresión lineal fue de 1-8

RESULTADOS DE LAS PERMEACIONES DE 5-FLUOROURACILO SIN PROMOTOR.

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7	MEDIA	DESVEST
0,5	12,4442	7,0223	38,3884	47,3063	15,3651	11,6045	13,3874	20,7883	15,4953
1	30,1187	26,7748	81,3286	96,0822	36,7728	24,5751	25,4178	45,8671	29,8491
2	45,7911	57,2129	118,5852	145,1379	58,4574	61,4057	43,3600	75,7072	39,6749
3	62,6136	93,1430	168,5325	169,5304	85,8712	104,4889	86,2819	110,0659	42,1795
4	105,3986	147,6237	203,7688	200,7079	120,3864	148,6856	131,0203	151,0845	38,0526
5	127,1531	194,4037	241,6460	229,3083	157,6582	176,6714	153,9584	182,9713	41,5499
6	166,6308	232,9473	282,0761	261,2343	203,6653	202,6065	198,4868	221,0924	39,9863
7	203,6045	276,5811	315,1704	291,4442	245,6105	225,7059	218,1724	253,7556	41,5284
8	246,1278	321,1552	358,7769	322,4969	287,8235	245,6075	240,7333	288,9602	46,6848

Membrana	18.6906	15.0064	14.6409	12.5879	13.2012	16.2893	15.7034	15.1599	2.0323
----------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9824	0,9969	0,9945	0,9793	0,9896	0,9845	0,9905
b	-12,4021	-21,4084	34,8724	58,5355	-11,0102	1,2575	-7,1793
m ($\mu\text{g/hr}$)	30,4521	42,4531	40,9430	33,8748	35,9097	32,6036	32,2036
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	47,8731	66,7397	64,3657	53,2538	56,4528	51,2555	50,6267

FLUJO PROMEDIO $J = 55.7953 \pm 7.1904$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usado para la regresión lineal fue de 0.5-8

PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO CON LAUREATO DE SACAROSA AL 2%.

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0,5	30,1034	37,6399	23,5314	25,9655	33,9341	14,7870	27,6602	8,1309
1	69,3408	72,0456	52,2596	78,4108	74,5071	26,7444	62,2181	19,5862
2	111,1247	126,8945	83,5254	130,7099	122,5101	49,8742	104,1065	31,5585
3	157,2596	181,2870	125,4706	176,8569	169,4422	74,0081	147,3874	41,1494
4	199,8986	205,9533	167,9118	210,9979	212,696	117,2008	185,7764	37,3874
5	245,2789	244,9442	212,7657	246,7211	254,9209	166,0375	228,4447	33,8559
6	292,9290	288,9158	259,9290	282,9797	290,5619	216,2495	271,9275	29,8096
7	337,2809	352,5091	301,1592	322,0406	327,2434	252,8458	315,5132	35,0884
8	382,5335	421,1288	344,4919	361,5822	362,3641	303,1460	362,5411	39,2089

Membrana	21.7370	31.9359	14.9206	17.1616	24.7270	20.0347	21.7578	6.0494
-----------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9987	0,9891	0,9988	0,9851	0,9921	0,9840
b	16,8417	21,6625	1,7894	33,8840	31,6679	-22,7585
m ($\mu\text{g/hr}$)	45,8678	47,5714	42,6011	41,9537	42,8265	39,0608
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	72,1078	74,7860	66,9723	65,9545	67,3267	61,4067

FLUJO PROMEDIO $J = 68.0924 \pm 4.7337$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usado para la regresión lineal fue de 0.5-8

PERMEACIÓN DE 5-FLUOROURACILO CON LAUREATO DE SACAROSAL
5%.

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0,5	33,1917	28,1014	33,4807	57,8093	9,0091	13,1562	29,1247	17,4299
1	67,5943	62,3489	68,0477	86,2211	30,0822	55,3357	61,6049	18,5304
2	106,5913	100,6765	107,0112	119,5862	55,6613	102,8458	98,7287	22,0953
3	147,0578	140,1329	145,2748	141,4077	83,3124	151,4300	134,7693	25,5327
4	188,5375	175,4544	185,1298	167,0446	109,2323	199,7373	170,8559	32,1983
5	231,1491	229,8864	218,3763	193,9807	138,5538	251,8387	210,6308	40,0554
6	272,1024	292,6126	249,5842	228,4746	170,9026	306,3651	253,3403	49,2632
7	302,9483	336,1460	277,2901	268,1531	201,7728	361,7129	291,3372	56,3063
8	325,7738	360,4686	291,3499	292,8559	220,6095	401,7231	315,4635	62,7094

Membrana	18.3251	12.4530	10.2161	8.07718	28.7742	26.4906	17.3894	8.6702
----------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9932	0,9939	0,9837	0,9944	0,9981	0,9985
b	26,3241	8,3456	34,6393	50,2938	-1,8231	-3,2007
m ($\mu\text{g/hr}$)	39,3981	45,2251	34,6244	30,2161	28,3711	51,3137
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	61,9369	71,0975	54,4323	47,5022	44,6016	80,6693

FLUJO PROMEDIO $J = 60.0399 \pm 13.9887$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usado para la regresión lineal fue de 0.5-8

PERMEACIÓN IBUPROFENO SIN PROMOTOR

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0.5	3,2171	0	0	0	0	0	0,5362	1,3134
1	7,3539	9,9039	0	4,5711	0	0	3,6382	4,3277
2	16,5316	13,9974	6,4382	12,2329	4,5750	15,9237	11,6164	5,0031
3	35,7592	25,3618	18,0118	31,5474	12,4184	43,3776	27,7461	11,4750
4	85,5987	42,6316	35,7829	59,3447	23,6684	77,2974	54,0539	24,2936
5	127,9342	56,71578	53,7513	87,5645	38,0605	112,3263	79,3921	35,7428
6	190,2947	80,2776	73,8316	121,3697	55,7605	156,7461	113,0467	52,6109
7	223,4882	106,9224	97,1724	150,8921	59,4395	193,5316	138,5743	62,2265
8	271,9618	124,0658	123,1066	170,4789	78,5724	219,8368	164,6704	71,2428

Membrana	13.5842	14.0142	18.9470	12.4784	26.1890	29.7449	19.1596	7.2623
-----------------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	---------	--------

r^2	0,9723	0,9674	0,9739	0,9835	0,9769	0,9896
b	-61.9015	-19.7970	-29.3906	-35.5537	-17.8353	-47.7289
m ($\mu\text{g/hr}$)	40,3926	17,1737	17,8671	25,6231	11,5327	33,3575
J ($\mu\text{g/hrcm}^2$)	63,5004	26,9984	28,0887	40,2815	18,1303	52,4407

FLUJO PROMEDIO $J=38.2400 \pm 17.1914$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usadas para la regresión fue de 1-8

PERMEACIÓN DE IBUPROFENO CON LAUREATO DE SACAROSA AL 2%

Q (Cantidad acumulada) μg

Tiempo (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0.5	12,8013	6,0197	38,8342	24,9039	14,4276	9,8368	17,8039	12,0950
1	41,3487	16,3105	72,6987	60,0908	35,4276	33,4342	43,2184	20,1877
2	85,6776	62,1711	126,3039	109,2829	74,2105	83,3211	90,1612	23,5657
3	141,3632	111,5921	187,4408	171,1500	113,8855	126,1105	141,9237	31,2489
4	186,9711	139,6539	247,0579	230,0132	145,1329	162,1224	185,1586	44,8333
5	248,1711	197,3605	310,7408	288,5803	149,5539	210,6711	234,1796	60,1442
6	313,0066	246,0158	371,7276	345,3237	200,7158	256,0816	288,8118	65,2958
7	379,6421	305,7434	436,2039	403,8434	221,4118	295,4289	340,3789	80,1562
8	446,9882	360,8487	496,7013	459,1658	269,8145	336,5092	395,0046	86,5125

Membrana	6.8879	3.5125	5.7459	1.9225	9.4175	1.5395	4.8376	3.0703
----------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------	--------

r^2	0,9947	0,9944	0,9996	0,9997	0,9839	0,9991
b	-31,3234	-39,1776	6,0703	-1,2517	9,7534	-5,9969
m ($\mu\text{g/hr}$)	58,1599	48,6977	61,1198	57,7073	31,4479	43,1015
J ($(\mu\text{g/hr}\text{cm}^2)$)	91,4319	76,5567	96,0852	90,7205	49,4387	67,7590

FLUJO PROMEDIO $J=78.6653 \pm 17.8289$ ($\text{mg/hr}\text{cm}^2$)

El intervalo de horas usadas para la regresión fue de 1-8

PERMEACIÓN DE IBUPROFENO CON LAUREATO DE SACAROSA AL 5%

Q (Cantidad acumulada) μg

TIEMPO (hr)	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	MEDIA	DESVEST
0.5	2,5776	7,7684	0	0	5,6566	11,0921	4,5158	4,4648
1	6,1145	13,2276	0	7,5276	9,0276	14,0526	8,3250	5,1413
2	25,1447	21,4539	5,7987	13,8592	15,3592	25,6855	17,8836	7,6806
3	58,6342	51,8684	22,5632	54,3553	55,8553	57,1105	50,0645	13,6719
4	94,0855	73,7211	50,2105	84,3592	85,2434	78,2921	77,6519	15,1101
5	127,2355	90,9711	71,3684	109,9342	111,2132	109,1132	103,3059	19,4163
6	163,5355	120,5724	102,3553	142,5513	140,2974	141,7579	135,1783	21,0650
7	205,4329	145,8395	134,6487	173,6921	176,1355	178,8118	169,0934	25,3493
8	250,5000	177,8684	169,2000	208,3579	218,4908	210,9789	205,8993	29,3673

Membrana	3.1187	0	0	0.4444	0	0.1048	0.06113	1.2404
----------	--------	---	---	--------	---	--------	---------	--------

r^2	0,9919	0,9894	0,9719	0,9915	0,9875	0,9879
b	-42,2357	-20,0834	-42,4025	-34,3386	-35,1233	-28,1432
m ($\mu\text{g/hr}$)	35,2380	23,7830	24,8712	29,7040	30,3502	28,9152
J($\mu\text{g/hrcm}^2$)	55,3968	37,3888	39,0996	46,6971	47,7129	45,4570

FLUJO PROMEDIO $J=45.2921 \pm 6.4928$ ($\mu\text{g/hrcm}^2$)

El intervalo de horas usadas para la regresión fue de 1-8

COMPARACIÓN ESTADÍSTICA DE LA CANTIDAD DE P.A ACUMULADO EN EL COMPARTIMENTO RECEPTOR A LAS 8 HORAS DE PERMEACIÓN DE LOS ACTIVOS SIN PROMOTOR, CON PROMOTOR AL 2 Y 5%.

CAFEÍNA (μg)

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
567,3627	268,9477	290,6111	1126,9216
487,3595	321,0490	230,3595	1038,7679
497,7026	227,8137	246,2843	971,8006
577,0229	353,2451	238,1471	1168,4150
455,9902	215,2647	197,8954	869,1503
487,1536	351,0392	180,7549	1018,9477
482,0327			482,0327
SUMA 3554.6242	1737,3595	1384,0523	6676,0359
Ri ² 12635363	3018417,95	1915600,73	44569456

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fcal.	F de tablas
COLUMNAS	281626,048	2	140813,024	58,2526	3,63
ERROR	38676,5235	16	2417,28272		
TOTAL	320302,571	18			

Ho: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

Hi: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No e rechaza Ho si $F_{cal} < F$ de tablas.

RESULTADO: Dado que $58.2526 > 3.63$, se rechaza Ho y se acepta que existe diferencia significativa entre las cantidades acumuladas.

PRUEBA DE DUNCAN

CAFEÍNA

PARÁMETRO	SIN PROMOTOR	CON PROMOTOR 2%	CON PROMOTOR 5%
MEDIA	507,8035	289,5599	230,6754
DESVEST	45,8872	60,9661	38,6224

Sp	49,1659
df	16

Para muestras de		2	3
Rango de significancia		3.0	3.15
Rango mínimo significativo		147.4976	154.8725
	LS/T 5% 230.6754	LS/T 2% 289.5599	S/PROM 507.8035

S/PROM – LS/T 5%	277,1281	>	154,8725	diferencia significativa
S/PROM – LS/T 2%	218,2435	>	147,4976	diferencia significativa
LS/T 2% – LS/T 5%	58,8845	<	147,4976	diferencia no significativa

5-FLUOROURACILO (μg).

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
246,1278	382,5335	325,7738	954,4351
321,1552	421,1288	360,4686	1102,7525
358,7769	344,4919	291,3498	994,6187
322,4969	361,5822	292,8559	976,9351
287,8235	362,3641	220,6095	870,7972
245,6075	303,1460	401,7231	950,4767
240,7333			240,7333
SUMA 2022,7211	2175,2465	1892,7809	6090,7485
R ² 4091400,63	4731697,12	3582619,66	37097217

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fcal.	F de tablas
COLUMNAS	17720,1607	2	8860,0803	3,5067	3,63
ERROR	40425,8324	16	2526,6145		
TOTAL	58145,9931	18			

Ho: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

Hi: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No se rechaza Ho si $F_{cal} < F$ de tablas.

RESULTADO: Dado que $3.5067 < 3.63$, no se rechaza Ho y se acepta que no existe diferencia significativa entre las cantidades acumuladas.

IBUPROFENO (μg).

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
271.6066	446,6329	250.1447	968.3842
123,7500	360,4934	177,5132	661,7566
122.8303	496,3461	168,9237	788.1000
170,1632	458,8105	208,0421	837,0158
78,2961	269,4592	218.1355	557,2579
219,5605	336,1539	210,6237	766,3382
SUMA 986.2066	2367,8961	1224,7500	4578,8526
Ri ² 972603.416	5606931,72	1500012,56	20965891,4

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fcal.	F de tablas
COLUMNAS	181819,537	2	90909,7684	20,3720	3,68
ERROR	66937,2072	15	4462,4805		
TOTAL	248756,744	17			

Ho: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

Hi: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo acumulado en el compartimento receptor a las 8 horas, durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No se rechaza Ho si $F_{cal} < F$ de tablas.

RESULTADO: Dado que $20,372026 > 3,68$, se rechaza Ho y se acepta que existe diferencia significativa entre las cantidades acumuladas.

PRUEBA DE DUNCAN

IBUPROFENO

PARÁMETRO	SIN PROMOTOR	CON PROMOTOR 2%	CON PROMOTOR 5%
MEDIA	164.3678	394.6493	205,5638
DESVEST	71.2229	86.5125	29,3482

Sp	66,8791
df	15

Para muestras de		2	3
Rango de significancia		3.01	3.16
Rango mínimo significativo		201.3060	211.3379
	S/PROM	LS/T 5%	LS/T 2%
	164.3678	205.5838	394.6493

LS/T 2% – S/PROM	230,2816	>	211,0937	diferencia significativa
LS/T 2% – LS/T 5%	189,0855	<	201,0734	diferencia no significativa
LS/T 5% – S/PROM	41,1961	<	201,0734	diferencia no significativa

CANTIDAD DE PRINCIPIO ACTIVO RETENIDO EN LA MEMBRANA DURANTE LAS PERMEACIONES DE LOS 3 PRINCIPIOS ACTIVOS , SIN PROMOTOR, CON PROMOTOR AL 2 Y 5%, Y EXTRAIDOS A LAS 48 HORAS.

CAFEÍNA (μg)

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
21,4058	30,1326	6,3963	57,9347
23,1787	24,1207	12,1267	59,4261
27,1605	42,6247	8,7215	78,5067
3,5324	16,3575	9,7663	29,6562
8,1124	45,0284	13,1228	66,2636
14,9851	16,1599	16,2736	47,4186
13,9186			13,9186
SUMA 112,2936	174,4239	66,40711	353,1246
R ² 12609,8532	30423,6943	4409,9042	124696,987

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fcal	F de tablas
COLUMNAS	1044.0081	2	522.0040	6,5144	3,63
ERROR	1282.0899	16	80.1306		
TOTAL	2326.0979	18			

H₀: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

H₁: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No se rechaza H₀ si FcaL < F de tablas.

RESULTADO: Como 6.5144 > 3.63, se rechaza H₀ y se acepta que existe diferencia significativa entre las cantidades de activo retenidas.

PRUEBA DE DUNCAN

CAFEÍNA

PARÁMETRO	SIN PROMOTOR	CON PROMOTOR 2%	CON PROMOTOR 5%
MEDIA	16,0376	29,0723	11,0678
DESVEST	8,4448	12,5861	3,5062

Sp	8.9492
df	16

Para muestras de		2	3
Rango de significancia		3.0	3.15
Rango mínimo significativo		26.8476	28.1899
	LS/ 5%	S/PROM	LS/T 2%
	11.0678	16.0376	29.0723

LS/T2% – LS/T 5%	18,0045 < 28,1899	diferencia no significativa
LS/T 2% – S/PROM	13,0346 < 26,8476	diferencia no significativa
S/PROM – LS/T 5%	4,9698 < 26,8476	diferencia no significativa

5-FLUOROURACILO (μg).

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
18,6906	21,7370	18,3251	58,7527
15,0064	31,9359	12,4530	59,3954
14,6409	14,9206	10,2161	39,7776
12,5879	17,1919	8,0772	37,8570
13,2012	24,7270	28,7742	66,7024
16,2893	20,0347	26,4906	62,8146
15,7030			15,7030
SUMA 106,1194	130,5472	104,3362	341,0028
R ² 11261,3296	17042,5679	10886,043	116282,91

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fcal.	F de tablas
COLUMNAS	143,3767	2	71,6883	1,9653	3,63
ERROR	583,6179	16	36,4761		
TOTAL	726,9947	18			

Ho: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

Hi: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No se rechaza Ho si $F_{cal} < F$ de tablas.

RESULTADO: Como $1.9653 < 3.63$, no se rechaza Ho y se acepta que no existe diferencia significativa entre las cantidades de activo retenidas.

IBUPROFENO (μg).

SIN PROMOTOR	C/PROM 2%	C/PROM 5%	SUMA
13,5842	6,8879	3,1187	23,5907
14,0142	3,5126	0	17,5268
18,9470	5,7459	0	24,6929
12,4784	1,9225	0,4445	14,8454
26,1890	9,4175	0	35,6065
29,7449	1,5395	0,1048	31,3892
SUMA 114.9578	29.0258	3.6679	147.6517
Ri ² 13215.2826	842.4991	13.4541	21800.9917

ANOVA

FV	SC	GL	CM	Fexp	F de tablas
COLUMNAS	1134,0409	2	567,0205	26,7013	3,68
ERROR	318,5348	15	21,2357		
TOTAL	1452,5757	17			

Ho: No hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

Hi: Hay diferencia significativa entre las cantidades de principio activo retenidas en la membrana durante las permeaciones sin promotor, con promotor al 2 y 5%.

No se rechaza Ho si $F_{cal} < F$ de tablas.

RESULTADO: Como $26.7013 > 3.68$, se rechaza Ho y se acepta que existe diferencia significativa entre las cantidades de activo retenidas

PRUEBA DE DUNCAN

IBUPROFENO

PARAMETRO	SIN PROMOTOR	CON PROMOTOR 2%	CON PROMOTOR 5%
MEDIA	19,1596	4,8376	0,6113
DESVEST	7,2623	3,0703	1,2404

Sp	4.6082
df	15

Para muestras de		2	3
Rango de significancia		3.01	3.16
Rango mínimo significativo		13.8707	14.5619
	LS/T 5%	LS/T 2%	S/PROM
	0.6113	4.8376	19.1596

S/PROM – LS/T 5%	18,5483	>	14,5619	diferencia significativa
S/PROM – LS/T 2%	14,3219	>	13,8707	diferencia significativa
LS/T 2% – LS/T 5%	4,2263	<	13,8707	diferencia no significativa

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1) Orkin M., Howard I. M., Mark V. D. Dermatología. Ed. El Manual Moderno. 1ª edición. 1994, México. pp 19-21,3-17.
- 2) Wilkinson J. B., Moore R. J. Cosmetología de Harris. Ed. Díaz de Santos.1990., México. pp 3-7.
- 3) Amado S. Lecciones de Dermatología. Ed. Méndez editores. 13ª edición.1995, México. pp 1-22.
- 4) Arenas R. Atlas de Dermatología (Diagnostico y tratamiento). Ed Interamericana. 2ª edición.1996. México. pp 1-6.
- 5) Gartner P.L., Hiatt L. J. Histología Texto y Atlas. Ed. Mc Graw Hill-Interamericana.1997,México. pp 286.
- 6) Rassner. Atlas y Texto de Dermatología. Ed. Mosby/Doyma Libros. 4ªedición. 1994, Barcelona (España). pp 3-8
- 7) Genesser F. Histología. 2ª Edición. Ed.Panamericana.1996, México. pp 354-360.
- 8) <http://escuela.med.puc.c/publicaciones/Guias/dermatologia/estructura/Dermato Est-Ish>.
- 9) Winstor, T. and Burch, G. E. Differential roles of layers of humanepigastric skin on diffusion of water. Arch. Intern.Med 74:428-444,1944.
- 10) Blank, I.H. Cutaneous barriers, J.Invest.Dermatol.45:249-256, 1965.
- 11) Breathnach, A. S., Goodman, T. Stolinsk C, and Gross, M.Freeze fracturereplication of celuls of stratum corneum of human epidermis. J.Anat 114:65-81, 1973.
- 12) Squier. C. A. The permeability of keratinizad and non keratinized oral epithelium to horse radish peroxidase. J.Ultrastr. Res. 43:160-177, 1973.
- 13) Elias, P.M., McNutt, N.S., and friend, D.S. Membrane alterations duringcornification of mammalian squamous epithelia: A freeze-fracture, tracerand thin-section study. Anat. Rec. 189(1977) 577-594.

- 14) Hadgraft J., Guy H. R. Transdermal Drug Delivery: (Developmental Issues and Research Initiatives). Vol.35. Ed. Marcel Dekker.1989, New York (USA).pp 1-11, 13, 197-201.
- 15) Robinson, R. J., Lee, H. V., Controlled Drug Delivery: Fundamental and applications. Vol.29. Ed. Marcel Deckker. 2a Ed. 1987.New York (USA).pp 229-233, 283-285, 515-523, 546-448.
- 16) Yie W. Chien. Transdermal Controlled Systemic Medications. Vol.31.Ed.Marcel Deckker.1987. USA. pp 391-394,524-530.
- 17) Banker, S.Gilbert.,T. Rhodes. Christopher. Modern Pharmaceutics. Vol.72, 3ª Edición. Ed. Marcel Dekker.1996.USA. pp 239-268.
- 18) Michaelis AS, Chandrasekaran SK, Shaw JE. Drug permeation through human skin: Theory and in vitro experimental measurement. ALChE J 1975;21: 985-996.
- 19) Fôster Thomas. Cosmetic lipids and the skin barrier. Ed. Marcel Deckker, 2002, New York (USA). pp 3-5.
- 20) Chien W. Yie. Novel Drug Delivery Systems. Vol-14. Ed. MarcelDekker.1982, New York (USA). pp 149-213.
- 21) Aiache J. M., Devissaguet J.PH., Biofarmacia. Ed. El Manual Moderno. 2ª edición, 1983. Barcelona (España) pp 377-404.
- 22) Bronaugh L. R., Maibach, I. H. Percutaneous Absorption.Ed. Marcel Dekker. 2a edición, 1989, New York (USA). pp 13-16, 44-47,95-97, 583-590.
- 23) Treherne, J.E., J physiol.Lond.,133,171,1956.
- 24) Bronaught L. R., Maibach, I. H. Percutaneous Absorption. Vol.97. 3ª Edición. Ed. Marcel Deckker.1999, USA. pp 514-545.
- 25) Osborne W. D., Amman H. A. Topical Drug Delivery. Vol-42. Ed. Marcel Dekker.1990, New York (USA). pp 5-8,15-17,29-41.
- 26) Jeanetta du Plessis, W.John, Anja Judefeind, Jonathan Hadgraft. Physico-chemical determinants of dermal drug delivery: effects of the number and substitution pattern of polar groups. European Journal of Pharmaceutical Sciences. 16(200) 107-112.

- 27) Bronaught L. R., Howard, I. M. Topical absorption of dermatological products. Ed. Marcel Dekker. 2002, New York (USA). pp 115,124,157-161.
- 28) R.J Scheuplein. J. Invest. Dermatol., 45-47,334 (1965).
- 29) Walters A. K., Hadgraf, J. Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement. Vol-59. Ed. Marcel Dekker. 1993, New York (USA) pp 113-136.
- 30) Potts O. R., Guy H. R. Mechanisms of Transdermal Drug Delivery. Vol-83 Ed. Marcel Dekker, 1997. New York (USA). pp 2-20, 41-46.
- 31) Potts, R.O, Physical characterization of the stratum corneum: the relationship of mechanical and barrier properties to lipid and protein structure. *Transdermal Drug Delivery*. 35,23-57, (1989).
- 32) P.Mura, M.T. Faucci, G.Bramanti, P.Corti. Evaluation of transcutole as a clonazepam transdermal permeation enhancer from hydrophilic gel formulations. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 9(2000) 365-372.
- 33) Smith W. E., Maibach I. H. Percutaneous Penetration Enhancers. Editorial CRC Press. 1995, USA. pp 1-28, 245-257.
- 34) Barry W. B. *Dermatological Formulations*. Vol-18 Ed. Marcel Dekker. 1983, New York (USA). pp.160-171, 104-120.
- 35) Rodríguez Orjales. L. Agentes promotores de la permeación percutánea. *Rev Cubana Farmacia* 1988; 32(1):68-75. Centro de investigación y desarrollo de medicamentos.
- 36) Pfister, W.R., Dean, S. And Hsieh, S.T., permeation enhancers compatible with transdermal drug delivery systems. I. Selection and formulation considerations *pharm. Tech.*, 8,132,1990.
- 37) Acevedo P. J. Estudio del efecto promotor de Azona y 4-deciloazolidin-2-ona Sobre la absorción percutánea de 3 fármacos con diferentes características de lipofiliidad. Tesis 1999. UNAM.FES C-I. Edo de México. PP 18.
- 38) Mughimp HR, Williams AC, Barry BW. A lamellar matrix model for stratum corneum intercellular lipids.II Effect of geometry of the stratum corneum on

- permeation of model drug 5-Flu and oestradiol. *Int. J. Pharm.*, 1996., 133:117-129.
- 39) Barry, B.W, and Goodman, M.(1989). Action of penetration enhancers on human stratum corneum as assessed by differential scanning calorimetry. Chapter 33.
- 40) Barry, B.W., Mode of action of penetration enhancers in human skin, *J. Control. Rel.*,6,85,1987.
- 41) Goodman, M. And Barry, B.W., Lipid-protein-partitioning (LPP) theory of skin enhancer activity: finite dose technique, *int. j. pharm.*, 57,29,1989.
- 42) Williams, A.C. and Barry, B.W., Skin absorption enhancers, *Crit.Rev.Ther.Drug Carrier Syst.*, 9,305,19929.
- 43) Cooper, E.R (1982). Effect of decylmethihyl sulfoxide on skin penetration. In *solution Behavior of surfactantes, Vol 2. Theoretical and Applied Aspect.* Edited by K.L Mittal and E.J. Fendler. Plenum press, New York, pp-1505-1516.
- 44) Scheplein, R. and Ross, L., Effects of surfactants and solvents on the permeability of the epidermis. *J.Soc. Cosmet.Chem.*, 21,853,1970.
- 45) Beastall,J.C., Hadgraft, J., and Washington, C., Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer; lipid bilayer fluidity and transition Temperature effects, *int. J. Pharm.*, 43,207,1988.
- 46) Ryoto Sugar Ester, technical information Nonionic surfactant, sucrose fatty ester, food aditive. Ed. Mitsubichi Chemical Industries. Enero 1997. Japon. pp2-18.
- 47) M. Carafa, E. Santucci, G. Lucania. Lidocaine-loaded non-ionic surfactant vesicles: caracterizacion and in vitro permeation studies. *International Journal of pharmaceutics.* 231 (2002) 21-32.
- 48) Kushla, G.P. y Zatz, J.L., Correlation of water and lidocaine flux enhancement by cation surfactants in vitro. *J.Pharm.Sci.*,80,1079,1991.
- 49) Cooper, E.R. and Bernet,B.,Interactions of surfactants with epidermal tissues-physicochemical aspects, in *Surfactants in Cosmetics*, Rieger, M.M.,Ed., Marcel Deckker, New York.,1984,195.

- 50) Takahashi, M., Aizawa, M., Miyazawa, K., and Machida, Y., Effects of surface active agents on SC cell cohesion, J. Soc. Cosmet. Chem., 38, 21, 1987.
- 51) H.A Ayala-Bravo, Quintanar G.D, Ganem Q. A. Effects of sucrose fatty acid esters on skin barrier properties determined in vivo by FTIR/ATR and TEWL. Posgrado de Farmacia. FES C-1, México.
- 52) Évaluation du passage transcutané de L' Éther monoéthilique du diéthyléneglycol et des mouvements D' Eau concomitants. Cap 4. pp108-109.
- 53) A. Ganem-Quintanar, D. Quintanar-Guerrero, F. Falson-Rieg, P. Buri., Ex vivo oral mucosal permeation of lidocaine hydrochloride with sucrose fatty acid esters as absorption enhancers., Journal of pharmaceutical Sciences, 1977, submitted., pp 65-66.
- 54) Cejudo Uribe B.L., Soria Arteché O. Volumetría. UAM. División de Ciencias Biológicas y de la Salud. 1995. pp. 56, 98.
- 55) Clarke's E.G. Isolation and Identification of drugs. 2^a edición. Ed. Staff. 1996. London (Gran Bretaña) pp 205-206, 567, 674.
- 56) Lerk, P.C., Characterisation and pharmaceutical applications of new polyoxyethylene-glicol free surfactants, in particular sucrosa laureate, Thesis, The Netherlands, 1996.
- 57) M.A Thevenin, J.L. Grossiord, M.C. Poelman. Sucrose ester/cosurfactant microemulsion systems for transdermal delivery: assement of bicontinuous structures. International Journal of Pharmaceutics. 137 (1996) 177-186.
- 58) Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Tomo I. 7^a Edición. México 2000. pp 365, 371.
- 59) Cázares Delgado Y. Estudio del efecto del pH sobre la absorción percutánea de Lidocaina utilizando laureato y oleato de sacarosa como promotores de absorción. Tesis 2003. UNAM. FES C-I. Edo de México.
- 60) Anderson L. R. Practical Statistics For Analytical Chemists. Ed. Van Nostrand Reinhold. New York. 1987. pp 204-225, 227-236.