



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTILÁN

FORMULACIÓN Y EVALUACIÓN DE UNA MICROEMULSIÓN PARA LA ADMINISTRACIÓN TÓPICA DE TRICLOSÁN

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO
P R E S E N T A :
EDGAR MARTÍNEZ GÓMEZ

ASESORES: DRA. ADRIANA GANEM RONDERO
DR. JOSÉ JUAN ESCOBAR CHÁVEZ

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉXICO.

2007



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES



ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

DRA. SUEMI RODRIGUEZ ROMO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: L. A. ARAC ELI HERRERA HERNANDEZ
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 :

Formulación y Evaluación de una Microemulsión para
la administración tópica de Triclosar.

que presenta el pasante: Edgar Martínez Gómez
con número de cuenta: 09855037-5 para obtener el título de :
Químico Farmacéutico Biólogo

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 4 de Diciembre de 2006.

- PRESIDENTE Dra. Luisa Martínez Aguilar
- VOCAL Dr. David Quintanar Guerrero
- SECRETARIO Dra. Flora Adriana Ganem Rondero
- PRIMER SUPLENTE MC. Eva Ma. Molina Trinidad
- SEGUNDO SUPLENTE QFB. Dulce Ma. Ruvalcaba Sil

DEDICATORIAS

A mis padres:

Por todo el apoyo y cariño que siempre me han brindado, porque sin su ayuda no hubiera logrado concluir esta parte de mi vida, no existe manera de pagar todo lo que hacen por nosotros Gracias.

A mis hermanos:

Por todos los momentos que hemos compartido y todo el apoyo que siempre he recibido de ustedes Gracias.

A mi sobrina:

Por cada sonrisa que me regalas, se que llegarás muy lejos en la vida.

AGRADECIMIENTOS

A Dra. Adriana Ganem y Dr. David Quintanar:

Por permitirme realizar este trabajo con ustedes además de su apoyo y valiosos conocimientos que siempre están dispuestos a compartir.

A A.A.C.A.

Por creer en mi y por darme la confianza y todos esos consejos que siempre son bien recibidos.

A mis amigos:

Cesar, Alicia, Liliana, Uriel. Por sus consejos y dejarme compartir momentos y experiencias inolvidables Gracias.

Jaime, Nacho, Jesús, Juan Carlos, José Luis. Amigos de la infancia que nunca me dejaron solo.

A mis compañeros del laboratorio:

Zaida, Nestor, Gerardo, Lupita, Elizabeth J., Clara, Marlen, Luis, Elizabeth P.

A mis amigos de la FES:

Lenin, Luz M., Luis R., Adolfo, Ingrid, Manuel, Jazmín, Silvia, Angélica, Elia, Miriam, Silverio, Lety, Itzel, Dulce, Iván, Pale, Alma, Carla, Fernando C, Miriam, etc.

A todas las personas que participaron de algún modo en la culminación de este trabajo e incondicionalmente me han brindado su amistad Gracias.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	I
I. LISTA DE ABREVIATURAS	III
II. ÍNDICE DE FIGURAS.....	IV
III. ÍNDICE DE TABLAS.....	V
IV. ÍNDICE DE ANEXOS	VI
1. RESUMEN.....	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 OBJETIVO GENERAL	3
2.2 OBJETIVOS PARTICULARES	3
3. MARCO TEÓRICO	4
3.1 LA PIEL.....	4
3.1.1 Aspectos Generales	4
3.1.2 La Epidermis	6
3.1.3 La Dermis	9
3.1.4 La Hipodermis	10
3.2 ANEXOS DE LA PIEL	11
3.3 ABSORCIÓN PERCUTÁNEA	13
3.4 PROMOTORES DE ABSORCIÓN.....	16
3.4.1 Definición.....	16
3.4.2 Mecanismo de acción.....	17
3.4.3 Clasificación de los Promotores de Absorción	20
3.5 ENSAYOS <i>IN VITRO</i> PARA MEDIR LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA.....	20
3.6 EMULSIONES Y MICROEMULSIONES.....	23
3.6.1 Propiedades tensoactivas en solución y formación de micelas	28
3.6.2 Selección de los agentes emulsificantes	29
3.7 SUCROÉSTERES	30
3.8 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL LAUREATO DE SACAROSA.....	32
3.8.1 Estructura	32
3.8.2 Características fisicoquímicas del laureato de sacarosa	32

3.8.3	Mecanismo de acción del laureato de sacarosa.....	33
3.9	PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL TRANSCUTOL	33
3.9.1	Estructura	33
3.9.2	Características fisicoquímicas del Transcutol®	34
4.	MATERIALES Y REACTIVOS.....	35
4.1	REACTIVOS	35
4.2	APARATOS Y EQUIPOS.....	35
5.	METODOLOGÍA.....	36
5.1	PREPARACIÓN DE LA EMULSIÓN Y LA MICROEMULSIÓN.....	36
5.2	DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE GLÓBULO EN LAS MICROEMULSIONES.....	38
5.3	DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE TRICLOSAN EN BUFFER DE FOSFATOS pH 7.4 CON BRIJ 58 AL 3%	39
5.4	DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE TRICLOSAN EN MIRISTATO DE ISOPROPILO	39
5.5	CURVA DE CALIBRACIÓN PARA TRICLOSÁN EN ETANOL.....	40
5.6	CURVA DE CALIBRACIÓN PARA TRICLOSÁN EN BUFFER DE FOSFATOS pH 7.4 CON BRIJ 58 AL 3%	40
5.7	OBTENCIÓN DE LA PIEL.....	41
5.8	ESTUDIOS DE PERMEACIÓN.....	41
5.9	EXTRACCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO RETENIDO EN LA PIEL.....	43
6.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	44
7.	CONCLUSIONES.....	61
8.	PERSPECTIVAS	63
9.	BIBLIOGRAFÍA.....	64
10.	ANEXOS.....	68

II. ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1.	Esquema general de la piel (http://www.harunyahya.com/other/espanol/lossignos07.php)	4
Fig. 2.	Estratos de la epidermis (http://escuela.med.puc.cl/publicaciones/Guias/Dermatologia/estructura/DermatoEst_06a.html)	7
Fig. 3.	Anexos de la piel (Modificado de: Barry, 2001)	13
Fig. 4.	Vías de penetración a través de estrato córneo (Modificado de: Barry, 2001)	14
Fig. 5.	Esquema de la celda vertical tipo Franz	21
Fig. 6.	Estructura química de los sucroésteres (Ryoto, 1987)	31
Fig. 7.	Estructura química del laureato de sacarosa (Ryoto, 1987)	32
Fig. 8.	Estructura química del Transcutol® (Gattefosé, 1999)	33
Fig. 9.	Curva de calibración de triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3% ..	48
Fig. 10.	Curva de calibración de triclosán en Etanol.....	49
Fig. 11.	Perfil de permeación del triclosán a partir de una solución de miristato de isopropilo (n=6).....	50
Fig. 12.	Perfil de permeación del triclosán formulado en una emulsión o/w (n=6).....	51
Fig. 13.	Perfil de permeación del triclosán formulado en una microemulsión o/w (n=6)	52
Fig. 14.	Comparación de los perfiles obtenidos con las tres formulaciones	54
Fig. 15.	Cantidad de triclosán extraído de la piel al final de cada permeación	55

III. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Clasificación general de los promotores de absorción ^(Ganem et al, 1998)	20
Tabla 2.	Información requerida para evaluar la absorción percutánea in vitro ^(Howes et al, 1994)	23
Tabla 3.	Diferencias entre macro y microemulsiones	26
Tabla 4.	Relación entre los límites HLB y aplicación de surfactantes ^(Remington, 2003) ..	30
Tabla 5.	Características fisicoquímicas del laureato de sacarosa ^(Ryoto, 1987)	32
Tabla 6.	Porcentajes utilizados para la preparación de sistemas	37
Tabla 7.	Componentes y porcentajes para la formulación de la emulsión y microemulsión.....	44
Tabla 8.	Determinación experimental de la solubilidad de triclosán (T=25°C).....	46
Tabla 9.	Tamaño de partícula, desviación estándar e índice de polidispersión para 3 lotes de microemulsiones (tres lecturas por lote).....	47
Tabla 10.	Comparación de los parámetros de permeación obtenidos para las tres formulaciones estudiadas: Flujo (J), tiempo de latencia (tlag), cantidad total permeada (Q).....	56
Tabla 11.	Análisis de varianza para los flujos de las permeaciones.....	56
Tabla 12.	Prueba de Duncan para comparar las medias de los flujos de las permeaciones	57
Tabla 13.	Análisis de varianza para las cantidades extraídas de la piel después de cada permeación	58
Tabla 14.	Prueba de Duncan para comparar las medias de las cantidades extraídas después de las permeaciones	58
Tabla 15.	Análisis de varianza para la cantidad total permeada de cada sistema.....	59
Tabla 16.	Prueba de Duncan para comparar las medias de la cantidad total permeada después de las permeaciones	60

IV. ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Espectro de absorción UV-Vis de triclosán en buffer fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%	68
Anexo 2. Resultados utilizados para la construcción de la curva de calibración de triclosán en buffer fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%.....	69
Anexo 3. Resultados utilizados para la construcción de la curva de calibración de triclosán en etanol.....	70
Anexo 4. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la solución	71
Anexo 5. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la emulsión	71
Anexo 6. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la microemulsión.....	72

1. RESUMEN

Recientemente la ruta transdérmica ha competido con el tratamiento oral como una vía innovadora para la administración de fármacos. No obstante, el mercado de los transdérmicos a nivel mundial se basa en solamente unos cuantos fármacos, la razón fundamental es que la piel humana es altamente impermeable lo que limita la dosificación diaria de fármacos a través de ella. Además, no sólo es un órgano de gran importancia debido a que recubre toda la superficie del cuerpo, sino que ofrece numerosas ventajas como sitio de liberación farmacológico. ([Barry, 2001](#))

La aplicación de sustancias por vía cutánea cuenta con múltiples ventajas entre las que se pueden mencionar su gran área superficial y su fácil accesibilidad. Diversos estudios demuestran que el éxito de los fármacos para atravesar la piel en cantidad suficiente, depende de sus características fisicoquímicas, logrando así el efecto terapéutico deseado. Sin embargo muchos principios activos no poseen las características necesarias para penetrar en el tejido, por lo que es necesario incorporar adyuvantes como promotores de absorción, que al interactuar con los lípidos intercelulares del estrato córneo o con las proteínas, incrementan la permeabilidad de la piel y por lo tanto favorecen el paso de sustancias a través de ella.

El término promotores de absorción ha sido generalmente aplicado a sustancias químicas que incrementan la partición y difusión de agentes activos hacia y a través de la barrera de permeabilidad. Los promotores son sustancias farmacológicamente inactivas que interactúan con los constituyentes del estrato corneo cuando se incorporan dentro de una formulación transdérmica, reduciendo de esta forma la resistencia de la piel a la difusión. ([Ganem et al. 1998](#))

El propósito del presente trabajo fue evaluar el flujo de triclosán a través de piel, formulándolo en una microemulsión y compararlo con el obtenido a partir de una emulsión. La particularidad de estas dos formulaciones es que tienen la misma composición, y la presencia de una o de otra es dependiente de la temperatura, así, la microemulsión se forma en un intervalo de temperatura de 32 a 38°C y la emulsión fuera de este intervalo. De este modo se evaluó el efecto del tamaño de glóbulo sobre el transporte transdérmico de triclosán.

Por otro lado, puesto que estas formulaciones contienen Laureato de sacarosa y Transcutol®, compuestos con una bien conocida actividad promotora, y siendo la fase interna miristato de isopropilo, se comparó el flujo con el de una solución de triclosán en este último solvente.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Formular una microemulsión que contenga laureato de sacarosa y Transcutol® como promotores de absorción y evaluar la permeación transdérmica *in vitro* de triclosán como molécula modelo.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Formular una microemulsión para ser utilizada como vehículo de triclosán, incluyendo laureato de sacarosa y Transcutol®.
- b) Realizar estudios de permeación de la microemulsión, a través de piel de oreja de cerdo empleando celdas de difusión tipo Franz y comparar los resultados con los obtenidos al formular el triclosán en una emulsión y en una solución.
- c) Evaluar el efecto promotor del laureato de sacarosa y Transcutol® incluidos en la microemulsión y la emulsión, sobre la permeación transdérmica del triclosán.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 LA PIEL

3.1.1 Aspectos Generales

La piel (Figura 1) es una barrera protectora contra la acción de agentes físicos, químicos o bacterianos. Contiene órganos especiales que suelen agruparse para detectar las distintas sensaciones, como sentido del tacto, temperatura y dolor. Es un tejido de protección flexible y elástico que recubre toda la superficie del cuerpo y representa aproximadamente el 6% del peso corporal. [\(Arenas, 1987\)](#)

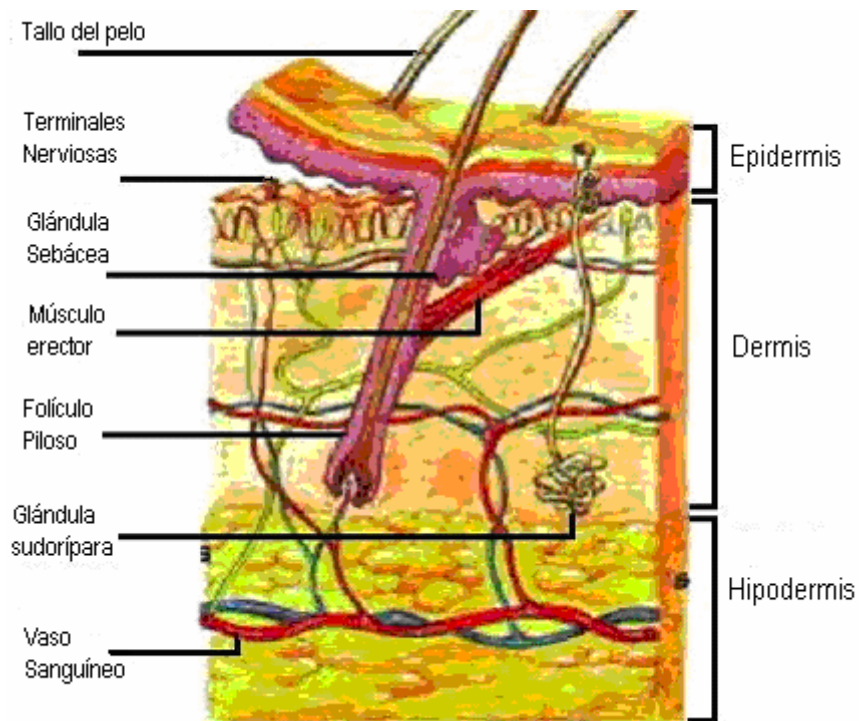


Fig. 1. Esquema general de la piel <http://www.harunyahya.com/other/espanol/lossignos07.php>

Es más o menos permeable a las sustancias químicas y puede, en determinadas ocasiones, franquear el paso a compuestos medicamentosos o nocivos que provocan la aparición de efectos terapéuticos o tóxicos, locales o sistémicos. [\(Turner et al, 1997\)](#)

La piel proporciona principalmente las funciones de: [\(Arenas, 1987\)](#), [\(Rassner, 1994\)](#), [\(Amado, 1993\)](#)

1) Protección: La piel es una barrera que se interpone entre el organismo y el medio ambiente. Controla la pérdida de fluidos, evita la penetración de sustancias extrañas, nocivas y radiaciones. Posee una capa ácida que protege su superficie de sustancias bacterianas o irritantes.

2) Sensación: Su profusa innervación la hace ser el órgano receptor de la sensibilidad por excelencia de todo tipo: tacto, dolor, temperatura, presión, y estos estímulos que recibe los transmite al sistema nervioso central. Los receptores sensitivos se encuentran en la dermis.

3) Secreción: La piel secreta sebo y sudor; éstas a su vez proporcionan propiedades antimicrobianas y antimicóticas que le permiten conservar su textura.

4) Termorregulación: El flujo y contenido de la sangre en los vasos cutáneos regula la cantidad de calor disipado o conservado; dicho calor se pierde por procesos de conducción, convección, evaporación y radiación, siendo éstos regulados por la activación nerviosa y química de las glándulas sudoríparas y por la dilatación y constricción de los vasos sanguíneos.

5) 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.

6) 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).

Las barreras a la permeabilidad están situadas en varias capas de células firmemente empaquetadas que forman la superficie de la epidermis; la protección mecánica es proporcionada por la dermis subyacente más gruesa que se compone principalmente de tejido conjuntivo, esto es, sustancias secretadas por las células y situadas exteriormente a ellas. La epidermis aislada es tan impermeable como la piel completa, mientras que una vez que se elimina la epidermis, la dermis es completamente permeable.

3.1.2 La Epidermis [\(Amado, 1993\)](#)

Es un epitelio poliestratificado formado por células llamadas queratinocitos originados en la capa más profunda, basal o germinativa, merced a un proceso activo llamado *queratopoyesis*, mecanismo de maduración celular que conduce a la queratinización, muerte y desprendimiento celular. Este proceso dura en promedio de 15 a 20 días según las diferentes áreas del cuerpo y, cuando se altera se producen problemas que se caracterizan por descamación excesiva y a destiempo. Hay otros tres tipos de células: *melanocitos* o células con pigmentos, *células de Langerhans*, que son incoloras y de forma dendrítica, y *células de Merkel*, que están relacionadas con el sentido del tacto. Está constituida por estratos (Figura 2):

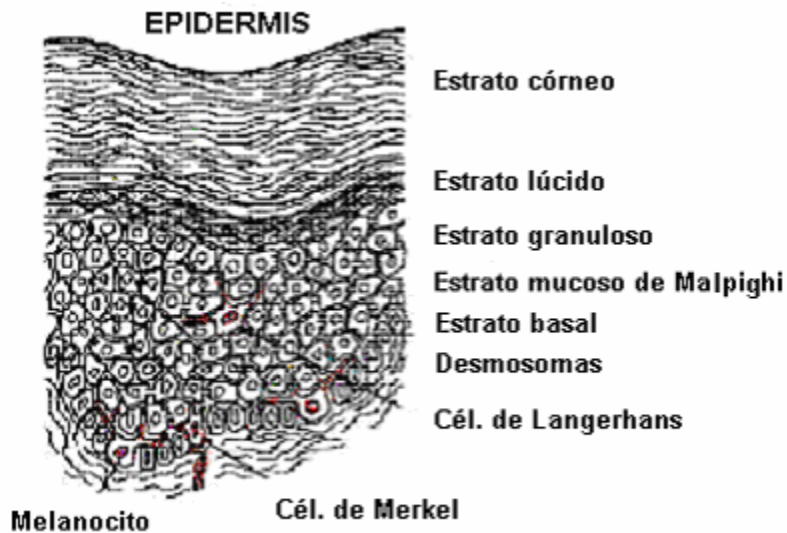


Fig. 2. Estratos de la epidermis (http://escuela.med.puc.cl/publicaciones/Guias/Dermatologia/estructura/DermatoEst_06a.html)

Estrato basal o germinativo

Está constituido por una sola hilera de células cilíndricas, de núcleos basófilos, dispuestos perpendicularmente a la dermis, con frecuentes mitosis y en constante reproducción. De trecho en trecho, se observa en esta capa: células de citoplasma claro, son los melanocitos. Las células basales reciben irrigación e inervación de los vasos y nervios de las papilas dérmicas y el 50% de la población, hija de cada división, contribuye al desarrollo de la epidermis.

Las células del estrato basal tienen núcleos grandes. Al microscopio electrónico, sus citoplasmas revelan muchos ribosomas, mitocondrias y, a veces, membranas lisas.

Estrato espinoso o cuerpo mucoso de Malpighi

Está formado por varias capas de células poliédricas, dispuestas en mosaico, que tienen como característica especial llevar en su citoplasma unas fibrillas, de pared a pared llamadas tenofibrillas que a nivel de la membrana parecen condensarse y formar un puente, de célula a célula, llamado desmosoma. Se pensaba que las tenofibrillas pasaban de célula a célula, a través de estos puentes, pero no es así y los desmosomas están formados por un material electrodenso que parece condensarse y

formar los llamados nódulos de Bissosero de significado no conocido. Los desmosomas dan cohesión a la epidermis, se observan en todas las capas al igual que las tenofibrillas, pero son más evidentes en la capa espinosa. Cuando se destruyen, las células se separan y sufren importantes alteraciones, proceso conocido como acantólisis. Las células espinosas también se unen a las basales por desmosomas y las basales presentan en su cara profunda hemidesmosomas que sirven para anclarse a la dermis. En la zona superior del estrato espinoso aparecen los *gránulos recubridores de membrana* también denominados cuerpos lamelados o de Odland.

Estrato granuloso

A medida que las células se acercan a su superficie se aplanan y cambian su dirección, de perpendiculares en la capa basal se hacen horizontales en las capas granulosa y córnea, paralelas a la superficie. Aparecen dentro de estas células gránulos de material hematoxilínico llamado queratohialina que se piensa es el precursor de la queratina. Estos gránulos están formados por ADN y proceden de la cromatina nuclear.

Estrato córneo

Variable en su espesor desde 0.02 mm hasta 5 mm en las plantas de los pies, está constituido por hileras de células muertas, aplanadas, sin núcleo y llenas de tenofibrillas con alta concentración de grupos disulfuro, conocida como la queratina. Se distinguen dos partes: la más profunda o compacta conserva aún los desmosomas, la más superficial (estrato disjuntum) en donde se rompen los desmosomas y las células se desprenden.

El mecanismo de la queratinización es aún poco conocido, pero se piensa que depende del interjuego de los organelos intracelulares: tonofibrillas, gránulos de queratohialina y cuerpos de Odland.

Las células de la capa córnea se hallan fuertemente pegadas entre sí, formando una membrana dura y flexible que preserva al organismo de la pérdida de líquidos, y da la integridad y fortaleza a la piel.

El estrato corneo es crucial para la impermeabilidad relativa de la piel a los agentes químicos y físicos. Esta “estructura de ladrillos” hidrófilos en una “mezcla” lipídica hidrófoba es una barrera eficaz para sustancias hidrófilas e hidrófobas. Existe amplia evidencia de que el estrato corneo es la barrera primaria para la absorción de fármacos a través de la piel.

Estrato lúcido

A nivel de palmas y plantas existe una quinta capa entre la granulosa y la córnea: es el estrato lúcido. Este estrato no es teñible por los métodos histológicos habituales, se puede reconocer únicamente en la piel de las palmas de las manos y plantas de los pies. Situado inmediatamente debajo del estrato corneo. 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.

3.1.3 La Dermis

Está constituida por un armazón de tejido conjuntivo. Sostén de vasos, nervios y anexos de la piel, posee además estructuras que intervienen en complejas funciones relacionadas con el metabolismo, temperatura, defensa y cicatrización.

Está formada por tres clases de fibras, una sustancia fundamental y células. Las fibras más abundantes son las colágenas formadas por una escleroproteína compleja en cuya formación interviene fundamentalmente la hidroxiprolina y la hidrolisina. El colágeno no es una entidad homogénea, está formado por diferentes subtipos genéticos del I al VII de acuerdo con su morfología, composición y propiedades físicas. En la dermis predomina el tipo I. Las fibras reticulares y las elásticas son menos abundantes y se mezclan con las fibras colágenas, pero son sólo visibles con tinciones especiales. La sustancia fundamental que esta formada por mucopolisacáridos sirve de

medio de unión de las fibras, sostiene a las células, y es el medio donde se realizan las funciones metabólicas de este tejido.

En conjunto, las fibras y la sustancia fundamental dan resistencia, cohesión y elasticidad a la piel.

Las células que se encuentran en la dermis en escaso número generalmente son de varios tipos:

- *Fibroblastos*, con núcleo fusiforme y son las que producen en sus ribosomas, las fibras colágenas, reticulares y tal vez las elásticas además la sustancia intersticial.
- *Histiocitos* que corresponden a monocitos tisulares derivados del sistema reticuloendotelial o retículo histiocitario con gran movilidad y poder fagocitario.
- *Mastocitos* o células sebáceas, muy basófilas con granulaciones en su interior y productoras de histamina, heparina y otros mediadores de la inflamación y células derivadas de la corriente sanguínea, siempre en escaso número en condiciones normales: polimorfonucleares, eosinófilos plasmocitos.

También la dermis alberga los sistemas nervioso, linfático y sanguíneo, y rodea los apéndices epidérmicos invaginados, esto es, los folículos pilosos con sus glándulas asociadas y las glándulas sudoríparas.

3.1.4 La Hipodermis

Es la capa más profunda de la piel. También se llama tejido celular subcutáneo o panículo adiposo. Esta constituida por gran multitud de adipocitos (células grasas), dispuestos en lóbulos, separados entre sí por haces de fibras colágenas y elásticas que reciben el nombre de trabéculas. La grasa forma un tejido metabólico muy activo que además protege al organismo proporcionándole amortiguación y aislamiento térmico.

3.2 ANEXOS DE LA PIEL [\(Amado, 1993\)](#)

Se considera como tales: a) complejo pilosebáceo, b) glándulas ecrinas y apocrinas y c) uñas. Todos son formaciones epidérmicas situados en la dermis excepto las uñas.

Complejo pilosebáceo

Está formado por el folículo piloso, el pelo, el músculo erector y la glándula sebácea. Los pelos son filamentos queratinizados elásticos, cubren todo el cuerpo excepto las palmas de las manos y plantas de los pies. Las glándulas sebáceas están distribuidas por toda la superficie del cuerpo, son de diferentes tamaños y su secreción es holocrina.

El folículo piloso es una invaginación de las células basales hacia la dermis, la cual le forma un saco fibroso. El folículo está formado por una membrana llamada *vítrea* equivalente a la membrana basal de la unión dermoepidérmica. Adosada a ella va otra capa llamada vaina epitelial externa, pluriestratificada y formada por células malpighianas.

El pelo presenta una parte inferior llamada raíz que va desde su base hasta la desembocadura de la glándula sebácea y de este punto a la periferia, se llama tallo piloso, en la raíz se distingue una capa llamada vaina epitelial interna que se adosa a la externa del folículo y que en su parte inferior se diferencia en dos capas: la de Henle y la de Huxley; después de la vaina epitelial interna sigue la corteza y la médula del propio pelo.

Hacia el polo inferior, el folículo se dilata como fondo de botella en lo que se llama el bulbo piloso que rodea un fragmento del tejido conjuntivo con vasos y nervios que es la papila del pelo que le da su nutrición.

El músculo erector del pelo es un conjunto de fibras lisas situadas oblicuamente desde la papila dérmica hasta la pared del folículo mas o menos en la unión del tercio medio y el tercio inferior, formando con él un ángulo agudo abierto hacia arriba donde se aloja la glándula sebácea.

Glándulas Sebáceas

La glándula sebácea desemboca en el folículo piloso con la excepción de las glándulas de Tyson del glande, las del clítoris, pequeños labios perianales y del pezón, en estas zonas las glándulas sebáceas tienen su propio conducto.

Las glándulas sebáceas son de secreción holocrina, esto es, la secreción de la glándula está formada no sólo por el producto de las células, sino por las mismas células que se renuevan continuamente, una especie de “sebopoyesis” al estilo de la queratopoyesis de la epidermis. Las glándulas son arracimadas, limitadas por una membrana basal, cuya cara interna está tapizada de células cúbicas, basófilas, ricas en glucógeno, las cuales se hacen cada vez mas claras, se van llenando de grasa y terminan por caer junto con el sebo que producen.

Glándulas Sudoríparas

Son de dos tipos: las ecrinas y las apócrinas, las primeras son muy abundantes, cerca de tres millones en una persona adulta. Las apocrinas sólo existen en algunas áreas del cuerpo como axilas, ingles, pliegue interglúteo, regiones perineal y anogenital, ombligo y pezones. Las glándulas ecrinas que abundan sobre todo en palmas, plantas, frente y pecho, están compuestas por un ovillo glandular situado en la dermis profunda y un tubo secretor independiente. Las células que forman el ovillo son voluminosas, cilíndricas, ligeramente basófilas y situadas sobre una capa de células mioepiteliales que les sirven de sostén. El canal secretor atraviesa la dermis y la epidermis (acrosiringio) y desemboca en el poro sudoríparo (Figura 3).

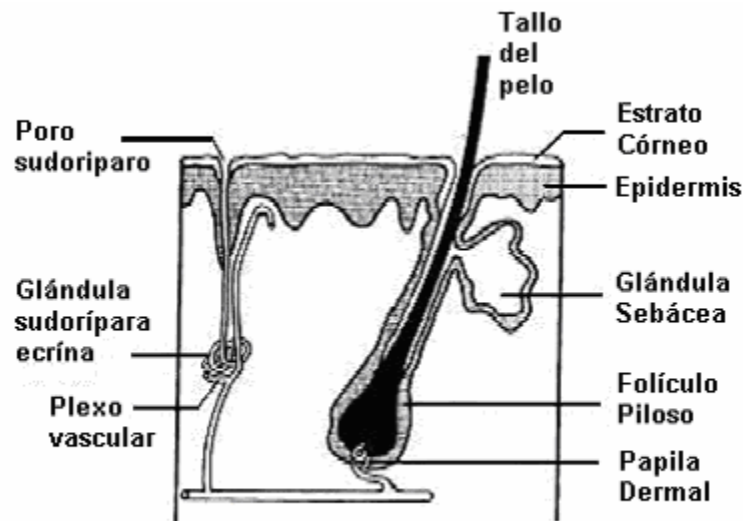


Fig. 3. Anexos de la piel [\(Modificado de: Barry, 2001\)](#)

Uñas

Se llaman uñas las láminas córneas duras, translúcidas y flexibles que ocupan la cara dorsal de la última falange de los dedos. Formadas de queratina dura, son una modificación del estrato córneo.

3.3 ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

El paso de fármacos a través de la piel se realiza principalmente por tres vías o rutas de penetración. La vía intercelular, a través de la matriz lipídica en la cual se encuentran embebidos los corneocitos, y que se considera la más importante; la vía transcelular, a través de los corneocitos (células queratinizadas) y de la matriz lipídica y el paso a través de los apéndices de la piel, fundamentalmente los folículos pilosos y glándulas sudoríparas (ruta folicular y ecrina).

La absorción percutánea está relacionada con la transferencia de 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 (Figura 4). La penetración molecular a través de las diferentes regiones de la piel está limitada por la resistencia difusional que ofrecen estas capas. [\(Robinson et al, 1987\)](#), [\(Banker et al, 1996\)](#)

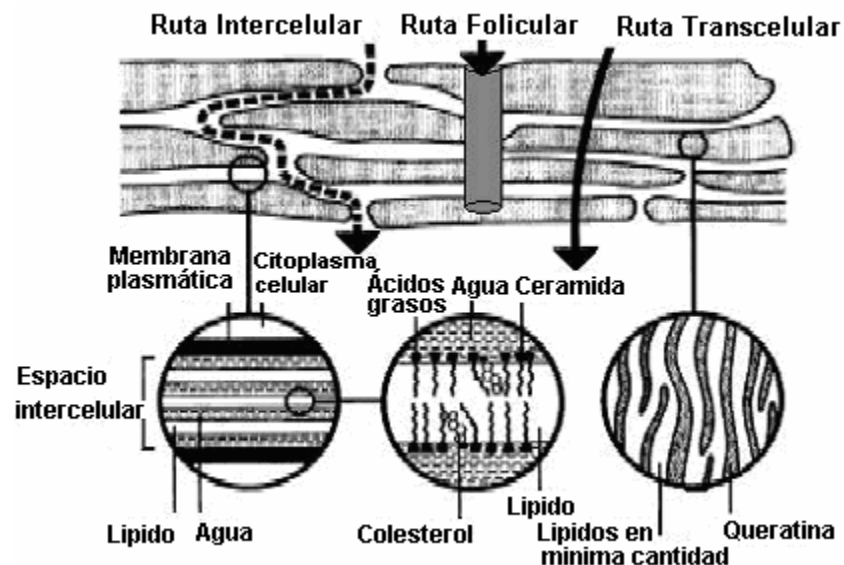


Fig. 4. Vías de penetración a través de estrato córneo [\(Modificado de: Barry, 2001\)](#)

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. [\(Aiache et al, 1983\)](#), [\(Orkin et al, 1994\)](#)

La difusión de la sustancia activa está limitada, además, por la oposición que ofrece la microvasculatura a la liberación sistémica del principio activo.

Existen otros factores que controlan la penetración o velocidad de permeación, entre ellos está la densidad del medio de difusión, que es inversamente proporcional al coeficiente de difusión.

El paso limitante en la absorción percutánea tiende a ser la difusión pasiva a través del estrato córneo y obedece a la primera ley de Fick, debido a que cuando se ha establecido un gradiente de concentración lineal, existen condiciones en estado estacionario y el flujo por unidad de área (J) de las moléculas a través de la piel es proporcional al gradiente de concentración. El flujo, se expresa de la siguiente manera: [\(Alberty y Hadgraft, 1979\)](#)

$$J = \frac{DK}{h}(Co - Ci) \dots\dots\dots Ec. 1$$

Donde:

K = Coeficiente de partición piel-vehículo

D = Coeficiente de difusión en el estrato córneo

h = Longitud a través de la cual ocurre la difusión

Co-Ci = Gradiente de concentración en el estrato córneo

Co es la concentración aplicada en la superficie de la piel y Ci es la concentración al interior de la piel. En la práctica, Ci es muy pequeña comparada a Co y la ecuación anterior se puede simplificar a:

$$J = KpCo \dots\dots\dots Ec. 2$$

Donde:

K_p (cm/h) es el coeficiente de permeabilidad.

La ecuación de la primera ley de Fick también se puede expresar de la siguiente manera:

$$J = K_p \cdot C_o = \frac{dM}{S \cdot dt} \quad \dots\dots\dots \text{Ec. 3}$$

Donde:

J = Flujo (g /cm² * h)

dM = Cantidad de materia (g)

S = Superficie

t = Tiempo (dt)

3.4 PROMOTORES DE ABSORCIÓN

3.4.1 Definición

Un promotor es aquella sustancia que incrementa la partición y difusión de agentes activos hacia y a través de la barrera de permeabilidad.

Un promotor de absorción percutánea idealmente debe cumplir con las siguientes características: [\(Barry, 1983\)](#)

- ✦ Debe ser farmacológicamente inerte y no presentar acción sobre los sitios receptores de la piel, o el cuerpo en general.
- ✦ No debe ser tóxico, irritante o alergénico.
- ✦ Después de su aplicación, el inicio de la acción debe ser inmediato y la duración debe ser predecible.

- ✦ Cuando el promotor es removido de la piel. El tejido debe recuperar completa e inmediatamente su propiedad normal de protección.
- ✦ La función protectora de la piel debe reducirse sólo en una dirección.
- ✦ Debe ser compatible física y químicamente con una gran variedad de fármacos y adyuvantes farmacéuticos.
- ✦ Debe ser un excelente solvente para fármacos.
- ✦ Debe extenderse muy bien sobre la piel y ser cosméticamente aceptable.
- ✦ Debe ser formulado en lociones, suspensiones, cremas, geles, aerosoles, ungüentos y sistemas adhesivos de la piel.
- ✦ Debe ser una sustancia inodora, incolora, insípida y económica.

Entre las entidades químicas que han sido estudiadas como promotores de absorción y que han resultado altamente efectivas se tienen aquellas que cuentan con una cadena alquílica larga, comúnmente entre 12 y 18 carbonos y una cabeza polar. Esta cabeza polar, aparentemente interactúa con los grupos polares de los lípidos de la piel mientras que la cadena alquílica se inserta entre las cadenas de la bicapa, rompiendo su orden, lo que provoca mayor fluidización entre ellos, y un aumento en la difusión del activo a través de la membrana. Se ha visto un mayor efecto entre los grupos metilenos inmediatamente adyacentes a las cabezas polares de los lípidos de la piel, pues se empaquetan entre ellos herméticamente, dejando cierto espacio al otro lado.

3.4.2 Mecanismo de acción

Los mecanismos de acción mediante los cuales actúan los promotores pueden resumirse en: [\(Ganem et al. 1998\)](#)

1) Extracción de lípidos intercelulares: Ciertos promotores, pueden incrementar la permeabilidad de la piel al extraer los lípidos intercelulares que constituyen la barrera. Este es un efecto muy drástico y por lo que debe de considerarse la reversibilidad del

mismo. La remoción de los lípidos del estrato corneo permite incrementar la velocidad de permeación tanto de sustancias polares como no polares.

2) Alteración de la barrera enzimática: Los inhibidores enzimáticos pueden también fungir como promotores de absorción, si se considera que la capacidad metabólica de la piel puede actuar como barrera enzimática.

3) Interacción con componentes proteicos: Ciertos promotores aumentan la permeabilidad de la membrana al cambiar la conformación, desnaturalizar e incluso extraer las proteínas de la membrana.

4) Incremento de la fluidez de la bicapa lipídica de la membrana, con la consecuente disminución de la temperatura vítrea: Como el transporte intercelular es la ruta mas probable para el pasaje de sustancias a través de la piel, la disrupción del paquete lipídico intercelular, ya sea por interacción del promotor con los lípidos o con los componentes protéicos, pueden incrementar la permeabilidad cutánea, además mediante diversas técnicas biofísicas (ej. calorimetría diferencial de barrido y espectroscopía infrarroja) se ha logrado demostrar que existe una correlación entre la fluidez lipídica y la permeabilidad; este incremento de la fluidez puede atribuirse a que los lípidos sufren una transición de una fase gel (rígida) a una fase líquido cristalina, con una reducción de la temperatura de transición vítrea. Un incremento reversible de la fluidez de los lípidos intercelulares puede ser considerado como un efecto no tóxico.

5) Incremento de la hidratación del estrato córneo: Aunque no existen teorías firmes sobre como el agua afecta el pasaje de una sustancia, parece ser que actúa por solvatación de las cabezas polares de los lípidos, principalmente glicosfingolípidos y ceramidas.

6) Co-difusión del promotor y el soluto: Se ha demostrado que ciertos promotores como el propilenglicol, Transcutol, etanol y dimetilsulfóxido, son capaces de difundir a través de la piel arrastrando junto consigo al penetrante.

7) Incremento de la actividad termodinámica del soluto: Ésta puede verse afectada por la composición del vehículo, la cual va a influir directamente en la solubilidad del penetrante. Una forma de aumentar el coeficiente de partición piel/formulación, consiste en el uso de sistemas saturados, lo cual puede lograrse eligiendo adecuadamente los componentes de la formulación.

Los promotores empleados como vehículos de los principios activos son elementos de gran importancia que permitirán la mejor absorción o el control de esta a través de las membranas corporales.

La habilidad de un promotor para incrementar la penetración depende no sólo de su interacción con los componentes de la membrana, sino también de su concentración ([Ruddi, 1995](#)), ([Ganem-Quintanar et al. 1997](#)). Con concentraciones por debajo de la concentración micelar crítica (CMC), se tienen cantidades mayores de monómeros de surfactantes disponibles para penetrar en la piel e incrementar la permeabilidad ([Ruddi, 1995](#)), ([Sarpotdar et al. 1986](#)). Además si el fármaco se solubiliza por las micelas del surfactante, el transporte de las especies activas puede reducirse como resultado de un coeficiente de partición micela/vehículo desfavorable. La presencia de un cosolvente puede no sólo cambiar la solubilidad de un soluto, alterando su actividad y consecuentemente el coeficiente de partición piel/vehículo. ([Ashlon et al. 1986](#)) sino que puede también promover la absorción de un surfactante en la piel favoreciendo la interacción del surfactante con los lípidos del estrato corneo ([Sarpotdar et al. 1986](#)).

3.4.3 Clasificación de los Promotores de Absorción

La Tabla 1 muestra algunos ejemplos de promotores de absorción y una clasificación general

Tabla 1. Clasificación general de los promotores de absorción [\(Ganem et al, 1998\)](#)

Solventes	Ejemplos
Agua	
Alcoholes	Metanol, etanol
Alquilmetilsulfóxidos	Dimetilsulfóxido, dimetilformamida
Pirrolidonas	2-pirrolidona, N-metil-2-pirrolidona
Azona y derivados	
Otros	propilengicol
Surfactantes	
Aniónicos	Dodecilsulfato de sodio
Catiónicos	Bromuro de cetiltrimetilamonio
No iónicos	Tweens, Brijs, poloxameros
Ácidos grasos y alcoholes grasos	Ácido oléico, láurico
Otros	
Urea	
Terpenos y aceites esenciales	Mentol, limoneno
N,N,-dietil-m-toluamida	
Tiogliconato de calcio	
Ciclodextrinas	

3.5 ENSAYOS *IN VITRO* PARA MEDIR LA ABSORCIÓN PERCUTÁNEA

La absorción percutánea puede estudiarse mediante técnicas *in Vitro*. Algunas de las técnicas empleadas *in vivo* también son utilizadas *in vitro*, tal es el caso del “tape stripping” y Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia

Total Atenuada (FTIR/ATR). No obstante una de las técnicas más empleadas es el uso de celdas de difusión que se describe a continuación.

Celdas de difusión

Las celdas de difusión clásicas consisten en un compartimento donador y uno receptor separados por una membrana que puede ser piel de humano o animal, o bien una membrana sintética que simule la composición de la piel. La figura 5 muestra las celdas verticales tipo Franz, aunque también existen en el mercado celdas horizontales. [\(Jeanetta et al. 2002\)](#) La cantidad de fármaco permeado del compartimento donador a través de la membrana hacia el receptor se determina midiendo la concentración de fármaco en función del tiempo por algún método analítico (espectrofotométrico o cromatográfico, por ejemplo cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC) o cromatografía en capa fina de alta resolución (HPTLC)). Algunos de los factores que afectan estos experimentos se indican enseguida.



Fig. 5. Esquema de la celda vertical tipo Franz

Tipo de membrana

Como es de suponerse la mejor membrana es la de piel de humano, ya sea de una persona viva (obtenida de una cirugía plástica por ejemplo) o de un cadáver. No obstante la disponibilidad de la piel humana es limitada, por lo que se ha usado con más frecuencia piel de animal; la piel de cerdo es la que más semejanza tiene con la humana tanto en el ámbito histológico como bioquímico ([Monser et al. 2001](#)) y además es fácil de conseguir.

Compartimento receptor

En este compartimento es preferible mantener condiciones “sink”. Para compuestos hidrofílicos se recomienda utilizar una solución salina o una solución amortiguadora; para compuestos lipofílicos se utilizan algunos solubilizantes, por ejemplo etanol al 40% o metanol al 50% aunque también se recomienda el uso de disolventes lipofílicos o bien la adición de un surfactante al medio acuoso, por ejemplo Brijis. ([Bronaugh et al. 1984](#)) y ([Sclafani et al. 1995](#)) La tabla 2 muestra la información requerida para evaluar la absorción percutánea *in vitro*.

Tabla 2. Información requerida para evaluar la absorción percutánea in vitro [\(Howes et al, 1994\)](#)

Parámetros	Detalles Requeridos
Propiedades del compuesto	Pureza, propiedades fisicoquímicas, características de posibles impurezas
Vehículo	Disolvente o formulación usada para la prueba de liberación de la sustancia
Tipo de Celdas	Diseño, material de construcción, solución receptora, flujo de la celda
Condiciones de exposición	Volumen, duración de contacto, naturaleza oclusiva del compartimento donador, condiciones de enjuagado
Piel o membrana	Fuente, procedimientos de preparación (limpieza, cortado, calor de preparación), almacenamiento, capacidad metabólica, temperatura de la superficie
Solución del receptor	Identidad, propiedades, solubilidad de la sustancia a probar
Procedimiento terminal	Enjuague de la piel, remoción de la piel mediante “strippings” o extracción de la sustancia almacenada, preparación para el análisis
Procedimiento analítico	Métodos usados para determinar la concentración del fármaco o sustancia probada en los compartimentos donador y receptor, muestras y enjuagues de la piel
Resultados	Tablas que muestren los datos de las celdas individualmente sobre la cantidad penetrada por unidad de área, gráficas que muestren los cambios del flujo en el tiempo (si se observan). Constantes de permeabilidad son validas para el estado estacionario.

3.6 EMULSIONES Y MICROEMULSIONES

Una emulsión es una preparación heterogénea integrada por al menos dos líquidos inmiscibles, uno de los cuales se dispersa muy bien como gotitas uniformemente a través del otro. Las emulsiones son termodinámicamente inestables e invierten de nuevo a fases separadas de aceite y de agua por la fusión de gotitas a menos que sean estabilizadas por un tercer componente, un agente emulsionante. La presencia de la fase como gotas pequeñas se llama dispersión, dispersa, o la fase

interna y el líquido de soporte se conoce como la fase continua o externa. Los diámetros de la gotita varían enormemente, pero en emulsiones farmacéuticas los diámetros se extienden de aproximadamente 0.1 a 50 μm . Las emulsiones se clasifican convenientemente como aceite/agua (O/W) o agua/aceite (W/O), dependiendo de si la fase continua es acuosa o aceitosa. [\(Eccleston, 2002\)](#)

Una emulsión estable debe contener por lo menos tres tipos de componentes: la fase dispersa, el medio de dispersión y el agente emulsificante. Invariablemente uno de los dos líquidos no miscibles es acuoso, mientras que el segundo es un aceite. Que se disperse, la fase acuosa o la oleosa, depende principalmente del agente emulsionante y de las cantidades relativas de las dos fases líquidas. Por lo tanto, una emulsión en la cual el aceite está disperso como gotitas en toda la fase acuosa se denomina emulsión aceite en agua, O/W. Cuando el agua es la fase dispersa y un aceite es el medio de dispersión, la emulsión es del tipo agua en aceite, W/O. La mayoría de las emulsiones farmacéuticas para administración oral son del tipo O/W; las lociones y cremas emulsionadas pueden ser O/W o W/O, de acuerdo con su uso. [\(Remington, 2003\)](#)

Las denominadas emulsiones múltiples se han desarrollado con el objeto de retardar la liberación de un ingrediente activo, están preparadas de aceite y agua por la reemulsificación de una emulsión existente para proporcionar dos fases dispersas. Las emulsiones múltiples del tipo de aceite-en agua-en aceite (O/W/O) donde las fases acuosas internas y externas son separadas por agua; inversamente, las emulsiones de agua-en-aceite-en-agua (W/O/W) son éstas donde las fases acuosas internas y externas son separadas por el aceite. [\(Eccleston, 2002\)](#)

Las microemulsiones son mezclas transparentes, estables, de aceite, agua, y un surfactante, con frecuencia conjuntamente con un cosurfactante. Las microemulsiones han sido estudiadas durante las décadas pasadas por muchos científicos y tecnólogos debido a su gran potencial en muchos alimentos y productos farmacéuticos. El uso de microemulsiones no es solamente ventajoso debido a su bajo costo y fácil preparación,

sino también debido a la mejorada biodisponibilidad. La absorción creciente de fármacos en usos tópicos es atribuida al realce de la penetración a través de la piel por el portador. Los ácidos grasos saturados y no saturados que sirven como fase del aceite se utilizan con frecuencia como promotores de la penetración. [\(Kogan, 2006\)](#)

El término de microemulsión, que implica una relación cercana a las emulsiones ordinarias, es engañoso porque el estado del microemulsion abraza un número de diversas microestructuras, la mayoría de las cuales tienen poco campo en común con las emulsiones ordinarias. Aunque las microemulsiones se pueden componer de gotitas dispersas del aceite o del agua, ahora se acepta que son esencialmente estables. Las microemulsiones son fácilmente distinguibles de las emulsiones normales por su transparencia, su viscosidad baja, y más fundamental su estabilidad y capacidad termodinámicas de formarse espontáneamente. [\(Eccleston, 2002\)](#)

Las microemulsiones poseen propiedades intermedias entre las micelas que contienen aceites disueltos y las emulsiones. Mientras que estas últimas son lióforas e inestables, las microemulsiones están en el límite entre los coloides lióforos y liófilos. Las microemulsiones verdaderas son termodinámicamente estables. Por lo tanto se forman espontáneamente cuando se mezclan juntos aceite, agua, tensoactivo, cotensoactivo. Las emulsiones inestables requieren el aporte de considerable energía mecánica para su preparación, que puede ser aportada por molinos coloidales, homogenizadores o sonicadores.

Tanto las emulsiones como las microemulsiones pueden contener grandes fracciones volumétricas de fase interna. Por ejemplo, algunos sistemas W/O contienen 75% (V/V) de aceite disperso en 25% de agua, aunque son más comunes las fracciones volumétricas más bajas.

A concentraciones bajas de tensoactivo, es decir valores por debajo de CMC, las micelas son esféricas o elipsoidales. Cuando un aceite se disuelve por medio de

micelas en agua, se mezcla en el núcleo de las micelas formado por las colas de hidrocarburo de las moléculas de tensioactivo e hincha las micelas.

Las micelas esféricas o elipsoidales se encuentran prácticamente monodispersas y su diámetro promedio cae en el intervalo de 25 a 60 Å. Las gotitas de las microemulsiones también tienen una distribución de tamaños estrecha, con un diámetro promedio de aproximadamente 60 a 1.000 Å. Dado que los diámetros de las gotitas son menores que $\frac{1}{4}$ de la longitud de onda de la luz visible (4.200 Å para la luz violeta y 6.600 Å para la luz roja), las microemulsiones dispersan poco la luz y son transparentes o por lo menos translúcidas. En contraste, las emulsiones tienen distribuciones de tamaño de gotas muy amplias. Debido a que el grueso de sus gotas es más grande que la longitud de onda de la luz y a que la mayoría de los aceites tienen índices de refracción más altos que el agua, la mayoría de ellas son opacas. La tabla 3 muestra algunas de las diferencias entre las emulsiones y las microemulsiones. [\(Remington, 2003\)](#)

Tabla 3. Diferencias entre macro y microemulsiones

PROPIEDAD / CARACTERÍSTICA	EMULSIÓN	MICROEMULSION
Aspecto	Opaco	Translúcido
Diámetro de la fase interna	0.15 - 100 μm	10 - 100 nm
Estabilidad termodinámica	Inestable	Estable
Presencia de cosurfactante	No	Relación específica con el surfactante
Concentración de surfactantes	Baja	Alta

Los tres sistemas dispersos –soluciones micelares, microemulsiones y emulsiones- pueden ser del tipo O/W (aceite en agua) o W/O (agua en aceite). Las soluciones micelares acuosas de tensoactivos pueden disolver aceites y fármacos solubles en aceite en los núcleos formados por sus cadenas de hidrocarburos. En forma similar, los tensoactivos solubles en aceite, como el monooleato de sorbitán y el docusato de sodio, forman “micelas invertidas” en aceites, capaces de disolver agua en

el centro polar. El aceite disuelto por las primeras micelas y el agua disuelta por las últimas pueden, a su vez, aumentar la disolución de partículas de fármacos solubles en aceite y agua, respectivamente.

Se han incorporado fármacos solubles en aceite a emulsiones O/W disolviéndolos en la fase oleosa antes de la emulsificación. En forma similar, fármacos solubles en aceite se han incorporado a microemulsiones tópicas y orales por disolución previa en aceites. La ventaja de las microemulsiones como formas de dosificación, comparadas con las emulsiones convencionales, es su tamaño de gota menor, que acelera la liberación del fármaco y su mayor estabilidad.

Las emulsiones y las soluciones micelares de aceites disueltos en soluciones acuosas de tensoactivos constan de tres componentes, agua, aceite y tensoactivo. Las microemulsiones por lo general requieren un cuarto componente, llamado cotensoactivo. Estos últimos son los alcoholes alifáticos de longitud intermedia de cadena, poco miscibles en agua. Tanto los tensoactivos como los cotensoactivos promueven la generación de extensas interfases por la dispersión espontánea del aceite en agua o viceversa, lo que da lugar a las microemulsiones. La gran superficie de interfase entre aceite y agua permite la formación en la interfase de una extensa película mixta compuesta por tensoactivo y cotensoactivo. Esta película se llama "interfase" debido a que es más gruesa que las monocapas de tensoactivo formadas en las interfases aceite-agua de las microemulsiones. La tensión en la interfase aceite-agua en las microemulsiones se aproxima a cero, lo que también contribuye a su formación espontánea. Desde otro punto de vista las microemulsiones son consideradas como micelas muy hinchadas por las grandes cantidades de aceite disuelto.

Las microemulsiones O/W se han formulado como vehículos acuosos para la administración percutánea, oral o parenteral de fármacos solubles en aceite.

3.6.1 Propiedades tensoactivas en solución y formación de micelas [\(Remington, 2003\)](#)

Los surfactantes presentan en su estructura química porciones polares, se ha demostrado que tanto la porción hidrófoba (cadena alquílica) como la hidrófila (grupos carboxilo y carboxilato) son necesarias para su tensioactividad y que el grado relativo de polaridad determina la tendencia a acumularse en las interfases, en consecuencia, los tensoactivos tienden a concentrarse y adsorberse en las interfases (aire-agua, aceite-agua y sólido-agua). La tensión superficial de las soluciones acuosas de tensoactivos disminuye con el aumento de concentración, hasta un punto mas allá del cual se hace prácticamente constante.

A medida que se incrementa su concentración en el cuerpo de la solución, las monocapas de tensoactivo adsorbidas en la superficie y en su interfase con las paredes del recipiente se apiñan cada vez más. Cuando están empaquetadas tan densamente como es posible, la tensión superficial y de interfase alcanzan valores esencialmente constantes. A esta concentración, pareciera que el tensoactivo ha alcanzado su límite de solubilidad en el cuerpo de la solución; sin embargo, sus moléculas comienzan a asociarse en pequeños agregados denominados micelas. Todo el tensoactivo en exceso de esta concentración, se incorpora a las micelas, mientras que la concentración del no asociado permanece prácticamente constante. Esta concentración, en la cual todas las propiedades de la solución cambian en forma abrupta se llama concentración micelar crítica (CMC). Por encima de la CMC, la concentración micelar de tensoactivo es igual a su concentración total menos la CMC. La dilución de la solución de tensoactivo por debajo de la CMC provoca que las micelas se dispersen o se rompan en moléculas aisladas o no asociadas.

Los tensoactivos iónicos tienen valores de CMC más altos que los no iónicos debido a que la repulsión electrostática de los grupos cargados en la periferia de las micelas iónicas hace más difícil la micelización. El agregado de sales simples reduce estas fuerzas repulsivas, lo que disminuye la CMC de los tensoactivos aniónicos y

catiónicos. Dentro de cualquier serie homóloga, la CMC disminuye regularmente con el aumento de longitud de la cadena de hidrocarburos y, por lo tanto, al aumentar la actividad del tensoactivo. Cada grupo metileno adicional divide aproximadamente en dos la CMC.

3.6.2 Selección de los agentes emulsificantes [\(Remington, 2003\)](#)

La selección del agente o agentes emulsificantes es de primordial importancia en la formulación exitosa de una emulsión. A medida que el emulsificante se hace más hidrófilo, su solubilidad en agua aumenta y se favorece la formación de una emulsión O/W. A la inversa, las emulsiones W/O se favorecen con los emulsificantes más lipófilos. Esto origina el concepto de que el tipo de emulsión está relacionado con el equilibrio entre tendencias a soluciones lipófilas e hidrófilas de los agentes emulsificantes tensoactivos.

Con el aumento del número de emulsificantes disponibles, la selección se realiza basándose en un método de equilibrio entre las proporciones hidrófilas y lipófilas del agente emulsificante, se usa ampliamente en la actualidad y se conoce como sistema HLB. Así, utilizando un tensoactivo de HLB bajo junto con otro que tenga un HLB alto es posible preparar mezclas que tengan valores intermedios entre los dos emulsificantes

La denominada escala HLB es una escala numérica que se extiende desde 1 hasta aproximadamente 50. Los tensoactivos más hidrófilos tienen números HLB altos (más de 10), mientras que aquellos con números HLB de 1 a 10 se consideran lipófilos. Los tensoactivos con un equilibrio adecuado de sus afinidades lipófilas e hidrófilas son agentes emulsionantes efectivos, dado que se concentran en la interfase aceite/agua. La relación entre valores HLB y la aplicación del agente tensoactivo se muestran en la tabla 4.

Tabla 4. Relación entre los límites HLB y aplicación de surfactantes [\(Remington, 2003\)](#)

Límites HLB	Uso
0-3	Agentes antiespuma
4-6	Agentes emulsionantes W/O
7-9	Agentes humectantes
8-18	Agentes emulsionantes O/W
13-15	Detergentes
10-18	Agentes solubilizantes

3.7 SUCROÉSTERES

Los promotores de absorción comúnmente utilizados en la aplicación transdérmica son surfactantes iónicos y surfactantes no iónicos. El principal problema con las formulaciones que contienen estos promotores es que la irritación de la membrana limita severamente la aplicación clínica. Generalmente, tanto los surfactantes aniónicos como catiónicos promueven más la absorción que los surfactantes no iónicos, pero estos también son considerados altamente tóxicos ya que pueden dañar la barrera cutánea en bajas concentraciones.

Una posibilidad interesante es el empleo de ésteres de ácidos grasos y sacarosa, los cuales son considerados surfactantes no iónicos. Una de las ventajas de utilizar sucroésteres como promotores de absorción es reducir la irritación con respecto a otros promotores, tales como sales biliares y alquilsulfatos. Siendo no irritantes de la piel y mucosas, estos no sólo están disponibles como aditivos para alimentos, sino también para productos farmacéuticos y cosméticos. [\(Barry, 1987\)](#)

Químicamente, los sucroésteres son obtenidos de la reacción entre sacarosa y los ácidos grasos del C₁₂ a C₁₈ (ácido láurico, mirístico, palmítico, esteárico, oleico), los

cuales son derivados de grasas comestibles. La estructura química de los sucroésteres se muestra en la Figura 6.

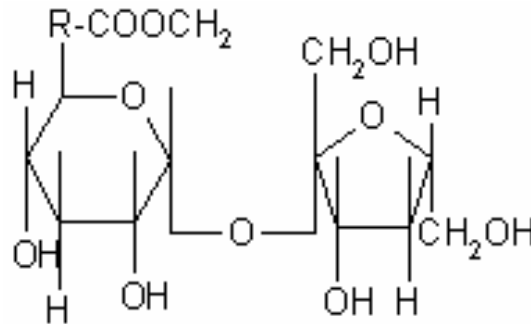


Fig. 6. Estructura química de los sucroésteres [\(Ryoto, 1987\)](#)

Donde R es un radical del ácido graso. Debido a su origen y naturaleza, los sucroésteres proporcionan un alto grado de pureza específico y son completamente inofensivos y seguros. Además, la presencia en su molécula de una porción altamente hidrofílica (sacarosa) da a ésta clase de surfactantes un alto poder de emulsificación, superior al de otros monoglicéridos y monodiglicéridos.

Como la molécula de sacarosa contiene un gran número de grupos hidroxilos, los sucroésteres resultantes muestran una marcada afinidad para el agua y soluciones acuosas; la afinidad de los sucroésteres por las grasas es similar a lo que ocurre con los glicéridos, por la presencia de radicales libres de ácidos grasos en la molécula. Por consiguiente, los sucroésteres actúan como un excelente puente entre el agua y las grasas dando una mejor emulsificación entre ellos. Los productos alimenticios en los cuales se utilizan son estables y tienen buena apariencia.

3.8 PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL LAUREATO DE SACAROSA

3.8.1 Estructura

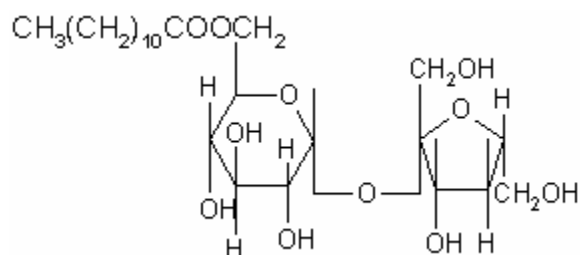


Fig. 7. Estructura química del laureato de sacarosa [\(Ryoto, 1987\)](#)

3.8.2 Características fisicoquímicas del laureato de sacarosa

En la tabla 5 se encuentran algunas de las características fisicoquímicas y composición del laureato de sacarosa (L-1695)

Tabla 5. Características fisicoquímicas del laureato de sacarosa [\(Ryoto, 1987\)](#)

Sucroéster	Ácido graso (cadena hidrocarbonada)	HLB	Solubilidad en agua (%)	Temperatura de fusión	Composición del éster %	
					Mono éster	Di, tri, poli éster
(L-1695)	Ácido láurico [12:0]	Apróx. 16	>50	35 - 47	Apróx. 80	Apróx. 20

3.8.3 Mecanismo de acción del laureato de sacarosa

Como se sabe, el potencial que presentan los sucroésteres como promotores de absorción radica en la inserción de su larga cadena hidrocarbonada entre los tallos lipofílicos, permitiendo que el anillo de sacarosa interactúe con la cabeza polar de los lípidos.

En un estudio realizado sobre la absorción percutánea utilizando diferentes ácidos grasos saturados, se reportó que el ácido láurico [12:0] fue más efectivo que el ácido cáprico [10:0] y que el mirístico [14:0] [\(Cazares, 2003\)](#), [\(Yamda, 1987\)](#). Los ácidos grasos de cadenas medianas, entre C₁₀ y C₁₂, son más efectivos en la penetración de fármacos. Por todo lo anterior, se piensa que el laureato de sacarosa participa directamente en la región lipídica, insertándose y previniendo la cristalización de cadenas, trayendo en consecuencia la facilitación del transporte de fármacos. El laureato de sacarosa afecta directamente el empaquetamiento de los lípidos, haciendo que los lípidos sean más fluidos y flexibles [\(Ayala et al., 2003\)](#).

3.9 PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DEL TRANSCUTOL

3.9.1 Estructura

La figura 8 representa la estructura química del Transcutol®

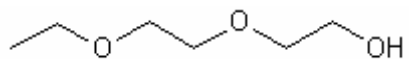


Fig. 8. Estructura química del Transcutol® [\(Gattefosé, 1999\)](#)

3.9.2 Características fisicoquímicas del Transcutol®

- ✦ Nombre químico: Dietilen-glicol-monoetil éter
- ✦ Peso molecular: 134.17 g/mol
- ✦ Características: Líquido incoloro y con un olor ligeramente etéreo
- ✦ Uso: Es utilizado como solvente anfílico para preparaciones farmacéuticas, tópicas y transdérmicas; es compatible con algunos aceites vegetales y es utilizado como solvente para esteroides, trinitrina, indometacina, y algunas hormonas. También es utilizado en el área de cosmetología para la preparación de emulsiones microemulsiones y lociones.
- ✦ Solubilidad: Soluble en propilenglicol, hexilenglicol, etanol 96% y agua, parcialmente soluble en aceites vegetales e insoluble en aceites minerales.
- ✦ Punto de ebullición: 195-202 °C
- ✦ Viscosidad a 20 °C: 4.5 mPa.s

4. MATERIALES Y REACTIVOS

4.1 REACTIVOS

- ✦ Agua destilada (obtenida de un equipo Milli-Q, Millipore Corp, Bedford, USA).
- ✦ Laureato de sacarosa L1695 (Ryoto Sugar Ester® L-1695)
- ✦ Transcutol® (Gattefossé Saint-Priest, France)
- ✦ Fosfato de potasio monobásico (Fermont, Monterrey, N.L.)
- ✦ Alcohol etílico (Fermont, Monterrey, N.L.)
- ✦ Hidróxido de sodio (J.T. Baker, Mexico)
- ✦ Miristato de isopropilo (Henkel, México)
- ✦ Brij 58 (Canamex Químicos, México)
- ✦ Triclosán (Sigma, México)
- ✦ Monooleato de Sorbitan Span 80 (ICI Americas Inc. USA)

4.2 APARATOS Y EQUIPOS

- ✦ Balanza analítica (Boeco, Modelo BBC 32, Alemania)
- ✦ Celdas de difusión verticales tipo Franz
- ✦ Vortex (Mixer, Modelo M16715, USA)
- ✦ Centrífuga (Modelo EBA 12/ 12R, Hettich, Alemania)
- ✦ Dermatoma (Zimmer, Modelo 901, USA)
- ✦ Espectrofotómetro (Varian, Modelo Cary IE 95031003, Australia)
- ✦ Micrómetro electrónico digital (No. 4443945, Japan)
- ✦ pH metro (modelo 430, Corning Incorporated, USA)
- ✦ COULTER® N4 Plus Submicron Particle Sizer (Coulter Corp., Miami, Fl; USA)
- ✦ Agitador mecanico (Heidolph Modelo RZR 1, Alemania)
- ✦ Multiagitador magnetico (Multi stirrer 15, Velp Scientifica, Italia)
- ✦ Recirculador de agua (Erweka, Erweka EM, Alemania)
- ✦ Agitador Magnetico (Magnestir, Lab-Line Instruments, Inc, USA)

5. METODOLOGÍA

5.1 PREPARACIÓN DE LA EMULSIÓN Y LA MICROEMULSIÓN

Se preparó una emulsión y una microemulsión O/W, siendo la fase oleosa miristato de isopropilo y los surfactantes Span 80 y Laureato de sacarosa (L-1695), este último con propiedades promotoras bien conocidas [\(Ayala et al., 2003\)](#). Con el fin de determinar la proporción de surfactantes a emplear, se recurrió a la escala HLB.

Datos:	HLB
Span 80	4.3
Laureato L-1695	16

HLB requerido por el Miristato de Isopropilo 11 - 12

Considerando un HLB para el miristato de isopropilo de 11.5, las proporciones a emplear de ambos surfactantes son:

$$\% (\text{Laureato L-1695}) = \frac{11.5 - 4.3}{16 - 4.3} \times 100 = 61.53 \% \approx 62 \%$$

$$\% (\text{Span 80}) = 100 - 61.53 = 38.46 \% \approx 38 \%$$

Se determinaron experimentalmente las cantidades necesarias para preparar la microemulsión y emulsión variando las cantidades de los componentes de acuerdo a la tabla 6, la relación de los porcentajes calculados de los surfactantes se mantuvo para todos los sistemas preparados

Tabla 1. Porcentajes utilizados para la preparación de sistemas

Cantidades expresadas en porcentaje					
Lote	% de Surfactantes	% de Laureato 1695	% de Span 80	% de Agua	% Miristato de Isopropilo
1	0.5	0.31	0.19	95.50	4
2	1	0.62	0.38	95.00	4
3	2	1.24	0.76	94.00	4
4	3	1.86	1.14	93.00	4
5	4	2.48	1.52	92.00	4
6	5	3.1	1.9	91.00	4
7	6	3.72	2.28	90.00	4
8	7	4.34	2.66	89.00	4
9	8	4.96	3.04	88.00	4
10	9	5.58	3.42	87.00	4
11	10	6.2	3.8	86.00	4
12	11	6.82	4.18	85.00	4
13	12	7.44	4.56	84.00	4
14	13	8.06	4.94	83.00	4
15	14	8.68	5.32	82.00	4
16	15	9.3	5.7	81.00	4
17	16	9.92	6.08	80.00	4
18	17	10.54	6.46	79.00	4
19	18	11.16	6.84	78.00	4
20	19	11.78	7.22	77.00	4
21	20	12.4	7.6	76.00	4
22	21	13.02	7.98	75.00	4
23	22	13.64	8.36	74.00	4
24	23	14.26	8.74	73.00	4
25	24	14.88	9.12	72.00	4
26	25	15.5	9.5	71.00	4
27	26	16.12	9.88	70.00	4

El procedimiento general para preparar la microemulsión y la emulsión fue el siguiente: Se procedió a pesar cada uno de los componentes por separado. Considerando la proporción antes calculada para ambos surfactantes, estos se pesaron y se disolvieron en la fase acuosa. Por su parte, 5 mg/g de triclosán, se agregaron directamente a un volumen de miristato de isopropilo, equivalente al 4% de la formulación, y una vez disuelto, se incorporó a la fase acuosa, con agitación a 700 rpm empleando un agitador mecánico (Heidolph Modelo RZR 1, Alemania). Una vez formada la emulsión, se adicionó Transcutol como co-surfactante, gota a gota, manteniendo el sistema a 32°C hasta obtener un sistema transparente, indicativo de haber formado una microemulsión.

Una particularidad del sistema preparado es que en un rango de temperaturas de 32 a 38°C se tiene una microemulsión, mientras que por debajo de 32 °C, se forma una emulsión.

Por otro lado, se determinó el porcentaje de la mezcla de surfactantes (en la proporción antes mencionada) que podía agregarse al sistema, con el fin de obtener una microemulsión estable. Como se muestra en la Tabla 6, los porcentajes probados variaron de 0.5 a 26 por ciento.

5.2 DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE GLÓBULO EN LAS MICROEMULSIONES

Se prepararon tres lotes de microemulsiones. Se colocaron muestras de estos lotes en celdas para su lectura en el nanosizer COULTER® N4 Plus Submicron Particle Sizer (Coulter Corp., Miami, FL; USA). Cada lote se leyó por triplicado y se obtuvieron los promedios de talla, la desviación estándar y el índice de polidispersión.

5.3 DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE TRICLOSAN EN BUFFER DE FOSFATOS pH 7.4 CON BRIJ 58 AL 3%

Se colocaron en un vial 5 ml de solución buffer de fosfatos pH 7.4 (preparada de acuerdo a la Farmacopea de los Estados Unidos, USP, Edición 24, 2000) y se le agregó principio activo suficiente para saturar el medio. Se mantuvo el vial en agitación constante con un agitador Magnético (Magnestir, Lab-Line Instruments, Inc, USA) a temperatura ambiente durante 24 h.

La suspensión se centrifugó a 3000 rpm por 20 min en una centrífuga (Modelo EBA 12/12R, Hettich, Alemania) tomando el sobrenadante para hacer las diluciones necesarias con solución buffer de fosfatos pH 7.4; las soluciones se leyeron a la longitud de onda de máxima absorción utilizando un Espectrofotómetro (Varian, Mod. Cary IE 95031003, Australia).

La concentración se obtuvo interpolando en la curva de calibración correspondiente.

5.4 DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE TRICLOSAN EN MIRISTATO DE ISOPROPILO

Se colocaron en un vial 5 ml de miristato de isopropilo y se agregó principio activo suficiente para saturar el medio. El vial se mantuvo en agitación durante 24 h con un agitador magnético (Magnestir, Lab-Line Instruments, Inc, USA) a temperatura ambiente.

La suspensión se centrifugó a 3000 rpm por 20 min en una Centrífuga (Modelo EBA 12/12R, Hettich, Alemania) tomando el sobrenadante para hacer las diluciones necesarias con etanol; las soluciones se leyeron a la longitud de onda de máxima absorción, utilizando un espectrofotómetro.

La concentración se obtuvo interpolando en la curva de calibración correspondiente.

5.5 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA TRICLOSÁN EN ETANOL

Se realizó una curva de calibración por triplicado para el triclosán en etanol, considerando que éste es el solvente utilizado para extraer el triclosán retenido en piel después de las pruebas de permeación (como se explica más adelante). Esto se llevó a cabo de la siguiente manera:

Se aislaron pequeñas porciones de piel de oreja de cerdo y se pusieron en contacto con etanol durante 24 horas, con agitación constante en un agitador magnético (Magnetir, Lab-Line Instruments, Inc, USA)

Se centrifugó la suspensión obtenida a 3000 rpm por 20 min en una Centrífuga (Modelo EBA 12/ 12R, Hettich, Alemania) y posteriormente se filtró. Esta solución se utilizó como medio para preparar la curva de calibración del principio activo.

Se preparó una solución stock de 81.1 mcg/ml de triclosán y a partir de esta se realizaron las diluciones necesarias por triplicado para la obtención de la curva de calibración.

Se leyó la curva de calibración a la longitud de onda de máxima absorción del triclosán por espectrofotometría UV-Vis.

5.6 CURVA DE CALIBRACIÓN PARA TRICLOSÁN EN BUFFER DE FOSFATOS pH 7.4 CON BRIJ 58 AL 3%

Se preparó una curva de calibración por triplicado para el triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 al 3%, el cual se puso previamente en contacto con piel de oreja de cerdo. Esto se llevo acabo de la siguiente manera:

Se aislaron pequeñas porciones de piel de oreja de cerdo y se colocaron en buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 al 3% durante 1 hora, en baño de agua con agitación constante en un agitador magnético (Magnetir, Lab-Line Instruments, Inc, USA).

Se centrifugó la suspensión obtenida a 3000 rpm por 20 min en una Centrífuga (Modelo EBA 12/ 12R, Hettich, Alemania) y posteriormente se filtró. Esta solución se utilizó como medio para preparar la curva de calibración del principio activo.

Se preparó una solución stock de 82.0 mcg/ml de triclosán y a partir de esta se realizaron las diluciones necesarias por triplicado para la obtención de la curva de calibración.

Se leyó la curva de calibración a la longitud de onda de máxima absorción del triclosán por espectrofotometría UV-Vis

5.7 OBTENCIÓN DE LA PIEL

Se utilizó piel de oreja de cerdo que fue recuperada del rastro después del sacrificio de los animales y antes de ser tratada con agua caliente o con vapor de agua.

Se aisló la piel de cada una de las orejas de cerdo utilizando bisturí.

Se recortó el exceso de pelo que presentaba la piel con tijeras, homogenizando el grosor de la piel a 0.6 mm utilizando un dermatoma (Zimmer, Mod. 901, USA). Todo el músculo y el tejido adiposo se desecharon. Durante este proceso, la piel se mantuvo hidratada con solución salina fisiológica para evitar que se reseca.

Se cortaron pequeñas porciones de piel y se envolvieron en papel aluminio por separado, congelándolas a – 20 °C hasta ser utilizadas (no más de 20 días).

5.8 ESTUDIOS DE PERMEACIÓN

Se realizaron estudios de permeación con las siguientes formulaciones:

- i. Microemulsión o/w
- ii. Emulsión o/w
- iii. Solución de triclosán en miristato de isopropilo (fase interna de los sistemas emulsionados).

Para llevar a cabo la permeación, se colocaron porciones de piel en solución buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 al 3% por 5 min para descongelarlas.

Se montaron las celdas de permeación tipo Franz agregando al compartimento receptor 2.0 ml de solución buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 al 3% y en la interfase entre el compartimento receptor y el donador, la piel. Las celdas se colocaron en un baño de agua a 37 °C con agitación constante para hidratar la piel por 30 minutos.

Después de este tiempo se extrajo la solución del compartimento receptor y se reemplazó con 2 ml de solución buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 al 3%. Por otro lado, se colocó en el compartimento donador 1 ml de formulación (emulsión, microemulsión ó solución).

La experiencia se siguió durante 8 h, manteniendo la temperatura a 37 °C mediante un baño de agua y agitación constante en la solución receptora de cada celda utilizando agitadores magnéticos.

Se tomaron muestras del compartimento receptor a las 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, h, retirando todo el volumen (2 ml) y reponiéndolo con medio fresco.

Cada muestra recolectada se analizó por espectrofotometría UV/Vis, utilizando un Espectrofotómetro (Varian, Mod. Cary IE 95031003, Australia).

Al terminar la permeación, se retiró la piel de cada celda, enjuagando la piel con agua para eliminar el exceso de formulación que hubiera podido quedar en la superficie y posteriormente se cortó en pequeñas porciones, las cuales se colocaron en 5 ml de etanol durante 24 h, con agitación constante, todo esto con el fin de extraer el fármaco que pudiera haber quedado retenido en la piel. La suspensión así obtenida se centrifugó y el sobrenadante obtenido se filtró y se determinó la cantidad de principio activo por espectrofotometría UV/Vis, utilizando un Espectrofotómetro (Varian, Mod. Cary IE 95031003, Australia).

La experiencia de permeación se llevo acabo por sextuplicado, además de un placebo para cada una de las formulaciones.

Con los datos obtenidos, se construyeron gráficos de cantidad acumulada en piel y de fármaco permeado en función del tiempo. Los resultados de las tres formulaciones estudiadas (microemulsión, emulsión, solución) se compararon realizando análisis de varianza y pruebas de t de student para evidenciar diferencias estadísticas.

La permeación de la emulsión se llevo acabo a temperatura ambiente (aprox. 25 °C) para tener presente el sistema en la forma mencionada, pues como ya se explicó, la microemulsión se forma entre los 32 y los 38 °C, mientras que por debajo de esta temperatura el sistema se encuentra en forma de emulsión.

Así pues, la permeación de la microemulsión se llevo acabo en baño maría a 37 °C asegurando así una temperatura adecuada en el compartimento donador (34°C) para la presencia del sistema en forma de microemulsión.

5.9 EXTRACCIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO RETENIDO EN LA PIEL

Se enjuagó cada porción de piel con agua destilada. Se colocaron 5ml de etanol en viales y en cada vial se colocó la piel que se retiró de las celdas después de la permeación, cortada en pequeñas porciones. Los viales se mantuvieron cerrados para evitar que el etanol se evaporara. Los viales se mantuvieron en agitación durante 24 horas, al término de las cuales, las suspensiones se centrifugaron a 2500 rpm por 15 minutos en una Centrífuga (Modelo EBA 12/ 12R, Hettich, Alemania) y posteriormente se filtraron. El sobrenadante se llevó a un aforo de 5 ml. Se cuantificó por espectrofotometría UV-Vis y los resultados se interpolaron en la curva de calibración de triclosán en etanol.

6. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

La Tabla 7 muestra los porcentajes necesarios de cada componente para lograr la formulación de la microemulsión. Estos porcentajes se obtuvieron experimentalmente, como se describe en la metodología. La proporción de surfactantes (Laureato de sacarosa L-1695 y Span 80) determinados de acuerdo a la tabla 6, se definió manteniendo constante la cantidad de fase interna (miristato de isopropilo) y variando la proporción del cosurfactante, el cual se fue añadiendo gota a gota hasta obtener la microemulsión. Se observó que la microemulsión solo se formaba cuando la cantidad de surfactantes se encontraba entre 16 y 25 por ciento y los sistemas tenían una temperatura de 39 °C. Se seleccionó el sistema con 20 por ciento de surfactantes debido a que es el sistema que soportó la mayor cantidad de cosurfactante sin que la microemulsión se rompiera.

Tabla 1. Componentes y porcentajes para la formulación de la emulsión y microemulsión

Microemulsión / Emulsión	
Componente	Proporción (%)
Miristato de isopropilo	3.3
Agua	62.4
Transcutol®	17.7
Laureato de sacarosa L-1695	10.6
Span 80	5.7
Triclosán	0.4
total	100.0

Una vez elegido el sistema con 20 por ciento de surfactantes se encontró que la temperatura de formación se abatía si se agregaba más cosurfactante. Es interesante

mencionar que se logró que la temperatura de formación de la microemulsión disminuyera hasta un rango de 32 a 38 °C. Fuera de este rango se tiene una emulsión, cuya composición fue exactamente la misma que para la microemulsión. Esto resultó muy favorable, pues permitió la comparación de ambos sistemas, pudiendo evaluar el efecto de los componentes y del tamaño del glóbulo sobre la capacidad de permeación del triclosán. Además resulta particularmente atractivo el hecho de que se pueda obtener una microemulsión *in situ* al momento de aplicarla sobre la piel y alcanzar la temperatura de formación.

Además de las dos formulaciones anteriormente mencionadas, se evaluó la permeabilidad de una solución de triclosán en miristato de isopropilo al 0.4 % (p/v), considerando que este solvente constituye la fase interna de ambas formulaciones.

Como parte de las determinaciones previas, se evaluó la solubilidad de triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 adicionado con Brij 58 al 3 % y en miristato de isopropilo. La Tabla 8 muestra los resultados experimentales obtenidos. En el caso del buffer de fosfatos con Brij 58 al 3 %, la determinación de la solubilidad era importante, pues es el medio que se emplearía como solución receptora para los estudios de permeación, en donde hay que asegurar que se mantienen condiciones sink durante todo el proceso, garantizando con ello que la cantidad permeada no se ve afectada debido a la saturación del medio. Se decidió adicionar Brij 58, precisamente para incrementar la solubilidad del triclosán, que como se sabe es prácticamente insoluble en agua. Debido a que el Brij 58 es un surfactante no iónico se ha constatado en estudios previos (Acevedo, 1999) que no altera los resultados de permeación al adicionarse a la solución receptora. Como se muestra en la Tabla 8, la solubilidad en este medio fue de 450 mg/ml, lo cual garantiza las condiciones sink durante la permeación.

Tabla 2. Determinación experimental de la solubilidad de triclosán (T=25°C)

Medio de disolución	TRICLOSAN (mg/ml)
Buffer de fosfatos pH 7.4 con Brij 58 (3% p/v)	450
Miristato de Isopropilo	889.6

Por otro lado, se determinó la solubilidad en miristato de isopropilo al ser la fase interna de los sistemas preparados. Como puede verse, la solubilidad del triclosán en el miristato es muy elevada, por lo que no hay problema para solubilizarlo en este medio.

Dentro de las pruebas de caracterización de sistemas emulsionados, una determinación importante es la de tamaño de glóbulo. En la tabla 9 se presentan los resultados obtenidos de la determinación de tamaño de glóbulo de tres lotes de microemulsiones y tres lecturas para cada lote a 32 °C. Como puede verse en esta tabla, se obtuvo un valor promedio de 63.2 nm, con lo que se puede asegurar que la microemulsión es completamente transparente debido a que el diámetro promedio de esta, se encuentra por debajo de la longitud de onda visible.

Tabla 3. Tamaño de partícula, desviación estándar e índice de polidispersión para 3 lotes de microemulsiones (tres lecturas por lote)

	Diámetro promedio (nm)	Desviación estándar (nm)	Índice de polidispersión
Lote 1	72.2	37.4	0.361
	75.0	36.4	0.279
	67.1	25.1	0.381
Lote 2	68.1	25.0	0.399
	58.6	19.6	0.318
	69.8	27.8	0.401
Lote 3	52.7	16.8	0.374
	53.9	21.8	0.309
	51.7	10.5	0.309
promedio	63.2	24.5	0.348

La Figura 9 muestra la curva de calibración de triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 utilizada para calcular la cantidad de activo presente en el compartimento receptor a cada tiempo durante las permeaciones realizadas. Las lecturas se hicieron a una $\lambda = 225$ nm. Esta longitud de onda de máxima absorción fue determinada a partir de un barrido, mismo que se presenta en el apartado de Anexos (Anexo 1). La curva se construyó en un intervalo de concentraciones de 1.23 a 49.20 mcg/ml. Los parámetros de la curva se encuentran en la Figura 9, en donde se muestra que tiene un valor de $r^2 = 0.9978$ por lo que presenta una buena linealidad. Los datos utilizados para la construcción de esta curva se encuentran en el Anexo 2, así como los parámetros estadísticos evaluados.

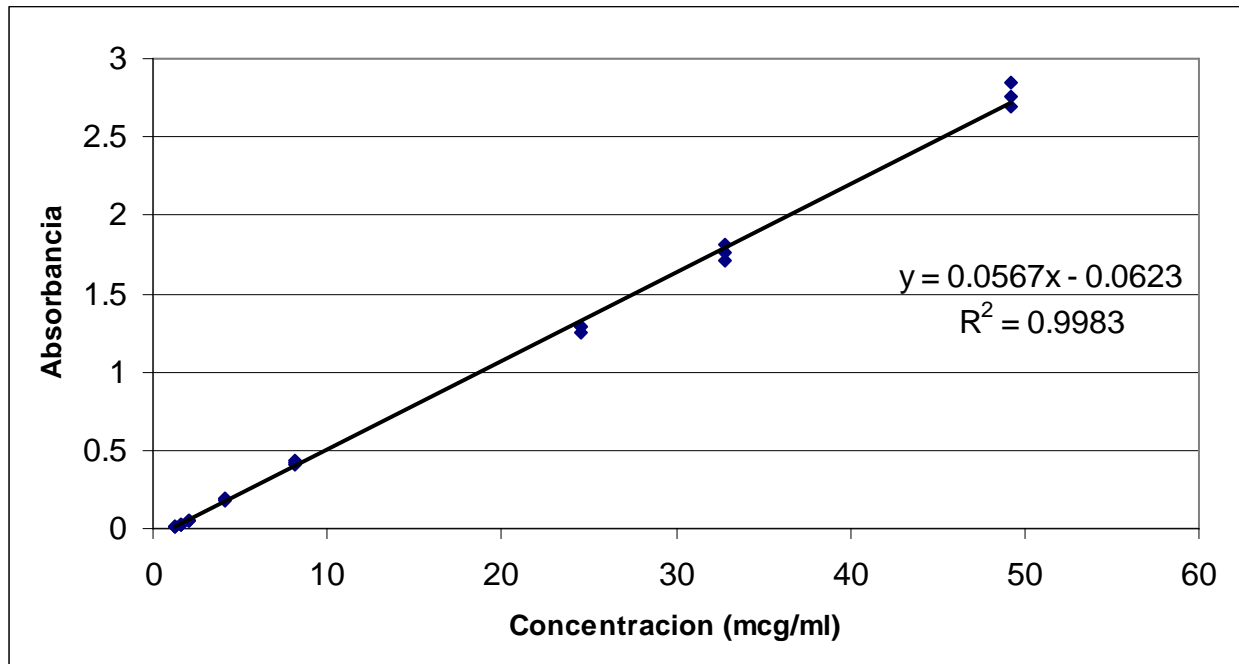


Fig. 1. Curva de calibración de triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%

La Figura 10 muestra la curva de calibración de triclosán en etanol utilizada para calcular la cantidad de triclosán extraído de la piel después de realizadas las permeaciones. La longitud de onda de máxima absorción fue de 225 nm. El intervalo de concentración fue de 0.0811 a 24.33 mcg/ml. Como puede verse esta curva presenta un valor de $r^2 = 0.9974$ por lo que posee una buena linealidad. Los datos utilizados para la construcción de esta curva, así como los parámetros estadísticos evaluados se encuentran en el Anexo 3.

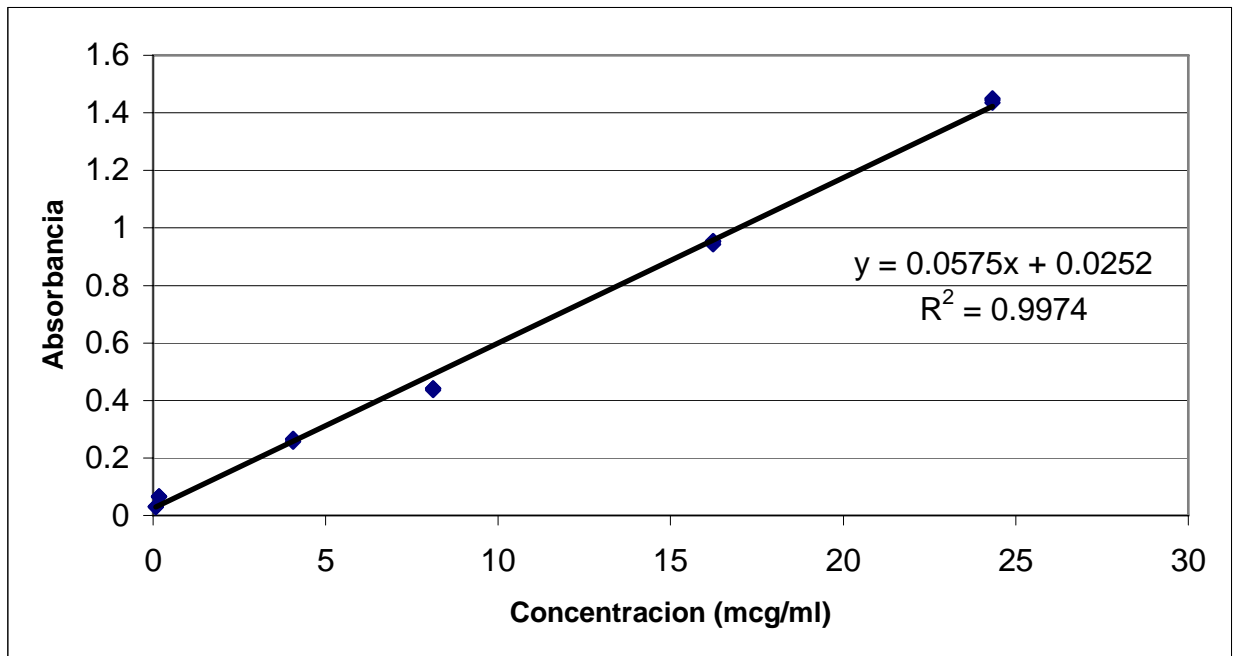


Fig. 2. Curva de calibración de triclosán en Etanol

La Figura 11 muestra el perfil de permeación de la solución durante 8 horas, donde las cantidades expresadas fueron obtenidas de la interpolación de los datos de cada muestreo en la curva de calibración de triclosán en buffer de fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%, y cuyos resultados se encuentran expresados en mcg/cm². Como puede verse hay un t_{lag} inicial de aproximadamente 38 minutos, posteriormente una pendiente pronunciada entre la primera y la segunda hora y finalmente un perfil de permeación prácticamente constante, entre las 2 y las 8 horas, con una pendiente de 4.01 mcg/cm²h. Al final de la permeación la cantidad total permeada fue de 49.49 mcg/cm².

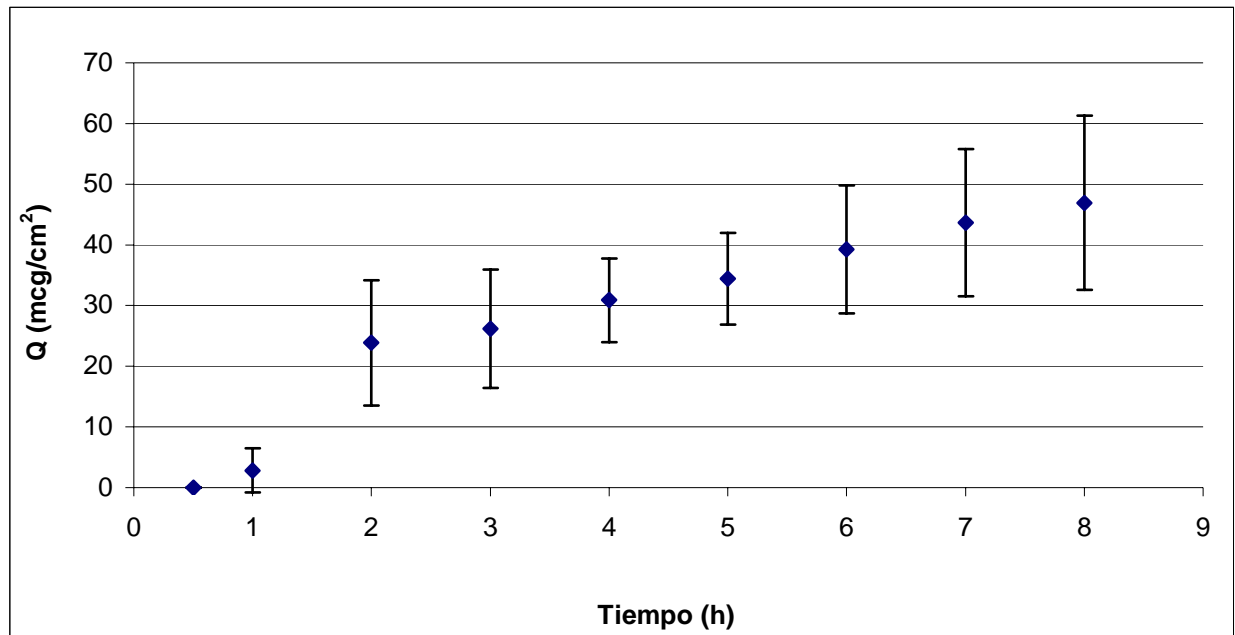


Fig. 3. Perfil de permeación del triclosán a partir de una solución de miristato de isopropilo (n=6)

En la Figura 12 se muestra el perfil de permeación obtenido para la emulsión durante 8 horas. En este caso el tiempo de latencia también fue de aproximadamente 35 minutos y posteriormente se obtiene un perfil de permeación constante con una pendiente $13.81 \text{ mcg/cm}^2\text{h}$, misma que es aproximadamente 3.4 veces mayor que la obtenida con la solución, lo que indica una mayor velocidad de permeación. La cantidad total de activo permeado al final de la experiencia fue de 100.27 mcg/cm^2 , lo que implica que la cantidad permeada en relación a la solución se incrementó al doble.

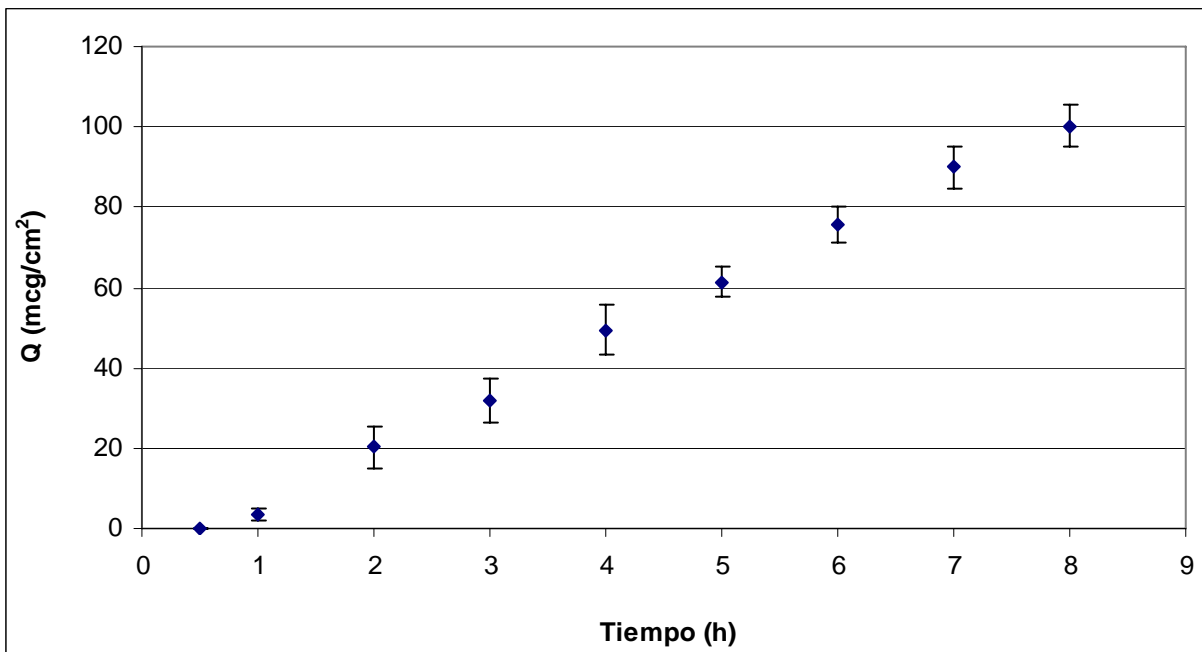


Fig. 4. Perfil de permeación del triclosán formulado en una emulsión o/w (n=6)

La Figura 13 muestra el perfil de permeación obtenido para la microemulsión durante 8 horas de muestreo. En este caso, no se observó un t_{lag} , lo que implicaría que el triclosán comenzó a permear de manera inmediata. Se puede decir que el gráfico, presenta dos tendencias, la primera con una permeación más rápida del activo hasta las primeras dos horas de muestreo, donde ha pasado al compartimiento receptor aproximadamente el 50% del activo total permeado en ocho horas; y la segunda, a partir de la tercera hora, muestra una pendiente menos pronunciada. Esta disminución en el flujo podría ser consecuencia de la saturación de la piel debido a la rápida permeación del triclosán en los primeros tiempos. Al final de la permeación, la cantidad total permeada fue de 101.56 mcg/cm^2 , la cual es muy semejante a la cantidad total permeada con la emulsión. Con este sistema no obstante, la dispersión de los datos obtenidos fue mucho mayor que para los dos sistemas anteriores.

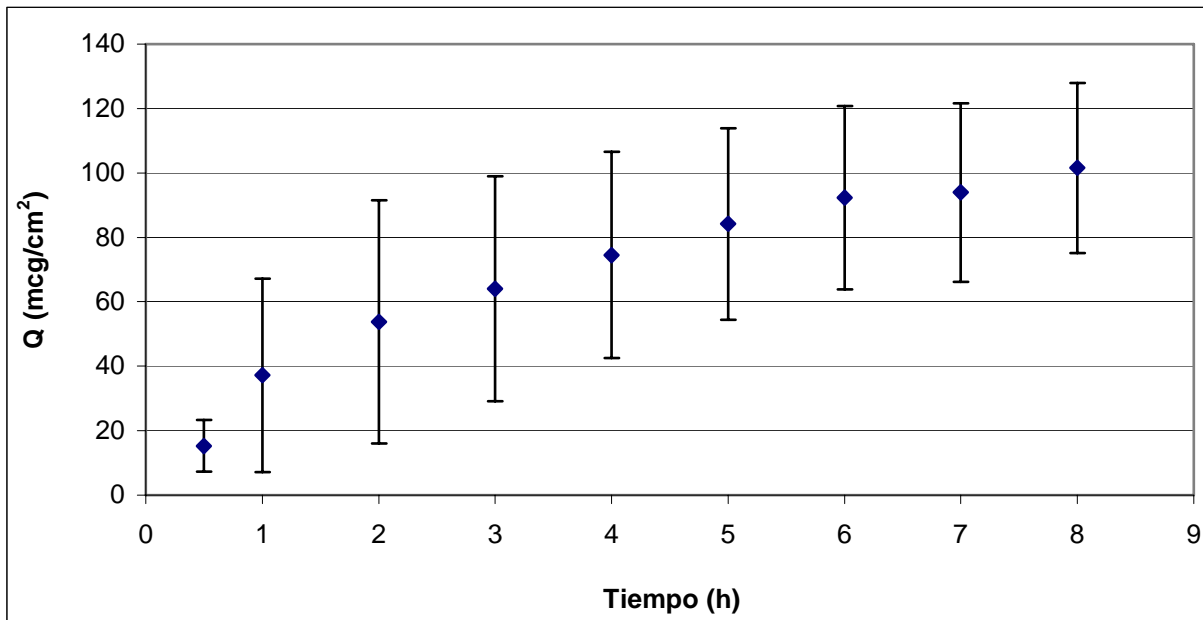


Fig. 5. Perfil de permeación del triclosán formulado en una microemulsión o/w (n=6)

La Figura 14 reúne los perfiles obtenidos con las tres formulaciones, para una mejor comparación. Aquí se hace patente, como ya se mencionó anteriormente que la cantidad de triclosán permeada y la velocidad de permeación es mucho menor con la solución que en el caso de la emulsión y la microemulsión y en cuanto a la cantidad total permeada, ésta es de prácticamente la mitad para la solución en relación a las otras dos formulaciones.

En el caso de la emulsión y la microemulsión, aunque al final de las 8 horas la cantidad permeada resultó ser en promedio la misma, la velocidad de permeación a lo largo del experimento fue superior para la microemulsión. Aunque como se mencionaba, de acuerdo a la velocidad de permeación, la cantidad de triclosán permeado con la microemulsión en las primeras dos horas corresponde a prácticamente la mitad del total permeado durante ocho horas para la emulsión (aprox. 50 mcg, cantidad equivalente a la permeada con la emulsión en cinco horas). No obstante, con la solución no se

alcanza dicha cantidad aún después de las ocho horas durante las cuales se realizó el experimento.

Los resultados indican que no sólo los promotores de absorción favorecen la permeación del triclosán a través de la piel, sino que además el tamaño de glóbulo está favoreciendo la permeación del activo de una manera significativa. Esto considerando que ambas formulaciones, emulsión y microemulsión, tienen la misma composición y que lo único que variaría sería el tamaño del glóbulo.

En estudios reportados por Ayala-Bravo et al. (2003) donde se realizaron estudios de penetración en estrato corneo se encontró que el laureato de sacarosa y el transcutool favorecían la penetración del activo, observándose incluso un efecto sinérgico entre ambos. En el presente estudio, la penetración del triclosán también se ve incrementada cuando se encuentran presentes ambos promotores, sobre todo si se hace la comparación con la solución de triclosán. En estudios realizados por Olvera-Martínez (2005) se encontró que el tamaño de partícula también es un factor para la penetración del activo, reportándose que a menor tamaño de glóbulo, la penetración del activo en el estrato corneo se incrementa, en comparación con emulsiones convencionales donde el tamaño de glóbulo es mucho mayor. Esto parece concordar con lo encontrado en este trabajo, donde el triclosán penetra más rápidamente con la microemulsión.

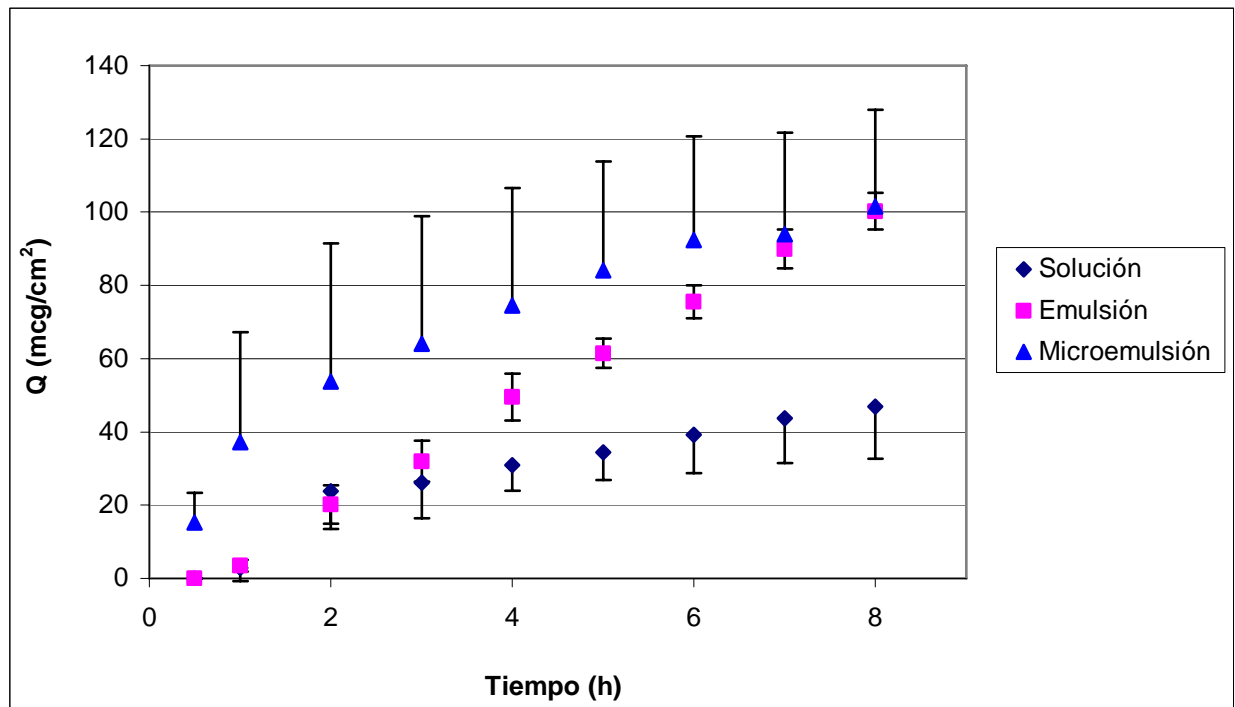


Fig. 6. Comparación de los perfiles obtenidos con las tres formulaciones

En la figura 15 se muestran las cantidades de triclosán extraídas de la piel al final de la permeación con las tres formulaciones. Como puede observarse, la cantidad de triclosán retenido en piel con la microemulsión es mucho mayor que para la emulsión y que la cantidad de triclosán extraído de la solución es muy pequeño, lo que demuestra que efectivamente la cantidad de activo permeado para la microemulsión es mayor que para el resto de las formulaciones. Lo que concuerda nuevamente con los estudios independientes realizados por Olvera-Martínez (2005) y Calderilla-Fajardo et al (2006), donde encuentran que la cantidad total de activo penetrado por unidad de área para los sistemas que tienen tamaño de glóbulo mas pequeño es mayor que para otras formulaciones con un tamaño de glóbulo mayor.

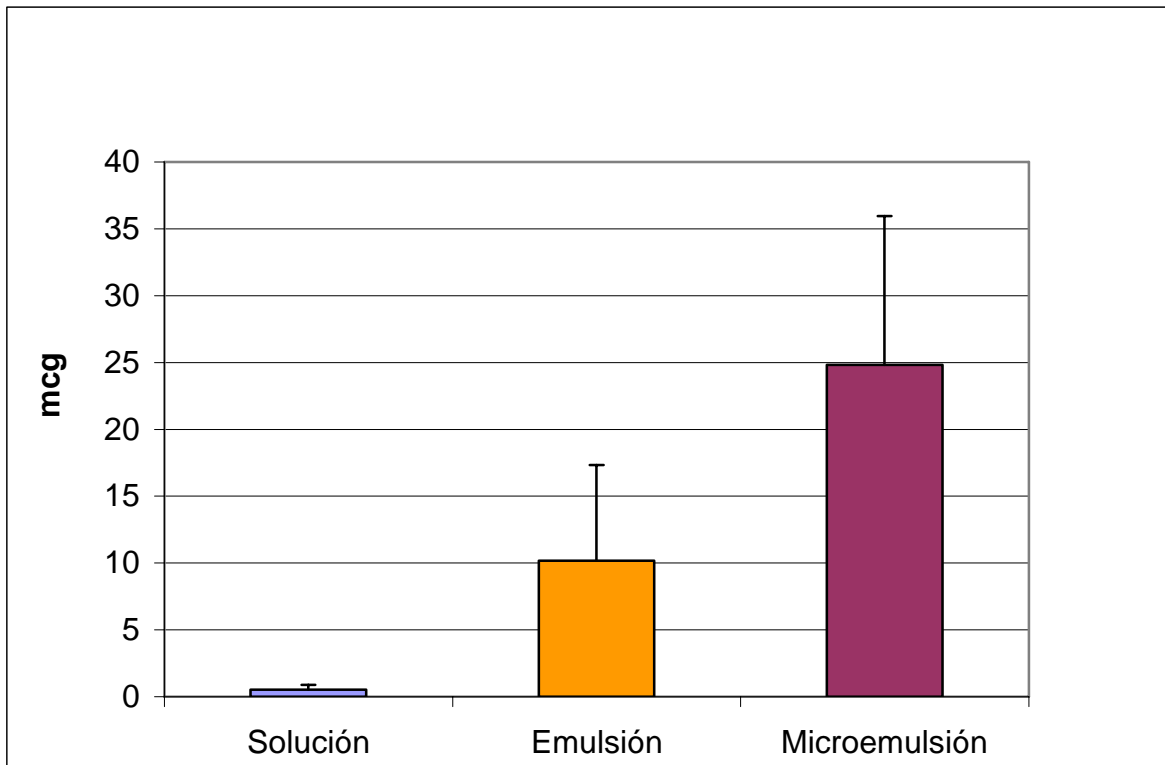


Fig. 7. Cantidad de triclosán extraído de la piel al final de cada permeación

	Cantidad (mcg)	D.S. (mcg)
Solución	0.53	0.35
Emulsión	10.18	7.15
Microemulsión	24.83	11.12

**D.S. Desviación Estandar

En la Tabla 10 se comparan los flujos, tiempos de latencia y cantidad total permeada obtenidos de las graficas correspondientes. De las pendientes de cada grafica y del análisis de los datos, para la solución y la microemulsión se tienen dos flujos que corresponden a las dos pendientes que presentan cada una de curvas, mientras que la emulsión solo presenta una pendiente y por lo tanto un flujo. Con respecto al tiempo de latencia, que representa el tiempo necesario para que el activo alcance el compartimiento receptor y se establezca un gradiente de permeación, para la solución y la emulsión, es de 38 y 35 min. respectivamente. Por otro lado, con la microemulsión se cuantifica triclosán a partir del primer muestreo pudiéndose considerar que no presenta un tiempo de latencia, lo que indica que el paso del activo a través de la piel

es inmediato para la microemulsión. Finalmente para la emulsión y la microemulsión la cantidad total permeada es prácticamente la misma, mientras que para la solución es aproximadamente el 46% lo que implica menos de la mitad que para las otras dos formulaciones.

Tabla 4. Comparación de los parámetros de permeación obtenidos para las tres formulaciones estudiadas: Flujo (J), tiempo de latencia (t_{lag}), cantidad total permeada (Q)

	Tiempo (h)	J (mcg/cm ² h)	t lag (h)	Q mcg/cm ²
Solución	0 – 2	16.63	0.63	46.93 ± 14.32
	2 – 8	4.01		
Emulsión	0 – 8	13.81	0.58	100.27 ± 5.05
Microemulsión	0 – 2	24.35	---	101.56 ± 26.4
	2 – 8	7.89		

Se realizó un análisis de Varianza con los flujos obtenidos con las tres formulaciones (considerando el flujo de 2 a 8 h para la solución y la microemulsión) (Tabla 11) y los resultados indican que existe una diferencia significativa en la velocidad de permeación del triclosán.

Tabla 5. Análisis de varianza para los flujos de las permeaciones

<i>Grupos</i>	<i>Número de muestras</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Solución	6	24.11	4.01	4.533
Emulsión	6	81.82	13.63	1.904
Microemulsión	6	47.36	7.89	7.775

Tabla 11 Continuación

ANÁLISIS DE
VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	280.95	2	140.47	29.64	6.14E-06	3.68
Dentro de los grupos	71.06	15	4.73			
Total	352.02	17				

Mediante la prueba de Duncan con un $\alpha = 0.05$, (Tabla 12) se encontró que las tres medias son diferentes. Esto quiere decir que existe diferencia estadística significativa en el flujo del triclosán para las tres formulaciones.

Tabla 6. Prueba de Duncan para comparar las medias de los flujos de las permeaciones

Método: 95,0 por ciento Duncan

SISTEMA	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Solución	6	4,0197	x
Microemulsión	6	7,89428	x
Emulsión	6	13,6368	x
CONTRASTE		DIFERENCIA	
Emulsión - Microemulsión		5,74255*	
Emulsión - Solución		9,61713*	
Microemulsión - Solución		3,87458*	

* denota una diferencia estadística significativa.

En la Tabla 13 se presenta el análisis de varianza para las cantidades extraídas de la piel después de cada permeación. Los resultados indican que existen diferencias significativas.

Tabla 7. Análisis de varianza para las cantidades extraídas de la piel después de cada permeación

Grupos	Número de muestras	Suma	Promedio	Varianza
Solución	4	2.710	0.677	0.034
Emulsión	5	50.943	10.189	51.127
Microemulsión	5	92.362	18.472	137.748

ANÁLISIS DE
VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	704.14	2	352.07	5.13	0.03	3.98
Dentro de los grupos	755.60	11	68.69			
Total	1459.74	13				

Mediante la prueba de Duncan con un $\alpha = 0.05$ (tabla 14) y la comparación de las medias para la cantidad extraída se encontró que solo existe diferencia estadística significativa entre la microemulsión y la solución, por lo que no hay diferencias entre la solución y la emulsión, y entre la microemulsión y la emulsión.

Tabla 8. Prueba de Duncan para comparar las medias de las cantidades extraídas después de las permeaciones

Método: 95,0 por ciento Duncan

SISTEMA	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Solución	4	0,677391	x
Emulsión	5	10,1885	xx
Microemulsión	5	18,4723	x
CONTRASTE		DIFERENCIA	
Emulsión - Microemulsión		-8,28383	
Emulsión - Solución		9,51113	
Microemulsión - Solución		17,795*	

* denota una diferencia estadística significativa.

Al igual que para la cantidad extraída, se realizó un análisis de varianza para la cantidad total permeada. La tabla 15 muestra el análisis de varianza y los resultados indican que existe una diferencia significativa en las cantidades totales permeadas de triclosán.

Tabla 9. Análisis de varianza para la cantidad total permeada de cada sistema

<i>Grupos</i>	<i>Número de muestras</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
Solución	6	281.63	46.94	205.23
Emulsión	6	605.93	100.99	26.40
Microemulsión	6	609.39	101.57	698.50

ANÁLISIS DE
VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	11811.51	2	5905.76	19.05	7.63E-05	3.68
Dentro de los grupos	4650.64	15	310.04			
Total	16462.15	17				

La prueba de Duncan con un $\alpha = 0.05$ (Tabla 16) muestra que existe diferencia estadística significativa entre la microemulsión y la solución, y la emulsión y la solución, esto quiere decir que la cantidad total permeada no es diferente estadísticamente entre la emulsión y la microemulsión.

Tabla 10. Prueba de Duncan para comparar las medias de la cantidad total permeada después de las permeaciones

Método: 95,0 por ciento Duncan

SISTEMA	CANTIDAD	MEDIA	GRUPOS HOMOGÉNEOS
Solución	6	46,9387	x
Emulsión	6	100,988	x
Microemulsión	6	101,565	x
CONTRASTE		DIFERENCIA	
Emulsión - Microemulsión		-0,57681	
Emulsión - Solución		54,0497*	
Microemulsión - Solución		54,6265*	

* denota una diferencia estadística significativa.

7. CONCLUSIONES

- I. Se formuló y caracterizó una microemulsión aceite/agua conteniendo triclosán como molécula modelo y laureato de sacarosa y Transcutol como promotores de penetración.
- II. La microemulsión preparada mostró tener una interesante dependencia con la temperatura, formándose en un rango de 32 a 38 °C. Esto podría tener interesantes implicaciones en el ámbito farmacéutico, con la posibilidad formar la microemulsión *in situ* a la temperatura corporal. Por debajo de esta temperatura, se obtuvo una emulsión, la cual fue aprovechada para propósitos comparativos en este estudio.
- III. Al comparar la permeación de la microemulsión con la emulsión y una solución de triclosán en miristato de isopropilo, se constata que:
 - a) La microemulsión favorece el transporte más rápido de triclosán a través de la piel que la emulsión y la solución.
 - b) Aunque la cantidad total permeada es prácticamente la misma para la emulsión y la microemulsión, ésta es ~2.1 veces mayor con respecto a la solución.
 - c) La cantidad de triclosán retenida en la piel con la microemulsión es ~ 2.4 veces mayor que con la emulsión, y ~ 45 veces que con la solución. Esto es importante si lo que se busca es tener un efecto local.

- IV. Por los resultados obtenidos con las tres formulaciones, el laureato de sacarosa y el Transcutol mostraron tener un efecto promotor al incrementar el transporte de triclosán en los sistemas emulsionados que los contenían. No obstante, el tamaño de glóbulo de la microemulsión jugó un papel fundamental en la penetración del activo.
- V. La formulación propuesta es prometedora para la aplicación tópica del triclosán, no obstante, es necesario realizar pruebas de irritación y de penetración *in vivo* para constatar su eficacia y seguridad.

8. PERSPECTIVAS

- Realizar estudios de penetración y distribución de triclosán formulado en la microemulsión mediante la técnica de “tape-stripping” *in vivo*.
- Llevar a cabo pruebas de irritación para la microemulsión de acuerdo a la metodología indicada en la USP.
- Incluir otros activos farmacéuticos o cosméticos en la microemulsión.

9. BIBLIOGRAFÍA

Arenas R. Dermatología Atlas, diagnóstico y tratamiento. McGraw-Hill Mexico, 1987, pp. 12-27.

Acevedo Peña J. Estudio del efecto promotor de azona y 4-deciloalidín-2-ona sobre la absorción percutánea de tres fármacos con diferentes características de lipofiliidad Tesis de Licenciatura FES Cuautitlán, UNAM, México, (1999)

Aiache J. M., Devissaguet J. PH., Biofarmacia. Ed. El Manual Moderno. 2ª edición, Barcelona (España) 1983, pp. 377-404.

Alberty, W.J. y Hadgraft, J., Percutaneous Absorption: theoretical description. J. Pharm. Pharmacol. 31(1979)129-139.

Amado S. Lecciones de Dermatología. Ed Méndez editores 13ª edición, México. 1993, pp 1-22.

Ayala Bravo Hilda A. David Quintanar-Guerreo, Aarti Naik, Yogeshvar N. Kalia, José M. Cornejo-Bravo, Adriana Ganem-Quintanar, Effects of Sucrose Oleate and Sucrose Laureate on *In Vivo* Human Stratum Corneum Permeability. Pharmaceutical Research, 20 (2003), 1267-1273

Banker, S. Gilbert., T. Rhodes. Christopher. Modern Pharmaceutics. Vol. 72, 3ª Edición. Ed. Marcel Dekker.. USA. 1996, pp. 239-268.

Barry B.W. Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. European Journal of Pharmaceutical Sciences 14 (2001) 101–114

Barry B.W. Dermatological Formulations: Percutaneous Absorption. Ed Dekker. New York, (1983)

Barry B.W. mode of action of penetration enhancers in human skin. J. Cont. Rel. 6 (1987) 85-97

Bronaugh, R. L. y Stewart, R. F. Methods for in vitro percutaneous absorption studies. Part 3 Hydrophobic compounds., J. Pharm. Sci., 73 [a] (1984) 1255-1258

Calderilla-Fajardo S.B., Cazares-Delgadillo J., Villalobos-Garcia R., Quintanar Guerrero D., and Ganem-Rondero A. Influence of Sucrose Esters On The In Vivo Percutaneous Formulated In Nonocapsules, Nanoemulsion and Emulsion, Drug Development and Industrial Pharmacy 32: (2006) 107-113

Clark's. Isolation and Identification of Drugs. Segunda edición. Ed. The Pharmaceutical Press. Londres. (1986)

Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Copyright q (2002) by Marcel Dekker, Inc. All rights reserved.

Ganem-Quintanar A., Kalia Y.N., Falson-Rieg F., and Buri. P. Mechanisms of oral permeation enhancement. Int. J. Pharm. 156 (1997), 127-142

Gattefosé Corporation. Certificate of analysis, Francia, (1999)

Gennaro R. Alfonso. Remington Farmacia. 20a Edición Editorial Medica Panamericana Tomo I (2003) 359-360 362-364 372-373 379-385

http://escuela.med.puc.cl/publicaciones/Guias/Dermatologia/estructura/DermatoEst_06a.html (2006)

<http://www.harunyahya.com/other/espanol/lossignos07.php> (2006)

Howes, D., Guy, R., Hadgraft, J., Heylings, J., Hoeck, U., Kemper, F., Maibach, H., Marty, J.P., Merk, H., Parra, J., Rekkas, D., Rondelli, I., Schaefer, H., Täuber, U y Verbiere, N. Methods for assessing Percutaneous Absorption. *Atla*, 24, (1994) 81-106.

Jeanetta du Plessis, W. John, Anja Judefeind, Jonathan Hadgraft. Physicochemical determinants of the dermal drug delivery: effects of the number and substitution pattern of polar groups. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 16 (2002) 107-112.

Kogan Anna, Nissim Garti. Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles, *Advances in Colloid and Interface Science* 123;126 (2006) 368 – 385

Moser, K., Kriwet, Nair, A., Kalia, Y.N. Y Guy, R. H. Passove skin penetration enhancement and its quantification in vitro. *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, 52, (2001) 103-112.

Olvera-Martinez Blanca I., Cazares-Delgadillo Jennifer, Calderilla-Fajardo Silvia B., Villalobos-Garcia, Rafael, Ganem Quintanar Adriana, Quintanar-Guerrero David, Preparation of polymeric Nanocapsules Containin Octyl Methoxycinamate by the Emulsification-Difussion Technique: Penetration Across the Stratum Corneum, *Journal of Pharmaceutical Sciences.*, 94, 7 (2005) 1552-1559

Orkin, M., Maibach, H. I. y Dahl, M. V., *Dermatologia*. Primera Edicion. Ed. El Manual Moderno. México. 7, (1994) 340.

Rassner. *Atlas y Texto de Dermatologia*. Ed. Mosby/Doyma Libros. 4ª edicion., Barcelona (España). 1994, pp 3-8.

Robinson, R.J., Lee, H.V., Controlled Drug Delivery: Fundamental and applications. Vol-29 Ed. Marcel Dekker. 2^a Ed.. new York (USA). 1987 pp 229-233, 283-285 515-523, 546-548.

Ryoto sugar ester technical information. Mitsubishi-Kasei Food Corporation, (1987)

Ruddy S.B.. Surfactants. In E.W. Smith and H.I. Maibach (eds), Percutaneous Penetration Enhancers, CRC Press, Inc., Florida, 1995, 245-257.

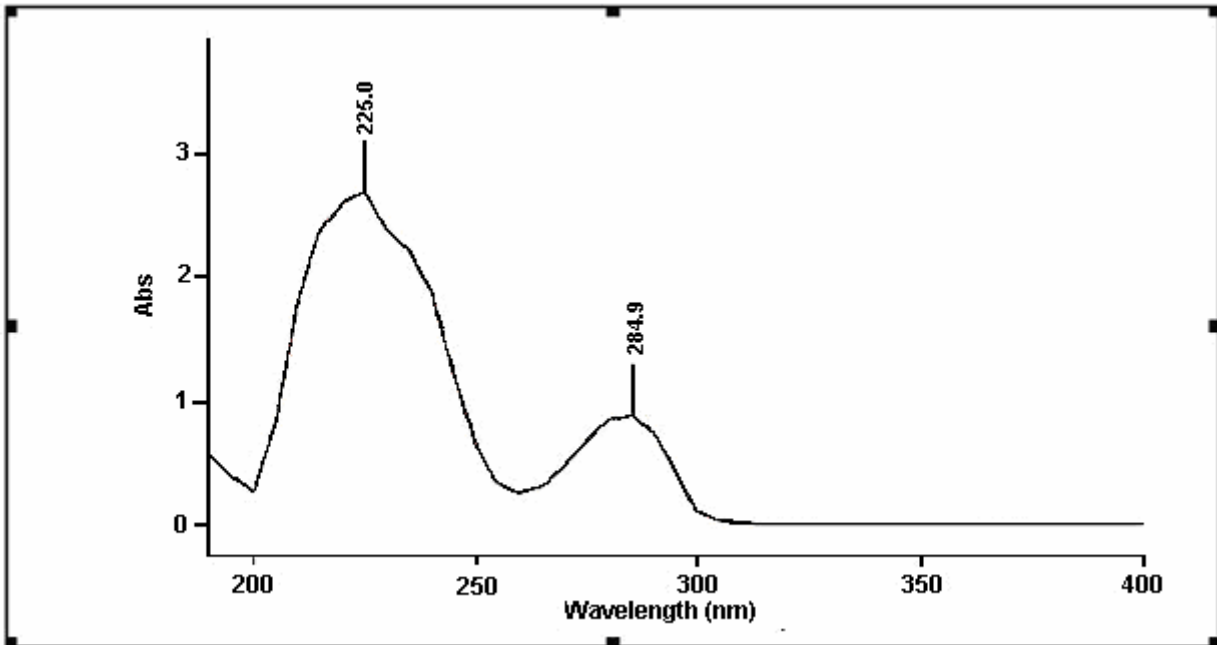
Sclafani, J., Liu, P., Hansen, E., Cettina, M. G., Nightingale, J. Protocol for the assessment of receiver solution additive-induced skin permeability changes : example with gamma-cyclodextrin., Int J. Pharm., 124, (1995) 213-217.

Turner Norris G. Nonato, Lourdes B. Visualization of Stratum Corneum and Transdermal Permeation Pathways. In Potts R. O., Guy R. H. Mechanisms of Transdermal Drug Delivery. Ed Dekker. USA, 83 (1997) 1-2, 34-35.

Yamada M., Uda Y., Enhancement of percutaneous absorption of molsidomina. Chem Pharm. Bull. 35 (1987) 3390

10. ANEXOS

Anexo 1. Espectro de absorción UV-Vis de triclosán en buffer fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%



Anexo 2. Resultados utilizados para la construcción de la curva de calibración de triclosán en buffer fosfatos pH 7.4 + Brij 58 3%

Absorbancias	concentración µg/mL	A/Conc.	Datos estadísticos	
2.6999	49.2	0.054876016	D.S.	0.00151202
2.8479	49.2	0.057884146	Media	0.05629065
2.7607	49.2	0.056111789	C.V.	2.68609486
1.7163	32.8	0.052326220	D.S.	0.00139350
1.8076	32.8	0.055109756	Media	0.05367784
1.7580	32.8	0.053597561	C.V.	2.59605040
1.2560	24.6	0.051056911	D.S.	0.00085989
1.2950	24.6	0.052642276	Media	0.05204200
1.2897	24.6	0.052426829	C.V.	1.65230263
0.4108	8.2	0.050097561	D.S.	0.00152264
0.4276	8.2	0.052146341	Media	0.05177235
0.4352	8.2	0.053073171	C.V.	2.94104707
0.1884	4.1	0.045951220	D.S.	0.00112044
0.1798	4.1	0.043853659	Media	0.04513008
0.1869	4.1	0.045585366	C.V.	2.48270750
0.0553	2.05	0.026975610	D.S.	0.00063477
0.0527	2.05	0.025707317	Media	0.02635772
0.0541	2.05	0.026390244	C.V.	2.40829380
0.0303	1.64	0.018475610	D.S.	0.00046570
0.0293	1.64	0.017865854	Media	0.01796748
0.0288	1.64	0.017560976	C.V.	2.59195457
0.0136	1.23	0.011056911	D.S.	0.00032857
0.0133	1.23	0.010813008	Media	0.01111111
0.0141	1.23	0.011463415	C.V.	2.95715991

Anexo 3. Resultados utilizados para la construcción de la curva de calibración de triclosán en etanol

Absorbancias	concentración ($\mu\text{g/mL}$)	A/Conc	Datos estadísticos	
1.4453	24.33	0.059404028	D.S.	0.000337241
1.4506	24.33	0.059621866	Media	0.059328675
1.4345	24.33	0.058960132	C.V.	0.568428764
0.9438	16.22	0.058187423	D.S.	0.000350985
0.9544	16.22	0.058840937	Media	0.058588163
0.9527	16.22	0.058736128	C.V.	0.599071675
0.4423	8.11	0.054537608	D.S.	0.000450019
0.4363	8.11	0.053797781	Media	0.054315660
0.4429	8.11	0.054611591	C.V.	0.828526111
0.2661	4.055	0.065622688	D.S.	0.001106265
0.2578	4.055	0.063575832	Media	0.064841759
0.2649	4.055	0.065326757	C.V.	1.706099334
0.0640	0.1622	0.394574599	D.S.	0.009151436
0.0669	0.1622	0.412453761	Media	0.404644472
0.0660	0.1622	0.406905055	C.V.	2.261599195
0.0312	0.0811	0.384710234	D.S.	0.011120221
0.0302	0.0811	0.372379778	Media	0.383888204
0.0320	0.0811	0.394574599	C.V.	2.896734317

Anexo 4. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la solución

Cantidades (mcg) obtenidas para la construcción del perfil de permeación de la solución												
	celdas											
tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	D.S	Promedio	Acumuladas	promedio	D.S	
0.5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	
1	2.675	3.691	0.000	0.000	6.977	0.000	2.821	2.224	2.224	2.851	3.616	
2	11.965	17.554	17.666	31.564	23.522	9.378	8.042	18.608	20.832	23.857	10.310	
3	14.787	21.610	21.649	31.564	23.522	9.378	7.621	20.418	41.250	26.177	9.770	
4	14.787	25.202	24.531	31.564	23.522	25.005	5.385	24.102	65.352	30.900	6.904	
5	18.028	29.466	30.527	34.562	23.522	25.005	5.868	26.852	92.204	34.425	7.523	
6	21.627	35.030	37.670	40.917	23.522	25.005	8.221	30.629	122.832	39.267	10.540	
7	25.163	39.972	42.900	44.847	26.376	25.005	9.483	34.044	156.876	43.646	12.158	
8	28.327	43.772	48.847	47.346	26.376	25.005	11.174	36.612	193.489	46.939	14.326	
9	31.019	47.385	51.747	50.098	26.376	25.005	12.441	38.605	232.094	49.494	15.950	

Anexo 5. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la emulsión

Cantidades (mcg) obtenidas para la construcción del perfil de permeación de la Emulsión												
	celdas											
tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	7	D.S	Promedio	Acumuladas	promedio	D.S
0.5	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
1	1.760	1.598	1.301	2.805	3.363	4.808	3.290	1.245	2.703	2.703	3.466	1.596
2	18.615	20.271	10.004	20.527	13.023	12.949	14.749	4.098	15.734	18.437	20.172	5.254
3	26.984	30.000	17.828	29.842	23.705	23.568	22.745	4.332	24.953	43.390	31.991	5.554
4	38.735	41.845	31.775	44.236	40.819	41.178	31.610	4.989	38.600	81.990	49.487	6.396
5	49.090	51.909	44.383	52.011	46.826	45.606	45.863	3.090	47.955	129.945	61.481	3.962
6	57.494	64.724	58.654	60.714	57.691	53.146	59.810	3.527	58.890	188.836	75.500	4.522
7	66.886	76.953	72.569	72.777	68.654	64.794	68.594	4.144	70.175	259.011	89.968	5.312
8	74.977	84.362	81.624	80.341	77.195	74.127	74.858	3.946	78.212	337.223	100.272	5.059

Anexo 6. Resultados obtenidos para la construcción del perfil de permeación de la microemulsión

Cantidades (mcg) obtenidas para la construcción del perfil de permeación de la Microemulsión											
	celdas										
tiempo (h)	1	2	3	4	5	6	D.S	Promedio	Acumuladas	promedio	D.S
0.5	10.752	19.933	9.480	18.221	2.661	10.569	6.305	11.936	11.936	15.303	8.084
1	19.388	26.077	9.480	36.675	10.292	72.109	23.449	29.004	40.940	37.184	30.063
2	31.923	34.643	20.330	47.986	18.893	97.877	29.384	41.942	82.882	53.772	37.672
3	36.988	40.629	35.501	57.490	27.272	101.659	27.235	49.923	132.805	64.004	34.916
4	46.035	45.884	48.819	64.179	37.968	105.968	24.958	58.142	190.947	74.541	31.998
5	52.685	51.831	58.309	71.093	49.617	110.295	23.207	65.639	256.586	84.152	29.752
6	60.900	59.185	58.309	77.083	61.613	114.970	22.159	72.010	328.596	92.320	28.409
7	60.900	59.185	58.309	77.083	69.216	114.970	21.657	73.277	401.873	93.945	27.765
8	69.026	64.654	64.176	82.390	76.313	118.766	20.615	79.221	481.094	101.565	26.429