

00550
16



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**ESTUDIO DEL EFECTO DEL LAUROCAPRAM (AZONA®) Y
4-DECILOXAZOLIDIN-2-ONA (DERMAC®) SOBRE LA BARRERA
DE PERMEABILIDAD DE LA PIEL MEDIANTE PRUEBAS DE
INFRARROJO, PÉRDIDA DE AGUA TRANSEPIDERMAL Y
ESTUDIOS DE PERMEACIÓN *IN VITRO***

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA
Q. F. B. MIRIAM LÓPEZ CERVANTES



**Ciencias
Químicas**

TUTORA: DRA. ADRIANA GANEM RONDERO AÑO: 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

H



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

JURADO ASIGNADO

- Presidente:** Dr. Andrés Navarrete Castro
- Vocal:** Dr. David Quintanar Guerrero
- Secretario:** Dra. Helgi Jung Cook
- Primer Suplente:** Dra. María Josefa Bernard Bernad
- Segundo Suplente:** Dr. Enrique Ángeles Anguiano
- Asesor del tema:** Dra. Adriana Ganem Rondero
- Sustentante:** Q.F.B. Miriam López Cervantes

Sitio donde se desarrollo el tema: Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM.

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN

Para Dios, Uno en Esencia, Trino en Presencia. A Él, todo el honor y la gloria por siempre.

Para mis padres, Ángela y Antonio, mis hermanos, Nancy y Antonio, y mi sobrino Luis Ángel. Con amor.

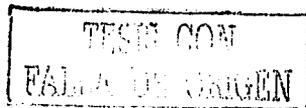
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutora, Dra. Adriana Ganem Rondero, por el apoyo que me ha brindado en todo momento, al Dr. Enrique Ángeles Anguiano y al M. en C. Alberto Ramírez Murcia por su participación en la sección que se refiere a la Correlación Estructura – Actividad.

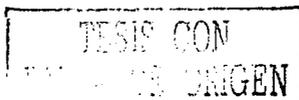
Gracias también a los doctores Ma. Josefa Bernard, Andrés Navarrete, David Quintanar, Edgar Krötzsch, Jorge Trujillo y Helgi Jung, así como a la Profa. Guadalupe Sevilla, a la Q. B. P. Martha García, a la M. en C. Liliana Carmona, al Dr. Antonio Jaimes, a la Srita. Teresa Guzmán, a los Q. F. B. Luis A. González, Zaida Urban, José Escobar, Lucero González, Leticia Fajardo, Lourdes Ramos, Silvia Calderilla, Sandra Martínez, Araceli Mora, Armando Suárez, al Ing. Draucín Jiménez y al Técnico en Microscopía Electrónica Rodolfo Robles por su colaboración.

Agradezco el apoyo brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología a través de la beca-crédito y del proyecto CONACyT J32593-M, así como al proyecto PAPIIT IN214000.



ÍNDICE

Índice General	V
Índice de Ecuaciones	VIII
Índice de Esquemas	VIII
Índice de Figuras	IX
Índice de Gráficas	XI
Índice de Tablas	XIII
Lista de Abreviaturas	XV
Resumen	XVIII
1. Introducción	1
2. Antecedentes (Marco Teórico)	3
2.1 La Piel	3
2.2 Formas farmacéuticas que se administran en la piel	6
2.2.1 Vía Tópica	6
2.2.1.1 Ungüentos	7
2.2.1.2 Pastas	7
2.2.1.3 Cremas	7
2.2.1.4 Geles	8
2.2.1.5 Espumas	8
2.2.1.6 Otros Productos Dermatológicos	8
2.2.1.7 Otros Productos Dermatológicos que se usan en capas subyacentes de la piel	9
2.2.2 Vía Transdérmica: Los Parches	9
2.3 Promotores de absorción	13
2.3.1 Químicos y efecto del vehículo	13
2.3.2 Físicos	19
2.3.3 Laurocapram (Azona [®])	23
2.3.4 4-Deciloxazolidin-2-ona (Dermac [®])	38
2.4 Métodos para cuantificar fármacos a través de la piel	45
2.5 Una membrana no queratinizada: La mucosa bucal	53
3. Justificación e Hipótesis	55
4. Objetivos	56
5. Metodología	57
5.1 Materiales	57
5.1.1 Reactivos	57
5.1.2 Equipos	57
5.1.3 Material Biológico (Procedencia)	58
5.2 Métodos	58
5.2.1 <i>In vivo</i>	58
5.2.1.1 Selección de voluntarios y tratamiento de piel	58



5.2.1.2	Pérdida de agua transepidermal	60
5.2.1.3	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada	62
5.2.2	<i>In vitro</i>	63
5.2.2.1	Determinación de la solubilidad	63
5.2.2.2	Permeaciones	64
	A) Celdas: Montura, descripción del compartimiento donador y el receptor	64
	B) Métodos de Cuantificación	65
5.2.3	Correlación Estructura - Actividad	66
5.2.3.1	Generación de estructuras químicas	66
5.2.3.2	Realización de cálculos	67
	A) Mecánica molecular	68
	B) Mecánica cuántica	69
	C) Búsqueda de interacciones y propuesta final	69
5.2.3.3	Relación Estructura Química - Actividad Biológica	70
5.2.4	Diagrama de Flujo	74
6.	Resultados y Discusión	75
6.1	<i>In vivo</i>	75
6.1.1	Pérdida de agua transepidermal	75
6.1.2	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada	85
6.2	<i>In vitro</i>	97
6.2.1	Determinación de la solubilidad	97
6.2.2	Permeaciones	97
6.2.2.1	En piel (Membrana biológica queratinizada)	98
	A) Acetaminofén	98
	B) Ácido Salicílico	100
	C) Lidocaina	102
6.2.2.2	En Mucosa Bucal (Membrana biológica no queratinizada)	104
	A) Acetaminofén	104
	B) Ácido Salicílico	106
	C) Lidocaina	108
6.2.3	Comparaciones entre las dos membranas	110
6.3	Correlación Estructura - Actividad	116
6.3.1	Generación de las estructuras químicas	116
6.3.2	Mecánica molecular	118
6.3.3	Mecánica cuántica	119
6.3.4	Interacciones fármaco - promotor	122

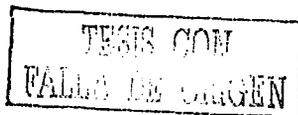
6.3.5 Relación Estructura Química – Actividad Biológica	126
7. Conclusiones	136
8. Perspectivas	138
9. Referencias	139
10. Anexos	151
10.1 Monografía de los disolventes usados	151
10.1.1 Propilenglicol	151
10.1.2 Transcutol ^x	152
10.1.3 Etanol	152
10.2 Monografía de los fármacos usados	153
10.2.1 Acetaminofén	153
10.2.2 Ácido Salicílico	154
10.2.3 Lidocaina	155
10.3 Análisis Estadístico	156
10.3.1 Pérdida de Agua Transepidermal	156
10.3.2 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier a través de Reflectancia Total Atenuada	173
10.3.3 Permeaciones	206
10.3.3.1 Obtención del Factor de Promoción	206
10.3.3.2 Resultados numéricos de Curvas de Calibración y Permeaciones	206
10.3.3.3 Comparación en números de las dos membranas	217
10.3.3.4 Valores de Flujo y Factores de Promoción obtenidos en este laboratorio para seis activos usando como promotor Azona ^x y Dermac ^x	220

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1 Definición de Flujo	5
Ecuación 2 Definición de Flujo	5
Ecuación 3 Definición de Flujo	5
Ecuación 4 Relación entre el Log P y Peso molecular	46
Ecuación 5. Descripción del Coeficiente de Correlación Múltiple al Cuadrado r^2	67
Ecuación 6. Descripción de la Desviación Estándar de la Predicción	68
Ecuación 7. Descripción de la Actividad Biológica según Hantsch	70
Ecuación 8. Descripción de la Actividad Biológica según Hantsch	71
Ecuación 9. Fórmula para obtener los valores de flujo experimentales	98
Ecuación 10. Factor de Promoción o Flujo Real	124
Ecuación 11. Log del Factor de Promoción o Flujo Real	125
Ecuación 12. Modelo para las interacciones Azona [®] – Principio Activo en piel	129
Ecuación 13. Modelo para las interacciones Dermac [®] – Principio Activo en piel	130
Ecuación 14. Modelo para las interacciones Azona [®] – Principio Activo en mucosa bucal	131
Ecuación 15. Modelo para las interacciones Dermac [®] – Principio Activo en mucosa bucal	132

ÍNDICE DE ESQUEMAS

Esquema 1. Optimización de la liberación transdérmica	18
Esquema 2. Mecanismo de acción sugerido para promotores de penetración transdérmica y posibles acciones sinérgicas entre ellos	22
Esquema 3. Modelo General de Absorción a través de piel	45
Esquema 4. Métodos para medir la absorción percutánea	46
Esquema 5. Diferentes técnicas disponibles para la cuantificación de fármacos en la piel	52
Diagrama de Flujo	74



ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Esquema de la piel y la epidermis	4
Fig. 2 Vías de Penetración a través del estrato córneo	4
Fig. 3 Número de patentes de sistemas transdérmicos registradas en Estados Unidos de Norteamérica	9
Fig. 4 Parche en donde el fármaco esta incluido en el adhesivo	11
Fig. 5 Parche Tipo Matriz	12
Fig. 6 Parche tipo reservorio	12
Fig. 7 Representación de un Transfersoma [®]	17
Fig. 8 Prototipo de un sistema de spray transdermal	19
Fig. 9 Mecanismo de transporte por iontoforesis	20
Fig. 10 Representación del "Glucowatch"	20
Fig. 11 Imagen del "Powderject"	21
Fig. 12 Azona [®] (Laurocapram)	23
Fig. 13 Distribución de las cargas de la Azona [®]	23
Fig. 14 DSC del estrato córneo humano sin tratamiento y modificado por la Azona [®]	27
Fig. 15 Enlaces por medio de puentes de hidrógeno entre ceramidas y Azona [®]	29
Fig. 16 Dermac [®] (4-Deciloxazolidin-2-ona)	38
Fig. 17 Distribución de las cargas del Dermac [®]	38
Fig. 18 Derivados de hexahidro-1H-azepina, piperidina y porrolidona	40
Fig. 19 Derivados de 1-alkuil y 1-alkenilazacicloalcanos	40
Fig. 20 Derivados lactámicos de la Azona [®]	41
Fig. 21 Derivados de ciclohexanos y 2-n-alkuil ciclohexanona	42
Fig. 22 Análogos de la Azona [®]	43
Fig. 23 Esteres de 1-alkuilazacicloalcan-2-ona de indometacina	44
Fig. 24 Celda de difusión vertical tipo Franz	50
Fig. 25 La boca	53
Fig. 26 Representación celular del estrato del epitelio no queratinizado con organelos	54
Fig. 27 Tratamiento del antebrazo antes del estudio	59
Fig. 28 Representación de la forma de colocar la formulación en el papel filtro	59
Fig. 29 Colocación del material autoadherible	59
Fig. 30 Retirar la formulación y limpiar esta zona	60
Fig. 31 Medida de TEWL	60
Fig. 32 Espectro de Infrarrojo característico de estrato córneo	62
Fig. 33 Obtención de espectro de Infrarrojo del estrato córneo	63
Fig. 34 Celda de difusión tipo Franz, ocupada en las permeaciones	64
Fig. 35 Espectro de Infrarrojo de estrato córneo humano	85
Fig. 36 Espectro de Infrarrojo del 4-deciloxazolidon-2-ona (Dermac [®])	86
Fig. 37 Espectro de Infrarrojo del Propilenglicol	86
Fig. 38 Espectro de Infrarrojo del Dietilenglicol-monoetil-éter (Transcol [®])	87
Fig. 39 Espectro de Infrarrojo del Etanol	87
Fig. 40 Azona [®] 2D	116
Fig. 41 Dermac [®] 2D	116
Fig. 42 Acetaminofén 2D	116
Fig. 43 Ácido Salicílico 2D	116
Fig. 44 Lidocaina 2D	117

Fig. 45 5 - Fluorouracilo 2D	117
Fig. 46 Cafeína 2D	117
Fig. 47 Ibuprofeno 2D	117
Fig. 48 Azona ^K 3D	117
Fig. 49 Dermac ^K 3D	117
Fig. 50 Acetaminofén 3D	117
Fig. 51 Ácido Salicílico 3D	117
Fig. 52 Lidocaina 3D	118
Fig. 53 5 - Fluorouracilo 3D	118
Fig. 54 Cafeína 3D	118
Fig. 55 Ibuprofeno 3D	118
Fig. 56 Acetaminofén - Momento dipolo	118
Fig. 57 Ácido Salicílico - Momento dipolo	118
Fig. 58 Lidocaina - Momento dipolo	118
Fig. 59 5 - Fluorouracilo - Momento dipolo	118
Fig. 60 Cafeína - Momento dipolo	119
Fig. 61 Ibuprofeno - Momento dipolo	119
Fig. 62 Acetaminofén - HOMO	119
Fig. 63 Acetaminofén - LUMO	119
Fig. 64 Ácido Salicílico - HOMO	119
Fig. 65 Ácido Salicílico - LUMO	119
Fig. 66 Lidocaina - HOMO	120
Fig. 67 Lidocaina - LUMO	120
Fig. 68 5 - Fluorouracilo - HOMO	120
Fig. 69 5 - Fluorouracilo - LUMO	120
Fig. 70 Cafeína - HOMO	120
Fig. 71 Cafeína - LUMO	120
Fig. 72 Ibuprofeno - HOMO	120
Fig. 73 Ibuprofeno - LUMO	120
Fig. 74 Momento dipolo Azona ^K -Acetaminofén	123
Fig. 75 Momento dipolo Azona ^K -Ácido Salicílico	123
Fig. 76 Momento dipolo Azona ^K -Lidocaina	124
Fig. 77 Momento dipolo Azona ^K -5-Fluorouracilo	124
Fig. 78 Momento dipolo Azona ^K -Cafeína	124
Fig. 79 Momento dipolo Azona ^K -Ibuprofeno	124
Fig. 80 Complejo de Azona ^K - Acetaminofén	126
Fig. 81 Complejo Azona ^K - Ácido Salicílico	126
Fig. 82 Complejo Azona ^K - Lidocaina	126
Fig. 83 Complejo Azona ^K - 5-Fluorouracilo	126
Fig. 84 Complejo Azona ^K - Cafeína	120
Fig. 85 Complejo Azona ^K - Ibuprofeno	127
Fig. 86 Complejo Dermac ^K - Acetaminofén	127
Fig. 87 Complejo Dermac ^K - Ácido Salicílico	127
Fig. 88 Complejo Dermac ^K - Lidocaina	127
Fig. 89 Complejo Dermac ^K - 5-Fluorouracilo	127
Fig. 90 Complejo Dermac ^K - Cafeína	128
Fig. 91 Complejo Dermac ^K - Ibuprofeno	128

TESIS CON
 VALIA DE ORIGEN

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfico 1. Resultados del TEWL con respecto al tiempo (promedio de los seis voluntarios) utilizando como promotor el 4-deciloazolidin-2-ona (Dermac [®])	77
Gráfico 2. Resultados del TEWL con respecto al tiempo (promedio de los seis voluntarios) utilizando como promotor el Laurocapram (Azona [®])	78
Gráfico 3. Resultados del TEWL inmediatamente después de haber retirado la formulación	79
Gráfico 4. Resultados del TEWL después de 1 hora de haber retirado la formulación	79
Gráfico 5. Resultados del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación	80
Gráfico 6. Resultados del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación	80
Gráfico 7. Resultados del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación	81
Gráfico 8. Cambio absoluto del TEWL inmediatamente después de haber retirado la formulación	81
Gráfico 9. Cambio absoluto del TEWL después 1 hora de haber retirado la formulación	82
Gráfico 10. Cambio absoluto del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación	82
Gráfico 11. Cambio absoluto del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación	83
Gráfico 12. Cambio absoluto del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación	83
Gráfico 13. Números de Onda para las bandas asimétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)	89
Gráfico 14. Resultados de los números de onda para las bandas asimétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	89
Gráfico 15. Cambio absoluto de los números de onda para la banda asimétrica de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	90
Gráfico 16. Áreas normalizadas de las bandas asimétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	92
Gráfico 17. Números de Onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)	93
Gráfico 18. Resultados de los números de onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	94
Gráfico 19. Cambio absoluto de los números de onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	94
Gráfico 20. Áreas normalizadas de las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	95
Gráfico 21. Cambio absoluto de los números de onda para las bandas debido a estiramientos por N-H y O-H de los lípidos, proteínas y agua del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación	96
Gráfico 22. Curva de Calibración para Acetaminofén corregida con piel $\lambda_{max} = 250$ nm	98
Gráfico 23. Cinéticas de Permeación para Acetaminofén - Piel	99
Gráfico 24. Curva de Calibración para Ácido Salicílico corregida con piel $\lambda_{max} = 300$ nm	100

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Gráfico 25. Cinéticas de Permeación para Ácido Salicílico - Piel	101
Gráfico 26. Curva de Calibración para Lidocaína corregida con piel $\lambda_{\max} = 264 \text{ nm}$	102
Gráfico 27. Cinéticas de Permeación para Lidocaína - Piel	103
Gráfico 28. Curva de Calibración para Acetaminofén corregida con mucosa bucal $\lambda_{\max} = 250 \text{ nm}$	104
Gráfico 29. Cinéticas de Permeación para Acetaminofén - Mucosa Bucal	105
Gráfico 30. Curva de Calibración para Ácido Salicílico corregida con Mucosa Bucal $\lambda_{\max} = 300 \text{ nm}$	106
Gráfico 31. Cinéticas de Permeación para Ácido Salicílico - Mucosa Bucal	107
Gráfico 32. Curva de Calibración para Lidocaína corregida con Mucosa Bucal de 1006 a 5030 ng $\lambda_{\max} = 264 \text{ nm}$	108
Gráfico 33. Curva de Calibración para Lidocaína corregida con Mucosa Bucal de 6036 a 11066 ng $\lambda_{\max} = 264 \text{ nm}$	108
Gráfico 34. Cinéticas de Permeación para Lidocaína - Mucosa Bucal	109
Gráfico 35. Valores de Flujo en piel ($J [=] \mu\text{g/h cm}^2$)	110
Gráfico 36. Valores de Flujo en mucosa bucal ($J [=] \mu\text{g/h cm}^2$)	111
Gráfico 37. Cantidad Máxima Acumulada en 8 h en piel ($CM [=] \mu\text{g/cm}^2$)	111
Gráfico 38. Cantidad Máxima Acumulada en 8 h en mucosa bucal ($CM [=] \mu\text{g/cm}^2$)	112
Gráfico 39. Factor de Promoción en piel (K_R)	112
Gráfico 40. Factor de Promoción en mucosa bucal (K_R)	113
Gráfico 41. Relación entre HOMO y Log K_R para Azona [®] a través de piel	134
Gráfico 42. Relación entre LUMO y Log K_R para Dermac [®] a través de piel	135

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Promotores de Absorción cutánea	16
Tabla 2. Mecanismo de acción para Azona [®] según diversos autores	32
Tabla 3. Formulaciones desarrolladas con Azona [®] y resultados obtenidos	33
Tabla 4. Valores de Flujo obtenidos para diversos activos cuando se usa como promotor Azona [®]	35
Tabla 5. Información requerida para evaluar la absorción percutánea <i>in vitro</i>	51
Tabla 6. Fases Usadas en el HPTLC para Acetaminofén, Ácido Salicílico y Lidocaína	65
Tabla 7. Complejos teóricos fármaco – promotor formados en búsqueda de la mejor interacción basándose en la mecánica molecular y mecánica cuántica	70
Tabla 8. Sustancias y/o formulaciones estudiadas en TEWL	76
Tabla 9. Resultados del TEWL con respecto al tiempo (promedio de los seis voluntarios)	77
Tabla 10. Sustancias y/o formulaciones estudiadas en FTIR/ATR	85
Tabla 11. Números de Onda para la banda asimétrica (localizados aproximadamente en 2920 cm ⁻¹) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)	88
Tabla 12. Números de Onda para las bandas simétricas (localizados aproximadamente en 2850 cm ⁻¹) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios).	93
Tabla 13. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Acetaminofén - Piel	99
Tabla 14. Valores de Flujo (J) de Acetaminofén – Piel	99
Tabla 15. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Acetaminofén – Piel	99
Tabla 16. Factor de Promoción (K _R) para Acetaminofén – Piel	99
Tabla 17. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Ácido Salicílico - Piel	101
Tabla 18. Valores de Flujo (J) de Ácido Salicílico – Piel	101
Tabla 19. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Ácido Salicílico – Piel	101
Tabla 20. Factor de Promoción (K _R) para Ácido Salicílico – Piel	101
Tabla 21. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Lidocaína - Piel	103
Tabla 22. Valores de Flujo (J) de Lidocaína – Piel	103
Tabla 23. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Lidocaína – Piel	103
Tabla 24. Factor de Promoción (K _R) para Lidocaína – Piel	103
Tabla 25. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Acetaminofén – Mucosa Bucal	105
Tabla 26. Valores de Flujo (J) de Acetaminofén – Mucosa Bucal	105
Tabla 27. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Acetaminofén – Mucosa Bucal	105
Tabla 28. Factor de Promoción (K _R) para Acetaminofén – Mucosa Bucal	105
Tabla 29. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal	107
Tabla 30. Valores de Flujo (J) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal	107
Tabla 31. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal	107
Tabla 32. Factor de Promoción (K _R) para Ácido Salicílico – Mucosa Bucal	107
Tabla 33. Tiempos de Latencia (t _{lag} [=] h) de Lidocaína – Mucosa Bucal	109
Tabla 34. Valores de Flujo (J) de Lidocaína – Mucosa Bucal	109
Tabla 35. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Lidocaína – Mucosa Bucal	109
Tabla 36. Factor de Promoción (K _R) para Lidocaína – Mucosa Bucal	109

Tabla 37. Valores para los descriptores de las moléculas de los principios activos una vez optimizadas	122
Tabla 38. Algunos descriptores para Azona [®] -Fármaco y Dermac [®] -Fármaco	123
Tabla 39. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Azona [®] -- Fármaco en Piel	125
Tabla 40. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Dermac [®] -- Fármaco en Piel	125
Tabla 41. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Azona [®] -- Fármaco en Mucosa Bucal	125
Tabla 42. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Dermac [®] -- Fármaco en Mucosa Bucal	125
Tabla 43. Matriz propuesta para las interacciones Azona [®] - Principio Activo en piel	129
Tabla 44. Resultados para las interacciones Azona [®] - Principio Activo en piel	129
Tabla 45. Matriz propuesta para las interacciones Dermac [®] - Principio Activo en piel	130
Tabla 46. Resultados para las interacciones Dermac [®] - Principio Activo en piel	130
Tabla 47. Matriz propuesta para las interacciones Azona [®] - Principio Activo en mucosa bucal	131
Tabla 48. Resultados para las interacciones Azona [®] - Principio Activo en mucosa bucal	131
Tabla 49. Matriz propuesta para las interacciones Dermac [®] - Principio Activo en mucosa bucal	132
Tabla 50. Resultados para las interacciones Dermac [®] - Principio Activo en mucosa bucal	132

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

LISTA DE ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
↑	Aumentar
2D	Dos dimensiones
3D	Tres dimensiones
ACDLABS	Advanced Chemistry Development Inc. ChemSketch Ver. 5.12, 2002
AREA [^]	Área molecular total en Å ²
AS	Ácido Salicílico
AZO	Azona [®] (Laurocapram)
AZO-EtOH	Azona [®] - Etanol 0.4M
AZO-PG	Azona [®] - Propilenglicol 0.4M
AZO-TC	Azona [®] - Transcutol [®] 0.4M
BCF [®]	Factor de bioconcentración
CAZO_AREA [^]	Área total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ²
CAZO_ΔH*	Calor de formación del complejo Azona [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CAZO_DIP*	Dipolo del complejo Azona [®] - Principio Activo
CAZO_H_L*	HOMO-LUMO del complejo Azona [®] - Principio Activo en eV.
CAZO_HOMO*	HOMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_LOGP*	Log P del complejo Azona [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CAZO_LUMO*	LUMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_VOL [^]	Volumen total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ³
CDER_AREA [^]	Área total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ²
CDER_ΔH*	Calor de formación del complejo Dermac [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CDER_DIP*	Dipolo del complejo Dermac [®] - Principio Activo
CDER_H_L*	HOMO-LUMO del complejo Dermac [®] - Principio Activo en eV

CDER_HOMO*	HOMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_LOGP*	Log P del complejo Dermac [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CDER_LUMO*	LUMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_VOL^	Volumen total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ³
DER	Dermac [®] (4-Deciloxazolidin-2-ona)
DER-EtOH	Dermac [®] - Etanol 0.4M
DER-PG	Dermac [®] - Propilenglicol 0.4M
DER-TC	Dermac [®] - Transcutol [®] 0.4M
e.g.	<i>exempli gratia</i> = Por ejemplo
ΔH*	Calor de formación en Kcal/mol
i.e.	<i>id est</i> = Eso es
DIPOLO*	Momento dipolo en Debyes
DS	Dimetilisosorbide
DSC	Calorimetría Diferencial de Barrido
EtOH	Etanol
eV	electro Voltios
FTIR/ATR	Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier a través de Reflectancia Total Atenuada
H_L*	Diferencia de HOMO-LUMO en eV
HOMO*	Orbital molecular más alto ocupado en eV
HPTLC	Cromatografía en capa fina de alta resolución
J	Flujo
K ₀	Valor del Flujo sin promotor
K _p	Valor del Flujo con Promotor (Azona [®] o Dermac [®])
K _R	Factor de Promoción = Flujo Real
Log P	Log del Coeficiente de Partición octanol/agua
LOG_P*	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en Spartan)
LOGI_S ^a	Log de 1/S (Log del inverso de la solubilidad)
LOGBCI ^a	Log del factor de bioconcentración
LOGP ^a	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en ACDLABS)
LUMO *	Orbital molecular más bajo desocupado en eV
PG	Propilenglicol
PIMMS	Método computacional PIMMS, procede de Oxford Molecular Ltd. The Magdalene Center. Oxford Science Park, Sanford on Thames, Oxford O4 44GA, United Kingdom
PKA ^a	pKa

TEXTO CON
FALLA DE ORIGEN

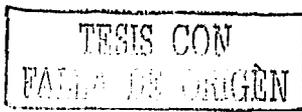
RM ^a	Refractividad molecular en cm ³
S	Solketal
S ^a	Solubilidad en agua en mol/l
SC	Etrato Córneo
SD	Desviación Estándar
SPARTAN	Programa computacional Spartan, desarrollado y distribuido por Wavefunction Inc. 2002
TC	Transcutol ^b
TEWL	Pérdida de Agua Transepidermal
VOL ^a	Volumen Molecular total en Å ³
W	Agua

- * Descriptores calculados usando Spartan (PM3)
- ^a Descriptores calculados usando ACDLABS.
- [^] Descriptores calculados usando PIMMS

TESIS CON
VALOR DE ORIGEN

RESUMEN

Cuando se administra un fármaco a través de piel o mucosas, es necesario incluir en su formulación un excipiente con una acción promotora para la absorción. El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de un modulador de absorción relativamente nuevo, Dermac[®] (4-deciloxazolidin-2-ona), sobre el transporte de tres fármacos con diferente grado de lipofilia (acetaminofén, ácido salicílico y lidocaína), evaluando su interacción con la barrera cutánea y comparándolo con la Azona[®] (Laurocapram), una sustancia con acción promotora bien reconocida. Para ello, se presentó como marco teórico un panorama general de la fisiología de la piel y su uso como vía de administración (local y sistémica), así como los métodos de cuantificación de fármacos en la piel. Se incluyó también un apartado sobre mucosa bucal con el fin de comparar la membrana queratinizada (piel), con ésta que es no queratinizada. Además, la parte experimental se dividió en tres grandes rubros: (a) Estudios *in vivo* para evaluar el efecto de los promotores sobre la barrera de permeabilidad, mediante la pérdida de agua transepidermal y espectroscopia de infrarrojo por transformadas de Fourier / reflectancia total atenuada así como el efecto de tres diferentes disolventes (propilenglicol, etanol y Trancutol[®]) en la acción promotora del agente; (b) Estudios de permeación *in vitro* utilizando piel y mucosa bucal y (c) Estudio de la relación de las estructuras químicas (tanto de los fármacos estudiados como de los promotores) y su actividad biológica (considerada en este caso como el factor de promoción). En este trabajo encontramos que el vehículo en el que se coloca el agente modulador influye en su acción promotora, en este caso el propilenglicol aumenta el efecto sobre la barrera de permeabilidad cutánea. Con respecto a los estudios de permeabilidad *in vitro*, mostraron que la Azona[®] es un efectivo promotor, a diferencia del Dermac[®] con el que se pudo observar incluso un efecto retardador en el flujo de algunos activos (ácido salicílico), por lo que se puede concluir que el Dermac[®] presenta un efecto limitado sobre la barrera de permeabilidad de la piel y su efecto parece estar fuertemente influenciado por su interacción con los mismos fármacos, ya que forma dos puentes de hidrógenos con ellos y presenta un carácter nucleofílico. Se desarrolló además una ecuación que describe la relación estructura química - actividad biológica con el objeto de predecir el comportamiento de otros fármacos al ser administrados por piel o mucosa bucal incluyendo entre a sus excipientes a la Azona[®] o Dermac[®].



1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos remotos la piel fue usada como vía de administración; sin embargo es hasta los años setentas que se retoma el estudio de la vía de penetración transdérmica para administrar algunos principios activos en un sentido más formal, y se encontró que la absorción percutánea esta relacionada con la transferencia del fármaco a través del estrato córneo, lo que implica un gradiente de concentración y la difusión por todas las capas de la piel hasta llegar a la microcirculación; sin embargo la mayoría de los principios activos que se desean administrar por esta vía, no poseen la capacidad intrínseca de atravesar el estrato córneo (membrana queratinizada más higroscópica que uñas y pelo) de forma eficiente, puesto que es el paso limitante en la absorción, por lo que ha sido necesario utilizar agentes que faciliten el paso de los fármacos a través de la piel, estos agentes pueden ser sustancias químicas llamadas "Promotores de Absorción Químicos" o bien agentes físicos los llamados "Promotores de Absorción Físicos".

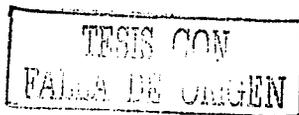
Entre los promotores de absorción químicos, se encuentra una gran variedad de sustancias, tal es el caso del laurocapram (Azona[®]), el primero en sintetizarse con este fin y sus derivados como el 4-deciloxazolidin-2-ona (Dermac[®]), que son el objeto de este estudio. También se encuentran algunos disolventes como alcoholes, alquilmetilsulfóxidos, pirrolidonas, propilenglicol, etc.; surfactantes, como dodecil sulfato de sodio, bromuro de cetiltrimetilamonio, Tweens, Brijs, poloxámeros, ácidos grasos y alcoholes grasos, sales biliares, urea, terpenos, aceites esenciales y ciclodextrinas, entre otros.

Este trabajo va enfocado a la vía transdérmica, por lo que en la sección de antecedentes se incluye en primer lugar un panorama general sobre la fisiología de la piel, lo que sirve como preámbulo para hablar de la piel como vía de administración de medicamentos, ya sea con efecto local (vía tópica) o sistémico (vía transdérmica), posteriormente se mencionan los diversos agentes que se usan en la actualidad para facilitar el paso de los fármacos a través del estrato córneo, así como lo métodos para cuantificar los principios activos que penetran a través de la piel y finalmente se incluye un apartado dedicado a mucosa bucal, ya que durante las permeaciones realizadas en el presente estudio se comparó el flujo en esta mucosa (que se uso como modelo de membrana no queratinizada), con el obtenido en piel.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Siguiendo el método científico experimental, se procede a incluir la justificación, objetivos y metodología dividida en tres grandes secciones: 1) Los métodos *in vivo*, que incluyen la pérdida de agua transepidermal (TEWL) y espectroscopía de infrarrojo por transformadas de Fourier / reflectancia total atenuada, 2) Método *in vitro*, realizando permeaciones de tres activos: acetaminofén, ácido salicílico y lidocaína, usando como promotores de absorción Azona[®] (Laurocapram) y Dermac* (4-deciloxazolidin-2-ona) y 3) La correlación estructura química (de los fármacos y promotores) y actividad biológica (en este caso considerada como el factor de promoción). Finalmente, se procede a presentar los resultados obtenidos para así concluir este trabajo.

La sección de anexos son básicamente monografías de los disolventes y principios activos utilizados y la descripción del análisis estadístico que se realizó para analizar los resultados obtenidos.

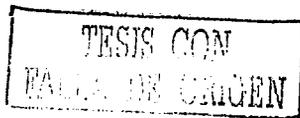


2. ANTECEDENTES

2.1 LA PIEL

La piel cubre una área de 2 m² aproximadamente y es la que proporciona el contacto entre nuestro organismo y el medio ambiente exterior, cumple además con múltiples funciones, por ejemplo evita la pérdida de agua y la entrada de sustancias extrañas. La piel es una membrana muy heterogénea que contiene una gran variedad de tipos de células; no obstante la capa que controla la absorción es el estrato corneo [Stanley, 1982].

Así pues, para comprender mejor este trabajo es necesario describir brevemente la estructura de la piel. Esta cuenta con una barrera que previene el transporte molecular en ambas direcciones. El epitelio es de naturaleza lipofílica siendo sobre todo impermeable al transporte de sustancias hidrofílicas (incluso especies con carga). Anatómicamente, la piel está dividida en epidermis y dermis (Fig. 1). La epidermis constituye la capa más externa y está formada por un epitelio queratinizado escamoso estratificado el cual contiene una gran variedad de células tales como: queratinocitos, melanocitos, células de Langerhans, células de Merkel. La epidermis está conformada de la siguiente manera: Estrato basal (capa más profunda de la epidermis, se encarga de la producción y proliferación de nuevas células), estrato espinoso, estrato granuloso y finalmente estrato córneo; éste último formado por células muertas, queratinizadas y lípidos, entre los más abundantes pueden mencionarse a los derivados de colesterol y las ceramidas, mientras que los ácidos grasos y los triglicéridos se encuentran en menor proporción; todos estructurados en una bicapa lamelar, proporcionando así una barrera hidrofóbica, que constituye la principal barrera de permeabilidad. [Allan, 1995].



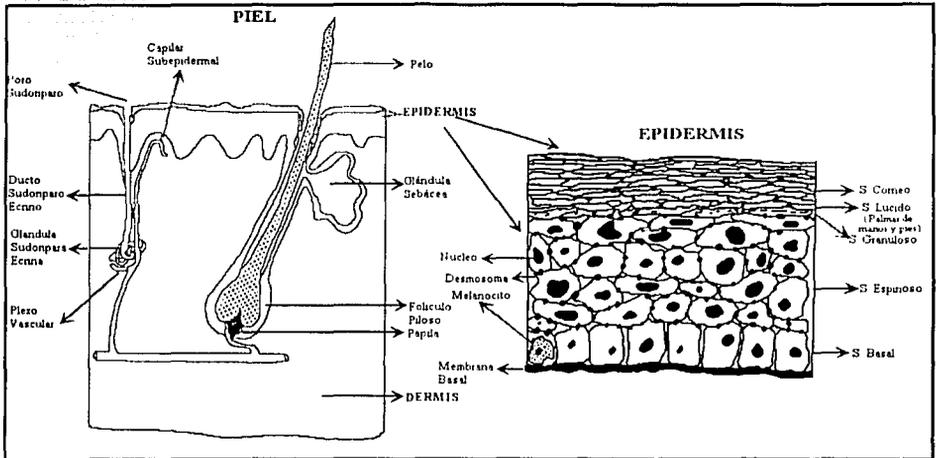


Fig. 1 Esquema de la piel y de la epidermis [Barry, 2001].

Por otro lado es importante hacer énfasis en que existen tres vías o rutas de penetración en la piel (Fig. 2). 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 cerina).

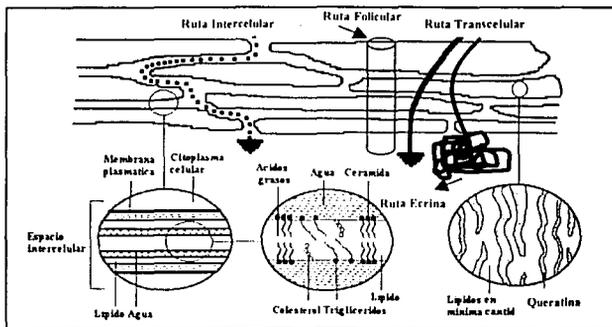


Fig. 2 Vías de penetración a través de estrato córneo [Modificado de: Barry, 1987].

TESIS CON
FALLA DE CUBIEN

Mecanismo de penetración a través de la piel (Alberty y Hadgraft, 1979)

El paso de sustancias a través del estrato córneo ocurre por difusión pasiva 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 por unidad de área, se expresa de la siguiente manera:

$$J = \frac{DK}{h} (C_o - C_i) \quad \text{Ec. 1}$$

K = Coeficiente de partición piel-vehículo

D = Coeficiente de difusión en el estrato córneo

h = Longitud a través de la cual ocurre la difusión

$C_o - C_i = \Delta c$ = Gradiente de concentración en el estrato córneo

C_o ($\mu\text{g}/\text{cm}^3$) es la concentración aplicada en la superficie de la piel y C_i es la concentración al interior de la piel. En la práctica, C_i , es muy pequeña comparada a C_o y la ecuación anterior se puede simplificar a:

$$J = KpC_o \quad \text{Ec. 2}$$

Donde Kp (cm/h) es el coeficiente de permeabilidad.

La ecuación de la Primera Ley Fick también se puede expresar de la siguiente manera:

$$J = KpC_o = \frac{dM}{S * dt} \quad \text{Ec. 3}$$

J = Flujo ($\mu\text{g} / \text{cm}^2 * \text{h}$)

dM = Cantidad de Materia (μg)

S = Superficie (cm^2)

t = Tiempo (dt)

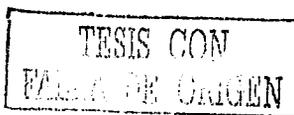
2.2 FORMAS FARMACÉUTICAS QUE SE ADMINISTRAN EN LA PIEL

Al administrar un fármaco por vía cutánea, éste puede ejercer su efecto a dos niveles: Liberación Tópica (efecto y liberación local) y Transdérmica (efecto sistémico). Ambas presentan múltiples diferencias, la Vía Tópica tiene las siguientes características: a) Se utiliza en piel enferma o cuando se pretende lograr un efecto localizado en los tejidos subyacentes, b) Se desea evitar la absorción sistémica del medicamento, c) Existen múltiples sitios de aplicación d) Los sistemas de liberación pueden ser los clásicos o nuevos, e) Deben presentar una efectiva y alta disponibilidad local. La Vía Transdérmica tiene otros requerimientos a) Se aplica en piel normal, b) Requiere de un sistema de absorción controlada para el medicamento, c) Generalmente se aplica en un sitio específico, d) Los sistemas de liberación deben ser específicos (tal es el caso de los parches), e) Es necesaria una alta biodisponibilidad. No obstante tales diferencias, existen requerimientos comunes, tales como: cosméticamente aceptable para la piel, formulaciones no irritantes ni alergénicas, buena estabilidad fisicoquímica del medicamento en la formulación, buena biodisponibilidad del medicamento (para lo cual se pueden usar promotores de penetración) [Rolland, 1993].

A continuación se hace una breve referencia a estos sistemas, con el fin únicamente de tener un panorama general de las diferentes formas farmacéuticas que se administran a través de la piel.

2.2.1 Vía Tópica

Existe un número interminable de productos que pueden ser administrados vía tópica, ya sea con fines farmacéuticos o cosméticos, tal es el caso de soluciones limpiadoras, sprays, aerosoles, roll-on, emulsiones (ya sean lociones o champús), cremas, ungüento o pomadas, pastas o geles [Flynn, 1990] y algunos sistemas más novedosos como microsponjas, vehículos basados en liposomas, el uso de silicones, etcétera [Osborne y Amann, 1990]. En esta sección se tratará únicamente de las formas farmacéuticas más comunes, que en general son semisólidos.



2.2.1.1 Ungüentos ^[Flynn, 1990]

Los ungüentos son semisólidos, cuya base son hidrocarburos en los cuales se encuentra disuelto o suspendido el principio activo. Se usan en general petrolato y ceras, los métodos de preparación se basan en aumentar la temperatura hasta llegar a su punto de fusión, incorporar el activo y después enfriar. Actualmente en el mercado son muy usados los polietileno, dado que la difusión del activo a través del vehículo facilita su liberación. Existen otros ungüentos basados en silicónes, los cuales contienen como ingrediente principal aceite de polidimetilsiloxano, dado que es una excelente barrera contra el agua y es usado como emoliente en la piel. El polietilenglicol también es usado en los ungüentos, debido a que es semejante al petrolato, pero la solubilidad de muchos activos es mejor, lo que también podría representar una partición pobre del activo del vehículo hacia la piel, además es muy soluble en agua.

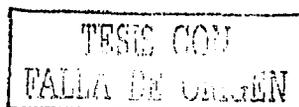
Un medicamento muy hidrofílico puede ser incorporado al vehículo mediante el uso de emulsificantes, entre los más usados se encuentran el colesterol, ésteres de colesterol, lanolina, derivados de lanolina, surfactantes iónicos y no iónicos. A este tipo de ungüentos se les identifica como emulsiones.

2.2.1.2 Pastas ^[Flynn, 1990]

Las pastas son básicamente ungüentos que contienen un mayor porcentaje de sólidos insolubles (50% o más). Ingredientes tales como almidón, óxido de zinc, carbonato de calcio y talco, se usan en la fase sólida. Forman una capa oclusiva en la piel, se usan en irritaciones, rozaduras y como protectores solares, ya que son opacos.

2.2.1.3 Cremas ^[Flynn, 1990]

Las cremas son sistemas de emulsiones semisólidas, con una apariencia de "crema blanca", pues la fase interna de la emulsión refleja la luz, dando a las cremas su apariencia característica. El término "crema" es usado tanto para las emulsiones agua en aceite (w/o), cuya fase interna es el agua, como para las emulsiones aceite en agua (o/w), cuya fase interna es el aceite, aunque es necesario recordar que desde el punto de vista fisicoquímico son muy diferentes.



El método de preparación de una crema, dependerá del tipo de emulsión que se desee formar, generalmente, la fase interna se agrega a la fase externa o continua en agitación constante en presencia de un agente emulsificante, normalmente el activo se incluye en la fase interna la cual queda suspendida en forma de gotas. Los materiales que se incluyen son en la formulación de una crema son muchos y muy variados, y van desde ceras, grasas, aceites que se incluyen en la porción oleosa de la crema, hasta agua o alcohol (laurílico, mirístico, cetílico, estearílico, oleico, bencilico, hexadecílico) en la porción acuosa. Otro excipiente que las cremas generalmente contienen es propilenglicol, dado que es un emoliente. Entre los tensoactivos que se incluyen generalmente se encuentran los Tweens y Spans.

2.2.1.4 Geles [Flynn, 1990]

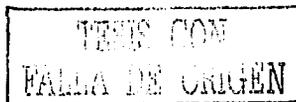
Los geles son sistemas semisólidos, que contiene una matriz polimérica (ya sean gomas naturales o sintéticas) entrecruzada y organizada tridimensionalmente suspendidas en un líquido, generalmente contiene una baja concentración del polímero (menos del 10%, usualmente entre 0.5 y 2%); se emplean en formulaciones que deben prevalecer después de aplicarse, tal es el caso de los medicamentos para tratar dermatitis donde se incluyen esteroides antiinflamatorios. Los polímeros usados, incluyen gomas naturales como tragacanto, pectina, carragenina, agar y ácido alginico y materiales sintéticos y semisintéticos, tales como, metilcelulosa, hidroxietilcelulosa, carboximetilcelulosa y polímeros sintéticos de vinilo (acrilato) con grupos carboxilos ionizables (carbopoles).

2.2.1.5 Espumas [Flynn, 1990]

Son sistemas en los cuales el aire o algún gas es emulsificado en una fase líquida o sólida; esto es, dentro del envase se encuentra un sistema fluido presurizado que al salir se emulsifica con el aire o algún gas y se convierte en espuma.

2.2.1.6 Otros productos dermatológicos [Flynn, 1990]

Lociones, jabones y champús, se usan en el tratamiento contra ciertas enfermedades de la piel; como antimicrobicos o en el tratamiento de infecciones de la piel.



2.2.1.7 Productos dermatológicos que se usan en capas subyacentes de la piel

Estos productos presentan efecto terapéutico en lugares más allá de la piel, tal es el caso de las pomadas o ungüentos que se aplican para aliviar dolores musculares. Se debe aplicar una capa gruesa del producto considerando que menos del 50% del activo es absorbido, así mismo menos del 10% podrá llegar a circulación general, además el área de exposición no es controlada por lo que tampoco se puede controlar la cantidad de fármaco administrado.

2.2.2 Vía Transdérmica: Los Parches

Desde la antigüedad la piel ha sido una vía de administración para diversos productos que se han usado con efecto local o sistémico, tal es el caso de los emplastos de origen natural, ungüentos, geles y cremas; no obstante para finales de los setentas o principios de los ochentas, retoma fuerza la investigación en el área de los transdérmicos y sale al mercado el primer parche moderno de liberación transdérmica desarrollado por Alza Corporation. Desde entonces el mercado de los transdérmicos ha crecido de manera exponencial (Fig. 3).

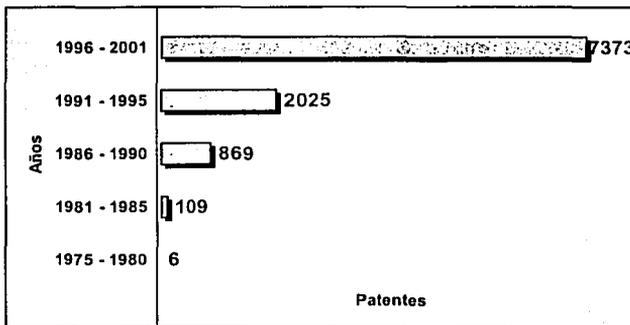
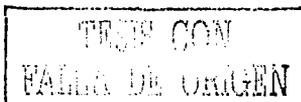


Fig. 3 Número de Patentes de Sistemas Transdérmicos registradas en Estados Unidos de Norteamérica [Mantelle, 2002]



Ventajas de los sistemas de liberación transdérmica (Barry, 2001)

- ◆ Es una buena opción para sustituir la vía oral.
- ◆ Evita la degradación gastrointestinal (interacciones de los fármacos, efectos del pH, actividad enzimática, etcétera).
- ◆ Evita el efecto del primer paso hepático (esto es que evita la desactivación de los medicamentos por enzimas hepáticas).
- ◆ Una terapia que se administra varias veces al día, puede ser sustituida por una aplicación única.
- ◆ Se aumenta el tiempo en circulación sistémica de los medicamentos que tienen un tiempo de vida media corta.
- ◆ Una vez retirado el dispositivo, el efecto del medicamento disminuye rápidamente.
- ◆ En caso de algún accidente o emergencia, se identifica rápidamente la terapia médica administrada al paciente.

Desventajas de la Administración Transdérmica (Barry, 2001)

- ◆ No todos los activos pueden ser administrados por esta vía, (en la siguiente sección se mencionan algunas características que debe cumplir un fármaco para ser susceptible de administrarse por esta ruta).
- ◆ La acción está limitada al tiempo en que el parche pueda permanecer adherido a la piel.
- ◆ La eficacia de la absorción percutánea se ve afectada por la variación intra e interindividual.
- ◆ La adhesión del parche puede variar según el tipo de piel.
- ◆ Puede producirse alergia en la piel, y manifestarse mediante enrojecimiento, salpudido o edema, debido al activo, la formulación del parche en general o el adhesivo del mismo.
- ◆ Dado que el parche es un sistema oclusivo, llega a proliferar el crecimiento de bacterias.
- ◆ El medicamento puede sufrir metabolismo por las bacterias y enzimas propias de la piel.
- ◆ La manufactura de estos parches implica un alto costo e involucra tecnología compleja.

Características que debe cumplir un activo susceptible de incorporarse en un transdérmico

(Hadgraft y Guy, 1989)

- ◆ El activo debe penetrar en la piel relativamente rápido (flujo entre 10 y 15 $\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{h}$)
- ◆ El sistema no debe cubrir un área más grande a 50 cm^2 .
- ◆ Los sistemas de liberación transdermal son preferibles para activos en los que la dosis diaria requerida sea de pocos miligramos.
- ◆ Es preferible que el activo tenga un tiempo de vida media biológico corto.
- ◆ Se debe considerar el coeficiente de difusión del activo, el cual involucra la naturaleza del polímero o formulación en que se encuentra el activo y su tamaño molecular. En general es preferible que sea de bajo peso molecular (menores de 600 Da, el coeficiente de difusión tiende a ser bajo y por lo tanto penetra más fácilmente el fármaco) [Barry, 2001]), sin embargo diversos péptidos y otras especies con alto peso molecular son susceptibles de atravesar la piel.
- ◆ Los activos muy lipofílicos pueden formar un reservorio en esta región, por otra parte los activos muy hidrofílicos no penetran el estrato córneo; por lo tanto los fármacos deben tener una lipofilia media, esto es un logaritmo del coeficiente de partición o reparto octanol / agua aproximadamente de 2. [Hadgraft y Guy, 1989].
- ◆ Deben tener un punto de fusión bajo y la solubilidad en el medio receptor debe ser buena.

Tipos de dispositivos para la liberación transdermal

Existen fundamentalmente tres tipos de parches que se utilizan en la liberación transdermal, ellos son los siguientes:

1. Parches adhesivos, en los que el fármaco se encuentra disuelto o disperso en el adhesivo, y en la parte posterior se coloca una película protectora, la cual evita que el fármaco migre hacia el medio ambiente. El esquema de este sistema transdérmico se muestra en la figura 4.

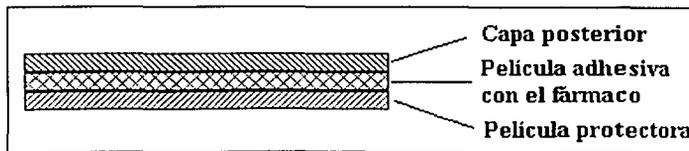


Fig. 4 Parche en donde el fármaco está incluido en el adhesivo

2. Parches tipo matriz, son sistemas monolíticos, que incorporan el medicamento en una matriz contenida entre dos capas, una capa anterior y una capa posterior. El activo se encuentra generalmente en una matriz polimérica que controla la liberación del fármaco hacia la piel (proporcional a la raíz cuadrada del tiempo) y por lo tanto la penetración del fármaco hacia el interior del cuerpo es controlada por la propia barrera de permeabilidad cutánea. Este tipo de parche se muestra en la figura 5.

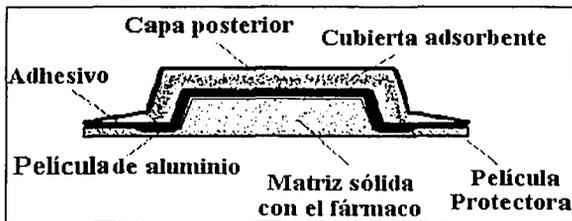


Fig. 5 Parche tipo matriz

3. Dispositivos que contienen una membrana para controlar el paso del activo hacia la piel, el fármaco es contenido en un líquido o gel en forma de reservorio (Fig. 6).

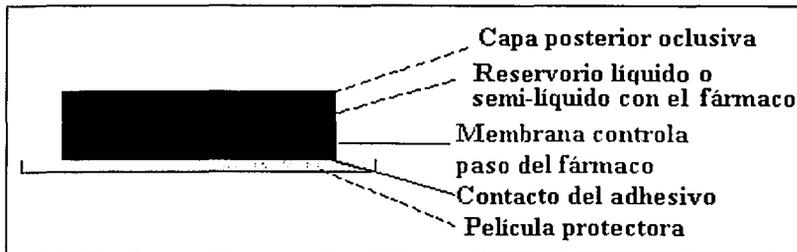


Fig. 6 Parche tipo reservorio

2.3 PROMOTORES DE ABSORCIÓN

Dado que en un producto transdérmico es indispensable que el activo pase a circulación general y debido a la resistencia natural que opone la piel a la penetración de sustancias exógenas, al formular un principio activo para ser administrado por esta vía, es necesario incluir excipientes que actúen como promotores de absorción.

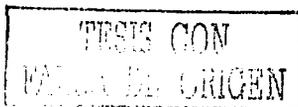
Un promotor de absorción es aquella sustancia que incrementa la partición y difusión de agentes activos hacia y a través de la barrera de permeabilidad.

Además ha surgido la necesidad de administrar fármacos de tamaño molecular muy grande, tal es el caso de los péptidos, por lo que también se han estudiado "promotores de absorción físicos" mediante la aplicación de corriente eléctrica, ultrasonido, etc.

En esta sección se estudiarán someramente los promotores de absorción químicos y físicos, ahondando exclusivamente en los dos promotores que se prueban en este trabajo, estos son el Laurocapram (Azona[®]) y uno de sus análogos el 4-Deciloxazolidin-2-ona (Dermac[®]).

2.3.1 Promotores de absorción químicos y efecto del vehículo

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.



Un ejemplo es el caso del ácido oléico, el cual tiene un doble enlace tipo *cis*, que se inserta dentro de los lípidos, modificando su empaquetamiento y consecuentemente incrementando la fluidez. La Azona[®], por su parte, no contiene carbonos con insaturaciones; sin embargo parece actuar de la misma manera. Estos dos promotores son "no polares"; pero también existen promotores de "baja polaridad" (dimetilsulfóxido, dimetilformamida, pirrolidonas), de "polaridad media" (decimetilsulfóxido) y de "alta polaridad" (propilenglicol), los cuales tienen diferente mecanismo de acción [Barry, 1987].

De manera general los mecanismos de acción de los promotores pueden resumirse en los siguientes puntos:

1) Incremento de la fluidez de las bicapas lipídicas de la membrana, con la consecuente disminución de la temperatura de transición vítrea: Como el transporte intercelular es la ruta más 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, puede incrementar la permeabilidad cutánea, además mediante diversas técnicas biofísicas (e.g. 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. [Ganem *et al*, 1998]

"2) Extracción de los lípidos intercelulares: Ciertos promotores, pueden incrementar la permeabilidad de la piel al extraer los lípidos intercelulares que constituyen la barrera. Este es un efecto más drástico que el anterior y por lo tanto debe tenerse muy presente la reversibilidad del mismo. La remoción de los lípidos del estrato córneo permite incrementar la velocidad de permeación tanto de sustancias polares como no polares." [Ganem *et al*, 1998]

"3) Interacción con los componentes protéicos: Ciertos promotores aumentan la permeabilidad de la membrana al cambiar la conformación, desnaturalizar e incluso extraer las proteínas de la membrana." [Ganem *et al*, 1998]

"4) 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 una barrera enzimática." [Ganem *et al*, 1998] por ejemplo la síntesis de melanina se inicia por la acción de tirosina por la enzima tirosinasa para formar 3,4-dihidroxifenilalanina (dopa) dentro de los melanosomas, la hidroquinona suprime la pigmentación tal vez bloqueando la actividad de la tirosinasa. [Orkin *et al*, 1994]

"5) Incremento de la actividad termodinámica del soluto: Esta 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," como se explica más adelante. Un ejemplo de este mecanismo puede ser "las moléculas de ciclodextrina, ya que son relativamente grandes (PM de 1000 a 2000), bajo condiciones normales son incapaces de penetrar la piel. Sin embargo, en vehículos acuosos, pueden solubilizar sustancias lipofílicas, insolubles en agua, aumentando su coeficiente de partición en la piel. Son más efectivas cuando se combinan con promotores lipofílicos que actúan directamente sobre la barrera de permeabilidad, e.g. Azona[®]" [Ganem *et al*, 1998]

"6) Co-difusión del promotor y el soluto: Se ha demostrado que ciertos promotores como elpropilenglicol, Transcutol, etanol y dimetilsulfóxico, son capaces de difundir a través de la piel, arrastrando junto consigo al penetrante." [Ganem *et al*, 1998]

"7) Incremento de la hidratación del estrato córneo: Aunque no existen teorías firmes sobre cómo el agua afecta el pasaje de una sustancia, parece ser que actúa por solvatación de las cabezas polares de los lípidos, principalmente glicoesfingolípidos y ceramidas." [Ganem *et al*, 1998].

En la tabla 1 se mencionan algunos promotores, cuyo mecanismo de acción se indica de acuerdo a los números de los puntos anteriores.

TABLA 1. Promotores de absorción cutánea (Datos modificados de Ganem *et al.*, 1998)

PROMOTOR	EJEMPLOS	MECANISMO DE ACCIÓN
A. DISOLVENTES		
1. Agua		7
2. Alcoholes	Metanol, etanol	1
3. Alquilmetilsulfóxidos	Dimetilsulfóxido, dimetilformamida	2
4. Pirrolidonas	2-Pirrolidona, N-metil-2-pirrolidona	7
5. Azona ^k y derivados		1
6. Otros	Propilenglicol	6 y 3
B. SURFACTANTES		
1. Aniónicos	Dodecil sulfato de sodio	1, 2 y 3
2. Catiónicos	Bromuro de cetiltrimetilamonio	1, 2 y 3
3. No iónicos	Tweens, Brijs, Poloxámeros	1, 2 y 3
4. Ácidos y alcoholes grasos	Ácido oleico, láurico	1
5. Sales biliares	Tioglicolato de Calcio	1, 2 y 3
C. OTROS		
1. Urea		7
2. Terpenos y aceites esenciales	Mentol y limoneno	1
3. Ciclodextrinas		5

Como se mencionó, un camino para incrementar la difusión en el estrato córneo, es el uso de sistemas supersaturados, estos presentan la ventaja de no requerir el uso de un promotor. Se realizan usando disolventes volátiles o captando el agua transepidermal que se evapora normalmente al colocar un dispositivo oclusivo constituido por un polímero hidrofílico (comúnmente el adhesivo tiene estas propiedades.) Si el activo es de naturaleza hidrofóbica, el agua adicional contribuirá a reducir su solubilidad en el medio adhesivo. Ahora bien, si el activo no difunde inmediatamente a través de la solución, se obtendrá una solución supersaturada en un estado de alta actividad termodinámica (metaestable), lo que dará como resultado que se favorezca la partición en la piel. Aparentemente hay una correlación directa entre el grado de supersaturación y el flujo a través de la piel y la cantidad de activo detectado en la piel [Hadgraft, 2001].

La ecuación 1 muestra que es posible obtener un efecto sinérgico al combinar dos promotores, si un promotor incrementa "D" (Coeficiente de difusión en el estrato córneo) y otro "K" (Coeficiente de partición piel - vehículo) o si usamos sistemas supersaturados, el efecto se verá multiplicado.

Además del uso de promotores, se ha buscado incrementar la absorción empleando acarreadores o vehículos que favorezcan el transporte a través de la piel.

Uno de los mayores problemas es la liberación transdérmica de los agentes biotecnológicos, dado que son moléculas muy grandes y la cantidad que penetra es muy pequeña, además se han obtenido resultados muy pobres cuando se colocan con promotores de absorción química, por lo que se deben buscar otras alternativas como promotores físicos (que se estudian más adelante). Entre estas opciones se pueden mencionar a los liposomas o Transfersomas[®]. Los Transfersomas[®] son liposomas ultra-deformables que tiene una superficie polar, los cuales aparentemente promueven la permeación de moléculas con alto peso molecular como la insulina. La figura 7 representa un Transfersoma[®].

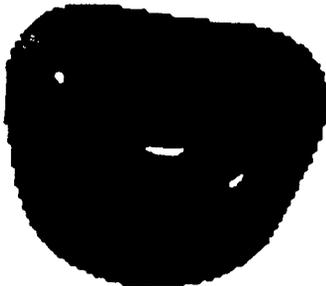
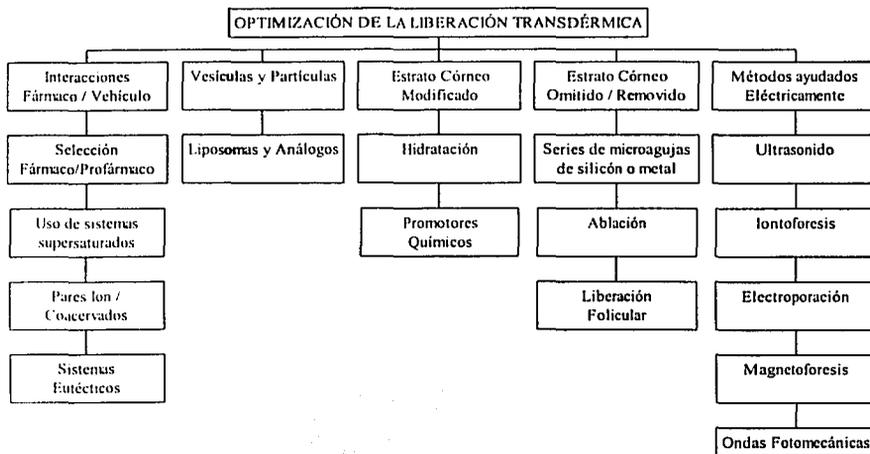


Fig. 7. Representación de un Transfersoma[®] [Hadgraft, 2001]

También han sido reportados complejos de lípidos con ADN que penetran el estrato córneo tales como DOTAP[®] en los cuales "liposomas-ADN" promueven la penetración, su mecanismo de acción no está aún bien definido [Alexander *et al*, 1995 y Birchall *et al*, 2000], existe un sinnúmero de vesículas y partículas que han atravesado el estrato córneo, tales como

liposomas, transfersomas, ethosomas, niosomas, etc., lo que parece indicar que penetran por vía folicular.

Las moléculas cargadas, también han sido objeto de estudio por esta vía, para neutralizar su carga temporalmente se han formado pares iónicos lipofílicos, los cuales difunden a través de la epidermis y posteriormente son disociados, también se han realizado pruebas con sistemas eutécticos (sistema cuya mezcla tiene un punto de fusión inferior a cualquiera de sus componentes) aunque el efecto promotor es modesto [Barry, 2001]. Otra técnica es formar un complejo coacervado en una fase oleosa, esto es, formación de pequeñas gotas ricas en el complejo iónico; la partición del coacervado dentro del estrato córneo se comporta como pares iónicos, difundiéndose, disociándose y pasando al tejido viable, aunque el flujo es de nuevo modesto. El cuadro 1 muestra un resumen de los diversos promotores físicos y químicos, que se han usado para optimizar la liberación transdérmica, así como otras técnicas usadas.



Esquema 1. Optimización de la liberación transdérmica [Barry, 2001]

Finalmente se ha reportado en la literatura el uso de promotores de penetración química en un sistema de spray para liberación transdérmica, el cual se muestra en la figura 8 [Hadgraft, 2001].



Fig. 8. Prototipo de un sistema de spray transdérmico [Hadgraft, 2001]

2.3.2 Promotores de absorción físicos

El desarrollo de fármacos biotecnológicos, tales como péptidos y oligonucleótidos, ha ocurrido al mismo tiempo que se incrementa el interés en la ruta de liberación transdérmica. Muchos de estos agentes biotecnológicos no pueden ser administrados vía oral por la degradación gastrointestinal (efectos del pH, enzimas digestivas, etc.) y por el efecto del primer paso hepático; por otro lado sus propiedades son desfavorables para la penetración transdérmica (dado que generalmente son de gran tamaño y tienen carga). Así que se ha renovado el interés por la iontoforesis.

La iontoforesis es un método eléctrico para promover la absorción de fármacos, en donde, se hace pasar una pequeña corriente eléctrica (aproximadamente 0.5 mA/cm^2) a través de un electrodo que contiene el fármaco en contacto con la piel y un electrodo conectado con tierra, el cual completa el circuito eléctrico en otra parte del cuerpo. Existen principalmente tres mecanismos que promueven el transporte de moléculas por este método: 1) la repulsión eléctrica que genera el electrodo impulsa a la especie cargada; 2) el flujo de la corriente eléctrica puede incrementar la permeabilidad de la piel y 3) la electroosmosis puede lograr que penetren moléculas sin carga y péptidos polares de gran tamaño. La eficacia del transporte depende principalmente de la polaridad, valencia y movilidad de las especies cargadas, así como los ciclos eléctricos y los componentes de la formulación. La figura 9 muestra el mecanismo de la iontoforesis.

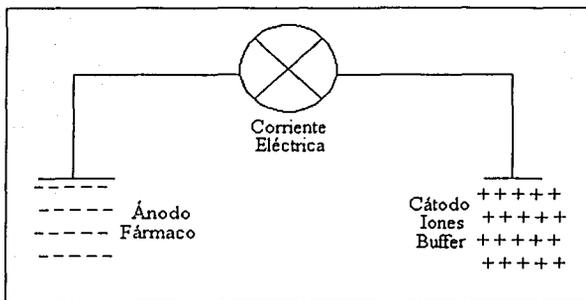
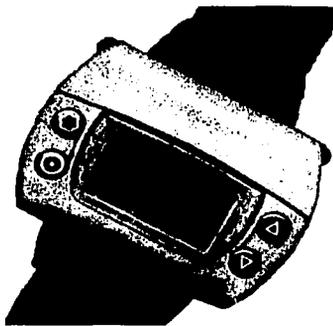


Fig. 9 Mecanismo de transporte por iontoforesis

Una consecuencia importante de la iontoforesis es el fenómeno de electroosmosis, esto es, el paso de agua a través de la piel debido a la corriente administrada, lo cual permite mejorar el paso de moléculas hidrofílicas sin carga. Este fenómeno ha sido aprovechado en recientes aplicaciones de iontoforesis reversa, lo que da lugar a que se actúe en los dos sentidos, esto es permite sacar y meter moléculas, su aplicación más conocida es el "Gluowatch", este dispositivo permite "sacar" glucosa del organismo y detectar niveles altos mediante un microchip, lo cual es muy útil para las personas diabéticas. La figura 10 es una imagen del "Gluowatch".



TESIS CON
FALTA DE ORIGEN

Fig. 10 Representación del "Gluowatch" [Hadgraft, 2001]

Existen otras técnicas de promoción física; sin embargo no han sido tan desarrolladas como la iontoforesis, entre ellas se incluyen la electroporación y la sonoforesis. La electroporación utiliza voltajes muy altos en períodos de tiempo muy cortos (ms) creando una región transitoria de permeabilidad formando canales en la estructura de los lípidos intercelulares, lo cual puede usarse en combinación con la iontoforesis.

Lo que se refiere a los trabajos con ultrasonido, el mecanismo de acción aún no está bien esclarecido sin embargo algunos autores [Bomman *et al*, 1992 y Mitragotri *et al* 1996] sugieren que se induce la fluidización de los lípidos del estrato córneo o formando cavidades entre ellos; lo cual es efectivo para algunas permeaciones, pero no para otras. Especies con alto peso molecular requieren ultrasonido a frecuencias bajas (kHz) para mejorar la absorción.

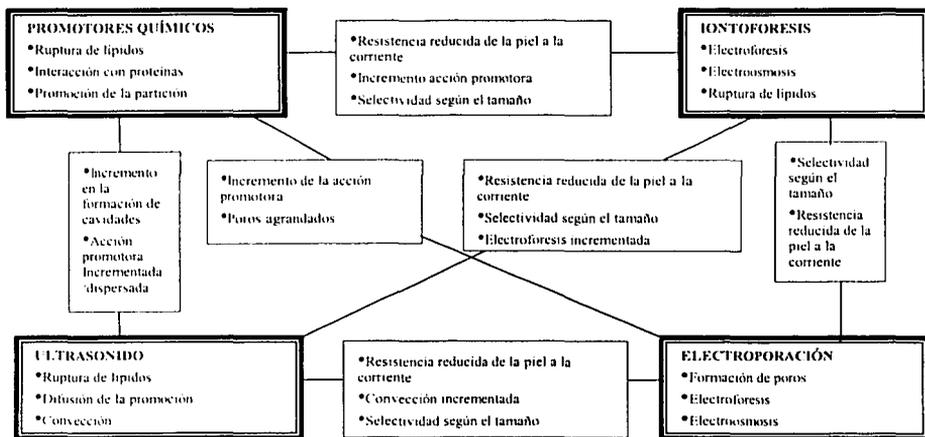
Otro intento de mejorar la absorción ha sido bombardear partículas a altas velocidades para atravesar la barrera de permeabilidad que forma el estrato córneo, los tamaños de partícula que se usan están en el orden de los micrones. La figura 11 muestra este dispositivo llamado "Powderject".



Fig. 11 Imagen del "Powderject" [Hadgraft, 2001]

Se han estudiado además series de micro-agujas que esencialmente perforan el estrato córneo y el activo pasa a través de las agujas hacia la epidermis viable. También se han estudiado los rayos láseres como una manera de controlar la liberación transdérmica.

Finalmente el esquema 2 muestra un resumen de los mecanismos sugeridos para los promotores de liberación transdérmica.



Esquema 2. Mecanismos de acción sugeridos para promotores de penetración transdérmica y posibles acciones sinérgicas entre ellos [Barry, 2001]

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.3.3 Laurocapram (Azona®)

De entre los promotores de absorción química, la Azona® (Laurocapram) ha sido posiblemente de los más efectivos tanto para sustancias de naturaleza lipofílica como hidrofílica.

Características generales de la Azona®

La Azona®, cuya estructura se muestra en la figura 12, es la marca registrada de la sustancia química laurocapram cuyos nombres científicos son: 1-dodecil azacicloheptan-2-ona; 1-dodecil hexahidro-2H-azepin-2-ona; N-dodecil-3-caprolactam. Derivado del caprolactam, tiene usos como promotor de absorción percutánea, agente activo fisiológico y actividad intrínseca antiinflamatoria [Manual Merck, 1996]. En la figura 13 se muestra la distribución de las cargas de la Azona®.

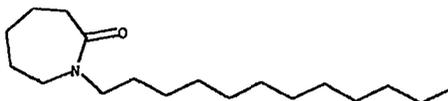


Fig. 12 Azona®

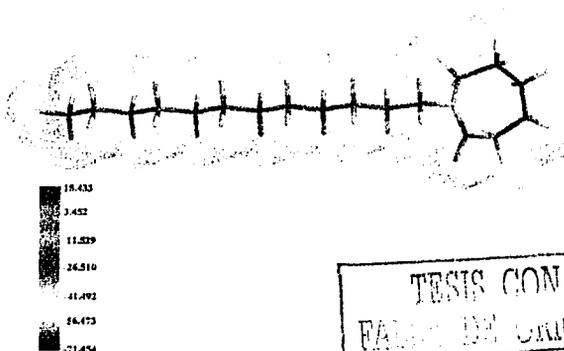


Fig. 13 Distribución de las cargas de la Azona®

La Azona[®] fue patentada en 1976 como un promotor de penetración [Rajadhyaksha, 1976-1984]. Estudiada ampliamente desde 1980, es un líquido claro color ámbar, cuya masa molecular es de 281.49 Da, punto de fusión de -7°C , y un punto de ebullición de 160°C a 0.05 mmHg. El coeficiente de partición octanol / agua es de 6.21 [Allan, 1995], otros autores reportan 6.6 [Barry, 1987] demostrando que es un material altamente lipofílico.

La Azona[®] es miscible con la mayoría de disolventes orgánicos y es un excelente solubilizador de una gran variedad de fármacos, se incorpora rápidamente en diferentes formulaciones, mostrando una alta estabilidad química y es compatible con la mayoría de los excipientes [Allan, 1995].

Dado que la Azona[®] contiene una cadena alifática larga limitada por un ciclo polar llamado azacicloheptan-2-ona [Potts, 1997], es un promotor efectivo tanto para fármacos hidrofílicos como hidrofóbicos, de diferentes pesos moleculares, incluyendo moléculas de péptidos tales como insulina y vasopresina [Allan, 1995]. La Azona[®] es generalmente usada a bajas concentraciones, 1 a 5% v/v, y su actividad promotora se puede incrementar por el uso de co-disolventes entre ellos el propilenglicol (PG) [Wiechers *et al*, 1990 y Hadgraft, 1996].

Así la Azona[®] puede ser considerada como un promotor universal, aunque depende de diferentes factores tales como el nivel de hidratación en la piel, la solubilidad de los fármacos y de los vehículos, etc. [Allan, 1995].

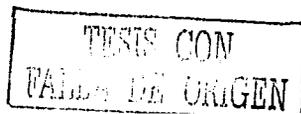
Toxicidad de la Azona®

Se han realizado estudios en ratones, ratas, cerdos, conejos y monos, sin encontrar efectos sistémicos adversos o toxicidad dérmica después de un mes de exposición en la piel. En estudios de toxicidad de dosis única oral la DL₅₀ con 100% de Azona® es de 7.4 y 9 g/kg en ratones y ratas respectivamente. Por vía dérmica aplicando 100% de Azona® a ratas, la DL₅₀ es de 7.3 g/kg. Por vía ocular, a altas concentraciones produce una leve irritación, con dosis prolongadas causa hiperemia conjuntival media en conejos [Allan, 1995].

Se realizaron estudios, con algunos derivados de Azona® a los que se les varió el número de carbonos de la cadena alifática y se encontró que en células epidermales de especie humana, con la toxicidad incrementa al alargar la cadena de dos a ocho carbonos, permanece constante entre ocho y catorce carbonos y disminuye nuevamente al aumentar la longitud de la cadena. Una tendencia similar se observa con el flujo, usando como activo nitroglicerina, lo que sugiere que existe relación entre la toxicidad y el efecto promotor de penetración [Ponec *et al*, 1989 - 1990].

En estudios de dosis múltiple (30 aplicaciones) vía dérmica, con concentraciones entre 10 y 50% en ratones lampiños es ligeramente irritante, en ratas es muy irritante y muestra una irritación moderada en conejos y cerdos. Aplicándolo durante seis meses a concentraciones de 5% causa irritación moderada en ratones, ratas y monos, con efectos no sistémicos, notándose cambios moderados en la piel.

En ratas y ratones no se han encontrado tumores o efectos carcinogénicos, excepto por vía oral / nasal en ratas, donde se han encontrado células con tumores, aunque no son representativos estadísticamente. Tampoco muestra efectos genotóxicos, teratogénicos o embriotóxicos.



Los estudios clínicos han demostrado que la piel humana es tolerante a aplicaciones repetidas de la Azona[®] por largos periodos de tiempo, y las tendencias a irritación se deben al uso de altas concentraciones de Azona[®] con parches oclusivos sobre el sitio de aplicación.

Una aplicación de Azona[®] al 100% en piel humana, en condiciones normales, muestra una absorción mínima (menos del 1%), acumulándose en las capas superficiales del estrato córneo, lo cual se ha observado por medio de strippings y marcadores radioactivos, sin detectarse en sangre y recobrándose solo un 0.005% en heces [Allan, 1995].

Mecanismo de acción

En los últimos años se han propuestos diversos mecanismos de acción de la Azona[®], según los diferentes estudios realizados. Sin embargo, en resumen todos llevan una misma directriz, enfocados a indicar que la Azona[®] interacciona con los lípidos del estrato córneo (SC), desordenándolos y formando huecos entre ellos, lo que favorece el paso de las sustancias.

De esta manera diversos autores, tales como Allan G. (1995) indica que la Azona[®] interacciona con los lípidos intercelulares fluidizando regiones hidrofóbicas de la estructura lamelar, aumentando la difusión en la piel. La Azona[®] tiene una cadena alifática de 12 carbonos, que sugiere la formación de huecos en el espacio intercelular, mediante la interrupción de las interacciones ceramida-colesterol o colesterol-colesterol.

Barry B. W. (1987) realizó un estudio por calorimetría diferencial de barrido (DSC) el cual revela que la estructura de los lípidos se ve alterada por efecto de la Azona[®]: Por DSC se

observa que el SC presenta 4 transiciones mayores a las temperaturas T_1 , T_2 , T_3 y T_4 , las cuales se observan en la figura 14. T_1 : Indica la posible fusión de lípidos sebáceos o que contienen cadenas de colesterol, T_2 : Fusión de la cadena lipídica insertada en la estructura bilamelar junto a algún material no polar. T_3 : Rompimiento entre las asociaciones de las cabezas polares de los lípidos junto con la ruptura de las regiones rígidas del colesterol o bien se supone transición lípido-proteína asociada a la membrana de la célula. T_4 : Desnaturalización de la queratina intracelular. Al tratar el estrato córneo con Azona[®] T_1 , T_2 y T_3 desaparecen del termograma; al no alterar T_4 se supone que no entran cantidades significativas a las células. Debido a que la Azona[®] es un material no polar, se sugiere que ésta se inserta entre los lípidos evitando la cristalización de su cadena.

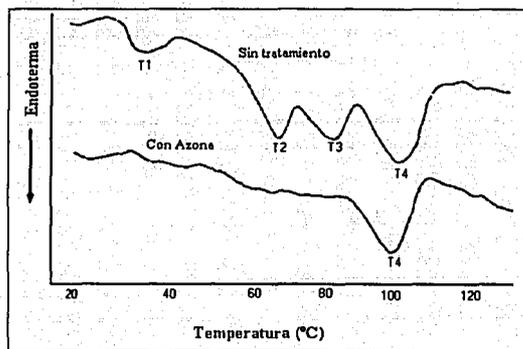


Fig. 14 DSC del estrato córneo humano, sin tratamiento y modificado por la Azona[®] [Barry, 1987]

Katsu *et al* (1989) investigaron la acción de la Azona[®] en eritrocitos humanos, midiendo la hemólisis, presión osmótica, cantidad total del contenido de fosfolípidos y un ensayo adicional

donde se determina el cambio en la temperatura de transición de una membrana artificial liposomal de dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC) mediante polarización fluorescente. Los resultados muestran que la Azona[®] penetra dentro de las bicapas lipídicas incrementando el movimiento de las cadenas alquílicas de los lípidos, debido a su grupo dodecilo. Esto se determinó midiendo la temperatura de transición de DPPC. Estudios de presión osmótica indicaron que la Azona[®] induce hemólisis, y lesiona las membranas biológicas, liberando fragmentos de fosfolípidos. El grupo dodecilo de la Azona[®] penetra en regiones profundas de la membrana, el grupo amida se localiza de preferencia cerca de las regiones hidrofílicas de los lípidos, el gran volumen del anillo de ϵ -caprolactam empuja las cabezas polares de los lípidos hacia arriba deformando su estructura lo que provoca que al acumularse se liberen fragmentos de la membrana y se promueva la permeabilidad, tanto en las membranas de eritrocitos como del estrato córneo.

A través de isotermas de Langmuir, Lewis y Hadgraft en 1990 mostraron que la Azona[®] posee un área molecular de sección transversal de 60 \AA^2 . La Azona[®] se inserta por sí misma dentro de la bicapa y parece empujar parte de las cabezas del grupo de las ceramidas, dejando cierto volumen libre, región en la cual la cadena alquílica incrementa el desorden. El proceso de difusión por lo tanto se facilita y la Azona[®] actúa como incrementador de transferencia de moléculas a través de la piel, la transferencia también está determinada por la difusión a través de los canales moleculares. Por lo tanto, la inserción de la Azona[®] tiende en fuerza a apartar la ceramida, debido a su anillo cargado en forma positiva por repulsión electrostática (Fig. 15).

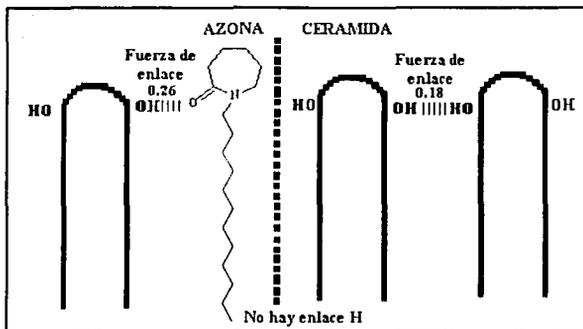


Fig. 15 Enlaces por medio de puentes de hidrógeno entre ceramidas y Azona® [Hadgraft, 1996]

Schüchel *et al* (1991) estudiaron la compresión sobre una película monomolecular de colesterol, ceramida y una mezcla de 6 ácidos grasos del SC (esteárico, palmítico, mirístico, oléico, linoléico, palmitoléico). La Azona® reduce el estado de condensación de estas películas, correspondiendo al incremento en la fluidez dentro de las monocapas. Además, la Azona® altera levemente el TEWL (Transepidermal Water Loss) de la película lipídica monomolecular. En 1993 Schüchel *et al* realizaron estudios mediante DSC y difracción de rayos X, utilizando dos modelos o matrices, la matriz I (M_I) compuesta por lípidos del SC, fundamentalmente ácidos grasos (ácido esteárico, palmítico, mirístico, oléico, linoléico y palmítico); la matriz II (M_{II}) formada por lípidos del SC (los mismos que M_I, colesterol y ceramidas, en una proporción 31:25:44), ambas matrices con el 32% de agua. Siendo más semejante al SC la M_{II}. Se incorporó del 0-50% de Azona® a cada matriz. Los resultados muestran que con un 30% de Azona® se atenúa la periodicidad hexagonal de la matriz con ácidos grasos (M_I), esto acompañado por la transición de los puentes de hidrógeno en la estructura en M_{II}, causando el hinchamiento de las cadenas laterales e incrementando el área interfacial lípido - Azona®, sin causar una transición en

la estructura lamelar, esto debido posiblemente a la geometría molecular de la Azona[®] que tiene una cabeza grande comparada con el volumen de su cadena alifática. En la M_I la temperatura y la entalpía de transición endotérmica de ácidos grasos se reduce al aumentar la concentración de promotor y para la M_{II} difícilmente se altera.

Hirvonene *et al* (1994) realizaron trabajos mediante DSC en SC de aurícula de conejo, abdomen de humano y del dorso de serpiente (extraído con tripsina). El termograma presenta 4 picos endotérmicos 35, 70, 80 y 90°; los 2 primeros corresponden a estructuras lipídicas lamelares (de acuerdo a la difracción de rayos X), el tercero a lípidos asociados a proteínas y el cuarto a proteínas. A diferencia de Barry B. W. (1987), encuentra que la entalpía correspondiente a proteínas es muy baja (para humano), al pretratar con Azona[®] los tres primeros picos desaparecen, por lo que concluye que hay una ruptura de la estructura de la bicapa lipídica del SC.

Hadgraft J. (1996) propone que la Azona[®] se introduce dentro de la bicapa lamelar, causando la ruptura del empaque de lípidos. La cabeza polar se encaja en la parte polar de los lípidos, fluidizándolos, reduciendo la microviscosidad e incrementando el coeficiente de difusión. Al combinar Azona[®] con otros promotores el efecto es mayor, generando un desorden entre los lípidos de la piel aumentando la fluidez y la permeación. La actividad promotora se relaciona a la geometría molecular y la distribución de la carga.

La conformación adoptada por la Azona[®] depende de la cabeza del grupo en la interacción con la moléculas contiguas [Lewis y Hadgraft, 1990]. Los puentes de hidrógeno de las cabezas de los grupos de lípidos es un factor importante para la estabilidad de la membrana,

por lo tanto cuando la Azona[®] se inserta dentro de los lípidos intercelulares, se propone la formación de los puentes de hidrógeno con una molécula adyacente, dejando un espacio libre en el otro extremo creando una región de fluidez, como se muestra en la Figura 15 [Hadgraft, 1996].

Ganem-Quintanar *et al.* (1997) Resumen diversos mecanismos de acción, entre los cuales proponen los siguientes: a) la Azona[®] transporta fármacos lipofílicos a través de la mucosa oral queratinizada sin reducción de la resistencia eléctrica del tejido y ejerce menos efecto en sustancias con poca lipofilia, pudiendo facilitar el transporte de medicamentos aniónicos por la formación de pares iónicos; b) la Azona[®] altera el empaquetamiento de la DPPC y desorganiza las interacciones electrostáticas. La cadena alquílica de la Azona[®] puede insertarse en las cadenas hidrocarbonadas de los lípidos, mientras el grupo lactámico (más polar), podría esperarse que interactuara con las regiones polares de los lípidos. La conformación adoptada por la cabeza de la Azona[®] depende de las interacciones con las moléculas adyacentes; c) cuando la Azona[®] se intercala entre las cadenas hidrocarbonadas de la membrana causa un hinchamiento de la matriz lipídica debido al tamaño de su cabeza, lo que explicaría el aumento del área molecular media de las películas de DPPC con Azona[®]; d) la Azona[®] se inserta entre los lípidos intercelulares formando puentes de hidrógeno con una molécula adyacente, dejando libre la otra y creando una región de fluidización; e) altera el movimiento molecular sobre la superficie de las bicapas, al aumentar la anisotropía, por lo que se sugiere de nuevo un aumento en la fluidización de la membrana de células bucales humanas; f) la Azona[®] interactúa con los lípidos de la membrana y reduce la temperatura de transición; g) mediante microscopía electrónica de barrido se ha determinado que la Azona[®] separa las células e incrementa los espacios en el SC; h) los picos asociados a lípidos en un termograma del SC desaparecen al ser tratados con Azona[®] al 3% y Tween 20 al 0.1% (por 24 h), suponiendo así que los lípidos se fluidizan aumentando la

permeabilidad de la membrana. La Tabla 2 resume los mecanismos propuestos por diversos autores.

Tabla 2. Mecanismos de acción para Azona® según diversos autores

MECANISMO DE ACCIÓN PROPUESTO	REFERENCIAS
Disrupción de la bicapa lipídica; Azona no ingresa en cantidades significativas a las células.	Barry / 1987 Hirvonene <i>et al</i> / 1994
La Azona® penetra dentro de las bicapas lipídicas incrementando el movimiento de las cadenas acil de los lípidos, debido a su grupo dodecil, el anillo ϵ -caprolactam empuja las cabezas polares de los lípidos deformándolos, promoviendo la permeabilidad.	Katsu <i>et al</i> / 1989
Aumenta la fluidez y permeación en las regiones lipídicas de la piel humana. Fluidiza las regiones hidrofóbicas de la estructura lamelar.	Schütkel <i>et al</i> / 1991, 1993 Hadgraft <i>et al</i> / 1996 Allan / 1995 Beastall <i>et al</i> / 1988

Formulaciones con Azona® y estudios realizados

En los últimos años se han realizado un gran número de estudios empleando formulaciones con Azona®, con diversos vehículos y fármacos, a fin de evaluar su acción promotora. Algunos de los resultados de estos trabajos se resumen en la tabla 3, en la primer columna se describe la formulación evaluada en cada caso, en la segunda columna se indica la técnica empleada para evaluar la formulación colocada, en la tercera columna se muestra el modelo animal empleado en el ensayo, en la cuarta columna se señalan los resultados obtenidos. En la tabla 4 se muestran los Valores de Flujos obtenidos para diversos activos, donde se ha usado como promotor la Azona®.

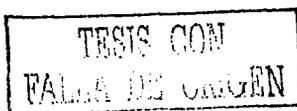


Tabla 3. Formulaciones desarrolladas con Azona[®] y resultados obtenidos

FORMULACIÓN	TÉCNICA EMPLEADA PARA EVALUAR	MODELO ANIMAL	RESULTADOS	AUTOR/AÑO
Crema tópica, AZO 1.6% en PG.	Aplicación dérmica a 21 sujetos, cuantificación en orina recobrada por radiomarcadores.	Humanos	AZO absorbió en cantidad mínima y se recuperó menos del 3%.	Allan 1995
Acetonida de triamcinolona 0.05% y AZO 1.6%, vaselina.	Evaluación del efecto terapéutico	Humanos con enfermedad tópica	Mejora notablemente la eficiencia de la triamcinolona	Wiechers <i>et al</i> 1989, 1990
Gel: Metotrexato 0.1, 0.5, o 1.0% y AZO 3%	Evaluación de la enfermedad y cuantificación en suero.	Humanos afectados	Se observa acción local. A promueve la penetración	Allan 1995
Se colocó una película de Flurbiprofeno en acetona, ésta última se evaporó y después se agregó Dimetilsorbide o PG o Solketal, luego se colocó DS + AZO 2%, o PG + AZO 2% o S + AZO 2%, para uno de los blancos la piel fue pretratada con acetona	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión.	Piel humana.	Todos aumentaron el flujo, excepto S + AZO	Akhter y Barry 1984
PG y AZO	DSC	Estrato córneo humano	PG + AZO es más efectivo que AZO sola.	Barry 1987
Tartrato de metoprolol y AZO, dispositivo transdermal iontoforético	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión y microscopía electrónica de barrido	Piel humana de cadáver	AZO aumenta el flujo 130 veces con la iontoforesis	Ganga <i>et al</i> 1996.
17-Benzoato de Betametasona y PG + AZO 2%, ó Dimetilformamida + AZO 2.5%	Estudios vasoconstricción y biodisponibilidad	Humanos	Ambos incrementan la vasoconstricción, solo PG+AZO la biodisp.	Bennet <i>et al</i> 1984
Melanotropina (tetrapéptido) y AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel humana ó en Piel de ratón lampiño	Promueve la penetración	Ruland <i>et al</i> 1994
Salicilato de sodio y AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Membranas con lípidos artificiales (miristato de isopropilo)	AZO forma pares iónicos con el salicilato promoviendo su transporte	Hadgraft <i>et al</i> 1985
5-Fluorouracilo, Cafeína, Ibuprofeno, Ácido Salicílico, Ácido Salicílico y Acetónido de Triamcinolona en PG, pretratamiento de la piel con AZO 0.4 M en PG	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de ratón lampiño	En todos los casos aumenta el flujo a través de la membrana	Phillips y Michniak 1995
Indometacina en etanol + AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de ratón	Se observó daño en piel	Akimoto <i>et al</i> 1996
AZO en etanol	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Mucosa bucal humana	Promueve la penetración	Turnen <i>et al</i> 1994
Metronidazol en etanol + AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Estrato córneo humano	Promueve la penetración	Hadgraft <i>et al</i> 1996
Testosterona, estradiol, progesterona, acetato de noretidrona en etanol absoluto + AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de cerdo	Promueve la penetración	Morgan <i>et al</i> 1998
Alcanos, ácidos alcanóicos, AZO y miristato de isopropilo para acelerar la liberación de nifedipina	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de rata lampiña	El flujo es 4 veces mayor en comparación con la vía oral	Squillante <i>et al</i> 1998

Hidrocortisona (0.03 M en PG), piel pretratada con 0.4 M de AZO en PG	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de ratón lampiño	AZO aumenta su penetración	Michniak <i>et al</i> 1998
Clorhidrato de morfina, transporte iontoforético con y sin AZO	<i>In vitro</i> por medio de celdas de difusión	Piel de rata lampiña	No incrementa el transporte iontoforético, pero si se requiere de menos corriente eléctrica	Numajiri <i>et al</i> 1998
Piel pretratada con AZO 3% en EtOH agregó Solución Saturada de Naproxeno	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión <i>Ex vivo</i> : Perfusión	<i>In vitro</i> : Piel abdominal de humano. <i>Ex vivo</i> : Arteria de la piel de oreja de Conejo	Promueve la penetración	Degim <i>et al</i> 1999
Piel pretratada con AZO 3% y 0.11% Tween20 en agua. Con cámara iontoforética, esta tiene maleato de timolol (0.1 o 1 mg/5ml) en el ánodo y buffer de H ₂ PO ₄ pH = 7.4	<i>In vitro</i> : Inducción de taquicardia y medición del sulfato de isoprelina inhibido por electrocardiograma	Conejos	Incrementa la liberación transdermal	Kanikkannan <i>et al</i> 2000
Piel pretratada con AZO 1 y 5%. Activos en Solución Saturada pH = 6: Antipirina, 5-Fluorouracilo, 2-Fenil etanol y 4-Fenil butanol	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión verticales	Piel de ratas Wistar	Promueve la penetración en proporción a la concentración	López <i>et al</i> 2000
12 mezclas de lípidos de piel se les adicionó AZO en varias concentraciones	Se midió el flujo del agua en un evaporimetro y la difacción rayos X	Mezcla de lípidos: Oleato de Na, palmitato de Na, ceramidas, colesterol, mezcla de ácidos grasos libres	Induce reducción flujo de agua y tiene efecto oclusivo	Norlen y Engblom 2000
Gel de 5-fluorouracilo en piel pretratada con AZO 1% en EtOH	Se midió el efecto de penetración por ultrasonido en celdas difusión	Piel de ratas Wistar	AZO sola aumenta la difusión mas que con ultrasonido, no así con calor pues la difusión es mayor en gel	Meidan <i>et al</i> 1999
Hidrogel de enoxacina con AZO la matriz: metilcelulosa y polivinilpirrolidona, iontoforesis	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión horizontales e <i>In vivo</i> por microdiálisis	Piel de ratas Wistar	↑ residuos de enoxacina en piel después agregar AZO a PVP igual <i>in vivo</i>	Jia-You Fang <i>et al</i> 1999
Solución y suspensión de ácido salicílico y salicilato de Na Piel pretratada con AZO en PG 0.5M	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión	Piel de Humano y Membrana de caucho silastic	Aumenta la permeación del AS a pH 4, y 7.2	Smith e Irwin 2000
Indometacina 1% en EtOH/pH 7.4 y piel pretratada con AZO 3% en EtOH W o PG W	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión Franz y examen histológico de la piel	Piel de ratón lampiño	AZO promueve la penetración, es mejor en PG/W	Jia-You Fang <i>et al</i> 2001
Solución Saturada de benazeprilo e hidrocortisona en PG, AZO se agregó concentración 3%	<i>In vitro</i> : Por medio de celdas de difusión Franz	Piel de ratón lampiño	AZO aumenta su penetración	Tenjarla <i>et al</i> 1999

Abreviaturas:

(DSC) Calorimetría Diferencial de Barrido, (AZO) Azona®, (PG) Propilenglicol, (DS) Dimetilisorbide, (S) Solketal, (W) Agua, (AS) Ácido Salicílico, (↑) Aumentar

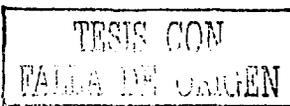


Tabla 4. Valores de Flujo obtenidos para diversos activos cuando se usa como promotor Azona^b

Fármaco	Modelo Membranal	Tratamiento o Formulación	J ($\mu\text{g}/\text{cm}^2 \text{ h}$)	Autor / Año
Aminoácido 9-desglicinamida,8-arginina vasopresina	Estrato córneo pretratado con promotor (0.15 M AZO en PG)	Control	1.34705 \pm 0.53374	Hoogstrate <i>et al</i> 1991*
		Propilenglicol	1.01664 \pm 0.20333	
		C14-Azona ^a	3.30408 \pm 0.22874	
		C12-Azona ^a	4.75279 \pm 0.4829	
		C10-Azona ^a	2.51618 \pm 0.1525	
		C8-Azona ^a	1.37246 \pm 0.1525	
		C6-Azona ^b	0.096581 \pm 0.050832	
5-Flouracilo en PG	Piel de ratón pretratada con el promotor Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	3.12 \pm 1.01	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	3.32 \pm 0.78	
		Pie pretratada con AZO	49.6 \pm 9.36	
Cafeina en PG	Piel de ratón pretratada con Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	0.563 \pm 0.065	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	0.67 \pm 0.18	
		Pie pretratada con AZO	4.22 \pm 0.944	
Ibuprofeno en PG	Piel de ratón pretratada con Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	95.4 \pm 13.71	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	90.6 \pm 10.3	
		Pie pretratada con AZO	108 \pm 8.5	
Acido Salicílico en PG	Piel de ratón pretratada con Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	88.4 \pm 17.0	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	79.5 \pm 13.0	
		Pie pretratada con AZO	331 \pm 47.9	
Acido Salicílico en PG	Piel de ratón pretratada con Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	118 \pm 26.7	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	70.1 \pm 10.5	
		Pie pretratada con AZO	93.0 \pm 4.2	
Acetonida de Triamcinolona en PG	Piel de ratón pretratada con Azona ^a , (0.4 M en PG) o con el control	Piel pretratada con Metanol	0.077 \pm 0.011	Phillips y Michniak 1995
		Piel pretratada con Metanol en PG	0.07 \pm 0.001	
		Pie pretratada con AZO	1.25 \pm 5.66	
Metoprolol	Epidermis humana pretratada con Azona ^a	Control	10.39 \pm 3.17	Ganga <i>et al</i> 1996
		Flujo del fármaco con el pretratamiento	83.47 \pm 10.2	
Fluibiprofeno depositado en película	Piel humana	Control: Película con Acetona, se evapora y se agrega fármaco	3.9	Akhter y Barry 1984
		Película con fármaco se le agrega Dimetilsorbide	3.7	
		Película con fármaco se le agrega Dimetilsorbide + Azona ^a	6.2	
Fluibiprofeno depositado en película	Piel humana	Control: Película con Acetona, se evapora y se agrega fármaco	17	Akhter y Barry 1984
		Película con fármaco se le agrega Propilenglicol	27	

Fluibiprofeno depositado en película	Piel humana	Película con fármaco se le agrega Propilenglicol + Azona*	56	Akhter y Barry 1984
		Control: Película con Acetona, se evapora y se agrega fármaco	11	
		Película con fármaco se le agrega Solketal	9.4	
5-Fluorouracilo	Piel de rata Wistar	Película con fármaco se le agrega Solketal - Azona*	4.2	Meidan <i>et al</i> 1999*
		Control	5.4642×10^{-3}	
		AZO en EtOH 1%	2.3938×10^{-4}	
Suspensión saturada de Acido Salicílico pH donador = 4.04 pH receptor = 3.40	Piel de Humano	Control	88.384 ± 11.048	Smith e Irwin 2000*
		PG	89.765 ± 4.557	
		AZO en PG 0.5 M	146.386 ± 2.900	
Suspensión saturada de Acido Salicílico pH donador = 4.04 pH receptor = 7.22	Piel de Humano	Control	89.765 ± 22.510	Smith e Irwin 2000*
		PG	109.099 ± 1.933	
		AZO en PG 0.5 M	226.484 ± 21.405	
Indometacina 1% en EtOH/pH 7.4	Piel de ratón lampiño	Control EtOH / Agua (1:1)	15.47 ± 4.13	Jia-You Fang <i>et al</i> 2001
		AZO 3% en EtOH / Agua (1:1)	69.32 ± 11.35	
Benzepiril	Piel de ratón lampiño	Control	10.9 ± 1.8	Tenjarla <i>et al</i> 1999
		AZO en PG 3%	500.6 ± 89	
Hidrocortizona	Piel de ratón lampiño	Control	2.7 ± 1.1	Tenjarla S. 1999
		AZO en PG 3%	59.6 ± 11.1	
Melanotropina (Hisetal)	Piel de ratón lampiño	Control	0.22	Ruland <i>et al</i> 1994 *
		AZO en PG 3%	1.8172 ± 0.0242	
		AZO en PG 5%	3.982 ± 0.176	
Melanotropina (Hisetal)	Piel de humano	Control	0.04275	Ruland <i>et al</i> 1994 *
		Piel pretratada con AZO en PG 5%	0.17014 ± 0.0252	
		AZO incluida en la formulación con el fármaco	0.14075 ± 0.0425	
Naproxeno	Piel humana abdominal	Control	1.07 ± 0.03	Degim <i>et al</i> 1999
		AZO 3% en EtOH	2.84 ± 0.11	
Naproxeno	Oreja de Conejo	Control	0.34 ± 0.03	Degim <i>et al</i> 1999
		AZO 3% en EtOH	1.51 ± 0.04	
Terbutalina	Piel de Conejo	Control	8.3 ± 2.3	Tenjarla <i>et al</i> 1996
		Azona ^s 3%	28.5 ± 6.2	
Terbutalina	Piel de cerdo de Guinea	Control	7.7 ± 1.9	Tenjarla <i>et al</i> 1996
		Azona ^s 3%	56.1 ± 6.6	
Terbutalina	Piel de humano completa	Control	0.6 ± 0.1	Tenjarla <i>et al</i> 1996
		Azona ^s 3%	3.6 ± 0.8	
Terbutalina	Epidermis de Humano	Control	1.6 ± 0.4	Tenjarla <i>et al</i> 1996
		Azona ^s 3%	6.5 ± 1.8	

Dihidroergotamina	Piel de humano	Control: Fármaco en PG	0.045 ± 0.013	Niazy 1996
		Formulación: Fármaco/PG/ AZO 6%	2.455 ± 0.203	
Dihidroergotamina	Piel de Rata	Control: Fármaco en PG	0.270 ± 0.026	Niazy 1996
		Formulación: Fármaco/PG/ AZO 6%	11.343 ± 1.117	
Dihidroergotamina	Piel de Cerdo de Guinea	Control: Fármaco en PG	0.395 ± 0.042	Niazy 1996
		Formulación: Fármaco/PG/ AZO 6%	7.927 ± 0.569	
Dihidroergotamina	Piel de Conejo	Control: Fármaco en PG	0.128 ± 0.021	Niazy 1996
		Formulación: Fármaco/PG/ AZO 6%	32.188 ± 2.757	
Dihidroergotamina	Piel de ratón lampiño	Control: Fármaco en PG	10.035 ± 1.177	Niazy 1996
		Formulación: Fármaco/PG/ AZO 6%	144.887 ± 23.516	
Atropina	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	92.8877 ± 23.728	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Sulfato de atropina H ₂ O	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	31.9631 ± 7.643	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Mesilato de benzotropina	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	86.7611 ± 9.685	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Dexitimida HCl	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	23.5097 ± 13.946	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Oxifenciclimina HCl	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	20.9247 ± 11.794	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Scopolamina HBr 3H ₂ O	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	27.7160 ± 15.448	Bosman <i>et al</i> 1998 *
Tropicamida	Piel de Cerdo	Formulación: Buffer Fosfatos pH = 7.4, EtOH, PG, y AZO	36.920 ± 23.856	Bosman <i>et al</i> 1998 *

Abreviaturas: (PG) Propilenglicol, (C6) Cadena alquímica de 6 carbonos, (C8) Cadena alquímica de 8 carbonos, (C10) Cadena alquímica de 10 carbonos, (C12)

Cadena alquímica de 12 carbonos, (C14) Cadena alquímica de 14 carbonos, (AZO) Azona[®], (EtOH) Etanol

* Calculados a partir de datos proporcionados en el Artículo

TESIS CON
VALOR DE ORIGEN

2.3.4 4-Deciloxazolidin-2-ona (Dermac[®])

Características generales

El Dermac[®] es una oxazolidona, su estructura se muestra en la figura 16, cuyo nombre científico es 4-deciloxazolidin-2-ona, fue sintetizada por Pharmetrix y fue llamado "SR-38", con el fin de promover la absorción cutánea, es un sólido blanco e inoloro, su peso molecular es de 227.34 g/mol, cuyo punto de fusión se encuentra en el rango de 32 – 35° C y su punto de ebullición es de 170° C a una presión de 0.2 mm Hg. A 25° C es estable; sin embargo es preferible almacenarlo en refrigeración (a 4°C ó menos). Es soluble en vehículos lipofílicos y es prácticamente insoluble en agua (menos del 1% en peso). En la figura 17 se muestra la distribución de las cargas del Dermac[®].

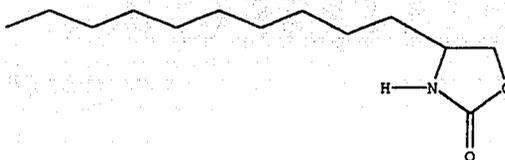


Fig. 16 Dermac[®]

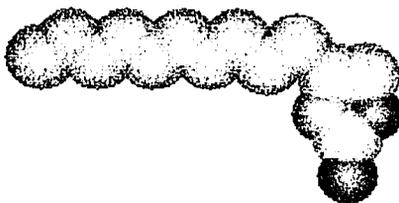


Fig. 17. Distribución de las cargas del Dermac[®]

Aun no hay muchos estudios reportados acerca del mecanismo de acción del Dermac[®], sin embargo en los últimos estudios realizados en éste laboratorio se ha observado en ciertos casos

un efecto retardador, lo cual se discutirá con más detalle en la sección de "Resultados y Discusión".

Hadgraft en 1996 probó algunos análogos de la Azona[®] y en particular dos de estos análogos tiene semejanza molecular con el Dermac[®], el N-0915, el cual tiene un grupo carbonilo en su cadena alquílica y que se le atribuye un efecto retardador y el N-0131 que no posee cadena alquílica, y no presentó un efecto ni como promotor, ni como retardador al realizar una cinética de permeación por 48 horas usando como fármaco el metronidazol.

A continuación se mencionan otros análogos de la Azona, reportados por la literatura, aunque es necesario hacer hincapié en que no son el objeto de estudio de este trabajo.

Otros análogos de Azona[®]

Muchos compuestos se han sintetizado a partir de la Azona[®] con el fin de comparar y mejorar sus propiedades, lo que ha dado lugar a una gran cantidad de análogos. A continuación se mencionan algunos de los que reporta Michnlak B. (1995)

A) Derivados de lauramida hexametileno (hexahidro-1-lauroil-1H-azepina)

En general todas las amidas muestran un incremento de penetración en grados variables, dependiendo el modelo y fármaco usado. Comúnmente grandes anillos y largas cadenas tienen un efecto promotor. En la figura 18 se muestran algunos de estos compuestos tales como la lauramida hexametileno (2) y algunas aminas cíclicas y hexahidro-1H- pirrolidonas, piperidinas y pirrolidonas [Mirejovsky y Takruri, 1986].

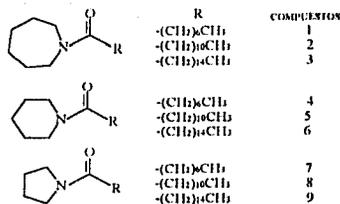


Fig. 18 Derivados de hexahidro-1H-azepina, piperidina y pirrolidona, [Mirejovsky y Takruri, 1986].

B) Derivados de Azaciclo alcanona

Okamoto y colaboradores (1998) estudiaron análogos de azaciclo alcanona con anillos de 5, 6 y 7 miembros usando piel de cobayos *in vitro* y 6-mercaptopurina como fármaco modelo. Los promotores estudiados, se muestran en la figura 19 e incluyen: 1-geranilazacicloheptan-2-ona (10), 1-farnesilazacicloheptan-2-ona (11), 1-geranilgeranilazacicloheptan-2-ona (12), 1-(3,7-dimetiloctil)-azacicloheptan-2-ona (13), 1-(3,7,11-trimetildodecilazacicloheptan-2-ona) (14), 1-geranilazaciclohexan-2-ona (15), 1-geranilgeranilazaciclohexan-2-ona (16), 1-geranilazacicloheptan-2,5-diona (17), 1-farnesilazacicloheptan-2-ona (18).

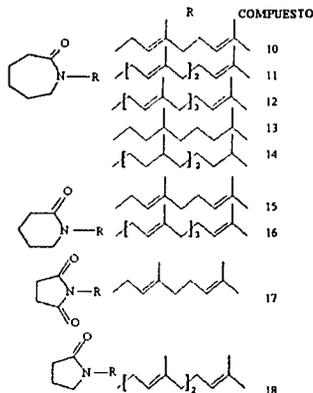


Fig. 19 Derivados de 1-alkil y 1-alkenilazacicloalcanos [Okamoto, 1998].

Cabe señalar que los compuestos 13, 16 y la misma Azona[®] muestran irritación primaria, señales de eritema y edema después de una aplicación de 24 horas con 100% del promotor. Cadenas hidrocarbonadas muy largas (C₂₀ o más) son menos efectivas. Un incremento en el número de grupos carbonilo en el anillo también causan una reducción en la actividad. No se encontró relación entre el tamaño del anillo y la actividad.

La Figura 20 muestra otros derivados de lactámicos de la Azona[®], con propiedades promotoras también.

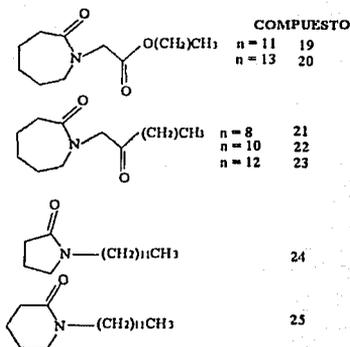


Fig. 20 Derivados lactámicos de la Azona[®] [Okamoto *et al*, 1986]

C) Derivados de ciclohexanona

La absorción de fármacos tiene un incremento significativo al emplear los compuestos que se muestran en la figura 21, tales como la 2,6-dimetilciclohexanona (28), 2-butilciclohexanona (29) y el 4-t-butilciclohexanona (30), y se observa un efecto pequeño con ciclohexanona y análogos 2-metil (26) y 3-metil (27). En general los derivados dimetilados son más efectivos que los derivados metilados [Akitoshi *et al*, 1988].

Para este tipo de derivados se observa un incremento en el efecto promotor al aumentar la longitud de la cadena hidrocarbonada, alcanzando un máximo, para posteriormente disminuir, siendo el más efectivo el 2-N-octilciclohexano (33). Esta conducta fue reportada para otros promotores alcanos, ácidos alcanóicos y ácidos grasos saturados.

Diversos autores concluyen que los derivados de ciclohexanona ejercen su incremento por fluidez y modificación de la barrera hidrofóbica del estrato córneo.

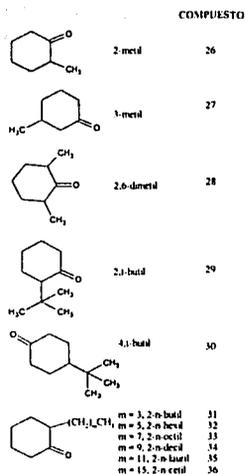


Fig. 21 Derivados de ciclohexanona y 2-n-alcil ciclohexanona [Akitoshi *et al*, 1988]

D) Otros derivados

Muchos azacicloalcanos fueron patentados en 1992 por Minaskanian y Peck como promotores transdermales, tal es el caso de 1-N-dodecilazaciclohept-3-en-2-ona, 1-N-dodecilazaciclohept-4-

en-2-ona, 1-N-dodecil-3-metilaziclohept-3-en-2-ona, etc., todos son recomendados para ser usados en diferentes formulaciones en una concentración entre 1 y 10%. Michniak y colaboradores (1993), seleccionaron algunos compuestos análogos de la Azona[®] para medir su acción promotora (Fig. 22) el que muestra la mayor potencia es el compuesto 37. Bonina (1991) reportaron otros derivados del éster 1-alkilazicloalcan-2-ona de indometacina, mostrando el efecto promotor mayor el compuesto 56 (Fig 23).

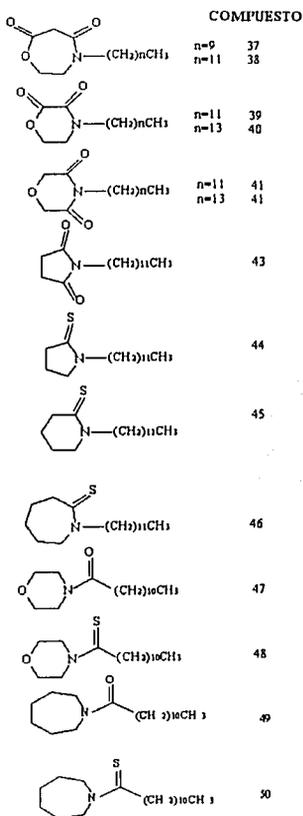
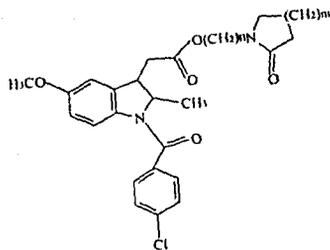


Fig. 22 Análogos de Azona[®] [Michniak *et al*, 1993].



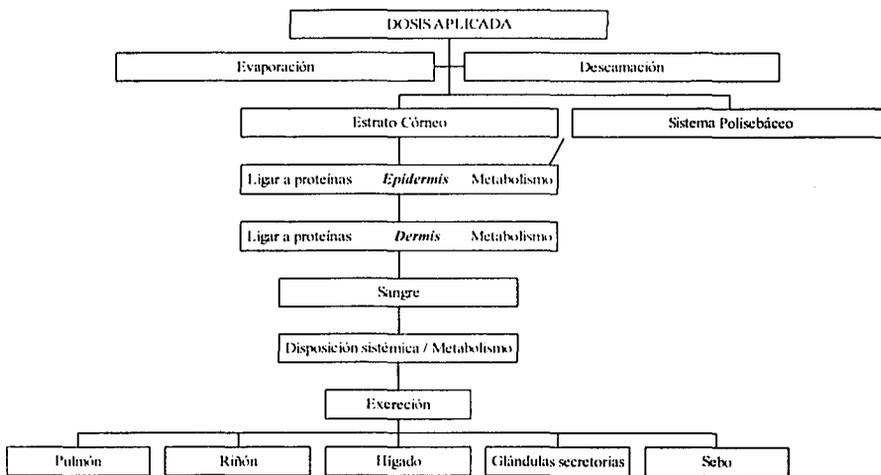
n=1;	n=1	51
n=1;	n=2	52
n=1;	n=3	53
n=1;	n=4	54
n=2;	n=1	55
n=2;	n=2	56
n=2;	n=3	57
n=2;	n=4	58

Fig. 23 Esteres 1-alkilazacicloalcan-2-ona de indometacina [Bonina *et al*, 1991].

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4 MÉTODOS PARA CUANTIFICAR FÁRMACOS A TRAVÉS DE LA PIEL

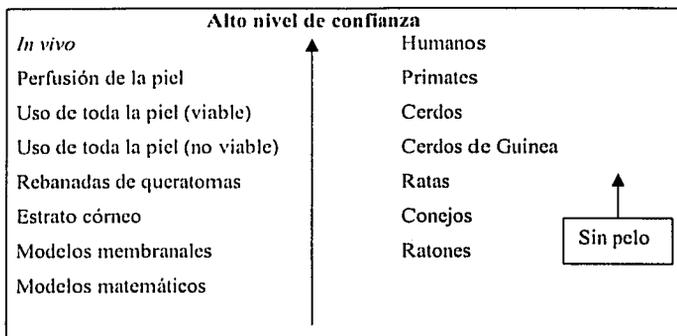
La cuantificación de activos en la piel es esencial para la investigación de los medicamentos administrados vía tópica y transdérmica, no obstante antes de estudiar estas técnicas es necesario recordar que al administrar un xenobiótico vía transdérmica primero penetra el estrato córneo, luego pasa a tejido viable y llega a circulación sistémica (Esquema 3), este mecanismo se lleva a cabo por difusión pasiva (excepto en los casos que se usen promotores de absorción (físicos) y que cierta cantidad de activo se acumula en la piel.



Esquema 3. Modelo General de Absorción a través de piel [Modificado de Howes, 1994]

Como podemos observar las interacciones que ocurren durante el movimiento de las moléculas desde el estrato córneo hacia circulación sistémica son muy complejas; por lo cual existen numerosos modelos que intentan representar y medir (cualitativa y cuantitativamente) este fenómeno ya sea *in vitro* o *in vivo*.

El Esquema 4 muestra los diferentes métodos para medir la absorción percutánea basándose en una jerarquía fisiológica.



Esquema 4. Métodos para medir la absorción percutánea [Howes *et al*, 1994]

Modelos matemáticos de penetración en piel

Un modelo general de absorción es el indicado en el esquema 3; sin embargo es difícil tener los datos suficientes para que pueda cuantificarse la contribución individual de cada compartimiento a todo el proceso. Por lo que algunos autores han estudiado algunos parámetros fisicoquímicos y la permeabilidad de la piel [Kasting *et al*, 1987, Potts *et al*, 1990, Flynn, 1990] encontrando relación entre el coeficiente de permeabilidad, K_p , el coeficiente de partición octanol / agua, K_{oct} , y el peso molecular (MW) de la molécula permeada, cuando se coloca sin promotor, según la siguiente ecuación:

$$\log K_p = -2.7 + 0.71 \log K_{oct} - 0.0061 MW \quad \text{Ec. 4}$$

$$(r^2 = 0.67)$$

Se han desarrollado otros modelos matemáticos donde se consideran más parámetros fisicoquímicos de las moléculas o incluso la contribución por separado de ellas considerando los promotores, interacciones entre ceramidas y activos, etc.

Ensayos *in vivo* para medir la absorción percutánea

Para estos estudios se han usado ratones, ratas y conejos, que sobretodo son muy útiles en estudios de toxicidad, aunque su piel presenta una mayor permeación que los humanos. Los cerdos y monos presentan mayor similitud con la piel humana, e incluso se realizan estudios en seres humanos (claro que para estos últimos empleando técnicas no invasivas.) A continuación se describen las técnicas más comunes que se usan para los estudios *in vivo*, no obstante es necesario mencionar que algunas de estas técnicas también se pueden usar *in vitro*.

Tape Stripping

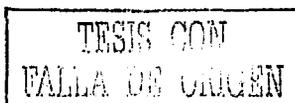
El "tape stripping" como su nombre en inglés lo indica, consiste en ir retirando consecutivamente, capas de estrato córneo, utilizando para ello una cinta adhesiva (en promedio 20 veces). El supuesto es que, en cada cinta se retira una capa de estrato córneo. La cuantificación de la sustancia de interés se realiza posteriormente mediante un método analítico adecuado, para que, finalmente, por un análisis matemático, determinar que tanto penetró. De esta manera el "tape stripping" permite conocer el grado de penetración y la concentración de un activo a través del estrato córneo. El "tape stripping" se puede usar tanto *in vivo* como *in vitro*.

Marcadores radioactivos

En esta técnica se administra (vía tópica y/o parenteral) el activo marcado con una sustancia radioactiva (C^{14} o tritio) [Howes *et al*, 1994] y se cuantifica la cantidad total excretada por heces y orina, también es posible cuantificar la cantidad de sustancia remanente en la piel mediante la técnica de "tape stripping".

Recuperación del fármaco en la superficie de la piel

En este caso se aplica el xenobiótico a estudiar en la piel, después de cierto tiempo (de 30 a 60 minutos aproximadamente) se retira la formulación y se cuantifica la cantidad remanente, finalmente por diferencia de la dosis aplicada menos la dosis residual se obtiene la dosis penetrada.



Evaluación de un efecto biológico o farmacológico

En este caso se aplica el activo y se evalúa su efecto, tal es el caso de algunos corticosteroides, que producen vasoconstricción, por lo que al aplicarse la piel se ve más clara. Se asigna una escala arbitraria, por ejemplo de 1 a 4 (donde 4 es el máximo efecto) y se observa, por lo menos en tres personas distintas.

Autoradiografía

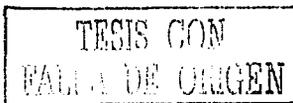
En esta técnica se conoce la distribución espacial de sustancias marcadas con un isótopo, mediante un software, se puede conocer la concentración en los folículos pilosos, glándulas y varias capas de la piel; se pueden seguir los autoradiogramas de 4 a 7 semanas, o medir por un contador de centelleo [Touitou *et al*, 1998], También, si el principio activo es fluorescente se pueden sacar radiografías de la zona donde se aplicó la formulación y así saber en donde se encuentra el activo.

Biopsia de la piel

Se puede realizar colocando una película adhesiva de cianoacrilato en la piel que polimeriza y al retirarlo se desprende el estrato córneo y se calcula cuanto principio activo penetró en el estrato córneo. Otra forma de hacerlo es marcar cierta área de la piel y succionar mediante vacío por lo que se separa la dermis de la epidermis y entre ellas se acumula líquido linfático, dando la apariencia de formación de "blisters" o ampollas, la cantidad de activo se cuantifica tanto en el líquido linfático, la epidermis y la dermis.

Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada (FTIR/ATR)

Diversos autores [Takeuchi *et al*, 1992; Higo *et al*, 1993; Watkinson *et al*, 1994; Piro *et al*, 1997; Potts *et al*, 1997; Touitou *et al*, 1998 y Moser *et al*, 2001] han reportado estudios por este método, se basa fundamentalmente en que las moléculas absorben energía infrarroja a ciertas



frecuencias específicas para cada grupo funcional lo que en el estrato córneo corresponde a los componentes de la membrana, observándose un espectro de absorción característico. Cuando se aplica cierta sustancia en la piel este espectro se ve modificado, por lo que se puede evaluar el efecto causado por la formulación al estrato córneo. También se puede cuantificar la penetración de algunas sustancias (por ejemplo 4-cianofenol o alguna otra que presente absorción en una frecuencia distinta a las observadas con el estrato córneo) para evaluar el efecto de los promotores de absorción. Esta técnica se puede complementar con otras, en particular con la técnica del "tape stripping" [Touitou *et al*, 1998].

Ensayos *in vitro* para medir la absorción percutánea

La absorción percutánea puede estudiarse mediante técnicas *in vitro*, además cuando se ha realizado una correlación *in vitro* – *in vivo* y se ha validado correctamente el método, pueden sustituir a los estudios con animales. Por otra parte como ya se mencionó anteriormente, algunas de las técnicas empleadas *in vivo* también son usadas *in vitro*, tal es el caso del "tape stripping" y FTIR/ATR. No obstante una de las técnicas más empleadas es el uso de celdas de difusión, que a continuación se describe.

Celdas de difusión

Las celdas de difusión clásicas consisten en un compartimiento 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 24 muestra las celdas verticales tipo Franz, aunque también existen en el mercado celdas horizontales. La cantidad de fármaco permeado del compartimiento 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. *Tipo de membrana:* Como es de suponerse la mejor membrana es la piel de humano, ya sea de una persona viva (obtenida de una cirugía plástica por ejemplo) o de un cadáver (sin embargo se ha observado que cambian las propiedades de barrera

de la piel y la actividad metabólica casi desaparece [Howes *et al*, 1994]). 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], además es fácil de conseguir. La piel de ratón, rata y cerdos de guinea también es común que se use en este tipo de ensayos; sin embargo generalmente muestran una permeabilidad superior [Monser *et al*, 2001]. *Compartimiento receptor*: En este compartimiento 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 5 muestra la información requerida para evaluar la absorción percutánea *in vitro*.

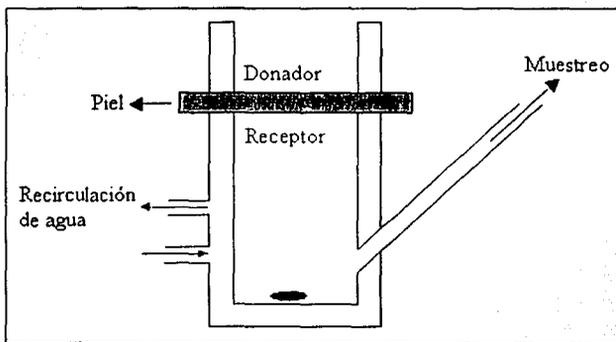


Fig. 24 Celda de difusión vertical tipo Franz.

Tabla 5. Información requerida para evaluar la absorción percutánea *in vitro* ^[Howes *et al.*, 1994]

Parámetros	Detalles Requeridos
Ensayos 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 compartimiento 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 compartimientos donador y receptor, muestras y enjuagues de la piel
Resultados	Tablas que muestren los datos de las celdas individualmente (mediante apéndices), 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 válidas para el estado estacionario.

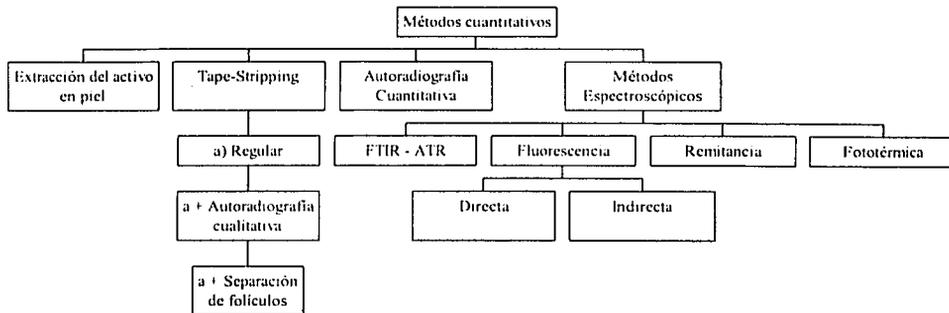
Modelo de aislamiento y perfusión de la piel

En este sistema se consideran la mayoría de los procesos metabólicos y funciones normales de la piel, tal y como si fuera *in vivo*, [Walters *et al.*, 1998] se realiza tomando piel del abdomen del cerdo (o animal con el que se realice el ensayo), se cose la piel conectando venas y arterias de tal forma que se tiene un tubo, posteriormente se coloca un sistema de oxigenación de venas y arterias (O₂ al 0.5%) con agitación y anticoagulante, se aplica la sustancia a estudiar y se procede a la cuantificación en el medio (que sería la sangre). Además se colocan sensores de presión, pH y se alimenta con glucosa y albúmina. Se debe agregar un antibiótico para evitar el crecimiento de microorganismos.

Otras técnicas

Existen muchas otras técnicas no solo para medir la absorción percutánea, sino también para medir la concentración del principio activo en la piel, por ejemplo, una vez realizada la

permeación mediante celdas de difusión se puede extraer el principio activo que quedó retenido en la piel con un disolvente apropiado; entre los métodos espectroscópicos no solo se encuentra FTIR/ATR también están los métodos fluorescentes, remitanancia, fototérmicos, etc. El esquema 5 resume algunos de estos métodos.



Esquema 5. Diferentes técnicas disponibles para la cuantificación de fármacos en la piel [Touitou *et al.*, 1998]

Otra opción es medir el efecto que produce la aplicación de la sustancia a estudiar en la piel, mediante la evaluación de alguna característica de la barrera, tal es el caso de cuantificar la *perdida de agua transepidérmica* (TEWL, de sus siglas en inglés Transepidermal Water Loss) recordando que una de las funciones del estrato córneo es evitar la pérdida de agua, aunque de manera natural se evapora cierta cantidad (de 8 a 12 g/h m²), al colocar un promotor de absorción se espera que estos valores aumenten. Otras propiedades son el pH de la piel que se evalúa con un electrodo especial para esta función o mediante un corneómetro se pueden evaluar las características físicas del estrato córneo, el posible daño o alteración sufridos por la membrana puede determinarse mediante microscopía electrónica de barrido, etc.

2.5 UNA MEMBRANA NO QUERATINIZADA: LA MUCOSA BUCAL

La piel es solo una de las diferentes membranas por las que se administran fármacos; las vías nasal, ocular, intravaginal y bucal son otras alternativas; estas vías se eligen según el efecto deseado.

Esta sección está enfocada a la mucosa bucal, ya que tiene una conformación histológica muy parecida a la piel; no obstante se deben recordar algunos conceptos generales para la mejor comprensión de este trabajo.

En los seres humanos, la boca es parte integral de la digestión, el habla y la respiración. La comida entra en la boca y es triturada por los dientes (digestión mecánica) y por las enzimas secretadas por las tres glándulas salivares (digestión química). Junto con la lengua y la cavidad nasal, la boca modifica las ondas sonoras que se originan en la laringe para producir los sonidos del habla. El aire se inhala y se exhala a través de la cavidad oral y de la cavidad nasal [Encarta, 2000].

La boca está formada por dos cavidades: la cavidad bucal, entre los labios y mejillas y el frontal de los dientes, y la cavidad oral, entre la parte interior de los dientes y la faringe. Las glándulas salivares parótidas vierten su contenido en la cavidad bucal y las demás glándulas salivares en la cavidad oral. El paladar de la cavidad oral es de hueso, es duro en la parte frontal y fibroso y más blando en la parte posterior. El cielo de la boca termina por detrás, a la altura de la faringe, en varios pliegues sueltos y membranosos (Fig. 25) [Encarta, 2000].

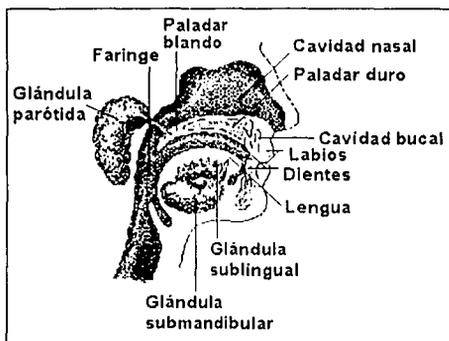


Fig. 25. La boca [Encarta, 2000]

La cavidad bucal, específicamente la zona de las mejillas, es el objeto de nuestro estudio, ya que su composición es muy similar a la piel; sin embargo a diferencia de ésta, la mucosa bucal no está queratinizada y los lípidos de esta membrana están formados en su mayoría por fosfolípidos (a diferencia del estrato córneo que no contiene fosfolípidos), glicosilceramidas, colesterol, triglicéridos y en menor cantidad por ésteres de colesterol y ceramidas; lo que hace a la mucosa bucal mucho más permeable que la piel. La figura 26 representa los estratos que conforman la mucosa bucal.

Los medicamentos administrados en sistemas bucales pueden ser de acción local, como los enjuagues bucales y sprays, o de acción sistémica, tales como, comprimidos bioadhesivos, parches, películas, micro y nanocéficas, etc.

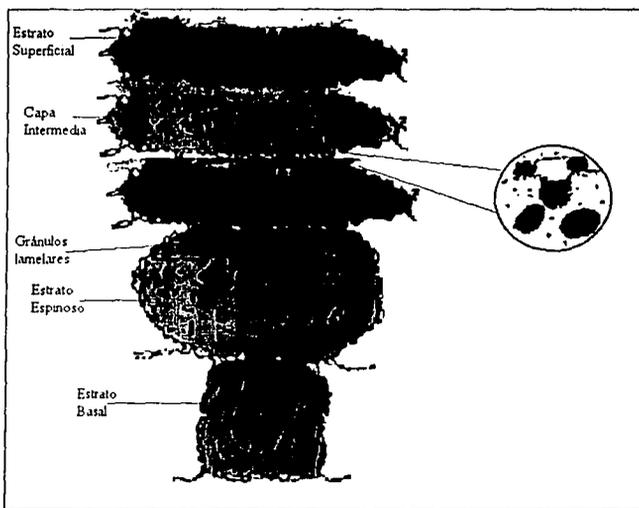
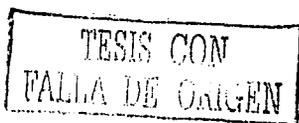


Fig. 26 Representación celular de los estratos del epitelio no queratinizado con organelos
 [Rosendo, 1999 y Rathbone, 1996]

3. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Dada la evidente importancia del uso de los "promotores de absorción químicos" en los medicamentos transdérmicos, debido a que sin su ayuda sería casi imposible el paso de la mayoría de los fármacos ya sean de origen químico o biotecnológico, en este trabajo se estudia el efecto de la Azona[®] (laurocapram), un conocido promotor, y del Dermac[®] (4-deciloazolidin-2-ona), un "promotor" nuevo sintetizado por Pharmetrix. El efecto de ambos promotores se evalúa tanto a nivel molecular (mediante estudios de FTIR/ATR *in vivo*) como a nivel macromolecular por medio de estudios de Pérdida de Agua Transepidermal. Además se compara el transporte pasivo de tres fármacos (con diferente lipofilia) a través de la piel y de una membrana no queratinizada (mucosa bucal), ambas tratados con estos dos promotores de absorción. Todo esto se realizó basándose en los siguientes supuestos o hipótesis:

- ✓ Debido a que tanto Azona[®] como Dermac[®] alteran la barrera de permeabilidad de la piel, la Pérdida de Agua Transepidermal [TEWL] aumentará después de que se hayan aplicado *in vivo*.
- ✓ En lo que se refiere a estudios con FTIR/ATR *in vivo*, un desplazamiento hacia frecuencias mayores de los picos correspondientes a los lípidos del estrato córneo, indicaría que el Dermac[®] interacciona con la bicapa fluidizando los lípidos, tal y como ha sucedido en estudios similares realizados por otros investigadores con Azona[®] [Harrison *et al*, 1996].
- ✓ Con respecto al estudio de permeación *in vitro* de tres fármacos con diferente lipofilia y con base a los estudios realizados previamente en este laboratorio [Acevedo y Rosendo, 1999] se espera que el Dermac[®] sea un efectivo promotor para fármacos muy lipofílicos ($\log P \geq 2$) y que no sea tan efectivo con los fármacos medianamente lipofílicos ($1 \leq \log P < 2$) ni con los hidrofílicos ($\log P < 1$), pudiendo presentar en estos casos un efecto "retardador". En el caso de la Azona[®] se espera un efecto promotor para todos los activos estudiados



4. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la acción moduladora del Dermac[®] sobre la barrera de permeabilidad de la piel, mediante las técnicas de FTIR/ATR y TEWL *in vivo*, así como mediante estudios de permeación *in vitro* y compararlo con la Azona[®].

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Estudiar el efecto del Dermac[®] (puro y disuelto en propilenglicol, Transcutol[®] y etanol) sobre la barrera de permeabilidad de la piel mediante estudios de pérdida de agua transepidermal *in vivo* y compararlo con el de la Azona[®] en las mismas condiciones.
2. Determinar la interacción del Dermac[®] (puro y disuelto en propilenglicol, Transcutol[®] y etanol) con los lípidos del estrato córneo mediante la espectroscopía de infrarrojo por transformadas de Fourier a través de reflectancia total atenuada *in vivo*.
3. Con base en los resultados obtenidos de los estudios anteriores seleccionar el mejor disolvente para realizar los estudios de permeación.
4. Evaluar el efecto de la Azona[®] y Dermac[®] sobre el flujo de tres principios activos con diferente grado de lipofilia (acetaminofén, ácido salicílico y lidocaína) a través de piel (membrana queratinizada) y mucosa bucal (membrana no queratinizada) mediante estudios de penetración *in vitro* en celdas tipo Franz.
5. Comparar y discutir los resultados con los reportados en la literatura y con los obtenidos previamente en el laboratorio.
6. Establecer la correlación Estructura Química (interacciones químicas entre promotor y fármaco) y Actividad Biológica (factores de promoción obtenidos en los estudios de permeabilidad *in vitro*).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5. METODOLOGÍA

5.1 MATERIALES

5.1.1 Reactivos

Este trabajo de investigación se realizó con reactivos grado analítico (que cumplen especificaciones ACS) y son los siguientes:

- Azona[®] (Whitby Research, Inc.-Richmond, USA)
- Dermac[®] (donado por Pharmetrix, USA)
- Propilenglicol (Gattefossé, Francia)
- Transeutol[®] (Gattefossé, donado por Multiquim, México)
- Etanol (Fermont, México)
- Acetona (Fermont, México)
- Metanol (Fermont, México)
- 1-Butanol (Fermont, México)
- Ácido Acético (Fermont, México)
- Cloroformo (Fermont, México)
- Acetaminofén (Donado por Helm, México)
- Ácido Salicílico (Sigma, Taiwán)
- Lidocaína (Sigma, Taiwán)

5.1.2 Equipos

1. Tewameter TM 210, Courage+Khazaka, (Alemania).
2. Infrarrojo por transformadas de Fourier, con celdas de ATR. FTIR-8300. Contiene un cristal ATR de forma trapezoidal de 80 x 10 x 4 mm, con un ángulo de corte de 45°, una resolución de 1 y la sensibilidad del aparato de 0.1 unidades. (Shimadzu, Japón).
3. Aplicador automático III Versión 2.12 para cromatografía en capa fina de alta resolución (CAMAG, Suiza).
4. Scanner 3 y software CATS Versión 4.06 para cromatografía en capa fina de alta resolución (CAMAG, Suiza).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.1.3 Material Biológico

Los estudios de transporte de Acetaminofén, Ácido Salicílico y Lidocaína, usando como promotores de absorción Dermac y Azona, se han realizado mediante estudios de permeación *in vitro*, para lo cual se ha empleado piel de oreja de cerdo y mucosa bucal de cerdo, obtenidos de animales recién sacrificados en el rastro, evitando el paso por vapor ó agua caliente, para mantener íntegras ambas membranas biológicas. Estas se separaron con bisturi y se guardaron en congelación a -40°C , no más de 15 días. Antes de la permeación las membranas se descongelaron y rehidrataron por una hora.

En lo que se refiere a los voluntarios, para los estudios *in vivo*, fueron hombres y mujeres entre 20 y 30 años de edad, sin enfermedad alguna y sin antecedentes de alergias o patologías en piel, que no se hayan aplicado algún medicamento o cosmético 24 horas antes del estudio.

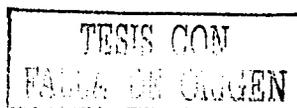
Los estudios se realizaron con previo consentimiento escrito de los voluntarios, a los que se les dio a conocer previamente el protocolo.

5.2 MÉTODOS

5.2.1 *In vivo*

5.2.1.1 Selección de voluntarios y tratamiento de la piel

Como se mencionó antes, para realizar este estudio se seleccionaron seis voluntarios de ambos sexos, entre 20 y 30 años de edad, sanos, sin haberse aplicado algún medicamento o cosmético, 24 horas antes del estudio, a los que se les dió a conocer previamente el protocolo. Para la medida de TEWL se cuidó que los sujetos no hubieran realizado ninguna actividad física y que permanecieran en reposo algunos minutos antes del estudio, debido a que la transpiración natural debida al ejercicio podría causar alteraciones en los resultados.



Momentos antes del estudio, se limpió completamente el antebrazo (área de la piel donde se aplicaría la formulación) con una gasa húmeda y se secó suavemente con algodón, tal y como se muestra en la figura 27.



Fig. 27 Tratamiento del antebrazo antes del estudio

Una vez que el antebrazo ha sido secado, se coloca un papel filtro en la piel, con la formulación a estudiar (figura 28) ó para el caso del blanco sin formulación alguna. La finalidad de colocar la formulación en el papel filtro es evitar derrames, ya que todas las sustancias estudiadas son líquidas. En las siguientes secciones se describe con más detalle esta etapa.



Fig. 28 Representación de la forma de colocar la formulación en el papel filtro

Ya que se ha colocado esta formulación se cubre el antebrazo con un material autoadherible, por lo que se mantienen condiciones oclusivas (figura 29).



Fig. 29 Colocación del material autoadherible

Después de una hora de contacto se retira la formulación y se limpia esta zona con una gasa húmeda, nuevamente se seca completamente y se procede a realizar la medición correspondiente (figura 30) aproximadamente cinco minutos después de que ha sido quitada.

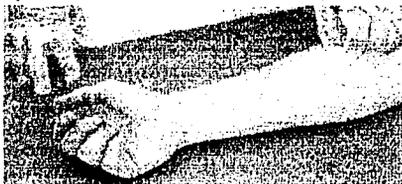


Fig. 30 Retirar la formulación y limpiar esta zona

5.2.1.2 Pérdida de Agua Transepidermal

La evaluación de la Pérdida de Agua Transepidermal se realiza mediante una técnica instrumental que permite evaluar de forma cuantitativa el gradiente de presión de vapor entre la superficie de la piel y el aire ambiental (debido precisamente a la evaporación de agua de la superficie de la piel), por un sensor. Expresada en $g / h m^2$, la pérdida de agua ocurre por un proceso de difusión que obedece a la Primera Ley de Fick.

En un papel filtro con una superficie de $7.07 cm^2$ se colocaron $200 \mu l$ de la formulación, se fijó en la zona del antebrazo y se procedió como se indica en la sección anterior. La medida del TEWL se llevó a cabo en un Tewameter TM-210 (Fig. 31), de manera continua aproximadamente durante 10 min después de retirada la formulación y posteriormente 5 min cada hora hasta un total de 4 horas. El análisis de resultados se realizó con base en la moda.

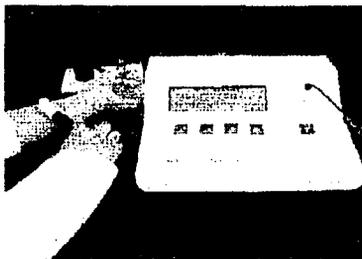


Fig. 31 Medida del TEWL

Las sustancias y/o formulaciones estudiadas fueron las siguientes:

- Azona[®]
- Azona[®] - Propilenglicol (0.4 M)
- Azona[®] - Transcutol (0.4M)
- Azona[®] - Etanol (0.4M)
- Dermac[®]
- Dermac[®] - Propilenglicol (0.4 M)
- Dermac[®] - Transcutol (0.4M)
- Dermac[®] - Etanol (0.4M)
- Propilenglicol
- Transcutol
- Etanol

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

5.2.1.3 Espectroscopia de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada

Esta técnica se basa en que las moléculas absorben energía infrarroja a ciertas frecuencias específicas para cada grupo funcional lo que en el estrato córneo corresponde a los componentes de la membrana, observándose un espectro de absorción característico (Fig. 32)

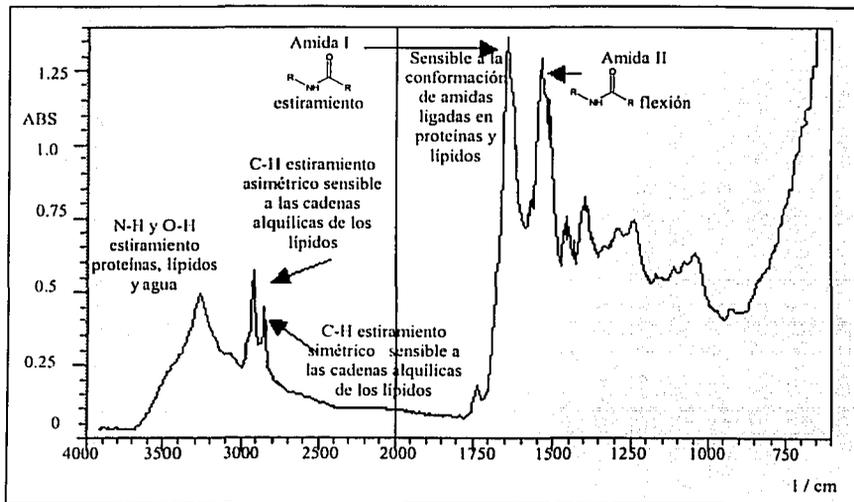


Fig. 32 Espectro de Infrarrojo característico del estrato córneo

El trabajo fue realizado en el antebrazo de seis voluntarios sanos. Se colocaron 1000 μl en una superficie de 51.75 cm^2 , el espectro de Infrarrojo por Transformadas de Fourier se midió en un espectrofotómetro Shimadzu FTIR-8300 (Fig. 33), que contiene un cristal ATR de forma trapezoidal de 80 x 10 x 4 mm y un ángulo de corte de 45° y sensibilidad de 0.1 cm^{-1} . Cada una de las medidas fue el promedio de 45 barridos con una resolución de 1. Las sustancias y/o formulaciones estudiadas fueron:

- Dermac[®]
- Dermac[®] - Propilenglicol (0.4 M)
- Dermac[®] - Transcutol[®] (0.4M)
- Dermac[®] - Etanol (0.4M)
- Propilenglicol
- Transcutol[®]
- Etanol



Fig. 33 Obtención del espectro de Infrarrojo del estrato córneo

5.2.2 *In vitro*

5.2.2.1 Determinación de la solubilidad

Para realizar los estudios de permeabilidad *in vitro*, se ocuparon celdas de difusión tipo Franz, que en la siguiente sección se detallarán; no obstante es necesario recordar que la solución que es colocada en el compartimiento receptor es de suma importancia ya que se deben asegurar condiciones "sink" en el sistema durante el tiempo que dure la permeación.

Por lo anterior fue necesario determinar la solubilidad de los tres fármacos que se usaron en las permeaciones; para ello se colocó un mililitro de soluciones de etanol al 25, 30, 35 ó 40% a temperatura ambiente y a 37°C en tubos de ensaye tapados, se pesaron pequeñas cantidades del activo en una balanza analítica debidamente calibrada y se fueron agregando a las soluciones de etanol, hasta que ya no fue posible disolver más activo, finalmente para obtener la solubilidad se sumaron todas las cantidades agregadas.

5.2.2.2 Permeaciones

A) Celda: Montura, descripción del compartimiento donador y el receptor

Para medir el flujo a través de las membranas, se utilizaron celdas verticales tipo Franz (Fig. 34). En el caso del grupo control se colocaron 350 μ l de una solución saturada del activo en propilenglicol en el compartimiento donador; mientras que para evaluar la acción promotora se realizó un pre-tratamiento dejando en contacto la membrana con 100 μ l de una solución del promotor en propilenglicol 0.4M, durante una hora. Ya que únicamente se pretende comparar el efecto de la Azona[®] y Dermac[®] sobre el flujo de los fármacos a través de piel y mucosa bucal en el compartimiento receptor se colocaron 2 ml de una solución de etanol al 40%, elegido con base en las pruebas de solubilidad de los principios activos. Los sistemas se mantuvieron tapados a 37°C, con agitación constante. Las permeaciones se siguieron por ocho horas, tomando muestras cada hora.

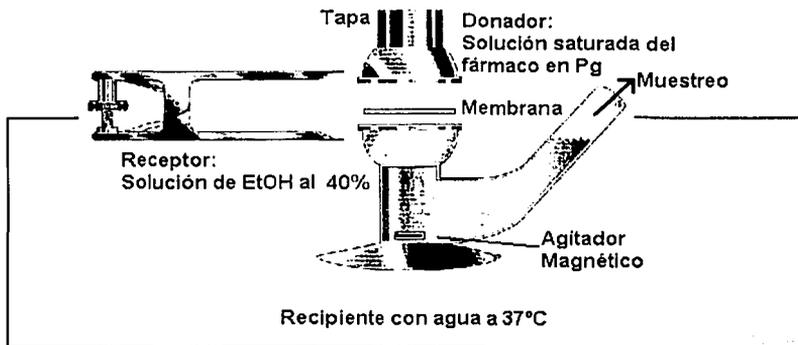


Fig. 34 Celda de difusión tipo Franz, ocupada en las permeaciones

B) Métodos de Cuantificación

La cuantificación de los activos, se realizó mediante la técnica de Cromatografía en Capa Fina de Alta Resolución (HPTLC), con un método validado para cada principio activo. Primero se eligieron las fases (estacionaria y móvil) y luego se realizó un barrido para determinar la longitud de onda máxima (λ_{max}) a la cual se leyeron las muestras y curvas de calibración. Las especificaciones para cada activo se detallan enseguida.

Tabla 6. Fases usadas en la HPTLC para Acetaminofén, Ácido Salicílico y Lidocaína

Fármaco	Fase estacionaria	Fase móvil	λ_{max} (nm)
acetaminofén (Log P = 0.34 ± 0.21)	Placas de sílica gel C-18 con indicador UV	Cloroformo: 1-Butanol (4:1)	250
Ácido Salicílico (Log P = 1.19 ± 0.23)	Placas de sílica gel C-18 con indicador UV	Cloroformo: 1-Butanol: Metanol: Agua (5:4:3:1)	300
Lidocaína (Log P = 2.36 ± 0.26)	Placas de sílica gel C-18 con indicador UV	1-Butanol: Acetona: Ácido acético: Agua (7:5:2:1)	264

Las placas de sílica gel C-18 con indicador UV fueron marca Alugram® y fabricadas en Alemania.

Recordando que los tres fármacos fueron elegidos con base a su Log P, el cual fue determinado mediante el programa computacional "ACDLABS"; cabe mencionar que los valores experimentales reportados son: para acetaminofén de 0.51 [Curutchet *et al*, 2001] para ácido salicílico de 2.26 [Curutchet *et al*, 2001] y para lidocaína de 3.40 [Grouls *et al*, 1997].

5.2.3 Correlación Estructura - Actividad

Como ya se planteó en los objetivos la intención de esta sección es establecer la interacción Promotor – Principio Activo para obtener la correlación estructura química - actividad biológica (que en este caso son los factores de promoción obtenidos de las permeaciones *in vitro*). Para poder predecir el comportamiento de los promotores Azona[®] y Dermac[®] con otros fármacos; es pertinente aclarar en este punto, que el trabajo de tesis se realizó en colaboración con la sección de Química Orgánica de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán a cargo del Dr. Enrique Ángeles Anguiano que en colaboración con el M. en C. Alberto Ramírez Murcia estudiaron detalladamente este tema y fueron los que gentilmente desarrollaron la ecuación que establece la correlación estructura – actividad.

Para desarrollar la ecuación que describe la estructura – actividad se siguieron básicamente cuatro pasos que a continuación se describen.

5.2.3.1 Generación de estructuras químicas

Al realizar este análisis fue preciso reconocer y generar las estructuras químicas de las sustancias estudiadas en dos y tres dimensiones.

Para ello fue necesario identificar la naturaleza general de la estructura y dibujarla en dos dimensiones en un programa adecuado (por ejemplo ChemWin, ChemOffice, ACD/ChemSketch), de tal forma que se pueda exportar posteriormente a un programa con un lenguaje más avanzado en lo que se refiere a estructuras químicas.

En este caso se produjeron ocho estructuras, cada una de ellas correspondientes a la Azona[®] (Fig. 40), Dermac[®] (Fig. 41), Acetaminofén (Fig. 42), Ácido Salicílico (Fig. 43), Lidocaina (Fig. 44), 5-Fluorouracilo (Fig. 45), Cafeína (Fig. 46) e Ibuprofeno (Fig. 47) (los últimos tres fármacos corresponden a estudios anteriores en este laboratorio, un resumen de ello se encuentra en el anexo 10.3.3.4)

A continuación se realizaron las estructuras químicas en tres dimensiones (figuras de la 48 a la 55) con el fin de conocer el acomodo espacial adecuado menos energético de la molécula e identificar las conformaciones más estables, efectos estéricos, posiciones de los grupos funcionales, así como ángulos, distancias entre ellos y todo lo relacionado a la conformación de su estructura molecular.

5.2.3.2 Realización de cálculos

De manera individual cada estructura química se sometió a cálculos basándose en la mecánica molecular y la mecánica cuántica, posteriormente al analizar las interacciones se consideraron los datos experimentales.

Antes de describir lo realizado es necesario mencionar la metodología computacional utilizada. La pre-optimización de todas las moléculas con base en la mecánica molecular fue llevada a cabo por medio del programa PIMMS (PIMMS, Oxford Molecular Ltd. The Magdalene Center. Oxford Science Park, Sanford on Thames, Oxford O4 44GA, United Kingdom). La optimización, manipulación y visualización de las moléculas se realizó con los métodos semi empíricos AM1//PM3//RHF-SCF, del programa Spartan, (Spartan, desarrollado y distribuido por Wavefunction Inc. 2002) para Silicon Graphics Workstation Indigo 2 XZ y para PC Ver. 02 Windows, cabe mencionar que el campo de fuerza usando en PM3 fue "SYBYL force"; además algunas propiedades fueron calculadas usando ACD/ChemSketch Ver. 5.12 (Advanced Chemistry Development Inc, 2002) (ver sección 5.2.3.3).

Estudios estadísticos: Para poder establecer un modelo que describa la relación entre la estructura del complejo Promotor – Fármaco, se realizó un análisis de correlación múltiple y fue evaluado mediante el coeficiente de correlación múltiple y su cuadrado (r y r^2), la desviación estándar ($SD = S_{PRESS}$) y F-estadística (F) (ver sección 5.2.3.2 – C y 5.2.3.3). En donde r^2 esta descrita por:

$$r^2 = \frac{SSY - PRESS}{SSY} \quad \text{Ec. 5}$$

Donde SSY es la suma de los cuadrados de las desviaciones entre las afinidades de los parámetros fijados y su media y $PRESS$ es la suma de los cuadrados de la predicción del error obtenida a partir del método. Las desviaciones estándar de la predicción (S_{PRESS}) son definidas como:

$$S_{PRESS} = \left[\frac{PRESS}{n-k-1} \right]^{1/2} \quad \text{Ec. 6}$$

Donde k , esta definida por el número de variables en el modelo. Los métodos estadísticos mencionados así como el análisis bivariable (sección 6.3.4) se realizaron mediante los paquetes estadísticos Statsoft [Statsoft, Release 4.2, 1993], en Pentium IV PC y TSAR [TSAR, Oxford Molecular Ltd., The Magdalen Center, Oxford Science Park, Sandford on Thames, Oxford OX4 4GA, United Kingdom] en Silicon Graphics Workstation Indigo 2 XZ. La validez estadística del modelo se consideró en base al coeficiente de correlación múltiple (r), la desviación estándar (SD) y F-estadística (F). [Croizet *et al*, 1990 y Hansch *et al*, 1973].

A) Mecánica molecular

Debemos recordar que la mecánica molecular considera como modelo básico a los átomos (semejantes a una esfera) y los enlaces (semejantes a resortes "enlazados" a las esferas), no considera a los electrones ni los orbitales. Esta sección es el primer tamiz para la estructura química con el fin de optimizar el tiempo de cómputo, la estructura se acomoda de la manera más sencilla y se calculan para cada molécula algunos aspectos básicos:

- Energía total de la molécula
- La conformación más estable reconociendo que:
- La conformación con menor energía es la más estable

Una vez que se tiene la estructura con la menor energía se procede a realizar el análisis conformacional (rotando enlaces y grupos funcionales) y se obtiene de esta molécula lo siguiente:

- Energía total de la conformación molecular más estable.

- Momento dipolo " μ ", esto es la polaridad de la molécula ya que debemos recordar que el momento dipolo es la sumatoria de todos los vectores internos de la molécula en cuanto a magnitud y dirección).

B) Mecánica cuántica

La mecánica cuántica considera los electrones y orbitales de cada átomo de la molécula, en esta sección se entrega la molécula ya refinada, ayudados por la mecánica molecular lo que disminuye el tiempo de análisis como ya se mencionó. Por medio de la mecánica cuántica se calculan entre otros los siguientes factores utilizando diferentes programas computacionales:

- HOMO (de sus siglas en inglés High Occupied Molecular Orbital) esto es el orbital molecular más alto ocupado, lo que le da el carácter nucleofílico a la molécula.
- LUMO (de sus siglas en inglés Low Unoccupied Molecular Orbital) esto significa el orbital molecular más bajo desocupado, lo que se refiere al carácter electrofílico a la molécula
- Potencial Electrostático, en este factor se conoce un mapa de la densidad electrónica de la molécula en base a su geometría y electronegatividad, recordando que los átomos con mayor densidad electrónica son más electronegativos.

C) Búsqueda de interacciones y propuesta final

Teóricamente se establecieron 12 complejos (fármaco-promotor), para evaluar las interacciones entre el fármaco y el promotor, que es la parte más extensa de este trabajo, esto se realizó con base a los parámetros determinados anteriormente (por ejemplo para formar un complejo se juntaron las regiones electrofílicas y nucleofílicas más estables), se rotaron las moléculas hasta que se acomodaron de tal forma que se tuviera un mínimo energético. De esta manera se formaron los 12 "complejos teóricos" mencionados, esto se obtuvo de la interacción de la Azona[®] y Dermac[®] con cada uno de los seis fármacos, tal y como se ilustra en la tabla 7.

Tabla 7. "Complejos teóricos" fármaco – promotor formados en búsqueda de la mejor interacción basándose en la mecánica molecular y mecánica cuántica

Azona ^h	- Acetaminofén
Azona ^h	- Ácido Salicílico
Azona ^k	- Lidocaína
Azona ^h	- 5-Fluorouracilo
Azona ^r	- Cafeína
Azona ^r	- Ibuprofeno
Dermac ^r	- Acetaminofén
Dermac ^r	- Ácido Salicílico
Dermac ^k	- Lidocaína
Dermac ^h	- 5-Fluorouracilo
Dermac ^h	- Cafeína
Dermac ^h	- Ibuprofeno

A continuación se determinan para los compuestos formados los mismos parámetros que se obtuvieron para las moléculas individuales, esto es con base a la mecánica molecular: energía total y momento dipolo y mecánica cuántica: HOMO, LUMO, potencial electrostático, etc.

Una vez establecidos estos parámetros se procede a realizar la propuesta final de la interacción fármaco – promotor en el espacio.

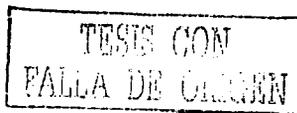
5.2.3.3 Relación Estructura Química – Actividad Biológica

Una vez que se han establecido todos los parámetros fisicoquímicos, moleculares y electrónicos correspondientes de cada molécula, tales como momento dipolo, energía total (con base a mecánica molecular), HOMO, LUMO, potencial electrostático (con base a mecánica cuántica) y otros ya conocidos como pKa, log P, solubilidad, factor de biodisponibilidad, etcétera, a los cuales se les llama descriptores, se ha procedido a relacionarlos con la actividad biológica que en este caso es el factor de promoción, mediante la Ecuación de Hantsch.

Suponiendo que AB es la relación estructura-actividad y estableciendo como constante la membrana biológica ya sea piel o mucosa bucal, se tiene lo siguiente:

$$AB = \text{Factores Moleculares} + \text{Factores Electrónicos} + \text{Factores Fisicoquímicos} + \text{Cte}$$

Ec. 7



$$AB = K (\text{Descriptor})_i + Q (\text{Descriptor})_j + N (\text{Descriptor})_n \text{ Cte} \quad \text{Ec. 8}$$

Los valores de los descriptores son calculados por programas especializados, como se menciona anteriormente, K, Q y N se establecen por medio de la regresión lineal múltiple, la constante es la intersección de la recta.

Los descriptores estudiados son los siguientes:

Símbolo	Descriptor
ΔH^*	Calor de formación en Kcal/mol
HOMO*	Orbital molecular más alto ocupado en electro Voltios (eV)
LUMO*	Orbital molecular más bajo desocupado en eV.
H_L*	Diferencia de HOMO-LUMO en eV.
LOG _P ^a	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en Spartan)
LOGP _^	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en ACDLABS)
DIPOLO*	Momento dipolo en Debyes
AREA ^a	Área molecular total en Å ²
VOL ^a	Volumen Molecular total en Å ³
RM ^a	Refractividad molecular en cm ³
S ^a	Solubilidad en agua en mol/l
LOG ₁ S ^a	Log de 1/S (Log del inverso de la solubilidad)
BCF ^a	Factor de bioconcentración
LOGBCF ^a	Log del factor de bioconcentración
PKA ^a	pKa
CAZO_ΔH*	Calor de formación del complejo Azona [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CAZO_HOMO*	HOMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_LUMO*	LUMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_H_L*	HOMO-LUMO del complejo Azona [®] - Principio Activo en eV.
CAZO_LOGP*	Log P del complejo Azona [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CAZO_DIP*	Dipolo del complejo Azona [®] - Principio Activo

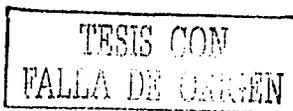
CAZO_AREA^	Área total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ²
CAZO_VOL^	Volumen total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ³
CDER_ΔH*	Calor de formación del complejo Dermac [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CDER_HOMO*	HOMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_LUMO*	LUMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_H_L*	HOMO-LUMO del complejo Dermac [®] - Principio Activo en eV.
CDER_LOGP*	Log P del complejo Dermac [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CDER_DIP*	Dipolo del complejo Dermac [®] - Principio Activo
CDER_AREA^	Área total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ²
CDER_VOL^	Volumen total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ³

- *Descriptores calculados usando Spartan (PM3)
- ^ Descriptores calculados usando ACDLABS.
- ^ Descriptores calculados usando PIMMS

Se debe realizar una matriz donde se consideren todos los descriptores posibles, ya que de antemano no se sabe cual de los descriptores será válido para la ecuación, las matrices que se generan tiene la siguiente forma:

Matriz: Promotor - Barrera

Descriptor	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Caféina	Ibuprofeno
AB						
ΔH						
HOMO						
LUMO						
H_L						
LOG P						
LOGP						
DIPOLO						
AREA						
VOL						
RM						
S						
LOGI_S						

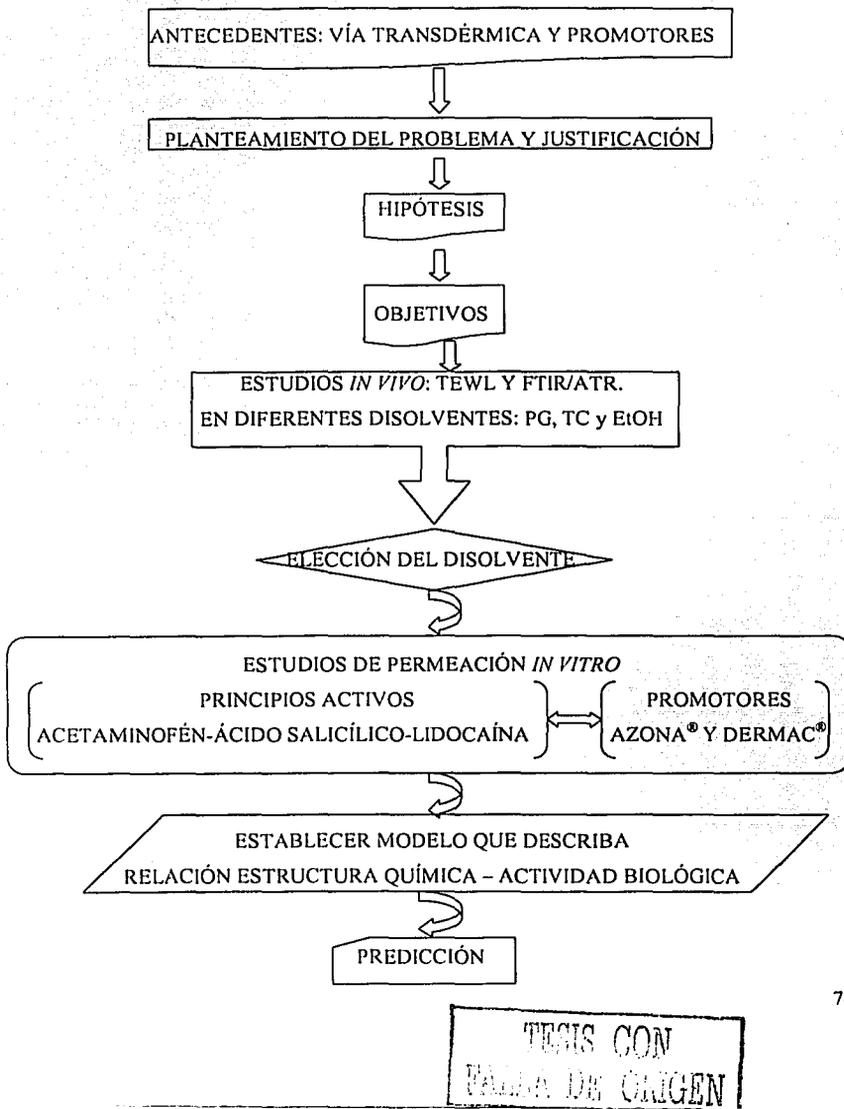


BCF						
LOGBCF						
LOGKOC						
PKA						
CAZO ΔH						
CAZO HOMO						
CAZO LUMO						
CAZO H L						
CAZO LOGP						
CAZO DIP						
CAZO AREA						
CAZO VOL						
CDER ΔH						
CDER HOMO						
CDER LUMO						
CDER H L						
CDER LOGP						
CDER DIP						
CDER AREA						
CDER VOL						

Como ya se ha mencionado el promotor es Azona[®] o Dermac[®] y la barrera es piel o mucosa bucal, AB es la actividad biológica que corresponde al Factor de Promoción (K_R) y puede escribirse como K_R o Log de K_R lo que constituye la variable dependiente y los descriptores que son los enumerados anteriormente constituyen la(s) variable(s) independiente(s). Después se procedió a escoger la ecuación que describe al modelo, para que esta ecuación estadísticamente sea válida es necesario obtener un coeficiente de correlación (r^2) mayor a 0.6, si se obtiene una r^2 muy alta (cercana a 1) se puede decir que la relación entre las dos variables es muy alta. [Croizet *et al*, 1990 y Hansch *et al*, 1973].

5.2.4 DIAGRAMA DE FLUJO

En términos generales la parte experimental se desarrollo con base al siguiente esquema ó diagrama de flujo:

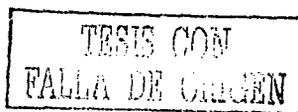


6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 *In vivo*

6.1.1 Pérdida de Agua Transepidermal

Como ya se expuso en la sección de Antecedentes, la Pérdida de Agua Transepidermal (TEWL) es un indicativo de la eficiencia de la Barrera de Permeabilidad de la Piel [Tanojo *et al*, 1997 y Pu y Lin, 1999] por lo que cualquier sustancia que interaccione con los componentes de la membrana y altere su conformación u orden natural, puede provocar un incremento en el TEWL. Esta prueba es muy útil al seleccionar los componentes de una formulación y al evaluar el efecto de los excipientes. Por otra parte, mucho se ha dicho ya del efecto de los promotores y de como éste se puede ver potencializado al combinar dos de ellos o con los mismos disolventes de la formulación. Es por eso que en esta primera etapa del trabajo el objetivo primordial fue seleccionar el mejor disolvente para los promotores estudiados (DER y AZO), para ello se eligieron propilenglicol, etanol y Transcutol[®] (PG, EtOH y TC), reportados en la literatura como adecuados para Azona^{*} [Wiechers, 1990 y Walters y Hadgraft, 1993] por ejercer ellos mismos un efecto promotor y además porque hay diversos estudios que sugieren un efecto sinérgico entre Azona^{*} y estos disolventes (principalmente propilenglicol [Barry, 1987 y Walters y Hadgraft, 1993]) atribuido en buena medida a que actúan por mecanismos distintos; aunque no existen reportados estudios por medio del TEWL.



Como ha sido señalado en la sección de Metodología, las sustancias y/o formulaciones estudiadas fueron las siguientes:

Tabla 8. Sustancias y/o formulaciones estudiadas en TEWL

Combinación	Representación
Azona [®]	AZO
Azona [®] - Propilenglicol (0.4 M)	AZO-PG
Azona [®] - Transcutol (0.4M)	AZO-TC
Azona [®] - Etanol (0.4M)	AZO-EtOH
Dermac [®]	DER
Dermac [®] - Propilenglicol (0.4 M)	DER-PG
Dermac [®] - Transcutol (0.4M)	DER-TC
Dermac [®] - Etanol (0.4M)	DER-EtOH
Propilenglicol	PG
Transcutol [®]	TC
Etanol	EtOH

Estas formulaciones se aplicaron en seis voluntarios y estuvieron en contacto con la piel por una hora, una vez que se retiraron, el TEWL [g/hm²] se midió de manera continua durante 10 minutos y posteriormente por 5 minutos cada hora hasta un total de 4. Para analizar los resultados se obtuvo la moda de estas mediciones de cada voluntario y se promediaron, graficando con respecto al tiempo como se indica en la tabla 9 y en los gráficos 1 y 2.

Tabla 9. Resultados del TEWL ($[=]$ $\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^{-2}$) con respecto al tiempo (h) (promedio de los seis voluntarios)

t (h)	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
0	12.83 \pm 2.904	13.65 \pm 6.108	10.28 \pm 1.619	12.07 \pm 1.842	12.32 \pm 2.176	12.72 \pm 2.452	16.28 \pm 3.771	12.03 \pm 3.420	11.85 \pm 3.891	17.78 \pm 5.535	12.12 \pm 2.063	11.15 \pm 2.980
1	10.34 \pm 2.571	11.00 \pm 4.927	9.65 \pm 1.198	10.33 \pm 2.254	10.88 \pm 2.568	11.98 \pm 2.316	12.87 \pm 3.298	10.60 \pm 3.253	11.42 \pm 4.401	15.07 \pm 4.506	11.13 \pm 2.119	11.92 \pm 2.915
2	9.62 \pm 1.731	9.82 \pm 4.255	9.53 \pm 1.148	10.17 \pm 2.391	9.38 \pm 1.118	12.25 \pm 2.081	11.48 \pm 2.367	10.75 \pm 2.590	11.40 \pm 3.068	13.18 \pm 4.958	9.97 \pm 1.920	11.47 \pm 2.470
3	8.93 \pm 2.156	10.46 \pm 2.932	10.64 \pm 3.623	9.90 \pm 0.812	10.12 \pm 0.205	10.43 \pm 1.746	11.52 \pm 3.497	10.10 \pm 1.570	10.80 \pm 2.688	12.00 \pm 2.972	12.57 \pm 2.248	12.07 \pm 3.479
4	10.49 \pm 3.591	9.23 \pm 2.997	10.22 \pm 0.779	10.60 \pm 2.180	10.96 \pm 1.724	11.18 \pm 2.591	11.40 \pm 2.312	13.66 \pm 10.777	10.55 \pm 3.428	13.97 \pm 3.636	12.07 \pm 3.479	14.33 \pm 2.082

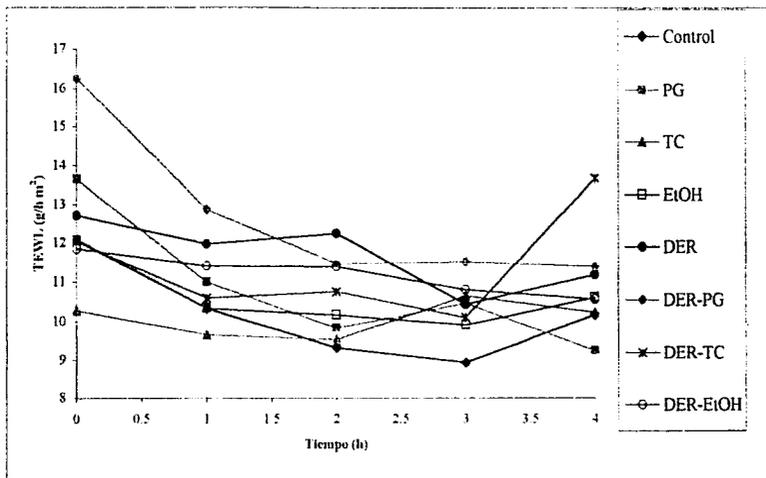


Gráfico 1. Resultados del TEWL ($[=]$ $\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{m}^{-2}$) con respecto al tiempo (h) (promedio de los seis voluntarios) utilizando como promotor el 4-Deciloxazolidin-2-ona (Dermac³)

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

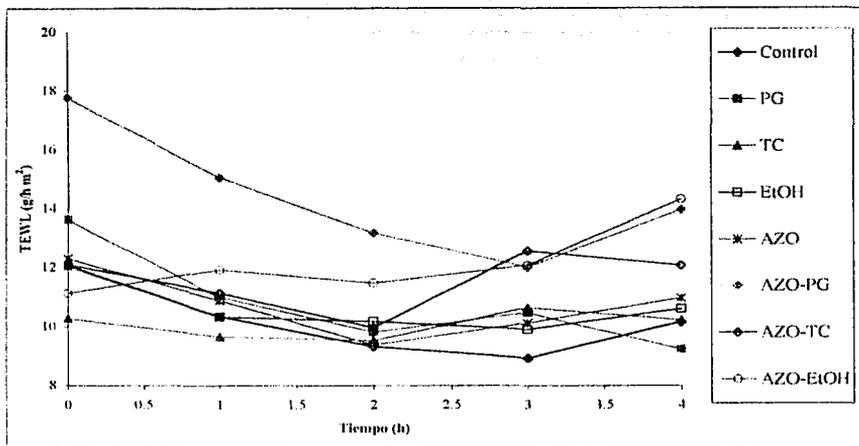


Gráfico 2. Resultados del TFWL (=[] g/hm²) con respecto al tiempo (h) (promedio de los seis voluntarios) utilizando como promotor el Laurocapram (Azona[®])

Al observar los resultados inmediatamente después de haber retirado la formulación, esto es al tiempo cero, existe un efecto mayor que a los demás tiempos, lo que a primera instancia podría atribuirse al efecto oclusivo del mismo sistema, no obstante se debe recordar que antes de realizar la medición se dejó evaporar el agua que se acumuló por efecto de la oclusión el tiempo suficiente, que duró cinco minutos, por lo que fue posible determinar si existía una respuesta a éste tiempo (gráfico 3); por otro lado después de una hora, también podemos observar esta respuesta dado que se ve un efecto mayor con respecto a las otras tres horas (gráfico 4). A las cuatro horas se puede observar cierta tendencia a regresar a los valores del grupo control, por lo cual podemos afirmar que el efecto es reversible con recuperación de la barrera. A continuación se analizan con más detalle estos valores, (gráficos 3 – 12).

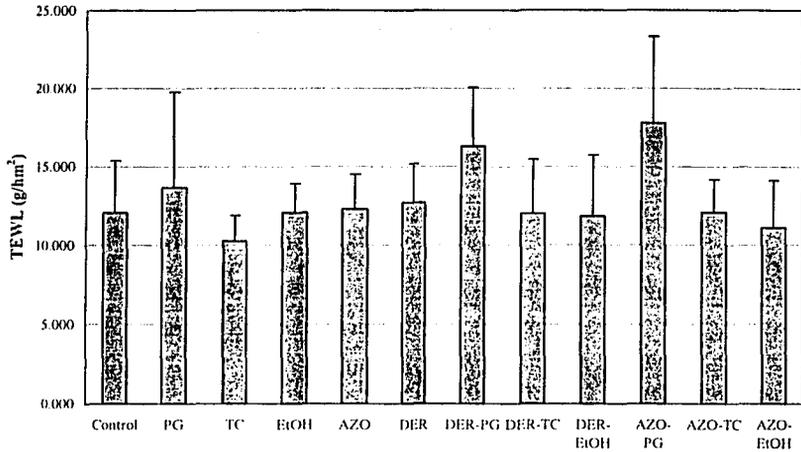


Gráfico 3. Resultados del TEWL inmediatamente después de haber retirado la formulación

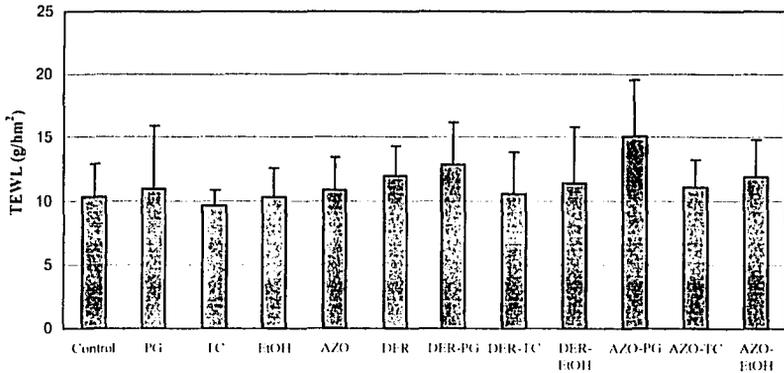


Gráfico 4. Resultados del TEWL después de una hora de haber retirado la formulación

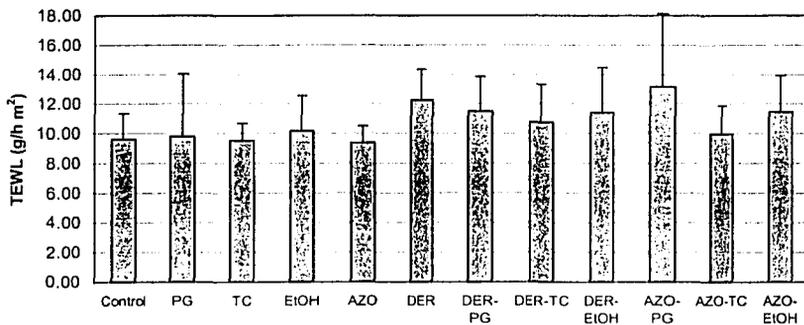


Gráfico 5. Resultados del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación

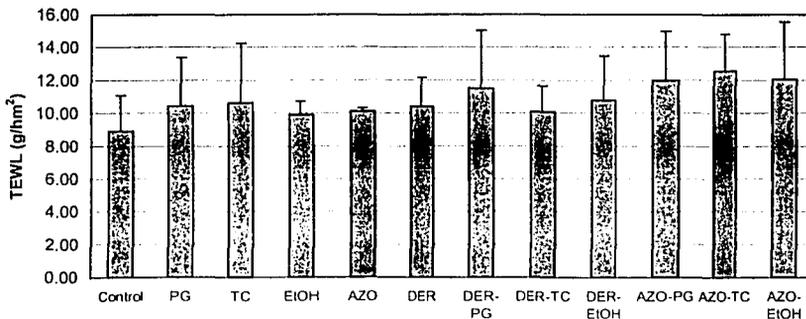


Gráfico 6. Resultados del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

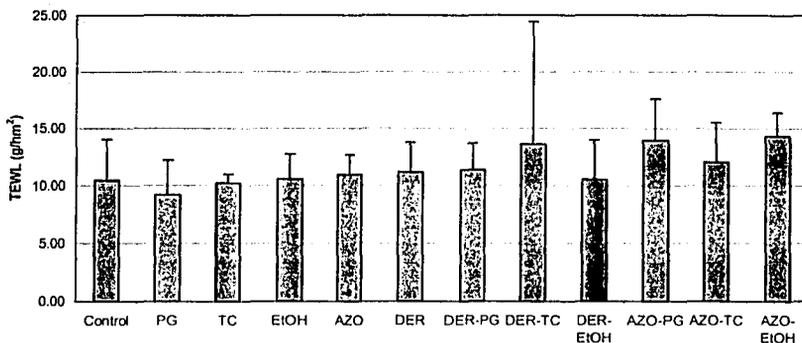


Gráfico 7. Resultados del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación

Para observar mejor el efecto de las diferentes formulaciones se restó a cada una de ellas los valores del grupo control y se obtuvo así el cambio de TEWL absoluto para cada formulación (gráficos 8-12).

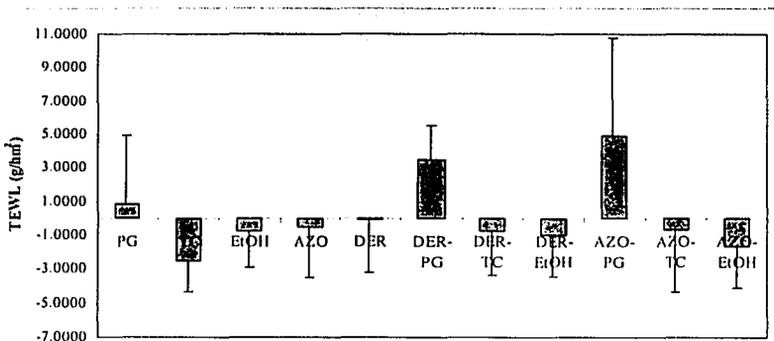


Gráfico 8. Cambio absoluto del TEWL inmediatamente después de haber retirado la formulación

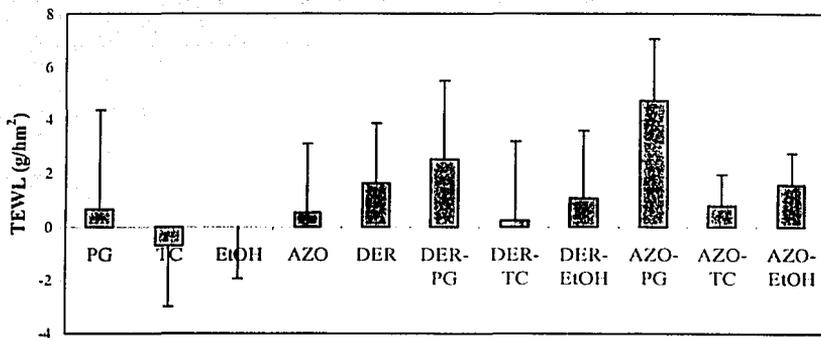


Gráfico 9. Cambio absoluto del TEWL después de 1 hora de haber retirado la formulación

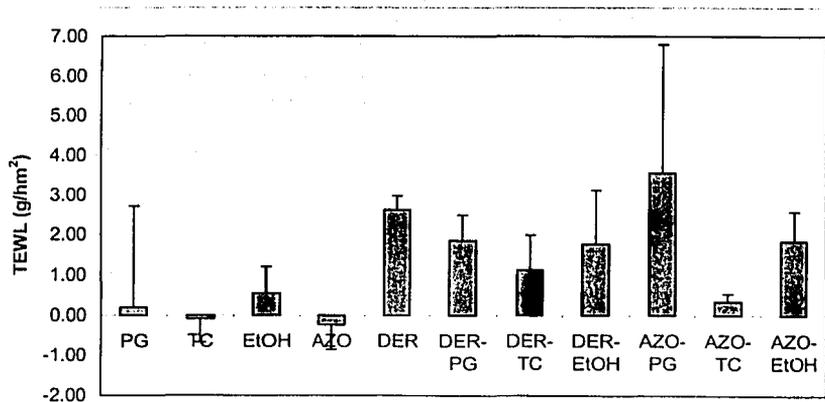


Gráfico 10. Cambio absoluto del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación

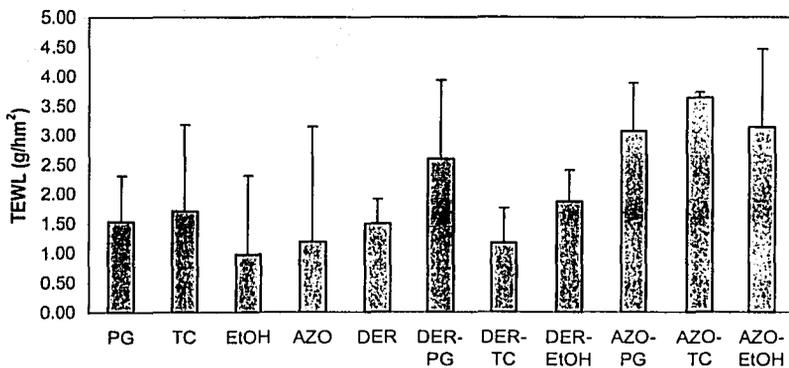


Gráfico 11. Cambio absoluto del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación

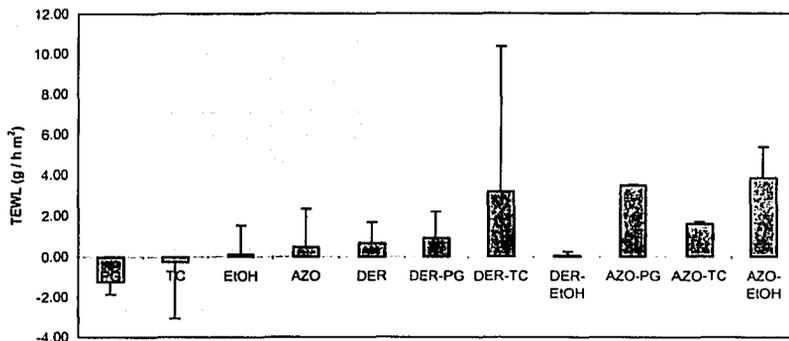


Gráfico 12. Cambio absoluto del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación

Para saber si los datos seguían una distribución normal se realizó la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov (anexos 10.3.1) y se encontró que si se ajustaron a una distribución normal.

Resultados y Discusión

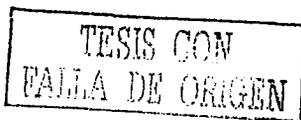
Como se puede observar en los gráficos 3 y 4, así como en los gráficos 8 y 9, existe un incremento en el TEWL cuando se coloca Dermac[®] o Azona[®] en propilenglicol (DER-PG ó AZO-PG), lo que podría indicar una alteración en la barrera de permeabilidad debido posiblemente a un efecto sinérgico entre los promotores, presentándose una recuperación total de la barrera después de 4 horas de haber retirado la formulación (gráficos 7 y 12); sin embargo al realizar el análisis de varianza tanto a tiempo cero ($F = 2.193$ y $F_{crítica} = 2.559$) como después de la primera hora de haber retirado la formulación ($F = 2.135$ y $F_{crítica} = 2.662$) no se observan diferencias estadísticas (anexos 10.3.1). Después de 4 horas de haber retirado la formulación se realizó éste mismo análisis de varianza ($F = 0.531$ y $F_{crítica} = 2.775$) en el cual tampoco se encontraron diferencias estadísticas, lo cual corrobora que hubo una recuperación total de la membrana.

Al realizar un análisis de varianza de dos factores (AXB) en bloques aleatorizados, considerando al factor A tiempo (0,1 y 2 h) y el factor B a los tratamientos, se encuentra que si existen variaciones entre los tiempos ($F = 8.853$ y $F_{crítica} = 4.725$), lo cual suena lógico, si consideramos que la membrana durante las primeras horas sufrió una alteración y en las últimas horas se recuperó. (anexos 10.3.1)

También se encontraron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($F = 3.828$ y $F_{crítica} = 2.348$), así que para identificar entre qué pares había diferencias se realizó la prueba de Tukey y se encontró que la divergencia se daba entre TC y AZO-PG, ($DVS = 6.834$ y diferencia de los promedios = 7.5) debido a que son diferentes tratamientos y sustancias aplicadas (anexos 10.3.1)

Mediante al prueba de Tukey (anexos 10.3.1) no se encontró algún cambio significativo en el TEWL al comparar la piel tratada con los disolventes solos (PG, TC y EtOH) ó con los promotores solos (AZO y DER) con respecto al control.

A pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, se decidió elegir de los tres disolventes evaluados, el PG, debido a los incrementos promedio observados sobre todo inmediatamente después de haber retirado la formulación (gráfico 8), más aún, considerando que cuando se aplican por separado (*i.e.* PG, DER o AZO) hay un incremento menor en el TEWL (e incluso disminuye en el caso del tiempo cero para DER y AZO) se podría considerar incluso un efecto sinérgico entre el promotor (AZO o DER) y el disolvente (PG). Finalmente es importante señalar que el efecto sinérgico de AZO y PG está de acuerdo con lo reportado en la literatura [Wiechers, 1990 y Walters y Hadgraft, 1993].



6.1.2 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada

La Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada ha sido empleada por diversos autores [Takeuchi *et al.*, 1992; Higo *et al.*, 1993; Watkinson *et al.*, 1994; Pirot *et al.*, 1997; Potts *et al.*, 1997; Touitou *et al.*, 1998 y Moser *et al.*, 2001] como una herramienta útil para elucidar el mecanismo de acción de los promotores y vehículos empleados en formulaciones tópicas y transdérmicas. Como se mencionó en la sección de Metodología se realizaron estos estudios en seis voluntarios con las siguientes formulaciones:

Tabla 10. Sustancias y/o formulaciones estudiadas en FTIR/ATR

Combinación	Representación
Dermac ^K	DER
Dermac ^K - Propilenglicol (0.4 M)	DER-PG
Dermac ^K - Transcutol (0.4M)	DER-TC
Dermac ^K - Etanol (0.4M)	DER-EtOH
Propilenglicol	PG
Transcutol	TC
Etanol	EtOH

No obstante antes de realizar dichos estudios se obtuvieron los espectros de absorción de infrarrojo de las sustancias puras, así como de la piel sin ningún pre-tratamiento. Los espectros obtenidos se muestran en las figuras 35, 36, 37, 38 y 39.

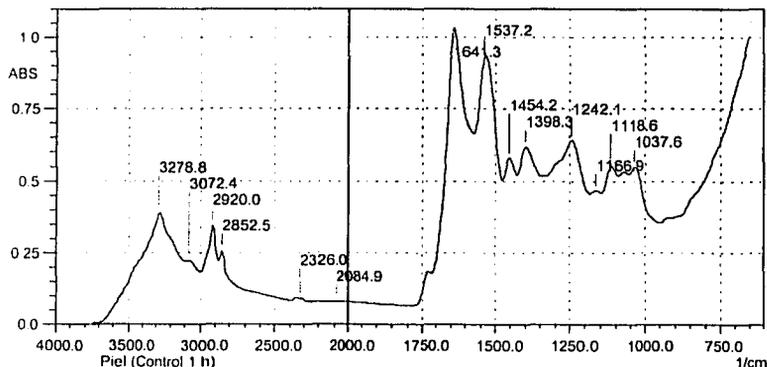


Fig. 35 Espectro de Infrarrojo característico del estrato córneo humano (promedio de 45 barridos)

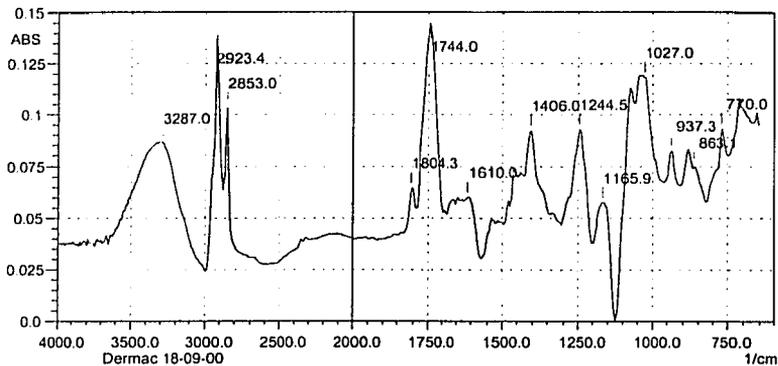


Fig. 36 Espectro de Infrarrojo del 4-Deciloxazolidin-2-ona (Dermac[®]) (promedio de 45 barridos)

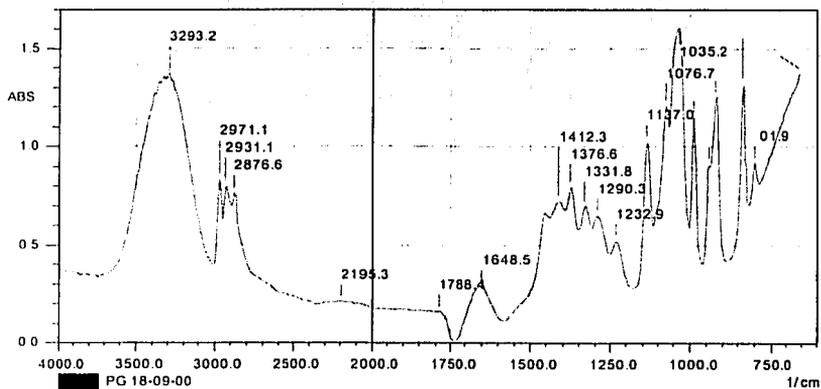


Fig. 37 Espectro de Infrarrojo del Propilenglicol (promedio de 45 barridos)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

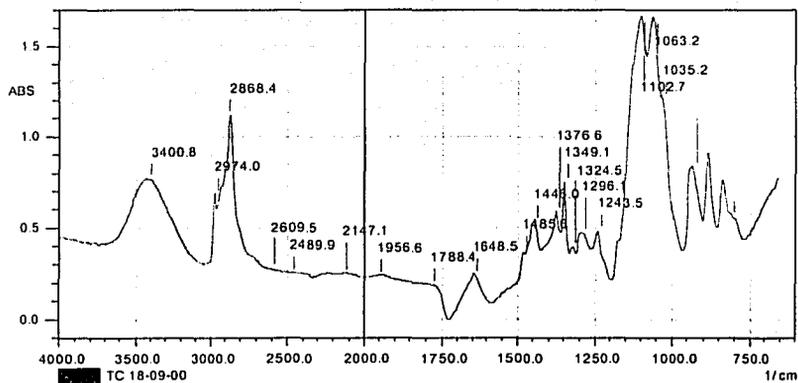


Fig. 38 Espectro de Infrarrojo del Dietilglicol-monoetil-éter (Transcutol[®]) (promedio de 45 barridos)

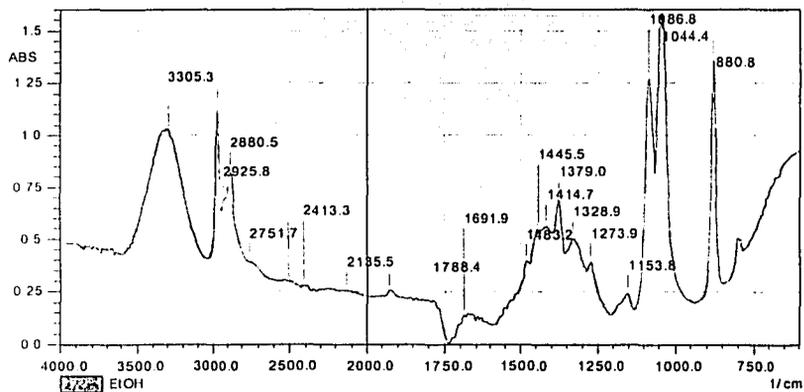


Fig. 39 Espectro de Infrarrojo del Etanol (promedio de 45 barridos)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Resultados y Discusión

Para efecto del análisis nos enfocamos a las bandas del espectro del estrato córneo que corresponden a las cadenas alquílicas de los lípidos (localizados aproximadamente en 2920 y 2850 cm^{-1}), debido a que si ocurriera fluidización de los lípidos de la membrana por efecto de los promotores estas dos bandas se verían alterados. Se analizó también el estiramiento debido a N-H y O-H (localizado aproximadamente en 3274 cm^{-1}) de proteínas, lípidos y agua, con fines de comparación.

Se ha reportado [Naik y Guy, 1997] que la fluidización de los lípidos del estrato córneo está asociada al cambio en el número de onda o en el ensanchamiento de las bandas (tanto asimétricas como simétricas correspondientes a las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo) y que una disminución en las áreas bajo la curva de éstas bandas puede ser indicativo de la extracción de lípidos, lo que implica incremento del desorden en la bicapa y contribuye al aumento de la permeabilidad de la piel.

Después de una hora de contacto las formulaciones se retiraron, procediendo a evaluar el espectro de infrarrojo del estrato córneo durante las siguientes 4 horas, en seis voluntarios. Los resultados promedio para los números de onda de las bandas de estiramiento simétrico y asimétrico de las cadenas alquílicas se muestran en las tablas 11 y 12.

Tabla 11. Números de onda para las bandas asimétricas (localizados aproximadamente en 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)

t (h)	Control	DER	DER-EtOH	DER-PG	DER-TC	EtOH	PG	TC
0	2917.8 \pm 1.512	2921.0 \pm 1.114	2920.8 \pm 1.781	2921.9 \pm 1.076	2920.4 \pm 2.267	2920.1 \pm 2.393	2919.7 \pm 1.705	2917.9 \pm 0.841
1	2918.4 \pm 1.864	2921.1 \pm 2.697	2922.1 \pm 1.289	2921.6 \pm 1.328	2921.1 \pm 1.866	2920.9 \pm 2.127	2918.9 \pm 1.522	2919.0 \pm 1.573
2	2918.6 \pm 1.345	2920.4 \pm 2.762	2921.9 \pm 0.989	2920.8 \pm 2.223	2920.9 \pm 1.191	2921.4 \pm 0.801	2918.9 \pm 1.648	2920.2 \pm 1.561
3	2919.5 \pm 0.955	2919.9 \pm 1.399	2921.5 \pm 1.198	2919.7 \pm 1.705	2921.2 \pm 1.061	2921.1 \pm 0.917	2918.5 \pm 1.319	2918.8 \pm 1.533
4	2918.9 \pm 1.527	2919.4 \pm 1.615	2921.3 \pm 0.987	2919.6 \pm 1.581	2920.5 \pm 0.632	2920.9 \pm 0.861	2919.5 \pm 2.028	2920.1 \pm 1.288

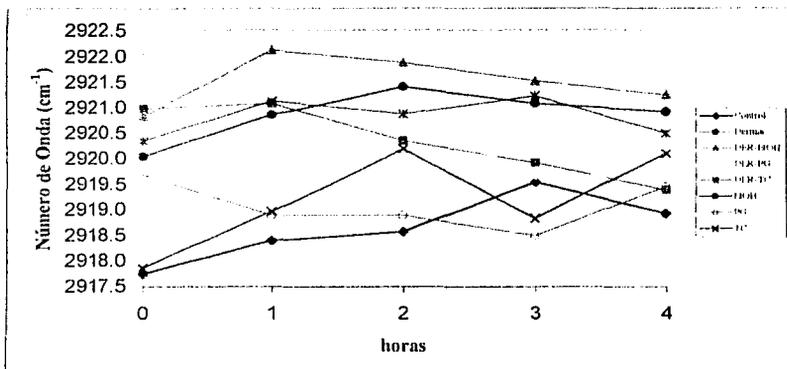


Gráfico 13. Números de Onda para las bandas asimétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)

En el gráfico 13 se puede apreciar que aparentemente existe un efecto mayor sobre las bandas de estiramiento asimétrico a la primera hora después de la aplicación, ya que en todos los casos los números de onda tienden a aumentar, por lo que se procede a realizar el análisis correspondiente considerando estos datos. No obstante se realizó un análisis de varianza de dos factores considerando todos los tiempos y tratamientos (anexos 10.3.2), como se verá más adelante.

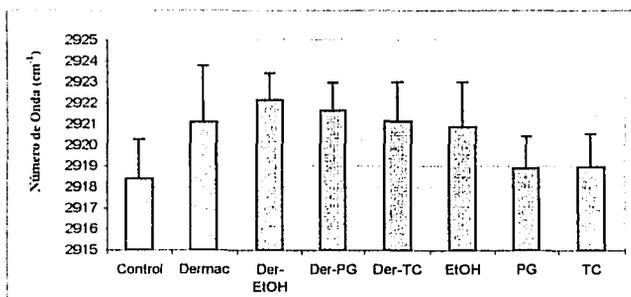


Gráfico 14. Resultados de los números de onda para las bandas asimétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después 1 hora de haber retirado la formulación

En los gráficos 14 y 15 se muestra la ubicación de la banda de estiramiento asimétrico, así como el cambio absoluto en el número de onda (*i.e.*, la diferencia entre cada formulación y el control).

Aunque parece haber un ligero desplazamiento con las formulaciones que incluyen al DER, el hecho de que el Dermac[®] presente una banda sp^3 (2923.4) a un número de onda muy cercano a al banda asimétrica de los lípidos del estrato córneo (2920) hace difícil definir si el cambio se debe a la presencia del Dermac[®] o a una interacción con los lípidos, por lo que se procede a calcular el cambio absoluto, restando de la formulación el control tal y como se realizó para el TEWL.

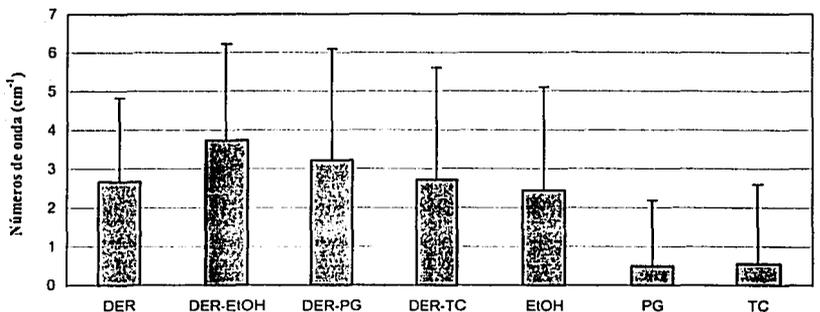


Gráfico 15. Cambio absoluto de los números de onda para la banda asimétrica de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de 1 hora de haber retirado la formulación

Para poder asegurar que los datos se ajustaron a una distribución normal se realizó la prueba de bondad de ajuste de Kolmogorov-Smirnov, por medio de la cual se pudo comprobar que sí se ajustaron a una distribución normal.

Del análisis de varianza de los cambios absolutos podemos concluir que no existe diferencia significativa entre ellos ($F = 2.334$ y $F_{crítica} = 3.124$, anexos 10.3.2); sin embargo si se comparan los datos del gráfico 14, si se observa una diferencia estadísticamente significativa ($F =$

3.574 y $F_{\text{crítica}} = 3.124$), lo que da lugar a pensar en dos posibilidades: a) Que esta interfiriendo el Dermac[®] b) Que se están fluidizando los lípidos de la membrana.

Al realizar un análisis de varianza de dos factores A X B en bloques aleatorizados, en el que el factor A es el tiempo y el factor B los tratamientos, podemos observar que se obtuvieron diferencias estadísticas entre los tratamientos ($F = 12.590$ y $F_{\text{crítica}} = 2.730$), al realizar el análisis de Tukey para identificar los pares en los que había diferencia se obtuvo que existía al tiempo cero entre el Control y DER-PG (DVS = 3.690 y diferencia absoluta entre los promedios = 4.133) así como entre Transcutol[®] y DER-PG (DVS = 3.690 y diferencia absoluta entre los promedios = 4.017) y después de una hora de haber retirado la formulación entre el Control y DER-EtOH (DVS = 3.690 y diferencia absoluta entre los promedios = 3.728). Esto También se puede apreciar visualmente en el gráfico 13. Vale la pena mencionar que al realizar un análisis de varianza de un factor para los cambios absolutos a tiempo cero no se observan diferencias significativas ($F = 3.053$ y $F_{\text{crítica}} = 3.123$). (Anexo 10.3.2).

Todo lo anterior da lugar a pensar que las diferencias observadas en el análisis de varianza de dos factores se deben tanto a una interferencia por parte de las bandas del DER, pues no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los cambios absolutos, como a una posible fluidización de los lípidos de la membrana, ya se observa un efecto mayor (sinergismo) al agregar DER-PG o DER-EtOH que al agregar cada uno por separado.

Además del desplazamiento de las bandas, lo cual está relacionado con el grado de fluidez de los lípidos [Naik y Guy, 1997], también es importante determinar las áreas bajo la curva, como un parámetro para estimar la posible extracción de lípidos por efecto de los promotores y disolventes empleados. A continuación se muestran las áreas normalizadas de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos del estrato córneo (gráfico 10). Para normalizar las áreas, éstas se dividieron entre las áreas de la banda que corresponde a la flexión N-H de la amida II de las proteínas del estrato córneo (que se encuentra localizado aproximadamente a 1538 cm^{-1}). En el Anexo 10.3.2 se muestra con todo detalle como se realizó el cálculo.

Como se observa en el gráfico 16, no hay diferencia aparente en cuanto a las áreas de las bandas ($F = 0.507$ y $F_{crítica} = 3.123$), por lo que no puede pensarse en una extracción de lípidos como probable mecanismo de acción, y tampoco parece haber una adición de la respuesta del Dermac^h (que pudiera haber quedado remanente en el estrato córneo y que pudiera haber interferido en la respuesta) y las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo. Al realizar una análisis de varianza de dos factores en donde se consideran todos los tiempos y tratamientos tampoco se observan diferencias estadísticamente significativas ($F = 0.164$ $F_{crítica} = 3.414$ para el análisis entre los tiempos y $F = 0.883$ $F_{crítica} = 2.730$ para el análisis entre los tratamientos) (Anexos 10.3.2).

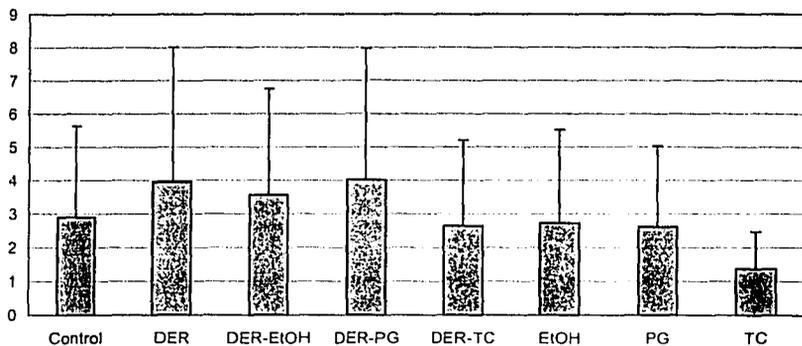


Gráfico 16 Áreas normalizadas de la banda asimétrica de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de 1 hora de haber retirado la formulación

Con las bandas del estiramiento simétrico de las cadenas alquílicas del estrato córneo (localizado aproximadamente en 2850 cm^{-1} , tabla 12) se procedió a realizar el análisis como se hizo para los estiramientos asimétricos, empleando para fines de análisis los datos de la primera hora. No obstante se realizó un análisis de varianza de dos factores para todos los tratamientos a los diferentes tiempos. En el gráfico 17 se muestra la ubicación de la banda a diferentes tiempos.

Tabla 12. Números de onda para las bandas simétricas (localizados aproximadamente en 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)

t (h)	Control	DER	DER-EtOH	DER-PG	DER-TC	EtOH	PG	TC
0	2849.8 ± 0.922	2852.1 ± 0.762	2852.4 ± 0.485	2852.6 ± 1.249	2852.1 ± 1.515	2852.2 ± 2.226	2852.0 ± 1.569	2854.8 ± 7.907
1	2850.7 ± 1.553	2852.2 ± 1.918	2852.7 ± 0.516	2852.8 ± 0.876	2852.1 ± 1.218	2852.5 ± 1.916	2851.7 ± 1.164	2851.8 ± 1.555
2	2850.6 ± 1.322	2851.8 ± 2.086	2852.2 ± 0.376	2851.9 ± 1.282	2851.7 ± 0.881	2852.6 ± 1.642	2851.1 ± 1.050	2851.6 ± 0.869
3	2850.8 ± 0.962	2851.7 ± 1.041	2852.6 ± 1.000	2851.2 ± 1.167	2852.4 ± 1.176	2852.0 ± 0.612	2851.4 ± 1.162	2851.3 ± 1.038
4	2850.9 ± 0.964	2851.4 ± 1.277	2852.5 ± 1.082	2851.4 ± 1.162	2851.7 ± 0.756	2852.4 ± 1.289	2851.4 ± 1.162	2851.3 ± 1.203

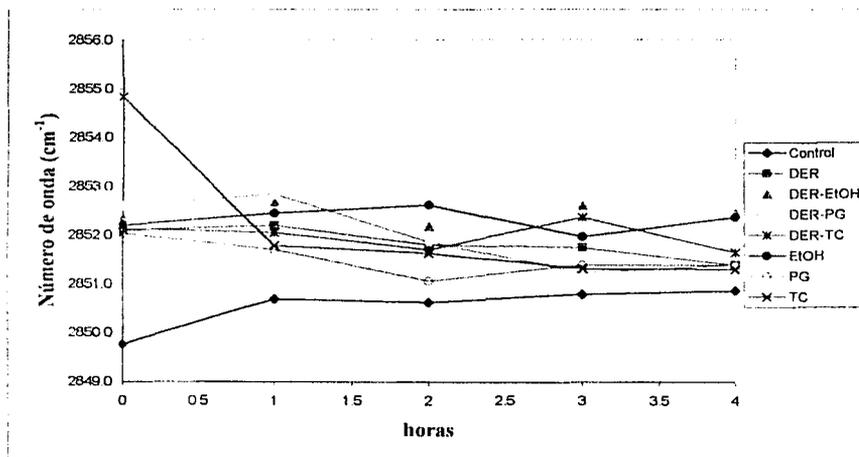


Gráfico 17 Números de onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo (promedio de los seis voluntarios)

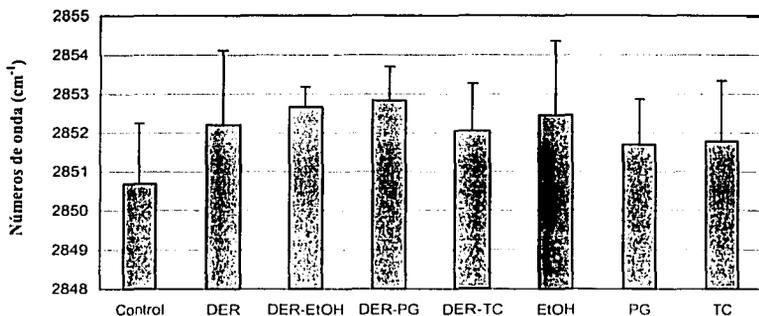


Gráfico 18. Resultados de los números de onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo 1 hora después de haber retirado la formulación

Tal y como sucede con las bandas asimétricas, aunque parece haber un ligero desplazamiento con DER-PG o incluso DER-EtOH (gráfico 18 y 19) el hecho de que el Dermac[®] presente una banda sp^3 (2853.0) a un número de onda muy cercano a la banda asimétrica de los lípidos del estrato córneo (2850) hace difícil definir si el cambio se debe a la presencia del Dermac[®] o a una interacción con los lípidos.

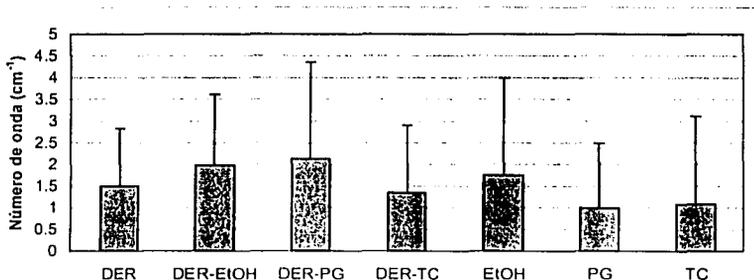


Gráfico 19. Cambio absoluto de los números de onda para las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de 1 hora de haber retirado la formulación

Del análisis de varianza de estos resultados podemos concluir que no existe diferencia estadísticamente significativa entre ellos ($F = 0.949$ y $F_{crítica} = 3.124$) con una confiabilidad del 99%. En el análisis de varianza de dos factores tampoco se observan diferencias entre los tiempos ($F = 1.338$ y $F_{crítica} = 3.414$), entre los tratamientos si se observa diferencia ($F = 3.493$ y $F_{crítica} = 2.730$) no obstante al realizar la prueba de Tukey se aprecia que esta diferencia es entre el control y Transcutol[®] inmediatamente después de haber retirado la formulación ($DVS = 4.073$ y diferencia absoluta entre los promedios = 5.067) (Anexos 10.3.2). A continuación se muestran las áreas normalizadas de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos del estrato córneo, las normalizaciones de las áreas, se realizaron como en las bandas asimétricas, a partir del análisis de varianza de dos factores, se aprecia que no existen diferencias estadísticamente significativas, ni entre los tiempos ($F = 0.172$ y $F_{crítica} = 3.414$) ni entre los diferentes tratamientos ($F = 1.367$ y $F_{crítica} = 2.730$) (Anexos 10.3.2).

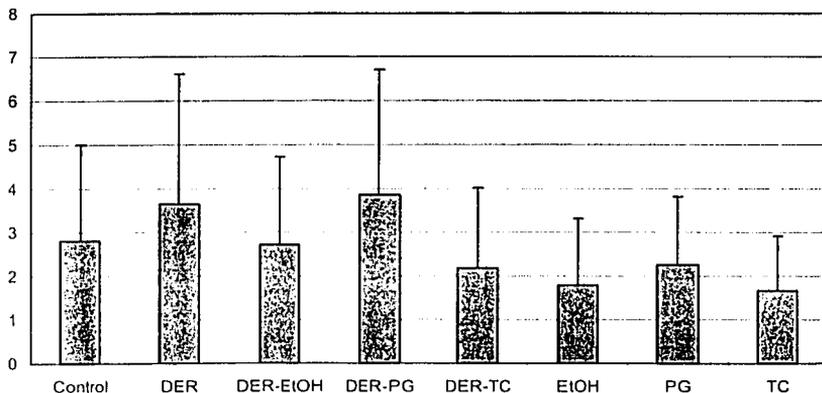


Gráfico 20. Áreas normalizadas de las bandas simétricas de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de 1 hora de haber retirado la formulación

Resultados y Discusión

En resumen, como se ha podido observar en este trabajo, para determinar si hubo fluidización de lípidos se determinó el cambio absoluto en el desplazamiento de las bandas correspondientes a las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo; encontrándose que no hubo diferencia estadística entre las diferentes formulaciones estudiadas. Con respecto a la extracción de lípidos sucede algo similar, ya que las áreas normalizadas no muestran diferencias estadísticas para las bandas correspondientes a estiramientos asimétricos ni tampoco para los estiramientos simétricos.

Cabe mencionar que en los datos iniciales de los estiramientos asimétricos se encuentran dos diferencias importantes las cuales son: a) Entre el control y DER-PG (al tiempo cero) y b) Entre el control y DER-EtOH (a la primera hora), lo cual puede atribuirse a una posible interferencia por las señales del DER o por la fluidización de las cadenas alquílicas de los lípidos de la membrana, aunque todo parece indicar que fue por ambas razones.

Finalmente, al realizar el análisis para el cambio absoluto del número de onda de las bandas debidos a estiramientos por N-H y O-H (localizados aproximadamente a 3275 cm^{-1}) tampoco se observa diferencias estadísticas significativas ($F = 0.328$ y $F_{\text{crítica}} = 2.371$) (Gráfico 21).

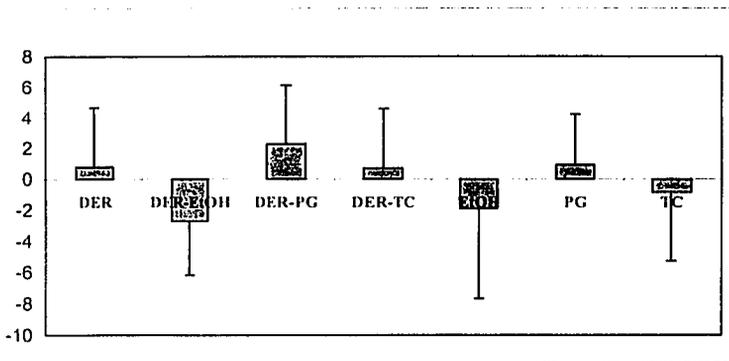


Gráfico 21. Cambio absoluto de los números de onda para las bandas debidos a estiramientos por N-H y O-H de los lípidos, proteínas y agua del estrato córneo después de 1 hora de haber retirado la formulación

6.2 *In vitro*

6.2.1 Determinación de la solubilidad

La solubilidad a 37°C en etanol al 40 % es: Para Acetaminofén de 382.23 mg/ml, para Ácido Salicílico de 68.3 mg/ml y para Lidocaína de 57.9 mg/ml; lo que asegura que se mantengan condiciones "sink" en el compartimiento receptor durante las permeaciones.

6.2.2 Permeaciones

Además de las medidas *in vivo* de TEWL y FTIR/ATR, se procedió a realizar permeaciones *in vitro*, con el fin de evaluar el efecto del DER sobre el transporte de fármacos con diferente lipofilia y compararlo con el de la AZO. Se consideró importante estudiar el paso a través de una membrana queratinizada (piel) y también de una membrana no queratinizada (mucosa bucal), con un patrón de diferenciación similar. Para lo cual se eligieron tres fármacos con diferente lipofilia, esto es diferente Log de P, el cual fue determinado mediante el programa computacional ACDLABS (Advanced Chemistry Development desarrollado y distribuido por Chem Sketch Ver. 5.12 Inc. 2002.)

Se eligió como disolvente para DER y AZO el propilenglicol con base a los resultados obtenidos por las técnicas de TEWL y FTIR/ATR. En el receptor se colocó etanol al 40 %, tal y como se indica en la metodología (Fig. 34).

Para cuantificar la cantidad de fármaco se realizaron curvas de calibración, para lo cual la técnica analítica usada fue HPTLC, como ya se mencionó. De los cromatogramas se pueden obtener tanto la altura como el área del pico; en este trabajo se utilizó el área del pico cromatográfico, para realizar las curvas.

En las dos secciones siguientes se muestran las curvas de calibración realizadas para cada fármaco tanto en piel como en mucosa bucal (gráficos 22, 24, 26, 28, 30, 32 y 33) así como las gráficas que indican las Cinéticas de Permeación para los dos promotores y los tres fármacos (gráficos 23, 25, 27, 29, 31 y 34).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Los Valores de Flujo se obtuvieron mediante la siguiente fórmula:

$$J = \frac{\Delta Q/S}{\Delta t} \quad \text{Ec. 9}$$

Donde:

$\Delta Q/S$ = Cantidad de soluto transferido por unidad de área

Δt = Tiempo

Los valores de flujo corresponden a la pendiente de la sección lineal de las cinéticas de permeación y la intersección con el eje de las "x" corresponde al t_{lag} .

6.2.2.1 En piel (membrana biológica queratinizada)

A) Acetaminofén

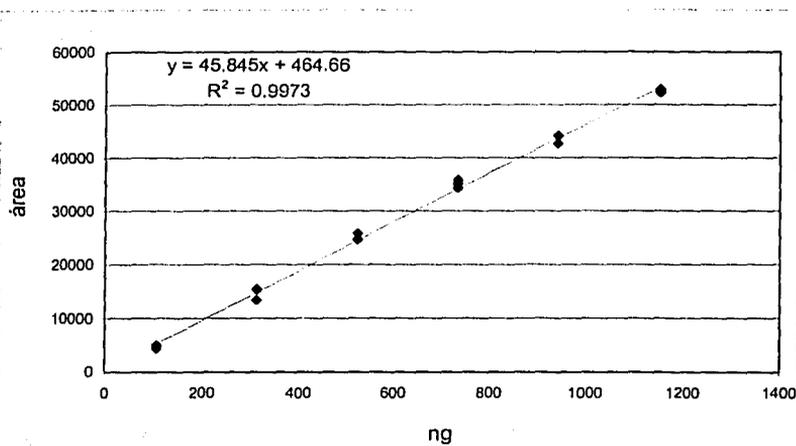


Gráfico 22. Curva de Calibración para Acetaminofén ($\lambda_{max} = 250 \text{ nm}$)

El gráfico 22 muestra la curva de calibración realizada para acetaminofén (log de $P = 0.34 \pm 0.21$.) En el gráfico 23 se presentan las cinéticas de permeación para el control, esto es la piel sin pre-tratamiento, y usando como promotor AZO y DER y en las tablas 13-16 se indican el resumen de los resultados obtenidos en estas permeaciones.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

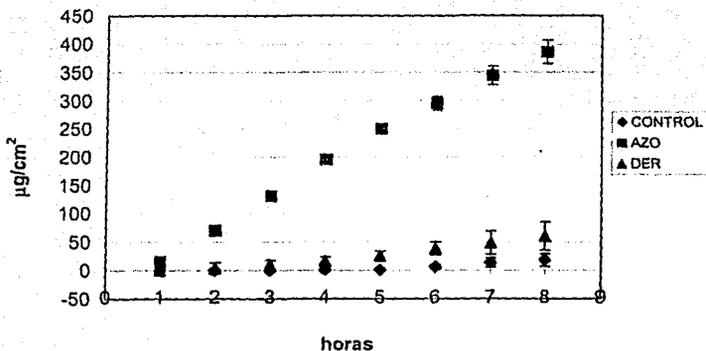


Gráfico 23. Cinéticas de Permeación para Acetaminofén - Piel

Tabla 13. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Acetaminofén - Piel

	t_{lag}
Acetaminofén (Control)	4.822927398
Acetaminofén-AZO	0.566347138
Acetaminofén-DER	1.614264326

Tabla 14. Valores de Flujo (J) de Acetaminofén - Piel

	J [=] $\mu\text{g}/\text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol}/\text{h cm}^2$
Acetaminofén (Control)	5.9213 ± 3.8163	0.0392 ± 0.0252
Acetaminofén-AZO	53.7250 ± 3.3412	0.3553 ± 0.0221
Acetaminofén-DER	8.8164 ± 3.0414	0.0583 ± 0.0201

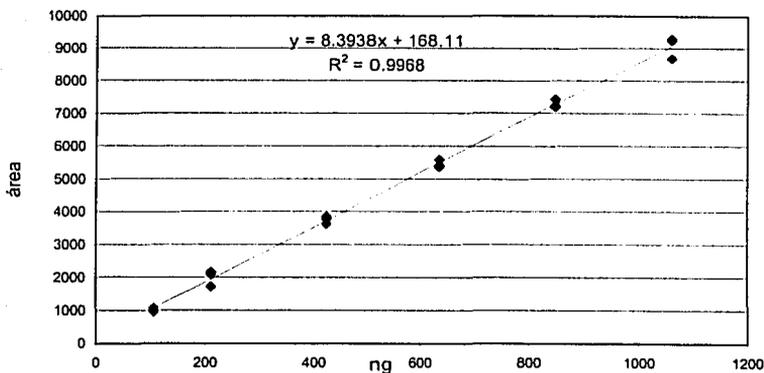
Tabla 15. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Acetaminofén - Piel

	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Acetaminofén (Control)	18.4193 ± 11.1443	0.1218 ± 0.0737
Acetaminofén-AZO	386.5665 ± 24.5199	2.5567 ± 0.1622
Acetaminofén-DER	60.5472 ± 20.6710	0.4004 ± 0.1367

Tabla 16. Factor de Promoción (K_R) para Acetaminofén - Piel

	K_R	SD
Acetaminofén (Control)		
Acetaminofén-AZO	$9.0732 \pm$	0.5643
Acetaminofén-DER	$1.4889 \pm$	0.5136

B) Ácido Salicílico

Gráfico 24. Curva de Calibración para Ácido Salicílico ($\lambda_{\max} = 300 \text{ nm}$)

El gráfico 24 muestra la curva de calibración realizada para ácido salicílico (\log de $P = 1.19 \pm 0.23$.) En el gráfico 25 se presentan las cinéticas de permeación para el control y usando como promotor AZO y DER. Las tablas 17-20 señalan el resumen de los resultados obtenidos en estas permeaciones.

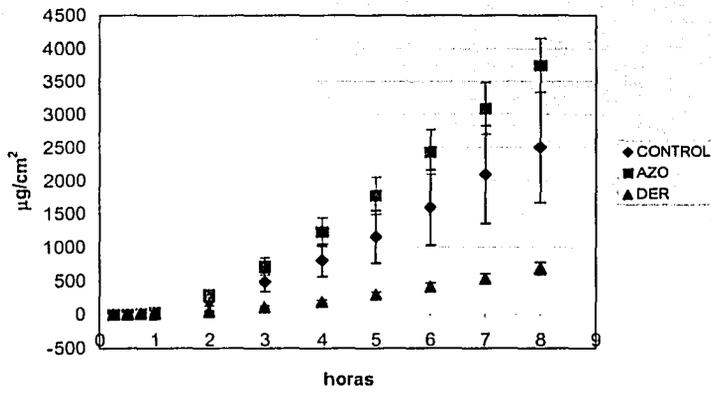


Gráfico 25. Cinéticas de Permeación para Ácido Salicílico - Piel

Tabla 17. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Ácido Salicílico - Piel

	t_{lag}
Ácido Salicílico (Control)	1.753986801
Ácido Salicílico-AZO	1.743153919
Ácido Salicílico- DER	1.960014948

Tabla 18. Valores de Flujo (J) de Ácido Salicílico - Piel

	J [=] $\mu\text{g}/\text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol}/\text{h cm}^2$
Ácido Salicílico (Control)	389.4050 ± 136.5928	2.9703 ± 1.0419
Ácido Salicílico - AZO	582.4520 ± 63.3128	4.4428 ± 0.4829
Ácido Salicílico - DER	107.0395 ± 13.1109	0.8165 ± 0.1000

Tabla 19. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Ácido Salicílico - Piel

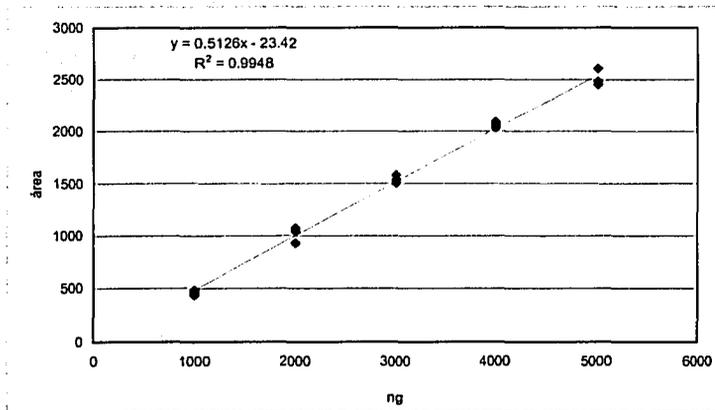
	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Ácido Salicílico (Control)	2507.2379 ± 834.1425	19.1246 ± 6.3626
Ácido Salicílico - AZO	3744.4245 ± 407.5491	28.5616 ± 3.1087
Ácido Salicílico - DER	685.4193 ± 92.2430	5.2282 ± 0.7036

Tabla 20. Factor de Promoción (K_R) para Ácido Salicílico - Piel

	K_R	SD
Ácido Salicílico (Control)		
Ácido Salicílico - AZO	1.4957 ±	0.1626
Ácido Salicílico - DER	0.2749 ±	0.0337

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C) Lidocaína

Gráfico 26. Curva de Calibración para Lidocaína ($\lambda_{\text{max}} = 264 \text{ nm}$)

El gráfico 26 muestra la curva de calibración realizada para lidocaína (log de P = 2.36 ± 0.26 .) En el gráfico 27 se presentan las cinéticas de tanto para el control, como para AZO y DER. Las tablas 21-24 indican el resumen de los resultados obtenidos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

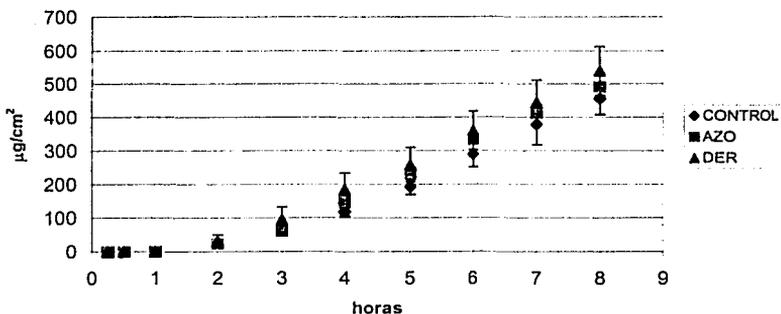


Gráfico 27. Cinéticas de Permeación para Lidocaína - Piel

Tabla 21. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Lidocaína - Piel

	t_{lag}
Lidocaína (Control)	2.093461189
Lidocaína-AZO	2.023280785
Lidocaína-DER	1.806840858

Tabla 22. Valores de Flujo (J) de Lidocaína - Piel

	J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol} / \text{h cm}^2$
Lidocaína (Control)	74.8763 ± 10.8882	0.3196 ± 0.0465
Lidocaína-AZO	81.9555 ± 17.9731	0.3498 ± 0.0767
Lidocaína-DER	85.6913 ± 11.2332	0.3657 ± 0.0479

Tabla 23. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Lidocaína - Piel

	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Lidocaína (Control)	456.5258 ± 47.9466	1.9485 ± 0.2046
Lidocaína-AZO	492.4728 ± 94.2547	2.1019 ± 0.4023
Lidocaína-DER	539.4279 ± 73.4572	2.3023 ± 0.3135

Tabla 24. Factor de Promoción (K_R) para Lidocaína - Piel

	K_R	SD
Lidocaína (Control)		
Lidocaína-AZO	1.0945 ±	0.2400
Lidocaína-DER	1.1444 ±	0.1500

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.2.2.2 En Mucosa Bucal (membrana biológica no queratinizada)

A) Acetaminofén

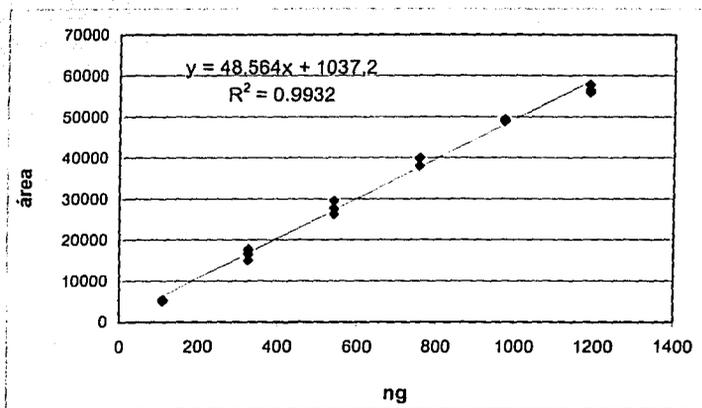


Gráfico 28. Curva de Calibración para Acetaminofén ($\lambda_{max} = 250 \text{ nm}$)

El gráfico 28 muestra la curva de calibración realizada para acetaminofén (log de $P = 0,34 \pm 0,21$.) Las tablas 25-28 indican el resumen de los resultados obtenidos y en el gráfico 29 se presentan las cinéticas de permeación para el control, AZO y DER.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

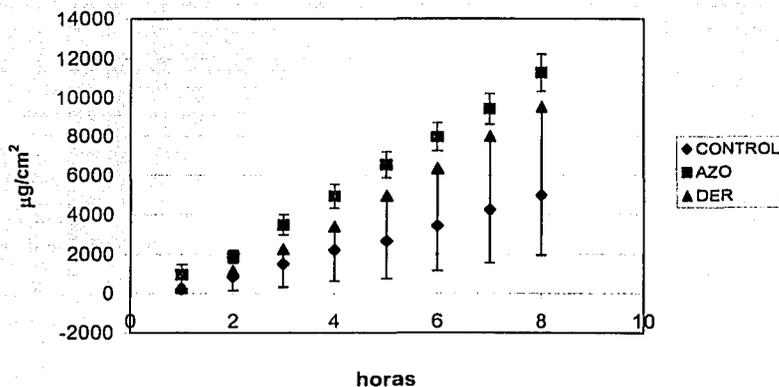


Gráfico 29. Cinéticas de Permeación para Acetaminofén – Mucosa Bucal

Tabla 25. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Acetaminofén – Mucosa Bucal

	t_{lag}
Acetaminofén (Control)	0.782544269
Acetaminofén-AZO	0.594694372
Acetaminofén-DER	1.149504138

Tabla 26. Valores de Flujo (J) de Acetaminofén – Mucosa Bucal

	J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol} / \text{h cm}^2$
Acetaminofén (Control)	674.8420 \pm 400.5145	4.4632 \pm 2.6489
Acetaminofén-AZO	1487.1250 \pm 92.8638	9.8355 \pm 0.6142
Acetaminofén-DER	1341.1033 \pm 592.3367	8.8697 \pm 3.9176

Tabla 27. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Acetaminofén – Mucosa Bucal

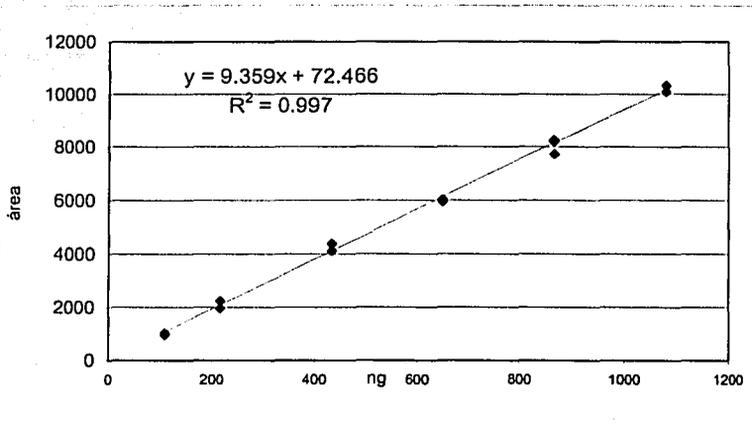
	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Acetaminofén (Control)	4978.2218 \pm 3028.0303	32.9247 \pm 20.0267
Acetaminofén-AZO	11271.4538 \pm 953.6032	74.5467 \pm 6.3069
Acetaminofén-DER	9526.4846 \pm 4428.4002	63.0059 \pm 29.2884

Tabla 28. Factor de Promoción (K_R) para Acetaminofén – Mucosa Bucal

	K_R	SD
Acetaminofén (Control)		
Acetaminofén-AZO	2.2037	\pm 0.1376
Acetaminofén-DER	1.9873	\pm 0.8777

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B) Ácido Salicílico

Gráfico 30. Curva de Calibración para Ácido Salicílico ($\lambda_{\max} = 300 \text{ nm}$)

El gráfico 30 muestra la curva de calibración realizada para ácido salicílico (\log de $P = 1.19 \pm 0.23$.) Las tablas 29-32 indican el resumen de los resultados obtenidos y en el gráfico 31 se presentan las cinéticas de permeación para el control, AZO y DER.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

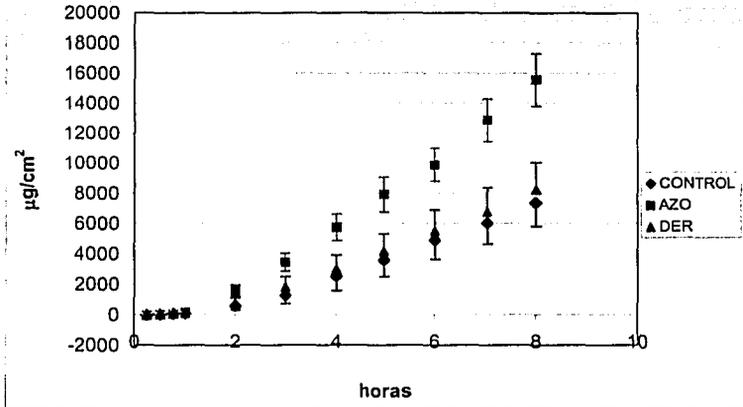


Gráfico 31. Cinéticas de Permeación para Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

Tabla 29. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

	t_{lag}
Ácido Salicílico (Control)	1.767470088
Ácido Salicílico-AZO	1.505411906
Ácido Salicílico-DER	1.537429719

Tabla 30. Valores de Flujo (J) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

	J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol} / \text{h cm}^2$
Ácido Salicílico (Control)	1153.3680 \pm 217.5154	8.7976 \pm 1.6592
Ácido Salicílico - AZO	2328.2167 \pm 239.6727	17.7591 \pm 1.8282
Ácido Salicílico - DER	1245.0175 \pm 251.1768	9.4967 \pm 1.9159

Tabla 31. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Ácido Salicílico (Control)	7338.8327 \pm 1527.7651	55.9789 \pm 11.6534
Ácido Salicílico - AZO	15581.1998 \pm 1751.5582	118.8497 \pm 13.3605
Ácido Salicílico - DER	8240.3516 \pm 1802.6414	62.8555 \pm 13.7501

Tabla 32. Factor de Promoción (K_R) para Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

	K_R	SD
Ácido Salicílico (Control)		
Ácido Salicílico - AZO	2.0186 \pm	0.2078
Ácido Salicílico - DER	1.0795 \pm	0.2178

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

C) Lidocaína

En este caso se realizaron dos curvas de calibración, de 1006 a 5030 ng (gráfico 32) y la otra de 6036 a 11066 ng (gráfico 33).

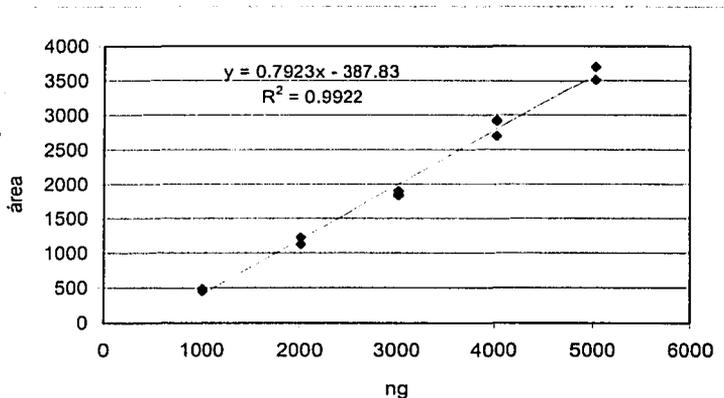


Gráfico 32. Curva de Calibración para Lidocaína de 1006 a 5030 ng $\lambda_{\max} = 264$ nm

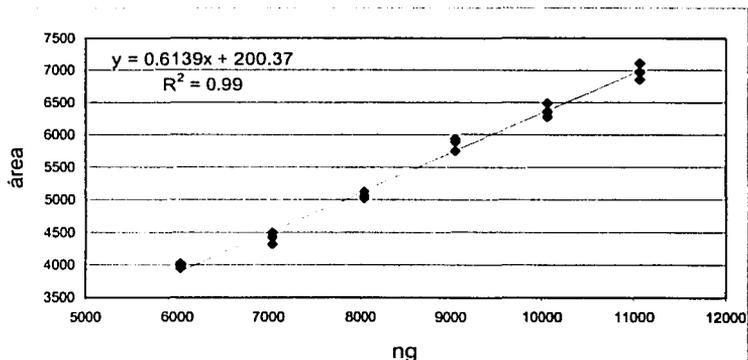


Gráfico 33. Curva de Calibración para Lidocaína de 6036 a 11066 ng $\lambda_{\max} = 264$ nm

El gráfico 34 presenta las cinéticas de permeación para lidocaína ($\log P = 2.36 \pm 0.26$) con el control, AZO y DER. Las tablas 33-36 señalan los resultados obtenidos en estas permeaciones.

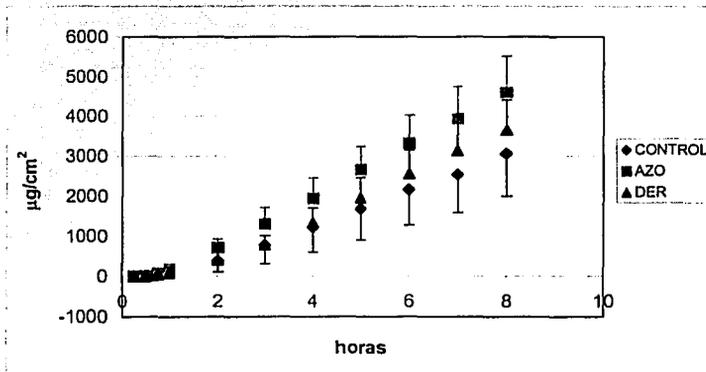


Gráfico 34. Cinéticas de Permeación para Lidocaína – Mucosa Bucal

Tabla 33. Tiempos de Latencia (t_{lag} [=] h) de Lidocaína – Mucosa Bucal

	t_{lag}
Lidocaína (Control)	1.233161085
Lidocaína-AZO	0.888580338
Lidocaína-DER	1.239154074

Tabla 34. Valores de Flujo (J) de Lidocaína – Mucosa Bucal

	J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$	J [=] $\mu\text{mol} / \text{h cm}^2$
Lidocaína (Control)	447.0280 \pm 129.0468	1.9079 \pm 0.5508
Lidocaína-AZO	644.5940 \pm 120.2876	2.7511 \pm 0.5134
Lidocaína-DER	533.3825 \pm 103.2583	2.2765 \pm 0.4407

Tabla 35. Cantidad máxima acumulada en 8 h (CM) de Lidocaína – Mucosa Bucal

	CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	CM [=] $\mu\text{mol}/\text{cm}^2$
Lidocaína (Control)	3059.3083 \pm 1064.3878	13.0572 \pm 4.5428
Lidocaína-AZO	4601.7019 \pm 918.9027	19.6402 \pm 3.9219
Lidocaína-DER	3659.9785 \pm 753.3832	15.6209 \pm 3.2155

Tabla 36. Factor de Promoción (K_R) para Lidocaína – Mucosa Bucal

	K_R	SD
Lidocaína (Control)	\pm	
Lidocaína-AZO	1.4420 \pm	0.2691
Lidocaína-DER	1.1932 \pm	0.2310

6.2.3 Comparaciones entre las dos membranas

A continuación se muestra un resumen de los resultados obtenidos en piel y mucosa bucal (gráficos 35-40) para posteriormente discutir estos resultados con más detalle. En el anexo 10.3.3.3 se muestra el resumen en valores numéricos.

Recordando los valores del logaritmo del Coeficiente de Partición octanol – agua, obtenidos del programa computacional ACDLABS:

Acetaminofén Log P = 0.34 ± 0.21

Ácido Salicílico Log P = 1.19 ± 0.23

Lidocaína Log P = 2.36 ± 0.26

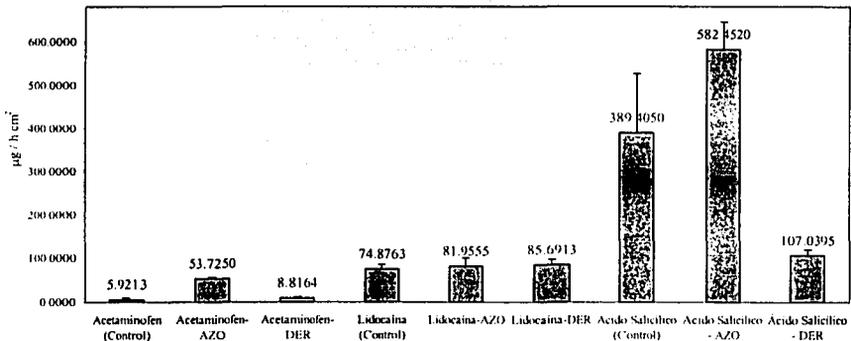


Gráfico 35. Valores de Flujo en piel (J [=] µg/h cm²)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

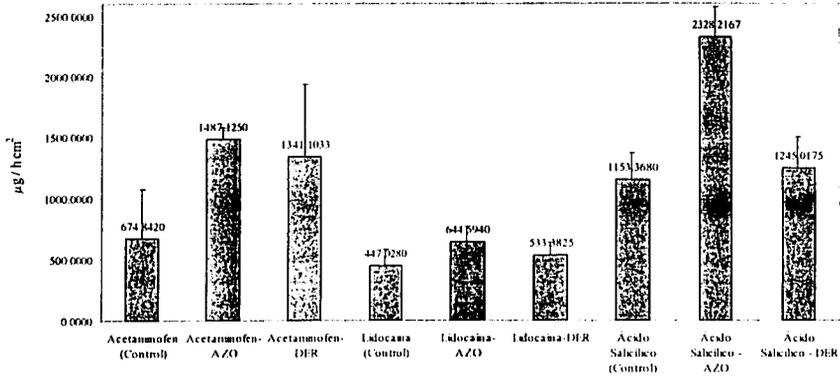


Gráfico 36. Valores de Flujo en mucosa bucal (J [=] µg/h cm²)

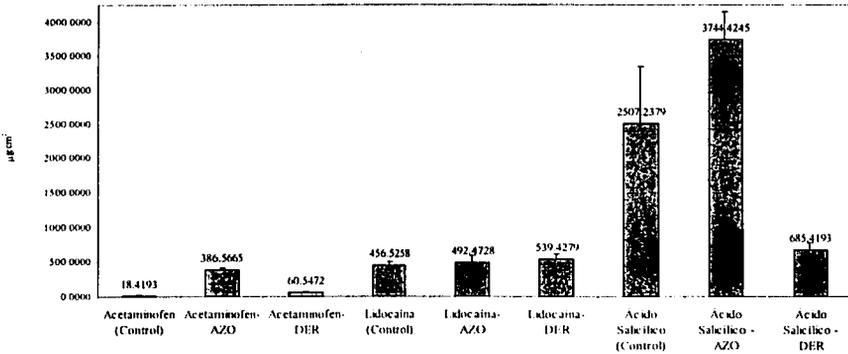


Gráfico 37. Cantidad Máxima Acumulada en 8 h en piel (CM [=] µg/cm²)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

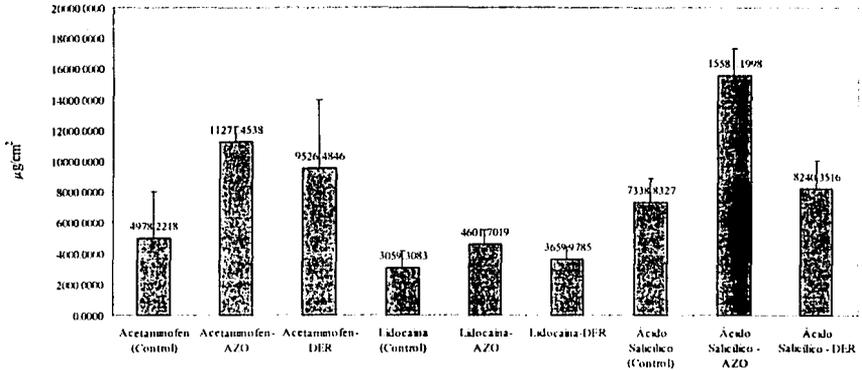


Gráfico 38. Cantidad Máxima Acumulada en 8 h en mucosa bucal (CM [=] µg/cm²)

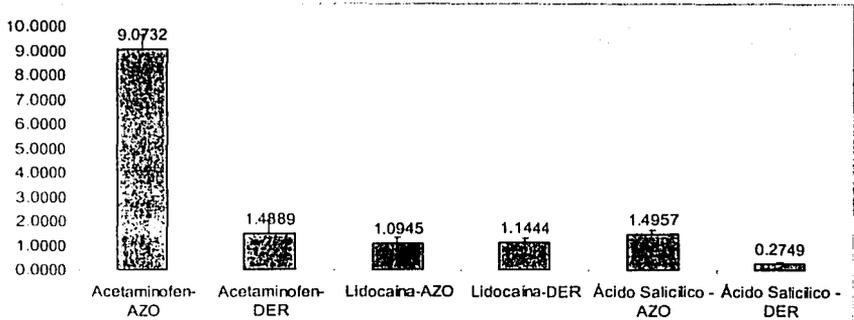
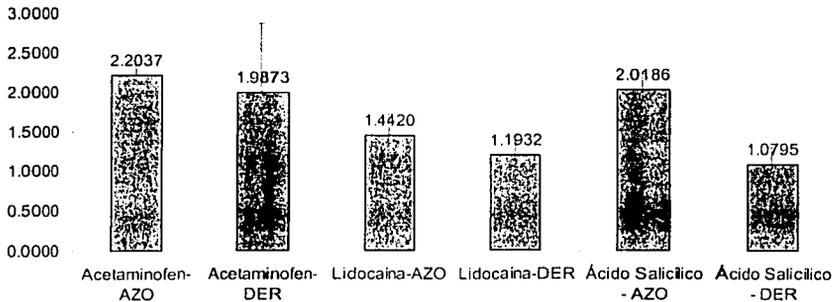


Gráfico 39. Factor de Promoción en placa (K_p)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Gráfico 40. Factor de Promoción en mucosa bucal (K_R)

Como se puede observar los valores de flujo son mucho menores para el caso de piel que en el caso de mucosa bucal, debido a que la piel es una membrana compuesta de corneocitos (células queratinizadas) embebidas en una matriz lipídica, mientras que la mucosa bucal carece de queratina (membrana no queratinizada) lo que da como resultado una barrera de permeabilidad menos eficiente permitiendo el paso de mayor cantidad de fármaco a través de ella, ya sea con el uso de promotor o sin este, dado que incluso en donde únicamente se coloca el activo (control) se aprecian valores de flujo mucho mayores.

Así mismo, la cantidad máxima acumulada después de las 8 horas de la permeación es mucho mayor para el caso de la mucosa bucal que en piel. El caso del acetaminofén es el más dramático dado que en el grupo control aumenta 270.3 veces en piel con respecto a mucosa bucal. Considerando que es un activo hidrofílico y que el paso a través de las membranas está limitado por lípidos y en el caso de la piel por la presencia de queratina, podría pensarse que el caso de la mucosa bucal en donde los lípidos guardan menos orden, debido en parte a la presencia de glicosilceramidas, el paso de los principios activos pueda verse favorecido, en particular para el acetaminofén el cual puede permear a través de los canales acuosos de la bicapa. En el caso del

ácido salicílico (grupo control) se ve aumentado únicamente 2.9 veces, es decir prácticamente se triplica la cantidad máxima permeada a través de la mucosa bucal, finalmente para el caso de lidocaína el aumento es de 6.7 veces.

Otro punto importante que se debe analizar antes de abordar el tema de la promoción de Azona[®] y Dermac[®] es que el activo que mejor penetra es el ácido salicílico, esto se puede explicar debido a que tiene un Log P de 1.19 ± 0.23 , es decir que tiene características tanto lipofílicas como hidrofílicas, lo que facilita el paso a través de la membrana y se asegura su incorporación casi inmediata al medio de disolución, que en este caso fue etanol al 40%.

Estos resultados están de acuerdo a lo reportado por diversos autores [Barry, 2001 y Hadgraft, 2001], quienes han encontrado que un Log P < 1 favorece la partición con el estrato córneo o bien la capa superficial del epitelio (en el caso de la mucosa bucal) ambos con características lipofílicas, para posteriormente difundir hacia las capas más internas, con características más bien hidrofílicas. De ahí la mayor dificultad para penetrar de compuestos muy hidrofílicos o muy lipofílicos.

Con respecto al efecto promotor, se puede observar que en el caso de la Azona[®] la cantidad penetrada de los tres activos aumenta, lo cual concuerda con lo reportado en la literatura [Barry, 1987; Allan, 1995; Walters y Hadgraft, 1993; Smith e Irwin, 2000; etc.]; no obstante se aprecia un efecto mayor para acetaminofén ya que a través de piel se obtiene un factor de promoción de 9.0732 y de mucosa bucal de 2.2037, lo que suena lógico considerando que la penetración para este activo está limitada por los lípidos de la membrana (recordando que el acetaminofén es un activo hidrofílico $\log P = 0.34 \pm 0.21$). Debido a la acción que ejerce la Azona[®] sobre los lípidos de la membrana, insertando su cadena y creando huecos debido a la formación de puentes de hidrógeno con los grupos polares de los lípidos (ver antecedentes apartado 2.3.3), se espera que compuestos tanto hidrofílicos como lipofílicos vean incrementado su transporte; sin embargo, este efecto puede ser más significativo para los compuestos hidrofílicos, pues se abren canales que permiten su permeación. Con base a las consideraciones

anteriores podríamos decir que se espera un efecto mayor para el ácido salicílico que para la lidocaína, y en efecto esto es lo que

sucede. Al comparar las dos membranas se puede observar que para los casos del ácido salicílico y lidocaína el factor de promoción es mayor en mucosa bucal que en piel, caso contrario del acetaminofén. Esto se puede deber a que en la mucosa bucal los lípidos guardan menos orden, debido en parte a la presencia de glicosilceramidas y los activos mientras más lipofílicos pasan más fácilmente la membrana, en el caso del acetaminofén al ser un activo hidrofílico atraviesa más fácilmente la mucosa bucal que la piel pero al agregar AZO y desordenar los lípidos de la membrana el efecto es más drástico en piel, probablemente debido a que en mucosa bucal se "saturan" los canales de permeación.

La situación del Dermac[®] es diferente, en todos los casos el efecto promotor es muy pobre dado que el factor de promoción es menor de 2, esto es, no aumenta la penetración ni al doble con respecto al control; además para el ácido salicílico en piel se tiene un efecto contrario, o sea retarda la penetración 3.7380 veces, dado que presenta un factor de promoción de 0.2749, lo que concuerda con estudios anteriores obtenidos en éste laboratorio (Acevedo, 1999 y Rosendo, 1999) en los cuales el Dermac[®] también presentaba un efecto retardador para 5-fluorouracilo ($\log P = -0.95$) a través de piel y mucosa bucal y para cafeína ($\log P = -0.07$) e ibuprofeno ($\log P = 3.51$) a través de mucosa bucal (en el anexo 10.3.3.3 se reporta un resumen de todos los valores de flujo y factores de promoción para los seis activos) de lo cual podemos deducir que para el caso del Dermac[®] la penetración a través de membranas ocurre por un mecanismo distinto al de la Azona[®], pues como se ha constatado en los estudios realizados en nuestro laboratorio el Dermac[®] funciona en ciertos casos como promotor (menos efectivo que la Azona[®]) y en otros como retardador, lo cual puede estar asociado con la posible interacción entre el promotor y el fármaco, es por ello que en la siguiente sección se establece la correlación estructura química (interacciones químicas entre promotor y activo)- actividad biológica (factores de promoción).

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.3 Correlación Estructura – Actividad

Como se menciona en la sección de metodología, para establecer la correlación Estructura – Actividad, es necesario primero generar las estructuras químicas, determinar la estructura más estable y obtener los descriptores para cada fármaco y compuesto formados para posteriormente relacionarlos con la actividad biológica, que en este caso es el factor de promoción.

6.3.1 Generación de las estructuras químicas

Las estructuras químicas generadas en dos dimensiones fueron las siguientes (figuras 40 - 47):

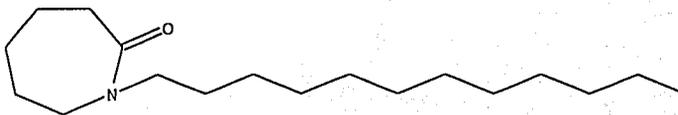


Fig. 40 Azona[®]

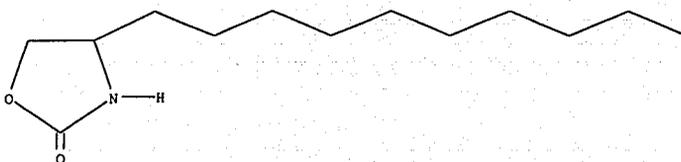


Fig. 41 Dermac[®]

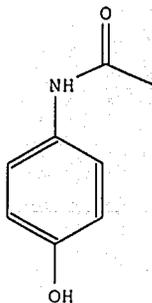


Fig. 42 Acetaminofén

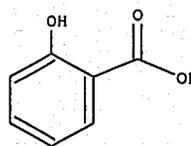


Fig. 43 Ácido Salicílico

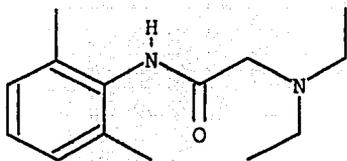


Fig. 44 Lidocaína

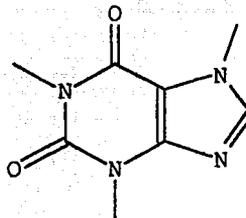


Fig. 46 Cafeína

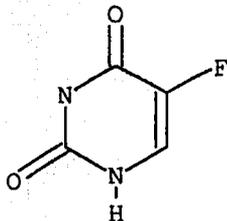


Fig. 45 5 - Fluorouracilo

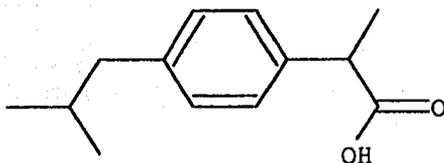


Fig. 47 Ibuprofeno

Como ya se mencionó posteriormente se procedió a generar éstas estructuras en tres dimensiones, a continuación se muestra un ejemplo de las posibles posiciones de las estructuras químicas (figuras 48 - 55).

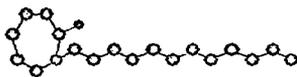


Fig. 48 Azona®



Fig. 50 Acetaminofén

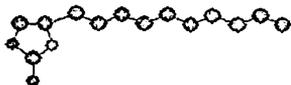


Fig. 49 Dermac®

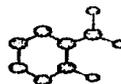


Fig. 51 Ácido Salicílico

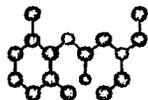


Fig. 52 Lidocaína

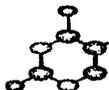


Fig. 53 5- Fluorouracilo

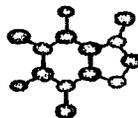


Fig. 54 Cafeína

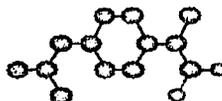


Fig. 55 Ibuprofeno

6.3.2 Mecánica molecular

A continuación se ilustra el momento dipolo de cada fármaco, como un ejemplo de cómo se obtuvieron estos parámetros (figuras 56 - 61).



Fig. 56 Acetaminofén ($\mu = 2.72$)

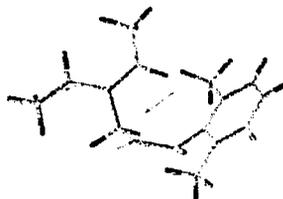


Fig. 58 Lidocaína ($\mu = 3.71$)

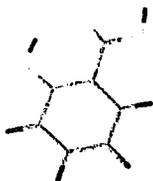


Fig. 57 Ácido Salicílico ($\mu = 2.09$)

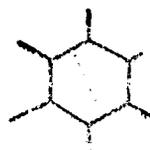


Fig. 59 5-Fluorouracilo ($\mu = 3.57$)

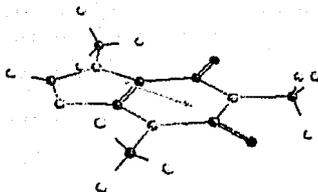


Fig. 60 Cafeína ($\mu = 3.9$)

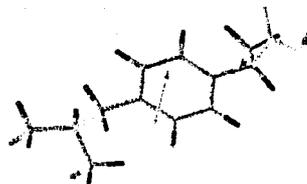


Fig. 61 Ibuprofeno ($\mu = 1.8$)

6.3.3 Mecánica cuántica

A continuación se muestra la distribución de las densidades electrónicas con base al HOMO (orbital molecular más alto ocupado) y LUMO (orbital molecular más bajo desocupado) de cada molécula (figuras 62 - 73.)



Fig. 62 Acetaminofén - HOMO (-8.55829)



Fig. 64 Ácido Salicílico - HOMO (-9.40205)



Fig. 63 Acetaminofén - LUMO (-0.02438)



Fig. 65 Ácido Salicílico - LUMO (-0.65019)



Fig. 66 Lidocafna – HOMO (-9.17845)

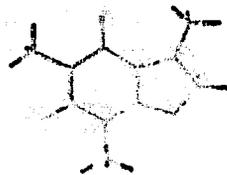


Fig. 70 Cafefna – HOMO (-9.00178)

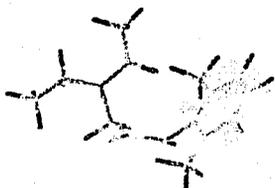


Fig. 67 Lidocafna – LUMO (-0.05165)

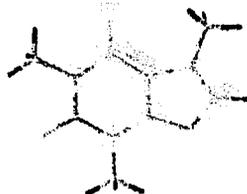


Fig. 71 Cafefna – LUMO (-0.54058)



Fig. 68 5-Fluorouracilo – HOMO (-9.75174)



Fig. 72 Ibuprofeno – HOMO (-9.54065)

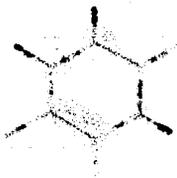


Fig. 69 5-Fluorouracilo – LUMO (-0.84054)

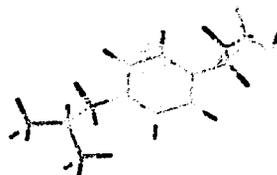


Fig. 73 Ibuprofeno – LUMO (0.0465)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Antes de indicar los valores obtenidos, recordemos los descriptores que se han estudiado:

ΔH	Calor de formación en Kcal/mol
HOMO	Orbital molecular más alto ocupado en electro Voltios (eV)
LUMO	Orbital molecular más bajo desocupado en eV.
H_L	Diferencia de HOMO-LUMO en eV.
LOG_P	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en Spartan)
LOGP ^a	Log del Coeficiente de partición octanol/agua (Calculado en ACDLABSLABS)
DIPOLO	Momento dipolo en Debyes
ÁREA	Área molecular total en Å ²
VOL	Volumen Molecular total en Å ³
RM	Refractividad molecular en cm ³
S	Solubilidad en agua en mol/lit
LOGI_S	Log de 1/S (Log del inverso de la solubilidad)
BCF	Factor de bioconcentración
LOGBCF	Log del factor de bioconcentración
pKA	pKa
CAZO_ΔH	Calor de formación del complejo Azona [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CAZO_HOMO	HOMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_LUMO	LUMO del complejo Azona [®] -Principio Activo
CAZO_H_L	HOMO-LUMO del complejo Azona [®] - Principio Activo en eV
CAZO_LOGP	Log P del complejo Azona [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CAZO_DIP	Dipolo del complejo Azona [®] - Principio Activo
CAZO_AREA	Área total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ²
CAZO_VOL	Volumen total del complejo Azona [®] - Principio Activo en Å ³
CDER_ΔH	Calor de formación del complejo Dermac [®] -Principio Activo en Kcal/mol
CDER_HOMO	HOMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_LUMO	LUMO del complejo Dermac [®] -Principio Activo
CDER_H_L	HOMO-LUMO del complejo Dermac [®] - Principio Activo en eV.
CDER_LOGP	Log P del complejo Dermac [®] - Principio Activo (calculado en Spartan)
CDER_DIP	Dipolo del complejo Dermac [®] - Principio Activo
CDER_AREA	Área total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ²
CDER_VOL	Volumen total del complejo Dermac [®] - Principio Activo en Å ³

En la tabla 37 se muestra el valor para los descriptores, con base a sus propiedades fisicoquímicas, electrónicas y moleculares, para todas las estructuras optimizadas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 37. Valores para los descriptores de las moléculas de los principios activos una vez optimizadas

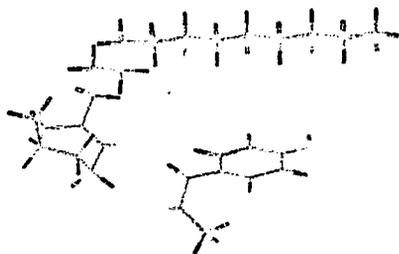
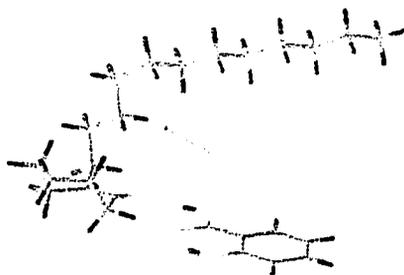
Descriptor	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
ΔH	-64.3638	-114.1587	-42.108	-107.2387	-49.1114	-101.1651
HOMO	-8.55829	-9.40205	-9.17845	-9.75174	-9.00178	-9.54065
LUMO	-0.02438	-0.65019	-0.05165	-0.84054	-0.54058	0.0465
H L	8.53391	8.75186	9.1268	8.28626	8.4612	9.58715
LOG P	0.55	1.2	2.41	-1.31	0.17	3.75
LOGP	0.34	2.06	2.36	0.78	-0.07	3.72
DIPOLO	2.72	2.09	3.71	3.57	3.9	1.8
AREA	192.79	164.8	310.81	144.91	226.64	283.76
VOL	175.61	149.54	300.22	125.31	212.62	261.96
RM	42.4	35.06	72.42	26.17	48.02	60.73
S	0.12	0.0018	0.0097	0.23	0.082	0.00021
LOGI S	0.9	2.7	2	0.6	1.1	3.7
BCF	1.06	21.7	36.5	1	1	397
LOGBCF	0.02	1.3	1.6	0	0	2.6
PKA	10.82	3.01	8.53	7.95	-2.37	4.41

6.3.4 Interacciones fármaco – promotor

Mediante éste estudio computacional se propusieron “*complejos teóricos Promotor-Fármaco*”, en la tabla 38 se muestran los valores obtenidos para los descriptores de los complejos teóricos Azona[®]-Fármaco y Dermac[®]-Fármaco. En las figuras 74 - 79 se presentan algunos de los parámetros establecidos una vez que se ha determinado el “*complejo teórico*” más estable entre fármaco y promotor, en particular de la Azona[®] con los seis fármacos para el momento dipolo, esto es solo con fines ilustrativos, se establecieron factores como energía total, HOMO, LUMO, etc. tanto para Azona[®] como para Dermac[®].

Tabla 38. Algunos descriptores para Azona[®]-Fármaco y Dermac[®]-Fármaco

	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Caféina	Ibuprofeno
CAZO ΔH	-187.4263	-238.5878	-162.6169	-227.9698	-171.7847	-230.3784
CAZO HOMO	-8.50362	-9.18266	-8.96589	-9.44347	-8.6657	-9.35784
CAZO LUMO	0.21872	-0.3798	0.32732	-0.4866	-0.1154	0.22219
CAZO H L	8.72234	8.80286	9.29321	8.95687	8.5503	9.58003
CAZO LOGP	5.63	6.28	7.48	3.77	5.25	8.83
CAZO DIP	2.25	2.75	1.7	1.77	7.87	3.19
CAZO AREA	579.73	553.14	703.17	541.43	626.87	651.34
CAZO VOL	556.94	530.35	684.21	509.9	597.74	641.7
CDER ΔH	-207.3931	-183.6403	-256.9405	-250.8361	-190.029	-247.79
CDER HOMO	-8.66912	-9.11056	-9.36098	-9.55079	-8.85578	-9.50378
CDER LUMO	0.07424	0.12754	-0.59578	-0.65686	-0.30471	0.11055
CDER H L	8.74336	9.2381	8.7652	8.89393	8.55107	9.61433
CDER LOGP	4.32	6.17	4.96	2.45	3.94	7.52
CDER DIP	2.22	2.83	2.73	5.26	5.12	3.71
CDER AREA	489.19	616.3	473.23	453.59	536.47	559.17
CDER_VOL	468.84	593.57	443.18	419.04	509.13	551.4

Fig. 74 Momento dipolo Azona[®]-Acetaminofén
($\mu = 2.25$)Fig. 75 Momento dipolo Azona[®]-Ácido Salicílico ($\mu = 2.75$)

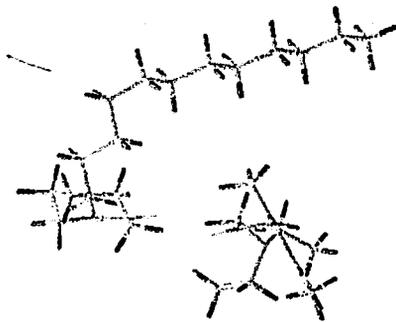


Fig. 76 Momento dipolo Azona[®]-Lidocaína
($\mu = 1.7$)

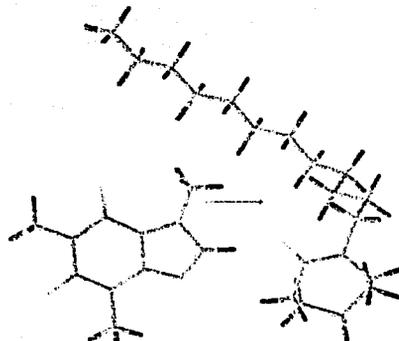


Fig. 78 Momento dipolo Azona[®]-Cafeína
($\mu = 7.87$)

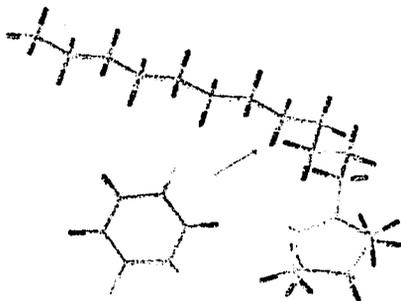


Fig. 77 Momento dipolo Azona[®]-
5-Fluorouracilo
($\mu = 1.77$)

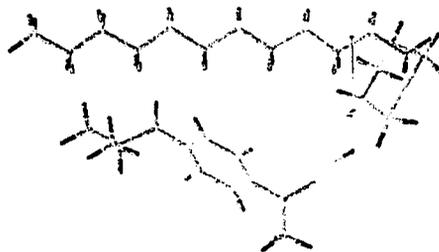


Fig. 79 Momento dipolo Azona[®]-Ibuprofeno
($\mu = 3.19$)

Por otra parte si consideramos al factor de promoción (K_R) como la actividad biológica, esto es la variable dependiente, podemos obtener lo siguiente:

$$K_R = K_P / K_O \quad \text{Ec. 10}$$

Donde:

K_R = Factor de Promoción, el cual también puede ser llamado Flujo Real

K_P = Valores de Flujo con promotor (Azona[®] o Dermac[®])

K_O = Valores de Flujo sin promotor

Si sacamos el logaritmo, tenemos que:

$$\text{Log } K_R = \text{Log } K_P - \text{Log } K_0 \quad \text{Ec. 11}$$

Los valores de K_R y $\text{Log } K_R$ para Azona[®] – Fármaco en piel se describen en la tabla 39, para Dermac[®] – Fármaco en piel la tabla 40, Azona[®] – Fármaco en mucosa bucal en la tabla 41 y Dermac[®] – Fármaco en mucosa bucal en la tabla 42.

Tabla 39. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Azona[®] – Fármaco en Piel

Azona [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K_R	9.072	1.4957	1.0945	1.3297	3.1421	3.1336
$\text{LOG } K_R$	0.958	0.175	0.04	0.124	0.497	0.496

Tabla 40. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Dermac[®] – Fármaco en Piel

Dermac [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K_R	1.489	0.275	1.144	0.657	1.6	2.21
$\text{LOG } K_R$	0.173	-0.561	0.059	-0.182	0.206	0.346

Tabla 41. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Azona[®] – Fármaco en Mucosa Bucal

Azona [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K_R	2.2037	2.0186	1.442	1.941	2.021	1.131
$\text{LOG } K_R$	0.343	0.305	0.160	0.288	0.306	0.053

Tabla 42. Valores K_R y $\text{Log } K_R$ para Dermac[®] – Fármaco en Mucosa Bucal

Dermac [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K_R	1.9873	1.0795	1.1932	0.442	0.9567	0.288
$\text{LOG } K_R$	0.298	0.033	0.077	-0.355	-0.20	-0.54

6.3.5 Relación Estructura Química – Actividad Biológica

A continuación se muestran los *complejos teóricos* formados entre Promotor – Fármaco por puentes de hidrógeno (figuras 80 - 91), para posteriormente escribir la ecuación que describe la relación entre la estructura química del complejo teórico y la actividad biológica que en este caso es el factor de promoción o flujo real.



Fig. 80 Complejo de Azona[®] – Acetaminofén



Fig. 82 Complejo Azona[®] – Lidocaína

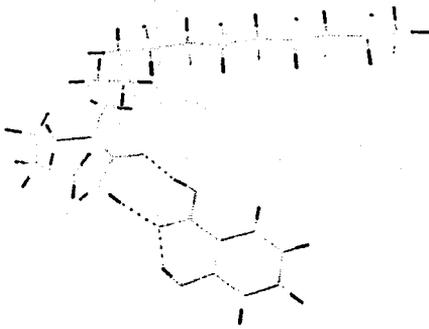


Fig. 81 Complejo Azona[®] – Ácido Salicílico



Fig. 83 Complejo Azona[®] – 5-Fluorouracilo



Fig. 84 Complejo Azona[®] - Cafena

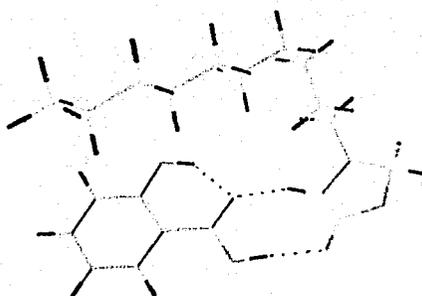


Fig. 87 Complejo Dermac[®] - Ácido Salicílico

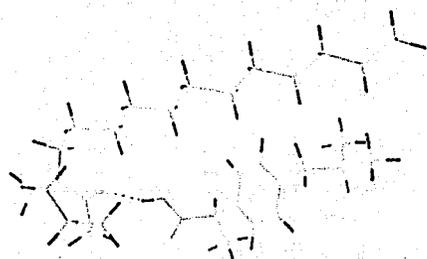


Fig. 85 Complejo Azona[®] - Ibuprofeno

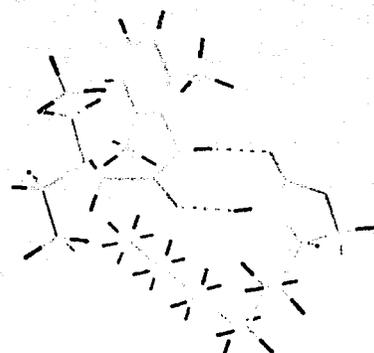


Fig. 88 Complejo Dermac[®] - Lidocaína

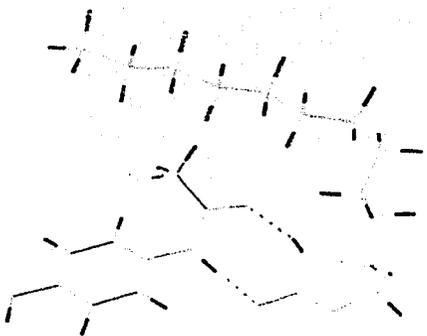
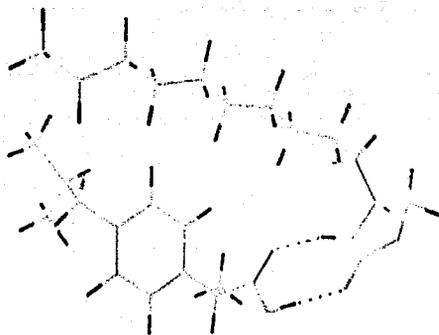


Fig. 86 Complejo Dermac[®] - Acetaminofén



Fig. 89 Complejo Dermac[®] - 5-Fluorouracilo

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Fig. 90 Complejo Dermac[®] - CafeínaFig. 91 Complejo Dermac[®] - Ibuprofeno

Para poder establecer un modelo que describa la relación entre la estructura del complejo Promotor - Fármaco, se realizó un análisis de correlación múltiple y fue evaluado mediante el coeficiente de correlación múltiple (r y r^2), la desviación estándar (SD) y F-estadística (F). El programa estadístico que se usó fue StatSoft para Windows, como ya se mencionó en la metodología. Para el caso de Azona[®]-Principio Activo en piel los resultados se muestran en las tablas 43 y 44 y el modelo se describe en la ecuación 12, para el caso de Dermac[®]-Principio Activo en piel los resultados se muestran en las tablas 45 y 46 y el modelo se describe en la ecuación 13, para el caso de Azona[®]-Principio Activo en mucosa bucal los resultados se muestran en las tablas 47 y 48 y el modelo describe en la ecuación 14, para el caso de Dermac[®]-Principio Activo en mucosa bucal los resultados se muestran en las tablas 49 y 50 y el modelo describe en la ecuación 15.

Tabla 43. Matriz propuesta para las interacciones Azona[®] – Principio Activo en piel

Azona [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K _R	9.072	1.4957	1.0945	1.3297	3.1421	3.1336
LOG K _R	0.958	0.175	0.04	0.124	0.497	0.496
CAZO ΔH	-187.4263	-238.5878	-162.6169	-227.9698	-171.7847	-230.3784
CAZO HOMO	-8.50362	-9.18266	-8.96589	-9.44347	-8.6657	-9.35784
CAZO LUMO	0.21872	-0.3798	0.32732	-0.4866	-0.1154	0.22219
CAZO H L	8.72234	8.80286	9.29321	8.95687	8.5503	9.58003
CAZO LOGP	5.63	6.28	7.48	3.77	5.25	8.83
CAZO DIP	2.25	2.75	1.7	1.77	7.87	3.19
CAZO AREA	579.73	553.14	703.17	541.43	626.87	651.34
CAZO VOL	556.94	530.35	684.21	509.9	597.74	641.7

Tabla 44. Resultados para las interacciones Azona[®] – Principio Activo en piel

Resumen de la Regresión para la variable dependiente: Log K _R r = 0.99989091 r ² = 0.99978184 r ² ajustada = 0.99890920 F(4,1)=1145.7 p<0.02215 Desviación estándar estimada: 0.01129		
	B	SD de B
Intercepto	10.1347628	0.14560371
HOMO	1.03730942	0.01645929
CAZO ΔH	-0.0029634	0.00022398
BCF	0.00233368	6.5743E-05
CAZO LOGP	-0.15302269	0.0053436

La relación entre la estructura actividad para el complejo Azona[®] – Principio Activo en piel esta determinado en la ecuación 12.

Ec. 12

$$\text{Log K}_R = \text{HOMO}(1.03730942) + \text{CAZO } \Delta H(-0.0029634) + \text{BCF}(0.00233368) + \text{CAZO LOGP}(-0.15302269) + 10.1347628$$

$$r = 0.99989091 \quad r^2 = 0.99978184 \quad r^2 \text{ ajustada} = 0.99890920$$

$$F(4,1)=1145.7 \quad p<0.02215 \quad \text{Desviación estándar estimada: } 0.01129$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 45. Matriz propuesta para las interacciones Dermac[®] – Principio Activo en piel

Dermac [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K _R	1.489	0.275	1.144	0.657	1.6	2.21
LOG K _R	0.173	-0.561	0.059	-0.182	0.206	0.346
CDER ΔH	-207.3931	-183.6403	-256.9405	-250.8361	-190.029	-247.79
CDER HOMO	-8.66912	-9.11056	-9.36098	-9.55079	-8.85578	-9.50378
CDER LUMO	0.07424	0.12754	-0.59578	-0.65686	-0.30471	0.11055
CDER H L	8.74336	9.2381	8.7652	8.89393	8.55107	9.61433
CDER LOGP	4.32	6.17	4.96	2.45	3.94	7.52
CDER DIP	2.22	2.83	2.73	5.26	5.12	3.71
CDER AREA	489.19	616.3	473.23	453.59	536.47	559.17
CDER VOL	468.84	593.57	443.18	419.04	509.13	551.4

Tabla 46. Resultados para las interacciones Dermac[®] – Principio Activo en piel

Resumen de la Regresión para la variable dependiente: Log K _R r = 0.9999989 r ² = 0.9999978 r ² ajustada = 0.9999888 F(4,1)=1117E3 p< 0.00071 Desviación estándar estimada: 0.00035		
	B	SD de B
Intercepto	-0.1862985	0.00087477
LUMO	1.19928035	0.00057893
CDER_DIP	0.22583077	0.00017079
LOGP_	-0.08203434	0.00015354
DIPOLO	-0.03118085	0.00024793

La relación entre la estructura actividad para el complejo Dermac[®] – Principio Activo en piel esta determinado en la ecuación 13.

Ec. 13

$$\text{LogK}_R = \text{LUMO}(1.19928035) + \text{CDER_DIP}(0.22583077) + \text{LOGP}_(-0.08203434) + \text{DIPOLO}(-0.03118085) - 0.1862985$$

$$r = 0.9999989 \quad r^2 = 0.9999978 \quad r^2 \text{ ajustada} = 0.9999888$$

$$F(4,1)=1117E3 \quad p < 0.00071 \quad \text{Desviación estándar estimada: } 0.00035$$

TESTES CON
FALLA DE ORIGEN

Tabla 47. Matriz propuesta para las interacciones Azona[®] – Principio Activo en mucosa bucal

Azona [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaina	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K _R	2.2037	2.0186	1.442	1.941	2.021	1.131
LOG K _R	0.343	0.305	0.160	0.288	0.306	0.053
CAZO ΔH	-187.4263	-238.5878	-162.6169	-227.9698	-171.7847	-230.3784
CAZO HOMO	-8.50362	-9.18266	-8.96589	-9.44347	-8.6657	-9.35784
CAZO LUMO	0.21872	-0.3798	0.32732	-0.4866	-0.1154	0.22219
CAZO H L	8.72234	8.80286	9.29321	8.95687	8.5503	9.58003
CAZO LOGP	5.63	6.28	7.48	3.77	5.25	8.83
CAZO DIP	2.25	2.75	1.7	1.77	7.87	3.19
CAZO AREA	579.73	553.14	703.17	541.43	626.87	651.34
CAZO VOL	556.94	530.35	684.21	509.9	597.74	641.7

Tabla 48. Resultados para las interacciones Azona[®] – Principio Activo en mucosa bucal

Resumen de la Regresión para la variable dependiente: Log K _R			
r = 0.99999999 r ² = 0.99999997 r ² ajustada = 0.99999986			
F(4,1)=8689E3 p<.00025 Desviación estándar estimada: 0.00004			
	B	SD de B	
Intercepto	3.18089295	0.00075062	
CAZO_H_L	-0.32392396	8.7648E-05	
CAZO_DIP	-0.01580537	9.9835E-06	
S	0.14018681	0.00041802	
LOG1_S	0.00694889	4.0338E-05	

La relación entre la estructura actividad para el complejo Azona[®] – Principio Activo en mucosa bucal esta determinado en la ecuación 14.

Ec. 14

$$\text{Log K}_R = \text{CAZO_H_L} (-0.32392396) + \text{CAZO_DIP} (-0.01580537) + \text{S} (0.14018681) + \text{LOG1_S} (0.00694889) + 3.18089295$$

$$r = 0.99999999 \quad r^2 = 0.99999997 \quad r^2 \text{ ajustada} = 0.99999986$$

$$F(4,1)=8689000 \quad p<0.00025 \quad \text{Desviación estándar estimada: } 0.00004$$

Tabla 49. Matriz propuesta para las interacciones Dermac[®] – Principio Activo en mucosa bucal

Dermac [®]	Acetaminofén	Ácido Salicílico	Lidocaína	5-Fluorouracilo	Cafeína	Ibuprofeno
K _R	1.9873	1.0795	1.1932	0.442	0.9567	0.288
LOG K _R	0.298	0.033	0.077	-0.355	-0.20	-0.54
CDER ΔH	-207.3931	-183.6403	-256.9405	-250.8361	-190.029	-247.79
CDER HOMO	-8.66912	-9.11056	-9.36098	-9.55079	-8.85578	-9.50378
CDER LUMO	0.07424	0.12754	-0.59578	-0.65686	-0.30471	0.11055
CDER H L	8.74336	9.2381	8.7652	8.89393	8.55107	9.61433
CDER LOGP	4.32	6.17	4.96	2.45	3.94	7.52
CDER DIP	2.22	2.83	2.73	5.26	5.12	3.71
CDER AREA	489.19	616.3	473.23	453.59	536.47	559.17
CDER VOL	468.84	593.57	443.18	419.04	509.13	551.4

Tabla 50. Resultados para las interacciones Dermac[®] – Principio Activo en mucosa bucal

Resumen de la Regresión para la variable dependiente: Log K _R r = 0.99998140 r ² = 0.99996280 r ² ajustada = 0.99981401 F(4,1)=6720.6 p<.00915 Desviación estándar estimada: 0.00418		
	B	SD de B
Intercept	4.72351918	0.05266271
HOMO	0.52233075	0.00593279
BCF	-0.00185547	2.1308E-05
LOGP_	0.1193859	0.00234964
CDER_LUMO	0.11253542	0.00670441

La relación entre la estructura actividad para el complejo Dermac[®] – Principio Activo en mucosa bucal esta determinado en la ecuación 15.

Ec. 15

$$\text{Log K}_R = \text{HOMO} (0.52233075) + \text{BCF} (-0.00185547) + \text{LOGP}_0 (0.1193859) + \text{CDER_LUMO} (-0.11253542) + 4.72351918$$

$$r = 0.99998140 \quad r^2 = 0.99996280 \quad r^2 \text{ ajustada} = 0.99981401$$

$$F(4,1) = 6720.6 \quad p < .00915 \quad \text{Desviación estándar estimada: } 0.00418$$

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Como era de esperarse, según las ecuaciones obtenidas, la permeabilidad de estos fármacos a través de la piel y la mucosa bucal y el efecto promotor de Azona[®] y Dermac[®] dependen de diferentes factores y no solo del coeficiente de partición octanol / agua de los fármacos.

Como se puede observar, los modelos considerados en las ecuaciones 12, 13, 14 y 15 son estadísticamente satisfactorios, en base al coeficiente de correlación múltiple (r), la desviación estándar (SD), y F-estadística (F).

En el caso de los fármacos administrados vía piel y usando como promotor Azona[®] es posible observar que el modelo que mejor describe el fenómeno de la penetración es el que involucra al orbital más alto ocupado de los activos (HOMO), el calor de formación de los complejos Azona[®] – Principio Activo (CAZO_ΔH), el factor de bioconcentración (BCF) y el Log del coeficiente de partición octanol / agua de los complejos Azona[®] – Principio Activo (CAZO_LOGP), para el caso del Dermac[®] se puede ver que involucra al orbital molecular más bajo desocupado de los fármacos (LUMO), el dipolo de los complejos Dermac[®] – Principio Activo (CDER_DIP), el Log del coeficiente de partición de los fármacos (LOGP_) y el momento dipolo de estos (DIPOL).

Para la situación de la mucosa bucal, cuando se usa como promotor Azona[®] observamos que involucra al HOMO-LUMO de los complejos Azona[®] – Principio Activo (CAZO_H_L), al momento dipolo de los mismos complejos (CAZO_DIP) y a la solubilidad de los activos (S y LOG1_S), para el Dermac[®] involucra al orbital molecular más alto ocupado de los principios activos (HOMO) al factor de bioconcentración (BCF), al log del coeficiente de partición de los fármacos (LOGP_) y al orbital molecular mas bajo desocupado (CDER_LUMO) de los complejos Dermac[®]-principio activo.

Las ecuaciones de estos modelos nos ayudan a comprender mejor la relación entre la estructura química de los complejos formados (fármaco-promotor) y a predecir el comportamiento otros activos que se deseen administrar por vía transdérmica y bucal, cuando se use como promotor Azona[®] o Dermac[®].

Además, al considerar la interacción entre fármaco-promotor, es posible explicar el comportamiento entre ellos; esto es, debido a que el Log P en el complejo es más alto para los valores de Azona[®] que para Dermac[®] (tabla 38, los valores se encuentran en negritas) y la misma relación es encontrada si comparamos los valores de Log K_R para AZO que para DER (tablas 39 - 42), es posible determinar que el carácter lipofílico del complejo Azona[®]-Fármaco es mayor que para el complejo Dermac[®]-Fármaco, por ello el comportamiento de la Azona[®] es más promotor que el Dermac[®] en los casos del 5-Fluorouracilo y el Ácido Salicílico, incluso DER presenta un comportamiento retardador.

Finalmente el comportamiento también puede explicarse con un estudio de correlación bivariable entre el Log K_R y algunos descriptores, mediante la observación de la variable que tenga más peso en las ecuaciones, para lo cual se usó el programa TSAR para Silicon Graphics.

En el caso del promotor Azona[®] a través de piel, la variable que mayor peso tiene es el valor de HOMO, según es determinado en la gráfica 41, dado que la correlación entre ellos es del 72.97%.

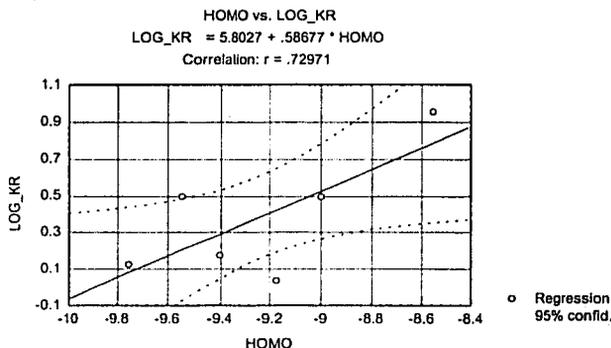
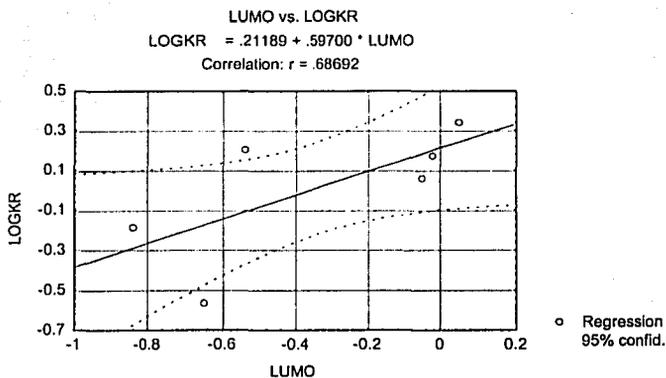


Gráfico 41. Relación entre HOMO y Log K_R para Azona[®] a través de piel

Para el caso de Dermac[®] a través de piel el valor de LUMO es la variable que tiene más peso según se determina en el gráfico 42, dado que la correlación entre ellos es del 68.69%.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Gráfico 42. Relación entre LUMO y Log K_R para Dermac[®] a través de piel

Dado que el valor HOMO da el carácter nucleofílico a la molécula, se puede observar que los resultados muestran que los fármacos presentan carácter nucleofílico mientras que la Azona[®] carácter electrofílico y en el caso del Dermac[®], en donde el factor que más influye es el LUMO de los fármacos lo que describe su carácter electrofílico, es posible afirmar que los fármacos presentan carácter electrofílico mientras que el Dermac[®] tiene carácter nucleofílico. Lo cual está de acuerdo con el modelo molecular del complejo que se muestra en las figuras 80 - 91, ya que en el caso de la Azona[®] únicamente se forma un puente de hidrógeno y para el caso del Dermac[®] se forman dos puentes de hidrógeno.

En resumen, el comportamiento de la Azona[®] muestra una mejor actividad promotora que la del Dermac[®], lo cual es debido a que las interacciones DER-fármaco son más fuertes que las interacciones AZO-fármaco. Además el DER presenta dos puentes de hidrógeno a diferencia de la AZO que solo presenta uno. Ésta última afirmación está de acuerdo con los valores de los complejos Log P y Log K_R observado en las tablas 38 - 42, ya que estos valores son mayores en los complejos para Azona[®] que para Dermac[®]. Finalmente la correlación bivariable muestra que para el caso de la Azona[®] los fármacos tienen un carácter nucleofílico, mientras que prevalece un carácter electrofílico en los fármacos cuando forman complejos con el Dermac[®].

7. CONCLUSIONES

Los datos presentados en este trabajo nos han permitido obtener resultados interesantes sobre el modo de acción del Dermac[®] (4-deciloxazolidin-2-ona), un modulador de creación relativamente reciente y que empieza apenas a ser nombrado en la literatura [Hadgraft, 2001]. De los estudios realizados puede concluirse lo siguiente:

El disolvente empleado como vehículo para el Dermac[®] parece tener relevancia, pues de acuerdo a los resultados de TEWL cuando el Dermac[®] se combina con propilenglicol se observa un incremento en la pérdida de agua transepidermal (visible, aunque sin relevancia estadística), lo que se traduce en un efecto mayor sobre la barrera de permeabilidad de la piel, un efecto similar se observa con Azona[®], cuando se administra solo o disuelto en Transcutol[®] o etanol el incremento en el TEWL es menor. Por lo cual, se puede asumir que tanto DER como AZO en combinación con PG alteran ligera y reversiblemente la barrera de permeabilidad de la piel, lo cual se pudo constatar al medir el TEWL en función del tiempo.

Los estudios de FTIR/ATR (realizados para DER) indican que aparentemente no hay una extracción de lípidos del estrato córneo, al no haber una disminución en las áreas de los picos correspondientes a las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo localizados en 2920 y 2850 cm^{-1} . No puede concluirse sobre el efecto fluidizante del DER, pues los ligeros desplazamientos observados con las formulaciones que contienen al DER pueden confundirse con los picos propios del Dermac[®] y que se localizan en 2923.4 y 2853.0 cm^{-1} . No obstante, parece que el desplazamiento promedio es mayor con DER-PG y DER-EtOH, más que al aplicar el DER puro.

De los datos obtenidos de las permeaciones se observa que para los controles (permeaciones sin promotor), el fármaco que muestra un mayor flujo, tanto en piel como en mucosa bucal, es el ácido salicílico, el cual cuenta con una lipofilia intermedia ($\text{Log P} = 1.19 \pm 0.23$). El acetaminofén (más hidrofílico $\text{Log P} = 0.34 \pm 0.21$) y la lidocaína (más lipofílica $\text{Log P} = 2.36 \pm 0.26$), presentan flujos menores en ambas membranas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

136

Además, éstos estudios de permeabilidad *in vitro*, muestran que la Azona[®] es un efectivo promotor (como ya ha sido reportado), a diferencia del Dermac[®] con el que se puede observar incluso un efecto retardador en el flujo de algunos activos muy hidrofílicos (5-Fluorouracilo) o muy lipofílicos (Ibuprofeno), e incluso para activos con lipofilia intermedia (Ácido Salicílico).

De cualquier modo, debido a los cambios pocos notorios en el TEWL y los resultados de las permeaciones tanto en piel como en mucosa bucal, se puede decir que el Dermac[®] presenta un efecto limitado sobre la barrera de permeabilidad y por tanto sobre el transporte de fármacos, teniendo una acción promotora muy pobre o incluso en algunos casos nula. Lo que es importante destacar es el efecto retardador que ejerce con ciertos fármacos; por los resultados obtenidos se puede presuponer que aunque el DER interactúe con la barrera de permeabilidad, el efecto promotor o retardador parece estar fuertemente influenciado por su interacción con los mismos fármacos.

La afirmación anterior se fundamenta en el modelo computacional que explica de una mejor manera el efecto del Dermac[®] y nos ayuda a predecir el comportamiento de otros fármacos. Así, podemos afirmar que la Azona[®] muestra una mejor actividad promotora que el Dermac[®], debido a que las interacciones AZO-fármaco son más débiles que las de DER-fármaco, dado que la AZO forma un puente de hidrógeno con los fármacos a diferencia del DER que forma dos (lo que se determinó teórico únicamente), lo cual se pone de manifiesto al observar los valores de $\log P$ y $\log K_R$ de los complejos, dado que son mayores en los complejos con Azona[®] que con Dermac[®]. Lo que da lugar a suponer que los fármacos son detenidos por el mismo DER en la membrana. Finalmente se ha observado que en la formación de complejos promotor-fármaco, la Azona[®] tiene un carácter electrofílico, mientras que el Dermac[®] presenta un carácter nucleofílico.

Las ecuaciones obtenidas a partir del estudio computacional, proponen un modelo para describir las interacciones entre el promotor y el fármaco y constituyen una primera aproximación para proponer un modelo predictivo que permita prever el comportamiento de otros fármacos con estos sistemas.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

8. PERSPECTIVAS

Algo importante a destacar es que para todas las pruebas realizadas se hizo un pre-tratamiento, dejando en contacto el promotor durante una hora, retirándolo y posteriormente haciendo las medidas correspondientes. Las medidas de TEWL muestran que para los casos como DER-PG o AZO-PG, donde se presume un incremento en la pérdida de agua, los valores y por lo tanto la barrera de permeabilidad empieza a regresar a la normalidad al cabo de 2 - 3 horas. Considerando que las permeaciones se siguieron por 8 horas, podría pensarse que tal vez el efecto se vio limitado por esta condición; probablemente estudios en donde se apliquen juntos el fármaco y el promotor contribuyan a resolver esta cuestión. Por otro lado, sería conveniente realizar permeaciones con distintos vehículos con el fin de corroborar el efecto del solvente.

Por otra parte, será necesario realizar otras pruebas biofísicas para demostrar el mecanismo de acción del DER, tales como DSC o rayos X.

El efecto retardador que se ha observado con el Dermac[®] en el caso de ciertas moléculas puede ser muy atractivo, sobre todo para formulaciones donde se busque un efecto localizado en la superficie o en las capas más externas de la piel, por ejemplo repelentes para mosquitos o ciertos cosméticos.

9. REFERENCIAS

- Acevedo Peña J. (1999) Estudio del efecto promotor de Azona® y 4-deciloxazolidin-2-ona sobre la absorción percutánea de tres fármacos con diferentes características de lipofiliidad. Tesis de Licenciatura FES Cuautitlán, UNAM. México.
- Akhter, S. A. y Barry, B. W. J. (1984) Penetration enhancers in human skin - effect of oleic acid and Azone on flurbiprofen permeation. *J. Pharm. Pharmacol. Dec. Suppl.* 36, 7P.
- Akimoto J., Takayama, K., Isowa, K., y Nayait, T. (1996) Evaluation of skin irritation of percutaneous absorption promoters by means of fractal dimension of rat skin structure. *Int. J. Pharm.* 128, [1-2] 251-260.
- Akitoshi, Y., Takayama, K., Machida, Y., y Nagai, T., (1988) Effect of cyclohexanone derivatives on percutaneous absorption of ketoprofen and indometacin. *Drug. Des. Deliv.* 2, 239 - 251.
- Alberty, W.J. y Hadgraft, J., (1979a) Percutaneous absorption: in vivo experiments. *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 140-147.
- Alberty, W.J. y Hadgraft, J., (1979b) Percutaneous absorption: theoretical description. *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 129-139.
- Alexander, M. Y. y Akhurs, R. J. (1995) Liposome-mediated gene transfer and expression via the skin. *Human Molecular Genetics*, 4, [12] 2279-2285.
- Allan, G., (1995) Azone®. En Smith, E. W. y Maibach, H. I. Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 129-136.
- Barry, B. W. (1987) Mode of action of penetration enhancers in human skin. *J. Control. Rel.* 6, 85-97.
- Barry, B. W. (1991) Lipid-Protein-Partitioning theory of skin penetration enhancement. *J. Contr. Rel.*, 15, 237-248.
- Barry, B. W., (2001) Novel mechanisms and devices to enable successful transdermal drug delivery. *Eur. J. Pharm. Sci.*, 14, 101-114.

- Beastall, J. C., Hadgraft, J., y Washington, C. (1988) Mechanism of action of Azone as percutaneous penetration enhancer: lipid bilayer fluidity and transition temperature effects. *Int. J. Pharm.*, **43**, 207-213.
- Bennett, S.L., Barry, B. W. y Woodford, R. J. (1984) The assesment of some potential penetration enhancers using the vasoconstrictor test. *Pharm. Pharmacol.*, **Dec. Suppl. 36**, 8P
- Birchall, J.C., Marichal, C., Campbell, L., Alwan, A., Hadgraft, J. y Gumbleton, M. (2000) Gene expression in an intact ex-vivo skin tissue model following percutaneous delivery of cationic liposome-plasmid DNA complexes. *Int. J Pharm.*, **197**, [1-2] 233-238.
- Bonina, F. P., Montenegro, L., De Capraris, P., Bousquet, E., y Tirendi, S., (1991) 1-Alkylazacycloalkan-2-one esters as prodrugs of indomethacin for improved through human skin. *Int. J. Pharm.*, **77**, 21 - 29.
- Bosman I. J., Avegaart, S. R., Lawnt, A. L., Esing, K., De Zeeuw, R. A. (1998) Evaluation of a novel diffusion cell for in vitro transdermal permeation: effects of injection height, volume and temperature. *J. Pharm. Bio. Analysis.*, **17**, 493-499.
- Bosman I. J., Lawnt, A. L., Avegaart, S. R., Esing, K., De Zeeuw, R. A. (1996) Novel diffusion cell for in vitro transdermal permeation, compatible with automated dynamic sampling. *J. Pharm. Bio. Analysis.* **14**, 1015-1023.
- Bosman, I. J., Ensing, K., Zeeuw, R. A. (1998) Standarization procedure for the in vitro skin permeation of anticholinergics., *Int. J. Pharm.*, **169**, 65 - 73.
- Bosman, I. J., Ensing, K., Zeeuw, R. A., (1998) Unusual Reduction of the In Vitro Skin Permeation of [3H]dextetamide by Atropine. *Pharm Res.* **15**, [1] 145 - 148.
- Bouwstra J. A. y Boddé, H. E., (1995) Human SC barrier impairment by n-alkylazacycloheptanones en Smith, E. W. y Maibach, H. I., Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 137-158.
- Bouwstra, J. A., Peschier, L. J. C., Brussee, J., y Boddé, H. E. (1989) Effect of N-alkylazacycloheptan-2-ones including azone on the thermal behaviour of human stratum corneum., *Int. J. Pharm.*, **52**, 47-54.

- Bronaugh, R. L. y Stewart, R. F. (1984) Methods for in vitro percutaneous absorption studies. Part 3. Hydrophobic compounds., *J. Pharm. Sci.*, 73, [a] 1255-1258
- Clarke's. (1986) Isolation and Identification of Drugs. Segunda edición. Ed. The Pharmaceutical Press. Londres. 705-706, 849-850, 965-966.
- Croziet, F., Langlois, M.H., Dubost, J. P., Braquet, P., Audry, E., Dallet, P., Colleter y J. C., (1990), Lipophilicity force field profile: an expressive visualization of the lipophilicity molecular potential gradient. *J. Mol. Graphics*, 8, [3] 153-155.
- Curutchet, C., Orozco M., y Luque, F. J. (2001) Solvation in Octanol: Parametrization of the Continuum MST Model, *Journal of Computational Chemistry* 22, 11 1180-1193.
- Daniel W. (1993) Bioestadística. Ed. Limusa. México, 306-309 y 637-639.
- Deant S. H. (1995) Drug Permeation enhancement: Theory and applications. Ed. Marcel Dekker. De la serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Vol. 62.
- Degim, I. T., Uslu, A., Hadgraft, J., Atay, T., Akay, C. y Cevheroglu, S. (1999) The effects of Azone and capsaicin on the permeation of naproxen through human skin. *Int. J. Pharm.*, 179, 21-25.
- Enciclopedia Encarta, (2000) Microsoft Corporation.
- Engblom, J., y Engström. (1993) Azone[®] and the formation of reversed mono-and bicontinuous lipid-water phases. *Int. J. Pharm.*, 98, 173-179.
- Flynn, G. L. (1990) Topical drug absorption and topical pharmaceutical systems. En Banker, G. S. y Rhodes, C. T. Modern Pharmaceutics. Primera Edición. Ed. Marcel Dekker, Inc. USA. 263-327.
- Flynn, G. L.(1990) Physicochemical determinants of skin absorption. En Gerrity y C. J. Henry, Principles of Route-to-Route Extrapolation for Risk Assessment, Ed. Elsevier, New York, 93-127.
- Francoeur, M. L., Golden, G. M. y Potts, R. O. (1990) Oleic acid: its effects on stratum corneum in relation to (trans) dermal drug delivery. *Pharm. Res.* 7, [6] 621-627.

- Ganem, R. A., Piñón, S. E. y Quintanar, G. D. (1998) Uso de promotores de absorción percutánea. *Ciencia Cosmética*, 4, [2] 19-25.
- Ganem-Quintanar, A., Falson-Rieg, F. y Buri P. (1997) Contribution of lipid components to the permeability barrier of oral mucosa., 44, 107-120.
- Ganem-Quintanar, A., Kalia, Y. N., Falson-Rieg, F., y Buri P. (1997) Mechanisms of oral permeation enhancement. *Int. J. Pharm.*, 156, 127-142.
- Ganga, S., Ramarao, P., y Singh, J. (1996) Effect of Azone on the iontophoretic transdermal delivery of metoprolol tartrate through human epidermis in vitro, *J. Contr. Rel.*, 42, 57-64.
- Grouls, R. J. E., Ackerman, E. W., Korsten, H. H. M., Hellebrekers, L. J., y Breimer, D. D., (1997) Partition coefficients (n-octanol/water) of N-butyl-p-aminobenzoate and other local anesthetics measured by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B*, 694, 421-425
- Guy, R. H. (1996) Current Status and Future prospects of Transdermal Drug Delivery. *Pharm. Res.*, 13, [12] 1765-1769.
- Guy, R. H. y Hadgraft, J. (1989) Selection of Drug Candidates for Transdermal Drug Delivery. En Hadgraft, J. y Guy, R. H., *Transdermal Drug Delivery*, Ed. Marcel Dekker, USA, 59-77.
- Hadgraft, J. (1996) Physicochemical Determinants of Skin Penetration Enhancement. 3rd Jerusalem Conference on Pharmaceutical Sciences and Clinical Pharmacology.
- Hadgraft, J. (1999) Passive enhancement strategies in topical and transdermal drug delivery. *Int. J. Pharm.*, 184, 1-6.
- Hadgraft, J. (2001) Perspectives on dermal and transdermal delivery. *Drug Delivery Systems & Sciences.*, 1, [4] 107-112.
- Hadgraft, J. (2001) Skin, the final frontier. *Int. J. Pharm.*, 224, 1-18.
- Hadgraft, J., Peck, J., Williams, D. G., Pugh W. J., y Allan, G. (1996) Mechanisms of action of skin penetration enhancers/retarders: Azone and analogues. *Int. J. Pharm.*, 141, 17-25.

Hadgraft, J., Walters, K. A. y Wotton, P., K. (1985) Facilitated transport of sodium salicylate across an artificial lipid membrane by Azone, *J. Pharm. Pharmacol.*, **37**, 725-727.

Hansch, C., Unger, S. H. y Forsythe, A. B. (1973) Strategy in drug design. Cluster analysis as an aid in the selection of substituents. *J. Med. Chem.*, **16**, [11] 1217-1222.

Harrison, J. E., Groundwater, P. W., Brain, K. R., y Hadgraft, J. (1996) Azone® induced fluidity in human stratum corneum. A fourier transform infrared spectroscopy investigation using the perdeuterated analogue. *J. Contr. Rel.*, **41**, 283-290.

Higo, N., Naik, A., Bommannan, D. B., Potts, R. O. Y Guy, R. (1993) Validation of reflectance Infrared Spectroscopy as a Quantitative Method to Measure Percutaneous Absorption In Vivo, *Pharm. Res.*, **10**, [10] 1500-1506.

Hirvonen, J., Rajala, R., Viihervaara, P., Laine, E., Parone, P., y Urtti, A. (1994) Mechanism and Reversibility of Penetration Enhancer Action in the Skin - A DSC Study. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* **40**, [2] 81-85.

Hoogstrate, A. J., Verhoef, J., Brussee, J., Ijzerman, A. P., Spies, F., y Boddeé, H. E. (1991) Kinetics, ultrastructural aspects and molecular modelling of transdermal peptide flux enhancement by N-alkylazacycloheptanones, *Int. J. Pharm.*, **76**, 37-47.

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 Verbiese, N. (1994) Methods for assessing Percutaneous Absorptio. *Atla*, **24**, 81-106.

Index Merck. (1999) Decimotercera edición.

Jia-You Fang , Chia-Lang Fang, Chi-Tzong Hong, Hsiang-Yin Chen, Tzu-Ying Lin, Hsiu-Mei Wei, (2001) Capsaicin and nonivamide as novel skin permeation enhancers for indomethacin., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **12**, 195-203.

Jia-You Fang, Li-Ren Hsu, Yaw-Bin Huang, Yi-Hung Tsai, (1999) Evaluation of transdermal iontophoresis of enoxacin from polymer formulations: in vitro skin permeation and in vivo microdialysis using Wistar rat as an animal model., *Int. J. Pharm.* **180**, 137-149.

Kanikkannan, N., Singh, J., y Ramarao, P. (2000) Transdermal iontophoretic delivery of timolol maleate in albino rabbits. *Int. J. Pharm.*, **197**, 69-76.

Kasting, G. B., Smith, R. L. y Cooper, E.R. (1987) Effect of lipid solubility and molecular size on percutaneous absorption. Vol. 1 Skin Pharmacokinetics. En Shroout, B. y Schaefer, H., Pharmacology and the skin. Ed. Karger, Basel. 138-153.

Katsu ,T., Kuroko, M., Sanchika, K., Morikawa, T., Kurosaki, Y., Nakayama, T., Kimura, T., y Fujita, Y. (1989) Interaction of 1-dodecylazacycloheptan-2-one (Azone) with erythrocyte membrane. *Int. J. Pharm.* **53**, 61-66.

Knutson, K., Krill, S. L., Lambert, W. J. y Higuchi, W. I. (1987) Physicochemical aspects of transdermal permeation. *J. Control. Rel.* **6**, 59-74

Lee G. (1995) Interaction of Azone[®] with model lipid systems En Smith, E. W. y Maibach, H. I., Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 195-210.

Lewis D. y Hadgraft J. (1990) Mixed monolayers of dipalmitoylphosphatidylcholine with Azone or oleic acid at the air-water interface. *Int. J. Pharm.*, **65**, 211-218.

López, A., Linares, F., Cortell, C., Herráez, M. (2000) Comparative enhancer effects of Span[®] 20 with Tween[®] 20 and Azone[®] on the in vitro percutaneous penetration of compounds with different lipophilicities. *Int. J. Pharm.*, **202**, 133-140.

López-Castellano, A., Cortell-Ivars, C., López-Carballo, G., y Herráez-Domínguez, M. (2000) The influence of Span[®] 20 on stratum corneum lipids in Langmuir monolayers: comparison with Azone[®] . *Int. J. Pharm.*, **203**, 245-253.

Mantelle, Juan. (2002) Developments in transdermal technology. *Drug Formulation and Delivery*. 155-159.

Manual Merck. (1996) Duodécima edición.

Mark, V. H., Potts, R. O. y Guy, R. H. (1990) Percutaneous penetration enhancement in vivo measured by attenuated total reflectance infrared spectroscopy. *Pharm. Res.* **7**, [8] 835-841.

Meidan, V., Walmsley, A.D., Docker, M.F. e Irwin, W.J. (1999) Ultrasound-enhanced diffusion into coupling gel during phonophoresis of 5-fluorouracil. *Int. J. Pharm.*, **185**, 205-213.

Michniak B. B., (1995) Azone[®] Analogues as Penetration Enhancers En Smith, E. W. y Maibach, H. I., Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 183-194.

Michniak B. B., Player, M. R., Chapman, J. M., Jr., y Sowell, J. W., Sr., (1993) *In vitro* evaluation of a series of Azone[®] analogs as dermal penetration enhancers, Part. 1. *Int. J. Pharm.* 91, 85 – 93.

Michniak B. B., Player, M.R., Fuhrman, L. C., Christensen, C. A., Chapman, J. M., Jr., y Horwell J. W., Sr., (1993) *In vitro* evaluation of a series of Azone[®] analogs as dermal penetration enhancers, (Thio) amides Part.2. *Int. J. Pharm.* 94, 203 - 210.

Michniak, B.B., Player, M.R., Godwin, D.A., Lockhart, C.C. y Sowell, J. W. (1998) *In vitro* evaluation of azone analogs as dermal penetration enhancer V. Miscellaneous compounds. *Int. J. Pharm.*, 161, 169-178.

Minaskanian, G. y Peck, J. V. (1992) U. S. Patente 5,142,044.

Mirejovsky D. y Takrvri, H. (1986) Dermal penetration enhancement profile of hexamethylene lauramide and its homologues: *in vitro* versus *in vivo* behavior of enhancers in the penetration of hydrocortisone, *J. Pharm. Sci.* 75, 1089 – 1093.

Mitragotri S., Blankchtein, D. y Langer, R. (1996) Transdermal Drug Delivery Using Low-Frequency Sonophoresis. *Pharm. Res.* 13, [3] 411-420.

Morgan T.M., Reed, B. y Finin, B. C. (1998) Enhanced skin permeation of sex hormones with novel topical spray vehicles. *J. Pharm. Sci.* 87, [10] 1213-1218.

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

Naik, A., y Guy, R. H. (1997) Infrared Spectroscopic and Differential Scanning Calorimetric Investigations of the Stratum Corneum Barrier Function en Potts R. O. y Guy R. H. Mechanisms of Transdermal Drug Delivery. Ed. Marcel Dekker, Inc. New York. 112-116.

Niaz E. M., (1996) Differences in penetration-enhancing effect of Azone through excised rabbit, rat, hairless mouse, guinea pig and human skins. *Int. J. Pharm.*, 130, 225-230.

- Norlen, L. y Engblom, J., (2000) Structure-related aspects on water diffusivity in fatty acid-soap and skin lipid model systems., *J. Cont. Rel.*, **63**, 213-226.
- Numajiri, S., Inada, H., Sugibayashi, K., Morimoto, Y. (1998) Iontophoretic transport of morphine across A56 hairless rat skin: is a further increase obtained with chemical enhancer? *Arch-Pract-Pharm-Yakuzaigaku*, **58**, [1] 29-36.
- Okamoto, H., Hashida, M., y Sezaki, H., (1988) Structure-activity relationship of 1-alkyl- or 1-alkenylazacicloalkanone derivatives as percutaneous enhancers. *J. Pharm. Sci.*, **77**, [5], 418-424.
- Okamoto, H., Hashida, M., y Sezaki, H., (1991) Effect of 1-alkyl- or 1-Alkenylazacicloalkanone Derivatives on the Penetration of Drugs with Different Lipophilicities through Guinea Pig Skin., *J. Pharm. Sci.*, **80**, [1] 39-45.
- Orkin, M., Maibach, H. I. y Dahl, M. V., (1994) *Dermatología*. Primera Edición. Ed. El Manual Moderno. México, **7**, 340.
- Osborne, D. W. Y Amann, A. H., (1990) *Topical Drug Delivery Formulations*. Primera Edición. Ed. Marcel Dekker, Inc., USA.
- Pellet, M. A., Watkinson, A. C., Hadgraft, J. y Brain, K. R. (1997) Comparison of permeability data from traditional diffusion cells and ATR-FTIR spectroscopy. Part II. Determination of diffusional pathlengths in synthetic membranes and human stratum corneum. *Int. J. Pharm.*, **154**, 217-227.
- Pellet, M. A., Watkinson, A. C., Hadgraft, J. y Brain, K. R., (1997) Comparison of permeability data from traditional diffusion cells and ATR-FTIR spectroscopy. Part I. Synthetic membranes. *Int. J. Pharm.*, **154**, 205-215.
- Phillips, C. A., y Michniak, B. B., (1995) Transdermal Delivery of Drugs with Differing Lipophilicities Using Azone Analogs as Dermal Penetration Enhancers, *J. Pharm. Sci.* **84**, [12] 1427-1433.
- Pirot F., Kalia, Y. N., Stinchcomb, A. L., Keating, G., Bunge, A., y Guy, R. H. (1997) Characterization of the permeability barrier of human skin in vivo., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **94**, 1562-1567.

Ponce, M., Haverkort, M., Soei, Y. L. y Kempenaar, J. (1989) Toxicity Screening of N-Alkylazacycloheptan-2-one Derivatives in Cultured Human Skin Cells: Structure-Toxicity Relationships., *J. Pharm. Sci.*, 78, [9] 738-741.

Ponce, M., Haverkort, M., Soci, Y. L., Kempenaar, J. y Bodde, H. (1990) Use of human keratinocyte and fibroblast cultures for toxicity studies of topically applied compounds. *J. Pharm. Sci.*, 79, [4] 312-316.

Potts y Guy R. H. (1992) Predicting skin permeability., *Pharm. Res.*, 9, [5] 663-669.

Pu Y. y Lin P. (1998) Water permeation barrier in isolated cutaneous newborn rat epidermis. *J. Pharm. Tox. Met.* 40, [3] 145-149.

Rajadhyaksha, V. J. (1976) U. S. Patente 3,989,816.

Rajadhyaksha, V. J. (1978) U. S. Patente 4,122,170.

Rajadhyaksha, V. J. (1982) U. S. Patente 4,316,893.

Rajadhyaksha, V. J. (1983) U. S. Patente 4,405,616.

Rajadhyaksha, V. J. (1983) U. S. Patente 4,415,563.

Rajadhyaksha, V. J. (1983) U. S. Patente 4,423,040.

Rajadhyaksha, V. J. (1984) U. S. Patente 4,424,210.

Rajadhyaksha, V. J. (1984) U. S. Patente 4,444,762.

Rajadhyaksha, V. J. (1976) U. S. Patente 3,991,203.

Rajadhyaksha, V. J., (1976) U. S. Patente 3,989,815.

Rajadhyaksha, V. J., Peck, J.V., and Miniskanian, G., (1983) U. S. Patente 4,422,970.

Rajadhyaksha, V. y Pfister, W. R. (1996) Oxazolidinones, Optimizing Delivery of Active Ingredients in Skin Care Products. Ed. Pharmetrix y reimpresso por Drug & Cosmetic Industry y ADVANSTAR Publication, USA.

- Rathbone, M. J. (1993) Mechanisms, barriers and pathways of oral mucosal drug permeation. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 12, 41-60.
- Rathbone, M. J. (1996) Oral Mucosal Drug Delivery. Ed. Marcel Dekker. USA. 1-49.
- Roberts M. S. y Hadgraft J. (1993) Pharmaceutical skin permeation enhancement. Ed. Marcel Dekker. De la serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Vol. 59.
- Roberts M. S. y Walters K. A. (1998) Dermal Absorption and Toxicity Assessment. Ed. Marcel Dekker. De la serie Drugs and the Pharmaceutical Sciences. Vol. 91.
- Rodríguez-Orjales, I. (1998) Agentes promotores de la permeación percutánea. *Rev. Cubana Farm.*, 32, [1] 68-75.
- Rolland, A. (1993) Particulate carriers in dermal and transdermal drug delivery: Myth or reality? En Rolland, A., Pharmaceutical Particulate Carriers. Ed. Marcel Dekker. USA. 367-423.
- Rosendo, V. I. (1999) Estudio del efecto de dos promotores de absorción (Azona[®] y 4-deciloazolidin-2-ona) sobre la penetración de fármacos a través de mucosa oral no queratinizada. Tesis de Licenciatura. FES-Cuautitlán, UNAM. México.
- Ruland A., Kreuter, J., y Rytting, (1994) Transdermal delivery of the tetrapeptide Hisetal (melanotropin (6-9)). I. Effect of various penetration enhancers. In vitro study across human skin. *Int. J. Pharm.*, 103, 77-80.
- Ruland, A., Kreuter, J., y Rytting, J. H., (1994) Transdermal delivery of the tetrapeptide hisetal (melanotropin (6-9)). I. Effect of various penetration enhancers: in vitro study across hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.*, 101, 57-61.
- Sclafani, J., Liu, P., Hansen, E., Cettina, M. G., Nightingale, J. (1995) Protocol for the assessment of receiver solution additive-induced skin permeability changes: example with gamma-cyclodextrin. *Int. J. Pharm.*, 124, 213-217.
- Schückler F. y Lee G., (1991) The influence of Azone on monomolecular films of some stratum corneum lipids. *Int. J. Pharm.*, 70, 173-186.

- Schückler F., Bouwstra, J. A., Gooris, G. S., y Lee, G. (1993) An X-ray diffraction study of some model stratum corneum lipids containing Azone and dodecyl-L-pyroglytamate. *J. Contr. Rel.*, **23**, 27-36.
- Smith, J. C., e Irwin, W. J. (2000) Ionisation and the effect of absorption enhancers on transport of salicylic acid through silastic rubber and human skin., *Int. J. Pharm.*, **210**, 69-82.
- Squillante, E., Maniar, A., Needham, T., Zia, H. (1998) Optimization of in vitro nifedipine penetration enhancement through hairless mouse skin. *Int. J. Pharm.* **169**, 143-154.
- Stanley, J. W., (1982) Anatomía y Fisiología Humana. Primera Edición. Nva. Ed. Interamericana. México. 78-86.
- Takeuchi Y., Yasukawa, H., Yamaoka, Y., Kato, Y., Marimoto, Y., Fukumori, Y. Y Fukuda, T. (1992) Effects of Fatty Acids, Fatty Amines and Propylene Glycol on Rat Stratum Corneum Lipidis and Proteins in Vitro Measured by Fourier Transform Infrared/Attenuated Total Reflection (FT-IR/ATR) Spectroscopy. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, [7] 1887-1892.
- Tanojo H., Junginger H. E. y Boddé H. E. (1997) In vivo human skin permeability enhancement by oleic acid: transepidermal water loss and Fourier-transform infrared spectroscopy studies. *J. Contr. Rel.*, **47**, 31-39.
- Tenjarla, S., Puranajoti, P., Kasina, R., y Mandal, T. (1996) Terbutaline Transdermal Delivery: Preformulation Studies and Limitations of In-vitro Predictive Parameters., *J. Pharm. Pharmacol.*, **48**, 1138 -1142.
- Tenjarla, S.N., Kasina, R., Puranajoti, P., Omar, M.S. y Harris, W.T. (1999) Synthesis and evaluation of N-acetylproline esters —novel skin penetration enhancers. *Int. J. Pharm.*, **192**, 147-158.
- Touitou, E., Meidan, V. M. y Horwitz, E. (1998) Methods for quantitative determination of drug localized in the skin. *J. Control. Rel.*, **56**, 7-21.
- Turunen, T. M., Urtti, A., Paronen, P., Audus, K. L. y Rytting, J. H. (1994) Effect of some penetration enhancers on epithelial membrane lipid domains: evidence from fluorescence spectroscopy studies., *Pharm. Res.*, **11**, 288-294.

Valenta, C., y Wedwnig, S. (1997) effects of Penetration Enhancers on the In-vitro Percutaneous Absorption of Progesterone. *J. Pharm. Pharmacol.*, **49**, 955-959.

Walters, K. A. y Hadgraft, J. (1993) Azone[®] mechanisms of action and clinical effect En Hadgraft, J., Williams, D. G., Allan, G., Pharmaceutical Skin Penetration Enhancement, Ed. Marcel Dekker, New York.

Watkinson, A. C., Hadgraft, J., Walters, K. A. y Brain, K. R. (1994) Measurement of diffusional parameters in membranes using ATR-FTIR spectroscopy. *Int. J. Cos. Sci.* **16**, 199-210.

Wester R. C. y Maibach, H. I., (1995) Enhanced percutaneous absorption of Azone[®] following single and multiple doses to human volunteers percutaneous. En Smith, E. W. y Maibach, H. I., Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 159-164.

Wiechers J. W., (1995) Metabolism of the penetration enhancer Azone[®]: in vivo and in vitro studies in the hamster, rat, monkey, and human . En Smith, E. W. y Maibach, H. I., Percutaneous Penetration Enhancers. Ed., CRC. Press. Inc., USA, 165-181.

Wiechers J.W. y Zeeuw R. A.; (1990) Transdermal Drug Delivery: Efficacy and Potential Applications of the Penetration Enhancer, Azone[®]. En Honan, M., Drug Design and Delivery, Ed. Harwood Academic Publishers, Reino Unido, Cap. 5.

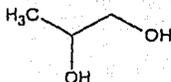
Wiechers, J. W., Drenth, B. F. y Jonkman, J. H. G. (1990) Percutaneous Absorption, Metabolic Profiling, and Excretion of the Penetration Enhancer Azone after Multiple Dosing of an Azone-Containing Triamcinolone Acetonide Cream in Humans., *J. Pharm. Sci.*, **79**, [2] 111-115.

Wiechers, J. W., Drenth, Ben, F. H., Jonkman, J. H. G. y Roku A. De Zeeuw (1990) Percutaneous absorption of triamcinolone acetonide from creams with and without Azone[®] in humans in vivo. *Int. J. Pharm.*, **66**, 53-62.

10. ANEXOS

10.1 MONOGRAFÍAS DE LOS DISOLVENTES USADOS

10.1.1 Propilenglicol (Index Merck, 1999)



Sinónimos: 1,2-Propanediol, metilgliocol; 1,2-dihidroxiopropano.

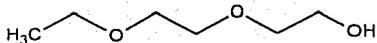
Fórmula Condensada: $C_3H_8O_2$; $CH_3CHOHCH_2OH$

Peso Molecular: 76.10 g/mol. C 47.35%, H 10.60%, O 42.05%.

Propiedades: Líquido viscoso higroscópico, sabor ligeramente acre, *densidad*₄²⁵ 1.036. punto de fusión 59°, punto de ebullición a 760 atm - 188.2°, a 400 atm - 168.1°, a 200 atm - 149.7°, a 100 atm - 132.0°, a 60 atm - 119.9°, a 40 atm - 111.2°, a 20 atm - 96.4°, a 10 atm 83.2°, a 5 atm - 70.8°, a 1.0 atm - 45.5°. Arde a 210°F (99°C) en un recipiente abierto. Miscible con agua, acetona y cloroformo. Soluble en éter. Disuelve aceites esenciales, pero es insoluble en una mezcla de ellos. Es un buen disolvente para la resina. En condiciones ambientales el propilenglicol es estable, pero a altas temperaturas tiene a oxidarse. DL₅₀ en ratas es de: 25 ml/kg.

Usos: Como anticongelante no-toxico en cervecerías y expendios de leche, inhibidor de la fermentación, en manufactura de resinas, emulsificante en comidas, vehículo en parches transdérmicos. Y como glucogénico en rumiantes.

10.1.2 Transcutol[®]



Sinónimos: Carbitol[®], 2-(2-Etoxi)etanol; dietilen glicol monoetil éter, etil digol

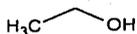
Fórmula Condensada: $C_6H_{14}O_3$, $CH_3CH_2OCH_2CH_2OCH_2CH_2OH$

Peso Molecular: 134.18 g/mol, C 53.71%, H 10.52%, O 35.77%.

Propiedades: Líquido muy higroscópico, punto de ebullición 196°, punto de fusión -25°, *densidad*₂₀²⁰ 1.0114, *viscosidad*_D²⁰ 1.4213, arde a 110° en recipiente abierto, miscible agua, alcaloides, éter y aceites. DL₅₀ en ratas es de 11 g/kg.

Usos: Como disolvente para ésteres de celulosa, en lacas, barnices y formulaciones de este tipo, etc.

10.1.3 Etanol



Sinónimos: Alcohol etílico, alcohol absoluto, alcohol deshidratado, etilhidrato, etilhidróxido.

Fórmula Condensada: C_2H_6O , C_2H_5OH

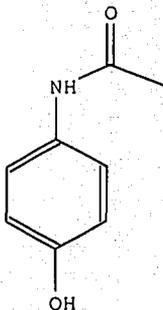
Peso Molecular: 46.07 g/mol, C 52.14%, H 13.13%, O 34.73%

Propiedades: Líquido muy móvil (poco viscoso), claro, sin color, flamable, olor agradable, sabor ardiente. Absorbe agua rápidamente del aire, *densidad*₄²⁵ 0.789, punto de ebullición 78.5°, punto de fusión -114.1°, *viscosidad*_D²⁰ 1.361, arde 13°C en un recipiente cerrado. Miscible con agua y muchos disolventes orgánicos, arde fácilmente por lo que se debe guardar en un lugar frío. DL₅₀ en ratas es jóvenes es de 10.6 g/kg y en ratas viejas de 7.06 g/kg. Precaución: Su ingesta en grandes cantidades (sobre todo vía oral) causa náuseas, vómito, excitación o depresión mental, percepción dañada, incoordinación, estupor, coma o incluso la muerte.

Usos: Es usado en bebidas alcohólicas, se usa como disolvente en la industria y los laboratorios, en la farmacia y perfumería también es un buen disolvente. Se usa en la síntesis orgánica, y como propulsor en la gasolina con octano. También es usado como antiséptico.

10.2 MONOGRAFÍAS DE LOS FÁRMACOS USADOS

10.2.1 Acetaminofén (Clarke's, 1986)



Sinónimos: Paracetamol y N-acetyl-*p*-aminofenol, 4'-Hidroxyacetanilida.

Propiedades Farmacológicas: Analgésico y Antipirético.

Descripción: Polvo sólido blanco cristalino, su peso molecular es 151.2 g/mol y su punto de fusión es de 168° a 172°.

Solubilidad: Es soluble 1 g en 70 ml de agua, 1 en 7 a 1 en 10 en etanol y 1 en 13 en acetona, muy soluble en cloroformo pero prácticamente insoluble en eter.

Constante de disociación: (pKa) es de 9.5 a 25° también determinada como 10.82 por el programa ACDLABSLABS.

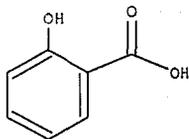
Logaritmo del Coeficiente de Partición octanol /agua: (Log P_{oct/agua}) Según el programa Spartan es de 0.55 y según ACDLABSLABS de 0.34.

Colores de identificación: En clorhidro férrico – azul, en el ensayo de Liberman – Violeta, en reactivo Folin-Ciocalteu azul, en el reactivo de Nessler café claro.

Espectro de Ultravioleta: En solución ácida acuosa la longitud de onda máxima es de 245 nm ($A_1^1 = 668$ a); en solución acuosa alcalina a 257 nm ($A_1^1 = 715$ a) en etanol al 40% 250 nm.

Espectro de Infrarrojo: Bandas principales se encuentran en 1506, 1657, 1565, 1263, 1227 y 1612 cm⁻¹.

10.2.2 Ácido Salicílico (Clarke's, 1986)



Sinónimos: Ácido 2-Hidroxybenzóico.

Propiedades Farmacológicas: Analgésico y Antipirético, en pomadas y ungüentos es usado como antiverrugas, queratolítico y en el tratamiento del acné.

Descripción: Cristales en forma de agujas, sin color o un polvo blanco cristalino. Peso molecular es de 138.1 g/mol y su punto de fusión se encuentra entre 158° a 161°.

Solubilidad: Es muy poco soluble en agua es de 1g en 550 ml, 1 en 4 en etanol y 1 en 45 en cloroformo y 1 en 3 en eter.

Constantes de disociación: (pKa's) son de 3.0 y 13.4 a 25° también determinada como 3.01 por el programa ACDLABSLABS.

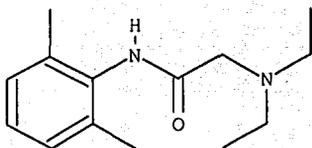
Logaritmo del Coeficiente de Partición octanol /agua: (Log P_{oct/agua}) Según el programa Spartan es de 2.06 y según ACDLABSLABS de 1.2.

Colores de identificación: En clorhido férrico – azul-violeta, en reactivo Folin-Ciocalteu azul, en el ensayo de McNally – rojo.

Espectro de Ultravioleta: En solución ácida acuosa la longitud de onda máxima es de 236 nm ($A_1^1 = 647$ a); en solución acuosa alcalina a 298 nm ($A_1^1 = 259$ a) y en etanol al 40% 300 nm.

Espectro de Infrarrojo: Bandas principales se encuentran en 758, 1657, 1288, 1210, 1250, 1150, 1587, 1724, 1176, 1515 y 699 cm^{-1} .

10.2.3 Lidocaína (Clarke's, 1986)



Sinónimos: Xylocaína, 2'-diethylamino acetato-2'-6'-xylidida.

Propiedades Farmacológicas: Su principal uso es como anestésico local, en pomadas y ungüentos es usado para aliviar el dolor de hemorroides y fisuras anales.

Descripción: Polvo blanco cristalino o ligeramente amarillo. Peso molecular es de 234.3 g/mol y su punto de fusión se encuentra entre 66° y 69°.

Solubilidad: Prácticamente insoluble en agua, pero muy soluble en etanol y cloroforma, ligeramente soluble en éter.

Constante de disociación: (pKa) es de 7.9 a 25° también determinada como 8.53 por el programa ACDLABSLABS.

Logaritmo del Coeficiente de Partición octanol /agua: (Log P_{oc/a}) Según el programa Spartan es de 2.41 y según ACDLABSLABS de 2.36.

Colores de identificación: En una solución al 2% en agua adicionar 1 ml de ácido nítrico diluido y 3 ml de una solución de nitrato de mercurio y calentar hasta hervir – amarillo o amarillo-verde.

Espectro de Ultravioleta: En solución ácida acuosa la longitud de onda máxima es de 263 nm ($\epsilon_{263}^1 = 19 \text{ a}$) y 272 nm; en etanol al 40% 264 nm.

Espectro de Infrarrojo: Bandas principales se encuentran en 1662, 1495, 762, 1204, 1290 y 1086 cm^{-1} .

10.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todo el análisis estadístico se realizó con el programa computacional Excel 2000 para Windows.

10.3.1 Pérdida de Agua Transepidermal (TEWL)

Medida del TEWL (moda) inmediatamente después de haber retirado la formulación (tiempo cero)

Persona	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
1	8.23	7.6	8.8	8.8	10.3	13.5	13.5	8.1	9	14.3	12.5	7.5
2	16.25	17.1	12.3	11.5	12.8	13.8	22.1	14.3	15.8	20.1	13.5	14.8
3	10.95	6.6	8	12.1	12.5	9.3	12	9.6	7.5	15.3	11.1	9.6
4	13.53	12	11.5	12.5	16.3	15.1	14.5	17.5	15.3	20.1	14.5	13.8
5	15.13	22.6	10.6	14	11	14.6	19.1	12.1	15	10.6	8.6	8.6
6	12.87	16	10.5	13.5	11	10	16.5	10.6	8.5	26.3	12.5	12.5
Promedio	12.83	13.65	10.28	12.07	12.32	12.72	16.28	12.03	11.85	17.78	12.12	11.13
SD	2.90	6.11	1.62	1.84	2.18	2.45	3.77	3.42	3.89	5.53	2.06	2.98
CV	22.64	44.75	15.75	15.27	17.66	19.28	23.16	28.42	32.83	31.12	17.03	26.76

Para conocer si los datos obtenidos se ajustaron a una distribución normal fue necesario realizar la Prueba de **Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov**

Donde se establece que:

Ho = Muestra proviene distribución normal

Hi = Muestra proviene de una distribución diferente a la normal

FS = Frecuencia acumulada / total datos

FT = Se obtiene a partir de z y la tabla F del Daniel

D = |FS-FT|

FA = Frecuencia Acumulada

Se acepta Ho si $D_{max} < N$ (D_{max} se encuentra en negritas)

Tabla N (para n = 6) del Daniel: Prueba bilateral

p = 0.80	p = 0.90	p = 0.95	p = 0.98	p = 0.99
N = 0.41	N = 0.468	N = 0.519	N = 0.577	N = 0.617

Como se puede observar a continuación en todos los casos: $D_{max} < N$ (a cualquier nivel de α) por lo que se tiene que:

D es insignificante a cualquier nivel razonable y por lo tanto se acepta H_0 (distribución normal)

Prueba de Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov para TEWL inmediatamente después de haber retirado la formulación (tiempo cero)

Control		Promedio	12.83			
		SD	2.90			
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.83)/2.9$	FT	FS-FT
8.23	1	1	0.1667	-1.59	0.0559	0.1108
10.95	1	2	0.3333	-0.65	0.2578	0.0755
12.87	1	3	0.5000	0.01	0.5040	0.0040
13.53	1	4	0.6667	0.24	0.5948	0.0719
15.13	1	5	0.8333	0.79	0.7852	0.0481
16.25	1	6	1.0000	1.18	0.8810	0.1190

PG		Promedio	13.65			
		SD	6.11			
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-13.65)/6.11$	FT	FS-FT
6.6	1	1	0.1667	-1.15	0.1251	0.0416
7.6	1	2	0.3333	-0.99	0.1611	0.1722
12	1	3	0.5000	-0.27	0.3936	0.1064
16	1	4	0.6667	0.38	0.648	0.0187
17.1	1	5	0.8333	0.56	0.7123	0.1210
22.6	1	6	1.0000	1.46	0.9279	0.0721

TC		Promedio	10.28			
		SD	1.62			
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-10.28)/1.62$	FT	FS-FT
8	1	1	0.1667	-1.41	0.0793	0.0874
8.8	1	2	0.3333	-0.91	0.1814	0.1519
10.5	1	3	0.5000	0.14	0.5557	0.0557
10.6	1	4	0.6667	0.20	0.5793	0.0874
11.5	1	5	0.8333	0.75	0.7734	0.0599
12.3	1	6	1.0000	1.25	0.8944	0.1056

EtOH		Promedio	12.07			
		SD	1.84			
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.07)/1.84$	FT	FS-FT
8.8	1	1	0.1667	-1.78	0.0375	0.1292
11.5	1	2	0.3333	-0.31	0.3783	0.0450
12.1	1	3	0.5000	0.02	0.5080	0.0080
12.5	1	4	0.6667	0.23	0.5910	0.0757
13.5	1	5	0.8333	0.78	0.7823	0.0510
14	1	6	1.0000	1.05	0.8531	0.1469

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AZO		Promedio	12.32				
		SD	2.18				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.32)/2.18$	FT	FS-FT	
10.3	1	1	0.1667	-0.93	0.1762	0.0095	
11	2	3	0.5000	-0.61	0.2709	0.2291	
12.5	1	4	0.6667	0.08	0.5319	0.1348	
12.8	1	5	0.8333	0.22	0.5478	0.2855	
16.3	1	6	1.0000	1.83	0.9664	0.0336	

DER		Promedio	12.72				
		SD	2.45				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.72)/2.45$	FT	FS-FT	
9.3	1	1	0.1667	-1.40	0.0808	0.0859	
10	1	2	0.3333	-1.11	0.1335	0.1998	
13.5	1	3	0.5000	0.32	0.6255	0.1255	
13.8	1	4	0.6667	0.44	0.6700	0.0033	
14.6	1	5	0.8333	0.77	0.7486	0.0847	
15.1	1	6	1.0000	0.97	0.8340	0.1660	

DER-PG		Promedio	16.28				
		SD	3.77				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-16.28)/3.77$	FT	FS-FT	
12	1	1	0.1667	-1.14	0.1292	0.0375	
13.5	1	2	0.3333	-0.74	0.2296	0.1037	
14.5	1	3	0.5000	-0.47	0.3192	0.1808	
16.5	1	4	0.6667	0.06	0.5239	0.1428	
19.1	1	5	0.8333	0.75	0.7734	0.0599	
22.1	1	6	1.0000	1.54	0.9382	0.0618	

DER-TC		Promedio	12.03				
		SD	3.42				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.03)/3.42$	FT	FS-FT	
8.1	1	1	0.1667	-1.15	0.1251	0.0416	
9.6	1	2	0.3333	-0.71	0.2389	0.0944	
10.6	1	3	0.5000	-0.42	0.3372	0.1628	
12.1	1	4	0.6667	0.02	0.508	0.1587	
14.3	1	5	0.8333	0.66	0.7454	0.0879	
17.5	1	6	1.0000	1.60	0.9452	0.0548	

DER-EtOH		Promedio	11.85				
		SD	3.89				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-11.85)/3.89$	FT	FS-FT	
7.5	1	1	0.1667	-1.12	0.1314	0.0353	
8.5	1	2	0.3333	-0.86	0.1977	0.1356	
9	1	3	0.5000	-0.73	0.2327	0.2673	
15	1	4	0.6667	0.81	0.791	0.1243	
15.3	1	5	0.8333	0.89	0.8133	0.0200	
15.8	1	6	1.0000	1.02	0.8461	0.1539	

AZO-PG		Promedio	17.78				
		SD	5.53				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-17.78)/5.53$	FT	FS-FT	
10.6	1	1	0.1667	-1.30	0.0968	0.0699	
14.3	1	2	0.3333	-0.63	0.2643	0.0690	
15.3	1	3	0.5000	-0.45	0.3264	0.1736	
20.1	2	5	0.8333	0.42	0.6628	0.1705	
26.3	1	6	1.0000	1.54	0.9382	0.0618	

AZO-TC		Promedio	12.12				
		SD	2.06				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-12.12)/2.06$	FT	FS-FT	
8.6	1	1	0.1667	-1.71	0.0436	0.1231	
11.1	1	2	0.3333	-0.50	0.3085	0.0248	
12.5	2	4	0.6667	0.18	0.5714	0.0953	
13.5	1	5	0.8333	0.67	0.7486	0.0847	
14.5	1	6	1.0000	1.16	0.877	0.1230	

AZO-EtOH		Promedio	11.13				
		SD	2.98				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z = (x-11.13)/2.98$	FT	FS-FT	
7.5	1	1	0.1667	-1.22	0.1112	0.0555	
8.6	1	2	0.3333	-0.85	0.1977	0.1356	
9.6	1	3	0.5000	-0.51	0.305	0.1950	
12.5	1	4	0.6667	0.46	0.6772	0.0105	
13.8	1	5	0.8333	0.90	0.8159	0.0174	
14.8	1	6	1.0000	1.23	0.8907	0.1093	

Cambio absoluto del TEWL (Formulación menos Control) inmediatamente después de haber retirado la formulación (tiempo cero)

Persona	Control	PG	TC	EiOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EiOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EiOH
1	0	-0.63	0.57	0.57	2.07	5.27	5.27	-0.13	0.77	6.07	4.27	-0.73
2	0	0.85	-3.95	-4.75	-3.45	-2.45	5.85	-1.95	-0.45	3.85	-2.75	-1.45
3	0	-4.35	-2.95	1.15	1.55	-1.65	1.05	-1.35	-3.45	4.35	0.15	-1.35
4	0	-1.53	-2.03	-1.03	2.78	1.58	0.98	3.98	1.78	6.58	0.98	0.28
5	0	7.48	-4.53	-1.13	-4.13	-0.53	3.98	-3.03	-0.13	-4.53	-6.53	-6.53
6	0	3.13	-2.37	0.63	-1.87	-2.87	3.63	-2.27	-4.37	13.43	-0.37	-0.37

Análisis de varianza de un factor del TEWL para el tiempo cero ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	296.1603819	11	26.924	2.193	0.027	2.559
Dentro de los grupos	736.5913889	60	12.277			
Total	1032.751771	71				

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Medida del TEWL (moda) después de la primera hora de haber retirado la formulación

Persona	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
1	7.80	6.5	7.8	8	7.8	12.6	9.1	7.5	7.7	11.1	8.8	9
2	13.10	9.6	10.1	10.1	10.8	14.3	13.1	11.5	16.3	16.8	14.1	13.8
3	9.30	7.5	8.5	8.1	9.5	8	8.6	8.1	6.6	13.6	10.1	10.1
4	10.00	10.6	10.6	12	15	12.8	15.6	16	14.3	16	12.2	13.8
5	8	11.5	10.6	10	9.6	10.6	14.5	8.4	8.1	10.3	9.1	9
6	13.85	20.3	10.3	13.8	12.6	13.6	16.3	12.1	15.5	22.6	12.5	15.8
Promedio	10.34	11.00	9.65	10.33	10.88	11.98	12.87	10.60	11.42	15.07	11.13	11.92
SD	2.57	4.93	1.20	2.25	2.57	2.32	3.30	3.25	4.40	4.50	2.12	2.92
CV	24.87	44.79	12.41	21.81	23.59	19.32	25.63	30.69	38.55	29.86	19.03	24.46
¿Distribución normal?	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si

Para conocer si los datos obtenidos se ajustaron a una distribución normal fue necesario realizar la Prueba de **Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov**, como se realizó para el tiempo cero.

Como se puede observar a continuación en todos los casos: $D_{max} < N$ (a cualquier nivel de α) por lo que se tiene que: D es insignificante a cualquier nivel razonable y por lo tanto se acepta H_0 (distribución normal).

Prueba de Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov para TEWL una hora después de haber retirado la formulación

Control	Promedio	10.34					
	SD	2.57					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-10.34)/2.57$	FT	FS-FT	
7.80	1	1	0.1667	-0.99	0.1611	0.0056	
8	1	2	0.3333	-0.91	0.1814	0.1519	
9.30	1	3	0.5000	-0.40	0.3446	0.1554	
10.00	1	4	0.6667	-0.13	0.4522	0.2145	
13.10	1	5	0.8333	1.07	0.8577	0.0244	
13.85	1	6	1.0000	1.37	0.9147	0.0853	

PG	Promedio	11					
	SD	4.96					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-11)/4.96$	FT	FS-FT	
6.5	1	1	0.1667	-0.907258065	0.1814	0.0147	
7.5	1	2	0.3333	-0.705645161	0.2389	0.0944	
9.6	1	3	0.5000	-0.282258065	0.3897	0.1103	
10.6	1	4	0.6667	-0.080645161	0.4681	0.1986	
11.5	1	5	0.8333	0.100806452	0.5398	0.2935	
20.3	1	6	1.0000	1.875	0.9699	0.0301	

TC	Promedio	9.65					
	SD	1.20					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-9.65)/1.20$	FT	FS-FT	
7.8	1	1	0.1667	-1.54	0.0618	0.1049	
8.5	1	2	0.3333	-0.96	0.1685	0.1648	
10.1	1	3	0.5000	0.37	0.6443	0.1443	
10.3	1	4	0.6667	0.54	0.7054	0.0387	
10.6	2	6	1.0000	0.79	0.7852	0.2148	

EtOH	Promedio	10.33					
	SD	2.25					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z=(x-10.33)/2.25$	FT	FS-FT	
8	1	1	0.1667	-1.04	0.1492	0.0175	
8.1	1	2	0.3333	-0.99	0.1611	0.1722	
10	1	3	0.5000	-0.15	0.4404	0.0596	
10.1	1	4	0.6667	-0.10	0.4602	0.2065	
12	1	5	0.8333	0.74	0.7704	0.0629	
13.8	1	6	1.0000	1.54	0.9382	0.0618	

162

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

AZO		Promedio	10.88				
		SD	2.57				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-10.88)/2.57$	FT	FS-FT	
7.8	1	1	0.1667	-1.20	0.1151	0.0516	
9.5	1	2	0.3333	-0.54	0.2981	0.0352	
9.6	1	3	0.5000	-0.50	0.3085	0.1915	
10.8	1	4	0.6667	-0.03	0.4880	0.1787	
12.6	1	5	0.8333	0.67	0.7486	0.0847	
15	1	6	1.0000	1.60	0.9452	0.0548	

DER		Promedio	11.98				
		SD	2.32				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-11.98)/2.32$	FT	FS-FT	
8	1	1	0.1667	-1.72	0.0427	0.1240	
10.6	1	2	0.3333	-0.60	0.2743	0.0590	
12.6	1	3	0.5000	0.27	0.6064	0.1064	
12.8	1	4	0.6667	0.35	0.6368	0.0299	
13.6	1	5	0.8333	0.70	0.7580	0.0753	
14.3	1	6	1.0000	1.00	0.8413	0.1587	

DER-PG		Promedio	12.87				
		SD	3.30				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-12.87)/3.30$	FT	FS-FT	
8.6	1	1	0.1667	-1.29	0.0985	0.0682	
9.1	1	2	0.3333	-1.14	0.1271	0.2062	
13.1	1	3	0.5000	0.07	0.5279	0.0279	
14.5	1	4	0.6667	0.50	0.6915	0.0248	
15.6	1	5	0.8333	0.83	0.7967	0.0366	
16.3	1	6	1.0000	1.04	0.8508	0.1492	

DER-TC		Promedio	10.60				
		SD	3.25				
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-10.60)/3.25$	FT	FS-FT	
7.5	1	1	0.1667	-0.95	0.1711	0.0044	
8.1	1	2	0.3333	-0.77	0.2206	0.1127	
8.4	1	3	0.5000	-0.68	0.2483	0.2517	
11.5	1	4	0.6667	0.28	0.6103	0.0564	
12.1	1	5	0.8333	0.46	0.6772	0.1561	
16	1	6	1.0000	1.66	0.9515	0.0485	

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

DER-EIOH		Promedio					
		SD					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-11.42)/4.40$	FT	FS-FT	
6.6	1	1	0.1667	-1.09	0.1379	0.0288	
7.7	1	2	0.3333	-0.84	0.2005	0.1328	
8.1	1	3	0.5000	-0.75	0.2266	0.2734	
14.3	1	4	0.6667	0.66	0.7454	0.0787	
15.5	1	5	0.8333	0.93	0.8238	0.0095	
16.3	1	6	1.0000	1.11	0.8665	0.1335	

AZO-PG		Promedio					
		SD					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-15.07)/4.50$	FT	FS-FT	
10.3	1	1	0.1667	-1.06	0.1446	0.0221	
11.1	1	2	0.3333	-0.88	0.1894	0.1439	
13.6	1	3	0.5000	-0.33	0.3707	0.1293	
16	1	4	0.6667	0.21	0.5832	0.0835	
16.8	1	5	0.8333	0.39	0.6517	0.1816	
22.6	1	6	1.0000	1.67	0.9525	0.0475	

AZO-TC		Promedio					
		SD					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-11.13)/2.12$	FT	FS-FT	
8.8	1	1	0.1667	-1.10	0.1357	0.0310	
9.1	1	2	0.3333	-0.96	0.1685	0.1648	
10.1	1	3	0.5000	-0.49	0.3121	0.1879	
12.2	1	4	0.6667	0.50	0.6915	0.0248	
12.5	1	5	0.8333	0.64	0.7389	0.0944	
14.1	1	6	1.0000	1.40	0.9192	0.0808	

AZO-EtOH		Promedio					
		SD					
x	Frecuencia	FA	FS (x)	$z=(x-11.92)/2.92$	FT	FS-FT	
9	2	2	0.3333	-1.00	0.1587	0.1746	
10.1	1	3	0.5000	-0.62	0.2709	0.2291	
13.8	2	5	0.8333	0.65	0.7422	0.0911	
15.8	1	6	1.0000	1.33	0.9082	0.0918	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cambio absoluto del TEWL (Formulación menos Control) después de la primera hora de haber retirado la formulación

Persona	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
1	0	-1.30	0.00	0.20	0.00	4.80	1.30	-0.30	-0.10	3.30	1.00	1.20
2	0	-3.50	-3.00	-3.00	-2.30	1.20	0.00	-1.60	3.20	3.70	1.00	0.70
3	0	-1.80	-0.80	-1.20	0.20	-1.30	-0.70	-1.20	-2.70	4.30	0.80	0.80
4	0	0.60	0.60	2.00	5.00	2.80	5.60	6.00	4.30	6.00	2.20	3.80
5	0	3.50	2.60	2.00	1.60	2.60	6.50	0.40	0.10	2.30	1.10	1.00
6	0	6.45	-3.55	-0.05	-1.25	-0.25	2.45	-1.75	1.65	8.75	-1.35	1.95

Análisis de varianza de un factor del TEWL ($\alpha = 0.01$) después de la primera hora de haber retirado la formulación

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	128.102	10	12.810	2.135	0.037	2.662
Dentro de los grupos	330.050	55	6.000			
Total	458.151	65				

Promedio del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación

	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	9.62	9.82	9.53	10.17	9.38	12.25	11.48	10.75	11.40	13.18	9.97	11.47
SD	1.731	4.255	1.148	2.391	1.118	2.081	2.367	2.590	3.068	4.958	1.920	2.470
CV	17.991	43.341	12.045	23.513	11.914	16.989	20.611	24.091	26.911	37.608	19.265	21.537

Cambio absoluto del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación

	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	0.20	-0.09	0.55	-0.24	2.63	1.86	1.13	1.78	3.56	0.35	1.85
SD	2.524	-0.583	0.660	-0.613	0.350	0.636	0.859	1.337	3.227	0.189	0.739

Análisis de varianza de un factor del TEWL después de 2 horas de haber retirado la formulación ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	96.558	11	8.778	1.173	0.325	2.559
Dentro de los grupos	448.997	60	7.483			
Total	545.555	71				

TESTES CON
 FALLA DE ORIGEN

Promedio del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación

	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	8.93	10.46	10.64	9.90	10.12	10.43	11.52	10.10	10.80	12.00	12.57	12.07
SD	2.156	2.932	3.623	0.812	0.205	1.746	3.497	1.570	2.688	2.972	2.248	3.479
CV	24.146	28.033	34.047	8.206	2.025	16.750	30.360	15.545	24.891	24.763	17.888	28.831

Cambio absoluto del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación

	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	1.53	1.71	0.97	1.19	1.50	2.59	1.17	1.87	3.07	3.64	3.14
SD	0.776	1.467	1.344	1.951	0.410	1.341	0.586	0.532	0.816	0.092	1.323

Análisis de varianza de un factor del TEWL después de 3 horas de haber retirado la formulación ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	46.726	11	4.248	0.665	0.762	2.741
Dentro de los grupos	249.219	39	6.390			
Total	295.945	50				

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Promedio del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación

	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	10.49	9.23	10.22	10.60	10.96	11.18	11.40	13.66	10.55	13.97	12.07	14.33
SD	3.591	2.997	0.779	2.180	1.724	2.591	2.312	10.777	3.428	3.636	3.479	2.082
CV	34.241	32.489	7.623	20.568	15.732	23.190	20.283	78.894	32.491	26.036	28.831	14.523

Cambio absoluto del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación

	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH
Promedio	-1.27	-0.27	0.11	0.47	0.69	0.91	3.17	0.06	3.48	1.58	3.84
SD	-0.594	-2.812	1.411	1.867	1.000	1.279	7.186	0.163	0.045	0.112	1.509

Análisis de varianza de un factor del TEWL después de 4 horas de haber retirado la formulación ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	109.964	11	9.997	0.531	0.870	2.755
Dentro de los grupos	715.317	38	18.824			
Total	825.281	49				

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

DISEÑO FACTORIAL AXB (12X3) EN BLOQUES (6) ALEATORIZADO PARA TEWL

Tiempo = A	Control	PG	TC	EtOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EtOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EtOH	Totales
0 h	8.23	7.6	8.8	8.8	10.3	13.5	13.5	8.1	9	14.3	12.5	7.5	930.35
	16.25	17.1	12.3	11.5	12.8	13.8	22.1	14.3	15.8	20.1	13.5	14.8	
	10.95	6.6	8	12.1	12.5	9.3	12	9.6	7.5	15.3	11.1	9.6	
	13.53	12	11.5	12.5	16.3	15.1	14.5	17.5	15.3	20.1	14.5	13.8	
	15.13	22.6	10.6	14	11	14.6	19.1	12.1	15	10.6	8.6	8.6	
	12.87	16	10.5	13.5	11	10	16.5	10.6	8.5	26.3	12.5	12.5	
1 h	7.80	6.5	7.8	8	7.8	12.6	9.1	7.5	7.7	11.1	8.8	9	823.15
	13.10	9.6	10.1	10.1	10.8	14.3	13.1	11.5	16.3	16.8	14.1	13.8	
	9.30	7.5	8.5	8.1	9.5	8	8.6	8.1	6.6	13.6	10.1	10.1	
	10.00	10.6	10.6	12	15	12.8	15.6	16	14.3	16	12.2	13.8	
	8	11.5	10.6	10	9.6	10.6	14.5	8.4	8.1	10.3	9.1	9	
	13.85	20.3	10.3	13.8	12.6	13.6	16.3	12.1	15.5	22.6	12.5	15.8	
2 h	8.13	6.9	8.3	9.5	8	14	11	7	8	10	8.1	9.3	774.13
	10.23	9.1	9.1	10.6	9.5	11.8	11.5	11.3	15.8	15.3	13.1	14.1	
	8.07	5.6	9.5	6.3	8.5	9.3	8.1	9.1	11.5	12.5	10.3	10.1	
	10.50	11.1	11.5	11.2	11.1	14.6	11.7	14.6	12.8	9.8	11.1	12.8	
	12.40	17.6	8.7	13.6	10.1	13.3	15.5	12	12.5	22.2	8.6	14	
	8.40	8.6	10.1	9.8	9.1	10.5	11.1	10.5	7.8	9.3	8.6	8.5	
Totales	196.73	206.80	176.80	195.40	195.50	221.70	243.80	200.30	208.00	276.20	199.30	207.10	2527.63

Análisis de Varianza

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra (Factor A)	177.322	2	88.661	8.853	0.0002	4.725
Columnas (Factor B)	421.668	11	38.333	3.828	5.82298E-05	2.348
Interacción (AB)	106.942	22	4.861	0.485	0.9756	1.936
Dentro del grupo (Error)	1802.672	180	10.015			
Total	2508.605	215				

Se rechaza H_0 (que suponía todas las medias iguales) entonces hay diferencias al menos en un par de medias.

Prueba de Tukey

$$DVS = q_{\alpha, k, N-k} \cdot \frac{\text{Promedio Cuadrados}}{n}$$

Donde:

DVS = Diferencia verdaderamente significativa

α = nivel de significación elegido (en este caso es de 1%)

k = número de medias en el experimento

N = número total de observaciones en el experimento

n = número total de observaciones en el tratamiento

PC = Promedio de los Cuadrados dentro de los grupos (el Error)

q = Se obtiene de tablas con los valores de α , k y N-k [Daniel, 1993]

q = 5.29

n = 6

Promedio de los Cuadrados (Error) = 10.01484471

Si DVS es mayor al cambio absoluto entonces no hay diferencia (Las diferencias están subrayadas y en negritas)

DVS = 6.83442774

	Control	PG	TC	EIOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EIOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EIOH
<i>0 h</i>												
Suma	76.9500	81.9000	61.7000	72.4000	73.9000	76.3000	97.7000	72.2000	71.1000	106.7000	72.7000	66.8000
Promedio	12.8250	13.6500	10.2833	12.0667	12.3167	12.7167	16.2833	12.0333	11.8500	17.7833	12.1167	11.1333
Varianza	8.4223	37.3110	2.6217	3.3947	4.7337	6.0137	14.2177	11.6947	15.1390	30.6337	4.2577	8.8787
<i>1 h</i>												
Suma	62.0500	66.0000	57.9000	62.0000	65.3000	71.9000	77.2000	63.6000	68.5000	90.4000	66.8000	71.5000
Promedio	10.3417	11.0000	9.6500	10.3333	10.8833	11.9833	12.8667	10.6000	11.4167	15.0667	11.1333	11.9167
Varianza	6.6124	24.2720	1.4350	5.0787	6.5937	5.3617	10.8747	10.5840	19.3697	20.2467	4.4907	8.4977

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2h

Suma	57.7250	58.9000	57.2000	61.0000	56.3000	73.5000	68.9000	64.5000	68.4000	79.1000	59.8000	68.8000
Promedio	9.6208	9.8167	9.5333	10.1667	9.3833	12.2500	11.4833	10.7500	11.4000	13.1833	9.9667	11.4667
Varianza	2.9960	18.1017	1.3187	5.7147	1.2497	4.3310	5.6017	6.7070	9.4120	24.5817	3.6867	6.0987

Diferencia entre los promedios de los tratamientos a cada uno de los tiempos (valor absoluto)

0h	Control	PG	TC	EIOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EIOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EIOH
Control	0	0.8250	2.5417	0.7583	0.5083	0.1083	3.4583	0.7917	0.7917	4.9583	0.7083	1.6917
PG	X	0	3.3667	1.5833	1.3333	0.9333	2.6333	1.6167	1.8000	4.1333	1.5333	2.5167
TC	X	X	0	1.7833	2.0333	2.4333	6.0000	1.7500	1.5667	7.5000	1.8333	0.8500
EIOH	X	X	X	0	0.2500	0.6500	4.2167	0.0333	0.2167	5.7167	0.0500	0.8500
AZO	X	X	X	X	0	0.4000	3.9667	0.2833	0.4667	5.4667	0.2000	1.1833
DER	X	X	X	X	X	0	3.5667	0.6833	0.8667	5.0667	0.6000	1.5833
DER-PG	X	X	X	X	X	X	0	4.2500	4.4333	1.5000	4.1667	5.1500
DER-TC	X	X	X	X	X	X	X	0	0.1833	5.7500	0.0833	0.9000
DER-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	0	5.9333	0.2667	0.7167
AZO-PG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	5.6667	6.6500
AZO-TC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	0.9833
AZO-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0

1h	Control	PG	TC	EIOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EIOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EIOH
Control	0	0.6583	0.6917	0.0083	0.5417	1.6417	2.5250	0.2583	1.0750	4.7250	0.7917	1.5750
PG	X	0	1.3500	0.6667	0.1167	0.9833	1.8667	0.4000	0.4167	4.0667	0.1333	0.9167
TC	X	X	0	0.6833	1.2333	2.3333	3.2167	0.9500	1.7667	5.4167	1.4833	2.2667
EIOH	X	X	X	0	0.5500	1.6500	2.5333	0.2667	1.0833	4.7333	0.8000	1.5833
AZO	X	X	X	X	0	1.1000	1.9833	0.2833	0.5333	4.1833	0.2500	1.0333
DER	X	X	X	X	X	0	0.8833	1.3833	0.5667	3.0833	0.8500	0.0667
DER-PG	X	X	X	X	X	X	0	2.2667	1.4500	2.2000	1.7333	0.9500
DER-TC	X	X	X	X	X	X	X	0	0.8167	4.4667	0.5333	1.3167
DER-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	0	3.6500	0.2833	0.5000
AZO-PG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	3.9333	3.1500
AZO-TC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	0.7833
AZO-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2h	Control	PG	TC	EIOH	AZO	DER	DER-PG	DER-TC	DER-EIOH	AZO-PG	AZO-TC	AZO-EIOH
Control	0	0.1958	0.0875	0.5458	0.2375	2.6292	1.8625	1.1292	1.7792	3.5625	0.3458	1.8458
PG	X	0	0.2833	0.3500	0.4333	2.4333	1.6667	0.9333	1.5833	3.3667	0.1500	1.6500
TC	X	X	0	0.6333	0.1500	2.7167	1.9500	1.2167	1.8667	3.6500	0.4333	1.9333
EIOH	X	X	X	0	0.7833	2.0833	1.3167	0.5833	1.2333	3.0167	0.2000	1.3000
AZO	X	X	X	X	0	2.8667	2.1000	1.3667	2.0167	3.8000	0.5833	2.0833
DER	X	X	X	X	X	0	0.7667	1.5000	0.8500	0.9333	2.2833	0.7833
DER-PG	X	X	X	X	X	X	0	0.7333	0.0833	1.7000	1.5167	0.0167
DER-TC	X	X	X	X	X	X	X	0	0.6500	2.4333	0.7833	0.7167
DER-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	0	1.7833	1.4333	0.0667
AZO-PG	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	3.2167	1.7167
AZO-TC	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0	1.5000
AZO-EIOH	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	0

Si el DVS es de 6.83442774 al considerar el promedio de los cambios absolutos podemos decir que ninguna de las formulaciones tiene diferencia estadísticamente significativa con respecto al control; no obstante AZO-PG y TC indican una diferencia significativa al tiempo cero.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

10.3.2 Espectroscopía de Infrarrojo por Transformadas de Fourier / Reflectancia Total Atenuada

Estudios estadísticos de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Grupo A: Medidas de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Derma	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	2920	2920	2922	2920	2920	2922	2920	2920
2	2920	2922	2920	2920	2920	2922	2918.1	2920
3	2915.2	2916.2	2922	2922	2920	2922	2918.1	2918.1
4	2918.1	2923.9	2923.9	2922.9	2924.4	2922	2918.1	2921
5	2919.5	2922.4	2922.9	2922	2920	2920.5	2921.5	2917.1
6	2917.6	2922	2922	2922.9	2922.4	2916.7	2917.6	2917.6
Promedio	2918.4	2921.1	2922.1	2921.6	2921.1	2920.9	2918.9	2919.0
SD	1.864	2.697	1.289	1.328	1.866	2.128	1.522	1.573
CV	0.064	0.092	0.044	0.045	0.064	0.073	0.052	0.054

Grupo B: Cambio absoluto (Formulación menos Control) de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Derma	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	0	0	2	0	0	2	0	0
2	0	2	0	0	0	2	-1.9	0
3	0	1	6.8	6.8	4.8	6.8	2.9	2.9
4	0	5.8	5.8	4.8	6.3	3.9	0	2.9
5	0	2.9	3.4	2.5	0.5	1.0	2.0	-2.4
6	0	4.4	4.4	5.3	4.8	-0.9	0	0
Promedio		2.7	3.7	3.2	2.7	2.5	0.5	0.6
SD		2.154	2.498	2.862	2.876	2.640	1.698	2.042
CV		80.433	67.007	88.655	105.416	107.275	343.470	363.950

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Grupo C: Áreas de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	15.72	11.68	9.06	16.48	11.46	10.82	10.06	5.83
2	8.34	12.46	18.09	36.74	27.95	7.02	27.53	25.24
3	7.11	23.44	4.33	9.63	4.42	14.99	9.66	3.96
4	30.21	28.45	11.27	27.03	24.49	13.92	24.23	17.76
5	23.09	25.05	9.01	25.72	6.06	6.37	9.65	2.22
6	18.03	21.80	12.31	22.56	12.16	5.70	11.22	2.69
Promedio	17.08	20.48	10.68	23.02	14.42	9.80	15.39	9.62
SD	8.800	6.879	4.552	9.316	6.677	4.029	8.211	9.587
CV	51.507	33.590	42.627	40.460	67.100	41.104	53.358	99.696

Grupo D: Áreas de las bandas correspondientes a la flexión de amida II (localizados aproximadamente a 1538 cm^{-1}) ligadas a proteínas y lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	40.78	20.48	12.57	35.68	19.06	19.73	26.95	14.60
2	27.16	29.46	39.65	65.51	90.33	18.83	61.61	45.04
3	11.14	32.44	5.23	16.94	12.08	22.13	18.30	8.05
4	6.57	6.21	1.75	4.28	6.37	3.57	4.31	5.63
5	3.92	2.56	1.40	2.77	1.33	0.85	2.19	1.11
6	3.22	2.86	1.87	3.25	1.96	1.69	2.56	1.63
Promedio	15.47	15.67	10.41	21.40	21.85	11.14	19.32	12.68
SD	15.223	13.566	14.937	25.057	34.204	10.062	23.010	16.601
CV	98.428	86.583	143.435	117.064	156.516	90.360	119.100	130.950

Grupo E: Áreas normalizadas (área de la banda 2920 / área de la banda 1538) de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	0.39	0.57	0.72	0.46	0.60	0.55	0.37	0.40
2	0.31	0.42	0.46	0.56	0.31	0.37	0.45	0.56
3	0.64	0.72	0.83	0.57	0.37	0.68	0.53	0.49
4	4.60	4.58	6.43	6.31	3.85	3.89	5.62	3.16
5	5.89	9.78	6.43	9.30	4.57	7.50	4.40	2.00
6	5.59	7.63	6.57	6.94	6.22	3.37	4.39	1.65
Promedio	2.90	3.95	3.57	4.02	2.65	2.73	2.63	1.38
SD	2.729	4.057	3.185	3.955	2.560	2.795	2.426	1.099
CV	94.032	102.639	89.127	98.279	96.514	102.493	92.393	79.845

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Prueba de Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov para las bandas (correspondientes a altura y área) de los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación, grupos A y E)

Grupo A: Números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Control			Promedio	2918.41			
			SD	1.9			
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2918.41)/1.9$	FT	FS-FT	
2915.2	1	1	0.1667	-1.69	0.0455	0.1212	
2917.6	1	2	0.3333	-0.43	0.3336	0.0003	
2918.1	1	3	0.5000	-0.16	0.4364	0.0636	
2919.5	1	4	0.6667	0.59	0.7224	0.0557	
2920	2	6	1.0000	0.84	0.7995	0.2005	

PG			Promedio	2918.90			
			SD	1.52			
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2918.90)/1.52$	FT	FS-FT	
2917.6	1	1	0.1667	-0.86	0.1949	0.0282	
2918.1	3	4	0.6667	-0.53	0.2981	0.3686	
2920	1	5	0.8333	0.72	0.7642	0.0691	
2921.5	1	6	1.0000	1.71	0.9564	0.0436	

TC			Promedio	2918.97			
			SD	1.57			
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2918.97)/1.57$	FT	FS-FT	
2917.1	1	1	0.1667	-1.19	0.117	0.0497	
2917.6	1	2	0.3333	-0.87	0.1922	0.1411	
2918.1	1	3	0.5000	-0.55	0.2912	0.2088	
2920	2	5	0.8333	0.66	0.7454	0.0879	
2921	1	6	1.0000	1.29	0.9015	0.0985	

EtOH			Promedio	2920.87			
			SD	2.13			
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2920)/2.13$	FT	FS-FT	
2916.7	1	1	0.1667	-1.96	0.0250	0.1417	
2920.5	1	2	0.3333	-0.17	0.4325	0.0992	
2922	4	6	1.0000	0.53	0.7019	0.2981	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DER		Promedio	2921.08				
		SD	2.70				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2921.08)/2.70$	FT	FS-FT	
2916.2	1	1	0.167	-1.81	0.0351	0.1316	
2920	1	2	0.333	-0.40	0.3446	0.0113	
2922	2	4	0.667	0.34	0.6331	0.0336	
2922.4	1	5	0.833	0.49	0.6879	0.1454	
2923.9	1	6	1.000	1.04	0.8508	0.1492	

DER-PG		Promedio	2921.63				
		SD	1.33				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2921.63)/1.33$	FT	FS-FT	
2920	2	2	0.3333	-1.23	0.1093	0.2240	
2922	2	4	0.6667	0.28	0.6103	0.0564	
2922.9	2	6	1.0000	0.95	0.8289	0.1711	

DER-TC		Promedio	2921.13				
		SD	1.87				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2921.13)/1.87$	FT	FS-FT	
2920	4	4	0.6667	-0.60	0.2743	0.3924	
2922.4	1	5	0.8333	0.68	0.7517	0.0816	
2924.4	1	6	1.0000	1.75	0.9599	0.0401	

DER-EtOH		Promedio	2922.13				
		SD	1.29				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2922.13)/1.29$	FT	FS-FT	
2920	1	1	0.1667	-1.65	0.0495	0.1172	
2922	3	4	0.6667	-0.10	0.4602	0.2065	
2922.9	1	5	0.8333	0.60	0.7257	0.1076	
2923.9	1	6	1.0000	1.37	0.9147	0.0853	

Grupo E: Bandas (Área normalizada de la banda que se encuentra aprox. a 2920 cm⁻¹)

Control		Promedio	2.90				
		SD	2.73				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.9)/2.73$	FT	FS-FT	
0.31	1	1	0.1667	-0.95	0.1711	0.0044	
0.39	1	2	0.3333	-0.92	0.1788	0.1545	
0.64	1	3	0.5000	-0.83	0.2033	0.2967	
4.60	1	4	0.6667	0.62	0.7324	0.0657	
5.59	1	5	0.8333	0.99	0.8389	0.0056	
5.89	1	6	1.0000	1.09	0.8621	0.1379	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PG	Promedio	SD	2.63				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.63)/2.43$	FT	FS-FT	
0.37	1	1	0.1667	-0.93	0.1762	0.0095	
0.45	1	2	0.3333	-0.90	0.1841	0.1492	
0.53	1	3	0.5000	-0.87	0.1922	0.3078	
4.39	1	4	0.6667	0.72	0.7642	0.0975	
4.40	1	5	0.8333	0.73	0.7673	0.0660	
5.62	1	6	1.0000	1.23	0.8907	0.1093	

TC	Promedio	SD	1.38				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-1.38)/1.1$	FT	FS-FT	
0.40	1	1	0.1667	-0.89	0.1867	0.0200	
0.49	1	2	0.3333	-0.81	0.209	0.1243	
0.56	1	3	0.5000	-0.75	0.2266	0.2734	
1.65	1	4	0.6667	0.25	0.5596	0.1071	
2.00	1	5	0.8333	0.56	0.7123	0.1210	
3.16	1	6	1.0000	1.62	0.9474	0.0526	

EIOH	Promedio	SD	2.73				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.73)/2.8$	FT	FS-FT	
0.37	1	1	0.1667	-0.84	0.2005	0.0338	
0.55	1	2	0.3333	-0.78	0.2206	0.1127	
0.68	1	3	0.5000	-0.73	0.2327	0.2673	
3.37	1	4	0.6667	0.23	0.591	0.0757	
3.89	1	5	0.8333	0.42	0.6628	0.1705	
7.50	1	6	1.0000	1.70	0.9554	0.0446	

DER	Promedio	SD	3.95				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-3.95)/4.06$	FT	FS-FT	
0.42	1	1	0.1667	-0.87	0.1922	0.0255	
0.57	1	2	0.3333	-0.83	0.2033	0.1300	
0.72	1	3	0.5000	-0.79	0.2148	0.2852	
4.58	1	4	0.6667	0.16	0.5636	0.1031	
7.63	1	5	0.8333	0.91	0.8186	0.0147	
9.78	1	6	1.0000	1.44	0.9251	0.0749	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DER-PG		Promedio	4.02				
		SD	3.96				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-4.02)/3.96$	FT	FS-FT	
0.46	1	1	0.1667	-0.90	0.1841	0.0174	
0.56	1	2	0.3333	-0.87	0.1922	0.1411	
0.57	1	3	0.5000	-0.87	0.1922	0.3078	
6.31	1	4	0.6667	0.58	0.719	0.0523	
6.94	1	5	0.8333	0.74	0.7704	0.0629	
9.30	1	6	1.0000	1.33	0.9082	0.0918	

DER-TC		Promedio	2.65				
		SD	2.56				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.65)/2.56$	FT	FS-FT	
0.31	1	1	0.1667	-0.91	0.1814	0.0147	
0.37	1	2	0.3333	-0.89	0.1867	0.1466	
0.60	1	3	0.5000	-0.80	0.2119	0.2881	
3.85	1	4	0.6667	0.47	0.6808	0.0141	
4.57	1	5	0.8333	0.75	0.7734	0.0599	
6.22	1	6	1.0000	1.39	0.9177	0.0823	

DER-EtOH		Promedio	3.57				
		SD	3.18				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-3.57)/3.18$	FT	FS-FT	
0.46	1	1	0.1667	-0.98	0.1635	0.0032	
0.72	1	2	0.3333	-0.90	0.1841	0.1492	
0.83	1	3	0.5000	-0.86	0.1949	0.3051	
6.43	2	5	0.8333	0.90	0.8159	0.0174	
6.57	1	6	1.0000	0.94	0.8264	0.1736	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis Estadístico de las bandas correspondientes a los estiramientos asimétricos (localizados aproximadamente a 2920 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de la primera hora de haber retirado la formulación

Grupo A: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	84.310	7	12.044	3.574	0.004	3.124
Dentro de los grupos	134.795	40	3.370			
Total	219.105	47				

Grupo B: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	84.310	7	12.044	2.334	0.043	3.124
Dentro de los grupos	206.395	40	5.160			
Total	290.705	47				

Grupo E: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	31.589	7	4.513	0.507	0.823	3.124
Dentro de los grupos	355.736	40	8.893			
Total	387.325	47				

TRANS CON
 FALLA DE ORIGEN

Análisis de varianza de un factor ($\alpha = 0.01$) para el cambio absoluto de los tratamientos inmediatamente después de haber retirado la formulación (tiempo cero)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	90.013	7	12.859	3.053	0.011	3.124
Dentro de los grupos	168.457	40	4.211			
Total	258.470	47				

Diseño factorial AXB (8X5) en bloques (6) para las bandas localizadas a 2920 cm^{-1}

Unidad Experimental = Personas (1-6)

Factor A = Tiempo; Factor B = Promotor (Tratamientos)

$x = \text{cm}^{-1}$

Banda 2920

Para el factor A se tiene:
$$\begin{cases} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{cases}$$

Para el factor B se tiene:
$$\begin{cases} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{cases}$$

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Diseño factorial AXB (8X5) en bloques (6) para las bandas localizadas aproximadamente a 2920 cm⁻¹

Tiempo = A		Promotor = B						
		Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG
0 h	2916.2	2920	2920	2922	2918.1	2922	2920	2918.1
	2920	2920	2918.1	2920	2920	2922	2920	2918.1
	2916.2	2920	2920	2922	2918.1	2920	2920	2918.1
	2918.6	2921.5	2922	2922.9	2923.9	2922	2918.1	2918.1
	2918.4	2922	2922.9	2921.5	2920	2917.6	2922.4	2916.2
	2917.1	2922.4	2922	2922.9	2922	2916.7	2917.6	2918.6
1 h	2920	2920	2922	2920	2920	2922	2920	2920
	2920	2922	2920	2920	2920	2922	2918.1	2920
	2915.2	2916.2	2922	2922	2920	2922	2918.1	2918.1
	2918.1	2923.9	2923.9	2922.9	2924.4	2922	2918.1	2921
	2919.5	2922.4	2922.9	2922	2920	2920.5	2921.5	2917.1
	2917.6	2922	2922	2922.9	2922.4	2916.7	2917.6	2917.6
2 h	2919.05	2920	2922	2920	2920	2920	2918.1	2920
	2920	2922	2920	2920	2920	2922	2918.1	2920
	2916.2	2916.2	2922	2920	2920	2922	2918.1	2918.1
	2918.6	2922.9	2922	2924.4	2922.4	2922	2919.5	2922
	2919.5	2922.9	2922.9	2922.4	2920.5	2921.5	2922	2919.1
	2918.1	2918.1	2922.4	2918.1	2922.4	2921	2917.6	2922
3 h	2919.05	2920	2920	2920	2920	2920	2918.1	2920
	2920	2920	2920	2920	2920	2920	2918.1	2918.1
	2918.1	2916.2	2922	2920	2922	2922	2918.1	2918.1
	2920.5	2919.5	2922.4	2918.1	2922	2922	2918.6	2921
	2920.5	2922	2922.4	2922.4	2921	2921	2921	2919.1
	2919.1	2918.1	2922.4	2917.6	2922.4	2921.5	2917.1	2916.7
4 h	2918.1	2920	2920	2920	2920	2920	2920	2920
	2920	2920	2920	2920	2920	2920	2918.1	2920
	2918.1	2918.1	2922	2920	2920	2922	2918.1	2918.1
	2920	2918.6	2922	2919.6	2920.5	2921.5	2921	2921.5
	2920.7	2922	2922	2921.5	2921.5	2921.5	2922.4	2919.5
	2916.7	2917.6	2921.5	2916.7	2921	2920.5	2917.1	2921.5

TESTES CON FALLA DE ORIGEN

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo $\alpha = 0.01$

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor critico para F
Muestra (Factor A)	10.14259982	4	2.535649955	0.99054469	0.41377784	3.414328376
Columnas (Factor B)	225.5996294	7	32.22851849	12.5899823	2.3975E-13	2.729763082
Interacción (AB)	88.47186351	28	3.159709411	1.23433181	0.20417707	1.820964712
Dentro del grupo (Error)	511.9708321	200	2.559854161			
Total	836.1849248	239				

Prueba de Tukey

$$DVS = q_{\alpha, k, N-k} \sqrt{\frac{\text{Promedio Cuadrados}}{n}}$$

Donde:

$$\alpha = 0.01$$

k = Número de medias en el experimento (12*4) = 48

n = Número total de observaciones en el tratamiento = 6

N = número total de observaciones en el experimento =(6*12*4) = 288

$$N-k = 240$$

$$q = 5.65$$

Promedio de Cuadrados (Error) = 2.559854161

Si DVS es mayor al cambio absoluto entonces no hay diferencia

(Las diferencias se encuentran subrayadas y en negritas)

$$DVS = 3.690459422$$

Promedios de las bandas localizadas aproximadamente a 2920 cm⁻¹

	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h								
Promedio	2917.8	2921.0	2920.8	2921.9	2920.4	2920.1	2919.7	2917.9
1 h								
Promedio	2918.4	2921.1	2922.1	2921.6	2921.1	2920.9	2918.9	2919.0
2 h								
Promedio	2918.6	2920.4	2921.9	2920.8	2920.9	2921.4	2918.9	2920.2
3 h								
Promedio	2919.5	2919.3	2921.5	2919.7	2921.2	2921.1	2918.5	2918.8
4 h								
Promedio	2918.9	2919.4	2921.3	2919.6	2920.5	2920.9	2919.5	2920.1

Diferencia entre los promedios de los tratamientos a cada uno de los tiempos (valor absoluto)

0 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	3.2333	3.0833	4.1333	2.6000	2.3000	1.9333	0.1167
Dermac	X	0.0000	0.1500	0.9000	0.6333	0.9333	1.3000	3.1167
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.0500	0.4833	0.7833	1.1500	2.9667
Der-PG	X	X	X	0.0000	1.5333	1.8333	2.2000	4.0166
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	1.0833	1.4500	3.2667
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	0.3667	2.1833
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	1.8167
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

1 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	2.6777	3.7277	3.2277	2.7277	2.4611	0.4944	0.5611
Dermac	X	0.0000	1.0500	0.5500	0.0500	0.2166	2.1833	2.1166
Der-EtOH	X	X	0.0000	0.5000	1.0000	1.2666	3.2333	3.1666
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.5000	0.7667	2.7333	2.6667
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.2666	2.2333	2.1666
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	1.9667	1.9000
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.0667
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

2 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	1.7694	3.3027	2.2361	2.3027	2.8361	0.3194	1.6194
Dermac	X	0.0000	1.5333	0.4667	0.5333	1.0667	1.4500	0.1500
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.0666	1.0000	0.4666	2.9833	1.6833
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.0666	0.6000	1.9167	0.6167
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.5334	1.9833	0.6833
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	2.5167	1.2167
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	1.3000
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

3 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	0.2417	1.9916	0.1416	1.6916	1.5416	1.0417	0.7084
Dermac	X	0.0000	2.2333	0.3833	1.9333	1.7833	0.8000	0.4667
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.8500	0.3000	0.4500	3.0333	2.7000
Der-PG	X	X	X	0.0000	1.5500	1.4000	1.1833	0.8500
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.1500	2.7333	2.4000
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	2.5833	2.2500
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.3333
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

4 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	0.4555	2.3222	0.7055	1.5722	1.9889	0.5222	1.1722
Dermac	X	0.0000	1.8667	0.2500	1.1167	1.5334	0.0667	0.7167
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.6167	0.7500	0.3333	1.8000	1.1500
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.8667	1.2834	0.1833	0.4667
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.4167	1.0500	0.4000
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	1.4667	0.8167
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.6500
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

Como podemos observar se obtuvieron diferencias al tiempo cero entre el Control y Der-PG así como entre Transcutol[®] y Der-PG y después de una hora de haber retirado la formulación entre el Control y Der-EtOH.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Para las áreas de las bandas localizadas aproximadamente a 2920 cm^{-1}

		Promotor = B						
Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	8.204	10.497	6.828	25.85	4.424	10.613	32.895	5.432
	7.924	19.099	13.622	36.5	12.024	2.634	36.968	16.54
	7.04	43.88	0.99	42.296	3.019	18.996	28.873	5.915
	17.026	15.296	18.205	20.498	8.664	5.205	17.653	13.337
	29.5	19.594	16.301	39.698	18.262	7.494	24.304	13.191
	13.327	31.834	10.584	40.754	8.709	14.663	23.061	3.042
1 h	15.724	11.681	9.064	16.475	11.458	10.819	10.057	5.825
	8.3485	12.461	18.094	36.738	27.947	7.022	27.526	15.825
	7.11	23.439	4.334	9.629	4.419	14.99	9.655	3.956
	23.091	25.049	9.013	25.724	6.056	6.369	9.647	2.224
	30.2	28.449	11.265	27.027	24.491	13.915	24.225	17.762
	18.027	21.797	12.306	22.555	12.162	5.703	11.217	2.688
2 h	9.656	15.046	6.417	14.505	7.915	11.794	11.718	6.438
	18.661	14.264	26.615	25.427	24.597	11.203	28.3	16.75
	6.382	15.501	4.72	6.728	6.05	14.274	11.08	6.252
	23.067	19.007	5.206	14.17	4.42	6.423	12.982	6.633
	27.2	29.623	12.406	31.649	25.466	21.082	29.589	21.848
	22.727	13.292	13.738	12.537	12.061	9.891	13.223	3.742
3 h	9.882	20.131	6.118	11.955	6.794	12.69	15.023	7.303
	10.782	16.822	26.533	25.656	44.503	18.504	27.212	21.419
	8.065	16.766	5.931	8.333	7.536	16.843	10.145	6.246
	19.211	12.077	5.962	10.063	4.426	10.125	16.39	9.103
	31.0	30.489	13.186	36.136	27.687	26.119	30.975	25.309
	27.643	13.62	15.919	13.931	13.649	11.321	11.358	3.202
4 h	15.776	17.505	6.015	17.326	7.774	17.266	13.034	7.719
	10.804	21.464	28.881	25.131	25.906	21.399	31.563	25.466
	7.505	14.486	6.355	8.527	8.165	14.608	14.259	8.96
	24.336	15.486	7.704	11.833	5.141	12.598	14.607	12.677
	32.1	35.593	18.575	26.436	32.636	27.16	29.462	25.955
	18.263	15.207	17.606	10.779	17.023	12.95	11.632	5.957

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Para las áreas de las bandas localizadas aproximadamente a 1538 cm^{-1}

Promotor = B								
Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	29.149	14.690	15.379	45.176	18.316	13.728	59.162	17.007
	31.733	30.850	34.904	54.600	31.166	48.756	64.616	48.756
	15.42	64.800	3.847	55.983	9.428	24.437	38.726	11.727
	3.198	2.250	3.422	2.394	1.217	0.752	3.234	3.475
	8.3	4.028	2.593	5.823	4.252	2.296	3.778	4.305
	2.874	4.274	1.693	4.949	1.272	4.131	4.352	1.112
1 h	40.783	20.482	12.571	35.678	19.062	19.733	26.945	14.600
	27.159	29.464	39.653	65.510	90.329	45.040	61.610	45.040
	11.143	32.437	5.234	16.941	12.080	22.131	18.300	8.052
	3.921	2.560	1.401	2.766	1.325	0.849	2.192	1.114
	6.6	6.210	1.753	4.280	6.367	3.574	4.314	5.627
	3.2245	2.855	1.872	3.250	1.955	1.693	2.555	1.628
2 h	26.049	28.405	15.683	31.924	21.162	23.807	33.331	19.732
	35.0875	33.342	57.642	45.234	83.272	50.307	67.128	50.307
	11.175	22.858	5.416	11.575	15.192	22.870	22.117	11.290
	4.536	2.510	1.211	0.897	1.364	1.163	2.906	1.496
	6.4	5.941	2.238	5.594	7.377	4.665	5.694	6.013
	3.575	3.194	2.138	2.918	1.785	2.143	2.804	0.705
3 h	33.321	39.340	14.519	29.266	17.059	26.608	40.610	20.694
	33.531	30.157	56.916	45.697	99.398	60.045	66.333	60.045
	13.081	25.946	6.862	12.629	19.531	27.154	18.209	12.396
	3.321	2.535	1.649	1.958	1.383	1.466	3.879	2.226
	7.0	6.321	2.289	6.131	7.487	5.487	5.926	6.966
	4.039	3.149	2.614	3.434	2.079	2.135	2.764	1.664
4 h	45.043	31.192	14.935	42.331	21.562	36.765	33.981	21.580
	35.244	44.594	61.343	44.723	87.326	73.106	76.536	73.106
	13.744	20.218	12.637	14.156	19.281	23.382	24.011	14.781
	4.248	3.432	1.687	2.211	1.290	1.476	3.174	2.605
	6.9	7.172	3.887	4.841	9.465	5.584	5.748	6.892
	3.951	3.477	2.743	2.863	2.513	2.346	2.530	1.401

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Áreas normalizadas (área de las bandas 2920 / área de las bandas 1538)

Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	0.281	0.715	0.444	0.572	0.242	0.773	0.556	0.319
	0.250	0.619	0.390	0.668	0.386	0.054	0.572	0.339
	0.457	0.677	0.257	0.756	0.320	0.777	0.746	0.504
	5.324	6.798	5.320	8.562	7.119	6.922	5.459	3.838
	3.567	4.864	6.287	6.817	4.295	3.264	6.433	3.064
	4.637	7.448	6.252	8.235	6.847	3.550	5.299	2.736
1 h	0.386	0.570	0.721	0.462	0.601	0.548	0.373	0.399
	0.307	0.423	0.456	0.561	0.309	0.156	0.447	0.351
	0.638	0.723	0.828	0.568	0.366	0.677	0.528	0.491
	5.889	9.785	6.433	9.300	4.571	7.502	4.401	1.996
	4.601	4.581	6.426	6.315	3.847	3.893	5.615	3.157
	5.591	7.635	6.574	6.940	6.221	3.369	4.390	1.651
2 h	0.371	0.530	0.409	0.454	0.374	0.495	0.352	0.326
	0.532	0.428	0.462	0.562	0.295	0.223	0.422	0.333
	0.571	0.678	0.871	0.581	0.398	0.624	0.501	0.554
	5.085	7.573	4.299	15.797	3.240	5.523	4.467	4.434
	4.256	4.986	5.543	5.658	3.452	4.519	5.197	3.633
	6.357	4.162	6.426	4.296	6.757	4.615	4.716	5.308
3 h	0.297	0.512	0.421	0.408	0.398	0.477	0.370	0.353
	0.322	0.558	0.466	0.561	0.448	0.308	0.410	0.357
	0.617	0.646	0.864	0.660	0.386	0.620	0.557	0.504
	5.785	4.764	3.616	5.139	3.200	6.907	4.225	4.089
	4.444	4.823	5.761	5.894	3.698	4.760	5.227	3.633
	6.844	4.325	6.090	4.057	6.565	5.303	4.109	1.924
4 h	0.350	0.561	0.403	0.409	0.361	0.470	0.384	0.358
	0.307	0.481	0.471	0.562	0.297	0.293	0.412	0.348
	0.546	0.716	0.503	0.602	0.423	0.625	0.594	0.606
	5.729	4.512	4.567	5.352	3.985	8.535	4.602	4.866
	4.655	4.963	4.779	5.461	3.448	4.864	5.126	3.766
	4.622	4.374	6.419	3.765	6.774	5.520	4.598	4.252

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Diseño factorial AXB (8X5) en bloques (6) para las Áreas normalizadas (área de las bandas 2920 / área de las bandas 1538)

Unidad Experimental = Personas (1-6)

Factor A = Tiempo, Factor B = Promotor

 $x = \text{cm}^{-1}$

Banda 2920

Para el factor A se tiene:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{array} \right.$$

Para el factor B se tiene:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{array} \right.$$

Análisis de Varianza de dos factores con varias muestras por grupo ($\alpha = 0.01$) para las áreas normalizadas de las bandas localizadas aproximadamente a 2920cm^{-1}

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	5.356	4	1.339	0.164	0.957	3.414
Columnas	50.614	7	7.231	0.883	0.521	2.730
Interacción	36.474	28	1.303	0.159	1.000	1.821
Dentro del grupo	1637.736	200	8.189			
Total	1730.179	239				

Como podemos observar no existe diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Estudios estadísticos de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Grupo A: Medidas de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der -EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5
2	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5
3	2848.7	2848.7	2852.5	2854.5	2850.6	2854.5	2852.5	2852.5
4	2850.1	2853	2853.5	2853	2854	2852.5	2851.1	2853.5
5	2850.8	2852	2853	2852	2851.1	2851.1	2852	2849.6
6	2849.6	2852.5	2852	2852.5	2851.6	2849.6	2849.6	2850.1
Promedio	2850.7	2852.2	2852.7	2852.8	2852.1	2852.5	2851.7	2851.8
SD	1.553	1.918	0.516	0.876	1.218	1.916	1.165	1.555
CV	0.054	0.067	0.018	0.031	0.043	0.067	0.041	0.055

Grupo B: Cambio absoluto (Formulación menos Control) de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	2	0	0	0	2	0	0
3	0	0	3.8	5.8	1.9	5.8	3.8	3.8
4	0	2.9	3.4	2.9	3.9	2.4	1	3.4
5	0	1.2	2.2	1.2	0.3	0.3	1.2	-1.2
6	0	2.9	2.4	2.9	2	0	0	0.5
Promedio		1.5	2.0	2.1	1.4	1.8	1.0	1.1
SD		1.322	1.638	2.215	1.543	2.237	1.476	2.025
CV		87.821	83.037	103.560	113.836	127.420	146.790	185.940

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Grupo C: Áreas de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	25.93	11.27	12.15	25.34	14.51	8.44	23.03	9.50
2	27.84	37.71	30.46	54.33	62.08	11.76	46.62	31.15
3	9.82	56.90	5.28	45.80	4.09	11.66	20.18	4.16
4	32.19	25.13	7.57	25.92	24.56	10.72	19.35	19.67
5	20.96	19.20	5.95	20.27	3.69	3.51	6.22	2.32
6	16.27	19.44	9.44	18.17	9.10	3.41	8.88	4.24
Promedio	22.17	28.27	11.81	31.64	19.67	8.25	20.71	11.84
SD	8.191	16.542	9.472	14.822	22.175	3.898	14.343	11.375
CV	36.948	58.504	80.214	46.849	112.734	47.251	69.247	96.080

Grupo D: Áreas de las bandas correspondientes a la flexión de amida II (localizados aproximadamente a 1538 cm^{-1}) ligadas a proteínas y lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	40.78	20.48	12.57	35.68	19.06	19.73	26.95	14.60
2	27.16	29.46	39.65	65.51	90.33	18.83	61.61	45.04
3	11.14	32.44	5.23	16.94	12.08	22.13	18.30	8.05
4	6.57	6.21	1.75	4.28	6.37	3.57	4.31	5.63
5	3.92	2.56	1.40	2.77	1.33	0.85	2.19	1.11
6	3.22	2.86	1.87	3.25	1.96	1.69	2.56	1.63
Promedio	15.47	15.67	10.41	21.40	21.85	11.14	19.32	12.68
SD	15.223	13.566	14.937	25.057	34.204	10.062	23.010	16.601
CV	98.428	86.583	143.435	117.064	156.516	90.360	119.100	130.950

Grupo E: Áreas normalizadas (área de la banda 2850 / área de la banda 1538) de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der - EtOH	Der - PG	Der - TC	EtOH	PG	TC
1	0.6	0.6	1.0	0.7	0.8	0.4	0.9	0.7
2	1.0	1.3	0.8	0.8	0.7	0.6	0.8	0.7
3	0.9	1.8	1.0	2.7	0.3	0.5	1.1	0.5
4	4.9	4.0	4.3	6.1	3.9	3.0	4.5	3.5
5	5.3	7.5	4.2	7.3	2.8	4.1	2.8	2.1
6	4.1	6.8	5.0	5.6	4.7	2.0	3.5	2.6
Promedio	2.8	3.7	2.7	3.9	2.2	1.8	2.3	1.7
SD	2.194	2.959	2.004	2.839	1.840	1.536	1.570	1.241
CV	78.002	80.920	73.552	73.357	84.387	85.940	69.734	74.161

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Prueba de Bondad de Ajuste de Kolmogorov-Smirnov para las bandas (correspondientes a altura y área) de los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación (grupos A y E)

Grupo A: Números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Control	Promedio	2850.69				
	SD	1.6				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2850.69)/1.6$	FT	FS-FT
2848.7	1	1	0.1667	-1.24	0.1075	0.0592
2849.6	1	2	0.3333	-0.68	0.2483	0.0850
2850.1	1	3	0.5000	-0.37	0.3557	0.1443
2850.8	1	4	0.6667	0.07	0.5279	0.1388
2852.5	2	6	1.0000	1.13	0.8708	0.1292

PG	Promedio	2851.70				
	SD	1.16				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2851.7)/1.16$	FT	FS-FT
2849.6	1	1	0.1667	-1.81	0.209	0.0423
2851.1	1	2	0.3333	-0.52	0.3015	0.0318
2852	1	3	0.5000	0.26	0.6026	0.1026
2852.5	3	6	1.0000	0.69	0.7549	0.2451

TC	Promedio	2851.80				
	SD	1.55				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2851.8)/1.55$	FT	FS-FT
2849.6	1	1	0.1667	-1.42	0.0778	0.0889
2850.1	1	2	0.3333	-1.10	0.1357	0.1976
2852.5	3	5	0.8333	0.45	0.6736	0.1597
2853.5	1	6	1.0000	1.10	0.8643	0.1357

EIOH	Promedio	2852.45				
	SD	1.92				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2852.45)/1.92$	FT	FS-FT
2849.6	1	1	0.1667	-1.48	0.0694	0.0973
2851.1	1	2	0.3333	-0.70	0.2420	0.0913
2852.5	2	4	0.6667	0.03	0.5120	0.1547
2854.5	2	6	1.0000	1.07	0.8577	0.1423

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DER	Promedio	2852.20					
	SD	1.92					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2852.2)/1.92$	FT	FS-FT	
2848.7	1	1	0.1667	-1.82	0.0344	0.1323	
2852	1	2	0.3333	-0.10	0.4602	0.1269	
2852.5	2	4	0.6667	0.16	0.5636	0.1031	
2853	1	5	0.8333	0.42	0.6628	0.1705	
2854.5	1	6	1.0000	1.20	0.8849	0.1151	

DER-PG	Promedio	2852.83					
	SD	0.88					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2852.83)/0.88$	FT	FS-FT	
2852	1	1	0.1667	-0.94	0.1736	0.0069	
2852.5	3	4	0.6667	-0.37	0.3557	0.3110	
2853	1	5	0.8333	0.19	0.5753	0.2580	
2854.5	1	6	1.0000	1.90	0.9767	0.0233	

DER-TC	Promedio	2852.05					
	SD	1.22					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2852.05)/1.22$	FT	FS-FT	
2850.6	1	1	0.1667	-1.19	0.117	0.0497	
2851.1	1	2	0.3333	-0.78	0.2177	0.1156	
2851.6	1	3	0.5000	-0.37	0.3557	0.1443	
2852.5	2	5	0.8333	0.37	0.6443	0.1890	
2854	1	6	1.0000	1.60	0.9452	0.0548	

DER-EtOH	Promedio	2852.67					
	SD	0.52					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2852.67)/0.52$	FT	FS-FT	
2852	1	1	0.1667	-1.29	0.0985	0.0682	
2852.5	3	4	0.6667	-0.33	0.3707	0.2960	
2853	1	5	0.8333	0.63	0.7357	0.0976	
2853.5	1	6	1.0000	1.60	0.9452	0.0548	

Grupo E: Bandas (Área normalizada de la banda que se encuentra aprox. a 2850 cm⁻¹)

Control	Promedio	2.81					
	SD	2.19					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.81)/2.19$	FT	FS-FT	
0.64	1	1	0.1667	-0.99	0.1611	0.0056	
0.88	1	2	0.3333	-0.88	0.1894	0.1439	
1.03	1	3	0.5000	-0.81	0.2090	0.2910	
4.09	1	4	0.6667	0.58	0.7190	0.0523	
4.90	1	5	0.8333	0.96	0.8315	0.0018	
5.35	1	6	1.0000	1.16	0.8770	0.1230	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

PG	Promedio	2.25				
	SD	1.57				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.25)/1.57$	FT	FS-FT
0.76	1	1	0.1667	-0.95	0.1711	0.0044
0.85	1	2	0.3333	-0.89	0.1867	0.1466
1.10	1	3	0.5000	-0.73	0.2033	0.2967
2.84	1	4	0.6667	0.37	0.6443	0.0224
3.47	1	5	0.8333	0.78	0.7823	0.0510
4.48	1	6	1.0000	1.42	0.9222	0.0778

TC	Promedio	1.67				
	SD	1.24				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-1.67)/1.24$	FT	FS-FT
0.52	1	1	0.1667	-0.93	0.1762	0.0095
0.65	1	2	0.3333	-0.82	0.2061	0.1272
0.69	1	3	0.5000	-0.79	0.2148	0.2852
2.08	1	4	0.6667	0.33	0.6293	0.0374
2.60	1	5	0.8333	0.75	0.7734	0.0599
3.50	1	6	1.0000	1.47	0.9292	0.0708

EtOH	Promedio	1.79				
	SD	1.54				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-1.79)/1.54$	FT	FS-FT
0.43	1	1	0.1667	-0.88	0.1894	0.0227
0.53	1	2	0.3333	-0.82	0.2061	0.1272
0.62	1	3	0.5000	-0.76	0.2236	0.2764
2.02	1	4	0.6667	0.15	0.5596	0.1071
3.00	1	5	0.8333	0.78	0.7823	0.0510
4.13	1	6	1.0000	1.52	0.9357	0.0643

DER	Promedio	3.66				
	SD	2.96				
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-3.66)/2.96$	FT	FS-FT
0.55	1	1	0.1667	-1.05	0.1469	0.0198
1.28	1	2	0.3333	-0.80	0.2119	0.1214
1.75	1	3	0.5000	-0.64	0.2611	0.2389
4.05	1	4	0.6667	0.13	0.5517	0.1150
6.81	1	5	0.8333	1.06	0.8554	0.0221
7.50	1	6	1.0000	1.30	0.9032	0.0968

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

DER-PG	Promedio	3.87					
	SD	2.84					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-3.87)/2.84$	FT	FS-FT	
0.71	1	1	0.1667	-1.11	0.1335	0.0332	
0.83	1	2	0.3333	-1.07	0.1423	0.1910	
2.70	1	3	0.5000	-0.41	0.349	0.1510	
5.59	1	4	0.6667	0.61	0.7291	0.0624	
6.06	1	5	0.8333	0.77	0.7794	0.0539	
7.33	1	6	1.0000	1.22	0.8888	0.1112	

DER-TC	Promedio	2.18					
	SD	1.84					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.18)/1.84$	FT	FS-FT	
0.34	1	1	0.1667	-1.00	0.1587	0.0080	
0.69	1	2	0.3333	-0.81	0.209	0.1243	
0.76	1	3	0.5000	-0.77	0.2206	0.2794	
2.78	1	4	0.6667	0.33	0.6293	0.0374	
3.86	1	5	0.8333	0.91	0.8186	0.0147	
4.65	1	6	1.0000	1.34	0.9099	0.0901	

DER-EtOH	Promedio	2.73					
	SD	2.00					
x	Frecuencia	Frec acumulada	FS (x)	$z = (x-2.73)/2.0$	FT	FS-FT	
0.77	1	1	0.1667	-0.98	0.1635	0.0032	
0.97	1	2	0.3333	-0.88	0.1894	0.1439	
1.01	1	3	0.5000	-0.86	0.1949	0.3051	
4.25	1	4	0.6667	0.76	0.7764	0.1097	
4.32	1	5	0.8333	0.79	0.7852	0.0481	
5.04	1	6	1.0000	1.16	0.877	0.1230	

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Análisis Estadístico de las bandas correspondientes a los estiramientos simétricos (localizados aproximadamente a 2850 cm^{-1}) de las cadenas alquílicas de los lípidos del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Grupo A: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	19.155	7	2.736	1.364	0.247	3.124
Dentro de los grupos	80.265	40	2.007			
Total	99.420	47				

Grupo B: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	19.155	7	2.736	0.949	0.481	3.124
Dentro de los grupos	115.365	40	2.884			
Total	134.520	47				

Grupo E: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	27.617	7	3.945	0.892	0.522	3.124
Dentro de los grupos	176.964	40	4.424			
Total	204.581	47				

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN

Diseño factorial AXB (8X5) en bloques (6) para las bandas localizadas aproximadamente a 2850 cm⁻¹Promotor
= B

Tiempo = A	Control	DermaC	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	2850.6	2852.5	2852.5	2854.5	2850.6	2854.5	2852.5	2852.5
	2850.6	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5
	2848.7	2850.6	2852.5	2850.6	2850.6	2852.5	2854.5	2852.5
	2849	2852.5	2852	2853	2854.5	2852.5	2850.6	2870.8
	2850.6	2852	2853	2852.5	2851.6	2850.1	2852	2849.6
	2849.1	2852.5	2851.6	2852.5	2853	2849.1	2850.1	2851.1
1 h	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5
	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5
	2848.7	2848.7	2852.5	2854.5	2850.6	2854.5	2852.5	2852.5
	2850.1	2853	2853.5	2853	2854	2852.5	2851.1	2853.5
	2850.8	2852	2853	2852	2851.1	2851.1	2852	2849.6
	2849.6	2852.5	2852	2852.5	2851.6	2849.6	2849.6	2850.1
2 h	2851.6	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5
	2852.5	2854.5	2852.5	2852.5	2852.5	2854.5	2850.6	2852.5
	2848.7	2848.7	2852.5	2850.6	2850.6	2854.5	2850.6	2850.6
	2850.1	2853	2852	2853.5	2852	2852.5	2851.1	2852
	2850.8	2852	2852	2852	2850.6	2851.1	2852	2850.6
	2850.1	2850.1	2851.6	2850.1	2852	2850.6	2849.6	2851.6
3 h	2852.6	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5
	2850.6	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2850.6	2852.5
	2850.6	2848.7	2854.5	2850.6	2854.5	2852.5	2852.5	2850.6
	2850.6	2850.6	2852	2850.6	2851.6	2851.6	2851.1	2851.6
	2850.8	2852.5	2852.5	2851.6	2851.1	2851.6	2852	2850.6
	2849.6	2850.6	2851.6	2849.6	2852	2851.1	2849.6	2850.1
4 h	2850.6	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5
	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2852.5	2850.6	2852.5
	2850.6	2850.6	2854.5	2850.6	2850.6	2854.5	2852.5	2850.6
	2850.6	2850.6	2852	2851.1	2851.6	2852.5	2851.1	2852
	2851.3	2852.5	2851.6	2852	2851.1	2851.6	2852	2850.6
	2849.6	2849.6	2851.6	2849.6	2851.6	2850.6	2849.6	2849.6

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Diseño factorial AXB (8X5) en bloques (6) para las bandas localizadas aproximadamente a 2850 cm⁻¹

Unidad Experimental = Personas (1-6)

Factor A = Tiempo; Factor B = Promotor

x = cm⁻¹

Banda 2850

Para el factor A se tiene:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{array} \right.$$

Para el factor B se tiene:

$$\left\{ \begin{array}{l} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \mu_3 = \mu_4 \dots \mu_{12} \\ H_i : \text{Por lo menos } 1 \text{ par sea } \neq \end{array} \right.$$

Análisis de varianza de dos factores con varias muestras por grupo $\alpha = 0.01$

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra (Factor A)	16.690	4	4.172	1.338	0.257	3.414
Columnas (Factor B)	76.232	7	10.890	3.493	0.001	2.730
Interacción (AB)	66.573	28	2.378	0.763	0.800	1.821
Dentro del grupo (Error)	623.574	200	3.118			
Total	783.069	239				

Prueba de Tukey

Donde:

$$DVS = q_{\alpha, k, N-k} \sqrt{\frac{\text{Promedio Cuadrados}}{n}}$$

Si DVS es mayor al cambio absoluto entonces no hay diferencia (Las diferencias se encuentran subrayadas y en negritas)

alfa = 0.01

k = Número de medias en el experimento (12*4) = 48

n = Número total de observaciones en el tratamiento = 6

N = número total de observaciones en el experimento = (6*12*4) = 288

N-k = 240 y q = 5.65

Promedio de Cuadrados (Error) = 3.117867814

DVS = 4.0728805639

TESIS CON FALLA DE ORIGEN

Promedios de las bandas localizadas aproximadamente a 2850 cm⁻¹

	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h								
Promedio	2849.8	2852.1	2852.4	2852.6	2852.1	2852.2	2852.0	2854.8
1 h								
Promedio	2850.7	2852.2	2852.7	2852.8	2852.1	2852.5	2851.7	2851.8
2 h								
Promedio	2850.6	2851.8	2852.2	2851.9	2851.7	2852.6	2851.1	2851.6
3 h								
Promedio	2850.8	2851.2	2852.6	2851.2	2852.4	2852.0	2851.4	2851.3
4 h								
Promedio	2850.9	2851.4	2852.5	2851.4	2851.7	2852.4	2851.4	2851.3

Diferencia entre los promedios de los tratamientos a cada uno de los tiempos (valor absoluto)

0 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	2.3333	2.5833	2.8333	2.3667	2.4333	2.2667	5.0667
Dermac	X	0.0000	0.2500	0.5000	0.0333	0.1000	0.0667	2.7333
Der-EtOH	X	X	0.0000	0.2500	0.2167	0.1500	0.3167	2.4833
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.4667	0.4000	0.5667	2.2333
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.0667	0.1000	2.7000
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	0.1667	2.6333
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	2.8000
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

1 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	1.5056	1.9722	2.1389	1.3556	1.7556	1.0056	1.0889
Dermac	X	0.0000	0.4667	0.6333	0.1500	0.2500	0.5000	0.4167
Der-EtOH	X	X	0.0000	0.1667	0.6167	0.2167	0.9667	0.8833
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.7833	0.3833	1.1333	1.0500
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.4000	0.3500	0.2667
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	0.7500	0.6667
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.0833
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

TESIS CON
 FALLA DE CUBIEN

2 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	1.1722	1.5556	1.2389	1.0722	1.9889	0.4389	1.0056
Dermac	X	0.0000	0.3833	0.0667	0.1000	0.8167	0.7333	0.1667
Der-EtOH	X	X	0.0000	0.3167	0.4833	0.4333	1.1167	0.5500
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.1667	0.7500	0.8000	0.2333
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.9167	0.6333	0.0667
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	1.5500	0.9833
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.5667
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

3 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	0.4472	1.8139	0.4472	1.5806	1.1806	0.5972	0.5306
Dermac	X	0.0000	1.3667	0.0000	1.1334	0.7334	0.1500	0.0834
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.3667	0.2333	0.6333	1.2167	1.2833
Der-PG	X	X	X	0.0000	1.1333	0.7333	0.1500	0.0833
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.4000	0.9833	1.0500
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	0.5833	0.6500
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.0667
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

4 h	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
Control	0.0000	0.5222	1.5889	0.5222	0.7889	1.5056	0.5222	0.4389
Dermac	X	0.0000	1.0667	0.0000	0.2667	0.9833	0.0000	0.0833
Der-EtOH	X	X	0.0000	1.0667	0.8000	0.0833	1.0667	1.1500
Der-PG	X	X	X	0.0000	0.2667	0.9833	0.0000	0.0833
Der-TC	X	X	X	X	0.0000	0.7167	0.2667	0.3500
EtOH	X	X	X	X	X	0.0000	0.5833	0.6667
PG	X	X	X	X	X	X	0.0000	0.0833
TC	X	X	X	X	X	X	X	0.0000

Como podemos observar solo se observan diferencias estadísticamente significativas inmediatamente después de haber aplicado la formulación (tiempo cero) entre el control y el Transcutol®.

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Para las áreas de las bandas localizadas aproximadamente a 2850 cm^{-1} Promotor
= B

Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	13.54	8.053	10.179	36.436	8.302	6.419	47.583	6.208
	17.25	42.377	27.646	69.899	39.572	5.820	59.473	33.208
	10.292	56.903	1.332	45.797	4.094	14.023	39.381	10.857
	14.477	13.357	12.504	17.301	7.825	2.720	15.848	18.857
	31.1	19.316	11.355	31.353	19.862	5.045	19.818	12.068
	9.691	30.868	9.355	31.849	5.133	13.088	17.029	3.727
1 h	25.934	11.269	12.147	25.339	14.509	8.441	23.032	6.316
	27.8425	37.711	30.462	54.329	62.075	11.761	46.616	31.145
	9.82	25.229	5.283	16.482	4.686	11.658	20.183	4.160
	20.962	19.201	5.949	20.270	3.687	3.506	6.222	2.321
	32.2	25.128	7.569	25.917	24.561	10.717	19.345	19.672
	16.271	19.436	9.439	18.169	9.095	3.413	8.877	4.235
2 h	16.757	15.468	10.721	25.497	12.247	9.625	28.663	7.602
	47.8895	51.460	43.325	63.316	67.751	19.293	51.863	33.922
	10.102	16.522	4.538	10.025	6.937	11.019	26.085	5.245
	19.11	15.299	3.096	10.148	2.633	3.609	10.272	4.160
	25.1	22.571	7.278	25.777	20.836	15.547	24.497	22.765
	18.241	11.527	10.310	11.408	9.304	5.621	9.890	2.471
3 h	19.389	21.288	9.273	18.471	11.002	10.562	33.218	8.904
	17.561	45.955	41.550	64.825	73.658	30.803	50.153	42.614
	14.021	26.643	5.128	14.645	9.750	26.680	23.279	7.180
	19.102	8.817	0.492	7.693	2.693	7.744	13.868	5.548
	27.7	29.665	10.088	34.707	27.133	26.509	25.258	23.161
	22.851	13.017	12.108	12.825	10.058	8.758	8.831	4.760
4 h	25.919	17.725	9.295	26.186	12.720	18.399	29.460	9.500
	18.772	52.270	44.770	67.005	72.955	35.029	57.382	51.425
	14.492	19.132	7.421	15.562	9.822	22.291	31.250	14.625
	24.483	15.274	4.915	9.721	3.312	12.413	15.212	8.711
	30.5	32.861	12.006	24.595	30.701	27.323	23.283	25.847
	15.182	14.916	13.282	12.161	14.151	10.436	9.268	4.000

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Para las áreas de las bandas localizadas aproximadamente a 1538 cm⁻¹

Promotor = B

Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	29.149	14.690	15.379	45.176	18.316	13.728	59.162	17.007
	31.733	30.850	34.904	54.600	31.166	48.756	64.616	48.756
	15.42	64.800	3.847	55.983	9.428	24.437	38.726	11.727
	3.198	2.250	3.422	2.394	1.217	0.752	3.234	3.475
	8.3	4.028	2.593	5.823	4.252	2.296	3.778	4.305
	2.874	4.274	1.693	4.949	1.272	4.131	4.352	1.112
1 h	40.783	20.482	12.571	35.678	19.062	19.733	26.945	14.600
	27.159	29.464	39.653	65.510	90.329	45.040	61.610	45.040
	11.143	32.437	5.234	16.941	12.080	22.131	18.300	8.052
	3.921	2.560	1.401	2.766	1.325	0.849	2.192	1.114
	6.6	6.210	1.753	4.280	6.367	3.574	4.314	5.627
	3.2245	2.855	1.872	3.250	1.955	1.693	2.555	1.628
2 h	26.049	28.405	15.683	31.924	21.162	23.807	33.331	19.732
	35.0875	33.342	57.642	45.234	83.272	50.307	67.128	50.307
	11.175	22.858	5.416	11.575	15.192	22.870	22.117	11.290
	4.536	2.510	1.211	0.897	1.364	1.163	2.906	1.496
	6.4	5.941	2.238	5.594	7.377	4.665	5.694	6.013
	3.575	3.194	2.138	2.918	1.785	2.143	2.804	0.705
3 h	33.321	39.340	14.519	29.266	17.059	26.608	40.610	20.694
	33.531	30.157	56.916	45.697	99.398	60.045	66.333	60.045
	13.081	25.946	6.862	12.629	19.531	27.154	18.209	12.396
	3.321	2.535	1.649	1.958	1.383	1.466	3.879	2.226
	7.0	6.321	2.289	6.131	7.487	5.487	5.926	6.966
	4.039	3.149	2.614	3.434	2.079	2.135	2.764	1.664
4 h	45.043	31.192	14.935	42.331	21.562	36.765	33.981	21.580
	35.244	44.594	61.343	44.723	87.326	73.106	76.536	73.106
	13.744	20.218	12.637	14.156	19.281	23.382	24.011	14.781
	4.248	3.432	1.687	2.211	1.290	1.476	3.174	2.605
	6.9	7.172	3.887	4.841	9.465	5.584	5.748	6.892
	3.951	3.477	2.743	2.863	2.513	2.346	2.530	1.401

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Áreas normalizadas (área de las bandas 2850 / área de las bandas 1538)

Tiempo = A	Control	Dermac	Der-EtOH	Der-PG	Der-TC	EtOH	PG	TC
0 h	0.465	0.548	0.662	0.807	0.453	0.468	0.804	0.365
	0.544	1.374	0.792	1.280	1.270	0.119	0.920	0.681
	0.667	0.878	0.346	0.818	0.434	0.574	1.017	0.926
	4.527	5.936	3.654	7.227	6.430	3.617	4.900	5.426
	3.764	4.795	4.379	5.384	4.671	2.197	5.246	2.803
	3.372	7.222	5.526	6.435	4.035	3.168	3.913	3.352
1 h	0.636	0.550	0.966	0.710	0.761	0.428	0.855	0.433
	1.025	1.280	0.768	0.829	0.687	0.261	0.757	0.691
	0.881	0.778	1.009	0.973	0.388	0.527	1.103	0.517
	5.346	7.500	4.246	7.328	2.783	4.130	2.839	2.083
	4.902	4.046	4.318	6.055	3.858	2.999	4.484	3.496
	5.046	6.808	5.042	5.590	4.652	2.016	3.474	2.601
2 h	0.643	0.545	0.684	0.799	0.579	0.404	0.860	0.385
	1.365	1.543	0.752	1.400	0.814	0.384	0.773	0.674
	0.904	0.723	0.838	0.866	0.457	0.482	1.179	0.465
	4.213	6.095	2.557	11.313	1.930	3.103	3.535	2.781
	3.936	3.799	3.252	4.608	2.824	3.333	4.302	3.786
	5.102	3.609	4.822	3.910	5.212	2.623	3.527	3.505
3 h	0.582	0.541	0.639	0.631	0.645	0.397	0.818	0.430
	0.524	1.524	0.730	1.419	0.741	0.513	0.756	0.710
	1.072	1.027	0.747	1.160	0.499	0.983	1.278	0.579
	5.752	3.478	0.298	3.929	1.947	5.282	3.575	2.492
	3.977	4.693	4.407	5.661	3.624	4.831	4.262	3.325
	5.658	4.134	4.632	3.735	4.838	4.102	3.195	2.861
4 h	0.575	0.568	0.622	0.619	0.590	0.500	0.867	0.440
	0.533	1.172	0.730	1.498	0.835	0.479	0.750	0.703
	1.054	0.946	0.587	1.099	0.509	0.953	1.301	0.989
	5.763	4.450	2.913	4.397	2.567	8.410	4.793	3.344
	4.418	4.582	3.089	5.081	3.244	4.893	4.051	3.750
	3.843	4.290	4.842	4.248	5.631	4.448	3.663	2.855

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Análisis de Varianza de dos factores con varias muestras por grupo ($\alpha = 0.01$) para las áreas normalizadas de las bandas a 2850 cm^{-1}

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	3.183	4	0.796	0.172	0.952	3.414
Columnas	44.185	7	6.312	1.367	0.221	2.730
Interacción	31.050	28	1.109	0.240	1.000	1.821
Dentro del grupo	923.569	200	4.618			
Total	1001.986	239				

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Estudios estadísticos de las bandas correspondientes a los estiramientos **N-H** y **O-H** (localizados aproximadamente a 3275 cm^{-1}) de lípidos, proteínas y agua del estrato córneo

Grupo A: Medidas de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos por **N-H** y **O-H** (localizados aproximadamente a 3275 cm^{-1}) de lípidos, proteínas y agua del estrato córneo después de una hora de haber retirado la formulación

Personas	Control	Dermac	Der -EIOH	Der - PG	Der - TC	EIOH	PG	TC
1	3273.1	3273.5	3266.2	3279.7	3274.9	3269.6	3278.3	3275.4
2	3276.4	3273	3274.9	3273.5	3273	3265.7	3273	3269.6
3	3269.1	3273	3269.1	3273.5	3273	3272	3269.1	3272.5
4	3273	3274.9	3269.1	3273	3273	3278.8	3274.9	3273
5	3273	3278.8	3274.9	3278.8	3278.8	3271	3276.8	3274.9
6	3276.85	3273	3271	3276.8	3273	3273	3274.9	3271
Promedio	3273.581	3274.367	3270.867	3275.883	3274.283	3271.683	3274.500	3272.730
SD	2.814	2.293	3.481	2.953	2.340	4.315	3.208	2.225
CV	0.086	0.070	0.106	0.090	0.071	0.132	0.098	0.068

Grupo B: Cambio absoluto (Formulación menos Control) de los números de onda de las bandas correspondientes a los estiramientos **N-H** y **O-H** (localizados aproximadamente a 3275 cm^{-1}) de lípidos, proteínas y agua del estrato córneo

Personas	Control	Dermac	Der -EIOH	Der - PG	Der - TC	EIOH	PG	TC
1	0	-2.90	-6.93	6.57	1.77	-3.53	5.17	2.27
2	0	3.90	-1.50	-2.90	-3.40	-10.70	-3.40	-6.80
3	0	0.00	0.00	4.40	3.90	2.90	0.00	3.40
4	0	1.90	-3.90	0.00	0.00	5.80	1.90	0.00
5	0	1.95	1.90	5.80	5.80	-2.00	3.80	1.90
6	0	-0.58	-5.85	-0.05	-3.85	-3.85	-1.95	-5.85
Promedio	0	0.7116	-2.7139	2.3028	0.7028	-1.8972	0.9194	-0.8472
SD	0	2.3804	3.4401	3.8136	3.8830	5.7663	3.3177	4.3923
CV		334.5259	-126.7601	165.6077	552.5282	-303.9331	360.8342	-518.4410

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Estudios estadísticos de las bandas correspondientes a los estiramientos N-H y O-H (localizados aproximadamente a 3275 cm^{-1}) de lípidos, proteínas y agua del estrato córneo

Grupo A: Análisis de Varianza de Un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	113.236	7	16.1766	1.7645	0.1217	2.2490
Dentro de los grupos	366.713	40	9.1678			
Total	479.949	47				

Grupo B: Análisis de Varianza de un factor ($\alpha = 0.01$)

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	113.176	6	18.863	1.100	0.382	2.372
Dentro de los grupos	600.297	35	17.151			
Total	713.473	41				

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

10.3.3 Permeaciones

10.3.3.1 Obtención del Factor de Promoción

Para Obtener los Factores de Promoción se aplica la siguiente fórmula:

$$K_R = K_P / K_O$$

Donde:

K_R = Factor de Promoción o Flujo Real

K_P = Valor de Flujo con Promotor (Azona[®] o Dermac[®])

K_O = Valor de Flujo sin Promotor

10.3.3.2 Resultados en números de Curvas de Calibración y Permeaciones

Las Curvas de Calibración fueron preparadas con una solución de EtOH al 40%, las cuales estuvieron previamente en contacto con componentes membranales durante una hora, para considerar en la curva cualquier interferencia que se pudiera dar por ellos.

Curva de Calibración para Acetaminofén - Piel C.V. = 4.55%; Resolución de 25.

ng	Propiedad (área)
1154.34	52965.6
1154.34	52274.6
1154.34	52647.3
944.46	44204.1
944.46	44283
944.46	42746.7
734.58	35186.2
734.58	35842.3
734.58	34321
524.7	25830.3
524.7	24624.2
524.7	24745
314.82	15467.9
314.82	15317
314.82	13408.1
104.94	4313
104.94	4928
104.94	4841.4

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Control: Acetaminofén-Piel

Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	0	0	0	0	2.42793997	5.29538347	7.61843815
b	0	0	0	0	0	4.78107755	10.7541576	14.3893355
c	0	0.14314257	0.14314257	0.35815129	10.057476	23.6103148	33.8878872	
f	0	0	3.98504796	3.98504796	8.74210007	15.2010297	17.7813929	

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación Acetaminofén – PielCantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
c	20.52471785	81.0572741	139.928587	200.228331	251.191734	297.577722	341.198417	378.342621
d	10.20102827	59.4919687	135.849461	198.934118	253.946775	285.567755	320.367804	356.890846
e	13.5712369	65.5266665	120.504025	185.901998	239.473407	288.555332	345.90197	397.233519
f	18.02880022	76.5953493	129.259637	198.929633	257.287711	310.359145	370.528133	413.79911

Promotor Dermac[®]: Cinética de Permeación Acetaminofén – PielCantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0.630818349	4.15952657	9.30924974	18.4805679	30.8546062	48.3259723	59.8234511	78.7475685
c	0.418255988	2.70068757	7.89650054	10.8528961	14.8280566	23.4912324	28.200313	34.3351596
e	0.208863417	5.14846567	12.7930232	21.9000326	34.3131866	49.5309274	62.3697538	75.3106487
f	0	3.065119	8.66033421	15.2112443	22.1168508	33.894167	42.7554332	53.7953859

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Curva de Calibración para Ácido Salicílico – Piel C.V. = 6.979%

ng	Propiedad (área)
1060	9300
1060	9249.2
1060	8690.3
848	7429.7
848	7221.6
848	7198.2
636	5591.8
636	5368.7
636	5400.5
424	3861.2
424	3782.3
424	3637.1
212	2173.7
212	2110.2
212	1729.2
106	987.2
106	1072.6
106	968.6

Cinética de Permeación para Ácido Salicílico – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	0	6.32730191	20.1518227	126.709061	352.515026	612.571146	901.940321	1265.1493	1682.95526	2076.44201
b	0	0	5.49872851	19.0132555	155.618821	352.154491	565.010287	768.123309	1040.61788	1373.86052	1696.32392
c	0	0	4.18995297	15.5449625	195.241993	512.517186	835.271638	1174.73279	1687.05955	2302.76951	2791.04495
d	0	3.88191909	26.389118	57.4117439	328.729337	678.22055	1102.17741	1601.46243	2231.88052	2898.75759	3391.06223
e	0	5.84356074	25.9877891	54.5047654	287.130887	610.149014	1088.81011	1653.49619	2283.49461	2966.82677	3485.38469
f	0	0	2.56338509	11.277029	160.841339	391.834856	627.749677	835.914267	1064.65836	1327.90096	1603.16975

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación para Ácido Salicílico – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	3.3068005	13.9618598	37.1896634	301.335925	681.510275	1167.40408	1687.6189	2331.71653	2971.18649	3665.76278
b	0	0	10.3718522	33.5906917	330.937458	823.666336	1456.06592	2087.47945	2838.00246	3553.6106	4232.19731
c	0	3.62524173	15.700896	37.2796123	329.126799	822.29917	1361.51838	1916.64127	2581.04243	3273.79161	3893.8756
e	0	1.1421103	8.00057592	25.4788334	223.106193	514.399134	908.705642	1346.3575	1920.75203	2502.82305	3117.33344
f	0	0	6.18038233	25.6990222	292.37239	727.880391	1253.79209	1813.98517	2483.81553	3168.15585	3812.95332

Promotor Dermac[®]: Cinética de Permeación para Ácido Salicílico – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0.72098197	2.37859845	3.56034417	8.84341946	58.325395	130.735689	206.926168	337.319106	474.155411	620.822716	798.77984
b	1.46054207	2.47938186	2.94390879	4.89602114	38.1275636	110.369419	191.371367	302.128982	413.293713	520.607649	645.703968
d	12.8688176	13.7608459	14.7928114	16.8570426	50.5016645	121.288074	198.944988	306.973882	418.947832	546.256256	713.352182
f	0	0	0	1.90146164	29.3658901	85.3236273	152.743819	251.421959	350.938421	452.572186	583.841028

Curva de Calibración para Lidocaina C.V = 5.3597%

ng	Propiedad (área)
1004	465.25
1004	487.7
1004	442.8
2008	1044.3
2008	1076.8
2008	931.5
3012	1580.8
3012	1533.6
3012	1503.1
4016	2094
4016	2071.2
4016	2036.2
5020	2482.5
5020	2451.9
5020	2606.9

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Cinética de Permeación Lidocaina – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	0.25	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8
b	0	0	0	32.930313	61.9307126	130.241491	215.205207	308.675301	400.419383	497.527037
c	0	0	0	18.0371219	60.317143	111.390275	199.204443	332.541514	454.296865	498.527788
d	0	0	0	22.7766312	77.5210558	128.4199	194.30189	256.433877	329.0625	416.837313
e	0	0	0	26.0824811	52.5697601	103.013207	161.783122	260.824811	329.501031	413.210998

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación Lidocaina – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	0.25	0.5	1	2	3	4	5	6	7	8
c	0	0	0	13.2241226	59.1257049	168.203983	269.710722	401.221666	502.803127	606.519497
d	0	0	0	24.9265098	62.9432722	151.098916	240.902855	333.751486	393.963726	464.427076
e	0	0	0	25.7880655	61.9261212	147.311502	233.060966	344.416946	436.734491	517.149852
f	0	0	0	30.4825973	63.430058	128.395631	189.934289	258.958664	318.571908	381.794601

Promotor Dermac[®]: Cinética de Permeación Lidocaina – Piel
 Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	26.334983	104.172926	202.672218	279.793914	386.978899	485.540266	589.00554
b	0	56.1755566	119.137762	199.602945	258.63008	353.175269	427.727066	511.000704
d	0	9.89037594	41.5604875	113.009636	187.922423	284.018312	357.690314	449.17154
f	0	32.030693	118.429983	223.54104	308.737095	417.270034	509.826364	608.533864

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Curva de Calibración Acetaminofén – Mucosa Bucal C. V. = 4.925%

ng	Propiedad (área)
1187.01	57853.3
1187.01	55979.9
1187.01	56449
971.19	49367.8
971.19	49189
971.19	48861.4
755.37	39947.9
755.37	40038.4
755.37	38092.4
539.55	29549.5
539.55	27730.4
539.55	26288.7
323.73	17700.6
323.73	16689.4
323.73	15039.2
107.91	5159.3
107.91	5512.4
107.91	5202

Cinética de Permeación Acetaminofén – Mucosa Bucal
 Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
a	282.1404059	1174.09992	2132.01065	3240.73136	3979.87849	5151.86587	6473.97556	7606.93985
b	0	174.189543	446.512329	778.408667	911.167203	1311.86163	1769.2303	2189.76028
c	0	18.2733288	60.820184	292.803549	385.596895	712.115146	1077.87167	1415.88589
e	412.284725	1601.47561	2692.81765	3852.71235	4625.97548	5690.4254	6877.04337	7928.53162
f	309.5352446	1259.32417	2112.3019	2928.47439	3472.58938	4211.70073	5038.38634	5749.99134

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación Acetaminofén – Mucosa Bucal

Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
b	1024.662272	2351.33308	4012.72779	5475.33365	6936.78034	8382.69414	9825.29985	11651.443
c	641.7089019	1816.42688	3392.24722	4948.21665	6581.64789	7940.34297	9318.67788	11168.2635
d	549.2929421	1568.9923	2802.23933	4079.67337	5605.68175	6973.04114	8342.30015	10007.2818
f	1656.315402	1734.97949	3717.23673	5261.38757	7074.65352	8585.64914	10158.5964	12258.8271

Promotor Dermac[®]: Cinética de Permeación Acetaminofén – Mucosa Bucal

Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	372.882907	932.434642	1675.31145	2730.71626	3626.2224	4697.46327	5693.49759
b	9.637347782	558.481771	1261.26573	1960.63831	2874.28674	3523.41467	4367.01503	5205.40096
c	0	285.022171	791.767833	1426.01689	2418.91717	3295.99186	4543.08583	5716.99989
d	453.501668	1681.383	3203.54048	4833.08268	6840.48874	8714.01042	10764.4881	12558.6951
e	686.5746261	2163.00434	3715.88963	5238.96089	7275.59244	9154.75168	11352.983	13250.8221
f	580.2397543	1984.0288	3633.75212	5258.64288	7543.31375	9787.10727	12306.8146	14733.492

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Curva de Calibración Ácido Salicílico – Mucosa Bucal C.V. = 4.783%

ng/ Propiedad (área)	
1080	10344.3
1080	10347.7
1080	10108.4
864	8261.6
864	8219.1
864	7730.6
648	6034.4
648	5980.5
648	5939.9
432	4381
432	4389.3
432	4118.2
216	2239.9
216	1966.9
216	2246.7
108	958
108	1006.4
108	1033.4

Cinética de Permeación Ácido Salicílico – Mucosa Bucal

Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
b	1.787133	18.29469	55.9151	97.56008	516.1264	1298.301	2527.356	3592.363	4816.071	5955.082	7278.119
c	3.140653	17.3309	70.42149	126.2692	519.7063	1174.721	2395.388	3428.069	4690.560	5805.887	7121.738
d	0	6.048942	27.31340	58.16091	405.3893	1079.781	2397.679	3650.038	5062.636	6359.153	7754.318
e	0	2.36003	14.94158	38.9271	319.4182	603.6109	1277.386	2066.794	3113.456	4056.650	5136.529
f	0	19.02639	65.24721	132.8062	983.0385	2102.612	3847.218	5155.9	6639.913	7952.581	9403.458

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación Ácido Salicílico – Mucosa Bucal
 Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	20.5648775	53.0837169	141.680856	1563.73283	3332.53066	5466.51665	7522.31335	9589.96038	12441.7103	14960.9704
b	0	13.3354903	36.1213125	94.5573405	1281.02365	2901.67939	4921.71816	6797.99846	8746.68415	11500.5306	14094.516
c	0	18.119454	41.9861846	99.4103303	1262.18732	2773.09139	4720.64153	6555.95658	8485.10493	11071.8795	13271.3176
d	0	40.3411006	113.986811	278.980676	2144.44561	4380.82132	7063.78013	9654.82956	11021.5978	14542.5945	17791.5211
e	0	25.5433636	63.4666653	161.414914	1771.34704	3783.38957	6191.51127	8517.43104	10742.296	13761.0485	16472.8634
f	1.1998	26.4492178	63.1437819	170.215898	1182.18371	3451.48226	6016.35163	8339.18638	10766.718	13965.7076	16896.0104

Promotor Demac[®]: Cinética de Permeación Ácido Salicílico – Mucosa Bucal
 Cantidad acumulada en 1 cm² [=] µg/cm²

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	1.077302	17.86229	56.86593	119.8837	1111.88806	2515.34772	3916.99848	5185.68118	6534.37758	7913.85544	9507.65788
c	1.755720	7.150491	30.77010	69.26297	501.08706	1299.40341	2239.21713	3079.75638	4085.89196	5122.56501	6397.2637
e	4.669827	21.73324	56.09569	117.8867	957.909148	2225.64825	3611.88552	5102.87274	6799.21052	8330.61824	10041.4752
f	0.414015	4.869342	22.35052	61.00997	448.437279	1194.22065	2138.30535	3263.12062	4501.97943	5668.49222	7015.00948

TESIS CON
 FALTA DE ORIGEN

Curva de Calibración Lidocaina – Mucosa Bucal 1006 a 5030 ng
C.V. = 15.239%

ng	Propiedad (área)
1006	453.7
1006	485.1
1006	491.2
2012	1128.7
2012	1228.3
2012	1228.5
3018	1835
3018	1852.9
3018	1901.5
4024	2698.5
4024	2913.6
4024	2922.4
5030	3512.3
5030	3695
5030	3704.4

Curva de Calibración Lidocaina – Mucosa Bucal 6036 a 11066 ng
C.V. = 2.345%

ng	Propiedad (área)
6036	3946.45
6036	4025
6036	3993.7
7042	4320
7042	4427.8
7042	4497.5
8048	5025.5
8048	5072.7
8048	5130.6
9054	5750.7
9054	5900.6
9054	5941.4
10060	6277.8
10060	6359.6
10060	6489.7
11066	6853.7
11066	7109.2
11066	6968.8

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Cinética de Permeación de Lidocaina – Mucosa Bucal

Cantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	36.4974627	87.5363804	161.465137	608.456158	1162.769	1714.2001	2335.01862	2953.68353	3226.46931	3809.86621
b	0	0	0	21.7581695	163.706746	379.898624	674.322174	978.242937	1363.96534	1667.038	2096.48369
d	0	0	0	32.0454446	257.701124	607.301028	1046.77609	1478.33475	1934.18743	2358.08541	2873.67805
e	0	19.1291714	70.6664913	166.27934	739.598238	1355.41056	2025.29757	2630.62868	3216.78954	3787.63645	4468.15299
f	0	0	0	0	123.161499	330.340931	630.607598	944.846927	1302.37374	1642.79624	2048.36066

Promotor Azona[®]: Cinética de Permeación de Lidocaina – Mucosa BucalCantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	0	46.2871315	124.562214	631.027835	853.708828	1461.33582	2234.60918	2833.85328	3302.78019	3910.03204
b	0	0	43.3554868	138.426604	556.177844	1044.22216	1572.63925	2195.07949	2738.25531	3301.5023	3859.7359
c	0	0	41.4380831	108.469371	509.896294	1129.0965	1693.94426	2333.43004	2931.99948	3534.57964	4119.09398
e	0	0	67.4647381	165.549113	780.185327	1582.88316	2310.62684	3058.68907	3779.27251	4473.87669	5185.85661
f	0	46.9534494	129.646265	256.185064	1031.33848	1851.78578	2639.43258	3488.50436	4347.49079	5112.43782	5933.79088

Promotor Dermac[®]: Cinética de Permeación de Lidocaina – Mucosa BucalCantidad acumulada en 1 cm^2 [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

h	0.25	0.5	0.75	1	2	3	4	5	6	7	8
a	0	0	27.075137	80.7711978	414.569861	869.108352	1410.47862	1986.85913	2575.02357	3142.66219	3629.78795
b	0	0	0	0	162.710624	443.18887	806.29515	1260.50275	1737.87261	2198.13229	2617.15888
c	0	25.12598	62.6547992	133.887728	601.908331	957.1712	1653.37684	2420.39492	3104.47684	3732.62864	4335.58585
f	0	0	28.318175	75.5012418	423.396109	851.433535	1469.39815	2166.82335	2831.25878	3507.0772	4057.38149

TESIS CON
 FALDA DE ORIGEN

10.3.3.3 Comparación en números de las dos membranas

A continuación se muestra un resumen de los resultados numéricos de las permeaciones obtenidos en piel y mucosa bucal.

Recordando los valores del logaritmo del Coeficiente de Partición octanol – agua obtenidos del programa ACDLABS:

Acetaminofén Log P = 0.34 ± 0.21

Ácido Salicílico Log P = 1.19 ± 0.23

Lidocaína Log P = 2.36 ± 0.26

Los Valores de Flujo se obtuvieron mediante la siguiente fórmula: $J = \frac{\Delta Q / S}{\Delta t}$; Donde:

$\Delta Q / S$ = Cantidad de soluto transferido por unidad de área y Δt = Tiempo

Los valores de flujo corresponden a la pendiente de la sección lineal de las cinéticas de permeación y la intersección con el eje de las "x" corresponde al t_{lag} .

Piel

Valores de Flujo (J)

J [=] $\mu\text{g/h cm}^2$

	J	SD
Acetaminofén (Control)	5.9213 ±	3.8163
Acetaminofén-AZO	53.7250 ±	3.3412
Acetaminofén-DER	8.8164 ±	3.0414

	J	SD
Lidocaína (Control)	74.8763 ±	10.8882
Lidocaína-AZO	81.9555 ±	17.9731
Lidocaína-DER	85.6913 ±	11.2332

	J	SD
Ácido Salicílico (Control)	389.4050 ±	136.5928
Ácido Salicílico - AZO	582.4520 ±	63.3128
Ácido Salicílico - DER	107.0395 ±	13.1109

Mucosa Bucal

Valores de Flujo (J)

J [=] $\mu\text{g/h cm}^2$

	J	SD
Acetaminofén (Control)	674.8420 ±	400.5145
Acetaminofén-AZO	1487.1250 ±	92.8638
Acetaminofén-DER	1341.1033 ±	592.3367

	J	SD
Lidocaína (Control)	447.0280 ±	129.0468
Lidocaína-AZO	644.5940 ±	120.2876
Lidocaína-DER	533.3825 ±	103.2583

	J	SD
Ácido Salicílico (Control)	1153.3680 ±	217.5154
Ácido Salicílico - AZO	2328.2167 ±	239.6727
Ácido Salicílico - DER	1245.0175 ±	251.1768

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Piel

Cantidad Máxima Acumulada en 8 h (CM)

CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

	CM	SD
Acetaminofén (Control)	18.4193 \pm	11.1443
Acetaminofén-AZO	386.5665 \pm	24.5199
Acetaminofén-DER	60.5472 \pm	20.6710

	CM	SD
Lidocaína (Control)	456.5258 \pm	47.9466
Lidocaína-AZO	492.4728 \pm	94.2547
Lidocaína-DER	539.4279 \pm	73.4572

	CM	SD
Ácido Salicílico (Control)	2507.2379 \pm	834.1425
Ácido Salicílico - AZO	3744.4245 \pm	407.5491
Ácido Salicílico - DER	685.4193 \pm	92.2430

Factor de Promoción (K_R)

	K_R	SD
Acetaminofén (Control)	1	
Acetaminofén-AZO	9.0732 \pm	0.5643
Acetaminofén-DER	1.4889 \pm	0.5136

	K_R	SD
Lidocaína (Control)	1 \pm	
Lidocaína-AZO	1.0945 \pm	0.2400
Lidocaína-DO	1.1444 \pm	0.1500

	K_R	SD
Ácido Salicílico (Control)	1 \pm	
Ácido Salicílico - AZO	1.4957 \pm	0.1626
Ácido Salicílico - DER	0.2749 \pm	0.0337

Mucosa Bucal

Cantidad Máxima Acumulada en 8 h (CM)

CM [=] $\mu\text{g}/\text{cm}^2$

	CM	SD
Acetaminofén (Control)	4978.2218 \pm	3028.0303
Acetaminofén-AZO	11271.4538 \pm	953.6032
Acetaminofén-DER	9526.4846 \pm	4428.4002

	CM	SD
Lidocaína (Control)	3059.3083 \pm	1064.3878
Lidocaína-AZO	4601.7019 \pm	918.9027
Lidocaína-DER	3659.9785 \pm	753.3832

	CM	SD
Ácido Salicílico (Control)	7338.8327 \pm	1527.7651
Ácido Salicílico - AZO	15581.1998 \pm	1751.5582
Ácido Salicílico - DER	8240.3516 \pm	1802.6414

Factor de Promoción (K_R)

	K_R	SD
Acetaminofén (Control)	1	
Acetaminofén-AZO	2.2037 \pm	0.1376
Acetaminofén-DER	1.9873 \pm	0.8777

	K_R	SD
Lidocaína (Control)	1	
Lidocaína-AZO	1.4420 \pm	0.2691
Lidocaína-DER	1.1932 \pm	0.2310

	K_R	SD
Ácido Salicílico (Control)	1	
Ácido Salicílico - AZO	2.0186 \pm	0.2078
Ácido Salicílico - DER	1.0795 \pm	0.2178

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

PielTiempos de Latencia (t_{lag}) t_{lag} [=] h

	t_{lag}
Acetaminofén (Control)	4.822927398
Acetaminofén-AZO	0.566347138
Acetaminofén-DER	1.614264326

	t_{lag}
Ácido Salicílico (Control)	1.753986801
Ácido Salicílico-AZO	1.743153919
Ácido Salicílico-DER	1.960014948

	t_{lag}
Lidocaína (Control)	2.093461189
Lidocaína-AZO	2.023280785
Lidocaína-DER	1.806840858

Mucosa BucalTiempos de Latencia (t_{lag}) t_{lag} [=] h

	t_{lag}
Acetaminofén (Control)	0.782544269
Acetaminofén-AZO	0.594694372
Acetaminofén-DER	1.149504138

	t_{lag}
Ácido Salicílico (Control)	1.767470088
Ácido Salicílico-AZO	1.505411906
Ácido Salicílico-DER	1.537429719

	t_{lag}
Lidocaína (Control)	1.233161085
Lidocaína-AZO	0.888580338
Lidocaína-DER	1.239154074

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

10.3.3.4 Valores de Flujo y Factores de Promoción para seis activos obtenidos en este laboratorio usando como promotores Azona[®] y Dermac[®]

Piel

Valores de Flujo

J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$

Log P

K_R

Piel ¹	J	SD	Log P	K _R
5-Fluorouracilo (Control)	565.3265 ±	106.3400		
5-Fluorouracilo - AZO	751.7015 ±	72.8699	-0.95	1.3297
5-Fluorouracilo - DER	371.4339 ±	29.6989		0.6570

Piel ¹	J	SD	Log P	K _R
Cafeína (Control)	449.3484 ±	95.9561		
Cafeína - AZO	1411.8998 ±	143.9642	-0.07	3.1421
Cafeína - DER	721.5018 ±	86.8513		1.6057

Piel	J	SD	Log P	K _R	SD
Acetaminofén (Control)	5.9213 ±	3.8163			±
Acetaminofén - AZO	53.7250 ±	3.3412	0.34 ± 0.21	9.0732 ±	0.5643
Acetaminofén - DER	8.8164 ±	3.0414		1.4889 ±	0.5136

Piel	J	SD	Log P	K _R	SD
Ácido Salicílico (Control)	389.4050 ±	136.5928			
Ácido Salicílico - AZO	582.4520 ±	63.3128	1.19 ± 0.23	1.4957 ±	0.1626
Ácido Salicílico - DER	107.0395 ±	13.1109		0.2749 ±	0.0337

Piel	J	SD	Log P	K _R	SD
Lidocalina (Control)	74.8763 ±	10.8882			
Lidocalina - AZO	81.9555 ±	17.9731	2.36 ± 0.26	1.0945 ±	0.2400
Lidocalina - DER	85.6913 ±	11.2332		1.1444 ±	0.1500

Piel ¹	J	SD	Log P	K _R
Ibuprofeno (Control)	60.1873 ±	17.9329		
Ibuprofeno - AZO	188.6039 ±	25.9009	3.51	3.1336
Ibuprofeno - DER	133.5752 ±	32.1429		2.2193

¹ Datos obtenidos de Acevedo Peña J. Tesis de Licenciatura. UNAM. 1999

Mucosa Bucal

Valores de Flujo

J [=] $\mu\text{g} / \text{h cm}^2$

Log P

K_R

MB ²	J	SD	Log P	K _R	SD
5-Fluorouracilo (Control)	128.8098	± 6.1927			
5-Fluorouracilo - AZO	249.5667	± 28.6453	-0.95	1.9410 ±	0.2420
5-Fluorouracilo - DER	56.7716	± 8.2909		0.4420 ±	0.0670

MB ²	J	SD	Log P	K _R	SD
Cafeína (Control)	194.8292	± 40.6138			
Cafeína - AZO	381.6232	± 44.2805	-0.07	2.0210 ±	0.4820
Cafeína - DER	180.6511	± 34.4425		0.9567 ±	0.2700

MB	J	SD	Log P	K _R	SD
Acetaminofén (Control)	674.8420	± 400.5145			
Acetaminofén - AZO	1487.1250	± 92.8638	0.34 ± 0.21	2.2037 ±	0.1376
Acetaminofén - DER	1341.1033	± 592.3367		1.9873 ±	0.8777

MB	J	SD	Log P	K _R	SD
Ácido Salicílico (Control)	1153.3680	± 217.5154			
Ácido Salicílico - AZO	2328.2167	± 239.6727	1.19 ± 0.23	2.0186 ±	0.2078
Ácido Salicílico - DER	1245.0175	± 251.1768		1.0795 ±	0.2178

MB	J	SD	Log P	K _R	SD
Lidocaína (Control)	447.0280	± 129.0468			
Lidocaína - AZO	644.5940	± 120.2876	2.36 ± 0.26	1.4420 ±	0.2691
Lidocaína-DER	533.3825	± 103.2583		1.1932 ±	0.2310

MB ²	J	SD	Log P	K _R	SD
Ibuprofeno (Control)	132.1998	± 18.8518			
Ibuprofeno - AZO	147.0032	± 67.9061	3.51	1.1310 ±	0.5470
Ibuprofeno - DER	37.4740	± 8.2909		0.2880 ±	0.0430

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

² Datos obtenidos de Rosendo Valdez I. Tesis de Licenciatura. UNAM. 1999